



DCM115-4  
Ed. 03/2012

# Anti Tg ELISA

per analisi di routine

Determinazione quantitativa degli anticorpi contro la Tireoglobulina (TG) nel siero o nel plasma umano

IVD



LOT

Vedere etichetta esterna

2°C 8°C



Σ = 96 test

REF DKO115

## DESTINAZIONE D'USO

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

Il kit Anti TG è destinato al solo uso di laboratorio.

## 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 umano 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 Calibrators (6 flaconi, 1,2 mL ciascuno)  
Tampone fosfato 0,1M, NaN<sub>3</sub> <0,1%, siero umano

CAL0

REF DCE002/11506-0

CAL1

REF DCE002/11507-0

CAL2

REF DCE002/11508-0

CAL3

REF DCE002/11509-0

CAL4

REF DCE002/11510-0

CAL5

REF DCE002/11511-0

2. Controls (2 flaconi, 1,2 mL ciascuno, pronti all'uso)

Tampone fosfato 0,1M, NaN<sub>3</sub> <0,1%, siero umano

Negative Control

REF DCE045/11501-0

Positive Control

REF DCE045/11502-0

3. Sample Diluent (1 flacone, 100 mL)

Tampone fosfato 0,1M, NaN<sub>3</sub> <0,1%

REF DCE053-0

4. Conjugate (1 flacone, 15 mL)

Anti h-IgG coniugato con perossidasi di rafano (HRP), BSA 0,1%, Proclin <0,0015%

REF DCE002/11502-0

5. Coated Microplate

(1 micropiastroa breakable con Tireoglobulina antigenica adsorbita)

REF DCE002/11503-0

6. TMB Substrate (1 flacone, 15 mL)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,26 g/L) (evitare il contatto con la pelle)

REF DCE004-0

7. Stop Solution (1 flacone, 15 mL)

0,15M acido solforico (evitare il contatto con la pelle)

REF DCE005-0

8. 50X Conc. Wash Solution (1 flacone, 20 mL)

NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L

REF DCE006-0

### 3.2. Reattivi necessari non forniti nel kit

Acqua distillata.

### 3.3. Materiale e strumentazione ausiliare

Dispensatori automatici.

Letto per micropiastre (450 nm).

## 4. AVVERTENZE

- Questo test kit è per uso in vitro, da eseguire da parte di personale esperto. Non per uso interno o esterno su esseri Umani o Animali.
- Usare i previsti dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP) per la manipolazione di prodotti derivati da sangue.
- Materiali di origine animale usati per la preparazione di questo kit sono stati ottenuti da animali sani e le

proteine bovine sono state ottenute da paesi non affetti da BSE, ma comunque questi materiali dovrebbero essere usati come potenzialmente contagiosi.

- Tutti i reattivi di origine umana usati nella preparazione dei reagenti 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 Calibratori e i Controlli devono essere maneggiati come materiali potenzialmente infettivi.
- Alcuni reagenti contengono piccole quantità di Sodio Azide (NaN<sub>3</sub>) o di Proclin 300<sup>R</sup> come conservante. Evitare il contatto con la pelle e le mucose.
- La Sodio Azide può essere tossica se ingerita o assorbita attraverso la cute o gli occhi; inoltre, può reagire con le tubature di piombo o rame formando azidi metalliche potenzialmente esplosive. Se si usa un lavandino per eliminare i reagenti, lasciar scorrere grandi quantità di acqua per prevenire la formazione di azidi.
- Il TMB Substrato contiene un irritante, che può essere dannoso se inalato, ingerito o assorbito attraverso la cute. Per prevenire lesioni, evitare l'inalazione, l'ingestione o il contatto con la cute e con gli occhi.
- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.

## 5. PRECAUZIONI

- Si prega di attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi indicata in questo protocollo. I risultati presentati qui sono stati ottenuti usando specifici reagenti elencati in queste Istruzioni per l'Uso.
- Tutti i reattivi devono essere conservati a temperatura controllata di 2-8°C nei loro contenitori originali. Eventuali eccezioni sono chiaramente indicate. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza se conservati e trattati seguendo le istruzioni fornite.
- Prima dell'uso lasciare tutti i componenti dei kit e i campioni a temperatura ambiente (22-28°C) e mescolare accuratamente.
- Non scambiare componenti dei kit di lotti diversi. Devono essere osservate le date di scadenza riportate sulle etichette della scatola e di tutte le fiale. Non utilizzare componenti oltre la data di scadenza.
- **ATTENZIONE: il reagente Coniugato è stato studiato per garantire la massima sensibilità di dosaggio, e pertanto, se non opportunamente usato, può essere contaminato da agenti esterni;** si raccomanda pertanto di utilizzare consumabili (puntali, flaconi, vaschette ecc.) usa e getta. Per dosaggi frazionati, prelevare l'esatta quantità di coniugato necessaria ed evitare di re-introdurre l'eventuale scarto nel flacone originale. Inoltre, **per dosaggi effettuati con l'ausilio di strumentazione automatica e semi-automatica,** si consiglia, prima di utilizzare il coniugato, di effettuare uno step di pulizia della fluidica, assicurandosi che le procedure di lavaggio, deproteinizzazione e decontaminazione siano efficaci nell'evitare la contaminazione del coniugato; **questa procedura è fortemente raccomandata quando il kit è processato con analizzatori non dotati di puntali monouso.**

A tale scopo Diametra rende disponibile separatamente un reattivo decontaminante per il lavaggio degli aghi.

- Qualora si utilizzi strumentazione automatica, è responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il kit sia stato opportunamente validato.
- Un lavaggio incompleto o non accurato dei pozzetti può causare una scarsa precisione e/o un'elevato background.
- Per la riproducibilità dei risultati, è importante che il tempo di reazione di ogni pozzetto sia lo stesso. Per evitare il time shifting durante la dispensazione degli reagenti, il tempo di dispensazione dei pozzetti non dovrebbe estendersi oltre i 10 minuti. Se si protrae oltre, si raccomanda di seguire lo stesso ordine di dispensazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva di calibrazione in ogni piastra.
- L'aggiunta del TMB Substrato dà inizio ad una reazione cinetica, la quale termina con l'aggiunta della Stop Solution. L'aggiunta del TMB Substrato e della Stop Solution deve avvenire nella stessa sequenza per evitare tempi di reazione differenti.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori clinici testando controlli e/o pool di sieri.
- Osservare la massima precisione nella ricostituzione e dispensazione dei reagenti.
- Non usare campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici o emolizzati.
- I lettori di micropiastre leggono l'assorbanza verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.

## 6. PROCEDIMENTO

### 6.1 Preparazione dei Calibratori (C<sub>0</sub>...C<sub>5</sub>)

Il sistema di misurazione è calibrato in unità relative arbitrarie. I Calibratori sono pronti all'uso ed hanno le seguenti concentrazioni:

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

Una volta aperti sono stabili per 6 mesi a 2-8°C.

### 6.2 Preparazione del campione

La matrice di elezione per la determinazione degli anticorpi anti-Tg è siero o plasma umano. **Tutti i campioni di siero devono essere prediluiti 1:100 con sample diluent;** ad esempio 10 µL di campione possono essere diluiti con 990 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 (dopo la formazione del coagulo) o il plasma dalle cellule per centrifugazione.

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.

I controlli sono pronti all'uso.

### 6.3 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. Per preparare volumi minori rispettare il rapporto di diluizione di 1:50. La soluzione di lavaggio diluita è stabile a 2-8°C per almeno 30 giorni.

Nella wash solution concentrata è possibile osservare la presenza di cristalli; in tal caso agitare a temperatura ambiente fino a completa dissoluzione dei cristalli; per una maggiore precisione diluire tutto il flacone della soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura di trasferire anche i cristalli, poi agitare fino a completa dissoluzione dei cristalli.

#### 6.4 Procedimento

- **Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (22-28°C) per almeno 30 minuti.**
- Le strisce di pozzetti non utilizzate devono essere rimesse immediatamente nella busta richiudibile contenente il materiale essiccante e conservate a 2-8°C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche non rimettere i reagenti inutilizzati nei flaconi originali.
- Al fine di aumentare l'accuratezza dei risultati del test è necessario operare in doppio, allestendo due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), due per ogni Controllo, due per ogni Campione ed uno per il Bianco.

Reagente	Calibratori	Campione /Controlli	Bianco
Calibratori C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	100 µL		
Controlli		100 µL	
Campione diluito		100 µL	
Incubare 30 minuti a temperatura ambiente (22-28°C). Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti per 3 volte con 300 µL di wash solution diluita.			
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubare 30 minuti a temperatura ambiente (22-28°C). Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti per 3 volte con 300 µL di wash solution diluita			
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubare 15 minuti al buio a temperatura ambiente (22-28°C).			
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
Agitare delicatamente la micropiastra. Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro il Bianco entro 5 minuti.			

## 7. RISULTATI

### 7.1. Curva di calibrazione

Per il kit 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.

### 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.

CAL	OD1	OD2	media	C1	C2	media	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

## 8. 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

È importante tenere presente che la determinazione di un range di valori attesi in un dato metodo per una popolazione "normale" è dipendente da molteplici fattori, quali la specificità e sensibilità del metodo in uso, e la popolazione in esame. Perciò ogni laboratorio dovrebbe considerare i range indicati dal Fabbricante come un'indicazione generale e produrre range di valori attesi propri basati sulla popolazione indigena dove il laboratorio risiede.

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.

### 8.1 Specificità

Test di correlazione contro un analogo kit commerciale di riferimento, effettuati su 66 sieri (di cui 27 positivi e 39 negativi) hanno mostrato una specificità del 94,9%.

### 8.2 Sensibilità

Test di correlazione contro un analogo kit commerciale di riferimento, effettuati su 66 sieri (di cui 27 positivi e 39 negativi) hanno mostrato una sensibilità del 96,3%.

### 8.3 Limite di Rilevabilità

La minor concentrazione di anti-Tg che può essere distinta dallo Calibratori zero è di circa 0,11 AU/mL con limite di confidenza del 95%.

## 9. 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)

**Ed. 03/2012**

**DCM115-4**

**DiaMetra S.r.l. Headquarter:** Via Garibaldi, 18 – 20090  
SEGRATE (MI) Italy  
Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595  
Fax 0039-02-2133354.

**Manufactory:** Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO (PG) Italy  
Tel. 0039-0742-24851  
Fax 0039-0742-316197  
E-mail: [info@diametra.com](mailto:info@diametra.com)



DCM115-4  
Ed. 03/2012

# Anti Tg ELISA

for routine analysis

Quantitative determination of antibodies against Thyroglobulin (TG) in human serum or plasma

IVD



LOT

See external label

2°C 8°C



Σ = 96 tests

REF DKO115

## INTENDED USE

Indirect Immunoenzymatic colorimetric method for quantitative determination of Anti-Tg concentration in human serum or plasma.

Ani TG kit is intended for laboratory use only.

## 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 a two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated with the antigen. Antibodies from the specimen bind to the coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by the washing procedure. A second antibody directed towards human IgG and labeled with peroxidase enzyme is then added into the microwells. After the subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of a 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. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

### 3.1. Reagents and materials supplied in the kit

- Anti-Tg Calibrators** (6 vials, 1.2 mL each)  
Phosphate buffer 0.1M, NaN<sub>3</sub> <0.1%, human serum  
CAL0 **REF DCE002/11506-0**  
CAL1 **REF DCE002/11507-0**  
CAL2 **REF DCE002/11508-0**  
CAL3 **REF DCE002/11509-0**  
CAL4 **REF DCE002/11510-0**  
CAL5 **REF DCE002/11511-0**
- Controls** (2 vials, 1.2 mL each, ready to use)  
Phosphate buffer 0.1M, NaN<sub>3</sub> <0.1%, human serum  
Negative Control **REF DCE045/11501-0**  
Positive Control **REF DCE045/11502-0**
- Sample Diluent** (1 vial, 100 mL)  
Phosphate buffer 0.1M, NaN<sub>3</sub> <0.1% **REF DCE053-0**
- Conjugate** (1 vial, 15 mL)  
Anti h-IgG conjugated with horseradish peroxidase (HRP), BSA 0.1%, Proclin <0.0015% **REF DCE002/11502-0**
- Coated Microplate**  
(1 breakable microplate coated with antigenic Thyroglobulin) **REF DCE002/11503-0**
- TMB Substrate** (1 vial, 15 mL)  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,26 g/L) (avoid any skin contact) **REF DCE004/-0**
- Stop Solution** (1 vial, 15 mL)  
0.15M Sulfuric acid (avoid any skin contact) **REF DCE005-0**
- 50X Conc. Wash Solution** (1 vial, 20 mL)  
NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L **REF DCE006-0**

### 3.2. Reagents necessary not supplied

Distilled water.

### 3.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser.

Microplates reader (450 nm)

## 4. WARNINGS

- This kit is intended for in vitro use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.

- Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- All human source material used in the preparation of the reagents has been tested and found negative for antibody to HIV 1&2, HbsAg, and HCV. No test method however can offer complete assurance that HIV, HBV, HCV or other infectious agents are absent. Therefore, the Calibrators and the Controls should be handled in the same manner as potentially infectious material.
- Some reagents contain small amounts of Sodium Azide (NaN<sub>3</sub>) or Proclin 300<sup>R</sup> as preservatives. Avoid the contact with skin or mucosa.
- Sodium Azide may be toxic if ingested or absorbed through the skin or eyes; moreover it may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. If you use a sink to remove the reagents, allow scroll through large amounts of water to prevent azide build-up.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to directed sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.

## 5. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2-8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated. The reagents are stable until the expiry date when stored and handled as indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22-28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- **WARNING: the conjugate reagent is designed to ensure maximum dose sensitivity and may be contaminated by external agents if not used properly;** therefore, it is recommended to use disposable consumables (tips, bottles, trays, etc.). For divided doses, take the exact amount of conjugate needed and do not re-introduce any waste product into the original bottle. In addition, **for doses dispensed with the aid of automatic and semi-automatic devices,** before using the conjugate, it is advisable to clean the fluid handling system, ensuring that the procedures of washing, deproteinization and decontamination are effective in avoiding contamination of the conjugate; **this procedure is highly recommended when the kit is processed using analyzers which are not equipped with disposable tips.** For this purpose, Diametra supplies a separate decontamination reagent for cleaning needles.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately tested.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background.

- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.

## 6. PROCEDURE

### 6.1. Preparation of the Calibrators (C<sub>0</sub>...C<sub>5</sub>)

The assay system is calibrated in relative arbitrary units. The Calibrators are ready to use and have the following concentration:

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

Once opened, the Calibrators are stable 6 months at 2-8°C.

### 6.2. Preparation of the Sample

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

**Serum samples have to be prediluted with sample diluent 1:100;** for example, 10 µL of sample may be diluted with 990 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 (after clot formation) or plasma from the cells by centrifugation.

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 hemolyzed samples.

The Controls are ready to use.

### 6.3. 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. For smaller volumes respect the 1:50 dilution ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2-8°C. In concentrated wash solution is possible to observe the presence of crystals; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals; for greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care to transfer completely the crystals, then mix until crystals are completely dissolved.



#### 6.4. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22-28°C) for at least 30 minutes.**
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2-8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample or Controls	Blank
Calibrator C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	100 µL		
Controls		100 µL	
Diluted Sample		100 µL	
Incubate 30 minutes at room temperature (22-28°C). Remove the content from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution			
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubate 30 minutes at room temperature (22-28°C). Remove the content from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of 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
Shake the microplate gently. Read the absorbance (E) at 450 nm against Blank within 5 minutes.			

CAL	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

#### 8. REFERENCE VALUES

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

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore each laboratory should consider the range given by the Manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

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.

##### 8.1 Specificity

Comparison test against a commercial reference kit, performed on 66 sera (27 of them positive sera and 39 negative sera) shows a 94.9% specificity.

##### 8.2 Sensibility

Comparison test against a commercial reference kit, performed on 66 sera (27 of them positive sera and 39 negative sera) shows a 96.3% sensibility.

##### 8.3 Detection limit

The lowest concentration of anti Tg that can be distinguished from Calibrator 0 is about 0.11 AU/mL with a confidence limit of 95%.

#### 9. 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)

#### 7. RESULTS

##### 7.1. Calibration 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. We recommend using a Lin-Log curve.

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.

**Ed. 03/2012**

**DCM115-4**

**DiaMetra S.r.l. Headquarter:** Via Garibaldi, 18 – 20090

SEGRATE (MI) Italy

Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595

Fax 0039-02-2133354.

**Manufactory:** Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO (PG) Italy

Tel. 0039-0742-24851

Fax 0039-0742-316197

E-mail: [info@diametra.com](mailto:info@diametra.com)





DCM115-4  
Ed. 03/2012

# Anti Tg ELISA

para análisis de rutina

Determinación cuantitativa de los anticuerpos contra la Tiroglobulina (TG) en suero o plasma humano

IVD



Ver etiqueta externa

LOT

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO115

## USO PREVISTO

Método inmunoenzimático colorimétrico indirecto para la determinación cuantitativa de la concentración de anti-Tg en suero o plasma humano.

El kit Anti Tg está destinado al uso en laboratorio exclusivamente.

## 1. SIGNIFICADO CLÍNICO

La tiroglobulina (Tg) es una proteína que se encuentra y se emplea en su totalidad dentro de la glándula tiroides. La tiroglobulina está involucrada en la síntesis de las hormonas tiroideas, de la tiroxina (T4) y de la triyodotironina (T3).

La síntesis de la tiroglobulina se estimula a nivel transcripcional por la hormona TSH.

La tiroglobulina (Tg) es uno de los objetivos de los autoanticuerpos involucrados en el proceso autoinmunitario de la tiroides (enfermedad de Graves y de Hashimoto).

Los anticuerpos anti-Tg principalmente pertenecen a la isoforma IgG. Se pueden encontrar niveles bajos y moderados de los anticuerpos anti-Tg en sueros de pacientes con enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, lupus o síndrome de Sjögren). En algunos casos, sueros positivos para anti-Tg pueden resultar negativos para el otro tipo de autoanticuerpos de la tiroides - anti-TPO.

Como consecuencia, la determinación de ambos tipos de anticuerpos tiroideos (anti-TPO + anti-Tg) proporciona una mayor sensibilidad diagnóstica.

Los anticuerpos anti-Tg pueden desarrollarse también en pacientes que sufren de cáncer de tiroides.

El alto nivel de anti-Tg en estos pacientes puede interferir en la determinación correcta de la tiroglobulina sérica, que sirve como indicador del tumor en el control de la terapia en este grupo de pacientes.

## 2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo se basa en el principio inmunoenzimático del sándwich. La muestra que se va a comprobar se incuba en la microplaca recubierta con el antígeno.

Los anticuerpos contenidos en la muestra se unen a los antígenos presentes en la superficie de la microplaca. El material no unido se retira mediante un procedimiento de lavado.

Un segundo anticuerpo anti-IgG humana conjugado con peroxidasa se deja incubar en los pocillos.

Tras el lavado posterior, se determina y se cuantifica la actividad enzimática remanente unida a la superficie de los pocillos mediante la adición del sustrato cromógeno y de la Solución de parada, y mediante la lectura a 450 nm. La densidad óptica en los pocillos es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra.

## 3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

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

- Calibradores de anti-Tg (6 frascos, 1,2 mL cada uno)  
Tampón fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> < 0,1%, suero humano  
CAL0 **REF DCE002/11506-0**  
CAL1 **REF DCE002/11507-0**  
CAL2 **REF DCE002/11508-0**  
CAL3 **REF DCE002/11509-0**  
CAL4 **REF DCE002/11510-0**  
CAL5 **REF DCE002/11511-0**
- Controles (2 frascos, 1,2 mL cada uno, listo para usar)  
Tampón fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> < 0,1%, suero humano  
Control negativo **REF DCE045/11501-0**  
Control positivo **REF DCE045/11502-0**
- Diluyente de muestra (1 frasco, 100 mL)  
Tampón fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> < 0,1% **REF DCE053-0**
- Conjugado (1 frasco, 15 mL)  
Anti h-IgG conjugado con peroxidasa de rabano (HRP), BSA 0,1%, Proclin < 0,0015% **REF DCE002/11502-0**
- Microplaca recubierta  
(1 microplaca rompible con tiroglobulina antigénica absorbida) **REF DCE002/11503-0**
- 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**
- Solución de parada (1 frasco, 15 mL)  
0,15 M ácido sulfúrico (evitar el contacto con la piel) **REF DCE005-0**
- Solución de lavado 50X (1 frasco, 20 mL)  
NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L **REF DCE006-0**

### 3.2. Reactivos necesarios no suministrados en el kit

Agua destilada.

### 3.3. Material e instrumentación auxiliares

Dispensadores automáticos.  
Lector de microplacas (450 nm).

## 4. ADVERTENCIAS

- Este kit de ensayo está previsto para usarse in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Usar los equipos de protección individual previstos al trabajar con los reactivos suministrados.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados.

- Materiales de origen animal utilizadas para la elaboración de este kit se obtuvieron a partir de animales sanos y de las proteínas de bovino se obtuvieron de los países no afectados por la EEB, pero estos materiales se debe utilizar como potencialmente infecciosos.
- Todos los reactivos de origen humano usados en la preparación de los reactivos se han comprobado y han resultado negativos para la presencia de anticuerpos anti-VIH, para HbsAg y para anticuerpos anti-VHC. Sin embargo, ningún ensayo ofrece seguridad absoluta de la ausencia de VIH, VHB, VHC o de otros agentes infecciosos. Por lo tanto, los Calibradores y los Controles deben manipularse como material potencialmente infeccioso.
- Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Azida de Sodio o Proclín 300<sup>R</sup> como conservante. Evite el contacto con la piel y las mucosas.
- La Azida de Sodio, usada como conservante, puede ser tóxica si se ingiere o se absorbe a través de la piel o de los ojos; además, puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre formando azidas metálicas potencialmente explosivas. Dejar que corra gran cantidad de agua, si se usa un lavabo para eliminar los reactivos, para prevenir la formación de azidas.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
- La Solución de parada está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
- Evite la exposición de los reactivos TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.

## 5. PRECAUCIONES

- Respetar rigurosamente la secuencia de los pasos indicados en este protocolo. Los resultados aquí presentados se han obtenido utilizando los reactivos específicos que figuran en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse a una temperatura controlada de 2-8°C en sus recipientes originales. Todas las excepciones están claramente marcadas. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad cuando se almacenan y manipulan de acuerdo con las instrucciones proporcionadas.
- Antes del uso, esperar hasta que todos los componentes del kit y las muestras se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) y mezclar cuidadosamente.
- No mezclar componentes de kits de lotes distintos. Se debe observar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja y de todas las ampollas. No usar componentes después de la fecha de caducidad.
- **ATENCIÓN: se ha estudiado el reactivo conjugado para garantizar la máxima sensibilidad en la determinación y, por lo tanto, si no se usa adecuadamente, podría contaminarse por agentes externos;** se recomienda utilizar consumibles (puntas, frascos, bandejas, etc.) desechables. Para determinaciones fraccionadas, tomar la cantidad necesaria exacta de conjugando y evitar volver a introducir los posibles restos en el frasco original. Además, **para determinaciones realizadas con la ayuda de instrumentación automática y semiautomática,** se recomienda, antes de usar el conjugado, realizar una fase de limpieza de la fluidica, asegurándose de que los procedimientos de lavado, desproteinización y descontaminación resulten eficaces

para evitar la contaminación del conjugado; este procedimiento se recomienda especialmente cuando el kit se procesa con analizadores que no están dotados de puntas monouso. Para tal fin, Diametra pone a su disposición por separado un reactivo descontaminante para el lavado de las agujas.

- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que el equipo ha sido debidamente validada.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los pocillos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo.
- Para la reproducibilidad de los resultados, es importante que el tiempo de reacción sea igual para cada pocillo. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe superar los 10 minutos; si se prolongara más allá de los 10 minutos, respétese el orden de dispensación. si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada plato.
- Al añadir el sustrato TMB inicia una reacción cinética que termina al agregar la Solución de parada. Tanto el sustrato como la Solución de parada deben agregarse en la misma secuencia para evitar diferentes tiempos de reacción.
- Observar las directrices para la ejecución del control de calidad en los laboratorios clínicos al comprobar controles y/o pool de sueros.
- Observar la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No use muestras con contaminación microbiana, altamente lipémicas o hemolizadas.
- Los lectores de microplacas leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.

## 6. PROCEDIMIENTO

### 6.1. Preparación de los Calibradores (C<sub>0</sub>...C<sub>5</sub>)

El sistema de medición está calibrado en unidades relativas arbitrarias. Los Calibradores son listo para usar y tienen las siguientes concentraciones:

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

Una vez abiertos, los Calibradores permanecen estables durante 6 meses a 2-8°C.

### 6.2. Preparación de la muestra

Las matrices de elección para la determinación de los anticuerpos anti-Tg son suero o plasma humano. **Todas las muestras de suero deben prediluirse 1:100 con diluyente de muestras;** por ejemplo 10 µL de muestra pueden diluirse con 990 µL de diluyente de muestras. Los pacientes no deben necesariamente estar en ayunas y no se requiere ninguna preparación especial. Recoger la sangre mediante extracción venosa en un Vacutainer y separar el suero (tras la formación del coágulo) o el plasma de las células mediante centrifugado.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas a 2-8°C durante al menos 5 días. Para períodos de conservación más largos, hasta 6 meses, las muestras deberán congelarse a -20°C. Para evitar congelaciones y descongelaciones repetidas, las muestras deberían dividirse en alícuotas. No usar muestras contaminadas microbiológicamente, ni muestras muy lipémicas o hemolizadas.

Los controles son listo para usar.

### 6.3. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido de cada ampolla de solución de lavado tamponada concentrada (50x) con

agua destilada hasta un volumen de 1000 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:50. 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.

#### 6.4. Procedimiento

- **Esperar hasta que todos los reactivos se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) durante al menos 30 minutos.**
- Las tiras de pocillos no utilizados no deben guardar de inmediato en la bolsa desechable que contiene desecantes y almacenarse a 2-8°C.
- Para evitar la contaminación microbiana y/o química no regrese porciones de reactivos no usados en los viales originales.
- Para aumentar la precisión de los resultados de la prueba es necesario trabajar en duplicado: preparar dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), dos para cada control, dos para cada muestra, uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/ Controles	Blanco
Calibrador C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	100 µL		
Controles		100 µL	
Muestra diluida		100 µL	
Incubar 30 minutos a temperatura ambiente (22-28°C). Retirar el contenido de cada pocillo y lavar los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida			
Conjugado	100 µL	100 µL	
Incubar 30 minutos a temperatura ambiente (22-28°C). Retirar el contenido de cada pocillo y lavar los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubar 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (22-28 °C).			
Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
Agitar la microplaca con cuidado. Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente al blanco en un plazo de 5 minutos.			

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Curva de calibración

Para anti-Tg, el método de elección para el tratamiento de los resultados es un procesamiento de 4 parámetros con ejes lin-log para la densidad óptica y la concentración respectivamente. Además, se pueden usar una aproximación spline y coordenadas log-log. Sin embargo, se recomienda usar una curva Lin-Log.

En primer lugar, calcular la media de las densidades ópticas relativas a los calibradores. Usar una hoja de papel

lin-log y trazar las densidades ópticas medias de cada calibrador frente a la respectiva concentración. Dibujar la curva que mejor se aproxime a todos los puntos de calibración. Los puntos de los calibradores también pueden unirse con segmentos de línea recta. La concentración de las muestras desconocidas puede determinarse por interpolación de la curva de calibración.

Resultados típicos (se deben considerar solo como ejemplo)

La tabla que aparece a continuación muestra los resultados típicos para el ensayo Anti-Tg. Los datos deben considerarse como ejemplo y no deben usarse para el cálculo de los resultados.

CAL	DO1	DO2	media	C1	C2	media	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

## 8. VALORES DE REFERENCIA

En un estudio sobre los valores normales realizado con muestras de suero procedentes de donantes sanos se han determinado los siguientes intervalos de normalidad con el ensayo Anti-Tg:

	Anti Tg [AU/mL]
Normal	< 4
Alto	≥ 4

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

Los resultados positivos deben verificarse con relación al estado clínico del paciente. Además, cada decisión relativa a la terapia debe tomarse individualmente. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos normal y patológico de anti-Tg sérica.

### 8.1. Especificidad

Ensayos de correlación frente a un kit similar de referencia disponible en el mercado, realizados con 66 sueros (27 positivos y 39 negativos) han mostrado una especificidad del 94,9%.

### 8.2. Sensibilidad

Ensayos de correlación frente a un kit similar de referencia disponible en el mercado, realizados con 66 sueros (27 positivos y 39 negativos) han mostrado una sensibilidad del 96,3%.

### 8.3. Límite de detección

La concentración mínima de anti-Tg que puede distinguirse del Calibrador cero es de aproximadamente 0,11 AU/mL con un límite de confianza del 95%.

## 9. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

---

### BIBLIOGRAFÍA

- 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)













**Ed. 03/2012**

**DCM115-4**

**DiaMetra S.r.l. Headquater:** Via Garibaldi, 18  
20090 SEGRATE (MI) Italy  
Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595  
Fax 0039-02-2133354.

**Manufactory:** Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO (PG) Italy  
Tel. 0039-0742-24851  
Fax 0039 -0742-316197  
E-mail: info@diametra.com

<b>DiaMetra</b>	<b>Packaging Information Sheet</b>	<b>Mod. PIS000</b>
-----------------	------------------------------------	--------------------

	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 Hergestellt von ES Elaborado por FR Fabriqué par GB Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
	DE Achtung, Begleitdokumente ES Precaución, consulte los documentos adjuntos GB Caution, consult accompanying documents IT Attenzione, consultare la documentazione allegata PT Atenção,consultar os documentos de acompanhamento FR Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricacion 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 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)		DE Biogefährdung ES Riesco biológico FR Risque biologique GB Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	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		DE Chargenbezeichnung ES Código de lote FR Numero de lot GB Batch code IT Codice del lotto PT Código do lote
 $\Sigma = xx$	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		DE Inhalt ES Contenido del estuche FR Contenu du coffret GB Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Límitación de temperatura FR Limites de température de conservation GB Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue GB Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo

**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% intrasaggio 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

**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

**ERREUR CAUSES POSSIBLES / SUGGESTIONS****Aucune réaction colorimétrique de l'essai**

- non distribution du conjugué
- contamination du conjugué et/ou du substrat
- erreurs dans l'exécution du dosage (par ex., distribution accidentelle des réactifs dans le mauvais ordre ou en provenance des mauvais flacons, etc.)

**Réaction trop faible (DO trop basse)**

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop court, température d'incubation trop basse

**Réaction trop intense (DO trop élevée)**

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop long, température d'incubation trop élevée
- mauvaise qualité de l'eau utilisée pour la solution de lavage (bas degré de déionisation)
- lavages insuffisants (conjugué non entièrement éliminé)

**Valeurs inexplicablement hors plage**

- contamination des pipettes, embouts ou récipients - lavages insuffisants (conjugué non entièrement éliminé)

**CV% intra-essai élevé**

- les réactifs et/ou les bandes n'ont pas atteint la température ambiante avant usage
- le laveur de microplaques ne lave pas correctement (suggestion : nettoyer la tête du laveur)

**CV% inter-essai élevé**

- conditions d'incubation non constantes (temps ou température)
- contrôles et échantillons non distribués en même temps (avec les mêmes intervalles) (contrôler l'ordre de distribution)
- variabilité intrinsèque des opérateurs