



HISTOFLUOR[®] Anti-Endomysium -Autoantikörper (EmA)- Fluoreszenz-Test-System

Nur zur in vitro-Diagnostik

Nur für den Export

Nur für Fachpersonal bestimmt

VERWENDUNGSZWECK: Dies ist ein indirekter Fluoreszenz-Antikörpertest für den qualitativen und semi-quantitativen Nachweis von Anti-Endomysium-Autoantikörpern in Humanserum. Dieses Testsystem unterstützt den Antikörpernachweis bei Zöliakie und Dermatitis herpetiformis.

ÜBERSICHT UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Autoantikörper im Menschen richten sich gegen eine Vielzahl unterschiedlicher Antigene. Viele dieser Antigene sind stark konserviert, so dass nahezu identische Antigen-Epitope in den tierischem und humanem Gewebe zu finden sind. Daher ist die Verwendung von Tiergewebe für die Detektion dieser Antikörper ein seit langem angewendetes Laborverfahren. Viele der in Tiergewebe detektierten Autoantikörper stehen in engem Zusammenhang mit bestimmten Autoimmunerkrankungen beim Menschen. Detektion und Quantifizierung spezifischer Autoantikörper ermöglichen die Diagnose und Überwachung spezifischer Autoimmunerkrankungen (1).

TESTPRINZIP

Das Fluoreszenz-Antikörpertestsystem von Immuno Concepts bedient sich der indirekten Immunfluoreszenz-Antikörpertechnik, die erstmals von Weller und Coons beschrieben wurde (2). Patientenproben werden mit Antigensubstrat inkubiert, um die spezifische Bindung von Autoantikörpern an Zellkomponenten zu ermöglichen. Wenn Autoantikörper vorhanden sind, wird ein stabiler Antigen-Antikörper-Komplex gebildet. Nach dem Waschen zur Entfernung nicht-spezifischer und ungebundener Antikörper wird das Substrat mit einem Fluorescein-konjugierten Anti-Human-Antikörper inkubiert. Wenn die Ergebnisse positiv sind, hat sich ein stabiler Komplex aus drei Teilen gebildet, der aus fluoreszierendem Antikörper besteht, der an humanen Autoantikörper gebunden ist, der wiederum an zelluläres Antigen gebunden ist. Dieser Komplex kann mithilfe eines Fluoreszenz-Mikroskops visualisiert werden. Bei Positivproben weisen die Zellen eine apfelgrüne Fluoreszenz mit einem Färbungsmustermerkmal für eine bestimmte Antigenverteilung innerhalb der Zellen auf. Wenn die Probe negativ auf Autoantikörper getestet wurde, weisen die Zellen kein deutlich erkennbares Fluoreszenzmuster auf.

SYSTEMKOMPONENTEN – IM LIEFERUMFANG

Verwendung: Alle Komponenten werden gebrauchsfertig geliefert, ohne dass eine Aliquotierung oder Rekonstitution erforderlich wäre (mit Ausnahme des PBS-Puffers, der vor Verwendung in entionisiertem oder destilliertem Wasser aufgelöst werden muss).

Aufbewahrung: Alle Komponenten können bei einer Temperatur von 2–10 °C aufbewahrt werden. Nach Rekonstitution sollte der PBS-Puffer möglichst in verschraubbaren Behältern bei 2–25 °C aufbewahrt werden. Das Eindeckmedium und die Deckgläser können bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahrt werden.

Haltbarkeit: Die Komponenten sind mindestens 12 Monate nach Herstellungsdatum stabil. Komponenten nicht mehr verwenden, wenn das Verfalldatum überschritten ist.

REAKTIVE REAGENZIEN

Substratträger [SLIDE]: Katalognr 12004-01, 12008-01. Dünne (ca. 4–5 Mikrometer) Schnitte des distalen Oesophagus von Primaten.

Positivkontrollserum für spezifische Anti-Endomysium-Autoantikörper [CONTROL] +: Katalognr. 12021-01.

Gebrauchsfertiges Tropffläschchen mit 1,0 ml positives Humankontrollserum mit für Endomysium-Antigene spezifischen Antikörpern. Dieses Serum weist ein positives Anti-Endomysium-Färbungsmuster auf dem Primatengewebesubstrat auf.

Negativkontrollserum [CONTROL] -: Katalognr. 12031. Gebrauchsfertiges Tropffläschchen mit 1,0 ml negativem Humankontrollserum. Diese Kontrolle kann eine schwach fluoreszierende Färbung, aber kein deutliches Muster aufweisen.

Fluoreszenz-Antikörperreagens [CONJ|FITC]: Katalog-Nr. 12009-01 (9,0 ml), 12075-01 (23 ml). Ziege-Anti-Human-IgA konjugiert mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC). Reagens gebrauchsfertig in Präzisionstropffläschchen mit 9,0 ml für alle 10 Objektträger im Lieferumfang enthalten.

NICHT-REAKTIVE KOMPONENTEN

PBS-Pufferpulver [PWDR|PBS]: Katalognr. 1011. Phosphat-gepuffertes Kochsalzpulver (0,01 M, pH 7,4 ± 0,2). Jeder Beutelinhalt reicht für einen Liter Pufferlösung. (Ein Beutel Pufferpulver für 5 Objektträger ist im Lieferumfang enthalten.)

Herstellung: Einen Beutel Pufferpulver in 1 Liter entionisiertem oder destilliertem Wasser auflösen, abdecken und bis zu vier Wochen oder bis Anzeichen einer Kontamination oder andere sichtbare Änderungen auftreten bei 2–25 °C aufbewahren.

Semipermanentes Eindeckmedium [SOLN|MM]: Katalognr. 1111. Gebrauchsfertiges Tropffläschchen mit 5,0 ml Glycerol-basiertem Eindeckmedium. Dieses Reagens kann bei Raumtemperatur (18-25 °C) aufbewahrt werden.

Deckgläser [CVSLP]: Katalognr. 1042. Jede Packung enthält zehn Deckgläser zu 24 x 64 mm Nr. 1. Die Deckgläser können bei Raumtemperatur (18-25 °C) aufbewahrt werden.

WEITERE ERFORDERLICHE MATERIALIEN – NICHT MITGELIEFERT

Volumetrische Pipetten für Volumina von 30-40 µl.
Coplin-Glaszylinder oder Färbungsschalen
Spritzflasche oder Pasteur-Pipetten
Serologische Pipetten
Mehrere 1-Liter-Behälter (für PBS-Puffer)
Entionisiertes oder destilliertes Wasser
Teströhrchen zur Herstellung von Serumverdünnungen
Saugpapier oder Papierhandtücher
Behälter zu Inkubation
Einmalhandschuhe
Labor-Stoppuhr
Fluoreszenz-Mikroskop mit 495 nm-Erregerfilter und 515 nm-Sperrfilter

SICHERHEITSHINWEISE

1. Alle in diesem Produkt verwendeten Materialien humanen Ursprungs wurden nach von der FDA anerkannten Methoden negativ (nicht wiederholt reaktiv) auf Antikörper gegen HIV-1, HIV-2, Hepatitis C (HCV) und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HbsAg) getestet. Keine Testmethode kann jedoch mit absoluter Sicherheit nachweisen, dass keine Erreger vom Typ HIV-1, HIV-2, Hepatitis C, Hepatitis B bzw. andere Infektionserreger vorhanden sind. Daher müssen alle Materialien des Kits wie potenziell infektiöses Material gehandhabt werden. Alle in diesem Produkt verwendeten Materialien tierischen Ursprungs wurden von durch die USA und das USDA (Landwirtschaftsministerium der Vereinigten Staaten) zugelassenen Einrichtungen beschafft.
2. Alle Patientenproben müssen nach den Anforderungen für Biosafety Level 2 behandelt werden, wie im Handbuch der Centers for Disease Control/National Institutes of Health für potenziell infektiöses humanes Serum und andere Blutbestandteile: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, Ausgabe 1999, empfohlen.*
3. Ein Verdünnen der Bestandteile oder die Zugabe von nicht zum System gehörenden Reagenzien kann die Qualität der Ergebnisse beeinträchtigen.

4. Natriumazid (0,09 %) wird als Konservierungsmittel in einigen Reagenzien verwendet. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren in Abflüssen reagieren und hochexplosive Metallazidsalze bilden. Beim Entsorgen stets mit reichlich Leitungswasser nachspülen, damit im Abfluss keine Rückstände verbleiben. Natriumazid ist giftig und kann bei Verschlucken toxisch wirken.
5. Dieses Kit ist zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
6. Falls hämolysierte oder lipämische Seren verwendet werden müssen, die Seren durch Hitzeeinwirkung (30 Minuten bei 56 °C) inaktivieren, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Mikrobiell kontaminierte Seren dürfen nicht verwendet werden.
7. In Bereichen, in denen mit Patientenproben oder Kitreagenzien gearbeitet wird, nicht essen, trinken oder rauchen.
8. Verspritzen von Reagenzien und Erzeugung von Aerosolen vermeiden.
9. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten bzw. -temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
10. Eine Kreuzkontamination der Reagenzien oder Proben kann die Ergebnisse verfälschen.
11. Wieder verwendbare Glasartikel müssen vor Gebrauch gewaschen und gründlich ausgespült werden, um alle Rückstände von Reinigungsmitteln zu entfernen. Glasartikel müssen vor Gebrauch sauber und trocken sein.
12. Alle Reagenzien, Objektträger und Proben vor Gebrauch Raumtemperatur (18-25 °C) annehmen lassen.
13. Beim Arbeiten mit Proben und Reagenzien müssen Einmalhandschuhe getragen werden. Anschließend die Hände gründlich waschen.
14. Mikrobielle Verunreinigungen der Reagenzien oder Proben können das Ergebnis verfälschen.
15. Niemals mundpipettieren und Haut- und Schleimhautkontakt mit Reagenzien und Proben vermeiden. Bei versehentlichem Kontakt mit viel Wasser und desinfizierender Seife abwaschen.

PROBENGEWINNUNG

Probennahme: Die Tests sollten nach Möglichkeit an Serumproben durchgeführt werden. Dazu durch Venenpunktion in ein steriles Vakuumröhrchen oder ein anderes geeignetes Blutentnahmesystem ca. 5 ml Vollblut entnehmen. Das Blut bei Raumtemperatur (18–25 °C) gerinnen lassen. Zur Vermeidung von Hämolyse muss das Serum anschließend so bald wie möglich durch Zentrifugieren abgetrennt werden.

Störsubstanzen: Stark hämolytische, lipämische oder durch Mikrobewachstum verunreinigte Seren sowie Seren von Ikteruspatienten dürfen nicht verwendet werden, da die Ergebnisse in diesen Fällen verfälscht werden können. Proben, in denen Feststoffe sichtbar sind, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Aufbewahrung: Serumproben können bei 2–10 °C maximal eine Woche lang aufbewahrt werden. Bei einer weiteren Verzögerung der Tests sollten die Proben bei höchstens –20 °C eingefroren werden. Serum darf nicht in einem Kühlschrank oder Gefrierschrank mit Abtauautomatik gelagert werden.

ACHTUNG: Wiederholtes Einfrieren/Auftauen von Patientenproben ist zu vermeiden. Andernfalls sind falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse möglich.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

QUALITÄTSKONTROLLE

Positiv-, Negativ- und PBS-Kontrollen müssen in jeweils einzelnen Durchläufen erfolgen. Die Positivkontrolle sollte eine helle apfelgrüne Fluoreszenz in den jeweiligen Gewebestrukturen mit einem deutlich erkennbaren Muster des verwendeten Kontrollserums aufweisen. Die Negativkontrolle sollte eine wenig intensive, unspezifische, trüb grüne Fluoreszenz im Gewebe ohne erkennbares Färbungsmuster aufweisen. Die PBS-Kontrolle wird zur Beobachtung nicht spezifischer Färbung durch Antikörperreagenzien verwendet und sollte keine grüne Fluoreszenz aufweisen. Wenn die Kontrollen sich nicht wie beschrieben darstellen, ist der Test ungültig und sollte wiederholt werden.

Es ist wichtig, die Intensität der Fluoreszenz nicht mit dem Vorliegen oder Nichtvorliegen von Antikörpern zu verwechseln. Der wichtigste Faktor, der bei der Entscheidung darüber, ob eine bestimmte Serumverdünnung positiv ist, zu berücksichtigen ist, ist das Vorliegen eines deutlich erkennbaren Musters, ungeachtet der Intensität der Fluoreszenzfärbung.

Einige von vielen Faktoren, die die Ergebnisse beeinflussen können, sind unter anderem:

1. Die Art der verwendeten Lichtquelle. Quecksilber-Lichtquellen erzeugen eine größere Erregungsenergie bei 495 nm als Quartz/Halogen-Lichtquellen. Die Quecksilber-Lichtquellen mit 50 Watt, 100 Watt und 200 Watt unterscheiden sich bei 495 nm nur unwesentlich in der Erregungsenergie. Quartz/Halogen-Lichtquellen mit 100 Watt erzeugen eine größere Erregungsenergie bei 495 nm als Quartz/Halogen-Lichtquellen mit 50 Watt.

2. Zustand und Alter der Lichtquelle. Dies spielt insbesondere bei Quecksilber-Lichtquellen eine Rolle, die vor dem Ausbrennen eine stufenweise Reduzierung der Erregungsenergie bei 495 nm aufweisen. Diese stufenweise Reduzierung der Erregungsenergie kann über mehrere Wochen hinweg zu einem erheblichen Empfindlichkeitsverlust führen. Dieses Problem kann durch das Führen eines Zeitprotokolls vermieden werden. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, sollten 50 Watt-Quecksilberlampen alle 100 Stunden und 100 oder 200 Watt-Quecksilberlampen alle 200 Stunden ausgetauscht werden. Quartz/Halogen-Lichtquellen weisen im Allgemeinen vor dem Ausbrennen keine stufenweise Reduzierung der Erregungsenergie auf.
3. Die Art des verwendeten Erregerfilters. Interferenzerregerfilter liefern eine größere Empfindlichkeit über eine viel schmalere Wellenlänge als Absorptionserregerfilter. Für weitere Informationen lesen Sie das Handbuch Ihres Fluoreszenz-Mikroskops oder kontaktieren Ihren Mikroskop-Vertriebs Händler.
4. Richtige Ausrichtung des Lichtwegs des Mikroskops. Anweisungen hierzu finden Sie im Handbuch Ihres Fluoreszenz-Mikroskops.
5. Die numerische Apertur des Objektivs. Bei der Auflicht-Fluoreszenz (Epi) ist die Fluoreszenz exponentiell erhöht, da die numerische Apertur (NA) des Objektivs sich additiv erhöht. Dies kann dazu führen, dass ein 40X-Objektiv mit einer numerischen Apertur von 0,65 eine oder mehrere Verdünnungen niedriger als ein 40X-Objektiv mit einer numerischen Apertur von 0,85 ausliest. Die numerische Apertur ist auf der Objektivseite aufgedruckt.
6. Entstörfilter. Entstörfilter reduzieren spezifische Anregungswellenlängen und können zur Reduzierung der Empfindlichkeit verwendet werden. Für weitere Informationen lesen Sie das Handbuch Ihres Fluoreszenz-Mikroskops oder kontaktieren Ihren Mikroskop-Vertriebs Händler.
7. Die Präzision und Genauigkeit von Verdünnungstechnik, Geräten sowie Leistung der Testverfahren.

INTERPRETATION DER PATIENTENERGEBNISSE

100-fache Gesamtvergrößerung wird für das Positiv-/Negativ-Screening empfohlen, während 200-fache Gesamtvergrößerung für die Mustererkennung empfohlen wird.

Negativ: Ein Serum gilt als negativ, wenn die Färbung geringer oder gleich der Negativkontrollvertiefung ohne erkennbares Färbungsmuster ist. Das Gewebe kann eine schwache Färbung, jedoch ohne deutlich erkennbares Muster aufweisen.

Positiv: Ein Serum gilt als positiv, wenn das Gewebe ein deutlich erkennbares Färbungsmuster aufweist.

FLUORESCENZ-INTENSITÄT

Die Fluoreszenz-Intensität kann semiquantisiert werden, wenn die Richtlinien zu Fluoreszenz-Antikörperreagenzien, wie sie von den Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia (CDC) aufgestellt wurden, befolgt werden.

- 4+ Brilliant gelb-grün (maximale Fluoreszenz): klare Zellstruktur.
- 3+ weniger brillante gelb-grüne Fluoreszenz: klare Zellstruktur.
- 2+ definiertes Muster, aber trübe Fluoreszenz.
- 1+ äußerst schwache Fluoreszenz.

Zur Bestimmung der Fluoreszenz-Intensität ist ein Standard-Objekträger, FITC QC Slide™, Katalognummer 1900, von Immuno Concepts N.A., Ltd. erhältlich.

ANGABE DER ERGEBNISSE

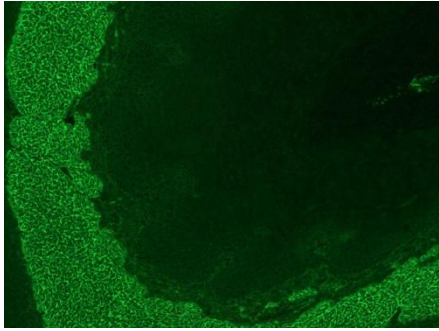
Screening: Die Ergebnisse des Tests sind als positiv oder negativ bei 1:5-Verdünnung anzugeben, und das Färbungsmuster ist anzugeben.

MUSTERDETEKTION

Anti-Endomysium-Autoantikörper (**EMA**): Ein feines Netzwerk an Fasern, das glatte Muskelfasern in der Muscularis mucosa umgibt, ist zu beobachten

Antigen: Gewebstransglutaminase in der Endomysium-Hülle umgibt die glatten Muskelfasern.

Assoziierte Erkrankung: Anti-Endomysium-Autoantikörper treten bei 95–100 % der unbehandelten Patienten mit Zöliakie auf.

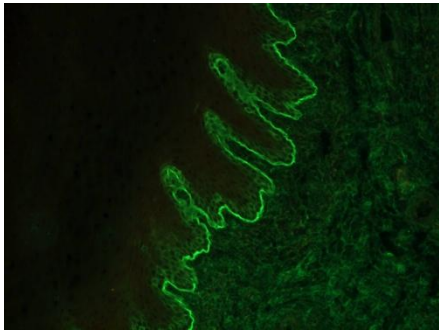


Anti-Endomysium-Autoantikörper

Antikörper gegen die Basalmembran Deutliche Färbung der Basalmembran entlang der dermo-epidermalen Junktion.

Antigen: Das Antigen wurde als ein 180-kDa-Transmembranprotein (BP 180) identifiziert.

Assoziierte Erkrankung: Diese Antikörper werden mit bullösem oder blasenbildendem Pemphigoid assoziiert und wurden bei etwa 70 % der Patienten mit dieser Erkrankung entdeckt.

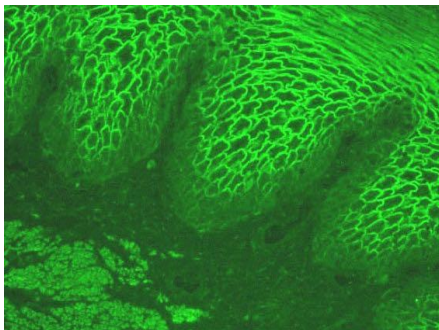


Antikörper gegen die Basalmembran

Antikörper gegen intrazellulären Zement: Färbung des intrazellulären Materials in der geschichteten Epithelschicht des Oesophagus.

Antigen: Das Antigen wurde als ein 130-kDa-Desmoglein-3-Protein identifiziert.

Assoziierte Erkrankung: Diese Antikörper werden mit der aktiven Form des Pemphigus vulgaris assoziiert und wurden bei etwa 90% der Patienten mit dieser Erkrankung entdeckt.



Antikörper gegen intrazellulären Zement:

BESCHRÄNKUNGEN DES TESTS

1. Der Nachweis von Antikörpern allein ist für eine Diagnose nicht ausreichend. Diese Ergebnisse müssen immer im Zusammenhang mit der Krankengeschichte und den Symptomen des Patienten, dem körperlichen Befund und anderen diagnostischen Methoden interpretiert werden.
2. Lediglich auf Basis eines positiven Tests auf Antikörper darf keine Behandlung initiiert werden. Für den Beginn einer Therapie müssen klinische Symptome, weitere Laborergebnisse und der Gesamteindruck des Arztes herangezogen werden.
3. Selbst wenn eine positive Reaktion ein starkes Indiz für eine Erkrankung des Bindegewebes darstellt, ist der diagnostische Wert gering und eher als Teil der allgemeinen Anamnese eines Patienten zu werten.
4. Färbungsmuster verändern sich häufig mit fortschreitender Titrierung von Seren. Dieses Phänomen tritt im Allgemeinen auf, wenn mehr als eine Erkrankung vorliegt.
5. Angesichts der vielen Möglichkeiten, über die Fluoreszenz-Mikroskope verfügen, wird eine Standardisierung von Lichtquellen, Filter und Optik für den Vergleich von Patiententiter zwischen den Laboren empfohlen.

Bei einer Beschädigung der Schutzverpackung bitte vor dem Gebrauch mit Immuno Concepts in Verbindung setzen.



Temperatur-
beschränkung



Autorisierter Repräsentant in
der Europäischen
Gemeinschaft



Hersteller



Enthält genügendes für <n>
Tests



Beachten Sie die
Anwendungsvorschriften



Medizinische In Vitro-
Diagnoseeinheit



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hanover



Immuno Concepts, N.A. Ltd. 9825 Goethe Road, Suite 350 Sacramento, CA. 95827
Technischer Support USA: 1.800.251.5115 Außerhalb der USA: 1.916.363.2649
E-Mail: technicalsupport@immunoconcepts.com

Cat 12000-01-I,

4.11.02.003.142-De

Rev. 1.2 © Copyright 2019

HISTOFLUOR® ANTI-ENDOMYSIUM -AUTOANTIKÖRPER-(EMA) FLUORESZENZ-TESTVERFAHREN

HINWEIS: Wenn das Labor ein automatisches Pipettiersystem benutzt, müssen die Verfahrensweisen und die Empfehlungen des Herstellers befolgt werden. Das Pipettiersystem muss für die verwendeten Verdünnungen, Abgabevolumen und Inkubationszeiten, wie unten beschrieben, programmiert werden.

1. PUFFER (PBS) REKONSTITUIEREN

Den Inhalt eines Beutels Pufferpulver in einem Liter entionisiertem oder destilliertem Wasser auflösen. Der PBS-Puffer kann verschlossen bei 2–10 °C gekühlt bis zu vier Wochen aufbewahrt werden.

2. PATIENTENPROBEN VERDÜNNEN

Screening: Patientenproben 1:5 verdünnen, indem 0,1 ml (100 µl) Serum zu 0,400 ml (400 µl) rekonstituiertem PBS zugegeben werden.

3. SUBSTRATTRÄGER VORBEREITEN (30-40 µl/Vertiefung)

Objektträger aus der Folie entnehmen und Kontrollseren wie folgt in den Kontrollvertiefungen platzieren: Tropfflasche mit Kontrollserum umdrehen und vorsichtig drücken, bis an der Spitze ein Tropfen austritt. Den Tropfen vorsichtig in die entsprechende Kontrollvertiefung geben, dabei direkten Kontakt der Tropferspitze mit der Oberfläche des Objektträgers vermeiden. 1 Tropfen (30-40 µl) Patientenprobe in die nummerierten Vertiefungen geben.

HINWEIS: Für ein allgemeines Screening wird die Anti-Endomysium-Positivkontrolle empfohlen. Für die semiquantitative Titrierung ist die Positivkontrolle auszuwählen, die das ähnlichste Fluoreszenzmuster der Screening-Probe aufweist (z. B. für eine Patientenprobe, die ein Anti-Endomysium-Fluoreszenzmuster beim Screening aufweist, ist die Anti-Endomysium-Positivkontrolle zu verwenden).

ACHTUNG: DIREKTER KONTAKT DER TROPFERSPITZE MIT DEM OBJEKTTRÄGER KANN DAS ANTIGEN-SUBSTRAT BESCHÄDIGEN.

4. OBJEKTTRÄGER INKUBIEREN (30 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur, d. h. 18–24 °C).

Objektträger in eine feuchte, bedeckte Schale legen (z. B. Petrischale mit angefeuchtetem Papierhandtuch). 30 Minuten (± 5 Minuten) bei Raumtemperatur (18–24 °C) abgedeckt inkubieren lassen.

5. PBS-SPÜLUNG

Objektträger aus der Inkubationsschale nehmen und mit Spritzflasche, Pasteur- oder serologischer Pipette kurz mit PBS spülen. Den Puffer nicht direkt in die Vertiefungen einspritzen.

HINWEIS: Um bei Objektträgern eine Kreuzkontamination zu vermeiden, den PBS direkt auf die Mittellinie des Objektträgers spritzen, dabei den Träger zuerst in Richtung der oberen Reihe der Vertiefungen neigen und danach in Richtung der unteren Reihe der Vertiefungen.

6. PBS-WASCHVORGANG (10 Minuten)

Objektträger in einem entsprechenden Gefäß 10 Minuten mit PBS waschen (Glaszylinder, Schale). Der Waschvorgang kann ohne Auswirkung auf die Testergebnisse auf 10-30 Minuten ausgedehnt werden. PBS-Waschlösung nach Gebrauch entsorgen.

7. FLUORESZENZ-ANTIKÖRPERREAGENS (Vertiefungen mit 12-14 Tropfen befüllen)

Jeweils einen Objektträger aus dem PBS-Puffer nehmen. Überschüssiges Wasser durch Ausklopfen auf Saugpapier oder Papierhandtuch entfernen. Objektträger sofort wieder in

die Inkubationskammer geben und die Vertiefungen vollständig mit Fluoreszenz-Antikörperreagens füllen; beginnend mit einem Tropfen pro Vertiefung. Vorgang für alle Objektträger wiederholen. Das Fluoreszenz-Antikörperreagens wurde titriert, um für nach dem Spülen auf dem Objektträger verbliebenen Puffer zu kompensieren.

HINWEIS: Es ist wichtig, dass die Vertiefungen auf dem Objektträger während dieses Vorgangs nicht austrocknen, andernfalls kann das Substrat beschädigt werden.

DEN OBJEKTTRÄGER NICHT TROCKEN TUPFEN ODER WISCHEN, ODER LÄNGER ALS 15 SEKUNDEN OHNE FLUORESZENZ-ANTIKÖRPERREAGENS STEHEN LASSEN.

8. OBJEKTTRÄGER INKUBIEREN (30 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur, d. h. 18–24 °C).

Deckel auf Inkubationskammer setzen und mit Papierhandtuch abdecken, um das Eindringen von Licht zu vermeiden, falls die Kammer durchsichtig ist. Objektträger 30 Minuten (± 5 Minuten) bei Raumtemperatur (18–24 °C) inkubieren lassen.

9. PBS-SPÜLUNG

Objektträger aus der Inkubationsschale nehmen und kurz mit PBS spülen. Den Puffer nicht direkt in die Vertiefungen einspritzen.

10. PBS-WASCHVORGANG (10 Minuten)

Objektträger in einem entsprechenden Gefäß 10 Minuten mit PBS waschen (Glaszylinder, Schale). Der Waschvorgang kann ohne Auswirkung auf die Testergebnisse auf 10-30 Minuten ausgedehnt werden, wenn keine Gegenfärbung verwendet wird.

11. DECKGLAS AUFSETZEN

Jeweils einen Objektträger aus dem PBS-Puffer nehmen. Überschüssiges Wasser durch Ausklopfen auf Saugpapier oder Papierhandtuch entfernen.

OBJEKTTRÄGER NICHT TROCKEN TUPFEN ODER WISCHEN, ODER LÄNGER ALS 15 SEKUNDEN OHNE DECKGLAS STEHEN LASSEN. Ausreichend semipermanentes Eindeckmedium auf die Vertiefungen jedes Objektträgers geben. Deckglas vorsichtig in Position bringen; dabei Lufteinschlüsse vermeiden; hierzu das Deckglas vorsichtig an einem Ende des Objektträgers aufsetzen und auf das andere Ende herablassen.

HINWEIS: Jeweils einen Objektträger aus dem PBS-Puffer nehmen. Überschüssiges Wasser durch Ausklopfen auf Saugpapier oder Papierhandtuch entfernen.

OBJEKTTRÄGER NICHT TROCKEN TUPFEN ODER WISCHEN, ODER LÄNGER ALS 15 SEKUNDEN OHNE DECKGLAS STEHEN LASSEN. Ausreichend semipermanentes Eindeckmedium auf die Vertiefungen jedes Objektträgers geben. Deckglas vorsichtig in Position bringen; dabei Lufteinschlüsse vermeiden; hierzu das Deckglas vorsichtig an einem Ende des Objektträgers aufsetzen und auf das andere Ende herablassen.

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG:

USA: 1-800-251-5115 Außerhalb der USA: 1-916-363-2649
E-Mail: technicalsupport@immunoconcepts.com