

Anti-Tg

Antibody to Thyroglobulin (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de anticuerpo anti- tiroglobulina (anti-Tg) en suero o plasma

Significación clínica

Los niveles de anticuerpos antitiroglobulina suelen aumentar en pacientes con enfermedades tiroideas autoinmunes. Altas concentraciones de anti-Tg junto con anti-TPO (anti-peroxidasa tiroidea) son indicativas de tiroiditis con infiltración de linfocitos crónica (enfermedad de Hashimoto). El índice positivo de anti-Tg en sujetos con tiroiditis autoinmune es de aproximadamente el 70-80% y de aproximadamente el 30% en individuos con enfermedad de Grave. El ensayo de Anti-Tg es importante para evaluar la evolución de la enfermedad de Hashimoto y para el diagnóstico diferencial de presunta tiroiditis autoinmune de origen desconocido con resultados anti-TPO negativos, enfermedad de Grave sin infiltración de linfocitos. El ensayo de Anti-Tg también es útil para descartar interferencia por autoanticuerpos antitiroglobulina en el ensayo de Tg.

Fundamentos del método

Antibody to Thyroglobulin (CLIA) es un ensayo sandwich para determinar el nivel de anticuerpo anti-Tg en suero o plasma.

En el primer paso, se agregan a la cubeta de reacción: muestra, buffer de tratamiento de muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-biotina y Tg biotinilada. Luego de la incubación, el anticuerpo anti-Tg de la muestra se une a la Tg-biotinilada y la Tg-biotinilada a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-biotina. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados.

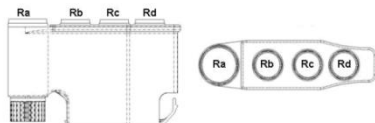
En el segundo paso, se agrega a la cubeta de reacción Tg-fosfatasa alcalina. La Tg-fosfatasa alcalina se une al complejo anti-Tg con la Tg de las micropartículas. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados.

Luego se añade la solución de sustrato (Substrate solution). La reacción quimioluminiscente producida se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de anticuerpo anti-Tg presente en la muestra es proporcional a las unidades relativas de luz (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de anti-Tg se determina mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-biotina en buffer MES.
Rb	Conjugado de Tg-fosfatasa alcalina en buffer PB.
Rc	Tg biotinilada en buffer PB.
Rd	Buffer de tratamiento de muestra.

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- **Anti-Tg Calibrators**
- **Anti-thyroid Antibodies Control (L)**
- **Anti-thyroid Antibodies Control (H)**
- **Wash Buffer**
- **Substrate Solution**

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera habitual. No utilizar muestras fuertemente hemolizadas ni inactivadas por

calor.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA, heparina sódica o heparina de litio como anticoagulantes.
c) Centrifugar las muestras y separar el suero o plasma antes de las dos horas.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, las muestras deben conservarse a 2-8°C. De esta manera, son estables hasta 48 horas refrigeradas a 2-8°C, o hasta 3 meses congeladas a -20°C o menos. Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco. El ensayo requiere 10 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Antibody to Thyroglobulin (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo al standard internacional de la WHO de Anti-Tg 65/093. La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de Anti-Tg. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Anti-thyroid Antibodies Control (L) y Anti-thyroid Antibodies Control (H) de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en UI/mL.

Valores esperados

En un estudio realizado sobre una población de 480 individuos sanos (el criterio incluyó niveles de TSH entre 0.5-2.0 UI/mL, sin enfermedad tiroidea y en ausencia de enfermedades autoinmunes no tiroideas) se confirma el valor de referencia de 4 UI/mL correspondiente al percentilo 95%.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El rango de medición del ensayo es de 0,9-2500 UI/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de Anti-Tg inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >2500 UI/mL. La concentración de Anti-Tg en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) Sensibilidad analítica: ≤0,9 UI/mL.

b) Rango de medición: 0,9 - 2500 UI/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, triglicéridos hasta 3000 mg/dL, proteínas totales hasta 10 g/dL, factor reumatoide hasta 1500 UI/mL ni anticuerpo antinuclear.

- El calibrador C0 de **Anti-Tg Calibrators** de Wiener lab. se complementó con anti-TPO a niveles específicos indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente.

Sustancia	Concentración	Anti-Tg observada	Criterios de aceptación
Anti-TPO	1400 UI/mL	1,63 UI/mL	Anti-Tg observada ≤5,0 UI/mL

d) Efecto prozona:

No se observó efecto prozona con las muestras analizadas que contenían hasta 350. 000 UI/mL de anti-Tg.

e) Exactitud:

Se utilizaron dos muestras del estándar internacional de la WHO de Anti-Tg 65/093 con un valor definido y trazable para verificar la exactitud del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	Anti-Tg medida (UI/mL)	Anti-Tg definida (UI/mL)	Desvío relativo
Nivel 1	11,27	11,05	1,99%
Nivel 2	248,27	250,36	-0,83%

f) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (UI/ml)	CV intra ensayo	CV Inter ensayo	CV total
1	8,25	3,09%	2,08%	3,09%
2	256,82	3,13%	2,09%	3,13%

g) Correlación:

El kit **Antibody to Thyroglobulin (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 336 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (UI/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,01~2500	1.0327	-1,0641	0,9950

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001014)
- 2 x 100 tests (cód. 1001015)

Referencias

- Feldt-Rasmussen, U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin and thyrotropin receptor. Clinical Chemistry: 42:1 pp. 160-3. (1996).
- Demers LM, Spencer CA. Laboratory medicine practice guidelines – Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. The National Academy of Clinical Biochemistry. Available <http://www.cdc.gov/niosh>.
- Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988; 34:27-33.
- Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
- Bjerner J, et al. Immunometric assay

interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.

SÍMBOLOS

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Elaborado por

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Consultar instrucciones de uso

 Este lado arriba

 Límite de temperatura (conservar a)

 Número de lote

 Fecha de caducidad

 Número de catálogo

 Riesgo biológico

 Contenido

 SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com>
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-139
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica