



DiaMetra



# FSH

para análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática directa de FSH en suero o plasma humano

IVD



LOT

Ver etiqueta externa

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO010

## USO PREVISTO

El kit FSH Diametra es un método inmunoenzimático directo en fase sólida para la determinación cuantitativa de la hormona estimulante del folículo (FSH) en suero o plasma humano.

El kit FSH está destinado al uso en laboratorio exclusivamente.

## 1. INTRODUCCIÓN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La hormona estimulante del folículo (FSH) es una glicoproteína compuesta por 2 subunidades con una masa molecular de aproximadamente 35,500 dalton. La subunidad α es similar a la de las otras hormonas pituitarias [hormona luteinizante (LH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y gonadotropina coriónica (HCG)], mientras que la subunidad β es única. La subunidad β confiere a la molécula la actividad biológica. La estimulación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) provoca las liberaciones de FSH y LH de la glándula pituitaria, y estas son transportadas por la sangre a los lugares donde actúan, es decir, los testículos y los ovarios.

En los hombres, la FSH actúa en las células de Sertoli de los testículos, estimulando la síntesis de inhibina, que parece inhibir específicamente una secreción posterior de FSH y de la proteína de unión de andrógenos. Por lo tanto, indirectamente promueve la espermatogénesis. En las mujeres, la FSH actúa en las células granulosas de los ovarios, estimulando la esteroidogénesis. Todos los ciclos menstruales con ovulación tienen una secuencia característica de secreción de FSH y LH. El ciclo menstrual se divide en fase folicular y fase lútea por el impulso que se produce en la mitad del ciclo de las gonadotropinas (LH y FSH). Con el avance de la fase folicular, la concentración de FSH disminuye. Al aproximarse el momento de la ovulación, aproximadamente a la mitad del ciclo, la FSH alcanza el nivel máximo (con una entidad menor que la LH). La utilidad clínica de la determinación de la hormona estimulante del folículo (FSH) en la evaluación de la homeostasis de la regulación de la fertilidad a través del eje hipotalámico-pituitario-gonadal ha sido ampliamente demostrada (1,2).

## 2. PRINCIPIO DEL ENSAYO

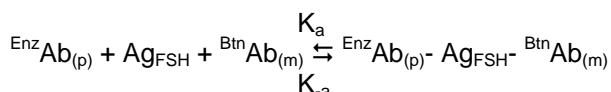
### Ensayo inmunoenzimático.

Los reactivos esenciales requeridos para el ensayo inmunoenzimático incluyen anticuerpos con alta afinidad y especificidad (conjugados con enzima e inmovilizados) con reconocimiento de epítomos distintos, en exceso, y antígeno nativo.

En este procedimiento, la inmovilización se produce durante el ensayo en la superficie de los pocillos de la microplaca mediante la interacción de la estreptavidina fijada en los pocillos y el anticuerpo anti-LH biotinilado añadido.

Mezclando el anticuerpo biotinilado, el anticuerpo conjugado con enzima y un suero que contiene el antígeno nativo, se produce la reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia o impedimento estérico, para formar un complejo sándwich soluble.

La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



$\text{B}^{\text{tn}} \text{Ab}_{(m)}$  = anticuerpo biotinilado monoclonal (cantidad en exceso)

$\text{Ag}_{\text{FSH}}$  = antígeno FSH nativo (cantidad variable)

$\text{Enz} \text{Ab}_{(p)}$  = anticuerpo policlonal marcado con enzima (cantidad en exceso)

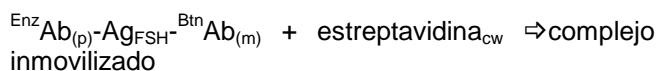
$\text{Enz} \text{Ab}_{(p)} - \text{Ag}_{\text{FSH}} - \text{B}^{\text{tn}} \text{Ab}_{(m)}$  = complejo sándwich antígeno-anticuerpos

$\text{K}_a$  = constante de asociación

$\text{K}_a$  = constante de disociación

Al mismo tiempo, el complejo se fija en el pocillo mediante la reacción de alta afinidad de la estreptavidina y el anticuerpo biotinilado.

Esta interacción se describe a continuación:



$\text{estreptavidina}_{\text{cw}}$  = estreptavidina inmovilizada en el pocillo

Complejo inmovilizado = complejo sándwich antígeno-anticuerpos

Tras lograr el equilibrio, la fracción de antígeno unida al anticuerpo se separa del antígeno libre mediante decantación o aspiración.

La actividad enzimática de la fracción unida es directamente proporcional a la concentración de antígeno nativo.

Usando distintos sueros de referencia con valores conocidos de antígeno se puede generar una curva dosis-respuesta con la que se puede determinar la concentración del antígeno de muestras desconocidas.

### 3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

#### 3.1 Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Estándares (STD) de FSH (6 frascos, 1 mL cada uno)

STD0	<b>REF</b>	<b>DCE002/1006-0</b>
STD1	<b>REF</b>	<b>DCE002/1007-0</b>
STD2	<b>REF</b>	<b>DCE002/1008-0</b>
STD3	<b>REF</b>	<b>DCE002/1009-0</b>
STD4	<b>REF</b>	<b>DCE002/1010-0</b>
STD5	<b>REF</b>	<b>DCE002/1011-0</b>

2. FSH Control (1 frasco, 1 mL)

La concentración del Control se indica en el certificado de calidad (Quality Control Report)

**REF** **DCE045/1003-0**

3. Conjugado (1 frasco, 12 mL)

Anticuerpo anti FSH conjugado con peroxidasa de rabano (HRP)

Anticuerpo anti FSH biotilnilado

**REF** **DCE002/1002-0**

4. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)

Estreptavidina absorbida en la microplaca

**REF** **DCE002/1003-0**

5. Substrato TMB (1 frasco, 15 mL)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.TMB 0,26 g/L (evitar el contacto con la piel)

**REF** **DCE004-0**

6. Solución de interrupción (1 frasco, 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (evitar el contacto con la piel)

**REF** **DCE005-0**

7. Solución de lavado conc. 10X (1 frasco, 50 mL)

Tampón fosfato 0.2M

**REF** **DCE054-0**

#### 3.2 Notas

- Conservar todos los reactivos a 2÷8 °C, protegidos de la luz.
- Abrir la bolsa del reactivo 4 (microplaca recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar.
- Los reactivos contienen Proclin 300 como conservante.
- Se requiere la máxima precisión para la reconstitución y la dispensación de los reactivos.
- Este método permite determinar concentraciones de FSH de 5 mIU/mL a 100 mIU/mL.

Los estándares, calibrados frente al estándar internacional WHO 2<sup>a</sup> IRP 78/549, tienen las siguientes concentraciones:

	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
mIU/mL	0	5	10	25	50	100

Para muestras con una concentración superior a 100 mIU/mL, diluir 1/1 la muestra con estándar 0.

### 4. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

- Los componentes del kit deben conservarse a 2÷8 °C y no deben usarse después de la fecha de caducidad.
- Los reactivos abiertos se mantienen estables durante 60 días si se conservan a 2÷8 °C.

### 5. MATERIALES E INSTRUMENTOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS EN EL KIT

- Agua destilada o desionizada y un cilindro de 1 litro limpio para la dilución de la solución de lavado.
- Pipetas adecuadas para suministrar volúmenes de 50 µl con una precisión superior a 1,5%.
- Pipetas secuenciales para suministrar volúmenes de 0,100 mL y 0,300 mL con una precisión superior a 1,5%.
- Lavador automático de microplaca o una botella comprimible (opcional).
- Lector de microplaca con capacidad de leer las DO con absorbancias de 450 nm, 405 nm y 620 nm.
- Papel absorbente para secar los pocillos de la microplaca.
- Envoltura de plástico para cubrir la microplaca durante la incubación.
- Aspirador (opcional) para las fases de lavado.
- Temporizador.
- Materiales de control de calidad

### 6. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

#### 6.1. Medidas de seguridad

- Este kit solo debe usarse para diagnóstico *in vitro*
- No apto para uso interno o externo en humanos o animales
- Todos los productos que contienen suero humano han resultado negativos en la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, los anticuerpos de VIH 1 y 2, y de VHC. Puesto que ningún método conocido puede ofrecer una seguridad completa de la ausencia de agentes infecciosos, todos los productos que contienen suero humano deben manipularse como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades
- Seguir las buenas prácticas de laboratorio para manipular los productos sanguíneos.
- Evitar el contacto con los reactivos que contienen peróxido de hidrógeno, ácido sulfúrico y conservantes que pueden ser tóxicos si se ingieren. No utilizar la pipeta con la boca.
- Realizar la eliminación de los residuos observando las leyes vigentes

## 6.2. Precauciones técnicas

- Evitar la exposición de la solución TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a la luz directa del sol, metales u oxidantes.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos.
- Los datos de ejecución que se muestran aquí se han obtenido usando los reactivos específicos indicados en estas instrucciones de uso.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pocillo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles.
- El pipeteado de muestras no debe exceder los 10 minutos para evitar resultados incorrectos.
- Si se usa más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada placa.
- La adición de la solución de sustrato inicia una reacción cinética que se termina con la adición de la solución de parada. Por lo tanto, la adición del sustrato y de la solución de parada debe realizarse en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación temporal durante la reacción.
- Los lectores de microplacas miden verticalmente. No tocar el fondo de los pocillos.
- Si no se retira adecuadamente la solución de incubación y lavado durante las fases de aspiración o decantación se pueden producir resultados falsos o repeticiones pobres.
- Usar componentes del mismo lote. No mezclar reactivos de distintos lotes.
- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que la metodología aplicada haya sido debidamente validada.

## 7. OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Usar muestras séricas o plasmáticas; observar las precauciones habituales en la toma de muestras obtenidas por vía venosa.
- Obtener las muestras de suero por la mañana y en ayunas para una comparación precisa que permita establecer valores normales.
- Para obtener el suero, la sangre debe recogerse en un tubo de extracción por vía venosa, sin aditivos ni anticoagulantes; dejar que la sangre se coagule; centrifugar la muestra para separar el suero de las células.
- Las muestras pueden conservarse a una temperatura de 2-8 °C durante un período máximo de 5 días. Si no se van a usar en este período, pueden conservarse a una temperatura de -20 °C durante 30 días como máximo.
- No volver a congelar las muestras una vez descongeladas.
- Si el ensayo se realiza por duplicado, se requieren 0,100 mL de la muestra.

## 8. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

### 8.1. Preparación de los reactivos

Esperar hasta que los reactivos se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C). Calcular los pocillos necesarios para la determinación por duplicado para cada calibrador, control y muestra (es necesario un pocillo para el blanco). Volver a

colocar los pocillos no usados en la bolsa de aluminio. Sellar y conservar a 2-8°C.

### 8.2. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido de cada ampolla de solución de lavado tamponada concentrada (10x) con agua destilada hasta un volumen de 500 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:10. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2-8 °C durante al menos 30 días. En la solución de lavado concentrada es posible observar la presencia de cristales. En ese caso, agitar a temperatura ambiente hasta que los cristales se disuelvan por completo. Para una mayor precisión, diluir todo el frasco de la solución de lavado concentrada a 500 mL, teniendo cuidado para transferir también los cristales y, a continuación, agitar hasta que se disuelvan por completo.

### Procedimiento

Reactivos	Estándar	Muestras /Control	Blanco
Muestras /Control		50 µL	
Estándares S <sub>0</sub> -S <sub>5</sub>	50 µL		
Conjugado	100 µL	100 µL	
Incubar 1 h a temperatura ambiente (22-28°C). Retirar la mezcla de reacción. Lavar los pocillos 3 veces con 0,3 mL de solución de lavado diluida.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubar 15 minutos a temperatura ambiente (22-28°C), protegida de la luz.			
Solución de interrupción	100 µL	100 µL	100 µL
Agitar la microplaca con cuidado. Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente al blanco.			

## 9. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

### 9.1. Conversión de las DO

Las densidades ópticas (DO) de algunos calibradores y muestras pueden ser superiores a 2,0. En ese caso, podrían estar fuera del rango de medición del lector de microplacas. Por lo tanto, en estos casos es necesario realizar una lectura a 405 nm (= longitud de onda de entrada pico) además de a 450 nm (longitud de onda pico) y a 620 nm (filtro de referencia para la disminución de interferencias debidas al plástico). Si se utilizan lectores no aptos para la lectura a tres longitudes de onda simultáneamente, se recomienda realizar lo siguiente:

- leer la microplaca a 450 nm y a 620 nm.
- volver a leer la microplaca a 405 nm y a 620 nm.
- seleccionar los pocillos cuyas DO a 450 nm sean superiores a 2,0.

- seleccionar las DO correspondientes leídas a 405 nm y multiplicar estos valores a 405 nm por el factor de conversión 3,0 (donde  $DO\ 450/DO\ 405 = 3,0$ ), es decir:  $DO\ 450\ nm = DO\ 405\ nm \times 3,0$

Advertencia: El factor de conversión 3,0 es solo una sugerencia. Para mayor precisión, se recomienda calcular el factor de conversión específico del lector empleado.

### 9.2. Control de calidad

Cada laboratorio debe analizar los controles internos a niveles de los rangos bajo, medio y alto para supervisar el rendimiento del ensayo. Estos controles deben tratarse como muestras desconocidas y sus valores deben determinarse en cada procedimiento de ensayo realizado.

Se deben mantener los gráficos de control de calidad para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Se deben emplear métodos estadísticos pertinentes para determinar las tendencias. Desviaciones significativas del rendimiento establecido pueden indicar un cambio inadvertido en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. Se deben usar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

### 9.3. Procesamiento de los datos: Método automático

Utilizar los métodos: modelo logístico de 4 parámetros (preferido) o modelo spline cúbico suavizado como algoritmo de cálculo.

**NOTA:** Si para calcular los resultados se ha usado un programa de cálculo, es imprescindible que los valores calculados para los calibradores se encuentren dentro del 10% de las concentraciones asignadas.

### 9.4. Procesamiento de los datos: Método manual

Se usa una curva de calibración para determinar la concentración de la hormona estimulante del folículo en muestras desconocidas.

1. Registrar las DO obtenidas en el informe impreso del lector de microplacas como se muestra en el Ejemplo 1.
2. Trazar en papel milimetrado una curva dosis-respuesta (DRC) usando la DO media para cada calibrador por duplicado frente a las concentraciones correspondientes de FSH en mIU/mL.
3. Trazar la curva que pasa por los puntos.
4. Para determinar la concentración de FSH de una muestra desconocida, localizar la DO media de los duplicados de las muestras desconocidas correspondientes en el eje vertical del gráfico, localizar el punto de intersección de la curva y leer la concentración (en mIU/mL) en el eje horizontal del gráfico (se puede calcular el promedio de los duplicados de la muestra desconocida).

EJEMPLO 1				
Ident. muestra	Número pocillo	DO	DO media	Valor mIU/mL
CAL 0	A1	0,092	0,072	0
	B1	0,053		
CAL 1	C1	0,375	0,371	5
	D1	0,367		
CAL 2	E1	0,573	0,581	10
	F1	0,588		
CAL 3	G1	1,412	1,301	25
	H1	1,190		
CAL 4	A2	1,923	1,944	50
	B2	1,965		
CAL 5	C2	2,739	2,694	100
	D2	2,650		
Ctrl	E2	0,714	0,697	13,89
	F2	0,681		
paciente	G2	1,671	1,627	43,8
	H2	1,496		

**NOTA:** Los valores mostrados en el Ejemplo 1 son solo demostrativos y no deben usarse en sustitución de la curva estándar preparada para cada prueba. Los valores asignados para los calibradores son específicos de cada lote.

### 9.5. Valores esperados

Los intervalos de referencia se indican en la siguiente tabla:

	kit FSH Diametra (mIU/mL)
<b>HOMBRES</b>	<b>1 – 14</b>
<b>MUJERES:</b>	
Fase folicular	<b>3 – 12</b>
Fase ovulatoria	<b>8 – 22</b>
Fase lútea	<b>2 – 12</b>
Menopausia	<b>35 –151</b>

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un intervalo de valores esperados con un método dado para una población dada de personas "normales" depende de numerosos factores: la especificidad del método, la población examinada y la precisión del método que depende del usuario. Por estos motivos, cada laboratorio solo deberá usar el intervalo de valores esperados establecido por el fabricante hasta que los analistas puedan determinar un intervalo propio usando el método con una población autóctona de la zona en la que se encuentre el laboratorio.

## 10. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

• Para uso diagnóstico considerar los valores de FSH junto con otros datos disponibles para el médico. Seguir las notas de procedimiento y realizar el ensayo con cuidado para obtener resultados válidos. Cualquier modificación del procedimiento podría alterar los resultados. La FSH depende de varios factores distintos de la homeostasis pituitaria. Por lo tanto, la determinación de FSH por sí sola no puede proporcionar un cuadro clínico completo del estado del paciente.

• La hormona FSH es suprimida por los estrógenos, pero en mujeres que toman anticonceptivos orales, los niveles pueden ser bajos o normales. Dietas demasiado radicales y pérdidas de peso pueden reducir la concentración de gonadotropina

• En muestras de pacientes con niveles altos de FSH se puede producir el efecto gancho, por lo que pueden presentar paradójicamente valores bajos de absorbancia. Se recomienda diluir 1/100 con el calibrador 0 y volver a medir (multiplicar el resultado por 100). Sin embargo, se ha observado que valores de hasta 2000 mIU/mL han tenido una absorbancia mayor que la del calibrador más alto.

• Los pacientes que reciben preparaciones de anticuerpos monoclonales murinos para el diagnóstico de la terapia pueden presentar anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) y, por lo tanto, dar resultados falsos positivos o falsos negativos.

## 11. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

### 11.1. Precisión

#### 11.1.1. Intraensayo

La variabilidad dentro del mismo kit se ha determinado replicando (20x) la medición de tres sueros de control distintos en una única sesión de análisis. La variabilidad intraensayo es  $\leq 9,7\%$ .

#### 11.1.2. Interensayo

La variabilidad entre distintos kits se ha determinado replicando (10x) la medición de tres sueros de control distintos con kits pertenecientes a lotes distintos. La variabilidad interensayo es  $\leq 8,0$ .

### 11.2. Correlación

El kit FSH (Diametra) se ha comparado con un kit disponible en el mercado. Se han comprobado 36 muestras de suero.

La curva de regresión es:

$$\text{Diametra} = 0,91 * (\text{ensayo comercial}) + 3,44$$

$$r^2 = 0,971$$

El kit FSH Diametra (Y) se ha comparado con el kit FSH Diametra del método anterior (X). Se probaron 36 muestras de suero.

La curva de regresión es la siguiente:

$$Y = 0,95 * X$$

$$r^2 = 0,994$$

### 11.3. Sensibilidad

La concentración mínima de FSH medible que puede ser distinta del estándar 0 es 0,17 mIU/mL.

### 11.4. Especificidad

La reactividad cruzada del kit FSH Diametra a las sustancias potencialmente interferentes se estimó mediante la adición de estas sustancias, en concentraciones diferentes, a una matriz de suero. La reactividad cruzada se calculó evaluando la relación entre la concentración de la sustancia interferente y la concentración de FSH necesaria para producir la misma DO.

Sustancia comprobada	Reactividad cruzada	Concentración
FSH	100,0%	---
HCG	N.D.	5000 mIU/mL
LH	N.D.	400 mIU/mL
Prolactin	N.D.	2000 ng/mL
TSH	N.D.	1000 mIU/mL

### 11.5. Exactitud

La prueba de recuperación realizada en una muestra enriquecida con 3 – 6 – 12 – 24 mIU/mL de FSH ha dado un valor medio ( $\pm$ DE) de  $97.83\% \pm 8.52\%$ .

La prueba de dilución conducta en tres muestras diluidas 2 - 4 - 8 veces con estándar 0 dio una media ( $\pm$  DE) de  $105.54\% \pm 5.36\%$ .

## 12. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Odell, W.D., Parlow, A.F., et al, *J Clin Invest*, 47, 2551 (1981).
2. Saxema, B.B., Demura, H.M., et al, *J Clin Endocrinol Metab.*, 28, 59 (1968).
3. Wennink JM, Delemarre-van de Waal HA, Schoemaker R, Schoemaker H, Schoemaker J. 1990 Luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion patterns in girls throughout puberty measured using highly sensitive immunoradiometric assays. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 33:333–344.
4. Winter JS, Faiman C. 1973 The development of cyclic pituitarygonadal function in adolescent females. *J Clin Endocrinol Metab*. 37:714–718.
5. Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E 1997 The follicle stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology and pathophysiology. *Endocr Rev* 18:739–773.
6. Vitt UA, Kloosterboer HJ, Rose UM, Mulders JW, Kiesel PS, Bete S, Nayudu PL 1998 Isoforms of human recombinant folliclestimulating hormone: comparison of effects on murine follicle development *in vitro*. *Biol Reprod* 59:854–861.
7. Layman LC, Lee EJ, Peak DB, Namnoum AB, Vu KV, van Lingen BL, Gray MR, McDonough PG, Reindollar RH, Jameson JL 1997 Delayed puberty and hypogonadism caused by mutations in the folliclestimulating hormone  $\beta$  subunit gene. *N Engl J Med* 337:607–611.
8. Robertson DR 1991 Circulating half-lives of follicle stimulating hormones and luteinizing hormone in pituitary extracts and isoform fractions of ovariectomized and intact ewes. *Endocrinology* 129:1805– 1813.

9. Wide L 1981 Electrophoretic and gel chromatographic analyses of follicle stimulating hormone in human serum. Ups J Med Sci 86:249–258.

10. Berger P, Bidart JM, Delves PS, Dirnhofer S, Hoermann R, Isaacs N, Jackson A, Klonisch T, Laphorn A, Lund T, Mann K, Roitt I, Schwarz S, Wick G 1996 Immunochemical mapping of gonadotropins. Mol Cell Endocrinol 125:33–43.

**Ed 05/2011**

**DCM010-10**

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

Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595 – Fax 0039–02–2133354.










**Manufactory:** Via Giustozzi, 35/35a – Z.I Paciana – 06034 FOLIGNO (PG) Italy

Tel. 0039-0742–24851 Fax 0039–0742–316197

E-mail: info@diametra.com

	<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 símbolos***DE***Verwendete Symbole***PT***Explicação dos símbolos*

	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		DE Herstellt von ES Fabricante FR Fabriqué par GB Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
<b>REF</b>	DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Référencès du catalogue GB Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricación FR Date de fabrication GB Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
yyyy-mm-dd	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)		DE Biogefährdung ES Riesgo biológico FR Risque biologique GB Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	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		DE Chargenbezeichnung ES Código del lote FR Numero de lot GB Batch code IT Codice del lotto PT Codigo do lote
 $\Sigma = xx$	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		DE Inhalt ES Contenido del kit FR Contenu du coffret GB Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Límites de temperatura FR Limites de température de conservation GB Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		

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

## 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