



SELco® TRAb MODE D'EMPLOI












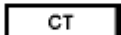





100 Tests
REF 1040



Test de radioliation pour le dosage des auto anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb) dans le sérum humain.

 **MEDIPAN GMBH**
Ludwig-Erhard-Ring 3
15827 Dahlewitz / Berlin (Germany)
...
Phone: +49(0)33 708 / 44 17 - 0
Fax: +49(0)33 708 / 44 17 - 25

info@medipan.de
www.medipan.com

IFU symbols radioactive assays MEDIPAN GMBH			
 IVD	Dispositif de diagnostic in vitro	 CE	Déclaration de conformité CE
 REF	Référence catalogue	 LOT	Numéro de lot
	Date de péremption		Fabriqué par
	Se référer aux documents		Consulter le mode d'emploi
	A stocker à		Risque biologique
	Composant radioactif		
 CT	Tubes coatés	 TRAC	Traceur
 START	Tampon de démarrage	 WASHB	Tampon de lavage
 CAL	Standards	 CONTROL	Contrôle sérum

INTRODUCTION

SELco TRAb est destiné à la détermination quantitative des auto anticorps anti-récepteur de la TSH dans le serum humain.

La majorité des anticorps anti-récepteur de la TSH imite l'action de la TSH sur les cellules thyroïdiennes et augmente ainsi les taux sanguins de T3 et T4.

Du fait de l'absence du système de rétrocontrôle négatif sur ces anticorps, la stimulation de la thyroïde peut entraîner la maladie de Basedow.

Par conséquent, la détermination quantitative des anticorps anti-récepteur de la TSH permet le diagnostic de l'hyperthyroïdie ainsi que le suivi des patients atteints de la maladie de Basedow avant et après le traitement par des médicaments anti-thyroïdiens, par la ¹³¹I-radioiodine ou par la chirurgie.

Les femmes enceintes atteintes de la maladie de Basedow peuvent transférer leurs auto anticorps anti-TSH au fœtus. Plus la concentration de TRAb de la mère est importante plus le risque de développer la maladie de Basedow et de présenter une hyperthyroïdie congénitale chez le foetus est grand.

PRINCIPE DU DOSAGE

SELco TRAb est destiné à la détermination quantitative des auto anticorps anti-récepteur de la TSH.

SELco TRAb est un dosage radio compétitif de récepteurs. Pendant la première étape d'incubation, les auto anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb) des échantillons du patient ou des standards se fixent aux récepteurs de la TSH immobilisés sur la phase solide des tubes coatés. Après deux étapes de lavage, les TRAb sont détectés par leur capacité à inhiber la liaison du TSH marqué (¹²⁵I-TSH) aux récepteurs du tube coaté (deuxième incubation).

L'absence des auto anticorps anti-récepteur de la TSH a pour conséquence la saturation complète des récepteurs par le TSH marqué. Ainsi, plus les auto anticorps anti-récepteur de la TSH sont présents dans l'échantillon et moins le ¹²⁵I-TSH se fixera sur les récepteurs TSH immobilisés sur la phase solide du tube. L'excès de ¹²⁵I-TSH sera éliminé par décantation des tubes.

Suite à deux autres lavages, la radioactivité est mesurée en faisant la moyenne des mesures. Le signal radioactif est inversement proportionnel à la concentration des auto anticorps anti-récepteur de la TSH dans les échantillons. Les concentrations sont déterminées grâce à la courbe d'étalonnage obtenue par les standards.

ECHANTILLONS DES PATIENTS

Prélèvement et conservation des échantillons

Le sang est prélevé par ponction veineuse. Après coagulation, le sérum est récupéré par centrifugation.

Le plasma ne peut pas être utilisé avec le kit SELco TRAb. Il en va de même pour les échantillons hémolysés ou lipidiques.


Les échantillons peuvent être conservés à 2 – 8 °C jusqu'à 3 jours. Pour un stockage prolongé, il est préférable de les stocker à –20 °C.

Eviter les congélations/décongélations répétées. Dans le cas d'utilisations multiples, aliquoter les échantillons et les stocker à –20 °C.

Laisser les échantillons atteindre la température ambiante. Prendre soin d'agiter les échantillons de sérum pour obtenir une certaine homogénéité.

A noter que le sérum ne doit contenir aucune particule. Centrifuger si nécessaire et n'utiliser que le surnageant.

Composition du kit pour 100 dosages

D	Traceur (125I-TSH)		1 flacon, 11 ml de coloration rouge
	< 0,180 MBq		Prêt à l'emploi
	TRAC		
B	Tampon de lavage Concentré pour l'obtention de 500 ml de solution de lavage. Diluer avec de l'eau distillée jusqu'à obtenir un volume final de 500 ml avant utilisation.		1 flacon, 50 ml
	WASHB		
A	Tubes coâtés Coating : récepteur porcin à la TSH		5 x 20 tubes prêts à l'emploi
	CT		
0 - 4	Standards conc : 0; 1; 2; 8; 40 IU/L		5 Flacons : 0,7 ml chacun, prêt à l'emploi
	CAL		

C	Contrôle Positif (sérum humain) conc. : se reporter à la fiche jointe	1 flacon : 0,7 ml, prêt à l'emploi
---	---	---------------------------------------

CONTROL

H	Tampon de démarrage	1 flacon : 10 ml de coloration jaune prêt à l'emploi
---	---------------------	--

START

Format et conservation

SELco TRAb a été conçu pour 100 déterminations. Il permet l'analyse de 44 échantillons sériques inconnus, la réalisation de la gamme d'étalonnage et la détermination des contrôles en double.

La date de validité de chaque réactif est indiquée sur l'étiquette correspondante et rapportée sur l'étiquette du coffret.

A réception du coffret, tous les composants du SELco TRAb doivent être conservés à 2 – 8 °C, de préférence dans son emballage d'origine.

Préparation avant l'emploi

Porter tous les composants du kit à température du laboratoire au moins 30 minutes avant utilisation pour le dosage.

- A Tubes coatés :
Tout tube coaté non utilisé doit être conservé dans l'emballage d'origine (fermé à l'aide de l'adhésif).
- B Tampon de lavage :
Diluer le tampon de lavage concentré (B) dans un volume final de 500 ml avec de l'eau distillée avant toute utilisation.

Tous les réactifs suivants sont prêts à l'utilisation et doivent être pipetés à température du laboratoire.

- D Traceur
- H Tampon de démarrage
- 0 – 4 Standards
- C Sérum de contrôle

PROTOCOLE DE DOSAGE

Les tests en doublet sont fortement recommandés.

1. Numéroté les tubes de façon appropriée.
2. Pipeter dans chacun des tubes 50 μ L de tampon de démarrage et distribuer dans les tubes correspondants au schéma
 - 100 μ l de standards 0 – 4 ou
 - 100 μ l sérum de contrôle ou
 - 100 μ l des échantillons sériques des patients
3. Incuber 2 heures à température du laboratoire sur un agitateur (> 250 rpm).
4. Pipeter 1 ml de la solution de lavage (Dilué à partir de B) dans chacun des tubes. Pour éliminer tout liquide résiduel retourner les tubes plusieurs fois (5 minutes) et éliminer les gouttelettes résiduelles sur du papier absorbant en tapotant légèrement.

Répéter cette étape de lavage.
5. Ajouter 100 μ l de traceur (D) dans chaque tube.
6. Incuber 60 minutes (à température ambiante) sur un agitateur (> 250 rpm).
7. Ajouter 1 ml de tampon de lavage (dilué à partir de B) dans chacun des tubes. Pour éliminer tout liquide résiduel tourner les tubes plusieurs fois (5 minutes) et éliminer les gouttelettes résiduelles sur du papier absorbant en tapotant légèrement.

Répéter cette étape de lavage.
8. Mesurer la radioactivité de tous les tubes. Temps de comptage recommandé : 1 minute.

EXPLOITATION DES DONNEES

Pour de meilleurs résultats nous recommandons d'utiliser un papier lin/log.

La courbe d'étalonnage est établie en reportant les valeurs moyennes en cpm des standards 0 – 4 en ordonnée (axe y, échelle logarithmique ou linéaire) en fonction des valeurs respectives des concentrations auto anticorps anti-récepteur de la TSH en abscisse (axe x, échelle logarithmique).

Les concentrations des auto anticorps anti-récepteur de la TSH du contrôle et des échantillons inconnus sont déterminées directement en IU/L à partir de leur valeur respective en cpm.

SELco TRAb peut être interprété à l'aide d'un logiciel adapté utilisant un mode de lissage compatible avec les dosages de type RIA.

Exemple de courbe d'étalonnage

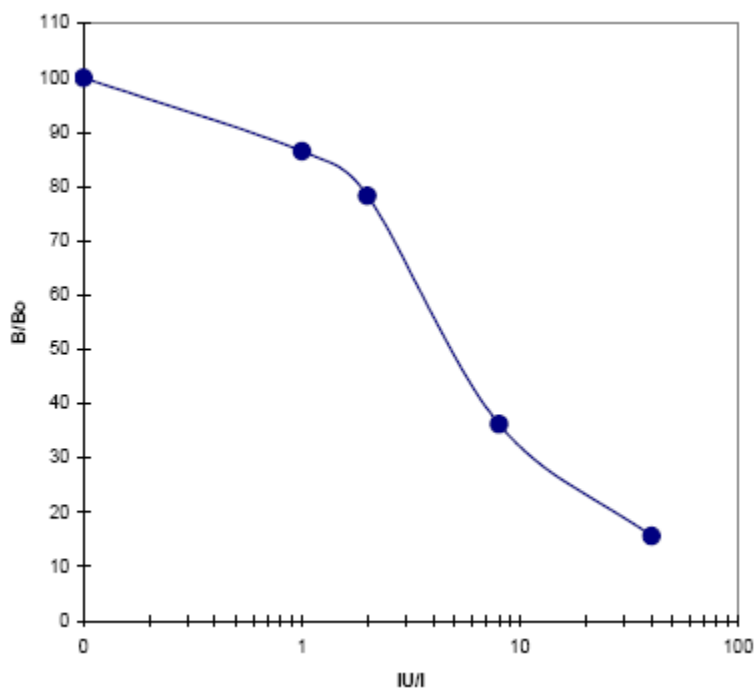
(approximativement 4 semaines avant la date d'expiration)



A ne pas utiliser lors des tests !

tubes	cpm (a)	cpm (b)	cpm moy.	B ₀ /T (%)	B/B ₀ (%)	IU/L
Radioactivité totale T	59075	59308	59192		---	---
Standard 0	7396	7141	7269	12,2	100	0
Standard 1	6321	6263	6292		86,5	1
Standard 2	5800	5579	5690		78,3	2
Standard 3	2689	2574	2632		36,2	8
Standard 4	1151	1115	1133		15,6	40
Contrôle	---	---	---	---		---
Patient 1	3666	3463	3566		49,0	5,3

Courbe d'étalonnage



VALEURS DE REFERENCE

SELco TRAb	
Négatif	< 1 IU/L
Zone grise	1 – 1,5 IU/L
Positif	> 1,5 IU/L

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs normales et pathologiques. De ce fait, les valeurs ci-dessus sont données uniquement à titre indicatif.

Les patients sains doivent être négatifs en utilisant le kit SELco TRAb. Dans la maladie de Basedow les valeurs des auto anticorps anti-récepteur de la TSH sont positives dans 70 à 85 % des cas, tandis que le cas d'hyperthyroïdie due à l'autonomie thyroïdienne les valeurs doivent être négatives avec le kit.

DONNEES ANALYTIQUES

Parallélisme des standards et des échantillons sériques

Les échantillons peuvent être dilués dans du sérum ne contenant pas d'auto anticorps anti-récepteur de la TSH en fonction des valeurs théoriques attendues avec SELco TRAb. Toutefois, en raison de la nature hétérogène de la population d'anticorps dans le sérum

humain et au vu de la spécificité et la sensibilité des épitopes des anticorps, les résultats obtenus peuvent ne pas correspondre aux valeurs théoriques attendues.

Le point d'interception de 50%

Il représente la concentration pour laquelle il y a 50% de fixation spécifique et est souvent obtenu pour des concentrations entre 5-6 IU/L.

Calibration

SELco TRAb est calibré selon la WHO référence standard 90/672. Les résultats sont exprimés dans les unités internationales (IU/L).

Spécificité

Des taux de TSH humaines allant jusqu'à 100 mU/L n'ont montré aucune réaction croisée avec le kit de SELco TRAb.

Sensibilité (limite de détection)

La définition la plus appropriée et statistiquement acceptable de la concentration minimale détectable de tout dosage est à présent la sensibilité fonctionnelle du dosage.

La sensibilité fonctionnelle représente généralement la concentration la plus faible pour laquelle la répétabilité (précision intra-essai) est de 10% et la reproductibilité (précision inter-essai) est de 20%. Dans des conditions correctes d'utilisation du SELco TRAb, la valeur de sensibilité se situe à 1,0 IU/L.

En conséquence, les valeurs de SELco TRAb inférieures à ce seuil ne répondent pas aux critères statistiques de fiabilité définis par les bonnes pratiques de laboratoire, et ne peuvent pas être distinguées du zéro avec une précision statistique suffisante.

Les concentrations du SELco TRAb supérieures à 1,0 IU/L sont considérées comme tout à fait valides.

Intra-essai			Inter-essai		
Echantillon n°	Concentration moyenne (IU/L)	CV (%)	Echantillon n°	Concentration moyenne (IU/L)	CV (%)
1	1	10	5	2	8
2	5	7	6	4	7
3	10	6	7	6	5
4	18	9	8	8	6

Limites de la méthode




Aucun diagnostic ne doit être basé uniquement sur les résultats d'une méthode de diagnostic *in vitro*.

PROTOCOLE RESUME

1	Numéroter les tubes	Standards 0 - 4	C	Patient 1 etc.	T
2	Pipeter Tampon de démarrage Standards 0 – 4 Sérum de contrôle Sérum Patient 1 etc.	50 µl 100 µl --- ---	50 µl 100 µl --- ---	50 µl 100 µl --- ---	
3	Incubation	2 heures à température du laboratoire avec agitation (> 250 rpm)			
4	Pipeter Tampon de démarrage (Dilué à partir de B) Décantier le surnageant Répéter l'étape de lavage	1 ml	1 ml	1 ml	
		Laisser les tubes retournés pendant 5 minutes			
5	Pipeter le traceur	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
6	Incubation	1 heure à température du laboratoire avec agitation (> 250 rpm)			
7	Pipeter Tampon de démarrage (Dilué à partir de B) Décantier le surnageant Répéter l'étape de lavage	1 ml	1 ml	1 ml	
		Laisser les tubes retournés pendant 5 minutes			
8	Mesurer la radioactivité	Temps de comptage recommandé : 1 minute			

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Ce coffret est destiné uniquement à un usage *in vitro*. Suivre attentivement les instructions d'utilisation.
- Les dates d'expiration sur les différentes étiquettes sont à suivre.
- Ne pas utiliser ou mélanger des réactifs de différents lots.
- Ne pas utiliser des réactifs d'autres fabricants.
- Eviter les temps morts durant la distribution des réactifs.

- Tous les réactifs doivent être stockés à 2 – 8 °C dans l’emballage d’origine avant toute utilisation.
-  • Certains des réactifs contiennent de faible quantité d’azide de sodium (< 0,1%). Ils ne doivent pas être avalés ou mis en contact avec la peau ou les muqueuses.
-  • Les produits d’origine humaine ont subi un dépistage négatif vis-à-vis des anticorps anti-VIH, anti-VHC et de l’antigène HBS. Toutefois, aucun test de laboratoire ne peut garantir l’absence de ces agents viraux. Les réactifs comme les échantillons doivent donc être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.
-  • Les réactifs radioactifs ne peuvent être vendus qu’à des personnes habilitées à manipuler des substances radioactives, en respectant les règles de base de protection contre les rayonnements ionisants :
 - Ne pas fumer, manger ou boire lors de la manipulation de produits radioactifs.
 - Toujours utiliser des gants de protection.
 - Ne jamais pipeter les solutions radioactives avec la bouche.
 - Chaque contamination ou perte de substance radioactive se fera en accord avec les réglementations en vigueur.
 - Nettoyer rapidement les substances radioactives renversées et bien laver la surface contaminée avec un décontaminant.