



## LIAISON® Anti-Tg (311711) Антитела к тиреоглобулину

### 1. Назначение

Количественное определение аутоантител к тиреоглобулину (анти-ТГ) в человеческой сыворотке и плазме (ЭДТА, гепарин) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

### 2. Введение

Тиреоглобулин (ТГ) представляет собой большой гликопротеин (молекулярная масса 660 кД), синтез и высвобождение которого регулируется тиротропным гормоном (ТТГ). Тиреоглобулин синтезируется в тироцитах, откуда секретируется в объем фолликула, где, в свою очередь, играет важную роль в продукции и накоплении тиреоидных гормонов.

Определение аутоантител к тиреоглобулину главным образом используется для диагностики аутоиммунных тиреоидитов. Одновременное повышение количества аутоантител к тиреопероксидазе (анти-ТПО) и тиреоглобулину (анти-ТГ) указывает на гипертрофическую форму аутоиммунного тиреоидита, а именно лимфоцитарный зоб (болезнь Хасимото), или атрофическую форму аутоиммунного тиреоидита.

Определение аутоантител к тиреоглобулину особенно рекомендуется в случае наличия подозрений на аутоиммунный тиреоидит в отсутствии аутоантител к ТПО. Положительный результат на анти-ТГ (низкий титр) так же встречается в 20% случаев неаутоиммунных заболеваний щитовидной железы, а также у здоровых людей.

### 3. Принцип метода

Метод количественного определения анти-ТГ представляет собой хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) по принципу сэндвича. Молекулы тиреоглобулина связаны с магнитными микрочастицами, поликлональные антитела к человеческим IgG мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы анти-ТГ, находящиеся в калибраторах, образцах или контролях, связываются с твердой фазой и конъюгатами с красителем. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию анти-ТГ в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

### 4. Состав набора

#### 1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые человеческим тиреоглобулином, БСА, 0,09% азид натрия.
Калибратор 1 (1 мл)	Человеческая сыворотка с анти-ТГ; БСА, 0,09% азид натрия.
Калибратор 2 (1 мл)	Человеческая сыворотка, анти-ТГ; БСА, 0,09% азид натрия.
Конъюгат (11,5 мл)	Козьи поликлональные антитела к человеческим IgG, меченные производным изолюминола, БСА, 0,09% азид натрия.
Буфер (28 мл)	БСА; азид натрия.
Раствор для разведения образцов (28 мл)	БСА; азид натрия.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию. Порядок расположения реактивов в таблице отражает их расположение в картридже реактивов.

## Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200).  Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и моющей станции (каталожный номер 310995).	Реакционные модули (каталожный номер 319130).  Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).

## Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

Контроль антител к тиреоглобулину (каталожный номер 319105)

### 5. Предупреждение

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

### 6. Меры предосторожности

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

Не переливайте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране.

Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Реагенты, содержащие азид натрия (<0,1 %) [ЕС №247-852-1]:

<b>DIRECTIVE</b>	<b>EC No. 1272/2008</b>
<b>HAZARD / RISK STATEMENTS</b>	<b>EUH 210 - Safety data sheet available on request</b>

### 7. Подготовка интегрального картриджа реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

#### Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

#### Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов. Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

#### **Установка интеграла в область загрузки реактивов**

##### **Анализатор LIAISON®**

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

##### **Анализатор LIAISON® XL**

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

#### **7.2. Контроли**

- Для правильной подготовки контролей к работе и использованию их, обратитесь к инструкции контроля LIAISON® Анти-Тг (кат.№ 319105).

#### **8. Хранение и стабильность интегрального картриджа реактивов**

**Невыскрывать: стабильны при** температуре 2-8°C до окончания срока годности.

Вскрытые, хранящиеся на борту или при температуре 2-8°C: стабильны 2 недели (см. п. 12)

После этого периода все еще можно продолжать использовать интеграл реагентов при условии, что контроли находятся в ожидаемых диапазонах. Всегда используйте один и тот же анализатор LIAISON® для уже открытого интеграла реагента. Хранить в вертикальном положении, чтобы облегчить последующее надлежащее ресуспендирование магнитных частиц. Используйте стеллаж для хранения, поставляемый с семейством анализаторов LIAISON®, для вертикального хранения интегрального реагента.

Хранить вдали от прямого света.

#### **9. Подготовка исследуемого материала**

Сыворотка или плазма (ЭДТА, гепарин). Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Для поддержания целостности пробы добавление дополнительных консервантов не требуется. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности.

Стабильность: 24 часа при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. Избегайте повторного замораживания пробы.

Минимально необходимый объем 170 µл (20 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

#### **10. Калибровка**

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла. Калибраторов в наборе достаточно для проведения 12 калибровок.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Используется новый набор реактивов (рекомендация).
- Прошло более 5 дней с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON®: значения калибратора хранятся в штрих-кодах на встроенной этикетке.  
Анализатор LIAISON® XL: значения калибратора хранятся в приемополучателе радиочастотной идентификации (метка RFID).

## **11. Процедура анализа**

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

**Анализатор LIAISON®:** каждый тестовый параметр идентифицируется штрих-кодами на этикетке с реагентом. В случае, если этикетка со штрих-кодом не может быть прочитана анализатором, интеграл не может быть использован. Не выбрасывайте интеграл реагента; обратитесь в местную службу технической поддержки DiaSorin за инструкциями.

**Анализаторы LIAISON® XL.** Каждый диагностический параметр идентифицируется посредством информации, зашифрованной в ретрансляторе радиочастотной идентификации (ярлык РЧИД) набора реагентов. В случае если ярлык РЧИД не считывается анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с местным отделом технической поддержки компании DiaSorin для получения инструкций. Подробнее см. В руководстве по эксплуатации анализатора.

Процедура анализа, выполняемого анализатором LIAISON, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, разведенных контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление раствора для разведения образцов А и магнитных частиц.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление конъюгата.
6. Инкубация.
7. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
8. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

Процедура анализа, выполняемого анализатором LIAISON XL, состоит из следующих стадий:

1. Добавление раствора для разведения образцов А и магнитных частиц.
2. Раскапывание разведенных калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление конъюгата.
6. Инкубация.
7. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
8. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

## **12. Контроль качества**

Для мониторинга выполнения анализа контроля следует запустить однократно. Контроль качества может проводиться при помощи контрольного материала DiaSorin или при помощи коммерческих контрольных материалов:

- не менее одного раза в день использования,
- каждый раз, когда используется новый набор реагентов,
- каждый раз после калибровки набора,
- каждый раз, когда используется новая партия стартовых реагентов,
- для оценки соответствия рабочих характеристик открытого набора по истечении 2 недель, либо в соответствии с директивами или требованиями местных норм или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны находиться в ожидаемых пределах: каждый раз, когда показатели одного из контролей выходят за ожидаемые пределы, следует повторить калибровку и заново проанализировать контроли. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за предварительно определенные пределы, следует повторить анализ, используя запечатанный флакон контроля. Не записывайте результаты анализов пациентов, если результаты контролей не будут в ожидаемых пределах. Перед использованием других контролей сначала следует оценить их характеристики на предмет совместимости с данным анализом. В таком случае следует установить подходящие диапазоны значений для используемых материалов для контроля качества.

## **13. Интерпретация результатов.**

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию анти-ТГ в МЕ/мл. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Калибраторы и контроли могут давать разные RLU или результаты

дозировки на LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты пациента эквивалентны.

### 13.1. Стандартизация

Тест калибровался относительно стандарта NIBSC 65/93.

**Измеряемый диапазон:** до 5000 МЕ/мл антител к ТГ.

### 13.3. Референсные значения

Нормальный диапазон составил 5-100 МЕ/мл.

С помощью набора реактивов LIAISON® анти-ТГ было исследовано 193 пробы здоровых доноров крови. В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию.

### Клинические образцы:

Анализ LIAISON® Anti-Tg был дополнительно оценен с использованием сывороток, полученных от 92 практически здоровых людей, 60 пациентов с диагнозом тиреоидит Хашимото и 50 пациентов с диагнозом болезни Грейвса (синдром Базедова). Критерии включения / исключения пациентов основывались на серологическом диагнозе.

Клинические условия	Число пациентов	Среднее значение (МЕ/мл)	2,5й перцентиль (МЕ/мл)	97,5й перцентиль (МЕ/мл)
Здоровые	92	< 5.00	< 5.00	269.35
Тиреоидит Хасимото	60	119.53	13.29	2933.04
Болезнь Грейвса	50	51.88	< 5.00	4984.93

### Клиническая чувствительность:

Распространенность образцов, которые показали результат выше порогового значения для LIAISON® Anti-Tg и соответствующие доверительные пределы 95% (ДП).

Клинические условия	Число пациентов	LIAISON Анти-Тг % положительных результатов	95% ДП
Здоровые	92	5,4%	1,8 – 12,2%
Тиреоидит Хасимото	60	58,3%	44,9 – 70,9%
Болезнь Грейвса	50	40,0%	26,4 – 54,8%

### Сравнение методов:

Сравнение LIAISON Анти-Тг с коммерческим тестом на определение Анти-Тг.

LIAISON Anti-Tg	Коммерческий тест на Анти-Тг			
		положительный	Нормальный	общее
	положительный	50	9	59
	Нормальный	4	112	116
общее	54	121	175	

Согласованность: 92,6%  
95% ДП: 87,6 – 96,0%

## 14. Ограничения

Реагенты следует использовать только на анализаторах линейки LIAISON®.

Одинарные компоненты набора реагентов нельзя удалять из набора.

Набор нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке.

Для получения надежных результатов требуется умелая техника и строгое соблюдение инструкций.

Бактериальное заражение или термоинактивация образцов может повлиять на результаты.

Сывороточные уровни анти-Тг сами по себе не свидетельствуют о наличии или отсутствии аутоиммунного заболевания щитовидной железы. Они всегда должны интерпретироваться в контексте клинической картины и других диагностических процедур. Поэтому любое терапевтическое решение должно приниматься в каждом конкретном случае. Образцы, содержащие уровни анти-Тг выше диапазона измерения, могут быть предварительно разбавлены разбавителем. Не допускается обмен интегралами между типами анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). Как только интеграл введен в конкретный тип анализатора, он всегда должен использоваться в этом анализаторе, пока он не будет исчерпан. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из вышеприведенного утверждения, последующие наблюдения пациентов могут не быть заключены между типами анализаторов. Это должно быть выполнено на одном конкретном типе анализатора (LIAISON® или LIAISON® XL).

## 15. Специфические характеристики набора

### 15.1 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может быть определена как способность анализа точно определять специфический анализ в присутствии потенциально мешающих факторов в матрице образца (например, гемолиз, липемия, билирубинемия).

### 15.2 Интерференция

Контролируемые исследования потенциально мешающих веществ или условий показали, что на результаты анализа не влияли концентрации билирубина <0,2 мг / мл, гемоглобина <1000 мг / дл или триглицеридов <30 мг / мл.

### 15.3 Кросс-реактивность

Для определения перекрестной реактивности в образцы сыворотки добавляли рекомбинантный антиген ТРО. До концентрации 25 мкг / мл р-ТРО анализ не показывает перекрестной реактивности.

### 15.4 Точность на анализаторе LIAISON

Различные образцы, содержащие различные концентрации анти-Тг, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивости внутри и между анализами).

Вариация внутри анализа			Изменения между анализами		
Среднее значение(IU/mL)	КВ (%)	Число определений	Среднее значение(IU/mL)	КВ (%)	Число определений
50.6	6.3	40	40.8	10.8	203
82.0	8.6	40	98.7	7.6	191
171.2	4.4	40	280.1	9.6	192
649.0	7.1	40	458.5	8.2	206
3524.0	4.9	40	3863.3	10.5	183

Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между лабораториями и местоположениями.

### 15.5 Точность на анализаторе LIAISON XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации анти-Тг, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивости внутри и между анализами).

Вариация внутри анализа			Изменения между анализами		
Среднее значение(IU/mL)	КВ (%)	Число определений	Среднее значение(IU/mL)	КВ (%)	Число определений
42.4	3.2	20	48.2	8.9	20
80.5	2.7	20	106.5	6.0	20
145.3	2.5	20	161.8	5.0	20
427.5	2.5	20	477.3	4.4	20
3416.0	2.3	20	3797.0	6.5	20

Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между лабораториями и местоположениями.

### 15.6 Достоверность

Достоверность анализа была проверена тестами на разбавление и восстановление.

### 15.7 Тест на разведение

Образцы, содержащие высокие концентрации анти-Тг, тестировали как таковые и после серийного разбавления разбавителем для образцов. Измеренные концентрации анти-Тг по сравнению с ожидаемыми анализировали с помощью линейной регрессии.

В таблице приведен пример сыворотки пациента, разбавленной разбавителем. Исходная концентрация: 3651 МЕ / мл

Степень разведения	Измеренное значение (МЕ/мл)	Ожидаемое значение (МЕ/мл)	Восстановление(%)
1 : 1.25	2643	2921	90.5
1 : 1.67	2036	2192	92.9
1 : 2.5	1462	1462	100.0
1 : 5	800	733	109.1
1 : 10	330	368	89.6

### 15.8 Тест на восстановление

Образцы с добавлением анти-Тг были протестированы для оценки восстановления анализа LIAISON® Anti-Tg. В таблице приведен пример восстановления концентраций анти-Тг в сыворотке с низким титром (1,6 МЕ / мл), в которую добавлена сыворотка с высоким титром (1009 МЕ / мл).

Степень разведения	Измеренное значение (МЕ/мл)	Ожидаемое значение (МЕ/мл)	Восстановление(%)
1 : 1.25	840	807	104
1 : 1.67	575	606	95
1 : 2.5	395	404	98
1 : 5	212	203	104
1 : 10	111	102	109

### 15.9 Эффект высокой дозы

Эффект высокой дозы крючка не наблюдалось для концентраций до 259 000 МЕ / мл.

Всякий раз, когда тестируются образцы, содержащие чрезвычайно высокие концентрации аналита, эффект высокой дозы может имитировать концентрации ниже реальных. Анализ эффекта высокой дозы оценивали путем тестирования 5 высококонцентрированных образцов с анти-Тг. Все образцы привели к расчетным значениям концентрации выше диапазона измерений, что указывает на отсутствие ошибочной классификации образцов.

### 15.10 Аналитическая и функциональная чувствительность

#### Аналитическая чувствительность:

Аналитическая чувствительность определяется как минимальная определяемая доза, отличимая от нуля двумя стандартными отклонениями.

#### Функциональная чувствительность:

Функциональная чувствительность определяется как самая низкая концентрация аналита, которая может быть определена с помощью CV между анализами <20%.

	Аналитическая чувствительность	Функциональная чувствительность
LIAISON®	5 МЕ/мл	10 МЕ/мл

## 16. Литература

1. Erregragui K, Cheillan F, Defoort JP, Prato S, Fert V. Autoantibodies to thyroid hormones: the role of thyroglobulin. Clin Exp Immunol 1996; 105: 140-147
2. Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. Clin Chem 1996; 42(1): 160-163
3. Furmaniak J, Rees Smith B. Review: The Structure of Thyroid Autoantigens. Autoimmunity 1990; 7: 63-80
4. Pfannenstiel P, Hotze LA, Saller B. Schilddrüsen-Krankheiten. Diagnose und Therapie. 3rd completely revised edition; Berliner Med. Verl. Anst., Berlin 1997
5. Tomer Y. Short Analytical Review: Anti-thyroglobulin Autoantibodies in Autoimmune Thyroid Diseases: Cross-Reactive or Pathogenic? Clin Immunol Immunopathol 1997; 82(1): 3-11
6. Weelman AP. Autoimmune thyroiditis: predisposition and pathogenesis. Clin Endocrinol 1992; 36: 307-323