



# ImmuGlo™ Anti-Thyroid Antibody (ATA) Test System

**IVD**

**REF** Code: 1143 48 determinations

## PRODUCT INSERT

### INTENDED USE

An indirect immunofluorescence antibody test for the detection and semi- quantitation of thyroid autoantibodies in human serum.

### SUMMARY AND EXPLANATION

Autoimmune diseases such as Hashimoto's thyroiditis, primary autoimmune hypothyroidism and Grave's disease, are characterized by the presence of autoantibodies to thyroglobulin and microsomal antigens. Thyroglobulin is a large (660 kD) glycoprotein and functions as a prohormone. Thyroid peroxidase (TPO) is a 105 kD microsomal antigen involved in the iodination and coupling of specific homognogenic tyrosines in the production of thyroxine and triiodothyronine. Measurement of autoantibodies to thyroglobulin and TPO antigens are important in the diagnosis of thyroid diseases<sup>1-4</sup>. The thyroid antibodies can be measured by various methods such as indirect immunofluorescence, passive hemagglutination, and enzyme immunoassays.

### PRINCIPLES OF PROCEDURE

In the indirect immunofluorescence method used, patient serum is incubated on optimized preparations of tissue sections to allow binding of antibodies to the substrate. Any antibodies not bound are removed by rinsing. Bound antibodies of the IgG class are detected by incubation of the substrate with fluorescein-labeled anti-human IgG conjugate. Reactions are observed under a fluorescence microscope equipped with appropriate filters<sup>5</sup>. The presence of autoantibody reactions are demonstrated by an apple green fluorescence, either of the colloid or the follicular epithelial cells.

### PRODUCT INFORMATION

#### Storage and preparation

Store all reagents at 2-8°C. Reagents are ready for use after equilibration to room temperature.

#### Materials provided

**REF** Code: 1143 48 determinations

8 x	<b>SORB SLD 6</b>	8 well Substrate Slides, Monkey Thyroid
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL + ATA</b> *	Anti-Thyroid Positive Control. Contains human serum.
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL -</b> *	Negative Control. Contains human serum.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC</b> *	Anti-human IgG FITC Conjugate. Protect from light.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC EB</b> **	Anti-human IgG FITC Conjugate containing Evan's Blue. Protect from light.
1 x 60 ml	<b>BUF</b> *	Buffered Diluent.
2 vials	<b>BUF WASH</b>	Phosphate Buffered Saline (PBS). Dissolve each vial to 1 liter.

- 1 x 5.0 ml **MOUNTING MEDIUM**\* Mounting Medium. Do not freeze.
- 1 x 1.0 ml **EVANS** Evan's Blue Counterstain.
- 1 x 12 **COVER SLD** Coverslips.

\* Contains < 0.1% NaN<sub>3</sub>

† Replaces conjugate without counterstain in Code numbers containing "EB"

#### Material required but not provided

Fluorescence microscope  
 Micropipette or Pasteur pipette  
 Serological pipettes  
 Staining dish (e.g. Coplin jar)  
 Small test tubes (e.g. 13 x 75 mm) and test tube rack  
 Distilled or deionized water  
 1 liter container  
 Wash bottle  
 Paper towels  
 Incubation chamber

#### WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *in vitro* Diagnostic Use. All human derived components used have been tested for HbsAg, HCV, HIV-1 and 2 and HTLV-I and found negative by FDA required tests. All human serum specimens and human derived products should be treated as potentially hazardous, regardless of their origin. Follow good laboratory practices in storing, dispensing and disposing of these materials<sup>9</sup>.

WARNING - Sodium azide (NaN<sub>3</sub>) may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal of liquids, flush with large volumes of water to prevent azide buildup. Sodium azide may be toxic if ingested. If ingested, report incident immediately to laboratory director or poison control center.

Instructions should be followed exactly as they appear in this insert to ensure valid results. Do not interchange kit components with those from other sources other than the same catalog number from IMMCO. Do not use beyond expiration date.

#### SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Only serum specimens should be used for this procedure. Grossly hemolyzed, lipemic or microbially contaminated specimens may interfere with the performance of this test and should not be used. Store specimens at 2-8°C for no longer than one week. For longer storage, serum should be frozen at -20°C. Avoid repeated freezing and thawing of samples.

#### PROCEDURE

##### Test Method

##### A. Screening

1. Dilute each patient serum 1:10 with the Buffered Diluent provided (10 µl serum + 90 µl Diluent). Do not dilute Positive or Negative Controls. Save the undiluted sera to determine antibody titers if screening tests are found to be positive.
2. Allow pouches containing substrate slides to equilibrate to room temperature for 10-15 minutes. Carefully remove the slides without touching the substrate.
3. Label the slides and place them in an incubation chamber lined with paper towels moistened with water to prevent drying.
4. Invert dropper vial and gently squeeze to apply 1 drop (approximately 50 µl of the Negative Control to well #1. Similarly apply 1 drop of Positive Control to well #2. Avoid overfilling the wells.
5. Using a micropipette or Pasteur Pipette, apply 1 drop of patient's diluted serum (approximately 50 µl) to the other wells. Avoid overfilling the wells.
6. Place the lid on the incubation chamber and incubate slides 30 minutes at room temperature.

7. Remove a slide from the incubation chamber. Hold slide at tab end and rinse gently with approximately 10 ml PBS using a pipette, or rinse slide in beaker filled with PBS. Do not use wash bottle. Transfer slide immediately into Coplin jar and wash 10 minutes. Repeat process with all remaining slides.
8. Remove slide(s) from Coplin jar. Blot the edge of the slide on a paper towel to remove excess PBS. Place the slide in the incubation chamber. Immediately invert the Conjugate dropper vial and gently squeeze to apply 1 drop (approximately 50  $\mu$ l) to each well.
9. Repeat steps **7 and 8** for each slide.
10. Replace the lid on the incubation chamber. Incubate 30 minutes at room temperature.
11. Remove a slide from incubator. Hold the slide at the tab end and dip the slide in a beaker containing PBS to remove excess conjugate. Place slide(s) in a staining dish filled with PBS for 10 minutes. If desired, 2-3 drops of Evans blue counterstain may be added to the final wash. Repeat for the remaining slides. NOTE: Improper washing may lead to increased background fluorescence.
12. Remove a slide from the staining dish. Blot the edge of the slide on a paper towel to remove excess PBS. **To prevent slide from drying, proceed immediately with next step while slide is still wet.**
13. Mount the coverslip by applying **3 drops** of Mounting Medium evenly on the coverslip and place coverslip over slide. Avoid applying undue pressure and prevent lateral movement of the coverslip.
14. Repeat steps 12 and 13 for each slide.
15. Examine for specific fluorescence under a fluorescence microscope at a magnification of 200x or greater.

Slides may be read as soon as prepared. However, because of the presence of antifading agent in the mounting medium, no significant loss of staining intensity occurs if reading is delayed for up to 48 hours. Slides should be stored in the dark at 2-8°C.

#### B. Endpoint Determination (titration)

A serum positive in the screening test may be further tested following steps 5 through 13 to determine the titer. Each test run should include the Positive and Negative Controls. Make serial two-fold dilutions starting at 1:10. The reciprocal of the highest dilution producing a positive reaction is the titer.

#### Preparation of Serial Dilutions

Number four tubes 1 through 8. Add 0.9 ml of Sample Diluent to tube 1 and 0.2 ml to tubes 2 through 8. Pipette 0.1 ml of undiluted serum to tube 1 and mix thoroughly. Transfer 0.2 ml from tube 1 to tube 2 and mix thoroughly. Continue transferring 0.2 ml from one tube to the next after mixing to yield the dilutions depicted in the following table:

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Serum	0.1 ml							
	+							
Buffered Diluent	0.9 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
		↻	↻	↻	↻	↻	↻	↻
Transfer		0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Final dilution	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

#### QUALITY CONTROL

Both a positive and negative control serum should be included with each test run. The negative control should show no specific fluorescence, whereas the positive control should have 2+ or greater staining intensity .

If expected results are not obtained, the run should be repeated. If inadequate results continue to occur with the controls, these may be due to:

- Gross contamination as a result of improper storage or handling. If signs of contamination such as turbidity are seen, discard and use another control.

- Problems with the optical system of the fluorescence microscope. These may include: improper alignment, use of the bulb beyond the expected performance life, etc.
- Allowing the slide to dry during the procedure.

#### **INTERPRETATION OF RESULTS**

The results of the tests for thyroid antibodies should be read as negative (<10) or positive with titer. Read for specific staining of the colloid or the epithelial cells of the follicles. Various other tissue antibodies such as anti-nuclear antibodies (ANA), and anti-mitochondrial antibodies (AMA) may also be observed on thyroid tissue. Any sera giving nuclear staining reactions may be tested on Antinuclear Antibody (ANA) Test (HEp-2 Cells), Antinuclear Antibody (ANA) Test (Mouse Liver Sections). Any sera giving smooth muscle or mitochondrial staining reactions may be tested on Autoantibody Test System (Mouse Kidney/Stomach Sections).

#### **LIMITATION OF THE PROCEDURE**

In some cases, sera positive for thyroid antibodies may either be very weak or negative at the initial screening dilution (prozone phenomenon). In such doubtful cases the sera should be screened at higher dilutions and, if positive, antibody titers determined.

In some cases the presence of two or more autoantibodies in a serum which are reactive with the same substrate may cause an interference in their detection by immunofluorescence. This interference may cause either a failure to detect anti-thyroid antibodies or a suppression of its titer if the interfering antibody has a higher titer.

#### **CLINICAL SIGNIFICANCE**

Anti-thyroid antibodies are found in patients with autoimmune thyroid disorders and occasionally in healthy individuals. Table 1 at the end of this document summarizes the association of thyroid antibodies to the disease state<sup>3</sup>.



# ImmuGlo™ Detection des Anticorps Anti-Thyroïde (ATA)

IVD

REF Code: 1143 48 déterminations

Test par immunofluorescence indirecte pour la recherche et la détermination quantitative des anticorps anti-thyroïde dans le sérum humain.

## GENERALITES

Les maladies autoimmunes telles que le Thyroïdite de Hashimoto, l'hypothyroïdisme autoimmun primaire et la maladie de Grave, sont indiqués par la présence des autoanticorps au thyroglobuline et aux antigènes microsomes. Le thyroglobuline est une grande (660kD) glycoprotéine agissant comme un prohormone. La peroxydase thyroïde (TPO) est un 105 microsomique de kD antigeninvolved dans l'iodation et l'accouplement des tyrosines homognogenic spécifiques dans la production de la thyroxine et du triiodothyronine. La mesure des autoanticorps au thyroglobuline et les antigènes (TPO) microsomes sont importants dans le diagnostic des maladies thyroïde<sup>1-4</sup>. Les anticorps thyroïde peuvent être mesurés par de diverses méthodes telles que l'immunofluorescence indirecte, le hemagglutination passif, et les ELISAs.

## PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Selon la méthode immunofluorescence indirecte employée, le sérum patient est incubé sur les préparations optimisées des sections de tissu pour permettre lier des anticorps au substrat. Tous les anticorps non liés sont éliminés par le rinçage. Des anticorps attachés de la classe IgG sont détectés par l'incubation du substrat avec le conjugué anti-humain fluorescéine-marqué IgG. On observe des réactions sous un microscope de fluorescence équipé des filtres appropriés<sup>5</sup>.

La présence des réactions d'autoanticorps sont démontrées par une fluorescence vert pomme, des cellules épithéliales colloïdales ou folliculaires.

## INFORMATION PRODUIT

### Conservation et préparation des réactifs

Conserver tous les réactifs entre 2° et 8° C. Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Avant utilisation, attendre que les réactifs s'équilibrent à la température ambiante du laboratoire.

### Matériel fourni

REF Code: 1143 48 déterminations

8 x	<b>SORB SLD 6</b>	<b>Lames 8puits</b> , thyroïde de singe
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL + ATA</b> *	<b>Contrôle positif anti-thyroïde</b> , sérum humain
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL -</b> *	<b>Contrôle négatif</b> , sérum humain.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC</b> *	<b>Conjugué FITC anti-IgG</b> humaines. Maintenir à l'abri de la lumière
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC EB</b> *†	<b>Conjugué FITC anti-IgG</b> humaines avec de l'Evan's Blue. Maintenir à l'abri de la lumière.
1 x 60 ml	<b>BUF</b> *	<b>Diluant sérum</b> .
2 fioles	<b>BUF WASH</b>	<b>Tampon phosphate salin</b> (PBS). Dissoudre chaque flacon pour obtenir 1 litre.

1 x 5.0 ml	<b>MOUNTING MEDIUM</b> *	<b>Milieu de montage.</b> Ne pas congeler.
1 x 1.0 ml	<b>EVANS</b>	<b>Contre colorant Bleu d'Evans.</b>
1 x 12	<b>COVER SLID</b>	<b>Lamelles couvre-lames.</b>

\* Contient < 0.1% NaN<sub>3</sub>

† Remplace le conjugué sans la **ontre colorant Bleu d'Evans** dans des numéros contenant "EB"

#### **Matériel nécessaire mais non fourni**

Microscope à fluorescence  
 Micropipette ou pipette Pasteur  
 Pipette sérologique  
 Bac à coloration pour le lavage des lames  
 Petits tubes (ex 13X75 mm) et portoir  
 Eau distillée ou déionisée  
 Eprouvette graduée 1l  
 Flacon pour solution de lavage  
 Serviettes en papier  
 Chambre d'incubation

#### **MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS**

Utilisation comme test de diagnostic in vitro. Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation des réactifs a été testé en respectant les recommandations de la FDA et trouvé non réactif en antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), en anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti HCV) et en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti VIH1, anti VIH2 et HTLV-I). Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage<sup>6</sup>.

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium. Ce composé peut former avec des canalisations de plomb ou de cuivre des azotures métalliques hautement explosifs. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, lors de l'élimination de ces réactifs dans un évier, rincer l'évier à grande eau.

La qualité des résultats est dépendante du respect des instructions figurant dans la présente notice. Ne pas échanger des réactifs du coffret composants par d'autres provenant d'autres fabricants.

#### **PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS**

Seuls les sérums peuvent être utilisés dans ce test. Il est recommandé de ne pas les utiliser les sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne pouvant provoquer des interférences avec les performances du test. Conserver les sérums à 2-8°C pendant une semaine au maximum. Pour une conservation plus longue, congeler les sérums à -20°C. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums.

#### **MODE OPÉRATOIRE**

##### **A. Dépistage**

1. Diluer chaque sérum de patient au 1:10 dans le diluant échantillon fourni (10µl de sérum + 90µl de diluant). Ne pas diluer les contrôles positifs ou négatifs. Conserver le sérum pur pour déterminer le titre des autoanticorps dans le cas où le dépistage sera trouvé positif.
2. Laisser revenir les lames à la température du laboratoire pendant 10-15 minutes dans le sachet scellé. Sortir les lames avec précaution sans toucher le substrat.
3. Numéroter les lames et les placer en chambre humide avec des serviettes papier mouillées pour éviter l'assèchement.
4. Appuyer doucement sur le flacon pour déposer 1 goutte (environ 50µl) de Contrôle Négatif sur le puits #1. De la même façon déposer 1 goutte de Contrôle Positif sur le puits #2. Eviter de déborder des puits.

5. Avec une micropipette ou une pipette Pasteur, déposer 1 goutte (environ 50µl) de sérum dilué dans les puits restants. Eviter de déborder les puits.
6. Recouvrir la chambre humide et incuber les lames 30 minutes à température ambiante.
7. Sortir une lame de la chambre humide. En la tenant par un bord, rincer doucement avec une pipette et environ 10 ml de PBS ou rincer la lame dans un bécher rempli de PBS. Ne pas utiliser de pissette. Transférer immédiatement la lame dans un bac à coloration et laver pendant 10 minutes. Répéter les opérations avec toutes les lames.
8. Retirer une lame du bac. Eliminer l'excès de PBS sur une serviette papier. Déposer la lame dans la chambre humide. Déposer immédiatement 1 goutte de conjugué dans chaque puits.
9. Répéter les étapes 7 et 8 avec chaque lame.
10. Recouvrir la chambre humide et incuber 30 minutes à température ambiante.
11. Sortir une lame de la chambre humide. Plonger la lame dans un bécher rempli de PBS pour éliminer l'excès de conjugué. Transférer dans un bac à coloration et laver pendant 10 minutes. Si une contre-coloration est souhaitée, ajouter 2-3 gouttes de Bleu d'Evans dans le dernier bain de lavage. Répéter les opérations avec toutes les lames.  
REM: Un lavage incorrect peut altérer la morphologie des neutrophiles et provoquer un bruit de fond de fluorescence.
12. Retirer une lame du bac. Eliminer l'excès de PBS sur une serviette papier. Pour éviter de mettre à sec les puits, réaliser immédiatement l'étape 13 pendant que la lame est humide.
13. Déposer doucement 3 gouttes de milieu de montage dans la lamelle couvre-lame également et appliquer la lamelle couvre-lame. Ne pas appliquer de pression excessive et éviter les mouvements latéraux de la lamelle.
14. Répéter les étapes 12 et 13 avec chaque lame.
15. Observer la fluorescence spécifique à l'aide d'un microscope au grossissement X200 ou plus.

Les lames peuvent être lues immédiatement. Cependant, grâce à la présence d'un agent anti-fading dans le milieu de montage, la lecture peut être retardée jusqu'à 48 heures sans perte significative de l'intensité de fluorescence. Dans ce cas les lames doivent être conservées à l'obscurité à 2-8°C.

#### B. Détermination du titre par les dilutions en cascade

Un sérum trouvé positif au test de dépistage doit être retesté en suivant les étapes 5 à 13 afin de définir son titre. Inclure dans chaque nouvelle série un contrôle positif et négatif. Les dilutions en série de 2 en 2 sont réalisées à partir du 1:10. Le titre du sérum est défini par la dernière dilution donnant une fluorescence positive.

#### Préparation des dilutions en série

Numéroter quatre tubes de 1 à 8. Ajouter 0.9 ml de diluant échantillon dans le tube 1 et 0.2 ml dans les tubes 2 à 8. Pipetter 0.1 ml de sérum pur dans le tube 1 et agiter soigneusement. Transférer 0.2 ml du tube 1 dans le tube suivant et après agitation répéter la même opération pour les tubes suivants comme indiqué dans le tableau ci-dessous:

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Sérum	0.1 ml							
	+							
Diluant Echantillon	0.9 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
		↻	↻	↻	↻	↻	↻	↻
Transfert		0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Dilution finale	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus dans chaque série. Le contrôle négatif ne donne pas d'image fluorescente spécifique. Le contrôle positif on obtient une fluorescence 2+ ou supérieure.

Dans le cas où les contrôles ne donnent pas les résultats attendus, il est recommandé de refaire le test. Si le problème persiste, cela peut être lié à:

- La turbidité. Eliminer le contrôle et en utiliser un nouveau.
- Au système optique du microscope. Par exemple: mauvais alignement, lampe ayant dépassé sa durée de vie, etc.
- A un assèchement des lames pendant la manipulation.

#### **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Les résultats des essais pour des anticorps thyroïde devraient être lus en tant que négatifs (< 10) ou positif avec le titre. Lu pour la souillure spécifique des cellules colloïdales ou épithéliales des follicules. On peut également observer de divers autres anticorps de tissu tels que les anticorps antinucléaires (ANA), et anticorps anti-mitochondriques (AMA) sur le tissu thyroïde. Tous les sérums donnant des réactions de souillure nucléaires peuvent être examinés sur le test anticorps antinucléaires (ANA) (Cellules HEP-2 et foie de souris). Tous les sérums donnant le muscle lisse ou les réactions de souillure mitochondriques peuvent être examinés sur les rein/estomac de souris.

#### **LIMITES D'UTILISATION**

Parfois un sérum thyroïde positif peut donner un résultat faiblement positif ou négatif à la dilution de dépistage (effet de zone). Dans ce cas, préparer les dilutions en série de l'échantillon et déterminer le titre de l'anticorps.

Parfois la présence de deux ou plus autoanticorps différents dans le sérum peut créer des interférences en immunofluorescence. Cela peut masquer la détection de l'anticorps anti-thyroïde ou cacher le titre si l'anticorps qui interfère a un titre plus élevé que celui des anti-thyroïde.

#### **SIGNIFICATION CLINIQUE**

Des anticorps d'antithyroïde sont trouvés dans les patients présentant des désordres autoimmuns thyroïde et dans les individus en bonne santé. Le tableau 1 à la fin de ce document indique l'association des anticorps thyroïde à l'état de la maladie<sup>3</sup>.



# ImmuGlo™ TEST DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTITIROIDES (ATA)

IVD

REF Code: 1143 48 determinations

Test de detección de inmunofluorescencia indirecta para la detección y cuantificación de los anticuerpos antitiroides en el suero humano.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Las enfermedades autoinmunes tales como la Tiroiditis de Hashimoto, hipotiroidismo autoinmune primario y enfermedad de Grave, son indicados por la presencia de autoanticuerpos antitiroglobulina y a los antígenos microsomaes. tiroglobulina es una glicoproteína grande (660kD) y funciona como un prohormona. La peroxidasa de la tiroides (TPO) es 105 microsomaes del kD antígenoinvolvemento en la yodación y el acoplador de tirosinas homonogénicas específicas en la producción de tiroxina y de triiodotironina. La medida de autoanticuerpos antitiroglobulina y los antígenos microsomaes (TPO) son importantes en la diagnosis de las enfermedades de tiroides <sup>1-4</sup>. Los anticuerpos de la tiroides se pueden medir por varios métodos tales como inmunofluorescencia indirecta, hemagglutinación pasiva, e ELISAs.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

En el método indirecto de la inmunofluorescencia usado, el suero paciente se incubó en preparaciones optimizadas de las secciones del tejido para permitir atar de anticuerpos al sustrato. Cualquier anticuerpo no limitado es quitado aclarando. Los anticuerpos encañados de la clase IgG son detectados por la incubación del sustrato con la conjugación contra-humana fluorescein-etiquetada IgG. Las reacciones se observan debajo de un microscopio de la fluorescencia equipado de los filtros apropiados <sup>5</sup>. La presencia de las reacciones del autoanticuerpos es demostrada por una fluorescencia verde, de las células epiteliales coloides o foliculares.

## INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

### Almacenamiento y preparación

Almacenar todos los reactivos a una temperatura de 2-8°C. Los reactivos pueden emplearse después de haber sido equilibrados a temperatura ambiente.

### Materiales Suministrados

REF Code: 1143 48 determinations

8 x	<b>SORB SLD 6</b>	Portaobjetos de 8 pocillos, tiroides del primate
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL + ATA</b> *	Control positivo antitiroides, suero humano
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL -</b> *	Control negativo, suero humano.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC</b> *	Conjugado isotiocianato de fluoresceína (FITC)-IgG anti humana. Proteger de la luz.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC EB</b> **	Conjugado isotiocianato de fluoresceína (FITC)-IgG anti humana con azul de Evans. Proteger de la luz.

1 x 60 ml	<b>BUF</b> *	Diluyente de la muestra.
2 frascos	<b>BUF WASH</b>	Fosfato salino tamponado (PBS). Disolver cada vial en 1 litro.
1 x 5.0 ml	<b>MOUNTING MEDIUM</b> *	Medio de preparación. No congelar.
1 x 1.0 ml	<b>EVANS</b>	Colorante de contraste azul de Evans.
1 x 12	<b>COVER SLD</b>	Cubreobjetos.

\* PRECAUCIÓN - Contiene < 0.1% NaN<sub>3</sub>

† Sustituye **Conjugado sin azul de Evans** en los números de código que contienen el "EB"

#### Material necesario, pero no suministrado

Microscopio de fluorescencia  
 Micropipetas o pipeta Pasteur  
 Pipetas serológicas  
 Placa de tinción (por ejemplo, frasco de Coplin)  
 Tubos de ensayo pequeños (por ejemplo, 13 x 75 mm) y gradilla de tubos de ensayo  
 Agua destilada o desionizada  
 Envase de 1 litro  
 Frasco de lavado  
 Toallas de papel  
 Cámara de incubación

#### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*. Todos los componentes de derivados sanguíneos humanos han sido ensayados respecto a la presencia de HbsAg, VHC, VIH-1 y 2 y el virus linfotrofo de células T humanas (VLTH-I), siendo negativos en los ensayos necesarios según la FDA (Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos). Todas las muestras de suero y los derivados sanguíneos humanos deben tratarse como un material potencialmente peligroso, independientemente de su origen. En consecuencia, deben seguirse unas prácticas de laboratorio adecuadas durante el almacenamiento, dispensación y eliminación de dicho material<sup>6</sup>.

PRECAUCIÓN - La azida sódica (NaN<sub>3</sub>) puede reaccionar con el plomo y el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas muy explosivas. Después y desechar los líquidos, es necesario lavar con un volumen grande de agua para evitar la acumulación de azida. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere. En caso de ingestión, notificarlo inmediatamente al director del laboratorio o al centro toxicológico.

Para poder garantizar la obtención de resultados válidos, deben seguirse de forma exacta las instrucciones indicadas en este prospecto. No intercambiar componentes del equipo por otros diferentes que no tengan el mismo número de catálogo de IMMCO. No utilizar este equipo después de la fecha de caducidad.

#### OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para la realización de esta determinación sólo debe utilizarse suero. Las muestras con hemólisis macroscópica, lipémicas o contaminadas por microorganismos pueden interferir en el funcionamiento del ensayo y, por tanto, no deben ser utilizadas. Almacenar las muestras a una temperatura de 2-8°C durante un período no superior a una semana. Cuando se desee un almacenamiento más prolongado, el suero debe congelarse a una temperatura de -20°C. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

#### PROCEDIMIENTO

##### Método de ensayo

##### A. Detección sistemática

1. Diluir 1:10 el suero de cada paciente con el diluyente de la muestra suministrado (10 µl de suero + 90µl del diluyente). No diluir los Controles Positivo o Negativo. Guardar el

sueros no diluidos para la determinación del título de anticuerpos si los resultados son positivos.

2. Permitir que los pocillos de los portaobjetos que contienen el sustrato se equilibren a temperatura ambiente durante 10-15 minutos. Extraer con cuidado los portaobjetos sin tocar el sustrato.
3. Etiquetar los portaobjetos y colocarlos en una cámara de incubación cubierta con toallas de papel humedecidas con agua para evitar la desecación.
4. Invertir el vial cuentagotas y presionar suavemente para aplicar 1 gota (aproximadamente 50 µl) del Control Negativo en el pocillo nº 1. De forma similar, aplicar una gota del Control Positivo en el pocillo nº 2. Evitar llenar demasiado los pocillos.
5. Con el empleo de una micropipeta o una pipeta Pasteur, colocar 1 gota del suero diluido del paciente (aproximadamente 50 µl) en los restantes pocillos. Evitar llenar demasiado los pocillos.
6. Tapar la cámara de incubación e incubar los portaobjetos durante 30 minutos a temperatura ambiente.
7. Quitar la tapa de la cámara de incubación. Coger el portaobjetos por el extremo y lavar suavemente con 10 ml de PBS mediante el empleo de una pipeta o lavar el portaobjetos en un vaso de precipitado lleno de PBS. No emplear un frasco de lavado. Transferir inmediatamente el portaobjetos al frasco de Coplin y dejarlo durante 10 minutos. Repetir el proceso con todos los portaobjetos restantes.
8. Extraer el portaobjetos del frasco de Coplin. Secar el extremo del portaobjetos con una toalla de papel para eliminar el exceso de PBS. Colocar el portaobjetos en la cámara de incubación, Invertir inmediatamente el vial cuentagotas del Conjugado y apretar suavemente para aplicar 1 gota (aproximadamente 50 µl) en cada pocillo.
9. Repetir las etapas 7 y 8 con cada portaobjetos.
10. Tapar la cámara de incubación. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
11. Extraer el portaobjetos del incubador. Sumergir el portaobjetos en un vaso de precipitado con PBS para eliminar el exceso de conjugado. Colocar el portaobjetos en una cubeta de tinción llena con PBS durante 10 minutos. Al final del lavado puede añadirse, si se desea, 2-3 gotas de colorante de contraste azul de Evans. Repetir el proceso con los portaobjetos restantes. NOTA: un lavado inadecuado puede repercutir en la morfología de los neutrófilos y puede originar un incremento de la fluorescencia de fondo.
12. Extraer el portaobjetos de la cubeta de tinción. Secar el portaobjetos con una toalla de papel para eliminar el exceso de PBS. Para evitar que se seque el portaobjetos, realizar inmediatamente, mientras el portaobjetos todavía está húmedo, el proceso descrito en el apartado 13.
13. Añadir 3 gotas del Medio de Preparación uniformemente en cubreobjetos y colocar el cubreobjetos sobre el portaobjetos. Evitar la aplicación de una presión excesiva y el movimiento lateral del cubreobjetos.
14. Repetir las etapas 12 y 13 con cada portaobjetos.
15. Examinar el desarrollo de fluorescencia específica en un microscopio de fluorescencia a 200x o más aumentos.

Los portaobjetos pueden leerse al terminar su preparación. Sin embargo, debido a que el medio de preparación contiene un agente antidesfocamiento, puede retrasarse la lectura durante un período de hasta 48 horas sin que se produzca una pérdida significativa de la intensidad de la tinción. Los portaobjetos deben almacenarse en la oscuridad a una temperatura de 2-8°C.

#### **B. Determinación del punto de valoración (titulación)**

Los sueros positivos durante el ensayo pueden valorarse de forma adicional, etapas 6 - 15, para determinar su titulación. Cada ensayo debe incluir un control positivo y negativo. Realizar diluciones seriadas dobles a partir de 1:10. El título es el valor recíproco de la dilución más elevada que produzca una reacción positiva.

### Preparación de las diluciones seriadas

Numerar cuatro tubos del 1 al 8. Añadir 0.9 ml del diluyente de la muestra en el tubo 1 y 0,2 ml en los tubos 2 a 8. Pipetear 0,1 ml del suero no diluido en el tubo 1 y mezclar minuciosamente. Transferir 0,2 ml del tubo 1 al tubo 2 y mezclar meticulosamente. Continuar transfiriendo 0,2 ml de un tubo al siguiente tras la mezcla y, de este modo, conseguir las diluciones ilustradas en la siguiente tabla:

<b>Tubos</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>Suero</b>	0.1 ml							
	+							
Diluyente tamponado	0.9 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
		↻	↻	↻	↻	↻	↻	↻
<b>Transferencia</b>	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	
<b>Dilución final</b>	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

### CONTROL DE CALIDAD

En cada serie de ensayos debe incluirse un control positivo y negativo. El control negativo no debe mostrar fluorescencia específica ; por el contrario, el control positivo debe tener una intensidad de tinción igual o superior a 2+.

Cuando no se obtienen los resultados esperados, debe repetirse el ensayo. Los resultados anómalos con los controles pueden producirse por:

- Turbidez. Desechar y utilizar otro control.
- Problemas del sistema óptico del microscopio de fluorescencia. Estos problemas pueden incluir un alineamiento inadecuado, una lámpara con fecha posterior a la esperanza de vida útil, etc.
- Secado del portaobjetos durante el procedimiento.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de las pruebas para los anticuerpos de la tiroides se deben leer como negativos (< 10) o positivo con título. Leído para mancharse específico de las células coloides o epiteliales de los folículos. Los anticuerpos otros del tejido tales como ANA, y los anticuerpos anti-mitochondrial (AMA) se pueden también observar en la tiroides.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

En algunos casos, el suero positivo antitiroides puede ser muy débil o negativo en la dilución inicial del ensayo (fenómeno prozona). En dichos casos dudosos, debe efectuarse el ensayo con diluciones superiores, y en los casos positivos, debe determinarse el título. En algunos casos, la presencia de dos o más anticuerpos en el suero que reaccionan con el mismo sustrato puede originar una interferencia de su detección mediante inmunofluorescencia. Esta interferencia puede impedir la detección de antitiroides u originar una supresión si el título del anticuerpo de interferencia tiene un título superior al de antitiroides.

### SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

Los anticuerpos antitiroides se encuentran en pacientes con enfermedades de tiroides autoinmunes y a veces en individuos sanos. La tabla 1 en el extremo de este documento indica la asociación de los anticuerpos de la tiroides con el estado de la enfermedad<sup>3</sup>.



# ImmuGlo™ TESTSYSTEM FÜR THYREOID-ANTIKÖRPER (ATA)

**IVD**

REF Code: 1143 48 determinations

Für den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Anti-**Thyreoid-**Antikörper (ATA) .

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Autoimmunerkrankheiten wie Hashimoto-Thyreoiditis, autoimmune hauptsächlich hypothyreose und Krankheit Graves, werden durch das Vorhandensein der Antikörper Thyreoglobulin und mikrosomalen Antigenen angezeigt. Thyreoglobulin ist ein großes Glucoprotein (660 kD) und dient als ein prohormone. Die Schilddrüsenperoxydase (TPO) ist antigeninvolvement in der Iodination und in der Koppelung der spezifischen homonogenen Tyrosine in der Produktion des Thyroxins und des Triiodothyronine ein 105 kD mikrosomales. Maß der Antikörper zum Thyreoglobulin und mikrosomale Antigene (TPO) sind in der Diagnose der Schilddrüsenerkrankungen wichtig<sup>4</sup>. Die Schilddrüsenantikörper können durch verschiedene Methoden wie indirekte Immunfluoreszenz, passives Hemagglutination und ELISAs gemessen werden.

## TESTPRINZIP

Die indirekte verwendete Immunfluoreszenzmethode, wird geduldiges Serum auf optimierten Vorbereitungen der Gewebeabschnitte ausgebrütet, um das Binden der Antikörper zum Substrat eintreten zu lassen. Alle mögliche nicht gesprungenen Antikörper werden durch das Ausspülen entfernt. Verklemmte Antikörper der IgG Kategorie werden durch Ausbrütung des Substrates mit Fluoreszin-beschriftetem Anti-menschlichem IgG Paronym ermittelt. Reaktionen werden unter einem Fluoreszenzmikroskop beobachtet, das mit passenden Filtern ausgerüstet wird<sup>5</sup>.

Das Vorhandensein der Autoantibodyreaktionen wird durch eine apfelgrüne Fluoreszenz, entweder der kolloidalen oder follicular Epithelzellen gezeigt.

## PRODUKTINFORMATIONEN

### agerung und Handhabung

Alle Reagenzien sind bei 2-8°C zu lagern. Die Reagenzien sind gebrauchsfertig, nachdem sie auf Raumtemperatur gebracht wurden.

### In der Testpackung vorhandenes Material

REF Code: 1143 48 determinations

8 x	<b>SORB SLD 6</b>	Objektträger zu 8 Auftragstellen, Primas- <b>Thyreoid</b>
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL + ATA</b> *	ATA Positive Kontrolle, Humanserum
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL -</b> *	Negative Kontrolle, Humanserum.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC</b> *	FITC-Konjugat, Anti-Human-IgG. Lichtgeschützt aufbewahren.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC EB</b> **	FITC-Konjugat, Anti-Human-IgG mit Evans Blau. Lichtgeschützt aufbewahren.
1 x 60 ml	<b>BUF</b> *	Probendiluent.

2 Phiole	<b>BUF WASH</b>	Phosphatgepuffertes Kochsalz (PBS). Inhalt eines Fläschchens in 1 Liter auflösen.
1 x 5.0 ml	<b>MOUNTING MEDIUM</b> *	Eindeckmittel. Nicht einfrieren.
1 x 1.0 ml	<b>EVANS</b>	Evans Blau Färbemittel.
1 x 12	<b>COVER SLD</b>	Deckgläschen.

\* enthält <0.1% NaN<sub>3</sub>

† Ersetzt Konjugat ohne Evans Blau Färbemittel in den Kennziffern, die "EB" enthalten.

#### Zusätzlich benötigtes Material

Fluoreszenzmikroskop  
Mikropipetten oder Pasteurpipetten  
Kolbenhubpipette  
Färbetrog (z.B. nach Coplin)  
Kleine Reagenzröhrchen (z.B. 12x75 mm) und dazu passende Gestelle  
Destilliertes oder entionisiertes Wasser  
Behälter, 1 Liter  
Papierhandtücher  
Feuchte Kammer

#### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur für In-vitro-Diagnostik. Alle Bestandteile menschlichen Ursprungs wurden auf das Vorhandensein von HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV-1/HIV-2 und Anti-HTLV-1 mit FDA-zugelassenen Tests untersucht und für negativ befunden. Alle Humansenen und Produkte menschlichen Ursprungs sollten ungeachtet ihrer Herkunft als potentiell gefährlich gehandhabt werden. Diese Materialien und ihre Behältnisse sind nach geltenden Vorschriften und Richtlinien zu lagern und zu beseitigen<sup>6</sup>.

ACHTUNG - Natriumazid (NaN<sub>3</sub>) kann mit Kupfer und Blei in Leitungen und Lötstellen unter Bildung hochexplosiver Metallazide reagieren. Um eine Bildung solcher Metallazide zu vermeiden, müssen Ausgüsse nach dem Ausgießen azidhaltiger Lösungen mit reichlich Wasser gespült werden. Natriumazid kann beim Verschlucken giftig sein. Fälle von Verschlucken sofort dem Laborleiter oder der Giftzentrale melden.

Um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, ist das Testprotokoll unbedingt einzuhalten. Falls Kitreagenzien ersetzt werden müssen, sollten nur Artikel von IMMCO der gleichen Artikelnummer verwendet werden. Keine verfallenen Reagenzien verwenden.

#### PROBENGEWINNUNG UND HANDHABUNG

Bei diesem Verfahren sollte nur Serum verwendet werden. Deutlich hämolytische, lipämische oder mikrobiell kontaminierte Proben können die Leistung dieses Tests beeinträchtigen und sollten daher nicht verwendet werden. Proben sollten nicht länger als eine Woche bei 2-8 °C gelagert werden. Bei längerer Lagerung sollten sie bei -20°C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.

#### TESTDURCHFÜHRUNG

##### Testmethode

##### A. Screening

1. Jedes Patientenserum mit dem Probendiluent aus dem Kit 1:10 (10 µl Serum + 90 µl Diluent) verdünnen. Die positiven und negativen Kontrollen nicht verdünnen. Die unverdünnten Nativseren aufbewahren, um bei positivem Suchtestergebnis gegebenenfalls den Antikörpertiter bestimmen zu können.
2. Beutel mit den beschichteten Objektträgern auf Raumtemperatur bringen (10-15 Minuten). Objektträger vorsichtig entnehmen, ohne die Beschichtung zu berühren.

3. Objektträger beschriften und, um ein Austrocknen der Beschichtung zu verhindern, in eine feuchte Kammer legen.
4. Von den Tropffläschchen mit der Negativen und Positiven Kontrolle jeweils 1 Tropfen (etwa 50 µl) auf die Auftragstellen #1 bzw. #2 ausdrücken. Auftragstellen nicht überfüllen.
5. Mit einer Mikro- oder Pasteurpipette 1 Tropfen verdünntes Patientenserum (etwa 50 µl) auf die weiteren Auftragstellen geben. Auftragstellen nicht überfüllen.
6. Die Objektträger in der abgedeckten feuchten Kammer 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
7. Jeweils einen Objektträger aus der feuchten Kammer nehmen. Am beschrifteten Ende anfassen und sorgfältig mit ca. 10 ml PBS aus einer Pipette spülen; alternativ Objektträger in einem Becher mit PBS spülen. Keine Spritzflasche verwenden. Objektträger sofort in einen Färbetrog mit PBS für 10 Minuten stellen. Mit den anderen Objektträgern ebenso verfahren.
8. Objektträger einzeln aus dem Färbetrog nehmen. Längsseite des Objektträgers gegen ein Papiertuch halten, um Überschuß an PBS zu entfernen. Objektträger in die feuchte Kammer legen und sofort vom Tropffläschchen mit Konjugat 1 Tropfen (ca. 50 µl) auf jede Auftragstelle ausdrücken.
9. Die Schritte 7 und 8 mit jedem Objektträger einzeln durchführen.
10. Feuchte Kammer abdecken und Objektträger 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
11. Jeweils einen Objektträger aus der feuchten Kammer nehmen. Am beschrifteten Ende anfassen und in einen Becher mit PBS eintauchen, um Überschuß an Konjugat zu entfernen. Objektträger 10 Minuten in einen Färbetrog mit PBS stellen. Falls Gegenfärbung gewünscht ist, können 2-3 Tropfen Evans Blau Färbemittel pro Trog hinzugefügt werden. Mit den anderen Objektträgern ebenso verfahren. HINWEIS: Unsachgemäßes Waschen kann die Morphologie der neutrophilen Zellen beeinträchtigen und eine erhöhte Hintergrundfluoreszenz bewirken.
12. Objektträger einzeln aus dem Färbetrog nehmen. Längsseite des Objektträgers gegen ein Papiertuch halten, um Überschuß an PBS zu entfernen. Um ein Austrocknen der Beschichtung zu vermeiden, sofort mit Schritt 13 fortfahren.
13. 3 Tropfen des Eindeckmittels sorgfältig auf Deckgläschen gleichmäßig geben und ein Deckgläschen auflegen. **Leicht** andrücken **und seitliche** Bewegung des Deckgläschens vermeiden.
14. Die Schritte 12 und 13 mit jedem Objektträger einzeln durchführen.
15. Auf spezifische Fluoreszenz hin unter einem Fluoreszenzmikroskop bei mindestens 200facher Vergrößerung auswerten.

Die Objektträger können sofort nachdem sie angefertigt wurden ausgewertet werden. Weil das Eindeckmittel einen Stoff enthält, der einem Ausbleichen entgegenwirkt, können die Objektträger jedoch bis 48 Std. später ausgewertet werden, ohne daß die Intensität der Fluoreszenz signifikant abklingt. Die Objektträger sollten im Dunkeln bei 2-8°C gelagert werden.

#### **B. Titerbestimmung**

Bei einem im Suchtest positiven Serum kann nach Durchführung der Schritte 5 bis 13 der Titer bestimmt werden. Zu diesem Zweck ist ausgehend von einer 1:10-Verdünnung eine Reihenverdünnung zu erstellen.

Bei jedem Testlauf sollten die positive und negative Kontrolle mitgeführt werden. Der Titer ergibt sich aus dem reziproken Wert der höchsten Verdünnung, die ein positives Ergebnis zeigt.

#### **Herstellung einer Reihenverdünnung**

Vier Röhrrchen mit 1 bis 8 beschriften. Vom Probendiluent 0,9 ml in Röhrrchen 1 und jeweils 0,2 ml in Röhrrchen 2 bis 8 geben. 0,1 ml unverdünntes Serum in Röhrrchen 1 pipettieren und gründlich durchmischen. Aus Röhrrchen 1 0,2 ml ins Röhrrchen 2 überführen und gründlich durchmischen. Die Verdünnungsreihe wie in der folgenden Tabelle dargestellt fortführen, indem nach Durchmischen jeweils 0,2 ml von einem Röhrrchen in das nächste überführt werden.

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7	8
Serum	0.1 ml							
	+							
Probendiluent	0.9 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
		↻	↻	↻	↻	↻	↻	↻
Zu überführen		0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Endverdünnung	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

#### QUALITÄTSKONTROLLE

Bei jedem Testlauf sollten sowohl eine positive wie eine negative Kontrolle mitgeführt werden. Die negative Kontrolle sollte keine spezifische Fluoreszenz. Die positive Kontrolle sollte eine Fluoreszenzintensität von mindestens 2+.

Werden die erwarteten Ergebnisse nicht erhalten, sollte der Testlauf wiederholt werden. Sind die Ergebnisse mit den Kontrollen auch dann nicht wie erwartet, kann dies folgende Ursachen haben:

- Trübungen. Kontrolle(n) verwerfen und eine neue verwenden.
- Probleme mit der Optik des Mikroskops, wie z.B.: unsachgemäße Ausrichtung, Lampe zu alt, usw.
- Objektträgerbeschichtung während Testdurchführung ausgetrocknet.

#### AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Resultate der Tests für Thyreoidantikörper sollten als negativ (< 10) oder Positiv mit Titer gelesen werden. Gelesen für das spezifische Beflecken der kolloidalen oder Epithelzellen der Follikel. Viele Antikörper wie ANA und Anti-mitochondrische Antikörper (AMA) können auf Schilddrüse auch beobachtet werden.

#### GRENZEN DES VERFAHRENS

In seltenen Fällen können hochtitrige anti-Thyreoid-Seren mit der ursprünglichen Suchtestverdünnung negativ bis schwach positiv reagieren (Prozonphänomen). Im Zweifelsfall sollten solche Seren mit einer höheren Verdünnung getestet und bei positivem Ergebnis titriert werden.

Enthält ein Patientenserum zwei oder mehrere Antikörper, die mit dem selben Substrat reagieren, so kann ihr Nachweis mit der indirekten Immunfluoreszenz aufgrund von Interferenz erschwert sein. Diese Interferenz kann den Nachweis von anti-Thyreoid entweder vereiteln oder einen zu niedrigen anti-Thyreoid-Titer bewirken, falls der Titer des interferierenden Antikörpers höher ist.

#### KLINISCHE BEDEUTUNG

Antithyreoidantikörper werden bei Patienten mit autoimmunen Thyreoid-Krankheiten und manchmal in den gesunden Einzelpersonen gefunden. Tabelle 1 am Ende dieses Dokumentes zeigt die Verbindung der Thyreoidantikörper mit dem Krankheitszustand an<sup>3</sup>.



## ImmuGlo™ ANALISI DELL'ANTICORPI ANTI-TIROIDE (ATA)

**IVD**

**REF** Code: 1143 48 determinations

Dosaggio in immunofluorescenza indiretta per l'individuazione e la determinazione quantitativa degli anticorpi anti-tiroide (ATA) nel siero umano.

### SUMMARY AND EXPLANATION

Le malattie autoimmuni quali il Tiroidite di Hashimoto, l'ipotiroidismo autoimmune primario e la malattia del Grave, sono indicate dalla presenza dei autoanticorpi al tireoglobulina ed agli antigeni microsomici. tireoglobulina è una grande glicoproteina (660kD) e funziona come proormone. La perossidasi della tiroide (TPO) è i 105 microsomici del kD antigen involved nello iodination e nell'accoppiamento delle tirosine homognogenic specifiche nella produzione di tirossina e di triiodothyronine. La misura dei autoanticorpi al tireoglobulina e gli antigeni microsomici (TPO) sono importanti nella diagnosi delle tiroidi <sup>1-4</sup>. Gli anticorpi della tiroide possono essere misurati con i vari metodi quali l'immunofluorescenza indiretta, il hemagglutination passivo ed i ELISAs.

### PRINCIPIO DEL METODO

Nel metodo indiretto di immunofluorescenza impiegato, il siero paziente è incubato sulle preparazioni ottimizzate delle sezioni del tessuto per permettere legarsi degli anticorpi al substrato. Tutti gli anticorpi non limitati sono eliminati risciacquando. Gli anticorpi rilegati del IgG sono rilevati tramite incubazione del substrato con il coniugato anti-umano fluorescina-identificato IgG. Le reazioni sono osservate sotto un microscopio di fluorescenza fornito dei filtri adatti <sup>5</sup>.

La presenza delle reazioni del autoanticorpi è dimostrata da una fluorescenza verde mela, delle cellule epiteliali coloide o follicular.

### CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO

Conservazione e preparazione

Conservare tutti i reagenti a una temperatura di 2-8°C. I reagenti sono pronti per l'uso dopo averli portati a temperatura ambiente.

### Materiali forniti

**REF** Code: 1143 48 determinations

8 x	<b>SORB SLD 6</b>	Vetrini-substrato con 8 pozzetti, tiroide del primate
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL + ATA</b> *	Controllo positivo ATA, siero umano.
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL -</b> *	Controllo negativo, siero umano.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC</b> *	Coniugato FITC anti-IgG umana. Tenere lontano dalla luce.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC EB</b> **	Coniugato FITC anti-IgG umana con Evan's Blue. Tenere lontano dalla luce.
1 x 60 ml	<b>BUF</b> *	Diluyente per campioni.
2 flaconcini	<b>BUF WASH</b>	Tampone fosfato-salino (PBS). Ricostituire ciascun flaconcino con 1 litro d'acqua.
1 x 5.0 ml	<b>MOUNTING MEDIUM</b> *	Tampone fosfato-salino (PBS). Ricostituire ciascun flaconcino con 1 litro d'acqua

1 x 1.0 ml **EVANS** Blu di Evans.

1 x 12 **COVER SLD** Vetrini coprioggetto.

\* Contiene < 0.1% NaN<sub>3</sub>

† Sostituisce il coniugato senza Blu di Evans nei numeri di codice che contengono "EB"

#### **Materiali necessari ma non forniti**

Microscopio a fluorescenza  
Micropipetta o pipetta Pasteur  
Pipette sierologiche  
Piastra di colorazione (ad esempio vaschetta di Coplin)  
Piccole provette (ad es. 13 x 75 mm) e porta provette  
Acqua distillata o deionizzata  
Contenitore da 1 litro  
Bottiglia di lavaggio  
Carta assorbente  
Incubatore

#### **AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Per uso diagnostico *in vitro*. Il materiale di origine umana utilizzato nella preparazione dei reagenti è stato controllato ed è risultato negativo ai test richiesti dalla FDA per la presenza dell'HBsAg, HCV, HIV-1 e 2 e HTLV-I. Tuttavia, maneggiare tutti i campioni di siero umano e i prodotti di origine umana come fonte potenziale di infezione, indipendentemente dalla loro origine, seguendo le normali pratiche di laboratorio per la conservazione, la dispensazione e l'eliminazione di questi materiali<sup>6</sup>. **ATTENZIONE** - La sodio azide (NaN<sub>3</sub>) può dar luogo a reazioni chimiche pericolose. Per lo smaltimento dei residui delle analisi attenersi scrupolosamente alle norme CDC e alle norme di legge in materia. La sodio azide è tossica, se ingerita; in questo caso, informare immediatamente il responsabile del laboratorio o un centro per casi di avvelenamento.

Al fine di assicurare risultati validi, si raccomanda di attenersi alle istruzioni riportate in questo inserto. Non scambiare i componenti del kit se non con quelli aventi lo stesso numero di catalogo della IMMCO. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

#### **PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE**

Per questa procedura utilizzare soltanto campioni di siero. Campioni fortemente emolizzati, lipemici o contaminati possono influenzare i risultati del test e vanno scartati. Conservare i campioni a una temperatura di 2-8°C per non oltre una settimana. Per periodi di conservazione più lunghi, congelare il siero a -20°C, evitando di congelare i campioni più volte.

#### **PROCEDURA**

##### **Metodica d'analisi**

##### **A. Screening**

1. Diluire ciascun siero di paziente 1:10 con il Diluente per Campioni fornito (10 µl di siero + 90 µl di Diluente). **Non diluire i Controlli** Positivi o Negativi. Conservare i sieri non diluiti per determinare i titoli anticorpali se i test di screening risultano positivi.
2. Lasciare che i sacchetti contenenti i vetrini-substrato raggiungano la temperatura ambiente per 10-15 minuti, quindi estrarre i vetrini facendo attenzione a non toccare il substrato.
3. Marcare i vetrini e porli in una camera umida.
4. Capovolgere il flaconcino contagocce e versare delicatamente 1 goccia (circa 50 µl) del Controllo Negativo nel pozzetto no. 1. Allo stesso modo versare 1 goccia del Controllo Positivo nel pozzetto no. 2. Evitando di riempire eccessivamente i pozzetti.
5. Con una micropipetta o con la pipetta Pasteur, versare 1 goccia del siero diluito del paziente (circa 50 µl) negli altri pozzetti, evitando di riempirli eccessivamente.
6. Mettere il coperchio sulla camera umida ed incubare i vetrini per 30 minuti a temperatura ambiente.
7. Togliere un vetrino dalla camera umida. Tenendo il vetrino per l'estremità della linguetta, sciacquarlo delicatamente con circa 10 ml di PBS utilizzando una pipetta o sciacquarlo in

un becher pieno di PBS. Non utilizzare la bottiglia di lavaggio. Trasferire il vetrino immediatamente nella vaschetta di Coplin e lavare per 10 minuti. Ripetere la procedura per tutti gli altri vetrini.

8. Togliere il/i vetrino/i dalla vaschetta di Coplin. Asciugare il bordo del vetrino su della carta assorbente per togliere la PBS in eccesso. Porre il vetrino nella camera umida. Capovolgere immediatamente il flaconcino contagocce del Coniugato e versarne delicatamente 1 goccia (circa 50 µl) in ciascun pozzetto.
9. Ripetere i punti 7 e 8 per ciascun vetrino.
10. Riporre il coperchio sulla camera umida ed incubare per 30 minuti a temperatura ambiente.
11. Togliere un vetrino dalla camera umida e tenendolo per l'estremità della linguetta, immergerlo in un becher pieno di PBS per togliere il coniugato in eccesso. Porre il/i vetrino/i in una piastra di colorazione piena di PBS per 10 minuti. Se si desidera, si possono aggiungere 2-3 gocce di Blu di Evans al lavaggio finale. Ripetere per gli altri vetrini. NOTA: Un lavaggio scorretto può influenzare la morfologia dei neutrofili e causare una maggiore fluorescenza di fondo.
12. Togliere un vetrino dalla piastra di colorazione. Asciugare il bordo del vetrino su della carta assorbente per togliere la PBS in eccesso. Per evitare che il vetrino si secchi, passare immediatamente al punto 13 mentre è ancora bagnato.
13. Montare il vetrino coprioggetto versando delicatamente 3 **goccia** uniformemente di Terreno di allestimento su vetrino coprioggetto, quindi porre il coprioggetto sul vetrino. Non applicare eccessiva pressione ed evitare che il coprioggetto si sposti lateralmente.
14. Ripetere i punti 12 e 13 per ciascun vetrino.
15. Esaminare la fluorescenza specifica con un microscopio a fluorescenza a un ingrandimento di almeno 200x. I vetrini si possono leggere appena vengono preparati. Tuttavia, grazie a un agente anti evanescenza presente nel liquido di montaggio, non si verifica alcuna perdita significativa di intensità di colorazione, se la lettura viene posticipata fino a 48 ore. I vetrini devono essere conservati al buio a una temperatura di 2-8°C.

#### B. Determinazione dell'endpoint (Titolazione)

Un siero positivo al test di screening può essere ulteriormente analizzato seguendo i punti da 5 a 13 per determinarne il titolo. Ciascuna sessione analitica deve includere i Controlli Positivi e Negativi. Effettuare diluizioni seriali doppie partendo da 1:10. Il reciproco della diluizione più elevata che produce una reazione positiva è il titolo.

#### Preparazione delle Diluizioni Seriali

Numerare quattro provette da 1 a 8. Aggiungere 0,9 ml di Diluente per Campioni alla provetta 1 e 0,2 ml alle provette da 2 a 8. Pipettare 0,1 ml di siero non diluito nella provetta 1 e mescolare accuratamente. Trasferire 0,2 ml dalla provetta 1 alla provetta 2 e mescolare accuratamente. Continuare a trasferire 0,2 ml da una provetta all'altra dopo aver mescolato per ottenere le diluizioni indicate nella tabella seguente:

Provette	1	2	3	4	5	6	7	8
Siero	0.1 ml							
	+							
Diluente tamponato	0.9 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
		↻	↻	↻	↻	↻	↻	↻
Trasferimento		0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Diluizione finale	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

#### CONTROLLO DI QUALITA'

Ciascuna sessione analitica deve comprendere sia un Controllo Positivo che uno Negativo. Il Controllo Negativo non deve mostrare alcuna fluorescenza specifica, mentre il Controllo Positivo deve avere un'intensità di colorazione di almeno 2+.

Se non si ottengono i risultati attesi, bisognerà ripetere l'analisi. Se continuano a verificarsi risultati inadeguati con i controlli, le cause possono essere:

- Torbidità. Scartare e utilizzare un altro controllo.
- Problemi al sistema ottico del microscopio a fluorescenza, quali allineamento non corretto, bulbo scaduto, ecc.
- Essiccamento del vetrino durante la procedura.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

I risultati delle prove per gli anticorpi della tiroide dovrebbero essere letti come negativi (< 10) o positivo con il titolo. Colto per la macchiatura specifica delle cellule coloidi o epiteliali dei follicoli. I vari anticorpi del tessuto quale ANA e gli anticorpi anti-mitochondriali (AMA) possono anche essere osservati sulla tiroide.

**LIMITI DELLA PROCEDURA**

In alcuni casi, i sieri ATA positivi possono essere o molto deboli o negativi alla diluizione iniziale di screening (fenomeno di prozona). Quando si verificano questi casi dubbi, i sieri dovranno essere esaminati a diluizioni maggiori e, se positivi, dovranno essere determinati i titoli anticorpali. In alcuni casi la presenza in un siero di due o più anticorpi reattivi con lo stesso substrato può causare un'interferenza nella loro individuazione mediante immunofluorescenza. Tale interferenza può provocare il mancato rilevamento degli ATA o la soppressione del loro titolo se gli anticorpi che interferiscono hanno un titolo maggiore degli ATA.

**IMPORTANZA CLINICA**

Gli anticorpi di antitiroide sono trovati in pazienti con le tiroidi autoimmuni ed a volte in individui in buona salute. La tabella 1 all'estremità di questo documento indica che l'associazione degli anticorpi della tiroide con la malattia dichiara<sup>3</sup>.



## ImmuGlo™ TESTE DE ANTICORPOS ANTI-THYROID (ATA)

**IVD**

**REF** Code: 1143 48 determinations

Teste de anticorpos de imunofluorescência indirecta para a detecção e quantificação de anticorpos anti-tiroide (ATA) no soro humano.

### RESUMO E EXPLICAÇÃO

As doenças autoimunes tais como o thyroditis de Hashimoto, o hypothyroidism autoimune preliminar e a doença de Grave, são indicadas pela presença dos autoanticorpos ao thyroglobulin e aos antígenos microsomal. Thyroglobulin é um glycoprotein grande (660 kD) e funções como um prohormone. A peroxidase do tiroide (TPO) é um 105 microsomal do kD antígeno envolvido no iodination e no acoplamento de tyrosines homognogenic específicos na produção de thyroxine e de triiodothyronine. A medida dos autoanticorpos ao thyroglobulin e os antígenos microsomal são importantes no diagnóstico de doenças de thyroid<sup>1-4</sup>. Os anticorpos do thyroid podem ser medidos por vários métodos tais como o imunofluorescência indirecto, o hemagglutination passivo, e os ELISAs.

### PRINCÍPIOS DO MÉTODO

No método indirecto do imunofluorescência usado, o soro do paciente unido em preparações de seções do tecido para permitir ligar dos anticorpos à carcaça. Todos os anticorpos não ligados são removidos enxaguando. Os anticorpos ligados da classe IgG são detectados pela incubação da carcaça com o conjugado anti-humano fluorescein-etiquetado de IgG. As reações são observadas sob um microscópio de fluorescência equipado com os filtros apropriados.

A presença de reações do autoanticorpo é demonstrada por uma fluorescência verde maçã, das pilhas epithelial colóides ou follicular.

### INFORMAÇÃO SOBRE O PRODUTO

Armazenamento e preparação

**Guardar todos os reagentes a 2-8°C. Os reagentes estão prontos a usar após ficarem à temperatura ambiente.**

### Material fornecido

**REF** Code: 1143 48 determinations

8 x	<b>SORB SLD 6</b>	Lâminas de substrato de 8 poços, thyroid do primata
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL + ATA</b> †	Controlo positivo ATA, soro humano
1 x 0.5 ml	<b>CONTROL -</b> *	Controlo negativo, soro humano.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC</b> *	Conjugado ITCF IgG anti-humano. Proteger da luz.
1 x 5 ml	<b>IgG-CONJ FITC EB</b> †*	Conjugado ITCF IgG anti-humano com Evan's Blue. Proteger da luz.
1 x 60 ml	<b>BUF</b> *	Diluyente de amostras.
2 frascos	<b>BUF WASH</b>	Tampão fosfato alcalino (PBS). Dissolver cada frasco num litro.

- 1 x 5.0 ml **MOUNTING MEDIUM** \* Meio de suporte. Não congelar.
- 1 x 1.0 ml **EVANS** Contra corante Azul de Evans.
- 1 x 12 **COVER SLD** Tampas.

\* Contem < 0.1% NaN<sub>3</sub>

† Os laços do representante Conjugado sem Azul de Evans em jogo números com "EB"

#### **Material necessário mas não fornecido**

Microscópio de fluorescência  
Micropipeta ou pipeta Pasteur  
Pipetas serológicas  
Prato de coloração (ex: Coplin)  
Tubos pequenos (ex: 13 x 75 mm) e suportes de tubos  
Água destilada ou desionizada  
Contentor de 1 litro  
Garrafa de lavagem  
Toalhetes  
Câmara de incubação

#### **AVISOS E PRECAUÇÕES**

Para o diagnóstico *in vitro*. Todos os componentes derivados dos humanos utilizados foram testados para HbsAg, VHC, HIV-1 e 2 e HTLV-I e deram negativos nos testes FDA. Todos os espécimens de soro humano e produtos derivados dos humanos devem ser tratados como sendo potencialmente perigosos, independentemente da sua origem. Devem-se respistar as boas práticas laboratoriais na armazenagem, distribuição e manuseamento destes materiais<sup>6</sup>. AVISO: A azida sódica (NaN<sub>3</sub>) pode reagir com as canalizações de cobre ou chumbo e formar azidas metálicas altamente explosivas. Quando eliminar os líquidos deve deitar grandes quantidades de água para evitar a formação de tais azidas. A azida sódica pode ser tóxica se ingerida. Se ingerida, contacte imediatamente o director de laboratório ou um centro de envenenamento.

As instruções devem ser seguidas à risca de forma a assegurar resultados válidos. Não trocar componentes dos kits com outros de outras origens. Todos devem ser do mesmo nº da IMMCO. Não utilizar se estiverem fora do prazo.

#### **RECOLHA DE AMOSTRAS E PREPARAÇÃO**

Só os espécimens séricos devem ser utilizados para este teste. Os espécimens hemolizados, lipémicos ou contaminados microbianamente podem interferir com a performance do teste e não devem ser usados. Armazenar a 2-8°C durante apenas uma semana. Para armazenamento mais longo devem ser congelados a -20°C. Evitar repetidas congelações e descongelações.

#### **MODO OPERATÓRIO**

##### **Método do teste**

##### **A. Despistagem**

1. Diluir cada soro 1:10 com o Diluente de amostras fornecido (10 µl soro + 90 µl Diluente). Não diluir os Controlos Negativo e Positivo. Guardar o soro não diluído para determinar a titulação de anticorpos, se os testes de despistagem forem positivos.
2. Deixar as bolsas com as lâminas de substrato à temperatura ambiente 10-15 minutos. Retirar as lâminas sem tocar no substrato.
3. Etiquetar as lâminas e colocar na incubadora com toalhetes húmidos para não secarem.
4. Inverter o frasco conta-gotas e apertar para aplicar 1 gota (cerca de 50 µl) de Controlo negativo no poço #1. Coloque 1 gota de Controlo Positivo no poço #2. Não encher demais.
5. Com uma micropipeta ou pipeta Pasteur, colocar 1 gota do soro diluído do paciente (cerca de 50 µl) nos outros poços. Evite encher demais os poços.

6. Colocar a tampa na incubadora e incubar 30 minutos à temperatura ambiente.
7. Retirar a lâmina da incubadora. Segurar pela extremidade e lavar com 10 ml de PBS com uma pipeta, ou lavar com recipiente cheio de PBS. Não usar a garrafa de lavagem. Colocar a lâmina no recipiente Coplin e lavar 10 minutos. Repetir a operação para todas as lâminas.
8. Retirar a lâmina do recipiente Coplin. Limpar as extremidades da lâmina num toalhete para retirar o excesso do PBS. Colocar a lâmina na incubadora. Inverter imediatamente o frasco conta-gotas do Conjugado e deitar 1 gota (cerca de 50 µl) em cada poço.
9. Repetir passos 7 e 8 para cada lâmina.
10. Colocar a tampa da incubadora. Incubar 30 minutos à temperatura ambiente.
11. Retirar uma lâmina da incubadora. Segurar na lâmina e mergulhá-la num recipiente com PBS para remover o excesso de conjugado. Colocar a lâmina num disco de coloração com PBS durante 10 minutos. Pode colocar 2-3 gotas de contracorante azul de Evans à lavagem final. NOTA: Uma lavagem deficiente pode alterar a morfologia dos neutrófilos e levar a um aumento da fluorescência.
12. Retirar a lâmina do prato de coloração. Limpar o excesso de PBS. Para evitar que a lâmina seque deve passar para o ponto 13 enquanto a lâmina ainda está molhada.
13. Colocar a tampa e aplicar 3 gota de Meio de Suporte uniformemente em tampas e colocar a tampa. Não faça muita pressão e evite deslizamento lateral da tampa.
14. Repetir passos 12 e 13
15. Examinar a fluorescência específica com microscópis fluorescente com aumento de 200x ou mais.

As lâminas devem ser lidas quando estão prontas. Contudo, devido à presença de um agente anti-desaparecimento no meio de suporte, não há perdas significativas de intensidade de coloração, se a leitura for adiada até 48 horas. As lâminas devem ser guardadas às escuras a 2-8°C.

#### B. Determinação (titulação)

Um soro positivo na despistagem pode ser ainda mais testado com os passos 5 ao 13. Para determinar a titulação. Cada teste deve incluir os Controlos Positivo e Negativo. Fazer duas diluições começando com 1:10. O recíproco da diluição mais elevada a produzir uma reacção positiva é a titulação.

#### Preparação de diluições em série

Numerar 4 tubos de 1 a 8. Juntar 0,9 ml de diluente ao tubo 1 e 0,2 ml aos tubos 2 a 8. Pipetar 0,1 ml de soro não diluído para o tubo 1 e mexer bem. Transferir 0,2 ml do tubo 1 para o tubo 2 e mexer bem. Continuar a transferir 0,2 ml de um tubo para o outro após mexer.

Tubos	1	2	3	4	5	6	7	8
Soro	0.1 ml							
	+							
Diluente tamponado	0.9 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Transferência		0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Diluição final	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

#### CONTROLO DA QUALIDADE

O Controlo Positivo e o Negativo devem ser incluídos em cada teste. O Controlo Negativo não deve ter fluorescência específica, enquanto que o Controlo Positivo deve ter 2+ ou maior intensidade.

Se não se obtiverem os resultados esperados, o teste deve ser repetido. Se resultados inadequados continuarem a ocorrer com os controlos, pode deverse a:

- Tubos. Usar outro controlo.
- Problemas no sistema óptico do microscópio de fluorescência: alinhamento incorrecto,

- lâmpada a precisar de ser mudada, etc.
- Lâmina seca durante o processo.

#### **INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

Os resultados dos testes para anticorpos do thyroid devem ser lidos como negativos (< 10) ou o positivo com titulação. Lido para manchar específico das pilhas colóides ou epithelial dos follicles. Vário outros anticorpos do tecido tais como ANA, e os anticorpos anti-anti-mitochondrial (AMA) podem também ser observados no thyroid.

#### **LIMITAÇÕES DO MODO OPERATÓRIO**

Em alguns casos, o soro positivo para ATA pode ser muito fraco ou negativo na diluição inicial da despistagem (fenómeno prozona). Em casos tão duvidosos, o soro deve ser despistado com diluições mais elevadas e, se positivo, a titulação dos anticorpos deve ser determinada. Em certos casos a presença de dois ou mais anticorpos no soro que são reactivos com o mesmo substrato, podem causar interferência na detecção por imunofluorescência. A interferência pode causar erro na detecção de ATA ou supressão do seu título, se o anticorpos tiver um título mais elevado que o ATA.

#### **SIGNIFICADO CLÍNICO**

Os anticorpos anti-thyroid são encontrados nos pacientes com doenças de thyroid autoimune e às vezes em indivíduos saudáveis. A tabela 1 na extremidade deste original indica a associação de anticorpos do thyroid com o estado da doença<sup>3</sup>.

**REFERENCES•REFERENCIAS•LITERATUR•RIFERIMENTI**

1. Mooij P, Drexhage HA. Autoimmune thyroid disease. Clinics Lab Med. 13:683-697, 1993.
2. Champion BR, Cooke A, Reyner DC. Thyroid autoimmunity. Curr Opinion Immunol. 4:770-778, 1992.
3. Lindstedt G, Berg G, Jansson S, et al Clinical use of laboratory thyroid tests and investigations. J int Fed clin chem 6:136-141, 1994.
4. Pashke R, Vogg M, Swillens S, Usadel KH. Correlation of microsomal antibodies with the intensity of the intrathyroidal autoimmune process in Grave's disease. J Clin endocrinol Metab. 77:939-943, 1993.
5. Beutner EH, Kumar V, Krasny SA and Chorzelski TP. Defined immunofluorescence in immunodermatology. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Kumar V, Eds, John Wiley and Sons, New York, 3rd Ed, 3-40, 1987.
6. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control, National Institutes of Health, 1999 [HHS Pub. No. (CDC) 93-8395].

**Table 1: Significance of Thyroid Antibodies**

Ab Specificity	Disease Association	Indications for use
Thyroglobulin	1) Thyroid autoimmune diseases 2) Thyroid adenomas and carcinomas	1) Complement to thyroglobulin levels 2) Follow up of thyroid adenoma/ carcinoma
TPO	Thyroid autoimmune disease	1) TSH rise of unknown cause 2) Goiter of unknown etiology 3) Evaluation of suspected autoimmune polyglandular endocrine disorders 4) Familial Studies 5) Assessment of risk of thyroid dysfunction during drug treatment affecting the thyroid, and/or the immune system 6) Screening for risk of postpartum thyroiditis 7) Hyperthyroidism

## NOTES

## NOTES

*For technical assistance please contact:*



**IMMCO Diagnostics, Inc.**  
**60 Pineview Drive**  
**Buffalo, NY 14228-2120**  
**Telephone: (716) 691-0091**  
**Fax: (716) 691-0466**  
**Toll Free USA/Canada: 1-800-537-TEST**  
**E-Mail: [info@immcodiagnostics.com](mailto:info@immcodiagnostics.com)**

*or your local product distributor*



EU Authorized Representative/Autorisierter Repräsentant/Rappresentante  
Autorizzato/Representante Autorizado/Représentant Autorisé  
EMERGO Group, Inc.  
Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague,  
The Netherlands  
Tel (+31) 345 8570, Fax (+31) 346 7299  
[www.emergogroup.com](http://www.emergogroup.com)

REV.MAY 2009

Document No. PI4143 CE