



DiaMetra



THYROGLOBULIN

para análisis de rutina

Determinación de la tiroglobulina en suero o plasma humano

IVD



LOT

Ver etiqueta externa

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO048

USO PREVISTO

Método inmunoenzimático colorimétrico para la determinación cuantitativa de la concentración de tiroglobulina en suero o plasma humano.

APLICACIONES CLÍNICAS

La tiroglobulina (TG), glicoproteína de peso molecular de 660.000 dalton aproximadamente, es la yodoproteína principal de la tiroides y el componente más importante del coloide folicular. La tiroglobulina constituye la forma en que se depositan las hormonas activas, T3 y T4, y sus precursores inmediatos dentro de la glándula tiroides, MIT y DIT. Las aplicaciones clínicas de la determinación de TG parecen derivarse de su especificidad para la tiroides y las células relacionadas con la tiroides.

La determinación de TG puede usarse como apoyo de análisis gammagráficos y otras técnicas para el estudio de la patogénesis, en la formulación de un diagnóstico y en el análisis del curso de los trastornos de la tiroides.

En caso de hipotiroidismo por agenesia tiroidea, la TG es indetectable antes y después de la terapia sustitutiva con L-tiroxina. Si el hipotiroidismo es de tipo secundario de bocio por dishormogénesis o de tiroides ectópica, la TG presenta niveles normales o elevados. Los niveles circulantes de TG tienden a aumentar en una variedad de enfermedades tiroideas como el bocio tóxico y no tóxico, la tiroiditis subaguda, enfermedad de Basedow y carcinoma. La determinación de la TG es de interés potencial en la enfermedad de Basedow como índice de normalización del estado hipertiroideo en pacientes tratados con fármacos antitiroideos. Aplicaciones muy prometedoras, relacionadas con la capacidad de los tejidos tumorales tiroideos de concentrar el yodo y sintetizar la TG como la tiroides normal, conciernen al campo de la oncología tiroidea, en particular al carcinoma diferenciado de tiroides. En principio, la determinación de TG se puede utilizar como se indica a continuación

Diagnóstico preoperatorio de tumor tiroideo.

Esta aplicación no permite el diagnóstico diferencial del tumor debido a la superposición de los valores de TG observados en los nódulos malignos y benignos.

Seguimiento postoperatorio

Los niveles elevados de TG durante un tiempo prolongado sugieren la presencia de carcinoma tiroideo residual y/o metastásico en pacientes tratados quirúrgicamente o con radioterapia.

Control de los pacientes totalmente tiroidectomizados.

El uso de la TG circulante como indicador de tumor recurrente (marcador de metástasis) tiene un valor clínico comprobado: El aumento de la tiroglobulinemia indica la necesidad de someterse a análisis posteriores para la confirmación del diagnóstico. Se pueden obtener ventajas interesantes a) del uso reducido de

técnicas gammagráficas de diagnóstico, cuyo uso requiere la suspensión periódica de la terapia de sustitución y la exposición frecuente a la radiación, b) y de la obtención de la información de diagnóstico a través de la gammagrafía

2. PRINCIPIO

El presente kit se basa en el método de determinación inmunoenzimométrica (IEMA). Se utilizan cuatro anticuerpos monoclonales anti-TG distintos, tres de ellos absorbidos en los pocillos y el cuarto marcado con biotina. Durante la incubación, la TG presente en los calibradores y en las muestras se une simultáneamente a los anticuerpos de la fase sólida o al biotinilado, formando un "sándwich". Al final de la incubación, el material no unido se retira mediante aspiración y lavado. A continuación, se añade a todos los pocillos una solución de estreptavidina conjugada con peroxidasa (HRP), que reacciona con los anticuerpos biotinilados unidos al pocillo. Tras una segunda fase de aspiración y lavado, la actividad enzimática que permanezca fijada a la fase sólida será directamente proporcional a la concentración de TG en los calibradores y en las muestras, y se resalta añadiendo a los pocillos una solución de cromógeno (tetrametilbencidina, TMB) en tampón de sustrato. La intensidad del color desarrollado se mide mediante un espectrofotómetro a 450 nm y a 405 nm.

2. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

2.1 Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Suero de referencia- (Estándares)

STD ₀ (1 frasco) 2,0 mL	REF DCE002/4806-0
STD ₁ (1 frasco) 1,0 mL	REF DCE002/4807-0
STD ₂ (1 frasco) 1,0 mL	REF DCE002/4808-0
STD ₃ (1 frasco) 1,0 mL	REF DCE002/4809-0
STD ₄ (1 frasco) 1,0 mL	REF DCE002/4810-0
STD ₅ (1 frasco) 1,0 mL	REF DCE002/4811-0
STD ₆ (1 frasco) 1,0 mL	REF DCE002/4812-0

1. Suero de control I (1 frasco, 1 mL)

TG en matriz proteica REF DCE021/4821-0

2. Suero de control II (1 frasco, 1 mL)

TG en matriz proteica REF DCE022/4822-0

3. Anti Tg humana biotina (1 frasco, 13 mL)

Anti TG humana biotinilado REF DCE019/4819-0

4. Conjugado de enzima (1 frasco) 15 mL

Estreptavidina-HRP REF DCE002/4802-0

5. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)

Microplaca recubierta con anti TG REF DCE002/4803-0

Solución de recuperación (1 frasco, 3 mL)

TG en matriz proteica 50 ng/mL REF DCE023-0

- 6. Solución de lavado concentrada 20X** (1 frasco, 50 mL)
NaCl 9 g/L; Tween-20 22 g/L **REF DCE007-0**
- 7. Substrato TMB** (1 frasco, 12 mL)
H₂O₂-TMB 0,26 g/l (evitar el contacto con la piel)
REF DCE004-0
- 8. Solución de interrupción** (1 frasco, 12 mL)
Ácido sulfúrico 0,15 mol/l (evitar el contacto con la piel)
REF DCE005-0

2,2 Notas

- Conservar todos los reactivos a 2÷8 °C, protegidos de la luz.
- Abrir la bolsa del reactivo 6 (microplaca recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar; una vez abierta, permanece estable hasta la fecha de caducidad del kit.
- No usar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- Los reactivos abiertos, conservados a 2÷8 °C, se mantienen estables durante 60 días
- Los estándares (7 frascos) tienen las siguientes concentraciones de 0, 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/mL. Conservar a 2÷8 °C.

MATERIALES necesarios no suministrados:

1. Pipetas de 50µl con una precisión superior al 1,5%.
2. Pipetas secuenciales para volúmenes de 0,100 mL y 0,300 mL con una precisión superior al 1,5%.
3. Lavador de microplaca o botella comprimible.
4. Lector de microplaca con absorbancias a 405 nm, 450 nm y 620 nm.
5. Papel absorbente para secar los pocillos de la microplaca.
6. Cubierta de plástico o tira adhesiva para cubrir las microplacas durante la incubación.
7. Temporizador
8. Sueros de control.

3. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para obtener resultados correctos y reproducibles se deben observar las siguientes normas:

No mezclar los reactivos específicos de lotes distintos.

Se pueden usar reactivos comunes de lotes distintos.

No usar los reactivos después de la fecha de caducidad.

No exponer los reactivos ni las muestras a calor intenso ni a fuentes de contaminación fuertes.

Usar material de vidrio completamente limpio y libre de contaminación de iones metálicos o sustancias oxidantes.

Usar agua destilada o desionizada, conservada en recipientes perfectamente limpios.

Evitar cuidadosamente la contaminación entre muestras. Para ello, se recomienda usar pipetas con puntas monouso para cada muestra y para cada reactivo.

No modificar de ningún modo el procedimiento operativo de ejecución del ensayo. Si no se respetan:

la secuencia y la cantidad al añadir los reactivos

los tiempos y la temperatura de incubación

se pueden obtener resultados clínicos erróneos.

Reconstituir los eventuales reactivos liofilizados según el modo descrito en las etiquetas. El uso eventual de reactivos o volúmenes no idóneos puede dar lugar a la obtención de datos clínicos no fiables.

En caso de procedimiento manual, es importante el uso de pipetas calibradas y disponer de una habilidad técnica adecuada. En particular, es esencial una buena precisión en la preparación y en la dispensación de los reactivos. Es necesario un plan adecuado de mantenimiento (limpieza y calibración) de la instrumentación.

Asegurarse de que toda la instrumentación usada (material de vidrio, agitador y lavador de microplacas, espectrofotómetro, incubador, refrigeradores utilizados para la conservación de los kits y de las muestras) funcione perfectamente, esté calibrada adecuadamente y se encuentre sometida a un plan de mantenimiento regular. Un uso no adecuado de alguno de estos instrumentos podría producir errores metodológicos que podrían afectar a la reproducibilidad y a la fiabilidad de los resultados obtenidos.

Usar un método adecuado para la identificación correcta de las muestras. Las posibles consecuencias pueden ser la pérdida de especificidad del dispositivo o resultados analíticos erróneos.

Usar un método adecuado para la identificación correcta de las muestras. Las posibles consecuencias pueden ser la pérdida de especificidad del dispositivo o resultados analíticos erróneos.

Para evitar la contaminación personal y ambiental se deben observar las siguientes normas de seguridad:

Usar guantes monouso durante la manipulación de material potencialmente infectado y durante el ensayo.

No pipetear los reactivos con la boca. No fumar, comer, beber o aplicar cosméticos durante la ejecución del ensayo.

Las soluciones de cromógeno y reactivo de bloqueo se deben manipular con cuidado. Evitar el contacto con la piel, los ojos y las mucosas. En caso de accidente, lavar con agua abundante.

Los materiales de origen humano usados en la preparación del presente kit se han analizado para comprobar la presencia de HBsAg, anti-VIH y anti-VHC, y han resultado repetidamente negativos. Sin embargo, ningún ensayo disponible actualmente garantiza la ausencia de agentes virales responsables del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, de hepatitis B y hepatitis C. Todos los reactivos que contienen material biológico y todas las muestras de suero humano deben considerarse potencialmente infecciosas.

Evitar la producción de salpicaduras y la formación de aerosoles. En caso de que se produzcan, limpiar cuidadosamente con hipoclorito de sodio con una concentración del 3%. Los medios utilizados para la limpieza deben tratarse como residuos potencialmente infectados y deben eliminarse según el modo oportuno.

La azida de sodio, contenida como conservante en algunos reactivos, puede reaccionar con el plomo y el cobre de las tuberías formando azidas metálicas altamente explosivas. Para evitar la formación y la acumulación de estos compuestos, dejar correr abundante agua sobre los reactivos eliminados. Los reactivos para los que no se proporciona la ficha de seguridad no contienen sustancias químicas peligrosas o, si lo hacen, estas se encuentran por debajo de los límites de concentración definidos en el D. Leg. 285/98 y en la directiva CEE 91/155.

En virtud del D. Leg. italiano n.º 22 del 05.02.97, que hace referencia a las directivas CEE (91/156/CEE, 91/689/CEE, 94/62/CEE), todos los residuos procedentes de procesamientos manuales y/o automáticos se clasifican como residuos especiales peligrosos con código de clasificación CER 180103; por lo tanto, se deben encomendar a empresas autorizadas para su retirada y eliminación.

3.1 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

Solución de lavado – Antes del uso, diluir el contenido de cada ampolla de solución de lavado tamponada concentrada (20x) con agua destilada hasta un volumen de 1000 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 01:20:00. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2÷8 °C durante al menos 30 días.

4. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La determinación puede realizarse en suero o plasma humano. Se deben descartar las muestras muy lipémicas o hemolizadas. Las muestras pueden conservarse a 2÷8 °C durante 1-2 días. Para períodos más largos, conservarlas a -20 °C. Se recomienda no congelar y descongelar las muestras repetidamente. Diluir las muestras con contenido supuesto de TG mayor de 300 ng/mL con el estándar cero. Se recomienda una dilución 1:5 (100 µl de muestra + 400 µl de estándar cero).

5 PROCEDIMIENTO

Puesto que es necesario operar por duplicado, preparar dos para cada punto de la curva estándar (S₀-S₆), dos para cada muestra

Dispensar:

	Blanco	Estándar	Muestra/Control
Muestra/Control	---	---	50 µL
Estándar S ₀ - S ₆	---	50 µL	---
Anti Tg biot.	---	100 µL	100 µL

Incubar a 37 °C durante 90 minutos

Retirar el contenido de cada pocillo.

Lavar cada pocillo con 0,3 mL de solución de lavado diluida y retirar el exceso de líquido golpeando con cuidado la microplaca sobre papel absorbente. Repetir la operación 2 veces.

Dispensar:

	Blanco	Estándar	Muestra/Control
Conjugado de enzima	---	100 µL	100 µL

Incubar a 37 °C durante 30 minutos.

Retirar el contenido de cada pocillo.

Lavar cada pocillo con 0,3 mL de solución de lavado y retirar el exceso de líquido golpeando con cuidado la microplaca sobre papel absorbente. Repetir la operación 2 veces.

Dispensar:

	Blanco	Estándar	Muestra/Control
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL

Incubar a temperatura ambiente (22-28 °C) durante 15 minutos, protegida de la luz.

Dispensar

	Blanco	Estándar	Muestra/Control
Solución de interrupción	100 µL	100 µL	100 µL

Agitar la placa con cuidado. Determinar la absorbancia (E) a 450 nm para cada pocillo tras poner a cero el instrumento con el estándar S₀.

6. Cálculo de los resultados

Para obtener una mejor sensibilidad, el presente método utiliza una lectura espectrofotométrica a dos longitudes de onda (450 y 405 nm). Para muestras con concentraciones de TG entre 0 y 30 ng/mL se deberá usar la medición a 450 nm; para muestras con niveles de TG superiores a 30 ng/mL, el cálculo deberá realizarse con las mediciones a 405 nm.

Dibujar la curva de calibración en papel milimetrado, indicando en el eje de abscisas las dosis de los calibradores y en el eje de ordenadas la absorbancia obtenida para cada estándar. Interpolando en la curva de calibración las absorbancias relativas a cada muestra se obtendrán las concentraciones correspondientes de TG en ng/mL; en caso de muestras diluidas, estas se multiplicarán por el factor de dilución.

6.1 Ejemplo de cálculo

Los valores indicados a continuación deben considerarse únicamente como ejemplo y no deben usarse en lugar de los datos experimentales.

Estándar/Muestra	D.O. 450 nm	TG	D.O. 405 nm	TG
Estándar 0 ng/mL	0,020		0,007	
Estándar 1 ng/mL	0,047		0,015	
Estándar 3 ng/mL	0,127		0,042	
Estándar 10 ng/mL	0,313		0,098	
Estándar 30 ng/mL	0,863		0,373	
Estándar 100 ng/mL	1,650		0,603	
Estándar 300 ng/mL	> 3,000		1,488	
Muestra 1	0,450	15,4 ng/mL	0,141	
Muestra 2	2,240		0,829	166,4 ng/mL

6.2 Valores normales

Los valores mostrados solo son indicativos. Se recomienda a cada laboratorio establecer intervalos de referencia propios. Los valores normales se han determinado usando sujetos sanos (n.º 85), sin disfunciones tiroideas, y los niveles de tiroglobulina han resultado inferiores a 40 ng/mL.

6.3 Criterios de aceptación

Antes de proceder al cálculo de los resultados, comprobar que la concentración de suero de control se encuentre dentro del rango de aceptación indicado en la Hoja de control de calidad.

7. CARACTERÍSTICAS METODOLÓGICAS

7.1 Especificidad

No se han observado reacciones cruzadas con MIT, DIT, rT3, T3, T4, TSH, FSH y LH. El presente método analítico ha mostrado una reactividad cruzada de 0,01% con TBG humanas.

7.2 Sensibilidad

La sensibilidad se ha calculado sobre la curva de calibración y se expresa como dosis mínima significativamente distinguible de la respuesta del estándar cero (valor medio + 2 S.D.). Esta dosis ha resultado ser igual a 0,15 ng/mL.

7.3 Precisión

La precisión se ha evaluado midiendo la repetibilidad y la reproducibilidad (variabilidad intraensayo e interensayo) en 3 sueros con concentraciones distintas de TG.

Repetibilidad (intraensayo)

Suero	Media (ng/mL)	±	S.D.	% C.V.	Réplicas n.º
1	152,41	±	5,71	3,75	10
2	15,14	±	0,26	1,71	10
3	1,69	±	0,10	6,14	10

Reproducibilidad (interensayo)

Suero	Media (ng/mL)	±	S.D.	% C.V.	Dosis n.º
1	150,4	±	9,3	6,2	10
2	38,1	±	3,0	7,8	10
3	1,8	±	0,13	6,9	10

7.4 Exactitud

La exactitud del método se ha evaluado mediante la prueba de recuperación y la prueba de paralelismo.

Prueba de recuperación

Se han añadido cantidades escalonadas de TG a dos sueros normales y se han dosificado.

Añadido (ng/mL)	Medido (ng/mL)	Recuperado (ng/mL)	Recuperación %
S1	1,9	---	---
S1 + 12,5	14,9	13,0	104,0
S1 + 25	25,2	23,3	93,2
S1 + 50	50,7	48,8	97,6
S1 + 100	93,6	91,7	91,7
S1 + 200	195,00	193,1	96,6
S2	17,4	---	---
S2 + 12,5	27,0	9,6	76,8
S2 + 25	42,0	24,6	98,4
S2 + 50	65,0	47,6	95,2
S2 + 100	116,2	98,8	98,8
S2 + 200	205,1	187,7	93,9

Prueba de paralelismo

Se han dosificado dos sueros con alto contenido de TG en distintas diluciones con estándar cero.

Dilución	Esperado (ng/mL)	Medido (ng/mL)
S1 no diluido	---	179,50
1:2	89,75	84,75
1:4	44,88	47,57
1:8	22,44	28,46
S2 no diluido	---	25,69
1:2	12,85	15,05
1:4	6,42	6,97
1:8	3,21	3,83

7.5 Correlación

El kit TG ELISA Diametra se ha comparado con un kit disponible en el mercado (TG Zentech Irma Kit). Se han comprobado 66 muestras de suero. La curva de regresión es: TG Zentech = 1,029*TG Diametra +2,069 (R²=0,952)

8. RECUPERACIÓN EN LA MUESTRA DE SUERO

La presencia de autoanticuerpos anti-TG en una muestra interfiere con la determinación de la TG y, por lo tanto, puede dar lugar a resultados inexactos. Se debe realizar una prueba de recuperación clínica para confirmar la exactitud del resultado. Esta prueba no debe considerarse un método para la detección de anticuerpos anti-TG.

Procedimiento:

Diluir 1/2 la muestra de suero con la solución de recuperación, por ejemplo 50 µL de muestra + 50 µL de solución de recuperación. La concentración de TG en la solución de recuperación es 50 ng/mL (SR).

Dosificar la muestra no diluida (S1) y la diluida 1/2 con la solución de recuperación (S2) como se describe en el esquema del ensayo.

La recuperación porcentual de TG para una muestra se calcula del siguiente modo:

ng/mL muestra S2

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\text{ng/mL muestra S2}}{(\text{ng/mL muestra S1} + 50)/2} \times 100$$

Las recuperaciones < a 75% y >120% indican la presencia de interferencias de autoanticuerpos anti-TG.

9. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Los resultados del ensayo deben interpretarse con cautela y confirmarse mediante evaluaciones clínicas y otras pruebas de diagnóstico

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruiz-García J., Ruiz de Almodóvar J. M., Olea N., Pedraza V. Thyroglobulin level as a Predictive Factor of Tumoral Recurrence in Differentiated Thyroid Cancer. J. Nuclear Medicine, 1991, **32** (3), 395-398.
2. Pacini F., Pinchera A., Giani C., Grasso L., Doveri F., Baschieri L. Serum thyroglobulin in thyroid carcinoma and other thyroid disorders. J. Endocrinol. Invest., 1980, **3**, 283-292.
3. Rubello D., Girelli M. E., Casara D., Piccolo M., Perin A., Busnardo B. Usefulness of the combined antithyroglobulin antibodies and thyroglobulin assay in the follow-up of patients with differentiated thyroid cancer. J. Endocrinol. Invest. 1990, **13**, 737-742.
4. Sheppard M. C. Serum Thyroglobulin and Thyroid Cancer. Quarterly J. Medicine. New Series, 1986, **59** (229), 429-433.
5. Tourniaire J., Bernard M. H., Ayzac L., Nicolas M. H., Bornet H. Dosage de la thyroglobuline sérique après lobectomie thyroïdienne totale unilatérale pour cancer thyroïdien différencié. La Presse Médicale, 1990, **19** (28), 1309-1312.
6. Pacini F., Elisei R., Fugazzola L., Pinchera A. Humoral Markers for Thyroid Carcinoma in Clinical Practice. Diagn. Oncol., 1991, **1**, 194-196.
7. Chatherine Massart, Didier Maugendre. Importance of detection Method for Thyroglobulin Antibodies for the validity of Thyroglobulin measurements in sera from patients with Graves Disease. Clin. Chem. 2002, **48** (1), 108-107.

Ed 06/2010

DCM048-5

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

Tel. 0039-02-2139184 –02-26921595

Fax 0039-02-2133354.

Manufact: Via Giustozzi, 35/35a –

Z.I Paciana –06034 FOLIGNO (PG) Italy

Tel. 0039-0742-24851

Fax 0039-0742-316197

E-mail: info@diametra.com

	DIA.METRA SRL	
Mod. PIS	PACKAGING INFORMATION SHEET	

IT
Spiegazione dei simboli

GB
Explanation of symbols

FR
Explication des symboles

ES
Significado de los símbolos

DE
Verwendete Symbole

PT
Explicação dos símbolos

	<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 Fabricante FR Fabriqué par GB Manufacturer IT Produttore PT Produzido por</p>
REF	<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 fabricación 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 del 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 Riesgo biológico FR Risque biologique GB Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico</p>
	<p>DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones de uso FR Consulter le mode d'emploi GB Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso</p>	LOT	<p>DE Chargenbezeichnung ES Código del lote FR Numero de lot GB Batch code IT Codice del lotto PT Codigo do lote</p>
 $\Sigma = xx$	<p>DE Ausreichend für "h" Tests ES Contenido suficiente para "h" ensayos FR Contenu suffisant pour "h" tests GB Contains sufficient for "h" tests IT Contenuto sufficiente per "h" saggi PT Contém o suficiente para "h" testes</p>	Cont.	<p>DE Inhalt ES Contenido del kit FR Contenu du coffret GB Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit</p>
 Max Min	<p>DE Temperaturbereich ES Límites de temperatura FR Limites de température de conservation GB Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação</p>		

	DIA.METRA SRL	
Mod. PIS	PACKAGING INFORMATION SHEET	

SUGERENCIAS PARA LA SOLUCIÓN DE PROBLEMAS/TROUBLESHOOTING

ERROR / POSIBLES CAUSAS / SUGERENCIAS

No se produce ninguna reacción colorimétrica del ensayo

- no se ha dispensado el conjugado
- contaminación del conjugado y/o del sustrato
- errores en la ejecución del ensayo (p. ej., dispensación accidental de los reactivos en orden incorrecto o procedentes de frascos equivocados, etc.)

Reacción escasa (DO demasiado bajas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado corto, temperatura de incubación demasiado baja

Reacción demasiado intensa (DO demasiado altas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado largo, temperatura de incubación demasiado alta
- calidad escasa del agua usada para la solución de lavado (bajo grado de desionización)
- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

Valores inexplicablemente fuera de escala

- contaminación de pipetas, puntas o contenedores- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

CV% intraensayo elevado

- los reactivos y/o tiras no se encontraban a temperatura ambiente antes del uso
- el lavador de microplacas no funciona correctamente (sugerencia: limpiar el cabezal del lavador)

CV% interensayo elevado

- condiciones de incubación no constantes (tiempo o temperatura)
- controles y muestras no dispensados al mismo tiempo (con los mismos intervalos) (controlar la secuencia de dispensación)
- variación en función de los operadores

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