

MBL

CE

FLUORO ANCA TEST

Cat. No. 4710E: 50 wells
Cat.No. 4710E: 50 puits
Art.-Nr. 4710E: 50 Auftragsstellen
Cat. No. 4710E: 50 pocillos
Cat. n. 4710E: 50 pozzetti

Cat. No. 4720E: 50 wells (for confirmation)
Cat.No. 4720E: 50 puits (de confirmation)
Art.-Nr. 4720E: 50 Auftragsstellen (zur Bestätigung)
Cat. No. 4720E: 50 pocillos (para confirmación)
Cat. n. 4720E: 50 pozzetti (per conferma)

MBL MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD.

5-10 Marunouchi 3 chome, Naka-ku, Nagoya, 460-0002 Japan

Tel: +81 52-971-2081 Fax : +81 52-971-2337 URL <http://www.mbl.co.jp>

- CONTENTS -
- CONTENU -
- INHALTSVERZEICHNIS -
- CONTENIDO -
- CONTENUTI -
- CONTENDO -
- ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ -

English	1
Français	6
Deutsch	11
Español	16
Italiano	21
Português	
Ελληνικά	
Symbols/Symboles/Symbole/Símbolos/Simboli/ Simbolos/Σύμβολα/	28

English

Intended Use

The FLUORO ANCA TEST is intended for detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in human serum. This product is only for in vitro diagnostic use. Do not use in human beings.

Summary and Explanation

In 1982 Davis et al. described the presence of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in serum of patients with necrotising glomerulonephritis. This was followed in 1985 with a publication by van de Woude et al. who found that 25 out of 27 patients with active Wegener's granulomatosis exhibited the classical cytoplasmic (C-ANCA) staining pattern in indirect immunofluorescence. The classical C-ANCA pattern on ethanol-fixed neutrophils shows characteristic granular cytoplasmic staining with minimal staining of the nuclear lobes. The major C-ANCA target antigen is proteinase III, a serine protease.

A second ANCA staining pattern (perinuclear, P-ANCA) was described in 1988 by Falk et al. in renal patients with systematic vasculitis. The major P-ANCA target antigen is thought to be myeloperoxidase, although several other antigens (lactoferrin, elastase, cathepsin G) are associated to lesser degree. The P-ANCA pattern on ethanol-fixed neutrophils shows sharply delineated perinuclear staining.

The FLUORO ANCA TEST, with ethanol and formalin fixed human neutrophils as substrate, is reagent for the detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in human serum.

Principle

The FLUORO ANCA TEST uses an indirect immunofluorescence technique where patient samples and appropriate controls are incubated with the neutrophil substrates. The unreacted antibodies are washed off and then an appropriate fluorescein labelled conjugate is applied. Unbound conjugate is washed off as before. Slides are viewed with a fluorescent microscope and positive samples are seen as apple green fluorescence which corresponds to areas of the neutrophil where antibody has bound.

Materials provided

	Code.No.4710E	Code.No.4720E (for confirmation)
Ethanol fixed neutrophil substrate slide	5 wells x 10slides	-
Formalin fixed neutrophil substrate slide	-	5 wells x 10slides
FITC conjugated sheep anti-human immunoglobulins containing 0.09% sodium azide and Evans Blue	5 ml x 1 vial	5 ml x 1 vial
PBS Buffer	9.1g (for 1000ml) x 3 bags	9.1g (for 1000ml) x 3 bags
C-ANCA Positive Control Serum Human serum (C-ANCA positive) containing 0.09% sodium azide	0.5 ml x 1 vial	-

P-ANCA Positive Control Serum Human serum (P-ANCA positive) containing 0.09% sodium azide	0.5 ml x 1 vial	0.5 ml x 1 vial
ANA Positive Control Serum Human serum (ANA positive) containing 0.09% sodium azide	-	0.5 ml x 1 vial
Negative Control Serum Human serum containing 0.09% sodium azide	0.5 ml x 1 vial	0.5 ml x 1 vial
Mounting Medium Glycerol with Carbonate buffer containing 0.3% Trichloro Acetic Acid	3.0ml x 1 vial	3.0ml x 1 vial
Blotting paper	20 pcs	20 pcs
Coverslips	10 pcs	10 pcs

Materials required but not provided

500ml Beaker, Wash bottle, Magnetic stirrer, Moisture chamber, Staining basket, Distilled or deionized water, Fluorescent microscope equipped with blue excitation filter unit

Precautions

- (1) Positive control sera and Negative control sera are derived from human serum, in which HBs antigen, HIV (HIV-1 and HIV-2) antibodies and HCV antibody has not been detected. However, it is strongly recommended that all clinical specimens and materials should be handled as if they are capable of transmitting infectious diseases.
- (2) FITC-conjugated antibody, positive control serum and negative control serum contain sodium azide (0.09%) as a preservative and must be handled with caution - do not ingest or allow contact with skin or mucous membranes. Sodium azide may react with copper or lead in plumbing system to form explosive metal azides. Therefore, always flush with plenty of water when disposing materials containing sodium azide into a drain.
- (3) Some kit components contain animal origin materials, which are from non-infectious animals. These components, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
- (4) Mounting medium contains 0.3% trichloroacetic acid which is harmful to aquatic organisms and may cause long-term adverse effects in the aquatic environment. This material and its container must be disposed of as hazardous waste.

Storage and Stability

All kit components must be stored at 2-8°C. All reagents are stable for 12 months after manufacturing when stored at 2-8°C.

Procedure

1) Preparation of reagent

Bring substrate slides to room temperature prior to unsealing, in order to avoid moisture.

*Seal unused glass slides together with desiccant tightly in order to keep them dry during storage.

Prepare PBS by dissolving 1 bag of PBS powder in 1000ml of distilled water.

*Do not dilute the other kit components which are ready-for-use.

2) Preparation of samples

Use fresh patient sera.

a) Qualitative analysis: Dilute patient sera 1:20 with PBS.

b) Quantitative analysis: In the case of patient sera which were positive in the qualitative analysis, make serial dilutions of screening samples. (i.e. 1:40, 1:80, 1:160, 1:320)

*Do not repeat freezing and thawing of patient serum samples. This might result in decreased antibody titer or cause non-specific reactions.

*Lipemic sera should be avoided, because it causes non-specific reactions.

3) Addition of samples

Place one drop (25µl) each of diluted sera as well as positive control sera and negative control sera over the antigen wells and place in a moisture chamber.

*Perform the analysis using the provided positive control sera and negative control sera as controls.

*Ensure that the added sample is not mixed with the sample in the next well. Also, in a quantitative analysis, add samples with lower concentration prior to samples with higher concentration.

4) Primary reaction

Incubate the slides in the moisture chamber for 30 minutes at room temperature (20-25°C).

*Incubation temperature above or below normal room temperature (20-25°C), shorter or longer time periods of incubation may give erroneous results.

*Reaction should be performed in the moisture chamber with enough water poured not to dry the substrate slides.

5) Washing

(1) Place the PBS and the staining basket into a 500 ml beaker.

(2) Remove the slides from the moisture chamber one at a time and carefully rinse off the serum using a washing bottle filled with PBS.

*Do not squirt PBS directly on the wells.

*Do not take out all substrate slides at once, since this may lead to substrate drying out.

(3) Immediately stand the slides in the staining basket, prepared in step 1).

(4) After all the slides have been placed in the basket, wash them for 15 minutes using a magnetic stirrer.

*The amount of PBS used for washing is 500 ml per 10 glass slides.

6) Addition of FITC conjugated antibody

After washing, remove the slides from the basket one at a time, and dry all parts other than the wells, using the enclosed blotting paper.

Place the slides back into the moisture chamber, and add one drop of the secondary antibody (FITC-conjugated sheep anti-human immunoglobulins) to each well on the slide.

*Never dry substrate slide, because this severely obstructs correct detection.

*Do not touch the well or remove PBS from well with blotting paper directly.

7) Secondary reaction

Incubate the slides in the moisture chamber for 30 minutes at room temperature (20-25°C).

*Incubation temperature above or below normal room temperature (20-25°C), shorter or longer time periods of incubation may give erroneous results.

*Reaction should be performed in the moisture chamber with enough water poured not to dry the substrate slides.

8) Washing

Wash the slides as in step 5.

9) Mount coverslip

After washing, remove the slides from the staining basket one at a time. Gently remove excess moisture with a piece of blotting paper and apply 2-3 drops of the mounting medium included in the kit. Carefully place coverslip in position.

Be careful not to dry substrate slides.

10) Microscopic examination

Examine the slides using fluorescent microscope at a magnification of 400x.

Microscopic examination should be performed promptly after mounting. If immediate microscopic examination is not possible, keep the slides in the cool, dark place, and perform microscopic examination within 24 hours.

Interpretation of Results**1) Interpretation of negative or positive results**

(-): No specific fluorescence is detected in cell as negative control.

(+): Specific fluorescence is clearly detected more than negative control.

When interpreted as ANCA positive, the pattern should be evaluated in accordance with step 2 below.

2) Evaluation of staining pattern

There are two major patterns. In some cases, multiple staining patterns coexist.

(1) C-ANCA pattern

The classical C-ANCA pattern on ethanol-fixed neutrophils shows characteristic granular cytoplasmic staining with minimal staining of the nuclear lobes.

(2) P-ANCA pattern

The P-ANCA pattern on ethanol-fixed neutrophils shows sharply delineated perinuclear staining, and it's pattern shows granular cytoplasmic P-ANCA on formalin-fixed neutrophils.

Antinuclear (ANA) positive samples can mimic the P-ANCA staining pattern, or can also be positive for P-ANCA on ethanol-fixed neutrophils. ANA positive samples, when tested on formalin-fixed neutrophils, will become negative or show greatly reduced staining intensity.

Summary of Staining patterns

Antibody Type	Ethanol-fixed	Formalin-fixed
C-ANCA	Cytoplasmic	Cytoplasmic
P-ANCA	Nuclear/Perinuclear	Cytoplasmic
ANA	Nuclear/Perinuclear	(-)
Negative	(-)	(-)

Quality Control

Each positive control serum and negative control serum which are included in the kit should be tested in each run to insure that all reagents and procedures have performed properly.

Limitations

This product is only for diagnosis. Do not use in human beings. Test results should be used in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic information.

Expected Values and Performance Characteristics

Expected Results

Patient Group	No.	% Positive	
		P-ANCA	C-ANCA
Healthy persons	30	0	0
Crohn's disease	80	25	0
Ulcerative colitis	46	46	0
Primary sclerosing cholangitis with inflammatory bowel	17	58	0
Primary biliary cirrhosis	25	28	0
Autoimmune hepatitis	15	33	0
Wegener's granulomatosis	30	0	100
Polyarthritis nodosum	5	0	100

*Seibold, F., et al. (1992) Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. Gut 33, 657-662.

Correlation

100 samples of patients with collagen disease were measured using the FLUORO ANCA TEST as well as the indirect immunofluorescence kit manufactured by A Inc.

		A Inc. kit		
		Positive	Negative	Total
FLUORO ANCA TEST	Positive	94	0	94
	Negative	0	6	6
	Total	94	6	100

References

1. Van der Woude, F.J. et al., Lancet 23, 425-429 (1985)
2. Goeken J.A., J. Clin. Immunol. 11, 161-174 (1991)
3. Davies D.J. et al., Br. Med. J. 285, 606 (1982)
4. Falk R. J. et al., New Eng. J. Meed., 318, 1651-1657 (1988)
5. Charles L.A. et al., Clin. Immunol. Immunopathol. 53. 243-253 (1989)

Français

But du dosage

L'analyse FLUORO ANCA est destinée à la détection des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA: anti-neutrophilic cytoplasmic antibody) dans le sérum humain. Le produit ne peut être utilisé que pour le diagnostic in vivo. Ne pas utiliser chez des êtres vivants.

Résumé et explication

En 1982, David et al. ont décrit la présence d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) dans le sérum de patients atteints de glomérulonéphrite aiguë nécrosante. Cela a été suivi, en 1985, par une publication de Woude et al. qui avaient trouvé que 25 des 27 patients atteints de granulomatose de Wegener montraient le type de coloration cytoplasmique classique (C-ANCA) en immunofluorescence indirecte. Le type C-ANCA classique présenté par des neutrophiles fixés dans l'éthanol montrent une coloration cytoplasmique granuleuse caractéristique accompagnée d'une très faible coloration du noyau multilobé. L'antigène-cible principal des C-ANCA est la protéinase III, une protéinase de la sérine.

Un second type de coloration ANCA (périnucléaire ou P-ANCA) a été décrit en 1988 par Falk et al. chez des patients souffrant d'insuffisance rénale et présentant une angéite périphérique. On pense que l'antigène-cible principal des P-ANCA est la myéloperoxydase bien que différents autres antigènes (lactoferrine, élastase, cathepsine G) soient associés à un moindre degré. Le type P-ANCA présenté par des neutrophiles fixés dans l'éthanol montre une coloration périnucléaire nettement définie.

L'analyse FLUORO ANCA utilise comme substrat des neutrophiles humains fixés dans l'éthanol ou dans la formaline. Elle est destinée à la détection des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) dans le sérum humain.

Principe

L'analyse FLUORO ANCA utilise une technique d'immunofluorescence indirecte dans laquelle les échantillons des patients et les contrôles sont incubés avec des neutrophiles comme substrat. Les anticorps ne réagissant pas sont lavés. On ajoute ensuite un conjugué approprié marqué à la fluorescéine. Le conjugué non lié est lavé comme précédemment. Les lames sont regardées sous un microscope à fluorescence. Les échantillons positifs se marquent par une fluorescence vert pomme correspondant aux zones des neutrophiles auxquelles les anticorps sont liés.

Matériel fourni

	Code.No.4710E	Code.No.4720E (pour la confirmation)
Lame de substrat: neutrophiles fixés dans l'éthanol	5 puits x 10lames	-
Lame de substrat: neutrophiles fixés dans la formaline	-	5 puits x 10lames
Conjugué FITC de mouton anti-immunoglobulines humaines contenant 0,09% d'azide de sodium azide et du Bleu Evans	5 ml x 1 ampoule	5 ml x 1 ampoule
Tampon PBS	9,1g (pour 1000ml) x 3 poches	9,1g (pour 1000ml) x 3 poches
Sérum de contrôle C-ANCA positif		
Sérum humain (C-ANCA positif) contenant 0,09% d'azide de sodium	0,5 ml x 1 ampoule	-

Sérum de contrôle P-ANCA positif Sérum humain (P-ANCA positif) contenant 0,09% d'azide de sodium	0,5 ml x 1 ampoule	0,5 ml x 1 ampoule
Sérum de contrôle ANA positif Sérum humain (ANA positif) contenant 0,09% d'azide de sodium	-	0,5 ml x 1 ampoule
Sérum de contrôle négatif Sérum humain contenant 0,09% d'azide de sodium	0,5 ml x 1 ampoule	0,5 ml x 1 ampoule
Milieu de support Glycérol avec un tampon carbonate contenant 0,3% d'acide trichloro-acétique	3,0ml x 1 ampoule	3,0ml x 1 ampoule
Papier buvard	20 pièces	20 pièces
Lamelles couvre-objet	10 pièces	10 pièces

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Becher de 500 mL, Flacon pour solution de lavage, Agitateur Magnétique, Chambre d'incubation humide, Panier de coloration, Eau désionisée ou distillée, Microscope à fluorescence équipé d'un filtre d'excitation bleu.

PRÉCAUTIONS

- 1) Les sérums contrôles positif et négatif sont préparés à partir de sérums humains, qui ont été testés négatifs pour l'antigène HBs, les anticorps anti-HCV et HIV (HIV-1 et HIV-2). Aucune méthode ne pouvant garantir l'absence de ces virus ou d'autres virus pathogènes, utiliser ces réactifs comme tout prélèvement potentiellement infectieux.
- 2) Les sérums contrôles positif et négatif ainsi que l'anticorps conjugué au FITC contiennent 0,09% d'azide de sodium comme conservateur et doivent être manipulés avec précaution – ne pas ingérer ou permettre du contact avec la peau ou avec les membranes muqueuses. L'azide peut provoquer des réactions explosives dans les conduites en fer ou cuivre. Faire couler l'eau en abondance lorsqu'on se débarrasse de ces produits
- 3) Certains composants de la trousse contiennent des matières d'origine animale, provenant d'animaux non-infectés. Cependant, ces composants doivent être manipulés comme des dangers biologiques potentiels, lors de l'utilisation ainsi que lors du traitement des déchets.
- 4) Le milieu de montage contient 0,3% d'acide trichloro-acétique qui est nuisible aux organismes aquatiques et peut engendrer des effets défavorables à long terme pour l'environnement aquatique. Ce matériel et son récipient doivent être considérés comme des déchets dangereux.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants de cette trousse doivent être conservés à 2-8°C. Tous les réactifs sont stables pour 15 mois après fabrication lorsqu'ils sont conservés à 2-8°C.

PROCÉDURE

1) Préparation des réactifs

Amener les lames de substrat à température ambiante avant de desceller l'étui pour éviter toute hydratation.

*Sceller fortement les lames inutilisées avec du desiccant afin de les garder sèches lors du stockage.

Préparer la solution de PBS en dissolvant le contenu d'un paquet dans 1 L d'eau distillée.

* Ne pas diluer d'autres composants de la trousse qui sont prêts à utiliser.

2) Préparation des échantillons

Utiliser des sérums fraîchement prélevés.

(a) Analyse qualitative: Diluer chaque échantillon de sérum au 1 : 20 dans du PBS.

(b) Analyse quantitative: Lorsqu'un sérum est positif en méthode qualitative, faire des dilutions en cascade de l'échantillon (1 :40, 1 :80, 1 :160, 1 :320)...

*Eviter les étapes de congélation-décongélation qui pourraient diminuer le titre en anticorps et également provoquer des réactions non-spécifiques.

*Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques qui provoquent des réactions non spécifiques.

3) Addition des échantillons

Placer 1 goutte (25 µL) de chaque échantillon dilué ainsi que des contrôles positif et négatif dans les puits d'antigène et placer la lame dans une chambre humide.

*Effectuer l'analyse utilisant les sérums contrôles positif et négatif prévus comme contrôles.

* S'assurer de ne pas mélanger les échantillons de deux puits consécutifs. Dans une analyse quantitative, ajouter les échantillons avec une concentration plus basse avant les échantillons avec une concentration plus haute.

4) Réaction primaire

Incuber les lames en chambre humide 30 minutes à température ambiante (20-25 °C).

*Une température d'incubation en deçà ou au-delà de la température ambiante (20-25°C), des temps d'incubation raccourcis ou augmentés peuvent donner lieu à des résultats erronés.

*La réaction doit être effectuée dans la chambre d'incubation humide qui doit être suffisamment humidifiée de sorte que les lames de substrat ne s'assèchent pas.

5) Lavage

(1) Placer le PBS et le panier pour coloration dans un bûcher de 500 mL.

(2) Retirer les lames de la chambre d'incubation humide en une seule fois et les laver pour éliminer le sérum avec du PBS contenu dans une pissette.

*Ne pas projeter directement le PBS dans les puits.

*Ne pas retirer toutes les lames en une seule fois pour ne pas qu'elles se dessèchent.

(3) Poser immédiatement les lames dans le panier préparé à l'étape 1).

(4) Une fois que toutes les lames sont déposées dans le panier, laver 15 minutes sous agitation.

*Utiliser 500 mL de PBS pour 10 lames.

6) Addition du conjugué

(1) Après lavage retirer les lames du panier, une à la fois, sécher les bords des lames autour des puits sans sécher les puits, en utilisant le papier absorbant fourni.

- (2) Replacer les lames dans la chambre d'incubation humide et ajouter une goutte de l'anticorps secondaire (anti-globulines humaines conjuguées au FITC) dans chaque puits.

*Ne jamais laisser sécher les lames de substrat car cela va gêner la réaction.

*Ne pas toucher les puits ni enlever directement le PBS des puits avec le papier absorbant

7) Réaction secondaire

Incuber les lames en chambre humide pendant 30 minutes à température ambiante (20-25°C).

*Une température d'incubation en deçà ou au-delà de la température ambiante (20-25°C), des temps d'incubation raccourcis ou augmentés peuvent donner lieu à des résultats erronés.

*La réaction doit être effectuée dans la chambre d'incubation humide en versant assez d'eau de sorte que les lames de substrat ne s'assèchent pas.

8) Lavage

Laver comme décrit à l'étape 5.

9) Montage des lames

Après lavage, retirer les lames du panier de coloration, une à la fois. Enlever prudemment l'excès d'humidité avec un buvard et déposer 2-3 gouttes de milieu de montage inclus dans la trousse. Prudemment mettre en position la lamelle couvre-objet.

*Ne pas dessécher complètement les lames.

10) Examen microscopique

Examiner les lames à l'aide d'un microscope à fluorescence à un grossissement de X 400.

*L'examen microscopique doit être fait rapidement après montage. Si on ne peut pas procéder immédiatement à l'examen microscopique, conserver les lames au froid et à l'obscurité et procéder à l'examen microscopique dans les 24 heures.

Interprétation des résultats

1) Interprétation des résultats négatifs ou positifs

(-): Fluorescence non spécifique détectée dans les cellules du contrôle négatif.

(+): Fluorescence spécifique clairement détectée, plus que dans le contrôle négatif.

Lorsque la fluorescence est interprétée comme étant positive pour les ANCA, son type doit être évalué selon l'étape 2 décrite ci-dessous.

2) Évaluation des types de colorations

Il existe deux grands types. Dans certains cas, plusieurs types de colorations coexistent.

(1) Le type C-ANCA

Le type C-ANCA classique sur les neutrophiles fixés dans l'éthanol montre une coloration cytoplasmique granuleuse caractéristique avec une coloration très faible du noyau multilobé.

(2) Le type P-ANCA

Le type P-ANCA sur les neutrophiles fixés dans l'éthanol montre une coloration périnucléaire nettement définie. Ce type montre des P-ANCA

Résumé des types de coloration

Type Anticorps	Fixés dans l'éthanol	Fixés dans la formaline
C-ANCA	Cytoplasmique	Cytoplasmique
P-ANCA	Nucléaire/Périnucléaire	Cytoplasmique
ANA	Nucléaire/Périnucléaire	(-)
Négatif	(-)	(-)

cytoplasmiques granuleux sur les neutrophiles fixés dans la formaline.

Les échantillons positifs pour les anticorps antinucléaires (ANA) peuvent imiter le type de coloration P-ANCA sur les neutrophiles fixés dans l'éthanol. Les échantillons ANA positifs, lorsqu'ils sont testés sur les neutrophiles fixés dans la formaline, deviennent négatifs ou montrent une intensité de coloration beaucoup plus faible.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le Sérum contrôle Positif et le Sérum contrôle Négatif qui sont inclus dans la trousse doivent être testés chaque fois pour vérifier si tous les réactifs et procédures ont fonctionnés comme il faut.

LIMITATIONS

Ce produit a un but purement diagnostique. Ne pas utiliser sur des êtres humains. Les résultats du test doivent être utilisés avec les informations disponibles des évaluations cliniques et avec d'autres informations diagnostiques.

Valeurs attendues et Performance

Résultats attendus

Groupe de patients	No.	% de positifs	
		P-ANCA	C-ANCA
Personnes saines	30	0	0
Maladie de Crohn	80	25	0
Colite ulcéreuse	46	46	0
Cholangite sclérotisante avec inflammation intestinale	17	58	0
Cirrhose biliaire primitive	25	28	0
Hépatite auto-immune	15	33	0
Granulomatose de Wegener	30	0	100
Polyartérite noueuse	5	0	100

*Seibold, F., et al. (1992) Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. Gut 33, 657-662.

Corrélation

100 échantillons de patients avec une maladie du collagène ont été évalués par le FLUORO ANCA TEST et par la trousse d'immuno-fluorescence indirecte produite par A Inc.

		Trousse A INC.		
		Positif	Négatif	Total
FLUORO ANCA TEST	Positif	94	0	94
	Négatif	0	6	6
	Total	94	6	100

References

1. Van der Woude, F.J. et al., Lancet 23, 425-429 (1985)
2. Goeken J.A., J. Clin. Immunol. 11, 161-174 (1991)
3. Davies D.J. et al., Br. Med. J. 285, 606 (1982)
4. Falk R. J. et al., New Eng. J. Meed., 318, 1651-1657 (1988)
5. Charles L.A. et al., Clin. Immunol. Immunopathol. 53. 243-253 (1989)

Deutsch

Verwendungszweck

Der FLUORO ANCA TEST dient dem Nachweis von Anti-Neutrophilen zytoplasmatischen Autoantikörpern (ANCA) in Humanserum. Nur für *in-vitro* Diagnostik. Nicht zur Anwendung am Menschen.

Zusammenfassung und Erklärung

1982 berichteten Davis et al. vom Nachweis Anti-neutrophiler zytoplasmatischer Autoantikörper (ANCA) im Serum von Patienten mit sklerosierender Glomerulonephritis. Im Jahr 1985 folgte die Veröffentlichung von Woude et al., die bei 25 von 27 Patienten mit Wegenerscher Granulomatose das klassische zytoplasmatische cANCA-Muster mit der indirekten Immunfluoreszenz fanden. Dieses Muster zeigt an Ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten eine charakteristische, granuläre zytoplasmatische Fluoreszenz mit minimal gefärbtem Zellkern. Das Hauptantigen von cANCA ist die Serinproteinase Proteinase III.

Ein weiteres ANCA-Fluoreszenzmuster (perinuklär oder pANCA) wurde 1988 von Falk et al. in nephrologischen Patienten mit systemischer Vaskulitis beschrieben. Als Hauptantigen von pANCA gilt die Myeloperoxidase, obzwar andere Antigene (Laktoferrin, Elastase, Kathepsin B) in geringerem Ausmaß beteiligt sind. Das pANCA-Muster zeigt an Ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten eine scharf markierte perinukleäre Fluoreszenz.

Der FLUORO ANCA TEST verwendet Ethanol-fixierte und Formalin-fixierte, menschliche neutrophile Granulozyten als Substrat und dient dem Nachweis von Anti-neutrophilen zytoplasmatischen Autoantikörpern (ANCA) in Humanserum.

Testprinzip

Mit dem FLUORO ANCA TEST werden Anti-neutrophile zytoplasmatische Autoantikörper mittels der indirekten Immunfluoreszenz nachgewiesen. Patientenproben und entsprechende Kontrollseren werden mit dem Substrat inkubiert. Nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt und ein geeignetes Fluorescein-markiertes Konjugat hinzugefügt. Es reagiert mit den gebundenen Autoantikörpern am Substrat. Nicht gebundenes Konjugat wird wie zuvor durch Waschen entfernt und die Objektträger werden unter einem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet. Positive Proben reagieren mit einer apfelgrünen Fluoreszenz, die die Bindungsstellen der Autoantikörper widerspiegelt.

Gelieferte Materialien

	Art.-Nr.: 4710E	Art.-Nr.: 4720E (zur Bestätigung)
Objektträger mit Ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten	10x5 Objektträger	-
Objektträger mit Formalin-fixierten neutrophilen Granulozyten	-	10x5 Objektträger
FITC-markierte Schafantikörper gegen Human-Immunglobuline. Enthält 0,09% Natriumazid und Evans Blau	1 Fläschchen, 5 ml	1 Fläschchen, 5 ml
PBS-Puffer	3 Beutel zu je 9,1 g (je1000 ml)	3 Beutel zu je 9,1 g (je1000 ml)
cANCA-positives Kontrollserum Humanserum (cANCA-positiv). Enthält 0,09% Natriumazid	1 Fläschchen, 0,5 ml	-
pANCA-positives Kontrollserum Humanserum (pANCA-positiv). Enthält 0,09% Natriumazid	1 Fläschchen, 0,5 ml	1 Fläschchen, 0,5 ml

ANA-positives Kontrollserum Humanserum (ANA-positiv). Enthält 0,09% Natriumazid.	-	1 Fläschchen, 0,5 ml
Negatives Kontrollserum Humanserum mit 0,09% Natriumazid	1 Fläschchen, 0,5 ml	1 Fläschchen, 0,5 ml
Eindeckmittel Glycerol mit Karbonatpuffer und 3% Trichloroessigsäure.	1 Fläschchen, 3,0ml	1 Fläschchen, 3,0ml
Deckgläschen	10 St.	10 St.
Löschpapier	20 St.	20 St.

Erforderliches, aber nicht geliefertes Material

500 ml Becher, Spritzflasche, Magnetrührer, feuchte Kammer, Färbetrog, destilliertes oder entionisiertes Wasser, Fluoreszenzmikroskop mit einem Filter für Blau-Anregung.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- (1) Die positiven und negativen Kontrollseren wurden aus Humanseren hergestellt, die negativ auf HBs-Antigen, HIV (HIV 1 und HIV 2)-Antikörper und HCV-Antikörper getestet wurden. Es wird dennoch empfohlen, alle klinischen Proben und Materialien als potentiell infektiös zu handhaben.
- (2) Das FITC-Konjugat, das negative Kontrollserum und das positive Kontrollserum enthalten 0,09% Natriumazid als Konservierungsmittel. Sie müssen mit Vorsicht gehandhabt werden – nicht einnehmen oder mit der Haut oder den Schleimhäuten in Berührung bringen. Natriumazid kann mit Kupfer- und Bleihaltigen Rohren unter Bildung explosiver Metallazide reagieren. Falls Azid-haltige Lösungen in den Ausguss gelangen, sollte daher immer mit viel Leitungswasser gespült werden.
- (3) Einige Bestandteile des Kits enthalten Materialien aus nicht-infizierten Tieren. Trotzdem sollten diese Bestandteile als potentiell biogefährlich gehandhabt und entsorgt werden.
- (4) Das Eindeckmittel enthält 0,3% Trichloroessigsäure. Sie ist schädlich für Wasserorganismen und kann die aquatische Umwelt längerfristig schädigen. Das Eindeckmittel und sein Behältnis müssen in einen Behälter für Schadstoffe entsorgt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Alle Bestandteile des Kits müssen bei 2-8 °C gelagert werden. Bei dieser Lagerungstemperatur sind alle Reagenzien 12 Monate ab Herstellungsdatum haltbar.

Testdurchführung

1) Herstellung der Reagenzien

Vor dem Öffnen die Beutel mit den Objektträgern auf Raumtemperatur bringen, damit kein Kondenswasser gebildet wird.

*Nicht benötigte Objektträger zusammen mit dem Trockenmittel wieder in den Beutel geben und diesen zur Lagerung dicht verschließen.

Gebrauchsfertige PBS-Lösung herstellen: Inhalt eines Beutels in 1000 ml Aqua dest. auflösen.

*Die anderen Bestandteile des Testkits sind gebrauchsfertig. Nicht verdünnen.

2) Herstellung der Proben

Es wird empfohlen, frisch gewonnene Patientenseren zu verwenden.

- a) Qualitative Untersuchung: Patientenseren 1:20 mit PBS verdünnen.
- b) Quantitative Untersuchung: von Patientenseren, die bei der qualitativen Untersuchung positiv reagierten, eine Reihenverdünnung herstellen (d.h. 1:40, 1:80, 1:160, 1:320)
- *Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Seren vermeiden, weil dann falsch niedrige Antikörpertiter oder unspezifische Reaktionen möglich sind.
 - *Lipämische Seren sind zu vermeiden; sie können unspezifische Reaktionen verursachen.

3) Auftragen der Proben

Jeweils einen Tropfen (20-30µl) der verdünnten Patientenseren sowie der positiven und negativen Kontrollseren auf die beschichteten Testfelder der Objektträger geben und die Objektträger in eine feuchte Kammer legen.

- *Bei der Untersuchung die positiven und negativen Kontrollen aus dem Testkit mitführen.
- *Beim Auftragen der Proben eine Berührung mit benachbarten Testfeldern vermeiden. Beim Austitrieren, immer erst die Probe mit der höchsten bzw. höheren Verdünnung auftragen.

4) Erste Inkubation

Die Objektträger in einer feuchten Kammer 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

- *Die empfohlenen Inkubationstemperaturen (20-25 °C) und Inkubationszeiten (30 Min.) sind einzuhalten, weil sonst falsch positive Ergebnisse möglich sind.
- *Die Inkubation sollte in einer feuchten Kammer durchgeführt werden. Der Boden der Kammer sollte mit Wasser benetzt sein, um ein Austrocknen der Substrate zu vermeiden.

5) Waschen

- (1) PBS und einen Färbetrog in einen 500 ml Becher geben.
- (2) Die Objektträger einzeln aus der feuchten Kammer nehmen und die Seren sorgfältig mit PBS aus einer Spritzflasche abspülen.
 - *Den Pufferstrahl nicht direkt auf die Auftragsstellen richten.
 - *Die Objektträger einzeln abarbeiten. Wenn alle Objektträger auf einmal aus der feuchten Kammer entfernt werden, kann es sein, dass die Substrate austrocknen.
- (3) Objektträger sofort in den Färbetrog (Schritt 1) stellen.
- (4) Sobald alle Objektträger im Färbetrog stehen, 5 Min. unter Verwendung eines Magnetrührers waschen.
 - *Zum Waschen von jeweils 10 Objektträger werden 500 ml PBS benötigt.

6) FITC-Konjugat hinzufügen

- (1) Die gewaschenen Objektträger einzeln aus dem Färbetrog nehmen und die Objektträgermaske mit einem Löschpapier aus dem Kit trocknen. Die Substrate auf den Testfeldern dabei nicht berühren.
- (2) Objektträger wieder in die feuchte Kammer legen und auf jedes Testfeld einen Tropfen des zweiten Antikörpers (FITC-markierte Schaf-anti-Human-Immunglobuline) geben.
 - *Die Substrate dürfen nicht austrocknen, weil die Beurteilung der Muster verfälscht werden kann.
 - *Das Löschpapier darf die Substrate nicht berühren bzw. darf nicht zum Entfernen von PBS auf den Testfeldern benutzt werden.

7) Zweite Inkubation

Die Objektträger in einer feuchten Kammer 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

- *Die empfohlenen Inkubationstemperaturen (20-25 °C) und Inkubationszeiten (30 Min.) sind einzuhalten, weil sonst falsch positive Ergebnisse möglich sind.

*Die Inkubation sollte in einer feuchten Kammer durchgeführt werden. Der Boden der Kammer sollte mit Wasser benetzt sein, um ein Austrocknen der Substrate zu vermeiden.

8) Waschen

Die Objektträger wie in Schritt 5 beschrieben waschen.

9) Deckgläschen auflegen

Die gewaschenen Objektträger einzeln aus dem Färbetrog nehmen. Objektträgermaske behutsam mit einem Löschpapier aus dem Kit trocknen und 2-3 Tropfen Eindeckmittel aus dem Kit auftragen. Ein Deckgläschen auflegen.

*Die Substrate auf den Testfeldern der Objektträger dürfen nicht austrocknen.

10) Auswertung am Mikroskop

Die Objektträger mit einem Fluoreszenzmikroskop bei einer 400fachen Vergrößerung auswerten.

*Die mikroskopische Beurteilung sollte sofort nach dem Eindecken erfolgen. Ist das nicht möglich, sollten die Objektträger dunkel und kühl gelagert und binnen 24 Std. beurteilt werden.

Auswertung der Ergebnisse

1) Beurteilung negativer und positiver Ergebnisse.

(-): Keine spezifische Fluoreszenz der Zellen (vgl. Negativkontrolle).

(+): Deutlich erkennbare, spezifische Fluoreszenz.

Bei positivem Ergebnis sollte das ANCA-Muster wie nachfolgend beschrieben ermittelt werden.

2) Beurteilung des Fluoreszenzmusters.

Zu unterscheiden sind zwei Hauptmuster. In einigen Fällen können mehrere Muster gleichzeitig vorkommen.

(1) cANCA-Muster

Das klassische cANCA-Muster an Ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten zeigt eine charakteristische, granuläre Fluoreszenz im Zytoplasma mit minimal gefärbtem Zellkern

(2) pANCA-Muster

Das pANCA-Muster zeigt eine scharf markierte perinukleäre Fluoreszenz an Ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten und eine granuläre Fluoreszenz im Zytoplasma an Formalin-fixierten neutrophilen Granulozyten.

ANA-positive Proben können an Ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten positiv reagieren und ein pANCA-ähnliches Muster zeigen. Auf Formalin-fixierten neutrophilen Granulozyten reagieren diese ANA-positiven Proben negativ oder mit deutlich reduzierter Intensität.

Zusammenfassung der Fluoreszenzmuster		
Antikörper	Ethanol-fixiert	Formalin-fixiert
C-ANCA	zytoplasmatisch	zytoplasmatisch
P-ANCA	nukleär/perinukleär	zytoplasmatisch
ANA	nukleär/perinukleär	(-)
Negativ	(-)	(-)

Qualitätskontrolle

Die im Kit enthaltenen positiven und negativen Kontrollseren sollten bei jedem Testlauf mitgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Reagenzien die richtige Funktion zeigten und der Test richtig

durchgeführt wurde.

Grenzen des Verfahrens

Nur für *in-vitro* Diagnostik. Nicht zur Anwendung am Menschen. Die Ergebnisse sollten in Verbindung mit den Ergebnissen klinischer Untersuchungen und anderer diagnostischer Verfahren verwendet werden.

Erwartete Werte und Leistungsmerkmale

Erwartete Ergebnisse

Patientengruppe	Anzahl	Prozent positiv	
		P-ANCA	C-ANCA
Gesunde	30	0	0
Morbus Crohn	80	25	0
Colitis ulcerosa	46	46	0
Primär sklerosierende Cholangitis	17	58	0
Primär biliäre Zirrhose	25	28	0
Autoimmunhepatitis	15	33	0
Wegenersche Granulomatose	30	0	100
Polyarthritis nodosa	5	0	100

Korrelation

100 Proben von Kollagenosepatienten wurden mit FLUORO ANCA TEST und dem indirekten Immunfluoreszenztest eines Mitbewerbers (A Inc.) untersucht

		A Inc. kit		
		Positiv	Negativ	Total
FLUORO ANCA TEST	Positiv	94	0	94
	Negativ	0	6	6
	Total	94	6	100

Literatur

1. Van der Woude, F.J. et al., Lancet 23, 425-429 (1985)
2. Goeken J.A., J. Clin. Immunol. 11, 161-174 (1991)
3. Davies D.J. et al., Br. Med. J. 285, 606 (1982)
4. Falk R. J. et al., New Eng. J. Med., 318, 1651-1657 (1988)
5. Charles L.A. et al., Clin. Immunol. Immunopathol. 53. 243-253 (1989)

Español

Uso del Kit

El Kit FLUORO ANCA TEST se usa para detectar anticuerpos citoplásmicos anti-neutrófilo (ANCA) en suero humano. Este producto es solamente para uso de diagnóstico *in vitro*. No usar en seres humanos.

Resumen y Explicación

En 1982 Davis et al. Describieron la presencia de anticuerpos citoplásmicos antineutrófilos (ANCA) en suero de pacientes con glomerulonefritis necrosante. Seguidamente apareció una publicación de van de Woude et al. El cual encontró que 25 de 27 pacientes con granulomatosis de Wegener poseían la típica imagen en inmunofluorescencia indirecta de los C-ANCA. El patrón clásico de neutrófilos fijados en etanol muestra las características de citoplasma granular con mínima tinción de los lóbulos nucleares. El antígeno diana principal en C-ANCA son: la proteinasa III y una serín proteasa.

Un segundo patrón de tinción de ANCA (perinuclear P-ANCA) se describió en 1988 por Falk y colaboradores en pacientes con vasculitis sistémica. El antígeno mayoritarios de los P-ANCA se cree que es la mieloperoxidasa, aunque algunos otros antígenos (lactoferrina, elastasa y catepsina G) se asocian en mayor o menor grado. El patrón de P-ANCA de los neutrófilos fijados en etanol muestra una tinción perinuclear muy definida.

El FLUORO ANCA TEST con neutrófilos humanos fijados con metanol y formalina como sustrato, son el reactivo para la detección de anticuerpos frente al citoplasma de neutrófilos (ANCA) en suero humano.

Principio

FLUORO ANCA TEST usa una técnica de inmunofluorescencia indirecta en la cual las muestras y los controles apropiados se incuban con el sustrato de los neutrófilos. Los anticuerpos que no reaccionan con el sustrato se lavan y eliminan al no haberse unido. Posteriormente se añade un conjugado de fluoresceína que se fija exclusivamente donde ha habido reacción de antígeno anticuerpo. El exceso de fluoresceína que no ha reaccionado, se lava posteriormente, como en el caso anterior. Las portas se visualizan con el microscopio de fluorescencia y las muestras positivas aparecen con una fluorescencia de color verde manzana, que corresponden a las áreas de neutrófilos donde se ha unido el anticuerpo.

Material suministrado

	Codigo.No.4710E	Codigo.No.4720E (para confirmación)
Portas de neutrófilos fijados en etanol	10 portas x 5 pocillos	-
Portas con sustrato de neutrófilos fijados en formalina	-	10 portas x 5 pocillos
Inmunoglobulinas de oveja anti-humano, conjugadas con FITC conteniendo 0,09 % azida sódica y Azul de Evans.	1 vial x 5 ml	1 vial x 5 ml
Tampón PBS	3 bolsas x 9.1g (for 1000ml)	3 bolsas x 9.1g (for 1000ml)
Suero Control Positivo C-ANCA Suero Humano (C-ANCA positive) conteniendo 0,09% azida sódica	1 vial x 0,5 ml	-
Suero Control Positivo P-ANCA Suero Humano (P-ANCA positive) conteniendo 0,09% azida sódica	1 vial x 0,5 ml	1 vial x 0,5 ml

Suero Control Positivo ANA Suero Humano (ANA positive) conteniendo 0,09% azida sódica	-	1 vial x 0,5 ml
Suero Control Negativo Suero Humano conteniendo 0,09% azida sódica	1 vial x 0,5 ml	1 vial x 0,5 ml
Medio de Montaje Glicerol con Tampón Carbonato conteniendo 0,3% Ácido Tricloro Acético	1 vial x 3,0 ml	1 vial x 3,0 ml
Papel secante	20 pcs	20 pcs
Cubreobjetos	10 pcs	10 pcs

Material requerido pero no suministrado

Vaso de precipitado de 500 ml, botella lavadora, agitador magnético, cámara húmeda y recipiente para tinciones, Microscopio de Fluorescencia equipado con filtro de excitación azul.

Precauciones

- (1) Los sueros control positivo y control negativo son derivados de suero humano, en los que no se ha detectado antígeno de HBs, ni anticuerpos frente a HIV (anti-HIV 1 y anti-HIV 2) ni anticuerpos anti-HCV. A pesar de ello se recomienda de forma estricta que todos los materiales biológicos, así como las muestras, sean manipuladas con cuidado y como si fueran potencialmente transmisoras de infección.
- (2) Como conservante se añade 0,09 % de Azida sódica al conjugado con FITC, suero control negativo y suero control positivo, por lo que han de ser manipulados con precaución. No ingerir nunca estos productos y evitar el contacto directo con la piel, los ojos u otras mucosas. Las azidas pueden reaccionar con el cobre o el plomo de las cañerías formando azidas metálicas explosivas. Por esta razón dejar correr agua abundante cuando se eliminen estas sustancias por el fregadero.
- (3) Algunos componentes del kit proceden de animales sanos y no portadores de enfermedades infecciosas. No obstante deberían ser tratados como potencialmente biopeligrosos en el momento de su eliminación.
- (4) El medio de montaje contiene 0,3 % de ácido tricloro acético, el cual es peligroso para organismos acuáticos y a largo plazo puede producir efectos adversos en el ambiente. Este material y su envase han de ser eliminados como sustancias peligrosas.

Almacenamiento y Estabilidad

Todos los componentes del Kit han de ser almacenados y conservados de 2-8 AC. En estas condiciones los reactivos son estables durante 12 meses, contados desde la fecha de manufacturación.

Procedimiento

1) Preparación de los reactivos.

Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de ser usados, de forma que se evite la condensación de agua.

*Cerrar herméticamente los porta que no se usen, junto con desecante, afín de conservarlos secos durante su almacenamiento.

Preparar el PBS disolviendo 1 bolsa de polvo de PNS en 1000 ml de agua destilada.

*No diluir ningún otro reactivo del Kit, ya que están listos para ser usados.

2) Preparación de la muestra.

Usar siempre sueros recientes.

a) Análisis cualitativo: Diluir el suero de los pacientes a 1:20 con PBS.

b) Análisis cuantitativo: En caso de suero de pacientes positivos, en el análisis cuantitativo hacer diluciones seriadas de las muestras a estudiar (Ej.: 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, etc.)

*No repetir congelaciones y descongelaciones de las muestras. Esto puede derivar en una disminución del título del anticuerpo, o bien pueden aparecer reacciones inespecíficas.

*Las muestras lipémicas deberían evitarse, debido a las reacciones inespecíficas.

3) Adición de las muestras.

Colocar una gota de 25 µl de suero diluido, así como suero control positivo y suero control negativo, en los pocillos con el antígeno y colocarlos en una cámara húmeda.

*Realizar los ensayos usando el suero control negativo, suero control positivo y sueros controles que se suministran tonel Kit.

*Asegurarse de que las muestras no se mezclan con otras, en pocillos adyacentes. Para el caso de análisis cuantitativo, añadir las muestras con menor concentración con anterioridad a las de mayor concentración.

4) Reacción Primaria.

Incubar los portas en cámara húmeda durante 30 minutos a 20-25 °C.

* Una incubación a temperatura inferior o superior a la ambiental (20-25°C), o tiempos de incubación más largos o más cortos, pueden dar lugar a la aparición de resultados erróneos.

* La reacción debe ser realizada en cámara húmeda a fin de evitar que se sequen las muestras de los portas.

5) Lavado

(1) Poner el PBS y cestillo de tinción en un vaso de precipitado de 500 ml.

(2) Sacar los portas de la cámara húmeda de uno en uno y con cuidado aclarar el suero usando una botella lavadora conteniendo PBS.

(3) Inmediatamente dejar tiñendo los portas dentro del recipiente de tinción preparado en el paso 1).

*Cuidado de no depositar el PBS directamente en los pocillos

*No sacar todos los portas con el sustrato al mismo tiempo, a fin de que no se sequen.

(4) Después de que todos los portas se han colocado en recipiente de tinción, lavarlos durante 15 minutos usando un agitador magnético.

*La cantidad de PBS usada para el lavado es de 500 ml por cada 10 portas.

6) Adición del anticuerpo Conjugado con FITC

Después del lavado sacar los portas del recipiente, uno después de otro, y secarlos por todas partes excepto en los pocillos, usando el papel de filtro que se suministra.

Colocar los portas en la cámara húmeda y añadir una gota del anticuerpo secundario (Inmunoglobulina humana conjugada con FITC) a cada uno de los pocillos del porta.

*Nunca secar los portas sustrato, ya que, esto dificultaría la correcta detección.

*No tocar el pocillo o quitar el PBS directamente con el papel de filtro.

7) Reacción secundaria

Incubar los portas en la cámara húmeda durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25°C)

* Una incubación a temperatura inferior o superior a la ambiental (20-25 °C), o tiempos de incubación más largos o más cortos, pueden dar lugar a la aparición de resultados erróneos.

* La reacción debe ser realizada en cámara húmeda a fin de evitar que se sequen las muestras de los portas.

8) Lavado

Lavar los portas como en el paso 5.

9) Montaje de los cubres

Después del lavado, sacar los portas del baño de tinción uno después de otro. Con mucho cuidado eliminar el exceso de agua con uno de los papeles de filtro suministrados al efecto, y aplicar 2-3 gotas del medio de montaje incluido en el kit. Con cuidado colocar el cubre en su posición sobre el porta.

Tener cuidado de los portas no se queden secos.

10) Examen microscópico

Examinar los portas usando un microscopio de fluorescencia y un aumento de 400x.

El examen microscópico ha de realizarse inmediatamente después del montaje. En caso de que esto no fuera posible, mantener los portas en frío y en oscuridad y realizar la observación dentro de las 24 horas siguientes.

Interpretación de los Resultados**1) Interpretación de resultado negativo o positivo.**

(-): No se aprecia una fluorescencia específica ni en las células ni en el control negativo

(+): Se detecta una fluorescencia específica y más intensa que la del control negativo.

Cuando se da un resultado Anticuerpo anti- nuclear positivo, el patrón debería ser evaluado de acuerdo al paso II (más abajo).

2) Evaluación del patrón de tinción.

Existen dos tipos mayoritarios de patrón. En algunos casos pueden darse patrones mixtos de tinción.

(1) Patrón C-ANCA

El clásico patrón C-ANCA de neutrófilos fijados en etanol, muestra una tinción granular del citoplasma que es característica, con mínima tinción de los lóbulos nucleares

(2) Patrón P-ANCA

El clásico patrón P- ANCA de neutrófilos fijados en etanol, muestra una tinción perinuclear bien delimitada y su patrón muestra gránulos citoplasmáticos P-ANCA en los neutrófilos fijados en formalina.

Muestras Antinucleares (ANA) positivas pueden simular el patrón de tinción P-ANCA, o pueden ser también positivos para P-ANCA en fijación con etanol. Las muestras ANA positivas, cuando se prueban con neutrófilos fijados en formalina, aparecen negativos, o

Resumen de Patrones de Tinción

Anticuerpo tipo	Fijado-Etanol	Fijado Formalina
C-ANCA	Citoplásmico	Citoplásmico
P-ANCA	Nuclear/Perinuclear	Citoplásmico
ANA	Nuclear/Perinuclear	(-)
Negativo	(-)	(-)

presentan una intensidad de tinción muy pobre.

Control de Calidad

Los sueros control positivo y negativo que se incluyen en el kit deben analizarse en cada determinación, para asegurarse de que todos los reactivos han funcionado correctamente.

Limitaciones

Este producto es sólo para diagnóstico. No usar en seres humanos. Los resultados del Testan de ser analizados en conjunto con la información clínica disponible o cualquier otra información que ayude al correcto diagnóstico.

Valores Esperados y Prestaciones Características

Resultados Esperados

Grupo Pacientes	No.	% Positivo	
		P-ANCA	C-ANCA
Personas Sanas	30	0	0
Enfermedad de Crohn	80	25	0
Colitis Ulcerosa	46	46	0
Esclerosis primaria colangitis, con enfermedad inflamatoria	17	58	0
Cirrosis biliar primaria	25	28	0
Hepatitis Autoinmune	15	33	0
Granulomatosis de Wegener	30	0	100
Poliartritis nodosa	5	0	100

*Seibold, F., et al. (1992) Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. Gut 33, 657-662.

Correlación

100 muestras de pacientes con enfermedad del colágeno se midieron usando FLUORO ANCA TEST así como por el kit de inmunofluorescencia indirecta fabricado por A Inc.

		A Inc. kit		
		Positivo	Negativo	Total
FLUORO ANCA TEST	Positivo	94	0	94
	Negativo	0	6	6
Total		94	6	100

Referencias

1. Van der Woude, F.J. et al., Lancet 23, 425-429 (1985)
2. Goeken J.A., J. Clin. Immunol. 11, 161-174 (1991)
3. Davies D.J. et al., Br. Med. J. 285, 606 (1982)
4. Falk R. J. et al., New Eng. J. Meed., 318, 1651-1657 (1988)
5. Charles L.A. et al., Clin. Immunol. Immunopathol. 53. 243-253 (1989)

Italiano

Uso previsto

FLUORO ANCA TEST è previsto per il rilevamento di anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA) nel siero umano. Questo prodotto è per solo uso diagnostico in vitro. Non usare su esseri umani.

Riassunto e Spiegazione

Nel 1982 Davis et al. descrissero la presenza di anticorpi diretti contro il citoplasma dei neutrofili (ANCA) nel siero di pazienti con glomerulonefrite necrotizzante. Nel 1985 van de Woude et al. trovarono che, su 27 pazienti con glomerulonefrite di Wegener in fase attiva, 25 di essi mostravano, in immunofluorescenza indiretta, il modello classico di colorazione citoplasmatica (C-ANCA). Il tipico modello C-ANCA su neutrofili fissati in etanolo mostra una caratteristica colorazione granulare del citoplasma con una lieve colorazione dei lobi dei nuclei. Il principale antigene C-ANCA è la proteinasi III, una proteasi della serina.

Un secondo tipo di colorazione ANCA (quella perinucleare, P-ANCA) è stato descritto nel 1988 da Falk et al. in pazienti con vasculite sistemica. Il principale antigene P-ANCA si ritiene che sia una mieloperossidasi, sebbene diversi altri antigeni (lattoferrina, elastasi, catepsina G) possano essere associati in grado minore. Il modello classico P-ANCA su neutrofili fissati in etanolo mostra una marcata colorazione perinucleare.

Il kit FLUORO ANCA Test, con neutrofili umani fissati con etanolo e formalina come substrato, è un reagente per la ricerca degli anticorpi diretti contro il citoplasma dei neutrofili (ANCA) nel siero umano.

Principio

FLUORO ANCA TEST ricerca gli anticorpi anti-ANCA mediante il metodo di immunofluorescenza indiretta in cui il siero dei pazienti e i controlli vengono incubati con il substrato di neutrofili. Gli anticorpi che non reagiscono vengono allontanati con un lavaggio, dopo di che viene aggiunto un apposito coniugato marcato con fluoresceina. Il coniugato non legatosi viene poi lavato via come sopra. I vetrini vengono osservati al microscopio a fluorescenza e i campioni positivi vengono riconosciuti per una fluorescenza verde mela in corrispondenza delle aree dei neutrofili in cui gli anticorpi si sono legati.

Materiali forniti

	Cat. n. 4710E	Cat. n. 4720E (per conferma)
Vetrini con substrato neutrofili fissati in Etanolo	5 pozzetti x 10 vetrini	-
Vetrini con substrato neutrofili fissati in Formalina	-	5 pozzetti x 10 vetrini
Coinugato con FITC di anti immunoglobuline umane in capra Contenente 0.09% sodioazide ed Evans Blue	5 ml x 1 flacone	5 ml x 1 flacone
Tampone PBS	9.1g (for 1000ml) x 3buste	9.1g (for 1000ml) x 3buste
C-ANCA Siero di Controllo Positivo Siero umano (C-ANCA positivo) contenente 0.09% sodioazide	0.5 ml x 1 flacone	-
P-ANCA Siero di Controllo Positivo Siero umano (P-ANCA positivo) contenente 0.09% sodioazide	0.5 ml x 1 flacone	0.5 ml x 1 flacone
ANA Siero di Controllo Positivo	-	0.5 ml x 1 flacone

Siero umano (ANA positivo) contenente 0.09% sodioazide		
Siero di Controllo Negativo Siero umano contenente 0.09% sodioazide	0.5 ml x 1 flacone	0.5 ml x 1 flacone
Mezzo di Montaggio Glicerolo con tampone Carbonato contenente acido tricloroacetico 0.3%	3.0ml x 1 flacone	3.0ml x 1 flacone
Carta assorbente	20 pezzi	20 pezzi
Vetrini coprioggetto	10 pezzi	10 pezzi

Materiali richiesti ma non forniti

Beaker da 500 mL, bottiglie per il lavaggio, agitatore magnetico, camera umida, cestello di lavaggio, acqua distillata o deionizzata, microscopio a fluorescenza dotato di unità filtro eccitazione blu.

Precauzioni

- (1) Ogni siero di controllo positivo deriva da siero umano negativo per l'antigene HBs, gli anticorpi HIV (HIV-1 ed HIV-2) e gli anticorpi anti HCV. Tuttavia è fortemente raccomandato che tutti i campioni clinici ed i materiali vengano trattati come potenzialmente capaci di trasmettere malattie infettive.
- (2) Come conservante, 0.09% sodio azide è stata aggiunta all'anticorpo coniugato con FITC ed al siero di controllo positivo e negativo, dunque essi devono essere maneggiati con cura (non ingerire o far venire a contatto con mucose o pelle). La sodioazide può reagire con rame o piombo per formare azidi metalliche esplosive. Quindi, diluire con abbondante acqua prima di smaltire.
- (3) Alcune componenti dei kits contengono materiali di origine animale, derivanti da animali non infetti. Queste componenti dovrebbero essere trattate come pericolose per la salute sia al momento dell'uso che a quello dello smaltimento.
- (4) Il mezzo di montaggio contiene acido tricloroacetico 0.3% che è dannoso per gli organismi acquatici e possono causare nei lunghi periodi effetti avversinell'ambiente acquatico. Questo materiale ed i relativi contenitori devono essere smaltiti come rifiuti pericolosi.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Tutti i componenti del kit devono essere conservati a 2-8°C. Tutti i reagenti sono stabili per 15 mesi dalla loro preparazione se conservati a 2-8 °C.

Procedura

1) Preparazione dei reagenti

Portare i vetrini con il substrato a temperatura ambiente prima di aprire il contenitore, per evitare formazione di umidità.

*Sigillare i vetrini che non sono usati assieme a dessiccante per mantenerli lontani dall'umidità durante la conservazione.

Preparare tampone PBS sciogliendo 1 busta di PBS in polvere in 1000ml di acqua distillata.

*Non diluire gli altri componenti del kit che sono segnalati pronti per l'uso.

2) Preparazione dei campioni

Usare sieri freschi di paziente.

a) Analisi qualitativa : Diluire i sieri dei pazienti 1:20 con PBS.

b) **Analisi quantitativa:** Nel caso di sieri di pazienti che sono positivi all'analisi qualitativa, fare diluizioni seriali dei campioni da testare (ad esempio 1:40, 1:80, 1:160, 1:320).

*Non ripetere congelamento e scongelamento dei campioni di siero dei pazienti. Ciò potrebbe determinare una diminuzione del titolo o causare reazioni non specifiche.

*L'uso di sieri lipemici dovrebbe essere evitato perché esso può causare reazioni non specifiche.

3) **Aggiunta dei campioni**

Piazzare una goccia (25 µl) di ognuno dei sieri diluiti così come dei sieri di controllo positivi sui pozzetti e sistemare in camera umida.

*Compiere l'analisi usando come controlli i controlli positivi che vengono forniti.

*Assicurarsi che i campioni dispensati non siano mescolati con il campione del pozzetto adiacente.

*Inoltre in una analisi quantitativa, aggiungere campioni con minore concentrazione prima dei campioni a più alta concentrazione.

4) **Reazione primaria**

Incubare i vetrini in camera umida per 30 minuti a temperatura ambiente (20-25°C).

*Temperatura di incubazione al di sopra o al di sotto della normale temperatura ambiente (20-25°C), tempi di incubazione più lunghi o più brevi possono dare risultati falsi.

*La reazione dovrebbe essere compiuta in camera umida con acqua sufficiente ad evitare che i vetrini si asciugano.

5) **Lavaggio**

(1) Piazzare PBS e cestelli di lavaggio in un beaker da 500 ml.

(2) Rimuovere i vetrini dalla camera umida uno alla volta e sciacquarli accuratamente dal siero usando una bottiglia di lavaggio contenente PBS.

*Non spruzzare PBS direttamente sui pozzetti.

*Non togliere tutti i vetrini in una sola volta, perché questo può comportare che il substrato si asciughi.

(3) Piazzare immediatamente i vetrini nei cestelli di lavaggio preparati nello step 1).

(4) Dopo che tutti i vetrini sono stati sistemati nel cestello, lavarli per 15 minuti usando un agitatore magnetico.

*La quantità di PBS usata per i lavaggi è di 500 ml per 10 vetrini.

6) **Aggiunta dell'anticorpo coniugato con FITC**

Dopo i lavaggi, rimuovere i vetrini dal cestello uno alla volta ed asciugarne tutte le parti esterne ai pozzetti usando la carta assorbente fornita.

Tornare a piazzare i vetrini nella camera umida ed aggiungere una goccia dell'anticorpo secondario (anti immunoglobuline umane da capra coniugate con FITC) ad ogni pozzetto del vetrino.

*Non asciugare mai i vetrini perché questo impedirebbe seriamente una corretta rivelazione.

*Non toccare i pozzetti nè rimuovere PBS dai pozzetti direttamente con carta assorbente.

7) **Reazione secondaria**

Incubare i vetrini in camera umida per 20 minuti a temperatura ambiente (20-25°C).

*Il tempo di incubazione deve essere compreso tra 20-30 minuti. Temperatura di incubazione al di sopra o al di sotto della normale temperatura ambiente (20-25°C), tempi di incubazione più lunghi o più brevi possono dare risultati falsi.

*La reazione dovrebbe essere compiuta in camera umida con acqua sufficiente ad evitare che i vetrini

si asciugano.

8) Lavaggio

Lavare i vetrini come descritto nello step 5.

9) Montaggio dei vetrini coprioggetto

Dopo i lavaggi, rimuovere i vetrini dal cestello uno alla volta. Eliminare delicatamente l'umidità con un pezzo di carta assorbente ed applicare 2-3 gocce di mezzo di montaggio incluso nel kit. Piazzare con cura i vetrini coprioggetto in posizione.

*Fare attenzione a non lasciar asciugare i vetrini.

10) Esame al microscopio

Esaminare i vetrini usando il microscopio a fluorescenza con ingrandimento 200×.

*L'esame al microscopio dovrebbe avvenire prontamente dopo il montaggio. Se l'esame immediato non è possibile, mantenere i vetrini in un posto fresco, protetto dalla luce e procedere all'esame entro le 24 ore.

Interpretazione dei Risultati

1) Interpretazione di risultati negativi o positivi

(-): Nelle cellule come nel controllo negativo non viene rilevata fluorescenza specifica

(+): Una fluorescenza specifica è chiaramente rilevata più che nel controllo negativo.

Quando interpretato come ANCA positivo, il pattern dovrebbe essere valutato in accordo con lo step 2 che segue.

2) Valutazione del pattern di colorazione

Vi sono due principali pattern. In certi casi più pattern di colorazione coesistono.

(1) C-ANCA pattern

Il classico pattern C-ANCA su neutrofili fissati in etanolo mostra una caratteristica colorazione granulare citoplasmatica con minima colorazione dei lobi nucleari.

(2) P-ANCA pattern

Il pattern P-ANCA su neutrofili fissati in etanolo mostra una colorazione perinucleare nettamente delineata, il pattern su neutrofili fissati in formalina mostra colorazione granulare citoplasmatica.

Riassunto dei pattern di colorazione

Tipo Anticorpo	Fiss. Etanolo	Fiss. Formalina
C-ANCA	Citoplasmatico	Citoplasmatico
P-ANCA	Nuc/Perinucleare	Citoplasmatico
ANA	Nuc/Perinucleare	(-)
Negativo	(-)	(-)

Campioni positivi per anticorpi anti nucleo (ANA) possono mimare il pattern di colorazione P-ANCA, o possono inoltre essere positivi per P-ANCA su neutrofili fissati in etanolo. Campioni positivi ANA, quando testati su neutrofili fissati in formalina, saranno negativi o mostreranno una intensità di colorazione fortemente ridotta.

Controllo di Qualità

I sieri di controllo positivo e negativo che sono inclusi nel kit dovrebbero essere testati in ogni seduta per essere sicuri che tutti i reagenti e le procedure siano effettuati in modo corretto.

Limitazioni

Questo prodotto è per uso diagnostico. Non usare su esseri umani. I risultati dei test dovrebbero essere usati con le informazioni dalla valutazione clinica ed altre informazioni diagnostiche.

Valori attesi e prestazioni caratteristiche

Risultati attesi

Gruppo pazienti	n.	% di Positività	
		P-ANCA	C-ANCA
Soggetti sani	30	0	0
Malattia di Crohn	80	25	0
Colite ulcerativa	46	46	0
Colangite primaria sclerosante con inf. Intest.	17	58	0
Cirrosi primaria biliare	25	28	0
Epatite autoimmune	15	33	0
Granulomatosi di Wegener	30	0	100
Poliarterite nodosum	5	0	100

*Seibold, F., et al. (1992) Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. Gut 33, 657-662.

Correlazione

		A.Inc. kit		
		Positivi	Negativi	Totale
FLUORO ANCA TEST	Positivi	94	0	94
	Negativi	0	6	6
	Totale	94	6	100

100 campioni di pazienti con malattie del collagene furono analizzati usando FLUORO ANCA TEST ed un test di immunofluorescenza indiretta prodotto da A Inc.

Bibliografia

1. Van der Woude, F.J. et al., Lancet 23, 425-429 (1985)
2. Goeken J.A., J. Clin. Immunol. 11, 161-174 (1991)
3. Davies D.J. et al., Br. Med. J. 285, 606 (1982)
4. Falk R. J. et al., New Eng. J. Med., 318, 1651-1657 (1988)
5. Charles L.A. et al., Clin. Immunol. Immunopathol. 53. 243-253 (1989)

Português

Ελληνικά

**The following symbols are used on the label.

**Les symboles suivants ont été utilisés sur l'étiquette.

**Die folgenden Symbole finden Sie auf dem Etikett.

**En las etiquetas se usan los siguientes símbolos

**I seguenti simboli sono usati sulle etichette.

**Os símbolos seguintes são usados no rótulo.

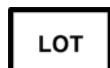
**Τα κάτωθι σύμβολα χρησιμοποιούνται στην ετικέτα



For in vitro diagnostic use
Dispositif médical de diagnostic in vitro
Für in-vitro Diagnostik
Para uso diagnóstico in vitro
Per uso diagnostico in vitro
Para diagnóstico *in vitro*



Για in vitro διαγνωστική χρήση
Catalogue number
Référence du catalogue
Artikelnummer
Número de catálogo
Numero di catalogo
Número de catálogo
Αριθμός Καταλόγου



Lot
Code du lot
Charge
Lote
Lotto
Lote



Παρίδα
96 tests
Contenu suffisant pour 96 tests
96 Bestimmungen
96 test
96 tests
96 testes
96 εξετάσεις



See instructions for use
Consulter les instructions d'utilisation
Siehe Packungsbeilage
Ver instrucciones de uso
Vedi Istruzioni per l'uso
Ver instruções de utilização



Δείτε τις οδηγίες χρήσης
Use by
Utiliser jusque
Haltbarkeit
Temperatura de uso
Usa da
Utilizar até



Να χρησιμοποιηθεί έως
Store at 2 – 8°C
Limites de température : 2 à 8°C
Lagerung bei 2 – 8°C
Conservar a 2 – 8°C
Conservare a 2 – 8°C
Armazenar a 2 – 8°C
Φύλαξη στους 2 – 8°C

-



EC REP

<ELISA Components>

MICROWELL

CAL 1

CAL 2

CONTROL +

CONTROL -

STD 1

Manufactured by
Fabricant
Hersteller
Fabricado por
Prodotto da
Produzido por
Παρασκευάστηκε από
Authorized Representative
Mandataire dans la Communauté européenne
Bevollmächtigter
Representane Autorizado
Rappresentante Autorizzato
Representante Autorizado
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος

Microwell Strips
Micro plaque
Mikrotiterstreifen
Tiras de pocillos
Strips di micropozzetti
Microplacas
Ταινίες Βυθισμάτων
Calibrator 1
Calibrateur 1
Kalibrator 1
Calibrador 1
Calibratore 1
Calibrador 1
Αντιδραστήριο Βαθμονόμησης 1
Calibrator 2
Calibrateur 2
Kalibrator 2
Calibrador 2
Calibratore 2
Calibrador 2
Αντιδραστήριο Βαθμονόμησης 2
Positive Control
Contrôle positif
Positivkontrolle
Contro Positivo
Controllo Positivo
Controllo Positivo
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου
Negative Control
Contrôle négatif
Negativkontrolle
Control Negativo
Controllo Negativo
Controllo Negativo
Αρνητικό Πρότυπο Ελέγχου
Standard Sera
Sérum Calibrateur 1
Standardserum
Suero Patrón
Sieri standard
Soro Padrão
Πρότυποι Οροί Καμπύλης

CONJ-HRP

Conjugate Reagent
Conjugué (prêt à l'emploi)
Konjugatreagens
Reactivo Conjugado
Coniugato
Reagente conjugado

CONJ-HRP 101x

Αντιδραστήριο Συζεύγματος
Conjugate Reagent (101x)
Conjugué (101x)
Konjugatreagens (101x)
Reactivo Conjugado (101x)
Coniugato (101x)
Reagente Conjugado (101x)

CONJ DIL

Αντιδραστήριο Συζεύγματος 101x
Conjugate Diluent
Diluant conjugué
Konjugatdiluent
Diluyente del conjugado
Diluyente del Coniugato
Diluyente do Conjugado

ASSAY DIL

Διαλύτης Αντιδραστηρίου Συζεύγματος
Assay Diluent
Diluant sérum
Probendiluent
Diluyente de Ensayo
Diluyente del Test
Diluyente

WASH CONC 10x

Διαλύτης Ανάλυσης
Wash Concentrate (10x)
Solution de lavage (10x)
Waschkonzentrat (10x)
Solución de Lavado Concentrada (10x)
Soluzione di Lavaggio concentrata (10x)
Solução de Lavagem Concentrada (10x)
Συμπυκνωμένο Πλυστικό 10 x

SUBS

Substrate
Substrat
Substrat
Substrato
Substrato
Substrato

SUBS A

Υπόστρωμα
Substrate A
Substrat A
Substrat A
Substrato A
Substrato A
Substrato A
Υπόστρωμα A

SUBS B

Substrate B
Substrat B
Substrat B
Substrato B
Substrato B
Substrato B
Υπόστρωμα B
Stop Solution
Solution d'arrêt
Stopplösung
Solución de Parada
Soluzione bloccante
Solução de Paragem
Διάλυμα Διακοπής Αντίδρασης

STOP SOLN

<IF Components>

SLIDE HEp-2

Hep-2 Cell Substrate Slide
Lames de Substrat Hep-2
HEp-2 Objektträger
Portas con sustrato de Células Hep-2
Cellule Hep-2 su vetrini come Substrato
Lâmina substrato Células HEp-2
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος HEp-2
Κυττάρων

SLIDE CL

Crithidia Luciliae Substrate Slide
Lames de Substrat Crithidia luciliae
Crithidia luciliae Objektträger
Portas con sustrato de Crithidia Luciliae
Crithidia Luciliae su vetrini come Substrato
Lâmina substrato Crithidia Luciliae
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος
Crithidia Luciliae

SLIDE KS

Rat stomach/ kidney Substrate Slide
Lames de Substrat Estomac/rein de rat
Rattenmagen/-niere Objektträger
Portas con sustrato de Estômago Rata/ Riñón
Stomaco/Rene di Ratto su vetrino come
Lâmina substrato Estomâgo/ Rim Rato
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος στομάχ
ου/ νεφρού αρουραίου

SLIDE KSL

Rat stomach/ kidney/ liver Substrate Slide
Lames de Substrat Estomac/rein/foie de rat
Rattenleber/-niere/-magen Objektträger
Portas con sustrato de Estômago Rata / Riñón/ H
ígado
Stomaco/Rene/Fegato di Ratto su vetrino come
Substrato

SLIDE Neutrophil-Et

Lâmina substrato Estomâgo/ Rim/Fígado Rato
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος στομάχ
ου/ νεφρού/ήπατος αρουραίου
Ethanol fixed neutrophil Substrate Slide
Lames de Substrat Neutrophile, fixées à l'éthanol
Objektträger mit Ethanol-fixierten neutrophilen
Granulozyten
Portas con sustrato de Neutrófilos fijados en
Neutrofili fissati in Etanolo su vetrino come
Lâmina substrato neutrófilos fixos etanol
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος ουδετε
ρόφιλων σταθεροποιημένων με αιθανόλη

SLIDE Neutrophil-Fo

Formalin fixed neutrophil Substrate Slide
Lames de Substrat Neutrophile, fixées à la
Objektträger mit Formalin-fixierten neutrophilen
Granulozyten
Portas con sustrato de Neutrófilos fijados en
Formalina
Neutrofili fissati in Formalina su vetrino come
Substrato
Lâmina substrato neutrófilos fixos formol
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος ουδετε
ρόφιλων σταθεροποιημένων με φορμαλίνη

CONJ-FITC

Conjugate
Conjugué
Konjugat
Conjugado
Coniugato
Conjugado
C-ANCA Θετικός Ορός Ελέγχου

CAL

Calibrator
Calibrateur
Kalibrator
Calibrador
Calibratore
Calibrador

DIL SOLN

Αντιδραστήριο Βαθμονόμησης
Diluent Solution
Diluent Solution
Verdünnungsmittel
Solución de Dilución
Soluzione Diluente
Solução Diluente

PBS

Διαλύτης Ανάλυσης
PBS Buffer
Tampon PBS
PBS-Puffer
Ταμπόν PBS
Tampone PBS
Tampão PBS

CONTROL +

Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών
Positive Control
Sérum Contrôle Positif
Positivkontrolle
Control Positivo
Controllo Positivo
Controlo Positivo

CONTROL -

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου
Negative Control
Sérum Contrôle Négatif
Negativkontrolle
Control Negativo
Controllo Negativo
Controlo Negativo
Αρνητικό Πρότυπο Ελέγχου

CONTROL AMA

AMA Positive Control
Sérum Contrôle Positif AMA
AMA Positivkontrolle
Control AMA Positivo
AMA Controllo Positivo
Controlo Positivo AMA

CONTROL ASMA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για AMA
ASMA Positive Control
Sérum Contrôle Positif ASMA
ASMA Positivkontrolle
Control ASMA Positivo
ASMA Controllo Positivo
Controlo Positivo ASMA

CONTROL APCA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για ASMA
APCA Positive Control
Sérum Contrôle Positif APCA
APCA Positivkontrolle
Control APCA Positivo
APCA Controllo Positivo
Controlo Positivo APCA

CONTROL ANA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για APCA
ANA Positive Control
Sérum Contrôle Positif ANA
ANA Positivkontrolle
ANA Positive Control
ANA Controllo Positivo
Controlo Positivo ANA

CONTROL C-ANCA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για ANA
C-ANCA Positive Control
Sérum Contrôle Positif C-ANCA
C-ANCA Positivkontrolle
Control C-ANCA Positivo
C-ANCA Controllo Positivo
Controlo Positivo C-ANCA

CONTROL P-ANCA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για C-ANCA
P-ANCA Positive Control
Sérum Contrôle Positif P-ANCA
P-ANCA Positivkontrolle
Control P-ANCA Positivo
P-ANCA Controllo Positivo
Controlo Positivo P-ANCA

MOUNT

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για P-ANCA
Mounting Medium
Milieu de Montage
Eindeckmittel
Medio de Montaje
Mezzo di Montaggio
Meio de Montagem
Υλικό Συγκόλλησης

COV SLIP

Cover Slip
Lamelles
Deckgläschen
Cubre Objetos
Vetrini Coprioggetto
Lamela
Καλυπτρίδα

BLOT PAPER

Blotting Paper
Papier absorbant
Löschpapier
Papier Secante
Carta Assorbente
Papier Absorbente
Στυπτικό Χαρτί

<DID Components>

GEL PLATE

Agarose Gel Plate
Gel d'agarose
Agarose Gelplatte
Placas de Gel de Agarosa
Piastrre di Gel di Agarosio
Placa de Gel de Agarose
Τρυβλίο γέλης αγαρόζης

ANTIGEN Sc

ENA Antigen
Antigène ENA
ENA-Antigen
ENA Antigeno
Antigene ENA
Antigénio ENA

ANTIGEN RNP/Sm

ENA Antigen
ENA Antigen for RNP/Sm
Antigène ENA RNP, Sm
ENA-Antigen für RNP/Sm
ENA Antigeno RNP/Sm
ENA Antigene RNP/Sm
Antigénio ENA para RNP/Sm
ENA Αντιγόνο για RNP/Sm

ANTIGEN SS-A

ENA Antigen for SS-A
Antigène ENA SS-A
ENA-Antigen für SS-A
ENA Antigeno SS-A
ENA Antigene SS-A
Antigénio ENA para SS-A

ANTIGEN SS-B

ENA Antigen for SS-B
Antigène ENA SS-B
ENA-Antigen für SS-B
ENA Antigeno SS-B
ENA Antigene SS-B
Antigénio ENA para SS-B

ANTIGEN Scl-70

ENA Antigen for Scl-70
Antigène ENA Scl-70
ENA-Antigen für Scl-70
ENA Antigeno Scl-70
ENA Antigene Scl-70
Antigénio ENA para Scl-70

ANTIGEN Jo-1

ENA Antigen for Jo-1
Antigène ENA Jo-1
ENA-Antigen für Jo-1
ENA Antigeno Jo-1
ENA Antigene Jo-1
Antigénio ENA para Jo-1
ENA Αντιγόνο για Jo-1

CONTROL RNP/Sm

RNP/Sm Positive Control
Contrôle positif RNP/Sm
RNP/Sm Positivkontrolle
Control Positivo RNP/Sm
Controllo Positivo RNP/Sm
Controllo Positivo RNP/Sm
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για RNP/Sm

CONTROL SS-A

SS-A Positive Control
Contrôle positif SS-A
SS-A Positivkontrolle
Control Positivo SS-A
Controllo Positivo SS-A
Controllo Positivo SS-A
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για SS-A

CONTROL SS-B

SS-B Positive Control
Contrôle positif SS-B
SS-B Positivkontrolle
Control Positivo SS-B
Controllo Positivo SS-B
Controllo Positivo SS-B
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για SS-B

CONTROL Scl-70

Scl-70 Positive Control
Contrôle positif Scl-70
Scl-70 Positivkontrolle
Control Positivo Scl-70
Controllo Positivo Scl-70
Controllo Positivo Scl-70
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για Scl-70

CONTROL Jo-1

Jo-1 Positive Control
Contrôle positif Jo-1
Jo-1 Positivkontrolle
Control Positivo Jo-1
Controllo Positivo Jo-1
Controllo Positivo Jo-1
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για Jo-1

SAMPLE DIL

Sample Diluent
Diluant échantillon
Probendiluent
Diluyente de Muestra
Diluyente del Campione
Diluyente da Amostra
Διαλυτής Ανάλυσης

Manufactured by:
Fabriqué par:
Hersteller:
Fabricado por:
Prodotto da:
Produzido por:
Παρασκευάστηκε από:

MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD.

5-10 Marunouchi 3-chome, Naka-ku, Nagoya 460-0002, JAPAN

Tel: +81 52-971-2081

Fax: +81 52-971-2337

Authorized Representative in the EU:
Mandataire dans la Communauté européenne:
Bevollmächtigter in der EU:
Representante autorizado en EU:
Rappresentante Autorizzato per l'Unione Europea:
Representante Autorizado na UE:
Εξουσιοδοτημένος Αντιπρόσωπος στην ΕΕ:

QARAD b.v.b.a.

Volmolenheide 13, 2400 Mol, Belgium

Rev. July 7, 2007
7/7/2007



Printing date: 3/4/2010