



SMA - ANTI-SMOOTH MUSCLE TEST SYSTEM

For *In Vitro* Diagnostic Use

AD SRS48 (Rat) 48 Tests AD SRS96 (Rat) 96 Tests

Introduction:

Smooth muscle antibodies (SMA) can be demonstrated in patients with acute and chronic hepatitis; the highest titers occurring in chronic active hepatitis (CAH). All of the various forms of chronic liver disease show SMA titers not higher than 1:160, except for CAH where titers up to 1:1280 are found. The differential diagnosis of CAH in patients with chronic liver disease is facilitated by titration of SMA using the indirect immunofluorescence method with rat or mouse stomach muscularis mucosa as the substrate.

There exist various forms of acute and chronic liver injury that are directly or indirectly related to hepatitis B(HB) infection. Both viral and autoantibody markers may be used to classify the different sub-groups of CAH and it has been demonstrated that most HB-antigen negative patients are SMA positive.

SMA tests have been found helpful in confirming the diagnosis of approximately 70% of CAH. A positive SMA test rules out Systemic Lupus Erythematosus, since the SMA test is generally negative in SLE. It is also found in approximately 50% of patients with primary biliary cirrhosis (PBC) and in up to 28% of patients with cryptogenic cirrhosis. High incidence of SMA have also been reported in serum of patients with infective mononucleosis. Diseases including carcinoma of the breast, malignant melanoma and ovarian carcinoma have been reported to contain SMA.

SMA is rarely found (less than 2%) in patients with bile duct obstruction, alcoholic cirrhosis, lupus erythematosus and in the normal population. Rat or mouse stomach is utilized for SMA detection in this test system.

Principles:

The SMA reaction involves circulating antibodies to a normal component of the smooth muscle cell. These antibodies are not organ or species specific and may be found in tissues with smooth muscle areas. They are primarily of the IgG class of immunoglobulins but may also occur as IgM. Sections of rat or mouse stomach are used as the antigen substrate.

The primary reaction involves circulating antibodies in the patient's serum which attach to their homologous smooth muscle antigens. This occurs during the incubation period while the serum covers the antigen surface. A secondary reaction then follows a rinsing period which removes all unbound human antibody.

The secondary reaction is a fluorescein labelled anti-human globulin conjugate and is viewed under an appropriate fluorescent microscope. Bright cytoplasmic fluorescence of the smooth muscle layers of the muscularis mucosae indicates a positive result.

Research has shown that the antigen active in the SMA reaction is actin. Actin is found in such histological structures as: the capillary linings, platelets, brush borders of renal tubular epithelium and in the renal glomerular cells. These antibodies are non-organ specific and will react with smooth muscle surrounding arteries, veins and other histological structures containing actin. The reactivity of SMA from CAH patients is rather broad and includes many of these "non-muscle" tissues. SMA can be actin or non-actin specific and it is the former that is associated with CAH. However, studies using cultured fibroblasts reaffirm the actin specificity of SMA from CAH patients. Attempts at classifying SMA by different immunofluorescent patterns have not yet provided a clear clinical correlation between distinct diseases and a particular fluorescent pattern. Fluorescence of the gastric mucosal cells (parietal or chief cells) or nuclear staining in ANA positive sera should not be reported as positive SMA reactions.

Materials Provided:

Storage & Stability of Components:

1. FITC IgG Conjugate No. AD CGER2 (3.0 ml) - AD CGER5 (5.0 ml) with Evans Blue Counterstain is to be stored at 2-8°C upon receipt. The conjugate is stable at this temperature until expiration date on the vial label.
2. The antigen slides of rat stomach sections must be stored at 2-8°C upon receipt. Check label for specific expiration date.
3. SMA positive control No. AD PCSM (1.0 ml) should be stored at 2-8°C upon receipt. Check label for specific expiration date.
4. Universal 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. 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 TMM3 is stable when stored at 2-8°C. Check label for specific expiration date.

Note: All kit components are available separately. Please see current ALPHADIA Catalog for more details.

Additional Materials Required but not Provided:

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

Reagent Preparation:

1. Buffer Pack No. AD PBS1 Rehydrate buffer with 1 liter of sterile distilled water.

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 0.095% sodium azide is strongly recommended.

Test Instruction:

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.

1. Once slides reach room temperature tear slide 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 diluted serum (20 to 30 µl) and controls over the antigen wells.
3. Place slide with patient's serum and controls in a moist chamber for 30 minutes at room temperature (approximately 20-24°C).
4. Remove slide from moisture chamber. Using a wash bottle, gently rinse remaining sera from slide being careful not to aim the rinse stream directly on to the well.
5. Wash in PBS for five minutes. Repeat using fresh PBS.
6. Place a blotter on the lab table with absorbent side up. Remove slide from PBS and invert so that tissue side faces absorbent side of blotter. Line up wells to blotter holes. Place slide on top of blotter. **Do not allow tissue to dry.** Wipe back of slide with dry lint free paper towel. Apply sufficient pressure to slide while wiping to absorb buffer.
7. Deliver 1 drop (20-30 µl) of conjugate per antigen well. Repeat steps 3-6.
8. Place 4-5 drops of mounting medium on slide.
9. 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.

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.

Results:

ACH is a chronic disease of the liver mainly affecting young females but also affecting both sexes and all ages. It is characterized in liver biopsies of deterioration of liver function due to necrosis of hepatic parenchymal cells in areas of lymphocytic and plasma cell infiltration.

A positive result is observed as bright diffused cytoplasmic staining of the smooth muscle layers of the muscularis mucosae found in the rat or mouse stomach. Fluorescence may also be evident in the capillary walls of the gastric layer and surrounding arteries or veins. Fluorescence of other cellular antigens such as nuclei, parietal cells or connective tissue should not be reported as positive SMA.

The titer is the highest dilution of the patient's serum showing weak (1 +) fluorescence of the muscularis mucosae.

Less than 1:20 or less - Normal, negative

1:20 - 1:80 - Positive. Suggestive of liver disease. Repeat with fresh specimen in two weeks.

1:160 or greater - Suggestive of active chronic hepatitis.

Limitations of Procedure:

1. No diagnosis should be based upon a single SMA test result, since various host factors must be taken into consideration.
2. SMA should be used as an aid in the diagnosis of liver disease.
3. Clinical manifestations such as liver biopsies and liver function tests should be considered in the final diagnosis of chronic active hepatitis.
4. SMA can be found in: primary biliary cirrhosis (PBC), cryptogenic cirrhosis, infective mononucleosis, asthma, yellow fever, acute infective hepatitis, carcinoma of the breast, malignant melanoma and ovarian carcinoma.
5. Titers of some acute cases of viral hepatitis (AVH) can be as high as CAH cases but they decrease and disappear in a relatively short period while CAH titers remain high for prolonged periods.
6. SMA represents a family of antibodies directed against contractile proteins present in different tissues. The non-homogenous glomerular pattern has never been found in cirrhotic patients and this pattern is always associated with high SMA titers in CAH.
7. In CAH patients that are HB negative, the titers of the IgG-SMA and IgG-ANA seem to be related to the degree of inflammatory activity but no prognostic importance can be associated with these phenomena.
8. Drug induced CAH is rather rare but the drugs oxyphenisatin and methyl dopa have been associated with some cases of CAH.

Precautions:

1. All human components have been tested by radioimmunoassay for (HB_sAg) 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_sAg 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.

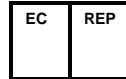
10. Do not reuse substrate slide.

US

Component	AD CGER2, AD CGER5 FITC (IFA) Conjugate with Evans Blue Counterstain	Precautionary Statement Prevention:
Pictogram		<ul style="list-style-type: none"> Avoid breathing mists, vapors and/or sprays. Use only outdoors or in a well-ventilated area. Wash thoroughly after handling. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection
Signal Word	WARNING	Response:
Hazard Statement	Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. May cause respiratory irritation	<ul style="list-style-type: none"> IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. Take off contaminated clothing and wash before reuse. Specific treatment, see supplemental first aid information. If skin irritation occurs, get medical advice/attention IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
		Storage/Disposal:
		<ul style="list-style-type: none"> Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed. Store locked up. Dispose of content and/or container in accordance with local, regional, national, and/or international regulations.



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
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



Component	AD PBS1 PBS Powder Packets AD TMM3 Mounting Medium	Precautionary Statement Prevention:
Pictogram		<ul style="list-style-type: none"> Wash thoroughly after handling. Wear eye/face protection
Signal Word	WARNING	Response:
Hazard Statement	Causes serious eye irritation.	<ul style="list-style-type: none"> IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
		Storage/Disposal:
		<ul style="list-style-type: none"> Dispose of content and/or container in accordance with local, regional, national, and/or international regulations.

EU

Component	AD PBS1 PBS Powder Packets AD TMM3 Mounting Medium	Precautionary Statement Prevention:
Pictogram		<p>P264 Wash thoroughly after handling.</p> <p>P280 Wear protective gloves and clothing.</p>
Signal Word	WARNING	Response:
Hazard Statement	H319 Causes serious eye irritation	<p>P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if easy to do. Continue rinsing.</p> <p>P337+P313 If irritation persists, get medical advice/attention.</p>

BIBLIOGRAPHY:

- Andersen, P., Pedersen, T.K. and Ladefoged, K.: Studies of smooth muscle antibodies in acute hepatitis. Acta Pathol Microbiol Scand (C) 84:365-71, 1976.
- Pisi, E., Marchesini, C., Zauli, D. and Bianeki, F.B.: Smooth muscle antibody in chronic hepatitis. Chron Hep Intl Symp, P Gentini, H Popper and J Teodori, Eds., Monte-Catini pp 107-13, Karger, Basel, 1976.
- Naccarato, R., Chiaramonte, M., Borelli, A. and Farini, R.: Circulating antibodies in chronic liver diseases. Chron Hep Intl Symp, P Gentini, H Popper and J Teodori, Eds. Monte-Catini, pp. 114-6. Karger, Basel, 1976.
- Ishak, K.C.: Light microscopic morphology of viral hepatitis. Am J Clin Pathol 65:787-827, 1976.
- Peters, R.L.: Viral hepatitis: A pathologic spectrum. Am J Med Sci 270: 17-31, 1975.
- Huang, S.N., Neurath, A.R.: Immunohistologic demonstration of hepatitis B viral antigens in liver with reference to its significance in liver injury. Lab Invest 40: 1-17, 1979.
- Doniach, D.: Immunofluorescent autoantibody studies in the diagnosis of chronic liver disorders. Rendic Gastroenterol 19:192-203, 1974.
- Edgington, T.S. and Ritt, D.J.: Intrahepatic expression of serum hepatitis virus-associated antigens: Immunologic aspects of hepatitis B virus infection. Am J Med Sci 270-213, 1975.
- Ferguson, A. and MacSween, R.N.M.: Autoimmune diseases of the liver. In: Immunological Aspects of Liver and Gastrointestinal Tract. University Park Press, Baltimore, p. 346-86 1976.
- Lindman, K., Biberfeld, G. et al: Anti-actin specificity of human smooth muscle antibodies in chronic active hepatitis. Clin Exp Immunol 24:266-72, 1976.
- Biberfeld, G. and Stemer, G.: Smooth muscle antibodies in mycoplasma pneumoniae infection. Clin Exp Immunol 24:287-91, 1976.
- Andersen, P., Small, J.V. and Soliceszek, A.: Studies on the specificity of smooth muscle antibody. Clin Exp Immunol 26:57-60, 1976.
- Bottazzo, G.F., Christensen A.F. et al: Classification of smooth muscle autoantibodies detected by immunofluorescence. J Clin Pathol 29:403-10, 1976.

Français



SMA - ANTI-SMOOTH MUSCLE TEST SYSTEM

Réservé au diagnostic *in vitro*.

AD SRS48 (Rat) 48 Tests AD SRS96 (Rat) 96 Tests

Intitulé du test:

Screening des anticorps anti-muscles lisses par IFI

Application:

Le test d'immunofluorescence indirecte est destiné au screening des autoanticorps anti-muscles lisses circulant dans le sérum de patients.

Principe:

La réaction principale du test implique des anticorps circulant dans le sérum du patient qui se lient à leurs antigènes homologues. Ceci se produit pendant la période d'incubation lorsque le sérum recouvre la surface de l'antigène. Une deuxième réaction suit alors une étape de rinçage qui élimine tous les anticorps humains non fixés. Le réactif utilisé lors de la seconde incubation est un conjugué anti-globuline humaine marquée à la fluorescéine. La lame est ensuite soigneusement rincée pour éliminer l'excès de conjugué non fixé, et est observée à l'aide d'un microscope à fluorescence.

Matériel fourni:

Conservation et stabilité des composants

1. Lames de coupes d'estomac de rat (conserver entre 2 et 8 °C).
2. Contrôle positif anti-muscles lisses (conserver entre 2 et 8 °C).
3. Contrôle négatif universel (conserver entre 2 et 8 °C).
4. Conjugué ITCF anti-IgG H&L avec bleu d'Evans nr AD CGER2 (3 ml) nr AD CGER5 (5 ml) (conserver entre 2 et 8°C).
5. Sachet de tampon nr AD PBS1 - Tampon phosphate salin. Le tampon reconstitué ne contient pas d'agents conservateurs et doit être conservé à 2-8 °C.
6. Le milieu de montage ITCF nr AD TMM3 est stable lorsqu'il est conservé entre 2 et 8°C.

Matériel supplémentaire requis mais non fourni:

Tubes à essai et poirtoir ou plaques de microtitration
Pipettes 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 nr AD PBS1. Réhydrater le tampon avec 1 litre d'eau distillée stérile.

Prélèvement des échantillons:

Les échantillons de sang doivent être prélevés dans des conditions aseptisées. Une hémolyse est évitée par une séparation rapide du sérum du caillot. Le sérum doit être conservé à 2-8°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 extrêmement 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 à 1:20 dans du PBS

Titrages: préparer des dilutions sérielles du sérum à partir de 1:20 (à savoir 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 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 dilué (20 à 30 μ l) et des contrôles sur les puits contenant les antigènes.
 3. Placer la lame comportant le sérum du patient et les contrôles dans une chambre humide à température ambiante pendant 30 minutes (environ 24 °C).
 4. Enlever la lame de la chambre humide. 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 du 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. Aligner les puits pour absorber le contenu des trous à l'aide du buvard. Placer la lame sur le buvard. Ne pas laisser les tissus 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 l'essuyant pour absorber le tampon.
 7. Déposer 1 goutte (20 à 30 μ l) de conjugué dans chaque puits. Répéter les étapes 3 à 6.
 8. Déposer 4 à 5 gouttes de milieu 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. Les contrôles de sérum positif et négatif doivent être inclus dans chaque série pour confirmer la reproductibilité, sensibilité et spécificité du mode opératoire 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 provenir 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 provenir du contrôle, de l'antigène, du conjugué ou de la technique.
4. En plus des contrôles de sérum positif et négatif, effectuer un contrôle PBS pour s'assurer

AS SRS48 Printed in U.S.A Rev H 9-15-17

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 continue de l'antigène peut provenir du conjugué ou de l'antigène.

Interprétation des images:

L'hépatite chronique active (ACH) est une maladie chronique du foie qui touche généralement les femmes jeunes mais aussi les hommes et à tous âges. Elle est caractérisée dans les biopsies du foie par de détérioration de la fonction hépatique dû à une nécrose des cellules hépatiques parenchymateuses dans les régions d'infiltration des lymphocytes et des cellules plasmiques.

Un résultat positif montre une coloration cytoplasmique diffuse claire des couches de muscles lisses de la muscularis mucosae de l'estomac de rat. Une fluorescence peut aussi être présente dans les parois capillaires de la couche gastrique et les artères ou veines environnantes. Une fluorescence des autres antigènes cellulaires tels que les noyaux, les cellules pariétales ou le tissu conjonctif ne doit pas être considérée comme un anticorps anti-muscles lisses positif.

Le titre est la dilution la plus élevée du sérum du patient montrant une fluorescence faible (1+) de la muscularis mucosae.

Interprétation des titres:

Moins de 1:20 ou moins - Normal, négatif

1:20 - 1:80 - Positif. Signe d'une maladie du foie. Répéter le test avec de nouveaux échantillons après deux semaines.

1:160 ou supérieur - Signe d'une hépatite chronique active.

Anti-muscles lisses (SMA): L'hépatite chronique active affecte essentiellement les femmes jeunes bien que les 2 sexes puissent être touchés. On observe dans les biopsies, des nécroses du parenchyme hépatique et des zones d'infiltration lymphocytaire ou plasmocytaire. Un résultat positif consiste en une fluorescence cytoplasmique diffuse des muscles lisses de la muscularis mucosae visible dans l'estomac de rat. La fluorescence est aussi visible dans la média des vaisseaux sanguins. Toute autre fluorescence ne peut être considérée comme étant un anti-muscles lisses positif.

Précautions:

1. Le HBsAg et le HTLV-III/LAV ont été testés par dosage radioimmunologique pour tous les composants d'origine humaine, 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 la structure de 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 une contamination croisée.
9. Les réactifs doivent être inspectés afin d'éliminer une éventuelle contamination bactérienne ou fongique.
10. Ne pas réutiliser la lame après usage.

Composant	AD PBS1 Sachet de tampon PBS AD TMM3 Liquide de montage	Déclaration de précaution
Pictogramme		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.
Mot de signal	ATTENTION	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.
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
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



Deutsch



SMA - ANTI-SMOOTH MUSCLE TEST SYSTEM

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

AD SRS48 (Ratte) 48 Tests AD SRS96 (Ratte) 96 Tests

Testtitel:

IFT für den Nachweis von IgG-Antikörpern gegen SMA in Patientenserum.

Verwendungszweck:

Der indirekte Immunfluoreszenztest wird als Screeningtest für zirkulierende Glatte-Muskel-(SMA) Autoantikörper im Patientenserum empfohlen.

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 Antihumanglobulinkonjugat. Die Antigenoberfläche wird danach vollständig von ungebundenem Konjugat freigespült und unter einem geeigneten Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

Bereitgestellte Materialien:

Lagerung und Stabilität von Komponenten:

1. Ratte (Niere) (bei 2-8°C lagern)
2. SMA Glatte-Muskulatur-Positivkontrolle Nr AD PCSM (bei 2-8°C lagern)
3. Universelle Negativkontrolle Nr AD NC (bei 2-8°C lagern)
4. FITC IgG H&L Konjugat mit Evans-Blau Nr AD CGER2 (3 ml) . AD CGER5 (5 ml) (bei 2-8°C lagern)
5. Pufferpackung Nr. AD PBS1 . Phosphatpufferte Salzlösung (rekonstituierter Puffer enthält keine Konservierungsmittel und sollte bei 2-8°C gelagert werden).
6. FITC Einbettungsmittel Nr. AD TMM3 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
- Nichtfasemde 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 und 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 sehr empfohlen.

Testanweisung:

Screening: Verdünnen Sie Testsera 1:20 in PBS.

Titrationen: Setzen Sie die Serumverdünnungen in jeweils zweier Verdünnungsstufen an, beginnend bei 1:20 (d. h. 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 usw.)

1. Wenn die Objektträger Raumtemperatur erreicht haben, reißen Sie die Objekttr.gerrühle 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 verdünntes Serum (20 bis 30 µl) und Kontrolle auf die Antigenkavitäten.
 3. Legen Sie den Objektträger mit dem Patientenserum und den Kontrollen 30 Minuten lang in eine Feuchtkammer bei Raumtemperatur (ungefähr 20-24°C).
 4. Nehmen Sie den Objektträger aus der Feuchtkammer. Spülen Sie verbleibende Sera mit einer Waschflasche vom Objektträger, wobei Sie sorgfältig darauf achten, den Spüstrahl 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 austrocknen. Wischen Sie die Tr.gerrückseite mit einem nichtfasernenden 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, mpfindlichkeit und Spezifität der Testprozedur zu bestätigen.
2. Die negative Serumkontrolle sollte zu geringer (1+) 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

ASSRS48 Printed in U.S.A Rev H 9-15-17

dieser Kontrolle geringe oder keine Fluoreszenz zeigen, ist die Kontrollprobe, das Antigen, das 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 Antigenstrahrs 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 Beurteilung:

ACH ist eine chronische Lebererkrankung, an der vor allem junge Frauen leiden, an der aber auch beide Geschlechter und alle Altersgruppen erkranken können. Sie zeichnet sich in Leberbiopsien durch eine verschlechterte Leberfunktion aufgrund einer Nekrose hepatischer Parenchymzellen in Bereichen der lymphozytären und Plasmazellinfiltration aus.

Ein positives Ergebnis zeigt sich als helle diffuse zytoplasmatische Verfärbung der glatten Muskelschichten der Lamina muscularis mucosae in Ratten- und Mäusemägen. Eine Fluoreszenz kann auch in den Kapillarwänden der Magenwand und den umgebenden Arterien und Venen auftreten. Eine Fluoreszenz anderer zellulärer Antigene wie von Zellkernen, Parietalzellen oder Bindegewebe sollte nicht als positives SMA-Ergebnis gemeldet werden.

Der Titer ist die höchste Verdünnung des Patientenserums, das eine schwache (1+) Fluoreszenz der Lamina muscularis mucosae aufweist.

Unter als 1:20 oder weniger - normal, negativ

1:20 - 1:80 - positiv. Suggestiert eine Lebererkrankung. Mit einer frischen Probe zwei Wochen später wiederholen.

1: 160 oder mehr - Suggestiert eine aktive, chronische Hepatitis.

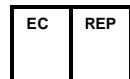
Vorkkehrungen:

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 sodium azide (0,095%) zugegeben.
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. Für diagnostische Verwendung in vitro.
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 falschen 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 TMM3 Einbettungsmittel	Sicherheitshinweis Prävention:
Piktogramm		P264 Nach Gebrauch ö gründlich waschen. P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Antwort:
Signalwort	ACHTUNG	P305+P351+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
Gefahrenhinweis	H319 Verursacht schwere Augenreizung.	P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.



ALPHADIA sa/hv
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
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



L'italiano



SMA - ANTI-SMOOTH MUSCLE TEST SYSTEM

Per uso diagnostico in vitro.

AD SRS48 (Ratto) 48 Tests AD SRS96 (Ratto) 96 Tests

Titolo del test:

Test IFA per Anticorpi antimuscolatura liscia (SMA)

Uso previsto:

Il test di immunofluorescenza indiretta è raccomandato come test di screening per gli autoanticorpi antimuscolatura liscia (SMA) e antireticolina in circolazione 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 antiglobulina 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. Sezioni di stomaco di ratto (conservare a una temperatura di 2-8°C).
2. Controllo positivo SMA n. AD PCSM (conservare a una temperatura di 2-8°C).
3. Controllo negativo universale n. AD NC (conservare a una temperatura di 2-8°C).
4. Coniugato FITC IgG H&L con Blu di Evans n. AD CGER2 (3 ml) . AD CGER5 (5 ml) (conservare a una temperatura di 2-8°C).
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 FITC n. AD TMM3 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. Reidratare 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 timerosal 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 diluito (da 20 a 30 l) 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 30 minuti.
4. Rimuovere il vetrino dalla camera umida. 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 capovolgerlo 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 l) 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 refrigeratore al buio.

Controllo di qualità:

1. Il controllo 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

AS SRS48 Printed in U.S.A Rev H 9-15-17

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:

LQCH è una malattia cronica del fegato che colpisce principalmente le giovani donne come pure entrambi i sessi a tutte le età. Nelle biopsie epatiche è caratterizzata dal deterioramento della funzione del fegato, dovuta alla necrosi delle cellule del parenchima epatico in aree di infiltrazione linfocitaria e di cellule del plasma.

Il risultato positivo è evidenziato da una colorazione citoplasmatica brillante e diffusa degli strati della muscolaris mucosae del muscolo liscio, che si trova nello stomaco del ratto o del topo. La fluorescenza può essere evidenziata anche sulle pareti dei capillari dello strato gastrico che circonda arterie e vene. La fluorescenza di altri antigeni cellulari come i nuclei, le cellule parietali o il tessuto connettivo non devono essere refertati come SMA positivi.

Il titolo è la più alta diluizione del siero del paziente, che mostra una fluorescenza debole (+1) della muscolaris mucosae.

Inferiore a 1:20 o meno . Normale, negativo

1:20 - 1:80 - Positivo. Suggestivo di malattia epatica. Ripetere con un campione fresco entro 2 settimane.

1:160 o maggiore . Suggestivo di epatite attiva o cronica.

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. Sodio 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 TMM3 Soluzione di montaggio	Consiglio di prudenza Prevenzione: P264 Lavare accuratamente o dopo l'uso.
Pittogramma		P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Risposta:
AVVERTENZA	ATTENZIONE	P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI:
Indicazione di Pericolo	H319 Provoca grave irritazione oculare.	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.



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
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



El español



SMA - ANTI-SMOOTH MUSCLE TEST SYSTEM

Para uso diagnóstico in vitro.

AD SRS48 (Rata) 48 Tests AD SRS96 (Rata) 96 Tests

Nombre de la prueba:

Ensayo de anticuerpos anti-músculo liso IgG

Aplicación:

La prueba de inmunofluorescencia indirecta se recomienda como prueba de detección para autoanticuerpos circulantes anti-músculo liso (AML) en suero del paciente.

Principio:

La principal reacción 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 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 anticuerpos anti-globulina humana marcados con fluoresceína. A continuación, la superficie de antígeno se aclara a fondo para eliminar el conjugado que no se ha unido y se examina en un microscopio de fluorescencia adecuado.

Materiales suministrados:

Almacenamiento y estabilidad de los componentes

1. Rata (estómago), almacenar a 2-8 °C.
2. Control positivo de músculo liso AML n° AD PCSM, almacenar a 2-8 °C.
3. Control negativo universal AD NC, almacenar a 2-8 °C.
4. Conjugado IgG (H y L) de FITC con azul de Evans n° AD CGER2 (3 ml) AD CGER5 (5 ml), almacenar a 2-8 °C.
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 FITC n.º AD TMM3 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 al 0,095%.

Instrucciones del ensayo:

Detección: 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, 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 diluido (de 20 a 30 l) 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 30 minutos.
4. Retire el portaobjetos de la cámara húmeda. 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 l) 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 (1+) 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

ASRS48 Printed in U.S.A Rev H 9-15-17

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 tiñe 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 del suero de paciente que presenta una débil (1+) fluorescencia del epitelio renal tubular.

Menos de 1:20 Normal, negativo

1:20 - 1:80 Positivo, Sugiere enfermedad hepática. Repetir con muestra fresca en dos semanas.

1:160 ó mayor Presumiblemente hepatitis crónica activa.

SMA: ACH es una enfermedad crónica del hígado afectando principalmente a las mujeres jóvenes pero también afecta a ambos sexos a todas las edades. Es caracterizada en biopsias hepáticas por deterioro de la función hepática debido por necrosis de las células del parénquima hepático en áreas linfocíticas y de filtración celular plasmática. Se considera como resultado positivo unas manchas brillantes difusas citoplasmáticas en las capas de músculo liso de la mucosa muscularis que se encuentra en el estómago de rata ó ratón. La fluorescencia puede estar también presente en la paredes capilares de las capas gástricas y rodeando arterias y venas. La fluorescencia de otros antígenos celulares así como el núcleo, células parietales ó tejido conjuntivo no deberían de informarse como positivos de SMA.

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 manipularse 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 AD TMM3 Medio de montaje	Consejos de prudencia Prevención: P264 Lavarse ó concienciadamente 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
Prinsessegracht 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 Tests
	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 Halbbarkeitsdatum
 +2°C	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 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 Phosphatgepufferte Salzlösung
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 Gewebe-substrat-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 d'amplification Verstärkungslösung
WASHB	Wash Buffer Tampone di lavaggio Tampón de lavado Tampon de lavage Waschpuffer
MPS 12x8	Microplate Strips Strip per Micropiastro 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) Calibrateur(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-objets Deckgläser
CONJ +	Positive Conjugate Conjugato Positivo Conjugado Positivo Conjugué Positif Positivkinjugat
CONJ -	Negative Conjugate Conjugato Negativo Conjugado Negativo Conjugué Négatif Negativkinjugat
DIL	Sample Diluent Diluente del campione Diluyente de muestra Tampon de dilution Probenverdünnungslösung

--	--