



# DiaMetra



## Anti-Tg

per analisi di routine

Determinazione quantitativa degli anticorpi contro la Tireoglobulina nel siero o plasma umano.

IVD



Vedere etichetta esterna

LOT

2°C 8°C



Σ = 96 test

REF DKO115

### DESTINAZIONE D'USO

Metodo immunoenzimatico colorimetrico per la determinazione quantitativa della concentrazione dell'Anti-Tg in siero e plasma.

### 1. SIGNIFICATO CLINICO

La Tireoglobulina (Tg) è una proteina espressa ed impiegata interamente all'interno della ghiandola tiroide. La tireoglobulina è coinvolta nella sintesi degli ormoni tiroidei, della tiroxina (T4) e della triiodotironina (T3).

La sintesi della tireoglobulina è stimolata al livello trascrizionale dall'ormone TSH.

La tireoglobulina (Tg) è uno dei target degli autoanticorpi coinvolti nel processo autoimmune della tiroide (malattia di Graves e di Hashimoto).

Gli anticorpi Anti-Tg principalmente appartengono all'isoforma IgG. Livelli bassi e moderati degli anticorpi anti-Tg possono essere presenti in sieri di pazienti con malattie autoimmunitarie (per esempio lupus o sindrome di Sjogren). In alcuni casi sieri positivi all'anti-Tg possono risultare negativi per l'altro tipo di autoanticorpi della tiroide - anti-TPO.

Di conseguenza, la determinazione di entrambi i tipi di anticorpi tiroidei (anti-TPO + anti-Tg) fornisce una maggiore sensibilità diagnostica.

Gli anticorpi anti-Tg possono svilupparsi anche in pazienti che soffrono di cancro della tiroide.

L'elevato livello di anti-Tg in tali pazienti può interferire con la determinazione corretta della tireoglobulina serica che serve da indicatore del tumore nel controllo della terapia in questo gruppo dei pazienti.

### 2. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio immunoenzimatico del sandwich. Il campione da testare viene incubato nella micropiastroa coattata con l'antigene.

Gli anticorpi contenuti del campione si legano agli antigeni presenti sulla superficie della micropiastroa. Il materiale non legato è rimosso con una procedura di lavaggio.

Un secondo anticorpo anti-IgG umane coniugato con perossidasi viene messo a incubare nei pozzetti.

Dopo il successivo lavaggio viene determinata e quantificata la rimanente attività enzimatica legata alla superficie dei pozzetti mediante l'aggiunta del substrato cromogeno e della stop solution e mediante lettura a 450 nm. La densità ottica nei pozzetti è direttamente proporzionale alla quantità di anticorpi specifici presenti nel campione.

### 3. REATTIVI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

#### 3.1. Reattivi e materiali forniti nel kit

##### 1. Anti-Tg Standards 6x (1 vial = 1.2 mL)

STD0	REF DCE002/11506-0
STD1	REF DCE002/11507-0
STD2	REF DCE002/11508-0
STD3	REF DCE002/11509-0
STD4	REF DCE002/11510-0
STD5	REF DCE002/11511-0

##### 2. Controls 2x (1 vial = 1.2 mL)

<u>Negative Control</u>	REF DCE045/11501-0
<u>Positive Control</u>	REF DCE045/11502-0

##### 3. Sample Diluent (1 bottle) 100 mL

Phosphate buffer 50 mM pH 7.4; BSA 1 gr/L	REF DCE053-0
---	--------------

##### 4. Conjugate (1 bottle) 15 mL

Human IgG-HRP	REF DCE002/11502-0
---------------	--------------------

##### 5. Coated Microplate

(1 microplate breakable)	REF DCE002/11503-0
--------------------------	--------------------

##### 6. TMB-Substrate (1 bottle) 15 mL

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -TMB (0,25 gr/L) (evitare il contatto con la pelle)	REF DCE004-0
---	--------------

##### 7. Concentrated Wash Solution (1 bottle) 20 mL

NaCl 9 gr/l; Tween20 1gr/l	REF DCE006-0
----------------------------	--------------

##### 8. Stop solution (1 bottle) 15 mL

0.15 M Sulfuric acid (evitare il contatto con la pelle)	REF DCE005-0
---	--------------

#### 3.2. Reattivi necessari non forniti nel kit

Acqua distillata.

#### 3.3. Materiale e strumentazione ausiliare

Dispensatori automatici.

Lettores per micropiastre (450 nm).

### 4. PRECAUZIONI

- Questo test kit è per uso in vitro, da eseguire da parte di personale esperto.
- Si prega di attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi indicata in questo protocollo.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori clinici testando controlli e/o pool di sieri.
- Tutti i reattivi devono essere conservati a temperatura controllata di 2 - 8 °C nei loro contenitori originali.
- Non scambiare componenti dei kit di lotti diversi. Devono essere osservate le date di scadenza riportate sulle etichette dei contenitori di spedizione e di tutte le fiale. Non utilizzare componenti oltre la data di scadenza.
- Prima dell'uso lasciare tutti i componenti dei kit e i campioni a temperatura ambiente e mescolare accuratamente.
- Tutti i reattivi di origine umana usati nella preparazione degli standard e dei controlli sono stati testati e sono risultati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1&2, per HbsAg e per anticorpi anti- HCV. Tuttavia nessun test offre la certezza completa dell'assenza di HIV, HBV, HCV o di altri agenti infettivi. Pertanto, i Controlli positivo e Negativo devono essere maneggiati come materiali potenzialmente infettivi.
- Evitare il contatto tra la soluzione tamponata di perossido e materiali facilmente ossidabili; temperature estremamente elevate potrebbero dare inizio a una combustione spontanea.

## 5. PROCEDIMENTO

### 5.1. Preparazione degli Standard (S<sub>0</sub>,...,S<sub>5</sub>)

Il sistema di misurazione è calibrato in unità relative arbitrarie. Gli standard hanno approssimativamente le seguenti concentrazioni:

	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
AU/mL	0	2	4	8	32	128

### 5.2. Preparazione del campione

Le matrici di elezione per la determinazione degli anticorpi anti-Tg sono siero o plasma. Tutti i campioni di siero o plasma devono essere prediluiti 1:100 con sample diluent. Quindi 10 µL di campione possono essere diluiti con 1,000 µL di sample diluent.

I pazienti non devono necessariamente essere a digiuno e non è richiesta alcuna preparazione particolare. Raccogliere il sangue mediante prelievo venoso in un vacutainer e separare il siero o il plasma dalle cellule per centrifugazione dopo la formazione del coagulo.

I campioni possono essere conservati refrigerati a 2-8 °C per almeno 5 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi fino a 6 mesi i campioni dovrebbero essere congelati a -20 °C. Per evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti, i campioni dovrebbero essere aliquotati. Non usare campioni microbiologicamente contaminati, così come campioni altamente lipemici o emolizzati.

### 5.3. Preparazione della Wash Solution

Prima dell'uso, diluire il contenuto di ogni fiala di soluzione di lavaggio tamponata concentrata (50x) con acqua distillata fino al volume di 1000 mL.

Conservare refrigerato: stabile a 2-8 °C per almeno 30 giorni dopo la preparazione o fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

## 5.4. PROCEDIMENTO

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (22-28°C) per al meno 30 minuti.

Poiché è necessario operare in doppio, allestire due pozzetti per ogni punto della curva Standard (S<sub>0</sub>-S<sub>5</sub>), due per ogni Campione e Controllo ed una per il Bianco.

Reagente	Standard	Campione	Bianco
Standard S <sub>0</sub> -S <sub>5</sub>	100 µL		
Controlli	100 µL		
Campione		100 µL	
Incubare 30 minuti a temperature ambiente (22-28°C). Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti per tre volte con 300 µL di wash solution diluita			
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubare 30 minuti a temperature ambiente (22-28°C). Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti per tre volte con 300 µL di wash solution diluita			
TMB substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubare 15 minuti al buio a temperature ambiente (22-28°C).			
Stop solution	100 µL	100 µL	100 µL
Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro il Bianco.			

## 6. RISULTATI

### 7.1. Curva Standard

Per Anti-Tg il metodo di scelta per il trattamento dei risultati è una elaborazione 4 parametri con assi lin-log per densità ottica e concentrazione rispettivamente. Inoltre si possono utilizzare un'approssimazione spline e coordinate log-log. Tuttavia si raccomanda di utilizzare una curva Lin-Log.

Innanzitutto occorre calcolare la media delle densità ottiche relative ai calibratori. Utilizzare un foglio di carta lin-log e tracciare le densità ottiche medie di ogni calibratore verso la rispettiva concentrazione. Disegnare la curva che approssima nel modo migliore tutti i punti di calibrazione. I punti dei calibratori possono anche essere collegati con

segmenti di linea retta. La concentrazione dei campioni incogniti può essere determinata per interpolazione dalla curva di calibrazione.

Ed. 09/2009

#### Risultati tipici (da considerare solo come esempio)

La tabella sotto riportata mostra dei risultati tipici per il test Anti-Tg. I dati sono da considerarsi esemplificativi e non dovrebbero essere utilizzati per il calcolo dei risultati.

STD	OD1	OD2	mean	C1	C2	mean	CV%
0	0.025	0.032	0.0285	0.045	0	0.0225	141,42
1	0.231	0.24	0.2355	1.88	2.12	2	8,49
2	0.429	0.442	0.4355	3.96	4.2	4.08	4,16
3	0.767	0.759	0.763	8.2	7.77	7.985	3,81
4	1.884	2.065	1.9745	31.9	32.36	32.13	1,01
5	3.190	3.316	3.253	128.2	127.5	127.85	0,39

**DiaMetra S.r.l. Headquarter:** Via Garibaldi, 18 – 20090 SEGRATE (MI)

Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595

Fax 0039-02-2133354.

**Manufact:** Via E. Bartolomei – Z.I Paciana – 06034 FOLIGNO (PG) ITALY.

Tel. 0039-0742-24851

Fax 0039 -0742-316197

E-mail: info@diametra.com

## 7. VALORI DI RIFERIMENTO

In uno studio sui valori normali eseguito con campioni di siero provenienti da donatori sani sono stati determinati i seguenti intervalli di normalità con il test Anti-Tg:

Anti-Tg [AU/ml]

Normale: < 4

Elevato : ≥ 4

I risultati positivi dovrebbero essere verificati relativamente allo stato clinico del paziente. Inoltre, ogni decisione relativa alla terapia dovrebbe essere presa individualmente. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i suoi propri intervalli normale e patologico di Anti-Tg serica.

### 7.1. Specificità

Test di correlazione contro un analogo kit commerciale di riferimento, effettuati su 66 sieri (di cui 26 positivi e 40 negativi) hanno mostrato una specificità del 95%.

### 7.2. Sensibilità

Test di correlazione contro un analogo kit commerciale di riferimento, effettuati su 66 sieri (di cui 26 positivi e 40 negativi) hanno mostrato una sensibilità del 88.5%.

### 7.3. Limite di Rilevabilità

La minor concentrazione di anti-Tg che può essere distinta dallo standard zero è di circa 0.31 AU/mL con limite di confidenza del 98%.

## 8. DISPOSIZIONI PER LO SMALTIMENTO

I reagenti devono essere smaltiti in accordo con le leggi locali.

## BIBLIOGRAFIA

- Volpè R., CRC Press , (1990)
- Volpè R., Clin. Chem. 40 2132 (1994)
- Beever K., Clin. Chem. 35 1949-54 (1989)
- Mat Clin. Chem. 40 2128 (1994)
- Chiavato L., Autoimmunity 10, 319-31 (1991)
- Degroot LJ, Thyroperoxidase Thyroid Autoimmunity 207:177 – 182 (1990)



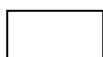
DiaMetra



## Anti-Tg

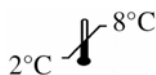
for routine analysis

Quantitative determination of antibodies against Thyroglobulin in human serum or plasma.



LOT

See external label



Σ = 96 tests

REF DKO115

### INTENDED USE

Immunoenzymatic colorimetric method for quantitative determination of Anti-Tg concentration in serum and plasma.

### 1. CLINICAL SIGNIFICANCE

Thyroglobulin (Tg) is a protein produced by and used entirely within the thyroid gland. Thyroglobulin is used by the thyroid gland to produce the thyroid hormones thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3).

Thyroglobulin synthesis is stimulated at the transcriptional level by thyroid-stimulating hormone (TSH). Thyroglobulin (Tg) is a well-known target for autoantibodies occurring in thyroid autoimmunity (Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis). Anti-Tg antibodies mostly belong to the IgG class. Low to moderate levels of anti-Tg antibodies can be found in sera of other autoimmune patients (eg systemic lupus erythematosus or Sjogren syndrome). In some cases anti-Tg positive sera may show negativity for other type of anti-thyroid antibodies - anti-TPO.

Therefore, combined determination of both types of anti-thyroid antibodies (anti-TPO + anti-Tg) provides most sensitive laboratory diagnostic tool for thyroid autoimmunity. Separately from autoimmunity, anti-Tg antibodies may develop in patients suffering from thyroid cancer. High level of anti-Tg in such patients may interfere with correct determination of serum thyroglobulin, which serves as tumour marker for therapy control in this group of patients.

### 2. PRINCIPLE

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by the antigen. Antibodies from the specimen bind coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards human Ig and labeled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of specific antibodies in the specimen.

### 3. REAGENT, MATERIAL AND INSTRUMENTATION

#### 3.1. Reagent and material supplied in the kit

9. Anti-Tg Standards 6x (1 vial = 1.2 mL)
- |      |                    |
|------|--------------------|
| STD0 | REF DCE002/11506-0 |
| STD1 | REF DCE002/11507-0 |
| STD2 | REF DCE002/11508-0 |
| STD3 | REF DCE002/11509-0 |
| STD4 | REF DCE002/11510-0 |
| STD5 | REF DCE002/11511-0 |
10. Controls 2x (1 vial = 1.2 mL)
- |                  |                    |
|------------------|--------------------|
| Negative Control | REF DCE045/11501-0 |
| Positive Control | REF DCE045/11502-0 |
11. Sample Diluent (1 bottle) 100 mL  
Phosphate buffer 50 mM pH 7.4; BSA 1 gr/L  
REF DCE053-0
12. Conjugate (1 bottle) 15 mL  
Human IgG-HRP  
REF DCE002/11502-0
13. Coated Microplate  
(1 microplate breakable)  
REF DCE002/11503-0
14. TMB-Substrate (1 bottle) 15 mL  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,25 gr/L) (avoid any skin contact)  
REF DCE004/-0
15. Concentrated Wash Solution (1 bottle) 20 mL  
NaCl 9 gr/l; Tween20 1gr/l  
REF DCE006-0
16. Stop solution (1 bottle) 15 mL (avoid any skin contact)  
0.15 M Sulfuric acid  
REF DCE005-0

#### 3.2. Reagents necessary not supplied

Distilled water.

#### 3.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser.  
Microplates reader

### 4. PRECAUTION

- This kit is intended for in vitro use by professional persons only.
- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol.

- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- All reagents should be stored refrigerated at 2 - 8 °C in their original container.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiration dates stated on the labels of the shipping container and all vials have to be observed. Do not use kit components beyond their expiration dates.
- Allow all kit components and specimen to reach room temperature prior to use and mix well.
- All human source material used in the preparation of standards and controls for this product has been tested and found negative for antibody to HIV 1&2, HbsAg, and HCV by FDA cleared methods. No test method however can offer complete assurance that HIV, HBV, HCV or other infectious agents are absent. Therefore, the Positive and Negative Control should be handled in the same manner as potentially infectious material.
- Avoid contact between the buffered Peroxide Solution and easily oxidized materials; extreme temperatures may initiate spontaneous combustion.

## 5. PROCEDURE

### 5.1. Preparation of the Standard (S<sub>0</sub>,...,S<sub>5</sub>)

The assay system is calibrated in relative arbitrary units. The standard have approximatively the following concentration:

	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
AU/mL	0	2	4	8	32	128

### 5.2. Preparation of the Sample

For determination of Anti-Tg serum or plasma are the preferred sample matrixes.

All serum and plasma samples have to be prediluted with sample diluent 1 : 100. Therefore 10 µL of sample may be diluted with 1,000 µL of sample diluent.

The patients need not to be fasting, and no special preparations are necessary. Collect blood by venipuncture into vacutainers and separate serum or plasma from the cells by centrifugation after clot formation.

Samples may be stored refrigerated at 2 - 8 °C for at least 5 days. For longer storage of up to six months samples should be stored frozen at -20 °C. To avoid repeated thawing and freezing the samples should be aliquoted.

Do not use microbiologically contaminated samples, as highly lipemic or hemolized samples.

### 5.3. Preparation of the Wash Solution

Dilute the contents of each vial of the buffered wash solution concentrate (50x) with distilled water to a final volume of 1000 ml prior to use. Store refrigerated: stable at 2 - 8 °C for at least 30 days after preparation or until the expiration date printed on the label.

### 5.4. PROCEDURE

Allow all reagents to stand at room temperature (22-28°C). As it is necessary to perform the determination in duplicate, prepare two wells for each of the six points of the standard curve (S<sub>0</sub>-S<sub>5</sub>), two for each sample and control, one for Blank.

Reagent	Standard	Sample	Blank
Standard S <sub>0</sub> -S <sub>5</sub>	100 µL		
Controls	100 µL		
Sample		100 µL	
Incubate 30 minutes at room temperature (22-28°C). Remove the contents from each well, wash the wells three times with 300 µL diluted wash solution			
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubate 30 minutes at room temperature (22-28°C). Remove the contents from each well, wash the wells three times with 300 µL diluted wash solution.			
TMB substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate 15 minutes in the dark at room temperature (22-28°C).			
Stop solution	100 µL	100 µL	100 µL
Read the absorbance (E) at 450 nm against Blank.			

## 6. RESULTS

### 6.1. Standard curve

For Anti-Tg a 4-Parameter-Fit with lin-log coordinates for optical density and concentration is the data reduction method of choice. Smoothed-Spline Approximation and log-log coordinates are also suitable.

### Recommended Lin-Log Plot

First calculate the averaged optical densities for each calibrator well. Use lin-log graph paper and plot the averaged optical density of each calibrator versus the concentration. Draw the best fitting curve approximating the path of all calibrator points. The calibrator points may also be connected with straight line segments. The concentration of unknowns may then be estimated from the calibration curve by interpolation.

### TYPICAL RESULTS (example only)

The figures below show typical results for Anti- Tg. These data are intended for illustration only and should not be used to calculate results from another run.

STD	OD1	OD2	mean	C1	C2	mean	CV%
0	0.025	0.032	0.0285	0.045	0	0.0225	141,42
1	0.231	0.24	0.2355	1.88	2.12	2	8,49
2	0.429	0.442	0.4355	3.96	4.2	4.08	4,16
3	0.767	0.759	0.763	8.2	7.77	7.985	3,81
4	1.884	2.065	1.9745	31.9	32.36	32.13	1,01
5	3.190	3.316	3.253	128.2	127.5	127.85	0,39

**DiaMetra S.r.l. Headquater:** Via Garibaldi, 18 – 20090 SEGRATE (MI)

Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595

Fax 0039-02-2133354.

**Manufact:** Via Giustozzi, 35/35a (già via Bartolomei) – Z.I Paciana – 06034 FOLIGNO (PG) ITALY.

Tel. 0039-0742-24851

Fax 0039-0742-316197

E-mail: info@diametra.com

## 7. REFERENCE VALUE

In a normal range study with serum samples from healthy blood donors the following ranges have been established with the Anti-Tg tests:

Anti-Tg [AU/ml]

normal: < 4

elevated: ≥ 4

Positive results should be verified concerning the entire clinical status of the patient. Also every decision for therapy should be taken individually.

It is recommended that each laboratory establishes its own normal and pathological ranges of serum Anti-Tg.

### 7.1. Specificity

Comparison test against a commercial reference kit, assayed on 66 serums (26 of them positive serums and 40 negative serums) shows a 95% specificity.

### 7.2. Sensibility

Comparison test against a commercial reference kit, assayed on 66 serums (26 of them positive serums and 40 negative serums) shows a 88.5% sensibility.

### 7.3. Detection limit

The lowest concentration of anti-Tg that can be distinguished from zero standard is about 0.31 AU/mL with a confidence limit of 98%.

## 8. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed off in accordance with local regulations.

---

## BIBLIOGRAPHY

- Volpè R., CRC Press , (1990)
- Volpè R., Clin. Chem. 40 2132 (1994)
- Beever K., Clin. Chem. 35 1949-54 (1989)
- Mat Clin. Chem. 40 2128 (1994)
- Chiavato L., Autoimmunity 10, 319-31 (1991)
- Degroot LJ, Thyroperoxidase Thyroid Autoimmunity 207:177 – 182 (1990)

Pagina 7 di 8	<b>DIA.METRA SRL</b>	
Mod. PIS	<b>PACKAGING INFORMATION SHEET</b>	

**IT**  
Spiegazione dei simboli












**GB**  
Explanation of symbols

**FR**  
Explication des symboles

**ES**  
Significado de los simbolos

**DE**  
Verwendete Symbole

**PT**  
Explicação dos simbolos

	<p>DE In vitro Diagnostikum  ES Producto sanitario para diagnóstico In vitro  FR Dispositif medical de diagnostic in vitro  GB In vitro Diagnostic Medical Device  IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro  PT Dispositivos medicos de diagnostico in vitro</p>		<p>DE Hergestellt von  ES Elaborado por  FR Fabriqué par  GB Manufacturer  IT Produttore  PT Produzido por</p>
<b>REF</b>	<p>DE Bestellnummer  ES Número de catálogo  FR Références du catalogue  GB Catalogue number  IT Numero di Catalogo  PT Número do catálogo</p>	 yyyy-mm	<p>DE Herstellungs datum  ES Fecha de fabricacion  FR Date de fabrication  GB Date of manufacture  IT Data di produzione  PT Data de produção</p>
 yyyy-mm-dd	<p>DE Verwendbar bis  ES Estable hasta (usar antes de último día del mes)  FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué)  GB Use by (last day of the month)  IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese)  PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)</p>		<p>DE Biogefährdung  ES Riesco biológico  FR Risque biologique  GB Biological risk  IT Rischio biologico  PT Risco biológico</p>
 	<p>DE Gebrauchsanweisung beachten  ES Consultar las instrucciones  FR Consulter le mode d'emploi  GB Consult instructions for use  IT Consultare le istruzioni per l'uso  PT Consultar instruções para uso</p>		<p>DE Chargenbezeichnung  ES Codigo de lote  FR Numero de lot  GB Batch code  IT Codice del lotto  PT Codigo do lote</p>
 $\Sigma = xx$	<p>DE Ausreichend für "n" Tests  ES Contenido suficiente para "n" tests  FR Contenu suffisant pour "n" tests  GB Contains sufficient for "n" tests  IT Contenuto sufficiente per "n" saggi  PT Contém o suficiente para "n" testes</p>		<p>DE Inhalt  ES Contenido del estuche  FR Contenu du coffret  GB Contents of kit  IT Contenuto del kit  PT Conteúdo do kit</p>
 Max Min	<p>DE Temperaturbereich  ES Limitación de temperatura  FR Limites de température de conservation  GB Temperature limitation  IT Limiti di temperatura  PT Temperaturas limites de conservação</p>		

Pagina 8 di 8	<b>DIA.METRA SRL</b>	
Mod. PIS	<b>PACKAGING INFORMATION SHEET</b>	

## **SUGGERIMENTI PER LA RISOLUZIONE DEI PROBLEMI/TROUBLESHOOTING**

### **ERRORE CAUSE POSSIBILI/ SUGGERIMENTI**

#### **Nessuna reazione colorimetrica del saggio**

- mancata dispensazione del coniugato
- contaminazione del coniugato e/o del Substrato
- errori nell'esecuzione del saggio (es. Dispensazione accidentale dei reagenti in sequenza errata o provenienti da flaconi sbagliati, etc.)

#### **Reazione troppo blanda (OD troppo basse)**

- coniugato non idoneo (es. non proveniente dal kit originale)
- tempo di incubazione troppo breve, temperatura di incubazione troppa bassa

#### **Reazione troppo intensa (OD troppo alte)**

- coniugato non idoneo (es. non proveniente dal kit originale)
- tempo di incubazione troppo lungo, temperatura di incubazione troppa alta
- qualità scadente dell'acqua usata per la soluzione di lavaggio (basso grado di deionizzazione)
- lavaggi insufficienti (coniugato non completamente rimosso)

#### **Valori inspiegabilmente fuori scala**

- contaminazione di pipette, puntali o contenitori- lavaggi insufficienti (coniugato non completamente rimosso)
- CV% intra-assy elevato
- reagenti e/o strip non portate a temperatura ambiente prima dell'uso
- il lavatore per micropiastre non lava correttamente (suggerimento: pulire la testa del lavatore)
- CV% intersaggio elevato
- condizioni di incubazione non costanti (tempo o temperatura)
- controlli e campioni non dispensati allo stesso tempo (con gli stessi intervalli) (controllare la sequenza di dispensazione)
- variabilità intrinseca degli operatori

### **ERROR POSSIBLE CAUSES / SUGGESTIONS**

#### **No colorimetric reaction**

- no conjugate pipetted reaction after addition
- contamination of conjugates and/or of substrate
- errors in performing the assay procedure (e.g. accidental pipetting of reagents in a wrong sequence or from the wrong vial, etc.)

#### **Too low reaction (too low ODs)**

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too short, incubation temperature too low

#### **Too high reaction (too high ODs)**

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too long, incubation temperature too high
- water quality for wash buffer insufficient (low grade of deionization)
- insufficient washing (conjugates not properly removed)

#### **Unexplainable outliers**

- contamination of pipettes, tips or containers
- insufficient washing (conjugates not properly removed) too high within-run
- reagents and/or strips not pre-warmed to CV% Room Temperature prior to use
- plate washer is not washing correctly (suggestion: clean washer head)
- too high between-run - incubation conditions not constant (time, CV % temperature)
- controls and samples not dispensed at the same time (with the same intervals) (check pipetting order)
- person-related variation