



	PBS	Campione
1:40	390ul	10ul
1:80	200ul	200ul della diluizione 1:40
1:160	200ul	200ul della diluizione 1:80
1:320	200ul	200ul della diluizione 1:160
1:640	200ul	200ul della diluizione 1:320
1:1280	200ul	200ul della diluizione 1:640
1:2560	200ul	200ul della diluizione 1:1280
1:5120	200ul	200ul della diluizione 1:2560

Agitare energicamente tra una diluizione e l'altra.

Il controllo positivo deve essere sempre incluso in ogni prova. Preparare anch'esso alla diluizione di screening 1:40, alla diluizione titolo, rappresentante il cut-off ed alla diluizione post-titolo.

Il controllo negativo deve essere incluso in ogni prova e

preparato alla diluizione di screening 1:40.

Vedi certificazione allegata al Kit

MODALITA' DI ESECUZIONE DELLA PROVA

- Distribuire il PBS in tre vaschette adibite al lavaggio dei vetrini, comprendendo una quarta vaschetta con acqua distillata.

- Portare a temperatura ambiente il numero di vetrini necessari per la prova e disporli nell'apposita gabbietta, quindi procedere ad un leggero risciacquo (circa 50 immersioni) in acqua distillata per rimuovere i cristalli dei sali.

- Asciugare completamente a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ per pochi minuti.

- Seguendo uno schema prestabilito, distribuire 30 μl di ogni diluizione dei sieri campione e dei controlli previsti.

Includere un controllo anti- che prevede in questa fase la distribuzione di 30 μl di PBS al posto del siero.

- Incubare in camera umida coperta a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ per 30'.

- Eliminare con un getto di acqua distillata l'eccesso di liquido presente sul vetrino ed inserirlo nella gabbietta per procedere ad una serie di lavaggi in PBS (100 immersioni circa in ognuna delle tre vaschette con PBS e circa 50 in acqua distillata).

- Asciugare completamente a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ per pochi minuti.

- Preparare le anti- marcate alla diluizione indicata sul Kit, utilizzando sempre il PBS come diluente.

- Distribuire 30 μl delle anti- diluite su tutti i pozzetti.

Incubare in camera umida a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ per 30', mantenendo al riparo dalla luce.

- Eliminare l'eccesso di liquido presente sul vetrino ed inserirlo nella gabbietta per procedere ad una seconda serie di lavaggi (vedi sopra).

- Accendere il microscopio a fluorescenza circa 20' prima del suo utilizzo.

- Asciugare completamente a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ per pochi minuti e

porre sul vetrino 2-3 gocce di glicerina tamponata; quindi poggiare il vetrino coprioggetto, senza esercitare alcuna pressione.

- Accertarsi che l'olio copra tutti i pozzetti e che non si formino bolle d'aria.

- Osservare al microscopio a fluorescenza, utilizzando obiettivi a secco 20x e 40x. I vetrini così montati possono essere conservati a 2-8°C al buio per 24h circa.

