



**SZABO
SCANDIC**

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

linkedin.com/company/szaboscandic





Optical Standard (OS) Slide

IVD

For Laboratory Use

PRODUCT INSERT

REF 2550 OS Optical Standard Slide 8 Wells

INTENDED USE

The Optical Standard (OS) Slide is intended to aid laboratories in the calibration and optimization of microscopes equipped for immunofluorescence studies.

SUMMARY AND EXPLANATION

Immunofluorescence (IF) microscope methods are simple, sensitive and specific techniques used in a wide variety of laboratory tests. Interpretation of IF reactions, however, are highly influenced by various factors, the most significant being the microscope itself. Microscope performance variance may result from different conditions that involve alignment of the optical system, selection of filter(s), age/type of light source and the objective selected. Any of these factors may significantly affect the observed fluorescence intensity emitted by a specimen. To minimize the effect of such variations on the reading and interpretation of IF reactions, NCCLS recommends the use of an optical standard slide.¹

Methods were proposed by T. Ooishi and N. Uyesaka to ameliorate disparities in microscope performance through the use of latex microspheres labeled with varying concentrations of FITC.² This fluorescein bead method offers applications in calibration, however, the substrate has proven difficult to read and interpret, especially by technicians used to semi-quantitation of antibody levels on tissues, cells and other biological substrates. The fluorescence from fluorophores attached to analytes can differ greatly from the same fluorophore immobilized on a microsphere.³ For these reasons Immco™ has established an optical standard based on a biological substrate.

An earlier version of the Immco™ OS Slide utilized microspheres of graduated intensity. However, studies of various OS Slide formats have concluded that calibration and standardization of optical systems for IF applications in the clinical laboratory is ideally performed using biological cells bound and labeled with graduated titers of antibodies. These studies, facilitated by image analysis software available from the National Institutes of Health,⁴ prompted a change in Immco™ OS Slide format.

The new and improved ImmuGlo™ Optical Standard Slide offers the laboratory a practical and innovative approach to optimize and monitor the performance of the fluorescent microscope using cells commonly employed in the clinical laboratory. Utilization of this method along with controls of known titer can significantly improve the reliability and inter-scope correlation of IF results.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The ImmuGlo™ Optical Standard Slide contains human polymorphonuclear leukocytes. They are fixed onto the glass in eight wells and exhibit graduated apple-green fluorescence intensities from four plus (++++) to negative (-) when observed under a fluorescent light microscope with fluorescein filter settings. This allows the microscopist to determine desired end point. Variation from this end point reflects sub-optimal performance of the fluorescent light microscope, prompting a corrective action.

REAGENTS

Storage and Cleaning

Keep slide in its cassette in the dark at 2-8°C. Before use, let it equilibrate for 15 minutes at room temperature. If the slide requires cleaning, carefully hold it at the edge and wipe both sides of slide with alcohol swab. Apply minimal pressure to the coverglass to prevent any lateral movement.

Materials Provided

ImmunoGlo™ Optical Standard slide [REF] 2550 OS

8-well microscope slide containing fixed human polymorphonuclear leukocytes of graduated fluorescence intensities.

Materials required but not provided

Microscope equipped with fluorescent light source and excitation filters.

PROCEDURE

STEP 1 Switch on fluorescent light microscope and let light source equilibrate for 15 minutes.

STEP 2 Place OS slide on microscope stage and read apple-green fluorescence intensity of neutrophil nuclei at 400x in each well. Please note normal light refraction when focusing on nuclei.

STEP 3 Determine end point and compare results with the following figure:

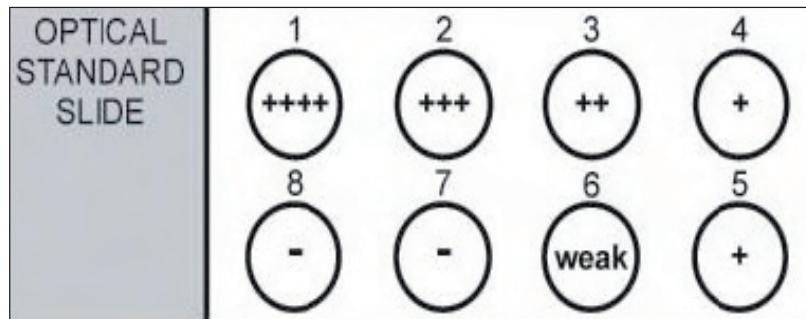


Figure 1. OS Slide Layout

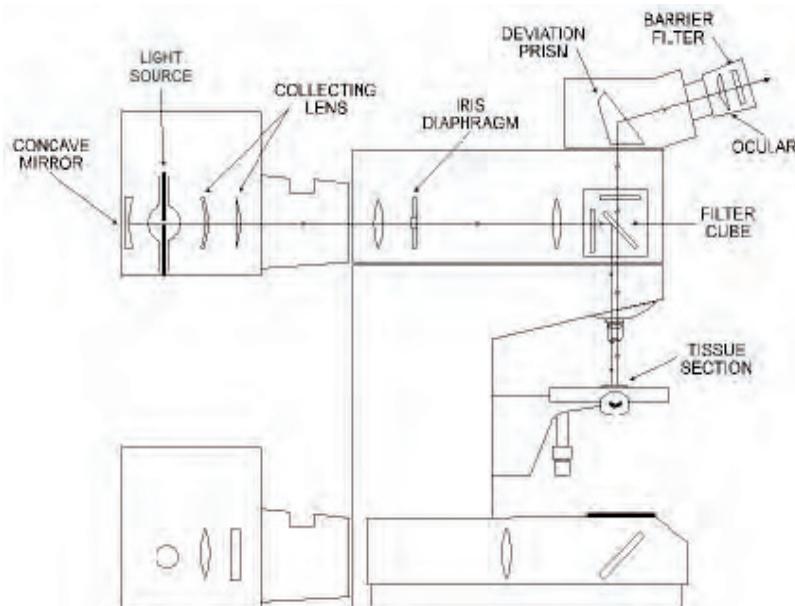


Figure 2. Fluorescent Light Microscope

EXPECTED VALUES

Neutrophils in all wells should display apple-green nuclear reactions of varying intensities. Well number 1 should read four plus (+++). Intensity readings should gradually decrease as well numbers increase, reading negative (-) in well number 7. Endpoint (+/-) should be obtained in well number 6. Deviation of a microscope system by more than one well from the expected endpoint indicates inadequate performance of the fluorescent light microscope and/or interpretation subjectivity. Remedial actions are suggested below:

- Check and adjust optical alignment per microscope manufacturer's instructions
- Clean objective and eyepiece lenses
- Check filters. Excitation and barrier filters may not be appropriate for the fluorochrome used
- Check the microscope light source (bulb). Replace the bulb and recalibrate the microscope
- Consult with microscope manufacturer if adjustments are unsuccessful and problems persist



Αντικειμενοφόρος οπτικού προτύπου (ΟΠ)

IVD

Για εργαστηριακή χρήση ΕΝΘΕΤΟ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

REF 2550 OS Αντικειμενοφόρος οπτικού προτύπου (ΟΠ) 8 Κυψελίδες

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η αντικειμενοφόρος οπτικού προτύπου (ΟΠ) προορίζεται για την υποβοήθηση εργαστηρίων στη βαθμονόμηση και τη βελτιστοποίηση μικροσκοπίων κατάλληλα εξοπλισμένων για μελέτες ανοσοφθορισμού.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Οι μέθοδοι μικροσκοπίας ανοσοφθορισμού (IF) είναι απλές, ευαίσθητες και ειδικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε μια μεγάλη ποικιλία εργαστηριακών αναλύσεων. Ωστόσο, οι ερμηνείες των αντιδράσεων ανοσοφθορισμού επηρεάζονται σημαντικά από διάφορους παράγοντες, από τους οποίους ο ποιο σημαντικός είναι το ίδιο το μικροσκόπιο. Η διακύμανση της απόδοσης του μικροσκοπίου ενδέχεται να προκαλείται από διάφορες καταστάσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν την ευθυγράμμιση του οπτικού συστήματος, την επιλογή φίλτρου ή φίλτρων, την ηλικία/τύπο της φωτεινής πηγής και το επιλεγμένο αντικείμενο. Οποιοσδήποτε από αυτούς τους παράγοντες ενδέχεται να επηρεάσει σημαντικά την παρατηρούμενη ένταση φθορισμού που εκπέμπεται από ένα δείγμα. Για την ελαχιστοποίηση της επίδρασης τέτοιων διακυμάνσεων στην ανάγνωση και ερμηνεία των αντιδράσεων ανοσοφθορισμού, η NCCLS συνιστά τη χρήση μιας αντικειμενοφόρου οπτικού προτύπου.¹

Οι T Ooishi και N. Uyesaka πρότειναν μεθόδους για τη βελτίωση των διαφορών στην απόδοση του μικροσκοπίου, με τη χρήση μικροσφαιριδίων από λατέξ, σημασμένων με διάφορες συγκεντρώσεις FITC.² Αυτή η μέθοδος σφαιριδίων με φλουοροσκεΐνη παρέχει εφαρμογές στη βαθμονόμηση, ωστόσο, το υπόστρωμα έχει αποδειχθεί ότι είναι δύσκολο να αναγνωστεί και να ερμηνευθεί, ειδικά από τεχνικούς που είναι συνηθισμένοι στον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των επιπτέδων αντισωμάτων σε ιστούς, κύτταρα και άλλα βιολογικά υποστρώματα. Ο φθορισμός από φθοριοφόρα συνδεδεμένα με αναλυόμενες ουσίες ενδέχεται να διαφέρει πολύ από εκείνον του ίδιου φθοριοφόρου όταν είναι ακινητοποιημένο σε ένα μικροσφαιρίδιο.³ Για τους λόγους αυτούς, η ImmcoTM έχει δημιουργήσει ένα οπτικό πρότυπο με βάση ένα βιολογικό υπόστρωμα.

Μια προηγούμενη εκδοχή της αντικειμενοφόρου ΟΠ της ImmcoTM χρησιμοποιούσε μικροσφαιρίδια διαβαθμισμένης έντασης. Ωστόσο, μελέτες διαφόρων τύπων αντικειμενοφόρου ΟΠ κατέληξαν ότι η βαθμονόμηση και η τυποποίηση των οπτικών συστημάτων για εφαρμογές ανοσοφθορισμού στο κλινικό εργαστήριο διενεργούνται ιδανικά με τη χρησιμοποίηση βιολογικών κυττάρων δεσμευμένων και σημασμένων με διαβαθμισμένους τίτλους αντισωμάτων. Οι μελέτες αυτές, που υποβοήθηκαν από λογισμικό ανάλυσης εικόνας διαθέσιμο από τα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας,⁴ οδήγησαν σε αλλαγή της διαμόρφωσης της αντικειμενοφόρου ΟΠ της ImmcoTM.

Η νέα και βελτιωμένη αντικειμενοφόρος οπτικού προτύπου ImmuGloTM προσφέρει στο εργαστήριο μια πρακτική και πρωτοποριακή προσέγγιση για τη βελτίωση και την παρακολούθηση της απόδοσης του μικροσκοπίου ανοσοφθορισμού, χρησιμοποιώντας κύτταρα που χρησιμοποιούνται συχνά στο κλινικό εργαστήριο. Η χρησιμοποίηση αυτής της μεθόδου παράλληλα με μάρτυρες γνωστού τίτλου μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την αξιοπιστία και τη συσχέτιση των αποτελεσμάτων ανοσοφθορισμού μεταξύ μικροσκοπίων.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η αντικειμενοφόρος οπτικού προτύπου ImmuGloTM φέρει πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα ανθρώπου. Τα κύτταρα αυτά είναι καθηλωμένα στο γυαλί, σε οκτώ κυψελίδες και παρουσιάζουν διαβαθμισμένες εντάσεις φθορισμού έντονου πράσινου χρώματος, από συν τέσσερα (+++) έως αρνητική (-), όταν παρατηρηθούν σε οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού με ρυθμίσεις φίλτρου για φλουοροσκεΐνη. Αυτό επιτρέπει στο χειριστή του μικροσκοπίου να προσδιορίσει το επιθυμητό τελικό σημείο. Τυχόν απόκλιση από αυτό το τελικό σημείο υποδηλώνει μη βέλτιστη απόδοση του οπτικού μικροσκοπίου φθορισμού, προτρέποντας σε λήψη διορθωτικών μέτρων.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Φύλαξη και καθαρισμός

Διατηρείτε την αντικειμενοφόρο μέσα στην κασέτα της, σε σκοτεινό χώρο, σε θερμοκρασία 2-8°C. Πριν από τη χρήση, αφήστε την επί 15 λεπτά να φθάσει σε θερμοκρασία δωματίου. Εάν η αντικειμενοφόρος απαιτεί καθαρισμό, κρατήστε την προσεκτικά από την άκρη και σκουπίστε και τις δύο πλευρές της με μια μπατονέτα με αλκοόλη. Εφαρμόστε μια ελάχιστη πίεση στην καλυπτρίδα ώστε να αποτρέψετε τυχόν πλευρική μετατόπισή της.

Υλικά που παρέχονται

Αντικειμενοφόρος οπτικού προτύπου ImmuGlo™ **REF** 2550 OS

Αντικειμενοφόρος μικροσκοπίου με 8 κυψελίδες που περιέχουν καθηλωμένα πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα ανθρώπου με διαβαθμισμένες εντάσεις φθορισμού.

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

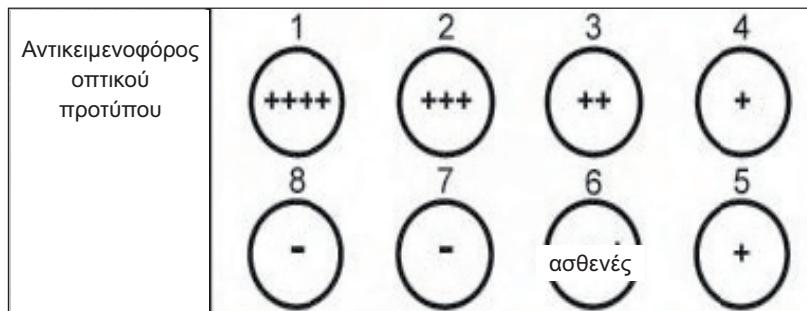
Μικροσκόπιο εξοπλισμένο με φθορίζουσα φωτεινή πηγή και φίλτρα διέγερσης.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

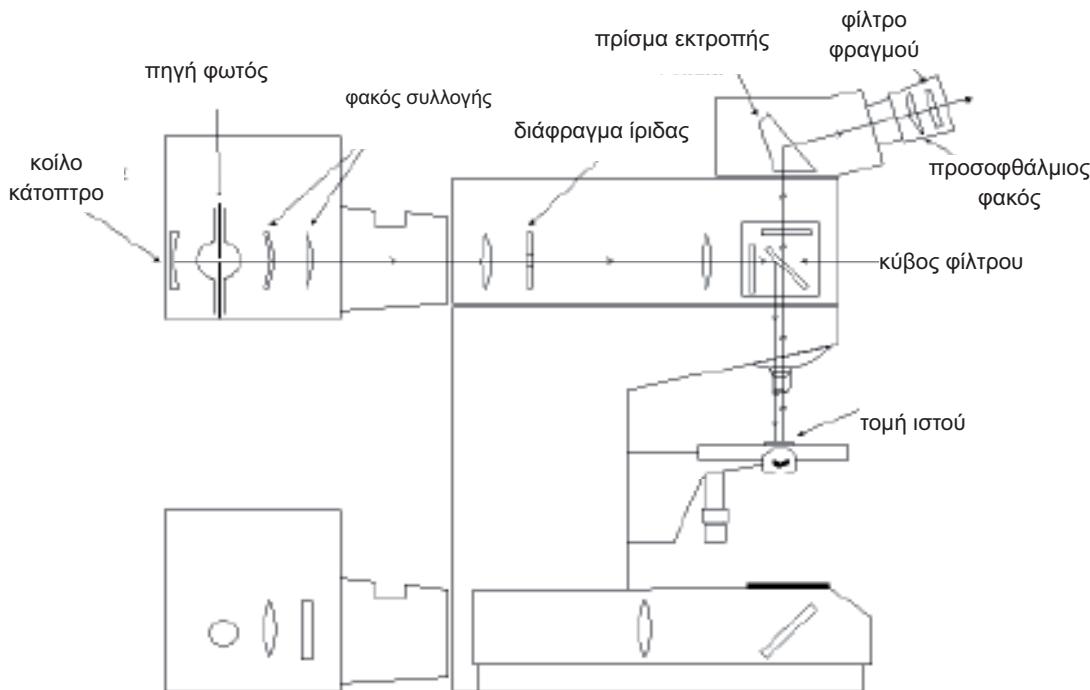
BHMA1 Ανάψτε το οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού και αφήστε τη φωτεινή πηγή να φθάσει σε θερμοκρασία δωματίου επί 15 λεπτά.

BHMA 2 Τοποθετήστε την αντικειμενοφόρο ΟΠ στην τράπεζα του μικροσκοπίου και διαβάστε την ένταση έντονου πράσινου φθορισμού των πυρήνων των ουδετερόφιλων, σε μεγέθυνση 400x, σε κάθε κυψελίδα. Παρατηρήστε τη φυσιολογική διάθλαση φωτός κατά την εστίαση στους πυρήνες.

BHMA 3 Προσδιορίστε το τελικό σημείο και συγκρίνετε τα αποτελέσματα με την παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 1. Διάταξη της αντικειμενοφόρου ΟΠ



Εικόνα 2. Οπτικό μικροσκόπιο φθορισμού

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Τα ουδετερόφιλα σε όλες τις κυψελίδες θα πρέπει να εμφανίζουν έντονου πτράσινου χρώματος πυρηνικές αντιδράσεις διαφόρων εντάσεων. Η κυψελίδα υπ' αριθμόν 1 θα πρέπει να έχει ένταση συν τέσσερα (+++). Οι εντάσεις θα πρέπει βαθμιαία να μειώνονται καθώς αυξάνεται ο αριθμός των κυψελίδων, καταλήγοντας αρνητική (-) στην κυψελίδα υπ' αριθμόν 7. Το τελικό σημείο (+/-) θα πρέπει να λαμβάνεται στην κυψελίδα υπ' αριθμόν 6. Η απόκλιση ενός συστήματος μικροσκοπίας κατά περισσότερο από μια κυψελίδα από το αναμενόμενο τελικό σημείο υποδεικνύει ανεπαρκή απόδοση του οπτικού μικροσκοπίου φθορισμού και/ή υποκειμενική ερμηνεία. Οι ενέργειες αντιμετώπισης προτείνονται παρακάτω:

- Ελέγξτε και ρυθμίστε την οπτική ευθυγράμμιση σύμφωνα με τον κατασκευαστή του μικροσκοπίου
- Καθαρίστε τον αντικειμενικό και τους προσοφθάλμιους φακούς
- Ελέγξτε τα φίλτρα. Τα φίλτρα διέγερσης και φραγμού ενδέχεται να μην είναι τα κατάλληλα για τη φθορίζουσα ουσία που χρησιμοποιείται
- Ελέγξτε τη φωτεινή πηγή του μικροσκοπίου (λυχνία). Αντικαταστήστε τη λυχνία και βαθμονομήστε εκ νέου το μικροσκόπιο
- Εάν οι ρυθμίσεις δεν είναι επιτυχείς και τα προβλήματα παραμένουν, συμβουλευθείτε τον κατασκευαστή του μικροσκοπίου



Porta Estándar Óptico (OS)

IVD

Para uso en laboratorio

PROSPECTO

REF 2550 OS Porta óptico estándar 8 pocillos

USO PREVISTO

El porta estándar óptico (OS) se utiliza en laboratorio como ayuda para calibrar y optimizar los microscopios equipados para estudios de inmunofluorescencia.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los métodos que utilizan microscopio de inmunofluorescencia (IF) son simples, sensibles y de técnica específica, y se emplean en una amplia variedad de análisis de laboratorio. En la interpretación de las reacciones de IF influyen diferentes factores, siendo el más importante de ellos el microscopio en sí mismo. Las variaciones de rendimiento del microscopio pueden deberse a varios factores, por ejemplo la alineación del sistema óptico, la selección de los filtros, el tiempo de uso y tipo de la fuente de luz y el objetivo seleccionado. Uno cualquiera de estos factores puede afectar de manera significativa la intensidad de la fluorescencia observada en la muestra que se está analizando. Para reducir al mínimo los efectos de esas variaciones en la lectura e interpretación de las reacciones de IF, la NCCLS recomienda el uso de un porta estándar óptico.¹

Para disminuir la disparidad en el rendimiento de los microscopios, T. Ooishi y N. Uyesaka propusieron un método basado en el uso de microesferas de látex marcadas con diferentes concentraciones de FITC.² Este método de microesferas de fluoresceína puede aplicarse a la calibración, pero presenta dificultades en la lectura e interpretación del substrato, especialmente a los técnicos habituados a la semicuantificación de niveles de anticuerpos en tejidos, células y otros substratos biológicos. La fluorescencia de un fluoróforo unido a analitos puede diferir notablemente si ese mismo fluoróforo está inmovilizado en una microesfera.³ Por estos motivos, Immco™ ha establecido un estándar óptico basado en un substrato biológico.

Una versión anterior de porta OS Immco™ utilizaba microesferas de intensidad graduada, pero después de estudios en diferentes formatos de OS se llegó a la conclusión de que ,para la calibración y estandarización de los sistemas ópticos para IF usados en los laboratorios clínicos es mejor utilizar células biológicas unidas y marcadas con títulos graduados de anticuerpos. Dichos estudios, con la ayuda del software para análisis de imágenes puesto a disposición por los Institutos Nacionales de Salud, sugirieron un cambio en el formato de los portas OS Immco™ OS.

Este porta nuevo y mejorado de ImmuGlo™ ofrece a los laboratorios un modo práctico y novedoso para optimizar y monitorizar el rendimiento del microscopio de fluorescencia utilizando células que se usan habitualmente en un laboratorio clínico. El uso de este método, junto con controles de título conocido, mejora notablemente la fiabilidad y la correlación de resultados de IF.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El Porta estándar óptico ImmuGlo™ contiene leucocitos polimorfonucleares humanos, fijados al cristal en ocho pocillos; muestran una fluorescencia verde manzana de intensidad graduada de cuatro más (++++) a negativo (-) al observarlos bajo un microscopio de fluorescencia con configuración para filtros de fluoresceína; gracias a ésto, el microscopista puede determinar el punto final que desee. Una variación con respecto a ese punto final indica que el microscopio de fluorescencia no está funcionando correctamente y permite una temprana corrección.

REACTIVOS

Conservación y limpieza

Conserve el porta en su caja, en lugar oscuro y temperatura de 2 a 8°. Antes de utilizarlo, déjelo 15 minutos a temperatura ambiente para que se estabilice. Si fuera necesario limpiarlo, sosténgalo cuidadosamente por los bordes y repase ambas caras con un hisopo embebido en alcohol. Trate de no ejercer presión en el cubre para evitar un posible movimiento lateral.

Material suministrado

Porta estándar óptico ImmunoGlo™ **REF** 2550 OS

Porta para microscopio con 8 pocillos que contienen leucocitos polimorfonucleares humanos fijados con intensidad de fluorescencia graduada.

Material necesario no suministrado

Microscopio equipado con fuente de luz fluorescente y filtros de excitación.

PROCEDIMIENTO

PASO 1 Encienda el microscopio de fluorescencia y aguarde 15 minutos a que la fuente de luz se estabilice.

PASO 2 Coloque el porta OS en la platina del microscopio y en cada pocillo lea a 400x la intensidad de la fluorescencia verde manzana del núcleo de los neutrófilos. Tome nota de la refracción normal de la luz al enfocar en el núcleo..

PASO 3 Determine el punto final y compare los resultados con la siguiente figura:

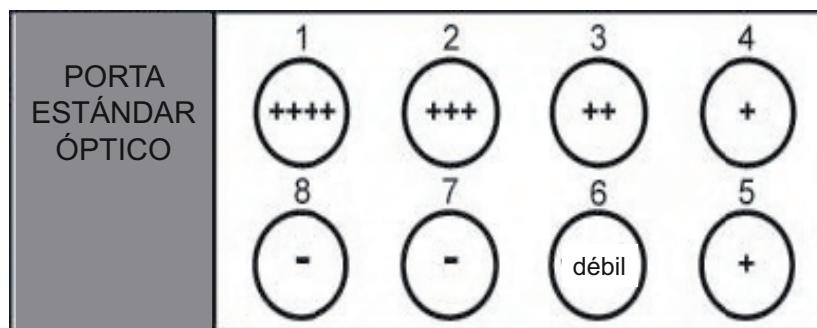


Figura 1. Esquema del porta OS

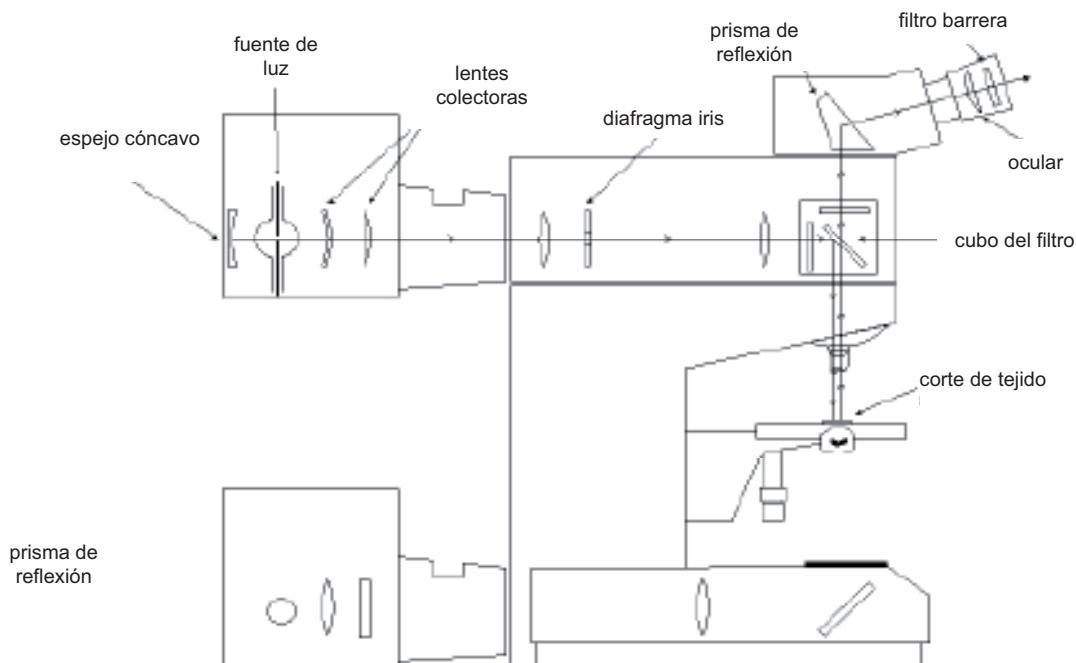


Figura 2. Microscopio de luz fluorescente

VALORES ESPERADOS

En todos los pocillos, los neutrófilos han de presentar reacciones nucleares color verde manzana de intensidad variable. La lectura del pocillo número 1 será de cuatro más (+++), y la intensidad de las lecturas decrecerá al aumentar la numeración, hasta llegar a la lectura negativa (-) en el pocillo número 7. El punto final (+/-) se debe obtener en el pocillo número 6. Si el sistema del microscopio se desvía en más de un pocillo del punto final esperado, significa que el microscopio de luz fluorescente no funciona correctamente o que la interpretación es subjetiva. A continuación se indican las posibles acciones correctivas:

- Controle y regule la alineación óptica siguiendo las instrucciones del fabricante del microscopio.
- Limpie las lentes del objetivo y del ocular.
- Controle los filtros. Puede que los filtros de barrera y de excitación no sean adecuados al fluorocromo que está utilizando.
- Controle la fuente de luz del microscopio (lámpara). Cámbiela y calibre el microscopio.
- Si los ajustes no producen el efecto esperado y el problema subsiste, consulte con el fabricante del microscopio.



Optischer Standard-Objektträger (OS)

IVD

Zur Anwendung im Labor

BEIPACKTEXT

REF 2550 OS Optischer Standard-Objektträger (OS) 8 Vertiefungen

VERWENDUNGSZWECK

Der optische Standard-Objektträger (OS) dient Laboratorien als Hilfe bei der Kalibrierung und Optimierung von für Immunfluoreszenz-Untersuchungen ausgestatteten Mikroskopen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Immunfluoreszenzmikroskop-Methoden (IF) sind einfache, sensitive und spezifische Methoden, die bei vielen verschiedenen Labortests zum Einsatz kommen. Die Interpretation von IF-Reaktionen wird jedoch stark von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst, von denen der wichtigste das Mikroskop selbst ist. Abweichungen in der Leistung des Mikroskops können von unterschiedlichen Umständen abhängen, zu denen die Ausrichtung des optischen Systems, die Filterauswahl, das Alter/die Art der Lichtquelle und das gewählte Objektiv zählen. Jeder dieser Faktoren kann einen signifikanten Einfluss auf die beobachtete Fluoreszenzintensität einer Probe haben. NCCLS empfiehlt die Anwendung eines optischen Standard-Objektträgers, um den Einfluss solcher Abweichungen auf das Ablesen und die Interpretation von IF-Reaktionen auf ein Minimum zu reduzieren.¹

T. Ooishi und N. Uyesaka schlugen zur Verbesserung von Abweichungen in der Mikroskopleistung Methoden vor, bei denen mit unterschiedlichen FITC-Konzentrationen markierte Latex-Mikrosphären verwendet werden.² Diese Fluorescein-Sphären-Methode bietet Anwendungsmöglichkeiten bei der Kalibrierung, aber das Substrat gilt als schwer abzulesen und zu interpretieren, insbesondere für Techniker, die an die semi-quantitative Bestimmung von Antikörperkonzentrationen auf Geweben, Zellen und anderen biologischen Substraten gewöhnt sind. Die Fluoreszenz von an Analyten gebundenen Fluorophoren kann sich stark von demselben Fluorophor unterscheiden, wenn dieser auf Mikrosphären immobilisiert ist.³ Aus diesem Grund hat Immco™ einen auf einem biologischen Substrat basierenden optischen Standard erstellt.

Eine frühere Version der Immco™ OS-Objektträger verwendete Mikrosphären mit abgestufter Intensität. Studien verschiedener OS-Objektträgerformate kamen jedoch zu dem Schluss, dass die Kalibrierung und Standardisierung von optischen Systemen für die IF-Anwendung in klinischen Laboren idealerweise mit biologischen Zellen durchgeführt werden sollte, die mit abgestuften Antikörpertitern gebunden und markiert sind. Diese Studien, die durch eine vom National Institute of Health⁴ erhältliche Bildanalysesoftware unterstützt wurden, führten zu der Änderung des Immco™ OS-Objektträgerformats.

Der neue, verbesserte ImmuGlo™ optische Standard-Objektträger bietet Laboren eine praktische und innovative Methode, mit der sie unter Verwendung von in klinischen Laboren häufig eingesetzten Zellen die Leistung von Immunfluoreszenzmikroskopen optimieren und überwachen können. Die Verwendung dieser Methode zusammen mit Kontrollseren mit bekannten Titern kann die Zuverlässigkeit und Inter-Mikroskop-Korrelation von IF-Ergebnissen signifikant verbessern.

VERFAHRENSPRINZIP

Der ImmuGlo™ optische Standard-Objektträger enthält humane polymorphenukleäre Leukozyten. Diese sind in acht Vertiefungen an das Glas fixiert und zeigen abgestufte apfelgrüne Fluoreszenzintensitäten von vier plus (++++) bis negativ (-), wenn sie unter einem Immunfluoreszenzmikroskop mit Fluorescein-Filttereinstellungen betrachtet werden. Dies ermöglicht es dem Mikroskop-Anwender, den gewünschten Endpunkt zu bestimmen. Abweichungen von diesem Endpunkt zeigen eine sub-optimale Leistung des Immunfluoreszenzmikroskops an und geben Anlass zu Korrekturmaßnahmen.

REAGENZIEN

Lagerung und Säuberung

Lagern Sie den Objektträger in seiner Schachtel bei 2-8 °C im Dunkeln. Lassen Sie ihn vor der Anwendung 15

Minuten lang bei Raumtemperatur liegen. Falls der Objektträger gereinigt werden muss, fassen Sie ihn vorsichtig am Rand an und wischen Sie beide Seiten des Objektträgers mit einem alkoholgetränkten Tupfer ab. Üben Sie so wenig Druck wie möglich auf das Deckgläschen aus, damit dieses nicht verrutscht.

Mitgelieferte Materialien

ImmunoGlo™ optischer Standard-Objektträger [REF](#) 2550 OS

Mikroskop-Objektträger mit 8 Vertiefungen, die fixierte humane polymorphenukleäre Leukozyten mit abgestuften Fluoreszenzintensitäten enthalten.

Benötigte, nicht mitgelieferte Materialien

Mikroskop mit Fluoreszenzlichtquelle und Anregungsfilters.

VERFAHREN

SCHRITT 1 Schalten Sie das Fluoreszenzmikroskop ein und lassen Sie der Lichtquelle 15 Minuten Zeit, ins Gleichgewicht zu kommen.

SCHRITT 2 Legen Sie den OS-Objektträger auf den Mikroskoptisch und lesen Sie in jeder Vertiefung die apfelgrüne Fluoreszenzintensität der Neutrophilennuklei bei 400-facher Vergrößerung ab. Bitte beachten Sie beim Scharfstellen der Nuklei die normale Lichtbrechung.

SCHRITT 3 Bestimmen Sie den Endpunkt und vergleichen Sie die Ergebnisse mit der folgenden Abbildung:

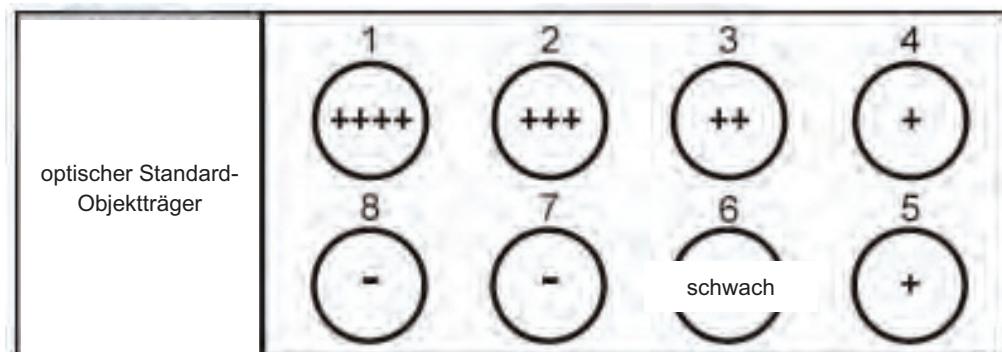


Abbildung 1. Layout des OS-Objektträgers

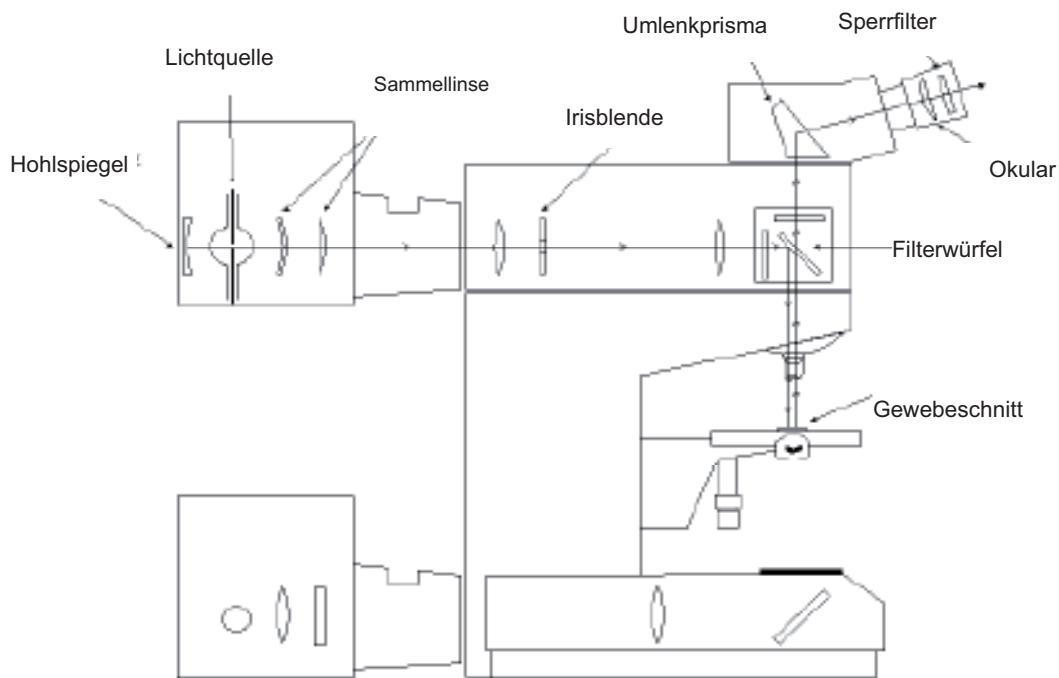


Abbildung 2. Fluoreszenzmikroskop

ERWARTETE WERTE

Die neutrophilen Granulozyten in allen Vertiefungen sollten apfelgrüne nukleäre Reaktionen unterschiedlicher Intensitäten zeigen. Vertiefung 1 sollte eine Intensität von vier plus (++++) aufweisen. Die Intensität sollte mit ansteigenden Vertiefungsnummern graduell abnehmen und in Vertiefung 7 negativ (-) sein. Der Endpunkt (+/-) sollte in Vertiefung 6 erreicht sein. Eine Abweichung des Mikroskopsystems von dem erwarteten Endpunkt um mehr als eine Vertiefung zeigt eine ungenügende Leistung des Fluoreszenzmikroskops und/oder Interpretationssubjektivität an. Folgende Korrekturmaßnahmen werden vorgeschlagen:

- Überprüfen und regulieren Sie die optische Ausrichtung; befolgen Sie dabei die Anweisungen des Herstellers des Mikroskops.
- Reinigen Sie das Objektiv und die Linsen des Okulars.
- Kontrollieren Sie die Filter. Die Anregungs- und Sperrfilter sind möglicherweise nicht für das verwendete Fluorochrom geeignet.
- Kontrollieren Sie die Lichtquelle des Mikroskops (Glühlampe). Ersetzen Sie die Lampe und rekalibrieren Sie das Mikroskop.
- Wenden Sie sich an den Hersteller des Mikroskops, falls die Regulierungen nicht erfolgreich sind und die Probleme fortbestehen.



Lamelle Standard Optique (OS)

IVD

Pour utilisation en laboratoire

ENCART DU PRODUIT

REF 2550 OS Lamelle Standard Optique (OS) 8 Puits

La lamelle Standard Optique (OS) a été conçue pour aider les laboratoires à calibrer et optimiser les microscopes équipés pour les tests par immunofluorescence.

GENERALITES

Les méthodes de microscope par immunofluorescence (IF) sont des techniques simples, sensibles et spécifiques utilisées dans une large gamme de tests de laboratoire. L'interprétation des réactions d'IF est, par contre, influencée par de nombreux facteurs dont le principal est le microscope lui-même. La variation de performance du microscope peut résulter de différentes conditions qui comprennent l'alignement du système optique, la sélection du (des) filtre(s), l'âge et le type de source lumineuse et l'objectif sélectionné. La plupart de ces facteurs peuvent affecter de façon significative l'intensité de la fluorescence émise par un échantillon. Pour diminuer les effets de telles variations de lecture et d'interprétation des réactions d'IF, le NCCLS recommande l'utilisation d'une lamelle de standard optique¹.

Des méthodes ont été proposées par T. Ooishi et N. Uyesaka pour améliorer les disparités de performance des microscopes à travers l'utilisation de microsphères en latex présentant différentes concentrations de FITC². Cette méthode de liaison à la fluorescéine offre des applications en calibration, mais le substrat est difficile à lire et à interpréter, spécialement par des techniciens habitués à une semi-quantification des niveaux d'anticorps dans les tissus, cellules et autres substrats biologiques. La fluorescence émanant des fluorophores attachés au composé à analyser peut être fortement différente pour le même fluorophore fixé sur une microsphère³. Pour ces raisons, Immco™ a développé un standard optique basé sur un substrat biologique.

Une version précédente des Lamelles OS de Immco™ utilisait des microsphères d'intensité graduée. Des études portant sur différents formats de Lamelles OS ont montré que la calibration et la standardisation des systèmes optiques pour les applications d'IF dans les laboratoires cliniques sont plus correctes en utilisant des cellules biologiques comme liant et calibrées pour différents titres d'anticorps. Ces études, facilitées par l'analyse de l'image par software disponible auprès du National Institute of Health⁴, a entraîné un changement dans le format des lamelles OS de Immco™.

Les nouvelles Lamelles OS ImmuGlo™ améliorées offrent aux laboratoires une approche pratique et innovatrice pour optimiser et gérer la performance des microscopes à fluorescence en utilisant des cellules habituellement employées dans les laboratoires cliniques. L'utilisation de cette méthode associée aux contrôles de titre connu peut améliorer de façon significative la fiabilité et la corrélation inter-test des résultats d'immunofluorescence.

PRINCIPE DE LA METHODE

Les lamelles Standard Optique ImmuGlo™ contiennent des leucocytes polymorphonucléaires humains. Ils sont fixés sur le verre dans 8 trous et montrent une fluorescence verte croissante de 4 plus (+++) à négatif (-) lorsque l'on les observe au microscope sous une lumière réglée pour les filtres à fluorescéine. Ceci permet à l'utilisateur du microscope de déterminer le titrage souhaité. Des variations de ce titrage reflètent une performance non optimale de la lumière fluorescente du microscope, permettant de la corriger immédiatement.

INFORMATION PRODUIT

Conservation et entretien des réactifs

Conserver les lamelles dans leur coffret à l'obscurité entre 2 et 8°C. Porter à la température ambiante durant 15 minutes avant de les utiliser. Si la lamelle doit être nettoyée, la tenir avec soin par une extrémité et essuyer les deux faces à l'aide d'un coton imbibé d'alcool. Appliquer une pression minimale sur le couvre-lame pour éviter tout mouvement latéral.

Matériel fourni

ImmunoGlo™ Lamelle Standard Optique **REF** 2550 OS

Lamelle de microscope à 8 trous contenant des leucocytes polymorphonucléaires humains fixés d'intensité de fluorescence croissante.

Matériel nécessaire mais non fourni

Microscope équipé d'une source de lumière fluorescente et les filtres adaptés.

METHODE

1. Allumer la lumière fluorescente du microscope et la laisser s'équilibrer pendant 15 minutes.
2. Placer une lamelle OS sur le microscope et lire l'intensité de la fluorescence vert pomme des noyaux des neutrophiles de chaque trou à 400 nm. Réaliser une réfraction de la lumière classique lors de la mise au point sur les noyaux.
3. Déterminer le tirage et comparer les résultats avec la figure suivante.

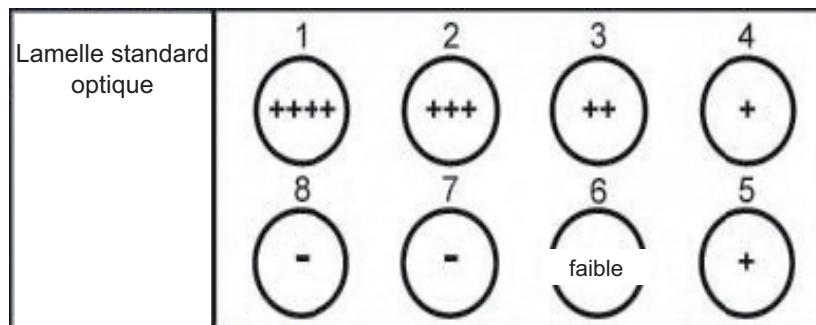


Figure 1. Layout Lamelle OS

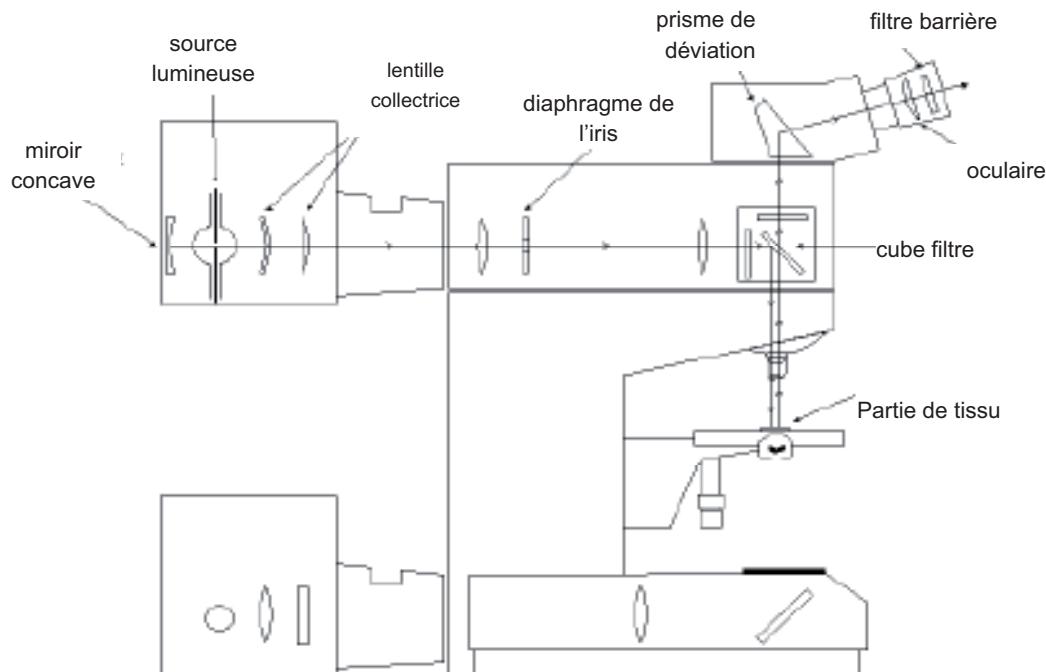


Figure 2 Microscope à lumière fluorescente

FR

VALEURS PRÉVUES

Les neutrophiles de tous les puits doivent montrer une réaction des noyaux vert pomme d'intensité différente. Pour le puit n°1, on devrait lire 4 plus (+++). Les lectures d'intensité devraient graduellement diminuer d'un puit à l'autre, pour arriver à une lecture négative (-) au puit 7. Le titrage (+/-) doit être obtenu au puit 6. Une déviation du microscope de plus d'un puit indique une performance non correcte du microscope à fluorescence et/ou une interprétation subjective.

Les actions pour y remédier sont les suivantes :

- Vérifier et ajuster l'alignement optique comme indiqué dans le mode d'emploi du fabricant
- Nettoyer l'objectif et les lentilles oculaires
- Vérifier les filtres. Les filtres d'excitation et de barrière peuvent ne pas être adaptés pour le fluorochrome utilisé
- Vérifier la source de lumière (ampoule). Remplacer l'ampoule et recalibrer le microscope
- Consulter le fabricant du microscope si les modifications n'ont produit aucune amélioration et si le problème persiste.



Vetrino Standardizzazione Ottica (SO)

IVD

Per uso di laboratorio

INSERTO DEL PRODOTTO

REF 2550 OS Vetrino Standardizzazione Ottica 8 Pozzetti

FINALITA' D'USO

Il vetrino per la standardizzazione ottica è stato sviluppato per essere di aiuto ai laboratori nella calibrazione e nell'ottimizzazione dei microscopi attrezzati per gli studi in immunofluorescenza.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

I metodi di microscopia in fluorescenza sono tecniche semplici, sensibili e specifiche che vengono impiegate in una varietà di test di laboratorio. Le interpretazioni delle reazioni ottenute per immunofluorescenza possono essere influenzate da una serie di fattori, di cui il più significativo è proprio il microscopio. Una variabilità nella performance del microscopio può ad esempio verificarsi a causa di condizioni che influenzano il sistema ottico, la scelta del/dei filtro/filtri, la durata/tipo della fonte luminosa e l'obiettivo scelto. Uno qualsiasi di questi fattori può avere effetti significativi sull'intensità della fluorescenza osservata emessa da un campione. Per minimizzare gli effetti di queste variazioni di lettura e di interpretazione delle reazioni per IF, la NCCLS raccomanda di usare un vetrino di standardizzazione ottica¹.

T. Ooishi e N. Uyesaka hanno proposto dei metodi per migliorare le disparità nella performance del microscopio mediante l'utilizzo di microsfere di lattice marcate con varie concentrazioni di FITC². Questo metodo delle sfere marcate con fluoresceina è applicabile nella calibrazione, tuttavia, il substrato si è dimostrato di difficile lettura e interpretazione, particolarmente da parte di tecnici abituati alla semiquantificazione dei livelli anticorpali su tessuti, cellule e altri substrati biologici. La fluorescenza emessa dai fluorofori legati agli analiti può variare ampiamente da quella di uno stesso fluoroforo immobilizzato su una microsfera³. Per questi motivi Immco™ ha stabilito uno standard ottico basato su un substrato biologico.

Una versione precedente del Vetrino SO Immco™ utilizzava microsfere di intensità graduata. Tuttavia, studi condotti sui vari formati dei vetrini SO hanno concluso che il metodo ideale per eseguire la calibrazione e la standardizzazione dei sistemi ottici per l'applicazione con l'immunofluorescenza nei laboratori clinici è l'uso di cellule legate e marcate con titoli anticorpali graduati. Questi studi, facilitati dal software per l'analisi delle immagini disponibile presso gli Istituti Sanitari Nazionali⁴, ha sollecitato un cambiamento nel formato del vetrino SO Immco™.

Il nuovo e migliorato Vetrino per la Standardizzazione Ottica ImmuGlo™ offre ai laboratori un approccio pratico e innovativo per ottimizzare e monitorare la performance del microscopio a fluorescenza utilizzando cellule impiegate comunemente nei laboratori clinici. L'uso di questo metodo, in congiunzione ai controlli con titolo noto, può migliorare significativamente l'affidabilità e la correlazione dei risultati ottenuti con l'immunofluorescenza.

PRINCIPI DELLA METODICA

Il Vetrino per la Standardizzazione Ottica contiene leucociti polimorfonucleari umani fissati su vetro in otto pozetti che mostrano un'intensità graduata di fluorescenza verde mela da 4 più (++++) a negativa (-) se osservati con un microscopio a fluorescenza con impostati filtri per la fluoresceina. Ciò consente al microscopista di determinare l'endpoint desiderato. Le variazioni da questo endpoint riflettono la performance subottimale del microscopio a fluorescenza, sollecitando un'azione correttiva.

REAGENTI

Conservazione e Pulizia

Conservare il vetrino nel suo contenitore in assenza di luce a 2-8°C. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente per 15 minuti. Per pulire il vetrino, reggerlo con attenzione per l'estremità e strofinare i due lati del vetrino con un bastoncino cotonato imbevuto di alcool. Esercitare una pressione minima sul coprioggetto per prevenire gli spostamenti laterali.

Materiali forniti

Vetrino per la Standardizzazione Ottica ImmuGlo™ **REF** 2550 OS

Vetrino per microscopia da 8 pozzetti contenente leucociti polimorfonucleari umani fissati con intensità di fluorescenza graduata.

Materiali necessari ma non forniti

Microscopio dotato di sorgente luminosa per fluorescenza e filtri di eccitazione.

PROCEDURA

- Fase 1** Accendere il microscopio a fluorescenza e lasciar equilibrare la fonte luminosa per 15 minuti.
- Fase 2** Posizionare il Vetrino SO sul microscopio e leggere l'intensità della fluorescenza verde mela dei nuclei dei neutrofili a 400x in ciascun pozzetto. Prendere nota della normale rifrazione luminosa durante la focalizzazione sui nuclei.
- Fase 3** Determinare l'endpoint e comparare i risultati con quelli illustrati nell'immagine che segue:

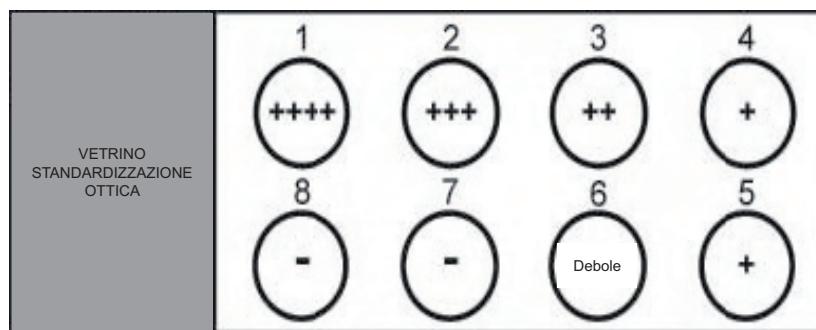


Figura 1. Disposizione Vetrino SO

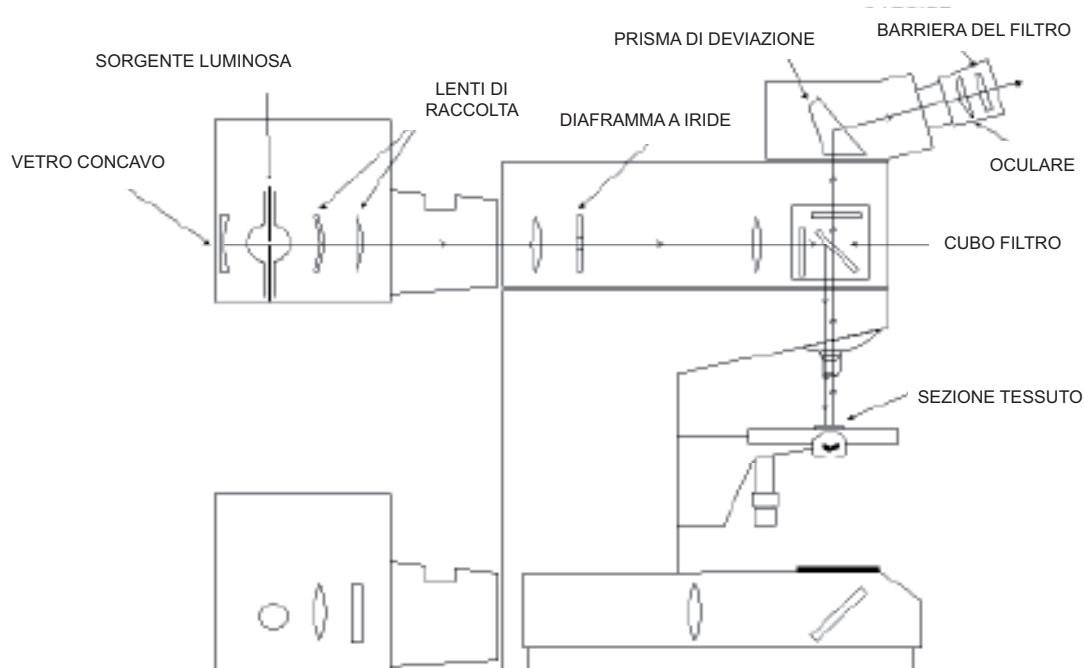


Figura 2. Microscopio a fluorescenza

VALORI ATTESI

I neutrofili in tutti i pozzetti dovrebbero mostrare una reazione nucleare verde mela di intensità variabile. Il pozzetto 1 dovrebbe presentare un'intensità di 4++++. Le letture dell'intensità dovrebbero diminuire gradualmente con l'aumento del numero del pozzetto, e dare un risultato negativo (-) al pozzetto 7. L'endpoint (+/-) si ottiene al pozzetto 6. In un microscopio, la deviazione di più di un pozzetto dall'endpoint atteso, indica una performance inadeguata del microscopio a fluorescenza e/o soggettività di interpretazione. Le azioni correttive da intraprendere sono suggerite sotto:

- Verificare e aggiustare l'allineamento ottico secondo le istruzioni del produttore del microscopio.
- Pulire l'obiettivo e le lenti degli oculari.
- Verificare i filtri. I filtri di eccitazione e di sbarramento possono essere inadeguati per il fluorocromo utilizzato.
- Verificare la fonte luminosa del microscopio (lampada). Sostituire la lampada e ricalibrare il microscopio.
- Consultare il produttore del microscopio se gli aggiustamenti non producono i risultati attesi e se i problemi persistono.



Lâmina de Padrão Óptico (OS)

IVD

Para uso em Laboratório

FOLHETO DO PRODUTO

REF 2550 OS Lâmina de Padrão Óptico (OS) 8 Poços

APLICAÇÃO

A Lâmina de Padrão Óptico (OS) é um auxiliar laboratorial para a calibragem e optimização de microscópios equipados para estudos de imunofluorescência.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os métodos com microscópio de imunofluorescência (IF) são técnicas simples, sensíveis e específicas usadas numa grande variedade de testes de laboratório. Todavia, a interpretação das reacções de IF é bastante influenciada por diversos factores, dos quais o mais significativo é o próprio microscópio. A variação do desempenho do microscópio pode ter origem em diferentes condições que envolvem o alinhamento do Sistema Óptico, a selecção do(s) filtro(s), a idade/tipo de fonte de luz e a objectiva seleccionada. Qualquer um destes factores pode afectar significativamente a intensidade de fluorescência observada emitida por uma amostra. Para reduzir o efeito dessas variações na leitura e interpretação das reacções de IF, o NCCLS aconselha a utilização de uma lâmina de padrão óptico.¹

Os métodos foram propostos por T. Ooishi e N. Uyesaka para melhorar as disparidades de desempenho do microscópio utilizando microsferas de látex marcadas com variadas concentrações de FITC.² Este método de pérolas de fluoresceína permite a aplicação em calibragem, todavia, houve dificuldades de leitura e interpretação do substrato, especialmente pelos técnicos habituados à semiquantificação dos níveis de anticorpos em tecidos, células e outros substratos biológicos. A fluorescência dos fluoróforos associados às substâncias a analisar pode ter grande diferença do mesmo fluoróforo immobilizado numa microsfera.³ Por essa razão, a Immco™ estabeleceu um padrão óptico baseado num substrato biológico.

Uma versão anterior da lâmina OS Immco™ utilizava microsferas de intensidade graduada. Todavia, estudos de diversos formatos de Lâminas OS concluíram que a calibragem e a padronização dos sistemas ópticos para aplicações de IF em laboratórios clínicos são muito melhores usando células biológicas ligadas e marcadas com títulos graduados de anticorpos. Esses estudos, facilitados por softwares de análise das imagens postos à disposição pelos Institutos Nacionais de Saúde (EUA)⁴, sugeriram uma alteração no formato da Lâmina OS da Immco™.

Esta nova e melhorada Lâmina de Padrão Óptico ImmuGlo™ oferece ao Laboratório um modo prático e inovador para optimizar e monitorizar o desempenho do microscópio de fluorescência usando células normalmente utilizadas em laboratórios clínicos. A utilização deste método, em conjunto com os controlos de título conhecido, pode aumentar significativamente a fiabilidade e a correlação dos resultados de IF.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

A Lâmina de Padrão Óptico ImmuGlo™ contém leucócitos polimorfonucleares humanos. Esses são fixados ao vidro em oito poços e mostram intensidades de fluorescência verde-maçã graduadas a partir de quatro mais (++++) a negativo (-) quando observados com um microscópio de luz fluorescente com configuração para filtro de fluoresceína. Isso permite que o operador do microscópio possa determinar o ponto final desejado. A variação em relação a este ponto reflecte um desempenho não ideal do microscópio de luz fluorescente, que necessita de uma acção de correcção.

REAGENTES

Conservação e Limpeza

Guarde a lâmina na sua caixa, num local escuro, entre 2 e 8 °C. Antes de usar, deixe estabilizar durante 15 minutos à temperatura ambiente. Se a lâmina necessitar de limpeza, pegue-a cuidadosamente pelos bordos e passe em ambos os lados com uma zaragataa embebida em álcool. Não faça força na lamela para evitar que se possa deslocar lateralmente.

Materiais Fornecidos

Lâmina de Padrão Óptico ImmuGlo™ **REF** 2550 OS

Lâmina de microscópio de 8 poços contendo leucócitos polimorfonucleares humanos fixados de intensidades de fluorescência graduadas.

Materiais necessários mas não fornecidos

Microscópio equipado com fonte de luz fluorescente e filtros de excitação.

PROCEDIMENTO

PASSO 1 Acenda o microscópio de luz fluorescente e deixe que a fonte de luz estabilize durante 15 minutos.

PASSO 2 Coloque a Lâmina OS na platina do microscópio e leia a intensidade de fluorescência verde-maçã do núcleo dos neutrófilos a 400x em cada poço. Por favor note a refracção normal da luz quando se foca o núcleo.

PASSO 3 Determine o ponto final e compare os resultados com a figura seguinte:

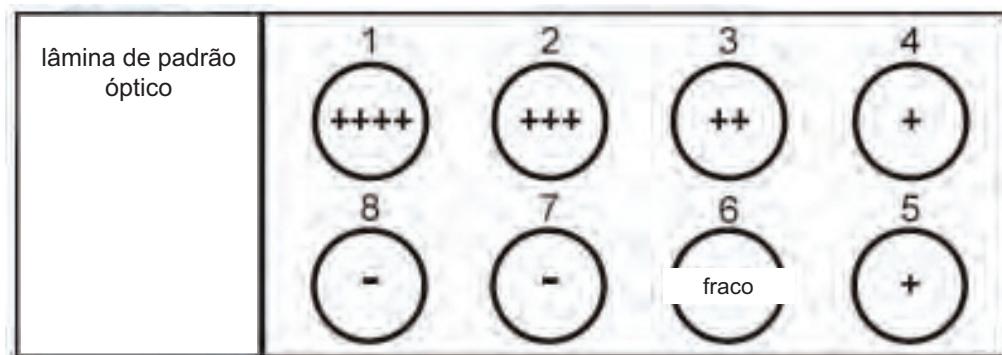


Figura 1. Esquema da Lâmina OS

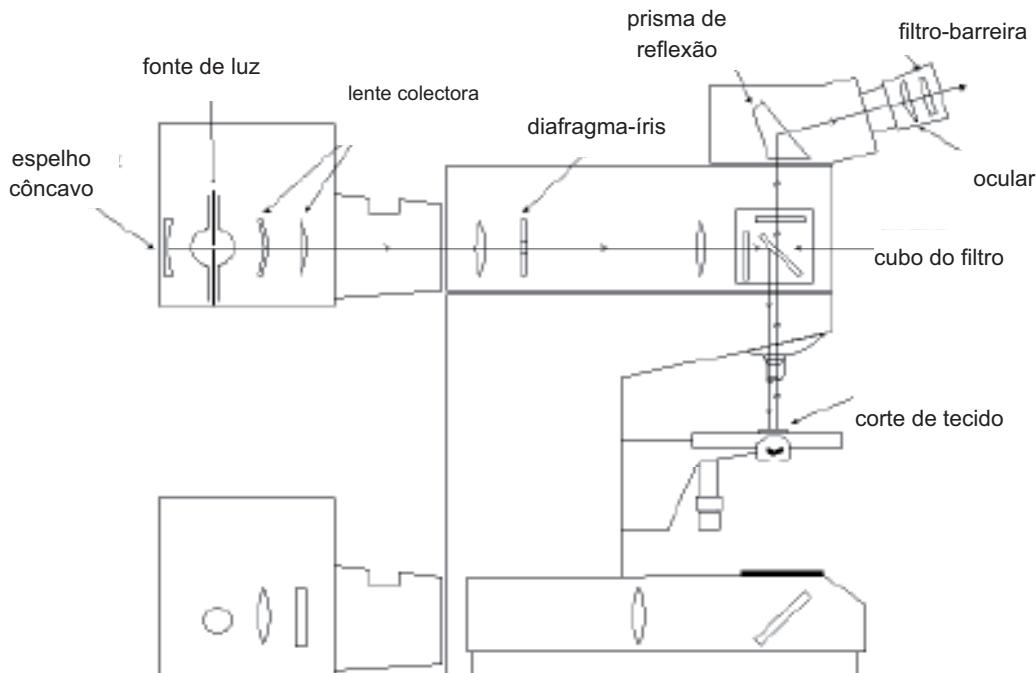


Figura 2. Microscópio de Luz Fluorescente

VALORES PREVISTOS

Os neutrófilos em todos os poços devem mostrar reacções nucleares verde-maçã de diferentes intensidades. No poço número 1 devem-se ler quatro mais (+++). As leituras da intensidade devem diminuir gradualmente à medida que aumenta a numeração, lendo-se negativo (-) no poço número 7. O ponto final (+/-) deve ser obtido no poço número 6. O desvio do Sistema do microscópio em mais de um poço em relação ao ponto final esperado indica um desempenho inadequado do microscópio de luz fluorescente e/ou da subjectividade da interpretação. De seguida são sugeridas algumas acções de resolução:

- Verifique e regule o alinhamento óptico de acordo com as instruções do fabricante do microscópio
- Limpe as lentes da objectiva e da ocular
- Verifique os filtros. Os filtros de excitação e de barreira poderão não ser adequados para o fluorocromo usado
- Verifique a fonte de luz do microscópio (lâmpada). Substitua a lâmpada e calibre o microscópio
- Consulte o fabricante do microscópio se as regulações não tiverem êxito e o problema persistir.

REFERENCES • ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ • LITERATUR • BIBLIOGRAPHIE • BIBLIOGRAFIA

1. Quality assurance for the indirect immunofluorescence test for autoantibodies to nuclear antigen (IF-ANA); approved guideline. I/LA2-A vol. 16, No.11, 1996.
2. Ooishi T et al. A new standard fluorescent microsphere for quantitative flow cytometry. J Immunolog Meth. 84, 143-154, 1985.
3. Gaigalas AK et al. The development of fluorescence intensity standards. J Res Natl Inst Stand Technol. 106, 381-389, 2001.
4. Refer to <http://rsb.info.nih.gov/ij/>
5. Wick et al. Immunofluorescence. University of Innsbruck, Austria, 1978.
6. Stout GW et al. Automation of an indirect fluorescent antibody test for syphilis. Ann N Y Acad Sci. 177:453-458, 1971.
7. Ten Veen JH et al. An approach toward automation of antinuclear antibody (ANA) determination. Ann N Y Acad Sci. 177:459-66, 1971.
8. Camargo ME et al. A microscopic immunofluorescence technique with soluble protein antigens fixed to cellulose particles. Int Arch Allergy Appl Immunol. 39 (2-3): 292-300, 1970.
9. Rostami R et al. Quantitative studies of immunofluorescent staining. Int Arch Allergy Immunol. 98:200-204, 1992.
10. Haiijman JJ et al. Microfluoremetric immunoassays with antigens bound to sepharose beads. VI international conference on immunofluorescence and related staining techniques. Ann NY Acad Sci. 254:137-148, 1975.

for technical assistance please contact:



IMMCO Diagnostics, Inc.
60 Pineview Drive
Buffalo, NY 14228-2120 USA
Telephone: (716) 691-0091
Fax: (716) 691-0466
Toll Free USA/Canada: 1-800-537-TEST
E-Mail: info@immco.com
or your local product distributor



EMERGO EUROPE
Prinsesegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands