



ANTI RECEPTEURS TSH

pour analyses de routine

Détermination quantitative des auto-anticorps contre les récepteurs de la thyrotropine (TRAb) dans le sérum humain.

IVD



LOT

Voir étiquette externe 2°C  8°C  Σ = 96 déterminations

REF 39596

UTILISATION PREVUE

Le kit ELISA auto-anticorps récepteur TSH (TRAb) est un test à usage professionnel pour la détermination quantitative des auto-anticorps spécifiques du récepteur thyrotropine dans le sérum humain.

1. SIGNIFICATION CLINIQUE

L'hyperthyroïdisme est une pathologie dans laquelle il y a une augmentation des niveaux des hormones thyroïdiennes en circulation. Dans certains cas, comme dans la maladie de Graves, ceci est causé par des auto-anticorps contre le récepteur TSH (TSHr). Les auto-anticorps miment l'effet de la TSH sur la thyroïde en provoquant une augmentation des niveaux sanguins de T3 et T4. La détermination de ces auto-anticorps (TRAb) peut être utile dans le diagnostic de la maladie et pour son traitement. Le traitement principal pour la maladie de Graves est l'utilisation de médicaments anti-thyroïdiens (propyltiouracile ou méthimazole), du I¹³¹ et la chirurgie. Le dosage des TRAb est donc utile en cours ou au terme de la thérapie.

RE

2. PRINCIPE DE LA METHODE

Dans le test ELISA TRAb, les auto-anticorps spécifiques du récepteur TSH présents dans le sérum des patients, les étalons et les contrôles réagissent avec le récepteur TSH adsorbé dans le puit. Après une incubation de 2 heures, les échantillons sont rincés en laissant les TRAb liés au récepteur TSH immobilisé. Le TSH biotinylé est ajouté dans une seconde étape d'incubation, où il interagit avec les récepteurs TSH immobilisés qui n'ont pas été bloqués par les TRAb liés du sérum du patient, étalons et contrôles. La quantité de TSH biotinylé lié au puit est donc déterminée dans une troisième étape d'incubation avec l'ajout de streptavidine-peroxydase, qui se lie spécifiquement à la biotine. L'excès non lié de streptavidine-peroxydase est ensuite rincé et l'ajout de substrat TMB entraîne une coloration bleue. La réaction est stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt qui cause un virage de la coloration du bleu au jaune. L'absorbance est lue à 450 nm avec un lecteur de plaque ELISA. Une absorbance plus basse indique la présence des TRAb dans l'échantillon car les TRAb inhibent la liaison de la TSH biotinylé au récepteur TSH adsorbé sur les puits de la plaque.

3. REACTIFS, MATERIELS ET EQUIPEMENT

3.1. Réactifs et matériels fournis dans le kit

1. Standards Récepteurs TSH 4x (flacon = 1 mL)	
STD1	REF DCE002/8507-0
STD2	REF DCE002/8508-0
STD3	REF DCE002/8509-0
STD4	REF DCE002/8510-0

2. Contrôles

- | | |
|---|-------------------|
| Contrôle Négatif | REF DCE045/8501-0 |
| Contrôle Positif | REF DCE045/8502-0 |
| 3. Biotine TSH (3 flacons) 4,5 mL | REF DCE019/8519-0 |
| 4. Tampon biotine TSH (1 flacon) 15 mL | REF DCE047/8547-0 |
| 5. Streptavidine Peroxydase (1 flacon) 0.75 mL | REF DCE041/8541-0 |
| 6. Diluant Strept. Peroxydase (1 flacon) 15 mL | REF DCE048/8548-0 |
| 7. Microplaque recouverte (1 microplaque fractionnable) | REF DCE002/8503-0 |
| 8. Tampon Start (1 flacon) 10 mL | REF DCE046-0 |
| 9. Substrat TMB (1 flacon) 15 mL | REF DCE004/8504-0 |
| 10. Solution de lavage Conc. (1 flacon) 100 mL | REF DCE006/8506-0 |
| 11. Solution d'Arrêt (1 flacon) 10 mL | REF DCE005/8505-0 |

3.2. Réactifs nécessaires non fournis dans le kit

Eau distillée.

3.3. Matériel et équipement auxiliaire

Distributeurs automatiques.
Lecteur pour microplaques (450 nm).

Remarque

Après l'ouverture, maintenir les puits non utilisés dans le paquet original (fermé avec du ruban adhésif) et dans la boîte en plastique avec le dessiccateur fourni.

Conserver à 2-8°C et utiliser dans les 6 mois.

4. PRECAUTIONS

- Ce kit est conçu uniquement pour diagnostic in vitro, à effectuer par des professionnels.
- Suivre attentivement les instructions.
- Respecter la date d'échéance présente sur les étiquettes et les stabilités pour les réactifs reconstitués.
- Les matériels d'origine humaine utilisés pour la préparation de ce kit ont été analysés et sont non réactifs aux HIV 1 et 2 et aux anticorps HCV et Hbs Ag, mais doivent quand même être traités comme potentiellement infectés.
- Les matériels d'origine animale utilisés pour la préparation de ce kit ont été obtenus sur des animaux sains et les protéines bovines ont été obtenues de pays

non affectés par l'ESB, ces matériels doivent cependant être utilisés comme potentiellement contagieux.

- Certains composants contiennent de petites quantités d'azide de sodium comme conservateur. Eviter le contact avec la peau ou les muqueuses. Ne pas ingérer.
- Eviter la formation d'azides métalliques lourds dans le lavage en rinçant les composants du kit avec beaucoup d'eau.

5. PROCEDURE

5.1. Préparation des Standards (S₁, S₂, S₃, S₄)

Les standards sont étalonnés par rapport au WHO NIBSC 90/762 et ont approximativement les concentrations suivantes:

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
IU/L	1	2	8	40

5.2. Préparation de l'échantillon

Le sérum devrait être analysé immédiatement après la séparation ou conservé en aliquote à -20°C ou à une température inférieure. Il faut éviter les cycles de congélations/décongélations ou les hautes températures de conservation. Le stockage non correct peut entraîner une perte de l'activité du TRAb.

Ne pas utiliser de sérum d'échantillons lipémiques ou très hémolytiques.

Ne pas utiliser d'échantillons de plasma pour ce kit.

Si nécessaire, porter les échantillons de sérum à température ambiante et mélanger pour atteindre l'homogénéité.

5.3. Préparation de la biotine TSH

Chaque flacon doit être reconstitué avec 4,5 mL de tampon de reconstitution.

Conserver à 2-8°C pendant 20 semaines après la reconstitution.

5.4. Préparation de la Streptavidine Peroxydase

Diluer 1 + 20 avec le diluant de la peroxydase (ex. 0,5 mL Strep Perox concentrée + 10 mL de Diluant Strep Perox). Conserver à 2-8°C pendant 4 semaines après dilution.

5.5. Préparation de la Solution de lavage

Préparer une quantité suffisante de solution de lavage en diluant la solution de lavage concentrée 1 + 9 avec de l'eau distillée ou déionisée. Par exemple, diluer 50 ml de la solution concentrée avec 450 ml d'eau distillée. La solution avant dilution doit être sans cristaux, sinon dissoudre les cristaux en chauffant à max 37 °C. La solution diluée peut être conservée à 2 - 8 °C pendant 30 jours.

5.6. Procédure

Porter les réactifs à température ambiante (18-25°C) pendant au moins 30 minutes.

Puisqu'il faut travailler en double, préparer deux puits pour chaque point de la courbe Standard (S₁-S₄), deux pour chaque échantillon et un pour le blanc.

Distribuer:

Réactifs	Standard	Echantillons	Blanc
Tampon Start	75 µL	75 µL	
Standard /Contrôles	75 µL		

Echantillons		75 µL	
Couvrir la plaque avec une pellicule plastique et incuber 120 minutes à température ambiante (18 - 25°C) en agitant à >500 tpm. En alternative, incuber sans agitation pendant au moins 180 minutes à température ambiante (18 - 25°C). Enlever le mélange de réaction, laver en ajoutant dans chaque puit 300 µL de solution de lavage diluée, enlever complètement la solution.			
Biotine TSH	100 µL	100 µL	
Couvrir la plaque avec une pellicule plastique et incuber 20 minutes à température ambiante (18 - 25°C). Enlever le mélange de réaction, laver en ajoutant dans chaque puit 300 µL de solution de lavage diluée, enlever complètement la solution.			
Strept perox	100 µL	100 µL	
Couvrir la plaque avec une pellicule plastique et incuber 20 minutes à température ambiante (18 - 25°C). Enlever le mélange de réaction, laver en ajoutant dans chaque puit 300 µL de solution de lavage diluée ; répéter le lavage 2 fois en enlevant complètement la solution.			
Substrat	100 µL	100 µL	100 µL
Couvrir la plaque et incuber 20 minutes dans l'obscurité à température ambiante (18 - 25°C).			
Solution d'Arrêt	50 µL	50 µL	50 µL
Lire l'absorbance (E) à 450 nm en mettant à zéro avec le blanc dans les 20 min après l'ajout de la solution d'arrêt.			

6. CONTROLE QUALITE

Chaque laboratoire d'analyse devrait établir ses propres plages de références normales et pathologiques pour les niveaux de TRAb.

Les valeurs reportées ci-dessus doivent donc être considérées uniquement comme indication. Il est également recommandé que chaque laboratoire teste ses propres contrôles avec les contrôles fournis dans ce kit.

7. RESULTATS

7.1. Courbe Standard

La courbe standard est établie en traçant les valeurs moyennes des DO des standards 1 - 4 et du contrôle négatif sur l'axe des ordonnées (axe-y), contre les concentrations respectives de T.R.A. sur l'axe des abscisses (axe-x).

La concentration des anticorps T.R.A. des contrôles et des échantillons inconnus est directement lue en IU/L en reportant la valeur de la DO à 450 nm sur la courbe standard.

Le kit T.R.A. peut aussi être utilisé avec Computer Assisted Analysis en utilisant un logiciel capable de tracer des courbes avec spline smoothing fit

Exemple:

Echantillon	DO (a) 450 nm	DO (b) 450 nm	DO (moyenne)	IU / L
Contrôle Nég	2.225	2.105	2.165	0.1
Standard 1	1.724	1.675	1.700	1
Standard 2	1.411	1.443	1.427	2

Standard 3	0.520	0.489	0.505	8
Standard 4	0.145	0.135	0.140	40
Contrôle Pos	1.146	1.051	1.099	2.9

Les valeurs des standards et des contrôles reportées sont seulement un exemple de courbe typique.

7.2. Valeurs de référence

anti-T.R.A.	
négatif	≤ 1.0 IU/L
Zone grise	1.0 – 1.5 IU/L
positif	> 1.5 IU/L

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres plages de références normales et pathologiques pour les niveaux d'anticorps anti-récepteur TSH dans le sérum. Les valeurs reportées ci-dessus doivent donc être considérées uniquement comme indication.

8. PARAMETRES CARACTERISTIQUES

8.1. Calibration

Le kit T.R.A. est calibré par rapport aux solutions de référence WHO NIBSC 90/672 et les concentrations d'anticorps anti-récepteur TSH sont exprimées en IU/L.

8.2. Linéarité

En considérant la nature hétérogène de la population des anticorps, leur spécificité et affinité, les valeurs théoriques attendues pour les dilutions des anticorps TRAb, pourraient dans certains cas ne pas correspondre à la concentration mesurée au cours d'un test de récupération.

8.3. Réactivité croisée

Des niveaux de TSH humaine jusqu'à 100mIU/L ne montrent pas de réactivité croisée significative.

8.4. Spécificité et Sensibilité

En utilisant un cut-off de 1,5 IU/L, le kit T.R.A. a une sensibilité de 95 % et une spécificité de 100 %, pour les patients avec maladie de Graves non traitée.

8.5. Limites de détection

La sensibilité analytique (limites de détection ou plus basse détectable, 0 ± 3 DS) est établie à 0,5 IU/L.

La sensibilité fonctionnelle est mesurée comme 20 % du CV inter-test à 0,8 IU/L.

8.6. Variation Intra et inter-test

Intra-test			Inter-test		
Echant. n°	Moyenne concentration (IU/L)	CV (%)	Echant. n°	Moyenne concentration n (IU/L)	CV (%)
1	0.6	13	5	0.2	39
2	1.4	6	6	2.8	6
3	2.8	6	7	4.1	9
4	14.0	4	8	13.7	12

9. DISPOSITIONS POUR L'ELIMINATION

Les réactifs doivent être éliminés en accord avec les lois locales.

BIBLIOGRAPHIE

- J. Bolton et al Measurement of thyroid stimulating hormone receptor autoantibodies by ELISA Clin. Chem 1999 45: 2285-2287
- K Kamijo TSH receptor antibody measurement in patients with various thyrotoxicosis and Hashimoto's thyroiditis: a comparison of two two-step assays, coated plate ELISA using porcine TSH receptor and coated tube radioassay using human recombinant TSH receptor Endocrine Journal 2003 50:113-116
- B. Rees Smith et al A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies Thyroid 2004 14: 830-835

SUGGESTIONS POUR LA RESOLUTION DES PROBLEMES /TROUBLESHOOTING

ERREURS CAUSES POSSIBLES/SUGGESTIONS

Aucune réaction colorimétrique de l'échantillon

- absence distribution du conjugué
- contamination du conjugué et/ou du substrat
- erreurs dans l'exécution de l'échantillon (ex. Distribution accidentelle des réactifs en séquence erronée ou provenant de flacons erronés, etc.)

Réaction trop faible (DO trop basses)

- conjugué non adéquat (ex. ne provenant pas du kit original)
- temps d'incubation trop bref, température d'incubation trop basse

Réaction trop intense (DO trop hautes)

- conjugué non adéquat (ex. ne provenant pas du kit original)
- temps d'incubation trop long, température d'incubation trop élevée

- mauvaise qualité de l'eau utilisée pour la solution de lavage (faible degré de déionisation)

- lavages insuffisants (conjugué non complètement enlevé)

Valeurs inexplicables hors échelle

- contamination de pipette, embouts ou récipients- lavages insuffisants (conjugué pas complètement enlevé)

CV% intra-test élevé

- réactifs et/ou strip non portés à température ambiante avant l'utilisation

- le laveur pour microplaques ne lave pas correctement (suggestion: nettoyer la tête du laveur)

CV% inter-test élevé

- conditions d'incubation non constantes (durée ou température)

- contrôles et échantillons non distribués en même temps (avec les mêmes intervalles) (contrôler la séquence de distribution)

- variabilité intrinsèque des opérateurs

Ed. 10/2009

DE*Verwendete Symbole***EL***Επεξήγηση συμβόλων***EN***Explanation of symbols***ES***Explicación de los símbolos***FR***Explication des symboles***IT***Spiegazione dei simboli***PT***Significado dos símbolos*

	DE In-vitro-Diagnostikum EL In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή EN In vitro diagnostic medical device ES Para diagnóstico in vitro FR Dispositif médical de diagnostic in vitro IT Dispositivo di diagnostica in vitro PT Dispositivos médicos para diagnóstico in vitro		DE Hergestellt von EL Κατασκευαστής EN Manufacturer ES Fabricado por FR Fabriqué par IT Fabbrikante PT Produzido por
REF	DE Bestellnummer EL Αριθμός καταλόγου EN Catalogue number ES Número de catálogo FR Références du catalogue IT Numero di catalogo PT Número do catálogo	 yyyy-mm	DE Herstellungsdatum EL Ημερομηνία κατασκευής EN Date of manufacture ES Fecha de producción FR Date de fabrication IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis (letzter Tag des Monats) EL Χρήση έως (η τελευταία ημέρα του μήνα) EN Use by (last day of the month) ES Fecha de caducidad (usar antes del último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar até (antes do último dia do mês)		DE Biogefährdung EL Βιολογικός κίνδυνος EN Biological risk ES Riesgo biológico FR Risque biologique IT Rischio biologico PT Risco biológico
 	DE Gebrauchsanweisung beachten EL Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης EN Read instructions for use ES Consultar las instrucciones de uso FR Consulter le mode d'emploi IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung EL Αριθμός παρτίδας EN Batch code ES Código de lote FR Numéro de lot IT Codice del lotto PT Lote
 Σ = xx	DE Ausreichend für "n" Tests EL Το περιεχόμενο επαρκεί για "n" δοκιμασίες EN Contents for "n" tests ES Contenido suficiente para "n" ensayos FR Contenu suffisant pour "n" tests IT Contenuto sufficiente per "n" saggi PT Conteúdo suficiente para "n" testes		DE Inhalt EL Περιεχόμενο του κιτ EN Contents of kit ES Contenido del kit FR Contenu du coffret IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich EL Όρια θερμοκρασίας EN Temperature interval ES Temperatura de conservación FR Limites de température de conservation IT Limiti di temperatura PT Intervalo de temperatura		



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

Manufacturing site:
Via Giustozzi 35/35a
Z.I Paciana
06034 FOLIGNO (PG) ITALY.
Tel. 0039-0762-24864
Fax 0039-0762-316197
E-mail: info@diametra.com

UK
UNITED KINGDOM
Distributed by
A. Menarini Diagnostics Ltd
405 Wharfedale Road
Winnersh - Wokingham
Berkshire RG41 5RA

EL
Διανέμεται στην
ΕΛΛΑΔΑ από την
A. Menarini Diagnostics S.A.
575, Vouliagmenis Ave.
16451 Argyroupolis
Attiki

ES
ESPAÑA
Distribuido por
A. Menarini Diagnostics S.A.
Avenida del Maresme, 120
08918 Badalona
Barcelona

DE
DEUTSCHLAND
Vertrieb durch
A. Menarini Diagnostics
Eine Division der Berlin-
Chemie AG
Glienicke Weg 125
12489 Berlin

AT
ÖSTEREICH
Vertrieb durch
A. Menarini Ges.m.b.H
Pottendorfer Straße, 25/27
A - 11 20 Wien

FR
FRANCE
Distribué par
A. Menarini Diagnostics
France S.A.R.L.
3-5, Rue du Jura
BP 70511
94633 Rungis Cedex

BE
BELGIQUE
Distribué par
A. Menarini Diagnostics
Benelux S.A./N.V.
Belgicastraat, 4
1930 Zaventem

IT
ITALIA
Distribuito da
A. Menarini Diagnostics
Via Lungo l'Ema, 7
50012 Bagno a Ripoli
Firenze

PT
PORTUGAL
Distribuido por
A. Menarini Diagnósticos, Lda
Quinta da Fonte
Edifício D.Manuel I, 2ºB
2770-203 Paço de Arcos

NL
NEDERLAND
Distributed by
A. Menarini Diagnostics
Benelux N.V.
De Haak, 8
5555 XK Valkenswaard