

**ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (P-ANCA)
TEST SYSTEM**

For *In Vitro* Diagnostic Use

AD PAN60 60 Tests

INTRODUCTION:

Standard IFA methods allow for the observation of several different patterns. Two patterns that have been well defined are C-ANCA and P-ANCA. The P-ANCA pattern shows an uneven granular, staining of the cytoplasm. During the 2nd International ANCA Workshop it was agreed that these two different patterns should be used to subclassify the antibodies. ANCA antibody detection by IFA methods has been a useful aid in the assessment of patient diagnosis, and to a certain extent their prognosis and response to therapy. Although there has been much work done with the IFA ANCA, the availability of an EIA MPO Test has further enhanced the overall picture. The use of EIA and IFA together allows for the best possible patient assessment. The MPO & ANCA (PR3) EIA allows for a very quick qualitative as well as quantitative report.

PRINCIPLES:

The primary reaction in this assay involves human antibody (patient sera) and a specific antigen (human granulocytes). If ANCA antibody is present in the patient sera it will bind to form an antigen/ antibody complex. This complex is then labeled with an FITC labeled antihuman conjugate that allows one to visualize the reaction through the microscope.

MATERIALS PROVIDED:

1. FITC IgG H&L conjugate No. AD CGEA25 (2.5 ml) w/Evans Blue is to be stored at 2-8° C upon receipt. The conjugate is stable at this temperature until expiration date on label.
2. The Formalin Fixed antigen slides of ANCA (Human Granulocyte) substrate **must be stored at 2-8° C** upon receipt. Check label for specific expiration date.
3. P-ANCA positive control No. AD PCPA (1.0 ml), demonstrating a P-ANCA pattern, should be stored at 2-8° C upon receipt. Check label for specific expiration date.
4. ANCA negative control No. AD NC (1.0 ml) should be stored at 2-8° C upon receipt. Check label for specific expiration date.
5. Buffer Pack No. AD PBS1 - Phosphate Buffered Saline is stable at room temperature storage. Check label for specific expiration date. Check label for specific expiration date. Rehydrate buffer with 1 liter of sterile DI H₂O. The reconstituted, buffer does not contain preservatives and should be stored at 2-8° C. Care should be taken to avoid contamination.
6. Mounting Medium No. AD AMM3 should be stored at 2-8° C. Check label for specific expiration date.

GENERAL STORAGE OF THE KIT:

The slides, controls, and conjugate should be stored at 2-8° C.

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED:

- Test tube rack or microtiter system
- Disposable pipettes
- Staining Dish and Slide Forceps
- Fluorescence Microscope
- Moisture Chamber
- Volumetric Flask (500 ml)
- Distilled H₂O

ADDITIONAL COMPONENTS AVAILABLE:

C-ANCA Positive Control (Cat. AD PCCA)

Note: All kit components are available separately. Please see catalog for more details.

SPECIMEN COLLECTION:

Serological specimens should be collected under aseptic conditions. Hemolysis is avoided through prompt separation of the serum from the clot. Serum should be stored at 2-8° C if it is to be analyzed within a few days. Serum may be held for 3 to 6 months by storage at -20° C or lower. Lipemic and strongly hemolytic serum should be avoided. When specimens are shipped at ambient temperatures, addition of a preservative such as 0.01% thimerosal or < 0.1% sodium azide is strongly recommended.

TEST INSTRUCTIONS:

Screening: Dilute test serums 1:20 (1 part patient sample to 19 part diluent) in PBS.

Titration: Set up doubling dilutions of serum starting at 1:20, (i.e. 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, etc.). The slides are ready to use after they reach room temperature.

1. Allow slide to reach room temperature before opening envelope. Tear envelope at notch. Carefully remove the slide and avoid touching the antigen areas. The slide is now ready to use.
2. Place a drop of serum (20-30 µl) over the antigen wells.
3. Place slide with patient's serum and controls in a moist chamber for 20 minutes at room temperature (approximately 19-24° C).
4. Remove slide from moisture chamber and allow the serum to run off onto a piece of paper towel. Using a wash bottle, gently rinse remaining sera from slide being careful not to aim the stream directly on the well.
5. Wash in PBS (Cat. 1601) for two separate five minute changes.
6. Place a blotter on the lab table with absorbent side up. Remove slide from PBS and invert so that substrate side faces absorbent side of blotter. Line up wells to blotter holes. Place slide on top of blotter. Do not allow substrate to dry.
7. Wipe back of slide with dry lint free paper towel. Apply sufficient pressure to slide while wiping to absorb buffer. Do not allow substrate to dry.
8. Deliver 1 drop (20-30 µl) of conjugate per antigen well. Repeat steps 3-7.
9. Place 4-5 drops of mounting medium on slide.
10. Apply a 22 x 70 mm coverslip. Examine the slide under a fluorescent microscope.

Note: To maintain fluorescence, store mounted slide in a moisture chamber placed in a dark refrigerator.

Note: Caution should be taken to not extend incubation or rinse times. The substrate will be effected and poor morphology will result.

RESULTS:

Positive

A positive result is reported when the cytoplasm of the human granulocyte substrate displays a 1 + or greater fluorescence. P-ANCA and C-ANCA will give a similar uneven granular staining of the cytoplasm, with formalin fixation.

C-ANCA and P-ANCA may occur together C-ANCA antibodies are associated with classic Wegener's granulomatosis.

P-ANCA (MPO) antibodies are associated with renal limited diseases.

Negative


A serum is considered negative for ANCA if the cytoplasm fluorescence is less than 1 +. Patients should be screened on ANA HEP2 substrate to avoid confusion with PSEUDO-ANCA. PSEUDO-ANCA will stain the cytoplasm of HEP2 cells whereas true ANCA will be negative on HEP2 unless the patient possesses both ANA and ANCA antibodies.

QUALITY CONTROL:

1. Positive and negative serum controls must be included in each day's testing to confirm reproducibility, sensitivity and specificity of the test procedure.
2. The negative serum control should result in little (+) or no fluorescence. If this control shows bright fluorescence, either the control antigen, conjugate or technique may be at fault.
3. The positive serum control should result in bright 3+ to 4+ fluorescence. If this control shows little or no fluorescence, either the control, antigen, conjugate or technique may be at fault.
4. In addition to positive and negative serum controls, a PBS control should be run to establish that the conjugate is free from nonspecific staining of the antigen substrate. If the antigen shows bright fluorescence in the PBS control repeat using fresh conjugate. If the antigen still fluoresces, either the conjugate or antigen may be at fault.

PRECAUTIONS:

1. All human components have been tested for (HB_sA_g) and HTLVIII/LAV by an FDA approved method and found to be negative (not repeatedly reactive). However, this does not assure the absence of HB_sA_g or HTLVIII/LAV. All human components should be handled with appropriate care.
2. The sodium azide (<0.095%) included in the controls and conjugate is toxic if ingested.
3. Do not use components beyond their expiration date.
4. Follow the procedural instructions exactly as they appear in this insert to insure valid results.
5. For *In vitro* Diagnostic Use
6. Handle slides by the edges since direct pressure on the antigen wells may damage the antigen.
7. Once the procedure has started do not allow the antigen in the wells to dry out. This may result in false negative test results, or unnecessary artifacts.
8. Use separate pipette tips for each sample and reagent to avoid cross contamination.
9. Reagents should be inspected for evidence of bacterial or fungal contamination.
10. Do not reuse substrate slide.

Component	AD PBS1 PBS Powder Packets AD AMM3 Mounting Medium	Precautionary Statement Prevention: P264 Wash thoroughly after handling. P280 Wear protective gloves and clothing.
Pictogram		Response: P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if easy to do. Continue rinsing.
Signal Word	WARNING	
Hazard Statement	H319 Causes serious eye irritation	P337+P313 If irritation persists, get medical advice/attention.

BIBLIOGRAPHY:

1. Wilk A and van der Woude F: Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): A historic review. *APMIS* 97 (Suppl 6):7, 1989.
2. Wilk A: Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS* 97 (Suppl 6):12-3, 1989.
3. Rasmussen N and Wilk A: Indirect immunofluorescence examination for IgG-ANCA in sera submitted for the 1st international workshop on ANCA, 1988. *APMIS* 97(Suppl 6):16-20, 1989.
4. van der Woude FJ, et al: Autoantibodies against neutrophils and monocytes: Tools for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*, Feb 13:425-9, 1985.
5. Falk R.J. and Jennette J.C.: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* 38(25):1651-7, 1988.
6. Goldschmeding R., et al: Different immunological specificities and diseases associations of c-ANCA and p-ANCA. *Neth J Med* 36(3):121-5, 1990.

ALPHADIA sa/nv
DIAGNOSTIC PRODUCTS
Avenue Vésale 26
B1300 WAVRE
BELGIUM
TEL : 32 (0) 10 24 26 49
FAX : 32 (0) 10 24 55 99
contact@alphadia.be



EC REP Emergo Europe
Princessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (P-ANCA) TEST SYSTEM

Réservé au diagnostic *in vitro*.

AD PAN60 60 Tests

Intitulé du test:

Détection des anticorps anti-p-ANCA par IFI

Application:

Test d'immunofluorescence indirecte pour la détection des anticorps anti-antigènes périphériques des polynucléaires neutrophiles dans le sérum de patients.

Principe:

La principale réaction du test implique des anticorps circulant dans le sérum du patient qui s'attachent à leurs antigènes homologues. Ceci se produit pendant la période d'incubation alors que le sérum recouvre la surface de l'antigène. Une seconde réaction suit alors une étape de rinçage qui élimine tous les anticorps humains libres. Le réactif utilisé lors de la seconde réaction est un conjugué anti-globuline humaine marquée à la fluorescéine. La surface de l'antigène est ensuite soigneusement rincée pour éliminer l'excès de conjugué libre, et visualisée sous un microscope à fluorescence adaptée.

Matériel fourni:

Conservation et stabilité des composants

1. Lames d'antigènes ANCA fixés à la formaline (conserver à 2-8 °C).
2. Contrôle p-ANCA positif (conserver entre 2 et 8 °C).
3. Contrôle ANCA négatif (conserver entre 2 et 8 °C).
4. Conjugué ITCF anti-IgG H&L avec bleu d'Evans pour ANCA (conserver entre 2 et 8 °C). No AD CGEA25 2.5 ml.
5. Sachet de tampon No AD PBS1 - Tampon phosphate salin (tampon reconstitué qui ne contient pas d'agents conservateurs et doit être conservé entre 2 et 8 °C).
6. Le liquide de montage No AD AMM3 pour ANCA est stable lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C.

Matériel supplémentaire requis mais non fourni:

Tubes à essai et portoir ou plaques de microtitration
Tips jetables.
Bac de coloration et pinces pour lames
Chambre humide
Ballon volumétrique (500 ml)
H2O distillée
Microscope à fluorescence
Serviettes en papier (non pelucheuses)

Préparation des réactifs:

1. Sachet de tampon No 1601. Réhydrater le tampon avec 1 litre d'eau distillée stérile.

Prélèvement des échantillons:

Les échantillons de sang doivent être prélevés dans des conditions aseptiques. Une hémolyse est évitée par une séparation rapide du sérum du caillot. Le sérum doit être conservé entre 2 et 8 °C en cas d'analyse prévue dans un délai de quelques jours. On peut garder le sérum pendant 3 à 6 mois en le conservant à une température maximale de -20 °C. Éviter les sérums lipémiques et fortement hémolytiques. Lorsque les échantillons sont expédiés à température ambiante, l'ajout d'un agent conservateur tel que 0,01 % (thimérosal) ou 0,095 % d'azide de sodium est fortement conseillé.

Instructions du test:

Test de screening: diluer les sérums au 1:20 dans du PBS.
Titrages: préparer des dilutions sérielles du sérum au 1:20 (à savoir, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, etc.)

1. Une fois les lames parvenues à température ambiante, ouvrir le conditionnement des lames en le déchirant à l'encoche. Retirer la lame avec soin et éviter de toucher les parties où se situent les antigènes. La lame est maintenant prête à l'emploi.
2. Déposer une goutte de sérum (20 à 30 µl) et des contrôles sur les puits contenant les antigènes.
3. Placer la lame contenant le sérum du patient et les contrôles dans une chambre humide à température ambiante pendant 20 minutes (environ 24 °C).
4. Enlever la lame de la chambre humide et pour permettre au sérum de s'écouler sur un morceau de serviette en papier. À l'aide d'une pissette, rincer délicatement le reste de sérum de la lame en prenant soin de détourner le jet de rinçage du puits.
5. Laver dans du PBS pendant cinq minutes. Répéter l'opération en utilisant du PBS frais.
6. Placer un buvard sur la table de laboratoire avec le côté absorbant tourné vers le haut. Retirer la lame du PBS et la retourner de manière à placer le côté frottis en face du côté absorbant du papier buvard. Absorber le tampon entre les puits à l'aide du buvard. Placer la lame sur le buvard. Ne pas laisser les frottis sécher. Essuyer le dos de la lame avec une serviette en papier sèche et non pelucheuse. Exercer suffisamment de pression sur la lame tout en essuyant pour absorber le tampon.
7. Déposer 1 goutte (20 à 30 µl) de conjugué dans chaque puits. Répéter les étapes 3 à 6.
8. Déposer 4 à 5 gouttes de liquide de montage sur la lame.
9. Déposer une lamelle couvre-objet de 22 x 70 mm. Examiner la lame sous un microscope à fluorescence.

Remarque: pour maintenir la fluorescence, conserver la lame montée dans une chambre humide placée à l'obscurité dans un réfrigérateur.

Contrôle de qualité:

1. Des contrôles de sérums positif et négatif doivent être inclus dans chaque série pour confirmer la reproductibilité, sensibilité et spécificité du test.
2. Le contrôle de sérum négatif devrait faire apparaître peu (1+) ou pas de fluorescence. La mise en évidence d'une fluorescence vive par ce contrôle peut résulter du contrôle, de l'antigène, du conjugué ou de la technique.
3. Le contrôle de sérum positif devrait être à l'origine d'une fluorescence vive de 3+ à 4+. La mise en évidence d'une fluorescence faible ou inexistante par ce contrôle peut résulter du contrôle, de l'antigène, du conjugué ou de la technique.


4. En plus des contrôles de sérums positif et négatif, effectuer un contrôle PBS pour s'assurer que le conjugué ne provoque pas de coloration non spécifique du substrat antigénique. Si l'antigène montre une fluorescence vive avec le contrôle PBS, répéter l'opération à l'aide d'un nouveau conjugué. Une fluorescence de l'antigène peut résulter d'une dégradation du conjugué ou de l'antigène.

Interprétation du titre:

Le titre est la dilution de sérum de patients la plus élevée qui montre une faible (1+) fluorescence en cas de coloration périmoléculaire positive. Après fixation au formaldéhyde, les P-ANCA et C-ANCA donnent une coloration granuleuse irrégulière similaire du cytoplasme. Les C-ANCA et P-ANCA peuvent apparaître ensemble. Les anticorps C-ANCA sont liés à la granulomatose de Wegener classique. Les anticorps P-ANCA (MPO) sont liés aux néphropathies uniquement.

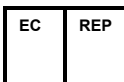
Précautions:

1. Le HBsAg et le HTLV-III/LAV de tous les composants d'origine humaine ont été testés par dosage radioimmunologique, par une méthode approuvée par la FDA, et se sont avérés négatifs. Ceci ne garantit toutefois pas l'absence de HBsAg ou de HTLV-III/LAV. Tous les composants d'origine humaine doivent être manipulés avec les précautions appropriées.
2. Les contrôles et le conjugué contiennent de l'azide de sodium (0,095%)
3. Ne pas utiliser les composants après leur date de péremption.
4. Suivre les instructions de la méthode exactement comme elles figurent dans cette notice afin de garantir des résultats valables.
5. Réservé au diagnostic *in vitro*.
6. Manipuler les lames par les bords car une pression appliquée directement sur les puits contenant les antigènes peut altérer l'antigène.
7. Une fois la procédure lancée, ne pas laisser sécher les antigènes des puits. Ceci peut entraîner l'obtention de résultats faussement négatifs ou l'apparition d'artefacts superflus.
8. Utiliser des tips pour chaque échantillon et réactif pour éviter la contamination croisée.
9. Les réactifs doivent être inspectés afin d'éliminer une éventuelle contamination bactérienne ou contamination fongique
10. Ne pas réutiliser les lames.

Composant	AD PBS1 PBS sachet poudre AD AMM3 Liquide de montage	Déclaration de précaution Prévention: P264 Se laver les mains soigneusement après manipulation. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/ du visage.
Pictogramme		Réponse: P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P337+P313 Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.
Mot de signal	ATTENTION	
Mention de danger	H319 Provoque une sévère irritation des yeux.	



ALPHADIA sa/nv
DIAGNOSTIC PRODUCTS
Avenue Vésale 26
B1300 WAVRE
BELGIUM
TEL : 32 (0) 10 24 26 49
FAX : 32 (0) 10 24 55 99
contact@alphadia.be



Emergo Europe
Princessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



Deutsch



ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (P-ANCA) TEST SYSTEM

Die Tests sind für die *diagnostische Verwendung in vitro* bestimmt.

AD PAN60 60 Tests

Testtitel:

IFT-Test für anti-cytoplasmatische Antikörper (p-ANCA)

Verwendungszweck:

Indirekter Immunofluoreszenztest zur Erkennung von perinuclearen anti-neutrophilen cytoplasmatischen Antikörpern im Patientenserum

Prinzip:

Die primäre Testreaktion erfasst im Serum des Patienten zirkulierende Antikörper, die sich an ihre homologen Antigene anlagern. Dies findet in der Inkubationszeit statt, während das Serum die Antigenoberfläche bedeckt. Auf einen Auswaschvorgang, in dem alle ungebundenen humanen Antikörper entfernt werden, folgt eine sekundäre Reaktion. Das in der sekundären Reaktion verwendete Reagens ist ein fluoresceinmarkiertes Antihumanglobulin-konjugat. Die Antigenoberfläche wird danach vollständig von ungebundenem Konjugat freigespült und unter einem geeigneten Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

Bereitgestellte Materialien:

- Lagerung und Stabilität von Komponenten
- 1. ANCA Antigenobjektträger, beschichtet mit humanen Granulozyten (bei 2-8 °C lagern)
- 2. P-ANCA Positivkontrolle (bei 2-8 °C lagern)
- 3. ANCA Negativkontrolle (bei 2-8 °C lagern)
- 4. ANCA FITC IgG H&L Konjugat mit Evans-Blau 2.5 ml (bei 2-8 °C lagern) AD CGEA25
- 5. Pufferpackung Nr. AD PBS1 – Phosphatgepufferte Salzlösung (rekonstituierter Puffer enthält keine Konservierungsmittel und sollte bei 2-8 °C gelagert werden).
- 6. ANCA Einbettungsmittel Nr. AD AMM3 lässt sich bei 2-8 °C stabil lagern.

Weitere erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien:

- Reagenzgläser und Gestell- oder Mikrotitersystem
- Einmalgebrauchspipetten
- Färbeschale und Objektträgerpinzette
- Feuchtkammer
- Messkolben (500 ml)
- Destilliertes H2O
- Fluoreszenzmikroskop
- Nichtfasernde Papiertücher

Reagensvorbereitung:

1. Pufferpackung Nr AD PBS1. Puffer mit 1 Liter sterilem destilliertem Wasser rehydratisieren.

Probennahme:

Serologische Proben sollten unter aseptischen Bedingungen genommen werden. Hämolyse wird durch umgehende Trennung des Serums vom Koagulat vermieden. Serum sollte bei 2-8 °C gelagert werden, wenn es innerhalb weniger Tage analysiert werden soll. Serum lässt sich bei -20 °C oder darunter 3 bis 6 Monate lang lagern. Lipämisches und stark hämolytisches Serum sollte vermieden werden. Wenn Proben bei Raumtemperatur bereitgestellt werden, wird die Zugabe eines Konservierungsmittels wie 0,01% (Thimerosal) oder < 0,095% Natriumazid nachdrücklich empfohlen.

Testanweisung:

- Screening: verdünnen Sie Testsera 1:20 in PBS.
 Titrationen: setzen Sie Serumverdünnungen mit jeweils verdoppelter Verdünnung an, beginnend bei 1:20 (d. h. 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 etc.)
1. Wenn die Objektträger Raumtemperatur erreicht haben, reißen Sie die Objektträgerhülle an der Kerbe auf. Entnehmen Sie den Träger vorsichtig, ohne die Antigenbereiche zu berühren. Der Objektträger ist nun einsatzbereit.
 2. Geben Sie jeweils einen Tropfen Serum (20 bis 30 µl) und Kontrolle auf die Antigenkavitäten.
 3. Legen Sie den Objektträger mit dem Patientenserum und den Kontrollen 20 Minuten lang in eine Feuchtkammer bei Raumtemperatur (ungefähr 24 °C).
 4. Nehmen Sie den Objektträger aus der Feuchtkammer, und lassen Sie das Serum auf ein Stück Papiertuch ablaufen. Spülen Sie verbleibende Sera mit einer Waschflasche vom Objektträger, wobei Sie sorgfältig darauf achten, den Spülstrahl nicht direkt auf die Kavität zu richten.
 5. Fünf Minuten in PBS waschen. Wiederholen Sie den Vorgang mit frischem PBS.
 6. Legen Sie ein Löschblatt auf den Labortisch, mit der absorbierenden Seite nach oben. Nehmen Sie den Objektträger aus dem PBS und drehen Sie ihn um, so dass die Gewebeseite der absorbierenden Seite des Löschblatts zugewandt ist. Richten Sie die Kavitäten auf die Löschblattlöcher aus. Legen Sie den Objektträger auf die Löschblattoberseite. Das Gewebe darf nicht trocknen. Wischen Sie die Traggerrückseite mit einem nichtfasernden Papiertuch ab. Üben Sie beim Abwischen zum Absorbieren des Puffers genügend Druck auf den Objektträger aus.
 7. Geben Sie 1 Tropfen (20-30 µl) Konjugat auf jede Antigenkavität. Wiederholen Sie die Schritte 3-6.
 8. Geben Sie 4-5 Tropfen Einbettungsmittel auf den Objektträger.
 9. Setzen Sie ein Deckglas von 22 x 70 mm auf. Untersuchen Sie den Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop.
- Hinweis: um die Fluoreszenz aufrechtzuerhalten, lagern Sie den präparierten Objektträger in einer Feuchtkammer in einem dunklen Kühlschrank.

Qualitätskontrolle:

1. Positive und negative Serumkontrollen müssen täglich beim Testen einbezogen werden, um die Reproduzierbarkeit, Empfindlichkeit und Spezifität der Testprozedur zu bestätigen.
2. Die negative Serumkontrolle sollte zu geringer (+) oder ausbleibender Fluoreszenz führen. Sollte sich bei dieser Kontrolle helle Fluoreszenz zeigen, ist die Kontrollprobe, das Antigen, das Konjugat oder die Vorgehensweise möglicherweise fehlerhaft.
3. Die positive Serumkontrolle sollte zu heller Fluoreszenz von 3+ bis 4+ führen. Sollte sich bei dieser Kontrolle geringe oder keine Fluoreszenz zeigen, ist die Kontrollprobe, das Antigen, das Konjugat oder die Vorgehensweise möglicherweise fehlerhaft.

Konjugat oder die Vorgehensweise möglicherweise fehlerhaft.
 4. Zusätzlich zu positiven und negativen Serumkontrollen sollte eine PBS-Kontrolle durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass das Konjugat frei von unspezifischer Färbung des Antigenstrahls ist. Wenn das Antigen bei der PBS-Kontrolle helle Fluoreszenz zeigt, wiederholen Sie mit frischem Konjugat. Wenn das Antigen noch immer fluoresziert, ist das Konjugat oder das Antigen möglicherweise fehlerhaft.

Titer-Interpretation:

Der Titer ist die höchste Verdünnung von Patientenserum, bei der sich schwache Fluoreszenz (1+) zeigt, wenn eine deutliche perinucleare Färbung vorliegt. P-ANCA und C-ANCA ergeben bei Formalinfixierung eine ähnliche ungleichmäßige körnige Färbung des Cytoplasmas. C-ANCA und P-ANCA können zusammen vorkommen. C-ANCA Antikörper sind assoziiert mit klassischer Wegenerscher Granulomatose. P-ANCA (MPO) Antikörper sind assoziiert mit Vaskulitiden.

Vorsichtsmaßnahmen:

1. Alle humanen Bestandteile wurden mit Radioimmuntest auf (HBsAg) und HTLVIII/LAV mit einer FDA-anerkannten Methode negativ getestet. (Nicht wiederholt reaktiv.) Dies gewährleistet jedoch nicht die Abwesenheit von HBsAg oder HTLVIII/LAV. Alle humanen Bestandteile sollten mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.
2. Den Kontrollproben und dem Konjugat ist Natrium Azide (0,095%) beigefügt.
3. Verwenden Sie keine Bestandteile über das Verfallsdatum hinaus.
4. Befolgen Sie die methodischen Anweisungen genau wie in dieser Beilage beschrieben, um gültige Ergebnisse zu gewährleisten.
5. Die Tests sind für die diagnostische Verwendung in vitro bestimmt.
6. Fassen Sie die Objektträger an den Kanten an, da direkter Druck auf die Antigenkavitäten das Antigen beschädigen kann.
7. Nach Beginn der Prozedur darf das Antigen in den Kavitäten nicht austrocknen. Dies kann zu falsch negativen Testergebnissen oder unnötigen Artefakten führen.
8. Verwenden Sie getrennte Pipette Tips für jede Probe und Reagenz zu treffen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
9. Reagenzien geprüft werden sollen auf Anzeichen von Bakterien- oder Pilzbefall.
10. Nicht wiederverwenden Objektträger.

Komponente	AD PBS1 PBS Pufferpackung AD AMM3 Einbettungsmittel	Sicherheitshinweis Prävention: P264 Nach Gebrauch ... gründlich waschen. P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
Piktogramm		Antwort: P305+P351+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen.. Weiter spülen.
Signalwort	ACHTUNG	P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
Signalwort	H319 Verursacht schwere Augenreizung.	

ALPHADIA sa/nv
 DIAGNOSTIC PRODUCTS
 Avenue Vésale 26
 B1300 WAVRE
 BELGIUM
 TEL : 32 (0) 10 24 26 49
 FAX : 32 (0) 10 24 55 99
 contact@alphadia.be



EC	REP	Emergo Europe Princessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands
-----------	------------	---



ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (P-ANCA) TEST SYSTEM

Per uso *diagnostico in vitro*.

AD PAN60 60 Tests

Titolo del test:

Test IFA per anticorpi anti-citoplasmatici (p-ANCA)

Uso previsto:

Test di immunofluorescenza per la ricerca di anticorpi anti-neutrofili citoplasmatici perinucleari nel siero del paziente.

Principi:

La reazione primaria del test implica la circolazione nel siero del paziente di anticorpi che si legano ai loro antigeni omologhi. Ciò si verifica durante il periodo di incubazione, quando il siero ricopre la superficie dell'antigene. Successivamente ad un periodo di risciacquo necessario per la rimozione degli anticorpi umani non legati, avviene una reazione secondaria. Il reagente utilizzato nella reazione secondaria è un coniugato anti-globulina umana marcato con fluoresceina. La superficie dell'antigene viene quindi completamente risciacquata in modo da eliminare il coniugato non legato e quindi osservata con un idoneo microscopio a fluorescenza.

Materiali in dotazione:

Conservazione e stabilità dei componenti

1. Vetrini con antigene ANCA (conservare a una temperatura di 2-8°C).
2. Controllo positivo P-ANCA (conservare a una temperatura di 2-8°C).
3. Controllo negativo ANCA (conservare a una temperatura di 2-8°C).
4. Coniugato FITC IgG H&L con Evans Blue 2.5 ml ANCA (conservare a una temperatura di 2-8°C). AD CGEA25
5. Confezione tampone n. AD PBS1 - Tampone fosfato. Il tampone ricostituito non contiene conservanti e deve essere conservato a una temperatura di 2-8°C.
6. La soluzione di montaggio ANCA n. AD AMM3 rimane stabile se conservata a una temperatura di 2-8°C.

Materiali aggiuntivi richiesti ma non in dotazione:

Provette per test e cestello o sistema per microtitolazione

Pipette monouso
Vaschetta per colorazione e pinze per vetrini
Camera umida
Pallone volumetrico (500 ml)
Acqua distillata
Microscopio a fluorescenza
Carta assorbente che non lasci residui

Preparazione del reagente:

1. Confezione tampone n. AD PBS1. Reidratate il tampone con 1 litro di acqua distillata sterile.

Raccolta dei campioni:

Raccogliere i campioni sierologici in condizioni asettiche. L'emolisi viene evitata separando tempestivamente il siero dal coagulo. Conservare il siero a una temperatura di 2-8°C se questo deve essere analizzato entro pochi giorni. È possibile conservare il siero per un periodo di 3-6 mesi a una temperatura pari o inferiore a -20° C. Evitare il siero lipemico e fortemente emolitico. Se i campioni vengono spediti a temperatura ambiente, si raccomanda l'aggiunta di un conservante quale (timersal) 0,01% o sodio azide < 0,095%.

Istruzioni per il test:

Screening: diluire i sieri da testare 1:20 in tampone fosfato.
Titolazioni: impostare diluizioni di siero al raddoppio a partire da 1:20 (cioè 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, ecc.)

1. Quando i vetrini raggiungono la temperatura ambiente, strapparne l'involucro in corrispondenza dell'apposita tacca. Rimuovere con cautela il vetrino dall'involucro evitando di toccare le aree su cui è presente l'antigene. Il vetrino è pronto per l'uso.
2. Versare una goccia di siero (da 20 a 30 µl) e i controlli sui pozzetti dell'antigene.
3. Posizionare il vetrino con il siero del paziente e i controlli in una camera umida a temperatura ambiente (circa 24°C) per 20 minuti.
4. Rimuovere il vetrino dalla camera umida e per fare gocciare il siero su un pezzo di carta assorbente. Risciacquare delicatamente il siero rimanente sul vetrino con spruzzetta per lavaggio facendo attenzione a non dirigere il getto direttamente sul pozzetto.
5. Lavare in tampone fosfato per cinque minuti. Ripetere la procedura utilizzando tampone fosfato fresco.
6. Posizionare un tampone di carta assorbente sul tavolo del laboratorio con il lato assorbente rivolto verso l'alto. Rimuovere il vetrino dal tampone fosfato e capovolverlo in modo che il lato su cui è applicato il campione di tessuto sia a contatto con il lato assorbente del tampone. Allineare i pozzetti con i fori del tampone. Posizionare il vetrino sulla parte superiore del tampone. Non lasciare asciugare il tessuto. Pulire la parte posteriore del vetrino con carta assorbente asciutta che non lasci residui. Assorbire il tampone fosfato con la carta esercitando una leggera pressione ed accertarsi che il vetrino sia asciutto.
7. Versare 1 goccia (20-30 µl) di coniugato in ciascun pozzetto di antigene. Ripetere le fasi da 3 a 6.
8. Versare 4-5 gocce di soluzione di montaggio sul vetrino.
9. Applicare un vetrino coprioggetto da 22 x 70 mm. Esaminare il vetrino al microscopio a fluorescenza.

Nota: per mantenere la fluorescenza, conservare il vetrino montato in una camera umida all'interno di un frigorifero al buio.

Controllo di qualità:

1. I controlli di siero positivo e negativo devono essere inclusi in tutti i test del giorno per confermare la riproducibilità, la sensibilità e la specificità della procedura.
2. Il controllo di siero negativo deve visualizzare una fluorescenza minima (+) o nulla. Una eventuale fluorescenza evidente di questo controllo indica un problema a livello di controllo, di antigene, di coniugato o di procedura tecnica.
3. Il controllo di siero positivo deve visualizzare una fluorescenza evidente da 3+ a 4+. Una

eventuale fluorescenza minima o nulla di questo controllo indica un problema a livello di controllo, di antigene, di coniugato o di procedura tecnica.


4. In aggiunta ai controlli di siero positivi e negativi, eseguire un controllo con tampone fosfato per stabilire se il coniugato è libero da colorazioni non specifiche del substrato dell'antigene. Se l'antigene mostra una fluorescenza evidente nel controllo con tampone fosfato, ripetere la procedura utilizzando coniugato fresco. La presenza continua di fluorescenza indica un problema a livello del coniugato o dell'antigene stesso.

Interpretazione del titolo:

Il titolo è la diluizione più alta del siero del paziente che mostra una fluorescenza debole (1+) in presenza di colorazione perinucleare positiva. P-ANCA e C-ANCA danno luogo a una simile colorazione granulata e irregolare del citoplasma con fissazione in formalina. C-ANCA e P-ANCA possono avvenire contemporaneamente. Gli anticorpi anti-C-ANCA vengono associati alla granulomatosi di Wegener classica. Gli anticorpi anti-P-ANCA (MPO) vengono associati a insufficienzarenale.

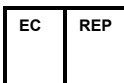
Precauzioni:

1. Tutti i componenti umani sono stati testati mediante test radioimmunologico per (HBsAg) e HTLVIII/LAV con metodo approvato dalla FDA e sono risultati negativi (non reattivi ripetutamente). Tuttavia, questo non garantisce l'assenza di HBsAg o HTLVIII/LAV. Tutti i componenti umani devono essere manipolati con estrema cautela.
2. Sodium Azide (0,095%) è compresa in controlli e coniugato.
3. Non utilizzare componenti scaduti.
4. Per garantire risultati validi, seguire le istruzioni procedurali esattamente come vengono descritte in questo inserto.
5. Per uso diagnostico in vitro.
6. Manipolare i vetrini prendendoli dai bordi in quanto la pressione diretta sui pozzetti dell'antigene può danneggiare l'antigene stesso.
7. Dopo aver iniziato la procedura, non fare asciugare l'antigene nel pozzetto. Ciò può comportare risultati falsi negativi o artefatti inutili.
8. Separate le punte della pipetta per ogni campione e dei reagenti per evitare la contaminazione incrociata.
9. I reattivi devono essere controllati per la prova di contaminazione batterica o fungina.
10. Non riutilizzare vetrini con substrate.

Componente	AD PBS1 PBS Confezione tampone AD AMM3 Soluzione di montaggio	Consiglio di prudenza Prevenzione: P264 Lavare accuratamente ... dopo l'uso. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Risposta: P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. P337+P313 Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
Pittogramma		
AVVERTENZA	ATTENZIONE	
Indicazione di Pericolo	H319 Provoca grave irritazione oculare.	



ALPHADIA sa/nv
DIAGNOSTIC PRODUCTS
Avenue Vésale 26
B1300 WAVRE
BELGIUM
TEL : 32 (0) 10 24 26 49
FAX : 32 (0) 10 24 55 99
contact@alphadia.be



Emergo Europe
Princessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



El español



ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (P-ANCA) TEST SYSTEM

Para uso diagnóstico in vitro.

AD PAN60 60 Tests

Nombre del ensayo:

Ensayo de anticuerpos anticitoplásmicos (p-ANCA) IFA

Aplicación:

Ensayo de inmunofluorescencia para la detección de anticuerpos citoplásmicos antineutrófilos perinucleares en suero del paciente.

Principio:

La reacción principal de la prueba consiste en la unión de anticuerpos circulantes del suero del paciente a sus antígenos homólogos. Esto sucede durante el período de incubación en el que el suero recubre la superficie de antígeno. Tras un período de lavado para eliminar los anticuerpos humanos que no se han unido se procede a una reacción secundaria. El reactivo utilizado en la reacción secundaria es un conjugado de globulina humana marcada con fluoresceína. A continuación, la superficie de antígeno se lava a fondo para eliminar el conjugado que no se ha unido y se observa en un microscopio de fluorescencia adecuado.

Materiales suministrados:

Almacenamiento y estabilidad de los componentes

1. Portaobjetos con antígeno ANCA (almacenar a 2-8 °C).
2. Control positivo P-ANCA (almacenar a 2-8 °C).
3. Control negativo ANCA (almacenar a 2-8 °C).
4. Conjugado IgG H y L de FITC ANCA con azul de Evans 2.5 ml (almacenar a 2-8 °C). No AD CGEA25
5. Sobre de tampón n.º AD PBS1 - tampón fosfato salino (PBS, el tampón reconstituido no contiene conservantes y debe almacenarse a 2-8 °C).
6. El medio de montaje ANCA n.º AD AMM3 es estable cuando se almacena a 2-8 °C.

Otros materiales necesarios pero no suministrados:

Tubos de ensayo y gradilla, o sistema de micro-titulación
 Pipetas desechables
 Placa de tinción y pinzas para portaobjetos
 Cámara húmeda
 Matraz volumétrico (500 ml)
 Agua destilada
 Microscopio de fluorescencia
 Toallas de papel que no dejen pelusa

Preparación del reactivo:

1. Sobre de tampón n.º AD PBS1. Rehidratar el tampón con 1 litro de agua destilada estéril.

Toma de muestras:

Las muestras serológicas deben extraerse en condiciones asépticas. La hemólisis se evita separando rápidamente el suero del coágulo. Si se va a analizar en pocos días, el suero debe almacenarse a 2-8 °C. Puede conservarse de 3 a 6 meses a una temperatura de -20 °C o inferior. No conviene utilizar sueros lipémicos o fuertemente hemolíticos. Si las muestras se guardan a temperatura ambiente, es altamente recomendable añadir un conservante, como por ejemplo timerosal al 0,01% o azida sódica a < 0,095%.

Instrucciones de la prueba:

- Criba (screening): diluya los sueros de prueba en proporción 1:20 en PBS.
 Titulaciones: prepare diluciones de suero seriadas en proporción 2x a partir de 1:20 (es decir, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, etc.).
1. Una vez que el portaobjetos alcance la temperatura ambiente, rasgue el envoltorio tirando de la pestaña. Saque cuidadosamente el portaobjetos, evitando tocar las zonas de antígeno. El portaobjetos está listo para usar.
 2. Ponga una gota del suero (de 20 a 30 µl) y de los controles en los pocillos de antígeno.
 3. Coloque el portaobjetos con el suero del paciente y los controles en una cámara húmeda a temperatura ambiente (aproximadamente 24 °C) durante 20 minutos.
 4. Retire el portaobjetos de la cámara húmeda, sujételo de canto sobre una toalla de papel para vaciar el suero. Utilice un frasco lavador para aclarar suavemente los restos de suero del portaobjetos procurando no dirigir el chorro directamente hacia el pocillo.
 5. Lávelo en PBS durante cinco minutos. Repita la operación con PBS nuevo.
 6. Coloque un secante sobre la poyata de laboratorio con la cara absorbente hacia arriba. Retire el portaobjetos del PBS, dele la vuelta de modo que la cara de tejido quede orientada hacia la cara absorbente del secante. Alinee los pocillos con los orificios del secante. Coloque el portaobjetos sobre el secante. No deje que el tejido se seque. Seque el dorso del portaobjetos con una toalla de papel que no deje pelusa. Al secarlo, aplique al portaobjetos la presión necesaria para absorber el tampón.
 7. Ponga 1 gota (20-30 µl) de conjugado en cada pocillo de antígeno. Repita los pasos 3 a 6.
 8. Ponga 4 ó 5 gotas de medio de montaje en el portaobjetos.
 9. Coloque un cubreobjetos de 22 x 70 mm. Examine el portaobjetos con un microscopio de fluorescencia.

Nota: para mantener la fluorescencia, guarde el portaobjetos montado en la nevera dentro una cámara húmeda y a oscuras.

Control de calidad:

1. Para confirmar la reproducibilidad, sensibilidad y especificidad del ensayo es necesario incluir controles de suero positivo y negativo en los análisis todos los días.
2. El resultado del control de suero negativo debe ser poca (+) o ninguna fluorescencia. Si este control muestra una fluorescencia brillante, el problema puede estar en el control, el antígeno, el conjugado o en la técnica.
3. El resultado del control de suero positivo debe ser una fluorescencia brillante del orden de 3+ a 4+. Si este control muestra poca o ninguna fluorescencia, el problema puede estar en el control, el antígeno, el conjugado o en la técnica.
4. Además de los controles de suero positivo y negativo, debe analizarse un control de PBS para confirmar que el conjugado no tinte el sustrato de antígeno de manera inespecífica. Si el antígeno presenta una fluorescencia brillante en el control de PBS, repita el análisis usando

conjugado nuevo. Si el antígeno sigue presentando fluorescencia, el problema puede estar en el conjugado o en el antígeno.

Interpretación del título:

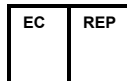
El título es la dilución más alta de suero del paciente que muestra una fluorescencia débil (1+) cuando hay tinción perinuclear positiva. P-ANCA y C-ANCA darán una tinción granular desigual similar del citoplasma, con fijación con formalina. C-ANCA y P-ANCA pueden producirse al mismo tiempo. Los anticuerpos C-ANCA están asociados con la granulomatosis de Wegener clásica. Los anticuerpos P-ANCA están asociados a enfermedades renales

Precauciones:

1. Todos los componentes humanos han sido probados mediante radioinmunoensayo para (HBsAg) y HTLVIII/LAV con un método aprobado por la FDA, y han dado resultados negativos (no repetidamente reactivos). No obstante, esto no garantiza la ausencia de HBsAg o HTLVIII/LAV. Todos los componentes humanos deben manejarse con las debidas precauciones.
2. Los controles y el conjugado contienen Sodium Azide (0,095%).
3. No utilice ningún componente que haya sobrepasado la fecha de caducidad.
4. Para garantizar la validez de los resultados, siga las instrucciones del procedimiento exactamente como aparecen aquí.
5. Para uso diagnóstico in vitro.
6. Sujete los portaobjetos por los bordes, ya que la presión directa sobre los pocillos puede estropear el antígeno.
7. Una vez iniciado el procedimiento, no deje que el antígeno de los pocillos se seque. Esto podría dar falsos negativos o producir artefactos innecesarios.
8. Use distintas puntas de pipeta para cada una de las muestras y reactivos para evitar la contaminación cruzada.
9. Los reactivos deben inspeccionarse en busca de evidencias de contaminación bacteriana o micótica.
10. No reutilizar portaobjetos.









Componente	AD PBS1 Sobre de tampón PBS AD AMM3 medio de montaje	Consejos de prudencia Prevención: P264 Lavarse ... concienzudamente tras la manipulación. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
Pictograma		Respuesta: P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
Palabra Clave	ATENCIÓN	
Indicación de Peligro	H319 Provoca irritación ocular grave.	

ALPHADIA sa/nv
 DIAGNOSTIC PRODUCTS
 Avenue Vésale 26
 B1300 WAVRE
 BELGIUM
 TEL : 32 (0) 10 24 26 49
 FAX : 32 (0) 10 24 55 99
 contact@alphadia.be



Emergo Europe
 Princessegracht 20
 2514 AP The Hague
 The Netherlands



	Manufactured by Prodotto da Fabricado por Fabriqué par hergestellt von
REF	Catalog number Numero di catalogo Número de Catálogo Numéro de catalogue Katalognummer
LOT	Lot Lotto Lote Lot Charge
EC REP	EC Authorized Representative Rappresentante Autorizzato CE Representante Autorizado CE CE Représentant autorisé EG autorisierter Bevollmächtigter
	EC Declaration of Conformity Dichiarazione di Conformità CE Declaración de Conformidad CE CE Déclaration de Conformité EG Konformitätserklärung
	Number of tests Numero di test Número de determinaciones Nombre de tests Anzahl der Teste
	See instructions for use Vedere le istruzioni per l'uso Consultar la instrucciones de uso Voir instructions Gebrauchsanweisung beachten
	Expiration date Data di scadenza Caducidad Date d'Expiration Haltbarkeitsdatum
	Store at 2-8°C / 35-46°F Conservare a 2-8°C/35-46°F Almacenar a 2-8°C / 35-46°F Conserver à 2-8°C Bei 2-8°C / 35-46°F lagern
	Caution Attenzione Precaución Précautions Achtung
	Potential biological risk Potenziale rischio biologico Riesgo potencial biológico Biohazard Risque Biologique Potentiel Potentielle biologische Gefährdung
RFU	Ready for use Pronto all'uso Listo para su uso Prêt à l'emploi Gebrauchsfertig
IVD	For in vitro diagnostic use Per uso diagnostico <i>in vitro</i> Para uso solo in vitro Usage in vitro Für in-vitro diagnostische Verwendung
RUO	For research use only Solo per ricerca Para uso solo en investigación Pour recherche Nur für Forschungszwecke
IUO	For investigational use only Solo per uso investigativo Para uso solo en investigación Pour investigation Nur für Forschungszwecke
IFA/DFA PBS	Phosphate Buffered Saline Tampone salino fosfato Fosfato Salino Tamponado Tampon phosphate salin PBS
SOR	Sorbent Assorbent Sorbente Absorbant Sorbens

SLIDE	Tissue Substrate Slide Vetrini con substrate di tessuto Porto objetos de Sustrato de Tejido Lame portant le substrat tissulaire Gewebesubstrat-Objekträger
MM	Mounting Medium Mezzo di montaggio Medio de Montaje Liquide de montage Eindeckmedium
10x	Concentration Concentrazione Concentración Concentration Konzentration
ENS	Enhancement solution Soluzione di rinforzo Solución de realce Solution amplification Verstärkungslösung
WASHB	Wash Buffer Tampone di lavaggio Tampón de lavado Tampon de lavage Waschpuffer
MPS 12x8	Microplate Strips Strip per Micropiastra Tiras de micro placa Microplaque Mikrotiterplattenstreifen
CONJ	Conjugate Coniugato Conjugado Conjugué Konjugat
SUB	Substrate Substrato Sustrato Substrat Substrat
STOP	Stop Solution Soluzione bloccante Solución de Parada Solution d'arrêt Stopplösung
CAL X	Calibrator(s) Calibratore (i) Calibrador (s) Calibreur(s) Kalibrator(en)
CONTROL -	Negative Control Controllo Negativo Control Negativo Contrôle Négatif Negative Kontrolle
CONTROL +	Positive Control Controllo Positivo Control Positivo Contrôle Positif Positive Kontrolle
CONJ CNS	Counterstain Colorante di contrasto Contraste Contre colorant Gegenfärbung
CS	Coverslip Coprioggetto Cubre portaobjetos Lamelles couvre-objet Deckgläshen
CONJ +	Positive Conjugate Conjugato Positivo Conjugado Positivo Conjugué Positif Positivekonjugat
CONJ -	Negative Conjugate Conjugato Negativo Conjugado Negativo Conjugué Négatif Negativkonjugat
DIL	Sample Diluent Diluyente del campione Diluyente de muestra Tampon de dilution Probenverdünnungslösung