

CHORUS

TRAb

REF 86112



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

	Capitolo Section Capítulo Chapitre Capítulo Kapitola Κεφάλαιο Capitol
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Alterações introduzidas na revisão atual Změny zavedené v aktuální revizi Αλλαγές που εισάγονται στην τρέχουσα αναθεώρηση Modificări introduse în actuala revizuire	11 – 17



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS TRAb

Per la determinazione quantitativa degli anticorpi anti-recettore del TSH

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa degli anticorpi anti-recettore del TSH nel siero umano con dispositivo monouso applicato allo strumento Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Gli anticorpi anti-recettore del TSH sono immunoglobuline IgG che, legandosi al recettore della tireotropina (*Thyroid-stimulating hormone receptor* TSHR), ne provocano la stimolazione o l'inibizione. Il legame che si crea fra TRAb e il recettore del TSH impedisce al TSH endogeno di svolgere la sua funzione fisiologica. Il dosaggio degli anticorpi anti-recettore del TSH, con metodiche altamente sensibili, assume importanza per la diagnosi della Malattia di Graves. La famiglia dei TRAb si può dividere in due categorie: TRAb che legandosi al TSHR mimano l'azione biologica del TSH, ovvero la produzione di ormoni tiroidei. Questi auto-anticorpi sono presenti nella maggior parte dei pazienti (TSAb). TRAb che legandosi al TSHR lo bloccano, il risultato che ne consegue è l'assenza di produzione di ormoni tiroidei (TBAbs). Il motivo per cui il recettore del TSH si comporta in due modi, stimolando o inibendo la produzione di T3 e T4, è dovuto alla sua particolare struttura: questo recettore è un polipeptide di 764 AA, costituito da tre porzioni quali extracellulare, transmembrana e intracellulare. Nella porzione extracellulare è presente il sito di legame del TSH e quindi dei TRAb (TSAb e TBAbs). Le regioni che sono riconosciute come epitopi dai TRAb risultano essere molto vicine, tanto che alcuni aminoacidi sembrano essere condivisi. Questa scoperta è stata possibile grazie all'isolamento dell'auto-anticorpo monoclonale umano e della sua espansione su modello animale: topo e ratto. Sono stati isolati diversi anticorpi monoclonali (MAbs), fra cui i più importanti: il Mabs M22 stimolante e il Mabs 5C9 inibente.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus TRAb è pronto per l'uso per il rilevamento di autoanticorpi anti-recettori del TSH (TRAb) negli strumenti Chorus TRIO versione 4.0.6 [65] e seguenti. Il test si basa su un metodo ELISA competitivo indiretto in due fasi. Gli autoanticorpi presenti nel siero e successivamente l'anticorpo monoclonale M22 biotinilato competono con il legame del recettore TSH (antigene ricombinante assorbito nella fase solida).

L'anticorpo M22 biotinilato lega la streptavidina perossidasi in una seconda fase: l'aggiunta del substrato specifico, TMB (tetrametilbenzidina), causerà lo sviluppo di un colore blu. Successivamente il blu diventa giallo, aggiungendo acido

solfonico che blocca la reazione enzimatica; la colorazione è inversamente proporzionale alla concentrazione di autoanticorpi TRAb presenti nel campione.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test nello strumento Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in U/L.

4. PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico in vitro

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test marcati CE sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi

che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.

4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

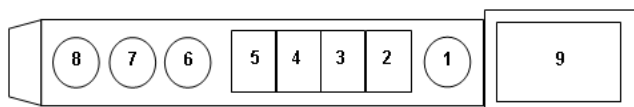
5. Controllare che lo strumento Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 9: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 8: CONIUGATO

Contenuto: anticorpo monoclonale M22 anti-TRAb marcato con Biotina, in soluzione proteica contenente conservante.

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con recettore del TSH.

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 5: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente tensioattivo e conservante.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8).

Posizione 3: SOLUZIONE BLOCCANTE

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 2: STREPTAVIDINA-POD

Contenuto: Streptavidina coniugata con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.350 ml

Contenuto: Soluzione proteica contenente conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.650 ml

Contenuto: Soluzione Proteica contenente conservante.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Strumento Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	4 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	4 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	4 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 7 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Evitare ripetuti scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 100 µl di siero non diluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus TRIO fornisce il risultato in U/L calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

Il test sul siero in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è ≥ 0.4 U/L

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.4 U/L

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Data anche la nota possibilità di mancata correlazione tra metodi nella determinazione del Trab, il test, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica. Il risultato del test, deve essere, quindi, valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 0.40-30.0 U/L

Per campioni > 30 U/L ripetere il test prediluendo il campione in soluzione fisiologica. **NON UTILIZZARE** Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607).

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I valori attesi nella popolazione normale, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, erano compresi fra 0.0 e 0.24 U/L.

14. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni (1 Negativo e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (99 IU/ml)
Bilirubina (0.2 mg/ml)
Emoglobina (2.4 mg/ml)

La presenza nel siero in esame di sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 176 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

Correlazione	r	95%CI
Pearson	0.97	0.96-0.98
Spearman	0.91	0.88-0.93

Il grado di correlazione tra i due metodi risulta essere molto alto.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (U/L)	CV%	Media (U/L)	CV%
1	0.5	14.0	1.1	13.6
2	2.0	11.5	3.1	6.8
3	10.8	10.2	8.1	8.1
4	26.9	1.4	15.0	11.0

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (U/L)	CV%	Media (U/L)	CV%
1	2.3	13.0	1.1	13.6
2	7.6	12.9	3.1	14.2
3	14.4	10.8	7.9	6.6
4	-	-	14.2	14.1

17. BIBLIOGRAFIA

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. Autoimmun Rev. 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. 2012 Dec;12(2):107-13.
3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Jun;98(6):2247-55.
4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. Ann Lab Med. 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. Thyroid. 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? The Netherlands Journal of Medicine (2020), 78(2):55-63

7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS TRAb

For the quantitative determination of antibodies anti-TSH receptor

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the quantitative determination of antibodies anti-TSH receptor in human serum, using a disposable device applied on the Chorus TRIO instrument.

2. INTRODUCTION

Anti-TSH receptor antibodies are IgG immunoglobulins which, by binding to the thyrotropin receptor (Thyroid-stimulating hormone receptor TSHR), cause its stimulation or inhibition. The link created between TRAb and the TSH receptor prevents endogenous TSH from carrying out its physiological function. The dosage of anti-TSH receptor antibodies, with highly sensitive methods, assumes importance for the diagnosis of Graves' disease. The TRAb family can be divided into two categories: TRAb which by binding to TSHR mimic the biological action of TSH, or the production of thyroid hormones. These autoantibodies are present in most patients (TSAb). TRAb which by binding to TSHR block it, the resulting result is the absence of thyroid hormone production (TBAb). The reason why the TSH receptor behaves in two ways, stimulating or inhibiting the production of T3 and T4, is due to its particular structure.

The receptor is a 764 AA polypeptide, consisting of three portions such as extracellular, transmembrane and intracellular. In the extracellular portion there is the binding site of TSH and therefore of TRAb (TSAb and TBAb). The regions that are recognized as epitopes by TRAb appear to be very close, so much so that some amino acids appear to be shared. This discovery was possible thanks to the isolation of the human monoclonal autoantibody and its expansion on an animal model: mouse and rat. Several monoclonal antibodies (MAbs) have been isolated, including the most important: the stimulating Mabs M22 and the inhibiting Mabs 5C9.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus TRAb device is ready to use for the detection of TSH receptor autoantibodies (TRAb) in Chorus TRIO instruments version 4.0.6 [65] and later. The test is based on an indirect competitive two-step ELISA method. The autoantibodies present in the serum and subsequently the biotinylated M22 monoclonal antibody compete with the binding of the TSH receptor (recombinant antigen absorbed in the solid phase).

disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy
Clin Chem. 2009 Jan;55(1):183-6.

The biotinylated M22 antibody binds streptavidin peroxidase in a second step: adding the specific substrate, TMB (tetramethylbenzidine), will cause the development of a blue

color. Subsequently the blue becomes yellow, adding sulfuric acid which blocks the enzymatic reaction; staining is inversely proportional to the concentration of TRAb autoantibodies present in the sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test in the Chorus TRIO instrument.

The results are expressed in U/L.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response by CE marked methods for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling reagents and samples.

Waste disposal: serum samples, calibrators and strips, once used, must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30-minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**

2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged. Do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use and the Instrument Operating Manual must be carefully followed.

The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Check that the Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 9: Space for application of bar code label

Position 8: CONJUGATE

Contents: M22 anti-TRAb monoclonal antibody labeled with Biotin, in protein solution containing preservative.

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with TSH receptor

Position 6: MICROPLATE WELL

Uncoated

Position 5: SAMPLE DILUENT

Contents: saline protein solution containing surfactant and preservative

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 2: STREPTAVIDIN-POD

Contents: Streptavidin conjugated with horseradish peroxidase, in phosphate buffer solution containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

Position 1: EMPTY WELL

In which the sample is transferred.

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and **seal** by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.350 ml

Contents: Protein solution containing preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.650 ml

Contents: Protein solution containing preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the control serum (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	4 weeks at 2/8°C
CALIBRATOR	4 weeks at 2/8°C
POSITIVE CONTROL	4 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

Possible consequences, in case of use of other biological liquids, are not known.

The fresh serum may be stored for 7 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

Avoid repeated freezing and thawing.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers.

Defrosted samples must be shaken carefully before use.

Heat-inactivation can rise to erroneous results. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 100 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the control serum to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the instrument Operating Manual. If the instrument signals that the control serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

If the result of the control serum continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus TRIO instrument expresses the result in U/L calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

The test on the examined serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is ≥ 0.4 U/L
NEGATIVE: when the result is < 0.4 U/L

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient. Due to the known possibility of lack of methods' correlation in the Trab determination, the test cannot be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 0.40-30.0 U/L

For samples > 30 U/L repeat the test after diluting the sample in physiological solution. **DO NOT USE** Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, were between 0.0 and 0.24 U/L.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples (1 Negative and 2 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid factor (99 IU/ml)

Bilirubin (0.2 mg/ml)
Hemoglobin (2.4 mg/ml)

The presence in the serum sample of the interfering substances described above does not affect the test result.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 176 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

Correlation	r	95%CI
Pearson	0.97	0.96-0.98
Spearman	0.91	0.88-0.93

The correlation between the two methods is very high.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (U/L)	CV%	Mean (U/L)	CV%
1	0.5	14.0	1.1	13.6
2	2.0	11.5	3.1	6.8
3	10.8	10.2	8.1	8.1
4	26.9	1.4	15.0	11.0

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (U/L)	CV%	Mean (U/L)	CV%
1	2.3	13.0	1.1	13.6
2	7.6	12.9	3.1	14.2
3	14.4	10.8	7.9	6.6
4	-	-	14.2	14.1

17. REFERENCES

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. *Autoimmun Rev.* 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. *Systematic review and meta-analysis.* *Autoimmun Rev.* 2012 Dec;12(2):107-13.
3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jun;98(6):2247-55.
4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Ann Lab Med.* 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. *Thyroid.* 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? *The Netherlands Journal of Medicine* (2020), 78(2):55-63
7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy *Clin Chem.* 2009 Jan;55(1):183-6.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS TRAb

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos anti receptor de TSH

Solo para uso diagnóstico in vitro

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de anticuerpos anti receptor de TSH en suero humano con dispositivo desechable aplicado al equipo Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos anti receptor de TSH son inmunoglobulinas IgG que, al unirse al receptor de tirotropina (*Thyroid-stimulating hormone receptor* TSHR), causan su estimulación o inhibición. La unión que se crea entre el TRAb y el receptor de TSH impide que la TSH endógena realice su función fisiológica. La dosificación de los anticuerpos anti receptor de TSH, utilizando métodos altamente sensibles, es importante para el diagnóstico de la enfermedad de Graves. La familia de los TRAb se puede dividir en dos categorías: TRAb que al unirse a la TSHR imitan la acción biológica de la TSH, es decir, la producción de hormonas tiroideas. Estos autoanticuerpos están presentes en la mayoría de los pacientes (TSAb). TRAb que al unirse a la TSHR la bloquea, el resultado es la ausencia de producción de hormona tiroidea (TBAAb). La razón por la que el receptor de la TSH se comporta de dos maneras, estimulando o inhibiendo la producción de T3 y T4, se debe a su estructura especial: este receptor es un polipéptido de 764 AA, que consta de tres porciones (extracelular, transmembrana e intracelular). En la porción extracelular está presente el sitio de unión del TSH y, por lo tanto, de los TRAb (TSAb y TBAAb). Las regiones reconocidas como epítomos por el TRAb están tan cerca entre sí que algunos aminoácidos parecen ser compartidos. Este descubrimiento fue posible gracias al aislamiento del autoanticuerpo monoclonal humano y de su expansión en el modelo animal: ratón y rata. Se han aislado varios anticuerpos monoclonales (MAbs), los más importantes de los cuales son el Mabs M22 estimulante y el Mabs 5C9 inhibidor.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus TRAb está listo para ser utilizado en la detección de autoanticuerpos anti receptores de TSH (TRAb) en los equipos Chorus TRIO versión 4.0.6 [65] y siguientes. La prueba se basa en un método ELISA competitivo indirecto de dos etapas. Los autoanticuerpos presentes en el suero y, posteriormente, el anticuerpo monoclonal biotinilado M22 compiten con la unión del receptor de la TSH (antígeno recombinante absorbido en la fase sólida).

El anticuerpo biotinilado M22 se une a la estreptavidina peroxidasa en una segunda fase: la adición del sustrato específico, TMB (tetrametilbencidina), dará lugar a un color azul. Luego el azul se vuelve amarillo, añadiendo ácido sulfúrico que bloquea la reacción enzimática; el color que se desarrolla es inversamente proporcional a la concentración de autoanticuerpos TRAb presentes en la muestra.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos necesarios para realizar la prueba en el equipo Chorus TRIO.

Los resultados se expresan en U/L.

4. PRECAUCIONES

Solo para uso diagnóstico in vitro

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en pruebas con el marcado CE para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y, por consiguiente, deben desecharse conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Advertencias para la seguridad personal

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para limpiar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Una sola exposición a la solución de hipoclorito de sodio al 1 % de 30 minutos de duración debería bastar para garantizar una desinfección eficaz.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si hay ácido, no deberá utilizarse hipoclorito de sodio hasta que se haya secado la zona. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames accidentales, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) y usarlos en 60 minutos.

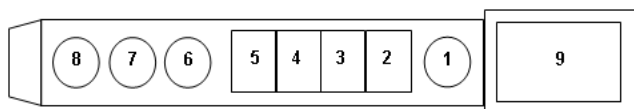
1. **Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de Diesse
[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/)
5. Comprobar que el equipo Chorus TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado a la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 9: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 8: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpo monoclonal anti-TRAb M22 marcado con Biotina, en solución proteínica con conservante.

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con el receptor de TSH.

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 5: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución proteica salina que contiene tensioactivo y conservante.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: 0,26 mg/ml de tetrametilbencidina y H₂O₂ al 0,01 % estabilizados en 0,05 mol/l de tampón citrato (pH 3,8).

Posición 3: SOLUCIÓN BLOQUEANTE

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M

Posición 2: ESTREPTAVIDINA-POD

Contenido: Estreptavidina conjugada con peroxidasa, en solución tampón fosfato con fenol al 0,05 % y Bronidox al 0,02 %.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente,

abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,350 ml

Contenido: Solución proteica que contiene conservante.

Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,650 ml

Contenido: Solución proteica que contiene conservante.

Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF.** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF.** 83604 - 83608
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio al 5%
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el suero de control (ver capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad aparece en cada componente y en la etiqueta del exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren o preparan:

DISPOSITIVOS	4 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	4 semanas a 2/8°C
CONTROL POSITIVO	4 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 7 días; para conservaciones más largas congelar a -20 °C.

Evitar descongelaciones repetidas.

Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La inactivación por calor puede conducir a resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Dispensar 100 µl de suero sin diluir que se va a analizar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo; utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.
4. Introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual de Instrucciones del equipo.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario volver a realizar la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, ponerse en contacto con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo Chorus TRIO calcula el resultado en función de un gráfico por lotes guardado en su memoria y proporciona el resultado en U/L.

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es $\geq 0,4$ U/L

NEGATIVO: cuando el resultado es $< 0,4$ U/L

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del paciente.

Ante la posibilidad conocida de falta de correlación entre métodos en la determinación del TRAb, esta prueba no debe ser la única para determinar un diagnóstico clínico. Por tanto, el resultado de la prueba debe ser evaluado junto con los datos clínicos del paciente y otros exámenes diagnósticos.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 0,40-30,0 U/L

Para las muestras > 30 U/L repetir la prueba diluyéndolas previamente en suero fisiológico. **NO UTILIZAR** Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607).

13. INTERVALOS DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 0,0 y 0,24 U/L.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Fueron analizadas 3 muestras (1 Negativa y 2 Positivas) a las que se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (99 IU/ml)

Bilirrubina (0,2 mg/ml)

Hemoglobina (2,4 mg/ml)

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero no altera el resultado de la prueba.

15. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 176 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

Correlación	r	95% CI
Pearson	0,97	0,96-0,98
Spearman	0,91	0,88-0,93

El grado de correlación entre ambos métodos es muy alto.

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (U/L)	CV %	Media (U/L)	CV %
1	0,5	14,0	1,1	13,6
2	2,0	11,5	3,1	6,8
3	10,8	10,2	8,1	8,1
4	26,9	1,4	15,0	11,0

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (U/L)	CV %	Media (U/L)	CV %
1	2,3	13,0	1,1	13,6
2	7,6	12,9	3,1	14,2
3	14,4	10,8	7,9	6,6
4	-	-	14,2	14,1

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. Autoimmun Rev. 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. 2012 Dec;12(2):107-13.
3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Jun;98(6):2247-55.

4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Ann Lab Med.* 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. *Thyroid.* 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? *The Netherlands Journal of Medicine* (2020), 78(2):55-63
7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy *Clin Chem.* 2009 Jan;55(1):183-6.



INSTRUCTIONS D'UTILISATION

CHORUS TRAb

Pour la détermination quantitative des anticorps anti-récepteur de la TSH

Uniquement pour diagnostic in vitro

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination quantitative des anticorps anti-récepteur de la TSH dans du sérum humain avec dispositif jetable appliqué à l'instrument Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Les anticorps anti-récepteur de la TSH sont des immunoglobulines IgG qui se lient au *récepteur de la thyrotropine* (TSHR, *récepteur de l'hormone de stimulation de la thyroïde*) et provoquent une stimulation ou une inhibition. La liaison créée entre le TRAb et le récepteur de la TSH empêche la TSH endogène de remplir sa fonction physiologique. Le dosage des anticorps anti-récepteur de la TSH, à l'aide de méthodes très sensibles, est important pour le diagnostic de la maladie de Graves. La famille des TRAb peut être divisée en deux catégories : TRAb qui, en se liant à la TSHR, imitent l'action biologique de la TSH, c'est-à-dire la production d'hormones thyroïdiennes. Ces auto-anticorps sont présents chez la plupart des patients (TSAb). TRAb qui, en se liant à la TSHR, la bloquent, ce qui entraîne l'absence de production d'hormones thyroïdiennes (TBAb). La raison pour laquelle le récepteur de la TSH se comporte de deux manières, en stimulant ou en inhibant la production de T3 et de T4, est due à sa structure particulière : ce récepteur est un polypeptide de 764 AA, constitué de trois portions : extracellulaire, transmembranaire et intracellulaire. Dans la portion extracellulaire se trouve le site de liaison de la TSH et par conséquent des TRAb (TASb et TBAb). Les régions reconnues comme épitopes par les TRAb sont si proches que certains acides aminés semblent être partagés. Cette découverte a été possible grâce à l'isolement de l'auto-anticorps monoclonal humain et à son expansion sur un modèle animal : la souris et le rat. Plusieurs anticorps monoclonaux (MAbs) ont été isolés, dont les plus importants sont le stimulant Mabs M22 et l'inhibiteur Mabs 5C9.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus TRAb est prêt à l'emploi pour la détection des auto-anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb) dans les appareils Chorus TRIO version 4.0.6 [65] et suivantes. Le test est basé sur une méthode ELISA concurrentielle indirecte en deux étapes. Les auto-anticorps présents dans le sérum, puis l'anticorps monoclonal M22 biotinylé, entrent en compétition avec la liaison du récepteur de la TSH (antigène recombinant absorbé en phase solide).

L'anticorps M22 biotinylé se lie à la streptavidine peroxydase dans une deuxième étape : l'ajout du substrat spécifique, le TMB (tétraméthylbenzidine), entraînera le développement d'une couleur bleue. Puis le bleu devient jaune, en ajoutant de l'acide sulfurique qui bloque la réaction enzymatique ; la coloration est inversement proportionnelle à la concentration d'auto-anticorps TRAb présents dans l'échantillon.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à l'exécution du test lorsqu'ils appliqués sur l'appareil Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en U/L.

4. PRÉCAUTIONS

Uniquement pour diagnostic in vitro

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et jugées négatives avec des tests portant le marquage CE pour la recherche de HbsAg et des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme étant potentiellement infectée. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité habituellement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements relatifs à la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'appareil Chorus TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium afin d'obtenir une concentration finale de 1 % minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution à 1 % est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels déversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

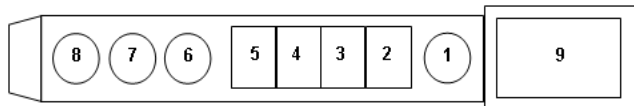
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puit.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présente des corps étrangers dans le puit de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur Chorus TRIO, en respectant scrupuleusement les Instructions d'Utilisation et le Manuel de l'Utilisateur de l'appareil.
Le kit peut uniquement être utilisé avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé dans l'appareil est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site DIESSE
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. S'assurer que l'analyseur Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel de l'Utilisateur).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'appareil puisse le lire correctement.
7. Éviter l'emploi de congélateurs auto-dégivrants pour la conservation des échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'analyseur (voir Manuel de l'Utilisateur).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une pollution microbienne peut être une source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
12. **Contrôler si l'analyseur est connecté à la Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 boîtes contenant 6 dispositifs chacune

Description :



Position 9 : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code à barres

Position 8 : CONJUGUÉ

Contenu : Anticorps monoclonal anti-TRAb M22 marqué à la Biotine, dans une solution protéique contenant un conservateur.

Position 7 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé par le récepteur de la TSH.

Position 6 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 5 : DILUANT POUR ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution protéique saline contenant un agent tensioactif et un conservateur.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 0,26 mg/mL et H₂O₂ 0,01 % stabilisés en tampon citraté 0,05 mol/L (pH 3,8).

Position 3 : SOLUTION BLOQUANTE

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 2 : STREPTAVIDINE-POD

Contenu : Streptavidine conjuguée à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0,05 % et du Bronidox 0,02 %.

Position 1 : PUIITS VIDE

Où l'échantillon a été transféré

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et replacer ceux non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0,350 ml

Contenu : Solution protéique contenant un agent de conservation. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,650 ml

Contenu : Solution protéique contenant un agent de conservation.

Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS ET NON FOURNI :

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **RÉF** 86004
- SOLUTION DE NETTOYAGE 2000 **RÉF** 83609
- SOLUTION DÉSINFECTANTE **RÉF** 83604 - 83608
- Analyseur Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µL.
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour le recueil de matières potentiellement infectées

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à +2-8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

DISPOSITIFS	4 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	4 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	4 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et préparés selon les procédures standards de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 7 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à - 20 °C.

Éviter les décongelations répétées.

Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

L'inactivation par chaleur peut induire de faux résultats. La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne qui peut induire de faux résultats.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté de la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir expulsé l'air.
2. Contrôler l'état du dispositif à l'oeil nu comme indiqué au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
3. Dispenser 100 µl de sérum non dilué dans le puits n° 1 de chaque dispositif à analyser ; utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'analyseur Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'analyseur.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en le traitant comme indiqué dans le Manuel de l'utilisateur de l'analyseur. Si l'analyseur signale que le sérum de contrôle a une valeur hors tolérance, il est nécessaire d'effectuer un nouveau calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle est encore hors tolérance, contacter l'Assistance Scientifique.

Tél. : 0039 0577 319554
Télécopie : 0039 0577 366605
email : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'analyseur Chorus TRIO fournit le résultat en U/L, calculé selon un graphique basé sur le lot mémorisé dans l'analyseur.

Le dosage du sérum examiné peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est $\geq 0,4$ U/L
NÉGATIF : lorsque le résultat est $< 0,4$ U/L

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient lui-même.

En outre, compte tenu de l'éventualité connue de non-corrélation entre les méthodes dans la détermination du TRAb, le dosage ne peut être utilisé seul pour poser un diagnostic clinique. Le

résultat du test doit donc être évalué avec les données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres analyses diagnostiques.

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage 0,40-30,0 U/L

Pour les échantillons > 30 U/L répéter le test de préférence dans du sérum physiologique. **N'UTILISEZ PAS** de diluant de contrôle/échantillon négatif (RÉF. 83607).

13. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées après examen de 120 sérums provenant de donateurs sains, sont comprises entre 0,0 et 0,24 U/L.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

3 échantillons ont été dosés (1 négatifs et 2 positifs) auxquels ont été ajoutés les substances interférentes suivantes :

Facteur rhumatoïde (99 IU/ml)

Bilirubine (0,2 mg/ml)

Hémoglobine (2,4 mg/ml)

La présence dans le sérum examiné des substances interférentes reportées ci-dessus n'altère pas le résultat du test.

15. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 176 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et un autre kit du commerce

Les résultats de l'étude sont résumés ci-dessous :

Corrélation	r	95% CI
Pearson	0,97	0,96-0,98
Spearman	0,91	0,88-0,93

Le degré de corrélation entre les deux méthodes est très élevé.

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Entre les séances	
	Moyenne (U/L)	CV %	Moyenne (U/L)	CV %
1	0,5	14,0	1,1	13,6
2	2,0	11,5	3,1	6,8
3	10,8	10,2	8,1	8,1
4	26,9	1,4	15,0	11,0

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne (U/L)	CV %	Moyenne (U/L)	CV %
1	2,3	13,0	1,1	13,6
2	7,6	12,9	3,1	14,2
3	14,4	10,8	7,9	6,6
4	-	-	14,2	14,1

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. Autoimmun Rev. 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. 2012 Dec;12(2):107-13.

3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jun;98(6):2247-55.
4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Ann Lab Med.* 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. *Thyroid.* 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? *The Netherlands Journal of Medicine* (2020), 78(2):55-63
7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy *Clin Chem.* 2009 Jan;55(1):183-6.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS TRAb

Para a determinação quantitativa dos anticorpos anti-recetores da TSH

Apenas para uso diagnóstico in vitro

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação quantitativa dos anticorpos anti-recetores da TSH no soro humano com dispositivo de utilização única aplicado ao instrumento Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

Os anticorpos anti-receptores da TSH são imunoglobulinas IgG que se ligam ao recetor da tirotropina (*Thyroid-stimulating hormone receptor* TSHR) e causam estimulação ou inibição. A ligação criada entre o TRAb e o recetor TSH impede que a TSH endógena desempenhe a sua função fisiológica. A dosagem dos anticorpos anti-recetores da TSH, com métodos altamente sensíveis, assume importância para o diagnóstico da doença de Graves. A família de TRAb pode ser dividida em duas categorias: TRAb que ao ligarem-se ao TSHR imitam a ação biológica da TSH, ou seja, a produção de hormonas da tiroide. Estes auto-anticorpos estão presentes na maioria dos doentes (TSAb). TRAb que ao ligarem-se ao TSHR bloqueiam-nos, o resultado é a ausência de produção de hormonas da tiroide (TBAb). A razão pela qual o recetor da TSH comporta-se de duas maneiras, estimulando ou inibindo a produção de T3 e T4, deve-se à sua estrutura particular: este recetor é um polipéptido de 764 AA, constituído por três porções: extracelular, transmembrana e intracelular. Na porção extracelular existe a ligação da TSH e portanto dos TRAb (TSAb e TBAb). As regiões que são reconhecidas como epitópos pelos TRAb estão tão próximas que alguns aminoácidos parecem ser partilhados. Esta descoberta foi possível graças ao isolamento do auto-anticorpo monoclonal humano e a sua expansão em modelo animal: rato e ratazana. Vários anticorpos monoclonais (MAbs) foram isolados, entre eles os mais importantes são: o estimulante Mabs M22 e o inibidor Mabs 5C9.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus TRAb está pronto a ser utilizado para a deteção de auto-anticorpos anti-recetores da TSH (TRAb) nos instrumentos Chorus TRIO versão 4.0.6 [65] e seguintes. O teste é baseado num método ELISA competitivo indireto em duas fases. Os auto-anticorpos presentes no soro e posteriormente o anticorpo monoclonal M22 biotinilado competem com a ligação do recetor TSH (antigénio recombinante absorvido na fase sólida).

O anticorpo M22 biotinilado liga a estreptavidina peroxidase numa segunda etapa: a adição do substrato específico, TMB

(tetrametilbenzidina), levará ao desenvolvimento de uma cor azul. Depois o azul torna-se amarelo, adicionando ácido sulfúrico que bloqueia a reação enzimática; a coloração é inversamente proporcional à concentração de auto-anticorpos TRAb presentes na amostra.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes necessários para efetuar o teste nos instrumentos Chorus TRIO. Os resultados são expressos em U/L.

4. PRECAUÇÕES

Apenas para uso diagnóstico in vitro

Este kit contém materiais de origem humana testados e negativos com testes com marcação CE ao HBsAg e aos anticorpos anti-VIH 1, anti-VIH 2 e anti-VHC. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e, portanto, eliminados de acordo com as normas de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a ficha de segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Exposição a hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se houver algum ácido presente, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes da referida área estar seca. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes de utilizar, por à temperatura ambiente (18-30 °C) os dispositivos que vão ser usados e utilizar dentro de 60 minutos.

1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.

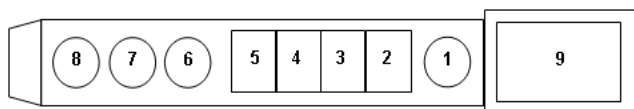
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
O uso do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou é superior à Release (Rel.) mostrada na tabela publicada no site da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras imperfeitos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
12. **Verificar se o instrumento tem ligação estabelecida com a Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens com 6 dispositivos cada uma

Descrição:



Posição 9: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 8: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpo monoclonal M22 anti-TRAb marcado com Biotina, em solução proteica com conservante.

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com recetor da TSH.

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 5: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina que contém tensioativo e conservante.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0,26 mg/mL e H₂O₂ 0,01% estabilizados em tampão citrato 0,05 mol/L (pH 3,8).

Posição 3: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 2: ESTREPTAVIDINA-POD

Conteúdo: Estreptavidina conjugada com peroxidase em solução tampão de fosfato que contém fenol 0,05% e Bronidox 0,02%.

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém sílica-gel, expulsar o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,350 ml

Conteúdo: Solução proteica com conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,650 ml

Conteúdo: Solução proteica com conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumento Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infectados

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo exterior da embalagem.

Após abertura e/ou preparação, os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	4 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	4 semanas a 2/8°C
CONTROLO POSITIVO	4 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos normalizados de laboratório.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 7 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

Evitar descongelações repetidas.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A inativação por calor pode levar a resultados errados. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo 100 µl de soro não diluído a analisar, a cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual de Instrução do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro controlo positivo, para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o soro de controlo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus TRIO dá o resultado expresso em U/L calculado com base num gráfico dependente do lote que está armazenado no instrumento.

O teste no soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for $\geq 0,4$ U/L

NEGATIVO: quando o resultado for $<0,4$ U/L

11. LIMITES DO TESTE

Todos os valores obtidos requerem uma interpretação cuidadosa sem ignorar outros indicadores relacionados com o mesmo doente.

Tendo em conta também a possibilidade conhecida de não correlação entre métodos na determinação do TRAb, o teste não pode ser utilizado isoladamente para um diagnóstico clínico. O resultado do teste deve, portanto, ser avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do doente e/ou de outras investigações de diagnóstico.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 0,40-30,0 U/L

Para amostras > 30 U/L repetir o teste pré-diluindo em soro fisiológico. **NÃO UTILIZAR** Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607).

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados pelo exame de 120 soros de doadores saudáveis, estavam entre 0,0 e 0,24 U/L.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras (1 Negativa e 2 Positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (99 IU/ml)

Bilirrubina (0,2 mg/ml)

Hemoglobina - (2,4 mg/ml)

A presença das substâncias interferentes acima referidas no soro examinado não altera o resultado do teste.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 176 amostras com o kit Diesse e com outro kit comercializado

Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

Correlação	r	95%CI
Pearson	0,97	0,96-0,98
Spearman	0,91	0,88-0,93

O grau de correlação entre os dois métodos é muito elevado.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (U/L)	CV%	Média (U/L)	CV%
1	0,5	14,0	1,1	13,6
2	2,0	11,5	3,1	6,8
3	10,8	10,2	8,1	8,1
4	26,9	1,4	15,0	11,0

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (U/L)	CV%	Média (U/L)	CV%
1	2,3	13,0	1,1	13,6
2	7,6	12,9	3,1	14,2
3	14,4	10,8	7,9	6,6
4	-	-	14,2	14,1

17. BIBLIOGRAFIA

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. Autoimmun Rev. 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. 2012 Dec;12(2):107-13.
3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Jun;98(6):2247-55.
4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. Ann Lab Med. 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak

- J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. *Thyroid*. 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? *The Netherlands Journal of Medicine* (2020), 78(2):55-63
 7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy *Clin Chem*. 2009 Jan;55(1):183-6.

NÁVOD K POUŽITÍ**CHORUS
TRAb****Pro kvantitativní stanovení protilátek proti TSH
receptoru****Určeno pouze k diagnostice in vitro****1. POUŽITÍ**

Imunoenzymatická metoda pro kvantitativní stanovení protilátek proti TSH receptoru v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Protilátky proti TSH receptoru jsou imunoglobuliny IgG, které se vážou na receptor tyreotropinu (*Thyroid-stimulating hormone receptor* TSHR) a způsobují jeho stimulaci nebo inhibici. Vazba, která se vytvoří mezi TRAb a TSH receptorem, zabraňuje endogennímu TSH plnit jeho fyziologickou funkci. Stanovení protilátek proti TSH receptoru pomocí vysoce citlivých metod má význam pro diagnostiku Gravesovy choroby. Rodinu TRAb lze rozdělit do dvou kategorií: TRAb, které vazbou na TSHR napodobují biologický účinek TSH, tj. produkci hormonů štítné žlázy. Tyto auto-protilátky jsou přítomny u většiny pacientů (TSAb). TRAb, které se vážou na TSHR a blokují jej, což vede k absenci produkce hormonů štítné žlázy (TBAb). Příčinou toho, že se TSH receptor chová těmito dvěma způsoby, tedy stimuluje nebo inhibuje produkci T3 a T4, je jeho zvláštní struktura: tento receptor je polypeptid 764 AA, složený ze tří částí, tj. extracelulární, transmembránové a intracelulární. V extracelulární části se nachází vazebné místo TSH, a tedy i TRAb (TSAb a TBAb). Ukazuje se, že oblasti, které TRAb rozpoznávají jako epitopy, jsou si velmi blízké, a to natolik, že se zdá, že některé aminokyseliny jsou společné. Tento objev byl možný díky izolaci lidské monoklonální autoprotilátky a jejímu rozšíření na zvířecí model: myš a potkana. Bylo izolováno několik monoklonálních protilátek (MAbs), z nichž nejdůležitější jsou: stimulační MAbs M22 a inhibiční MAbs 5C9.

3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus TRAb je připraven k použití pro detekci autoprotilátek proti TSH receptorům (TRAb) v nástrojích Chorus TRIO verze 4.0.6 [65] a následujících. Test je založen na dvoustupňové nepřímé kompetitivní metodě ELISA. Autoprotilátky přítomné v séru a následně biotinylovaná monoklonální protilátka M22 kompetují s vazbou TSH receptoru (rekombinantní antigen absorbovaný v pevné fázi). Biotinylovaná protilátka M22 se ve druhé fázi naváže na streptavidinovou peroxidázu: přidáním specifického substrátu TMB (tetrametylbenzidín) se dosáhne vytvoření modré barvy. Následně se modrá barva změní na žlutou po přidání kyseliny sírové, která blokuje enzymatickou reakci; zbarvení je nepřímo úměrné koncentraci autoprotilátek TRAb přítomných ve vzorku. Jednorázové nástroje obsahují všechny reagensy potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny v U/L.

4. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ**Určeno pouze k diagnostice in vitro**

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití testů s označením CE pro stanovení přítomnosti HBsAg a protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že nejsou přítomna infekční činidla, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení se všemi reagensy a vzorky je nutné dodržovat bezpečnostní opatření běžně přijímaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými právními předpisy.

Upozornění týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazené jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagensů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty je nutné nejprve ořtením vysušit. Všechny materiály použité k čištění případně potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládějte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30°C) a použijte je do 60 min.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, zda jsou v nástroji přítomny všechny reagensy a zda nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, u nichž je při vizuální kontrole zjištěna nepřítomnost některé reagensy nebo přítomnost cizího tělesa v reagenční jamce.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku nástroje.

Používání soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že je verze softwaru nainstalovaného v zařízení vyšší nebo stejná jako verze

uvedená v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Zkontrolujte, zda je zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k použití).
6. Dbejte, aby nedošlo k porušení čárového kódu na rukojeti nástroje, aby jej zařízení mohlo správně přečíst.
7. Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlomanovým výparům.
10. Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků představujících mikrobiální znečištění.
11. Nástroj nepoužívejte po datu použitelnosti
12. **Ujistěte se, že je zařízení připojeno k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích v každém balení

Popis:



Pozice 9: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 8: KONJUGÁT

Obsah: biotinem značená monoklonální protilátka M22 anti-TRAB v proteinovém roztoku obsahujícím konzervační látku.

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Senzibilizována TSH receptorem.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Nesenzibilizována.

Pozice 5: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: roztok proteinové soli obsahující povrchově aktivní látku a konzervační látku.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0,26 mg/ml a H₂O₂ 0,01 % stabilizované v 0,05 mol/L citrátového pufru (pH 3,8).

Pozice 3: BLOKAČNÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 2: STREPTAVIDIN-POD

Obsah: Streptavidin konjugovaný s peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0,05 % fenolu a 0,02 % Bronidoxu.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam je přenesen vzorek

Použití: nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě, poté jej otevřete, vyjměte potřebné nástroje, ostatní vraťte do sáčku se siliciovým gelem, vypusťte vzduch a balení znovu neprodyšně uzavřete stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2/8 C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,350 ml

Obsah: Proteinový roztok obsahující konzervační látku.

Kapalina, připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,650 ml

Obsah: Proteinový roztok obsahující konzervační látku.

Kapalina, připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Zařízení Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr objemů 50–200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby na sběr potenciálně infekčního materiálu

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2/8°C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každém komponentu a na vnějším štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	4 týdny při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	4 týdny při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	4 týdny při teplotě 2/8°C

7. TYP VZORKŮ A JEJICH SKLADOVÁNÍ

Vzorek je sérum získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 7 dnů při teplotě 2/8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu -20°C.

Vyvarujte se opakovaného rozmrazování.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace teplem může vést k chybným výsledkům. Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Vizualně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v bodě 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 každého nástroje napipetujte 100 µl neředěného testovaného séra; při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibraci.
4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a proveďte test podle návodu k obsluze zařízení.

9. VALIDACE TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v uživatelské příručce zařízení. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba zopakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte oddělení vědecké podpory.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Zařízení Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v U/L, vypočítané na základě grafu podle šarží, který je uložen v paměti zařízení.

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek $\geq 0,4$ U/L

NEGATIVNÍ: je-li výsledek $< 0,4$ U/L

11. OMEZENÍ TESTU

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta.

Vzhledem ke známé možnosti chybějící korelace mezi metodami při stanovení TRAb nelze tento test použít samostatně pro klinickou diagnózu. Výsledek testu je však nutné vyhodnocovat v kontextu informací získaných z anamnézy pacienta a/nebo prostřednictvím jiných diagnostických postupů.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah 0,40-30,0 U/L

U vzorků > 30 U/L se zkouška zopakuje předředěním vzorku ve fyziologickém roztoku. **NEPOUŽÍVEJTE** Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607).

13. REFERENČNÍ INTERVALY

Očekávané hodnoty v normální populaci stanovené vyšetřením 120 sér od zdravých dárců se pohybovaly od 0,0 do 0,24 U/L.

14. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Byly testovány 3 vzorky (1 negativní a 2 pozitivní), k nimž byly přidány následující interferenční látky:

Rheumatoidní faktor (99 IU/ml)
Bilirubin (0,2 mg/ml)
Hemoglobin (2,4 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. SROVNÁNÍ METOD

V rámci studie bylo analyzováno 176 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy.

Výsledky této studie shrnuje následující tabulka:

Korelace	r	95%CI
Pearson	0,97	0,96-0,98

Spearman	0,91	0,88-0,93
----------	------	-----------

Stupeň korelace mezi těmito dvěma metodami je velmi vysoký.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (U/L)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (U/L)	Variační koeficient (CV) %
1	0,5	14,0	1,1	13,6
2	2,0	11,5	3,1	6,8
3	10,8	10,2	8,1	8,1
4	26,9	1,4	15,0	11,0

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (U/L)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (U/L)	Variační koeficient (CV) %
1	2,3	13,0	1,1	13,6
2	7,6	12,9	3,1	14,2
3	14,4	10,8	7,9	6,6
4	-	-	14,2	14,1

17. BIBLIOGRAFIE

- Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. *Autoimmun Rev.* 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
- Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. *Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev.* 2012 Dec;12(2):107-13.
- Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jun;98(6):2247-55.
- Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Ann Lab Med.* 2019 Jan;39(1):3-14.
- Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. *Thyroid.* 2004 Oct;14(10):830-5.
- Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? *The Netherlands Journal of Medicine* (2020), 78(2):55-63
- Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy *Clin Chem.* 2009 Jan;55(1):183-6.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS TRAb

**Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων έναντι των υποδοχέων της TSH**

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων έναντι των υποδοχέων της TSH στον ανθρώπινο ορό, με τεχνολογικό προϊόν μίας χρήσης σε συνδυασμό με τον αναλυτή Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αντισώματα έναντι των υποδοχέων της TSH είναι ανοσοσφαιρίνες IgG οι οποίες, συνδέονται με τον υποδοχέα θυρεοτροπίνης (*Thyroid-stimulating hormone receptor* TSHR), προκαλώντας τη διέγερση ή την αναστολή της. Η σύνδεση που δημιουργείται μεταξύ TRAb και υποδοχέα της TSH εμποδίζει στην ενδογενή TSH να εκτελέσει τη φυσιολογική της λειτουργία. Η δοσομέτρηση των αντισωμάτων έναντι των υποδοχέων της TSH, με εξαιρετικά ευαίσθητες μεθόδους, αποκτά σημασία για τη διάγνωση της νόσου Graves. Η οικογένεια των TRAb μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες: TRAb που με τη σύνδεση στην TSHR μιμούνται τη βιολογική δράση της TSH, δηλαδή την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών. Αυτά τα αυτοαντισώματα είναι παρόντα στο μεγαλύτερο μέρος των ασθενών (TSAb). TRAb που με τη σύνδεση στην TSHR την μπλοκάρουν, το αποτέλεσμα είναι η απουσία παραγωγής θυρεοειδικών ορμονών (TBAb). Ο λόγος για τον οποίο ο υποδοχέας της TSH συμπεριφέρεται με δύο τρόπους, διεγείροντας ή αναστέλλοντας την παραγωγή των T3 και T4, οφείλεται στην ιδιαίτερη δομή του: αυτός ο υποδοχέας είναι ένα πολυπεπτιδίο 764 AA, που αποτελείται από τρία τμήματα τα οποία είναι το εξωκυτταρικό, το διαμεμβρανικό και το ενδοκυτταρικό. Στο εξωκυτταρικό τμήμα βρίσκεται η θέση σύνδεσης της TSH και κατά συνέπεια των TRAb (TSAb και TBAb). Οι περιοχές που αναγνωρίζονται ως επίτοποι από τα TRAb προκύπτουν πολύ κοντά ή μία στην άλλη, τόσο, ώστε μερικά αμινοξέα εμφανίζονται να είναι επιμερισμένα. Αυτή η ανακάλυψη ήταν δυνατή χάρη στην απομόνωση του ανθρώπινου μονοκλωνικού αυτοαντισώματος και την επέκτασή του σε ζωικό πρότυπο: ποντίκι και αρουραίο. Απομονώθηκαν διάφορα μονοκλωνικά αντισώματα (MAbs), μεταξύ των οποίων τα πιο σημαντικά: το διεγερτικό MAbs M22 και το ανασταλτικό MAbs 5C9.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεχνολογικό προϊόν Chorus TRAb είναι έτοιμο για χρήση για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων έναντι των υποδοχέων της TSH (TRAb) στους αναλυτές Chorus TRIO έκδοση 4.0.6 [65] και νεότερες. Η δοκιμή βασίζεται σε μια έμμεση μέθοδο ELISA ανταγωνιστικού τύπου δύο σταδίων. Τα αυτοαντισώματα που

υπάρχουν στον ορό και στη συνέχεια το βιοτινικό μονοκλωνικό αντίσωμα M22 ανταγωνίζονται με τη σύνδεση του υποδοχέα TSH (ανασυνδυασμένο αντιγόνο που απορροφάται στη στερεά φάση).

Το βιοτινικό αντίσωμα M22 δεσμεύει τη στρεπταβιδίνη υπεροξειδάση σε ένα δεύτερο στάδιο: η προσθήκη του συγκεκριμένου υποστρώματος, TMB (τετραμεθυλβενζιδίνη), θα προκαλέσει την ανάπτυξη μπλε χρώματος. Το μπλε στη συνέχεια γίνεται κίτρινο, προσθέτοντας θειικό οξύ που εμποδίζει την ενζυμική αντίδραση· ο χρωματισμός είναι αντιστρόφως ανάλογος με τη συγκέντρωση αυτοαντισωμάτων TRAb που υπάρχουν στο δείγμα.

Τα τεχνολογικά προϊόντα μίας χρήσης περιλαμβάνουν όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση της δοκιμής στον αναλυτή Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε U/L.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης, που έχουν ελεγχθεί με τεστ με πιστοποίηση CE, και έχουν βρεθεί αρνητικά για HBsAg και για αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Ωστόσο, επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να εγγυηθεί απόλυτα την απουσία μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικό. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και όλων των δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τα καθιερωμένα πρότυπα ασφαλείας που εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Απόρριψη υπολειμμάτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και τα strip που έχουν χρησιμοποιηθεί πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσματικά απόβλητα και επομένως να απορρίπτονται σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία.

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση από πιπέτα με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά για τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τις συσκευές στον αναλυτή Chorus TRIO.
4. Για τις απαιτήσεις ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιλαμβάνονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
5. Τα εξουδετερωμένα οξέα και τα άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται με προσθήκη επαρκούς όγκου υποχλωριώδους νατρίου, ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θεωρείται επαρκής για να διασφαλιστεί αποτελεσματική απολύμανση.
6. Εάν χυθούν υλικά που ενδέχεται να είναι μολυσμένα, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί, και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, π.χ., με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν συνεχιστεί η εργασία. Εάν τα υλικά που θα χυθούν περιέχουν οξύ, δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί υποχλωριώδες νάτριο πριν στεγνώσει η περιοχή. Όλα τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν για να απολυμανθούν χυμένα υγρά, μαζί με τα γάντια, θα πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα.

Μην τοποθετείτε στο αυτόκαυστο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Προειδοποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία

Οι συσκευές που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να μεταφέρονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) πριν από τη χρήση, και να χρησιμοποιούνται μέσα σε 60 λεπτά.

1. Απορρίψτε τις συσκευές όπου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) έχει χρώμα μπλε.
2. Αφού προσθέσετε το δείγμα στην κυψελίδα, βεβαιωθείτε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευής και βεβαιωθείτε ότι όντως περιλαμβάνει όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια. Εάν κατά τον οπτικό έλεγχο διαπιστώσετε ότι από τη συσκευή λείπει κάποιο αντιδραστήριο και/ή υπάρχουν ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης, μη χρησιμοποιήσετε τη συγκεκριμένη συσκευή.
4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τον αναλυτή Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή.

Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στον αναλυτή ανήκει στην ίδια ή μεταγενέστερη έκδοση (Rel.) από την έκδοση που αναφέρεται στον ιστότοπο της Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

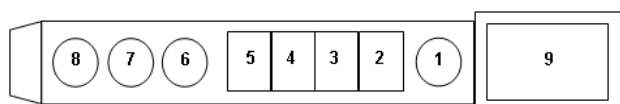
5. Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής Chorus TRIO είναι ρυθμισμένος σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμοκωδικό που υπάρχει στη λαβή του τεχνολογικού προϊόντος, ώστε ο αναλυτής να μπορεί να διαβάσει σωστά τον κωδικό.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων.
8. Ελαττωματικοί γραμμοκωδικοί μπορούν να καταχωριστούν στον αναλυτή με πληκτρολόγηση (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
9. Τα τεχνολογικά προϊόντα δεν πρέπει να εκτίθενται σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη φύλαξη και τη χρήση.
10. Εάν χρησιμοποιηθούν έντονα αιμολυμένα, λιπαιμικά ή ικτερικά δείγματα, ή δείγματα ορού που δεν έχει πηξει τελείως, ή δείγματα με μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Μη χρησιμοποιείτε το τεχνολογικό προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης.
12. Ελέγξτε αν ο αναλυτής είναι συνδεδεμένος με το Washing Buffer Autoimmunity (Κωδ. 86004)

5. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ KIT ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit επαρκεί για 36 δοκιμασίες προσδιορισμού

DD ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ 6 συσκευασίες με 6 τεχνολογικά προϊόντα η καθεμία

Περιγραφή:



Θέση 9: Χώρος διαθέσιμος για ετικέτα με γραμμοκώδικα

Θέση 8: ΣΥΖΕΥΓΜΑ

Περιεχόμενο: μονοκλωνικό αντίσωμα M22 έναντι TRAb σημασμένο με βιοτίνη, σε πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει συντηρητικό.

Θέση 7: ΤΟΙΧΩΜΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένο με υποδοχέα της TSH.

Θέση 6: ΤΟΙΧΩΜΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 5: ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό αλατούχο διάλυμα που περιέχει επιφανειοδραστικές και συντηρητικές ουσίες.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0,26 mg/mL και H₂O₂ 0,01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού 0,05 mol/L (pH 3,8).

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΜΑ ΤΕΡΜΑΤΙΣΜΟΥ

Περιεχόμενο: διάλυμα θειικού οξέος 0,3 M

Θέση 2: ΣΤΡΕΠΤΑΒΙΔΙΝΗ-POD

Περιεχόμενο: Στρεπταβιδίνη συζευγμένη με υπεροξειδάση, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει φαινόλη 0,05% και Βρονιδox 0,02%.

Θέση 1: ΚΕΝΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Εδώ τοποθετείται το δείγμα

Χρήση: εξισορροπήστε μια συσκευασία σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα και αφαιρέστε όσες συσκευές απαιτούνται. Επανατοποθετήστε τις υπόλοιπες συσκευές στη σακούλα που περιέχει πυριτική γέλη, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε**, πιέζοντας τη σφράγιση. Φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0,350 ml

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0,650 ml

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ, ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **ΚΩΔ** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **ΚΩΔ** 83609
- SANITIZING SOLUTION **ΚΩΔ** 83604 - 83608
- Αναλυτής Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνήθης γυάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες κ.λπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια 50-200 μl διαλύματος.
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Περιέκτες για την περισυλλογή δυνητικά μολυσματικών υλικών

6. ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να φυλάσσονται στους 2/8°C. Αν έχουν φυλαχθεί σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναλαμβάνεται η βαθμονόμηση και να ελέγχεται η ορθότητα του αποτελέσματος με ανάλυση του ορού ελέγχου (βλ. ενότητα 9: Επικύρωση του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης αναγράφεται σε κάθε επιμέρους στοιχείο και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή μετά την προετοιμασία:

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	4 εβδομάδες στους 2-8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	4 εβδομάδες στους 2-8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	4 εβδομάδες στους 2-8°C

7. ΤΥΠΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι ορός που λαμβάνεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαρακέντηση και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις εάν χρησιμοποιηθούν άλλα βιολογικά υγρά.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 7 ημέρες στους 2-8°C. Για μεγαλύτερα διαστήματα συντήρησης, να καταψύχεται στους -20°C.

Να αποφεύγεται η επανειλημμένη απόψυξη.

Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε το δείγμα προσεκτικά πριν από τη δοσομέτρηση.

Η αδρανιοποίηση με θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ποιότητα του δείγματος, με αποτέλεσμα να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε τη σακούλα (από την πλευρά όπου βρίσκεται το κουμπωτό κλείσιμο), αφαιρέστε όλες τις συσκευές χρειάζεστε για τη διεξαγωγή των εξετάσεων και φυλάξτε τις υπόλοιπες, κλείνοντας τη σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής, σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα 4 «Προειδοποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία».
3. Στο τοίχωμα αρ. 1 κάθε τεχνολογικού προϊόντος προσθέστε 100 μl μη αραιωμένου ορού για ανάλυση, με κάθε αλλαγή παρτίδας χρησιμοποιείτε ένα τεχνολογικό προϊόν για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα τεχνολογικά προϊόντα στον αναλυτή Chorus TRIO. Εκτελέστε τη βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και το τεστ όπως περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Οδηγιών του αναλυτή.

9. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον θετικό ορό μάρτυρα για να επαληθεύσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή. Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του ορού ελέγχου βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, επικοινωνήστε με το τμήμα Scientific Support.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Ο αναλυτής Chorus TRIO εμφανίζει το αποτέλεσμα σε U/L υπολογισμένες με βάση ένα γράφημα, ειδικό για κάθε παρτίδα, αποθηκευμένο στη μνήμη του αναλυτή.

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας για τον εξεταζόμενο ορό μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι $\geq 0,4$ U/L

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι $< 0,4$ U/L

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Κάθε τιμή που λαμβάνεται πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά, λαμβάνοντας υπόψη και άλλους δείκτες που σχετίζονται με τον εκάστοτε ασθενή.

Με δεδομένη επίσης τη γνωστή πιθανότητα μη συσχέτισης μεταξύ μεθόδων προσδιορισμού του TRAb, η κλινική διάγνωση δεν μπορεί να βασίζεται αποκλειστικά στο αποτέλεσμα του τεστ. Συνεπώς, το αποτέλεσμα του τεστ θα πρέπει να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα από το ιστορικό του ασθενή και/ή από άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης 0,40-30,0 U/L

Για δείγματα > 30 U/L επαναλάβετε το τεστ αραιώνοντας εκ των προτέρων το δείγμα σε φυσιολογικό ορό. **ΜΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΕ** Negative Control/Sample Diluent (ΚΩΔ. 83607).

13. ΚΛΙΜΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι αναμενόμενες τιμές στον φυσιολογικό πληθυσμό, οι οποίες προσδιορίστηκαν κατόπιν ανάλυσης 120 δειγμάτων ορού από υγιείς δότες, κυμαίνονταν μεταξύ 0,0 και 0,24 U/L.

14. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Εξετάστηκαν 3 δείγματα (1 αρνητικό και 2 θετικά) στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγων (99 IU/ml)
Χολερυθρίνη (0,2 mg/ml)
Αιμοσφαιρίνη (2,4 mg/ml)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στον εξεταζόμενο ορό δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του τεστ.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Στο πλαίσιο πειραματικής μελέτης αναλύθηκαν 176 δείγματα με το kit της Diesse και με ένα άλλο εμπορικό διαθέσιμο kit. Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται παρακάτω:

Συσχέτιση	r	95%CI
Pearson	0,97	0,96-0,98
Spearman	0,91	0,88-0,93

Ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ των δύο μεθόδων είναι πολύ υψηλός.

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέσος όρος (U/L)	CV%	Μέσος όρος (U/L)	CV%
1	0,5	14,0	1,1	13,6
2	2,0	11,5	3,1	6,8
3	10,8	10,2	8,1	8,1
4	26,9	1,4	15,0	11,0

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	Μέσος όρος (U/L)	CV%	Μέσος όρος (U/L)	CV%
1	2,3	13,0	1,1	13,6
2	7,6	12,9	3,1	14,2
3	14,4	10,8	7,9	6,6
4	-	-	14,2	14,1

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. Autoimmun Rev. 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. 2012 Dec;12(2):107-13.
3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Jun;98(6):2247-55.
4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. Ann Lab Med. 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. Thyroid. 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? The Netherlands Journal of Medicine (2020), 78(2):55-63
7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy Clin Chem. 2009 Jan;55(1):183-6.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE**CHORUS
TRAb****Pentru determinarea cantitativă a anticorpilor
anti-receptor TSH****Numai pentru diagnosticarea in vitro****1. UTILIZARE**

Metodă imunoenzimatică pentru determinarea cantitativă a anticorpilor anti-receptor TSH în ser uman cu ajutorul unui dispozitiv de unică folosință aplicat pe instrumentul Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Anticorpilor anti-receptor TSH sunt imunoglobuline IgG care, prin legarea de receptorul tiotropinei (*Thyroid-stimulating hormone receptor* TSHR), provoacă stimularea sau inhibarea acestuia. Legătura care se creează între TRAb și receptorul TSH împiedică TSH endogen să își îndeplinească funcția fiziologică. Dozarea anticorpilor anti-receptor TSH, cu metode foarte sensibile, are deosebită importanță pentru diagnosticarea bolii Graves. Familia TRAb poate fi împărțită în două categorii: TRAb care prin legare de TSHR imită acțiunea biologică a TSH sau producția de hormoni tiroidieni. Acești auto-anticorpi sunt prezenți la majoritatea pacienților (TSAb). TRAb care legându-se de TSHR îl blochează, rezultând absența producției de hormoni tiroidieni (TBAb). Motivul pentru care receptorul TSH se comportă în două moduri, stimulând sau inhibând producția de T3 și T4, se datorează structurii sale particulare: acest receptor este un polipeptid 764 AA, format din trei porțiuni: extracelulară, transmembranară și intracelulară. În porțiunea extracelulară se află locul de legare al TSH și, prin urmare, al TRAb (TSAb și TBAb). Regiunile care sunt recunoscute ca epitopi de către TRAb sunt foarte apropiate, în așa fel încât unii aminoacizi par a fi împărțiți. Această descoperire a fost posibilă datorită izolării auto-anticorpului monoclonal uman și a expansiunii sale pe un model animal: șoarece și șobolan. Au fost izolați mai mulți anticorpi monoclonali (MAb), cel mai important fiind Mabs M22 stimulant și Mabs 5C9 inhibitor.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus TRAb este gata de utilizare pentru detectarea autoanticorpilor receptorilor TSH (TRAb) în instrumentele Chorus TRIO versiunea 4.0.6 [65] și următoarele. Testul se bazează pe metoda ELISA competitivă în două faze. Autoanticorpilor prezenți în ser și ulterior anticorpii monoclonali M22 biotinizat concurează cu legarea receptorului TSH (antigen recombinant absorbit în faza solidă).

Anticorpii M22 biotinizat leagă streptavidin peroxidază într-o a doua fază: adăugarea substratului specific, TMB (tetrametilbenzidină), provoacă dezvoltarea unei culori albastre. Ulterior albastrul devine galben, adăugând acid sulfuric care blochează reacția enzimatică; colorarea este invers proporțională cu concentrația de autoanticorpi TRAb prezenți în probă.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii necesari pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate pe instrumentul Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în U/L.

4. MĂSURI DE PRECAUȚIE**Numai pentru diagnosticarea in vitro**

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au indicat un rezultat negativ pentru prezența HBsAg și pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 și anti-HCV, prin testarea cu ajutorul testelor marcate CE. Deoarece niciun test de diagnosticare nu poate oferi o garanție completă privind absența agenților infecțioși, orice material de origine umană trebuie să fie considerat potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele de siguranță adoptate de obicei în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibroarele și benzile utilizate trebuie tratate ca și reziduuri infectate și eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. În timpul manipulării probelor, purtați mănuși de unică folosință și ochelari de protecție.
3. Spălați-vă bine pe mâini după introducerea dispozitivelor în instrumentul Chorus TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișele cu date de securitate (disponibile la cerere).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate adăugând hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la o soluție de hipoclorit de sodiu de 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfectare eficientă.
6. Eventuale scurgeri de materiale potențial infectate trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu soluție de hipoclorit de sodiu de 1%, înainte de a continua activitatea. Dacă este prezent un acid, nu utilizați hipocloritul de sodiu înainte de uscarea zonei. Toate materialele utilizate pentru a decontamina scurgerile accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infectate. Nu așezați în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, așteptați ca dispozitivele care vor fi utilizate să ajungă la temperatura camerei (18-30 °C) și utilizați în interval de 60 de minute.

1. **Înlăturați dispozitivul cu substrat (godeul 4) de culoare albastră.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fundul godeului.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în sine. Nu folosiți dispozitive din care lipsesc reactivi și / sau dacă observați corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.

Utilizarea kit-ului este posibilă doar dacă este instalată versiunea actualizată a programului software. Asigurați-vă că programul software instalat pe instrument coincide sau are versiunea de lansare (Rel.) superioară celei prezentate în tabelul publicat pe website-ul DIESSE.

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

- Verificați dacă instrumentul Chorus TRIO este setat corect (consultați Manualul utilizatorului).
- Nu modificați codul de bare aplicat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
- Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor.
- Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (consultați Manualul utilizatorului).
- Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
- Utilizarea probelor de ser foarte hemolizate, lipemice, icterice, care nu sunt complet coagulate sau a probelor care prezintă poluare microbiană poate fi o sursă de erori.
- Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
- Controlați ca instrumentul să fie conectat cu Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. ALCĂTUIREA KIT-ULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kit-ul este suficient pentru 36 de determinări

DD DISPOZITIVE 6 ambalaje a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 9: Spațiu disponibil pentru eticheta cu codul de bare

Poziția 8: CONJUGAT

Conținut: anticorp monoclonal M22 anti-TRAb marcat cu Biotină, în soluție proteică care conține conservant.

Poziția 7: GODEU MICROPLACĂ

Sensibilizat cu receptorul TSH.

Poziția 6: GODEU MICROPLACĂ

Nesensibilizat.

Poziția 5: DILUANT PENTRU PROBE

Conținut: soluție proteică salină care conține surfactant și conservant

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină 0,26 mg / mL și H₂O₂ 0,01% stabilizate în tampon de citrat 0,05 mol / L (pH 3,8).

Poziția 3: SOLUȚIE BLOCANTĂ

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M.

Poziția 2: STREPTAVIDINA-POD

Conținut: Conținut: Streptavidină conjugată cu peroxidază, în soluție tampon fosfat conținând fenol 0,05% și Bronidox 0,02%.

Poziția 1: GODEU GOL

În care este transferată proba.

Utilizare: așteptați ca punga să ajungă la temperatura camerei, deschideți punga, luați dispozitivele necesare; așezați

celelalte dispozitive în punga care conține silicagel, scoateți aerul din interior și **sigilați** apăsând pe elementul de închidere. A se păstra la 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBROR 1 x 0,350 ml

Conținut: Soluție proteică care conține conservant. Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,650 ml

Conținut: Soluție proteică care conține conservant. Lichid, gata de utilizare.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NELIVRATE:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrument Chorus TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticlărie obișnuită de laborator: cilindri, epruvete etc.
- Micropipete pentru prelevarea precisă a volumelor de 50-200 µl.
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de 5% de hipoclorit de sodiu
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie depozitați la 2/8 °C. În cazul unei temperaturi de stocare incorecte, calibrarea trebuie repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului folosind serul de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta externă a ambalajului.

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere și / sau preparare:

DISPOZITIVE	4 săptămâni la 2/8°C
CALIBROR	4 săptămâni la 2/8°C
CONTROL POZITIV	4 săptămâni la 2/8°C

7. TIP DE PROBE ȘI PĂSTRARE

Tipul de probă este reprezentat de serul obținut din sângele colectat prin venipunctură obișnuită și manipulat în conformitate cu cerințele din procedurile standard de laborator.

Nu sunt cunoscute consecințele utilizării altor lichide biologice.

Serul proaspăt poate fi păstrat timp de 7 zile la temperatura de 2/8 °C; pentru perioade mai lungi de depozitare, se va congela la -20 °C.

Evitați decongelarea repetată.

Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor. După decongelare, agitați proba cu atenție înainte de dozare.

Inactivarea la căldură poate conduce la rezultate eronate. Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

- Deschideți plicul (latura pe care se află elementul de închidere prin apăsare), luați un număr de dispozitive

necesar pentru a efectua examinările și păstrați-le pe celelalte închizând la loc plicul după ce scoateți aerul din interior.

2. Controlați vizual starea dispozitivului conform cu indicațiile din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv 100 μ l de ser nediluat care urmează să fie analizat. La fiecare schimbare a lotului, utilizați un dispozitiv pentru calibror.
4. Introduceți dispozitivele în instrumentul Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesară) și testul conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul indică faptul că serul de control are o valoare în afara limitei admisibile, trebuie să refaceți calibrarea. Rezultatele anterioare sunt corectate automat.

Dacă rezultatul serului de control este în continuare în afara intervalului admis, contactați Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul Chorus TRIO oferă rezultatul în U/L calculate pe baza unui grafic dependent de lot memorat în instrument.

Testul efectuat pe serul examinat poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: când rezultatul este $\geq 0,4$ U/L

NEGATIV: când rezultatul este $< 0,4$ U/L

11. LIMITELE TESTULUI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă care trebuie să ia în considerare alți indicatori referitori la pacient.

Având în vedere, de asemenea, posibilitatea cunoscută de necorelare între metodele de determinare a TRAb, testul nu poate fi utilizat ca unică metodă pentru un diagnostic clinic. Rezultatul testului trebuie, așadar, interpretat împreună cu alte date din istoricul pacientului și / sau alte investigații diagnostice..

12. INTERVAL DE CALIBRARE

Interval de calibrare 0,40-30,0 U/L

Pentru probe > 30 U/L repetați testul prin diluarea în prealabil a probei în soluție fiziologică. **A NU SE UTILIZA** Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607).

13. INTERVALE DE REFERINȚĂ

Valorile preconizate în populația normală, determinate prin examinarea a 120 de seruri ale donatorilor sănătoși, au fost cuprinse între 0,0 și 0,24 U/L.

14. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 3 probe (1 Negativă și 2 Pozitive) la care au fost adăugate următoarele substanțe interferente:

Factor reumatoid (99 IU/ml)
Bilirubină (0,2 mg/ml)
Hemoglobină (2,4 mg/ml)

Prezența în serul testat a substanțelor interferente menționate mai sus poate modifica rezultatele testului.

15. STUDII COMPARATIVE

Într-un experiment, au fost analizate 176 de probe cu kitul Diesse și cu un alt kit de pe piață.

Datele obținute în urma experimentului sunt prezentate schematic mai jos:

Corelație	r	95%CI
Pearson	0,97	0,96 - 0,98
Spearman	0,91	0,88-0,93

Gradul de corelație dintre cele două metode este foarte mare.

16. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În cadrul sesiunii		Între sesiuni	
	Medie (U/L)	CV%	Medie (U/L)	CV%
1	0,5	14,0	1,1	13,6
2	2,0	11,5	3,1	6,8
3	10,8	10,2	8,1	8,1
4	26,9	1,4	15,0	11,0

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (U/L)	CV%	Medie (U/L)	CV%
1	2,3	13,0	1,1	13,6
2	7,6	12,9	3,1	14,2
3	14,4	10,8	7,9	6,6
4	-	-	14,2	14,1

17. BIBLIOGRAFIE

1. Menconi F, Marcocci C, Marinò M. Diagnosis and classification of Graves' disease. Autoimmun Rev. 2014 Apr-May;13(4-5):398-402.
2. Tozzoli R, Bagnasco M, Giavarina D, Bizzaro N. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. 2012 Dec;12(2):107-13.
3. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Jun;98(6):2247-55.
4. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. Ann Lab Med. 2019 Jan;39(1):3-14.
5. Smith BR, Bolton J, Young S, Collyer A, Weeden A, Bradbury J, Weightman D, Perros P, Sanders J, Furmaniak J. A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies. Thyroid. 2004 Oct;14(10):830-5.
6. Smit M.A., Van Kinschot C.M.J., Van der Linden J., Van Noord C., Kos S. Measurement of anti-TSH receptor antibodies: what is the correct cut-off value? The Netherlands Journal of Medicine (2020), 78(2):55-63
7. Massart C., Sapin R., Gibassier J., Agin A., d'Herbomez M. Intermethod variability in TSH-receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves disease and for the follow-up of Graves ophthalmopathy Clin Chem. 2009 Jan;55(1):183-6.

	IT Data di fabbricazione	ES Fecha de fabricación
	EN Date of manufacture	FR Date de fabrication
	CZ Datum výroby	PT Data de fabrico
	DE Herstellungsdatum	RO Data fabricatiei
	GR Ημερομηνία Παραγωγής	
	IT Utilizzare entro	ES Fecha de caducidad
	EN Use By	FR Utiliser jusque
	CZ Použitelné do	PT Prazo de validade
	DE Verwendbar bis	RO A se folosi pana la
	GR Ημερομηνία λήξης	
	IT Non riutilizzare	ES No reutilizar
	EN Do not reuse	FR Ne pas réutiliser
	CZ Nepoužívejte opakovaně	PT Não reutilizar
	DE Nicht wieder verwenden	RO A nu se refolosi
	GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση	
	IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES Atención, ver instrucciones de uso
	EN Caution, consult accompanying documents	FR Attention voir notice d'instructions
	CZ Pozor, čtěte příložené dokumenty	PT Atenção, consulte a documentação incluída
	DE Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO Atentie, consultați documentele însoțitoare
	GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα	
	IT Fabbricante	ES Fabricante
	EN Manufacturer	FR Fabricant
	CZ Výrobce	PT Fabricante
	DE Hersteller	RO Productator
	GR Κατασκευαστής	
	IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN Contains sufficient for <n> tests	FR Contenu suffisant pour "n" tests
	CZ Obsah stačí na <n> testů	PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	DE Inhalt reicht für „n“ Tests	RO Continut suficient pt <n> teste
	GR Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	
	IT Limiti di temperatura	ES Límite de temperatura
	EN Temperature limitation	FR Limites de température
	CZ Teplotní omezení	PT Limites de temperatura
	DE Temperaturgrenzwerte	RO Limita da temperatura
	GR Περιορισμοί θερμοκρασίας	
	IT Consultare le istruzioni per l'uso	ES Consulte las instrucciones de uso
	EN Consult Instructions for Use	FR Consulter les instructions d'utilisation
	CZ Čtěte návod k použití	PT Consulte as instruções de utilização
	DE Die Gebrauchsanleitung lesen	RO Pentru a utiliza consultați instrucțiunile
	GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	
	IT Rischio biologico	ES Riesgo biológico
	EN Biological risks	FR Risques biologiques
	CZ Biologická rizika	PT Risco biológico
	DE Biologisches Risiko	RO Risk biologic
	GR Βιολογικοί κίνδυνοι	
	IT Numero di catalogo	ES Número de catálogo
	EN Catalogue number	FR Référence du catalogue
	CZ Katalogové číslo	PT Referência de catálogo
	DE Katalognummer	RO Numar de catalog
	GR Αριθμός καταλόγου	
	IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CZ Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro
	GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	
	IT Codice del lotto	ES Código de lote
	EN Batch code	FR Code du lot
	CZ Kód šarže	PT Código do lote
	DE Chargennummer	RO Lot
	GR Αριθμός Παρτίδας	
	IT Marcatura CE di conformità	ES Marcado CE de conformidad
	EN CE marking of conformity	FR Marquage de conformité CE
	CZ Označení shody CE	PT Marcação CE de conformidade
	DE CE-Konformität Skennzeichnung	RO Marcajul de conformitate CE
	GR Σημανση συμμορφωσης CE	