

Tg**Tiroglobulina (Tg)****11820834 122****100 testes****cobas****Português****Nota**

As determinações da tiroglobulina podem ser afectadas pela presença de anticorpos anti-tiroglobulina (anti-Tg) nas amostras de paciente.¹

O valor de Tg medido na amostra de um paciente pode variar consoante o procedimento de teste utilizado. Por isso, o resultado laboratorial deve sempre incluir uma declaração sobre o método de doseamento de Tg utilizado. Os valores de Tg obtidos nas amostras de pacientes através de outros procedimentos não podem ser comparados directamente uns com os outros, pois podem originar interpretações médicas erróneas. Quando se muda de método de doseamento do Tg durante a monitorização da terapêutica, os valores de Tg obtidos com o novo método devem ser confirmados através de medições paralelas com os dois métodos.

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da tiroglobulina em soro e plasma humanos.

A determinação da Tg é utilizada na confirmação de um diagnóstico de doença da tiróide e para monitorizar a evolução após a ablação total da tiróide.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

A tiroglobulina (Tg) é uma glicoproteína com um peso molecular de cerca de 660 kD, constituída principalmente por duas cadeias proteicas de 300 kD e 330 kD, ligadas entre si por meio de pontes de dissulfureto.²

A Tg é sintetizada em grandes quantidades pelos tirócitos libertados para a lumina dos folículos da tiróide. A produção de Tg é estimulada por TSH, deficiência de iodo intra-tiroidal e presença de imunoglobulinas estimuladoras da tiróide.

A Tg desempenha um papel determinante na síntese das hormonas periféricas da tiróide, T3 e T4. Contém cerca de 130 resíduos de tirosina, alguns dos quais podem ser iodizados para monoiodo- e diiodotirosina (MI I e DIT) na presença de TPO (tiroperoxidase) e iodeto.³ O acoplamento subsequente de MIT e DIT com a formação de T3 e T4 também ocorre na matriz da Tg, com envolvimento de TPO.

Durante a síntese da Tg pelos tirócitos e o transporte da Tg para os folículos, é possível a passagem de pequenas quantidades de proteína para a circulação sanguínea. Logo, também se podem encontrar concentrações baixas de Tg no sangue de indivíduos que não sofrem de doenças da tiróide. Níveis reduzidos de Tg circulante indicam, pois, a presença de tecido da tiróide.

Após uma tirectomia total bem sucedida, a Tg deixa de ser detectável.⁴ Nos casos de hipotireoidismo congénito, a determinação da Tg pode ser utilizada para distinguir entre a ausência total da glândula da tiróide e a hipoplasia da tiróide ou outros estados patológicos.

Por outro lado, a presença de lesões na parede dos folículos pode resultar na passagem de maiores quantidades de Tg para o sangue. Por isso mesmo, ela é encarada especificamente como um marcador da integridade morfológica da glândula da tiróide.^{5,6}

A determinação da Tg pode ainda ser útil na distinção entre a tireoidite subaguda e a tirotoxicose factícia.⁷ Neste último caso, são de esperar valores baixos de Tg devido à supressão de TSH.

A presença de anticorpos da Tg podem falsear o resultado de uma determinação de Tg.

O ensaio Elecsys Tg emprega anticorpos monoclonais especificamente dirigidos contra a tiroglobulina humana.⁸

O ensaio Elecsys Tg utiliza anticorpos monoclonais especificamente dirigidos contra a tiroglobulina humana.

Princípio do teste

Técnica de sandwich. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: A Tg de 20 µl de amostra, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti-Tg e um anticorpo monoclonal específico anti-Tg marcado com complexo de ruténio^a

- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
 - A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
 - Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.
- a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺) reagem entre si e formam um complexo sandwich.

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Tg, Ref. 11820834 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-Tg-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal biotinilado anti-Tg (ratinho) 0,7 mg/l; tampão fosfato 40 mmol/l, pH 6,1; conservante.
- R2 Anticorpo anti-Tg-Ru(bpy)₃²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal anti-Tg (ratinho) marcado com complexo de ruténio 1,0 mg/l; tampão fosfato 40 mmol/l, pH 6,1; conservante.
- R3 Reagente de confirmação da Tg (tampa roscada preta), 2 frascos para 2 x 3 ml:
cerca de 800 ng/ml da Tg (humana) numa matriz liofilizada de soro humano.
Consulte o rótulo do frasco para obter informação sobre a concentração específica do lote.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Todo o material de origem humana deve ser considerado como potencialmente infeccioso. Todos os produtos derivados de sangue foram preparados exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg e de anticorpos para o HCV e HIV.

No entanto, como nenhum método pode excluir com total segurança o risco de potencial infecção, o material deve ser manipulado com o mesmo cuidado que é utilizado no caso das amostras dos pacientes. Em caso de exposição, cumpra as instruções das autoridades de saúde competentes.^{9,10}

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo (M, R1, R2) foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

R3 (reagente de confirmação da Tg): Dissolva cuidadosamente o conteúdo de um frasco adicionando exactamente 3,0 ml de água destilada e deixe repousar fechado durante 15 minutos para reconstituir. Homogeneize cuidadosamente. O R3 é utilizado para detectar anticorpos anti-Tg no reagente de confirmação (pré-tratamento da amostra).

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Tg (M, R1, R2) **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade de M, R1, R2:

em frasco fechado a 2-8°C: até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C: 12 semanas



Tiroglobulina (Tg)

no analisador MODULAR ANALYTICS E170:	8 semanas
no analisador Elecsys 2010:	8 semanas
no analisador Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Estabilidade do R3 (reagente confirmatório):

liofilizado:	até ao fim do prazo de validade indicado
reagente reconstituído, a 2-8°C:	3 semanas

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido utilizando tubos de amostra padrão.

Plasma tratado com heparina-Li, -Na, -NH₄⁺, EDTA-K₃, citrato de sódio e fluoreto de sódio/oxalato de potássio.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de ± 2 x sensibilidade analítica + coeficiente de correlação > 0,95.

Estabilidade: 24 horas a 15-25°C, 3 dias a 2-8°C, 1 mes a -20°C.¹¹ Congelar apenas uma vez.

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Reagente de confirmação da Tg (Teste de neutralização dos anticorpos anti-Tg)

As determinações da tiroglobulina podem ser afectadas pela presença de anticorpos anti-tiroglobulina (anti-Tg) ou por efeitos não específicos nos soros de paciente.

Os resultados devem ser confirmados por meio do seguinte teste ou, de preferência, verificados pela determinação dos anticorpos anti-Tg (p.ex. com o teste Elecsys Anti-Tg):

Pipete 200 µl da amostra e 50 µl do R3 (reagente de confirmação da Tg) para um tubo de amostra e misture. Realize um ensaio em paralelo com a determinação da Tg na amostra sem R3.

Nota: Os resultados das amostras diluídas não podem ser confirmados pelo teste de recuperação.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 11820940, Elecsys Tg CalSet, 4 x 1 ml
- Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 x 18 ml de diluente de amostras ou Ref. 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 x 40 ml de diluente de amostras
- O teste de anticorpos anti-Tg, para verificar a presença dos anticorpos anti-Tg em amostras de pacientes (p.ex. Elecsys Anti-Tg, Ref. 11820826)
- Equipamento normal de laboratório
- Analisador Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170
- Água destilada ou desionizada

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema

- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 03004899, PreClean M, 5 x 600 ml de solução de limpeza de detecção
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, WasteLiner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 11875256, Elecsys Tg CalCheck, 3 intervalos de concentração

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra o CRM (Certified Reference Material) 457 do BCR (Community Bureau of Reference) da União Europeia.^{12,13}

Cada dispositivo de reagentes Elecsys Tg contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys Tg CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)



Tiroglobulina (Tg)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

Verificação da calibração: Não é necessária. O software do analisador verifica automaticamente a validade da curva e alerta para eventuais desvios.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Elecsys PreciControl Universal 1 e 2. Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado. Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra (em ng/ml ou µg/l).

Interpretação dos resultados

A possível existência de anticorpos anti-Tg na amostra deve ser tida em consideração ao interpretar os resultados. Os resultados da amostra não-tratada e não-diluída (amostra de Tg) e do teste paralelo com amostra mais reagente de confirmação da Tg (amostra + R3) são introduzidos no cálculo seguinte para obter a recuperação percentual:

$$\frac{\text{Conc. de Tg (amostra + R3)} - 0,8 \times \text{conc. de Tg (amostra)}}{0,2 \times \text{conc. de Tg R3 (ver rótulo do frasco)}} \times 100$$

Um resultado de 70-130% indica uma recuperação correcta. Caso a recuperação não se situe dentro destes limites, os resultados devem ser marcados com uma chamada de atenção adequada. Em alternativa, o resultado positivo da determinação dos anticorpos anti-Tg numa amostra de paciente também deve ser reportado com uma chamada de atenção adequada.

Limitações – interferências¹³

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 616 µmol/l ou < 36 mg/dl), hemólise (Hb < 1,2 mmol/l ou < 1,9 g/dl), lipemia (triglicéridos < 22,8 mmol/l ou < 2.000 mg/dl) e biotina < 327 ng/ml ou < 80 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial. Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 2.500 UI/ml.

Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" em concentrações de Tg até 120.000 ng/ml.

Foram efectuados testes in vitro com 21 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, este teste pode produzir resultados errados em amostras colhidas em pacientes tratados com este tipo de anticorpos ou que os receberam para fins de diagnóstico.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina e para o ruténio.

As determinações da tiroglobulina podem ser afectadas pela presença de anticorpos anti-tiroglobulina (anti-Tg) ou por efeitos não específicos nos soros de paciente. Por conseguinte, os resultados devem ser confirmados num teste de recuperação em paralelo (ver Teste de confirmação da Tg em "Colheita e preparação das amostras" e em "Cálculo") ou, de preferência, efectuando um teste dos anticorpos anti-Tg.^{1,8}

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição¹³

0,100-1.000 ng/ml ou 0,100-1.000 µg/l (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,100 ng/ml (< 0,100 µg/l) e os valores acima do intervalo de medição como > 1.000 ng/ml ou > 1.000 µg/l (ou até 5.000 ng/ml ou 5.000 µg/l no caso das amostras diluídas 5 vezes).

Diluição

As amostras que contêm concentrações de Tg superiores ao intervalo de medição podem ser diluídas com o Elecsys Diluent Universal. A diluição recomendada é de 1:5 (feita automaticamente pelos sistemas MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 1010/2010 ou manualmente). A concentração da amostra diluída tem de ser > 50 ng/ml (> 50 µg/l). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo factor de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software do analisador MODULAR ANALYTICS E170 e dos analisadores Elecsys 1010/2010 toma automaticamente em consideração a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Valores teóricos¹³

Em estudos realizados em centros clínicos na Áustria, na Espanha e nos EUA, obtiveram-se os seguintes valores em amostras de 130 indivíduos saudáveis: 1,4-78 ng/ml ou 1,4-78 µg/l (percentis 5^o-95^o).

Status: Estudo multicêntrico N° B99P001 de 9/2000, Elecsys Tg com os analisadores Elecsys 1010/2010; valores recalculados após nova padronização: 10/2001.

A Tg deixa de ser determinável após a excisão completa do tecido da tiróide por tiroidectomia e terapêutica com rádio-iodo. No caso de, nestes doentes, se observar um aumento da concentração de Tg, devem ser utilizadas medidas de diagnóstico mais exaustivas.

Para obter informações mais pormenorizadas sobre intervalos de referência em crianças, adolescentes e grávidas, consulte a brochura "Reference Intervals for Children and Adults", Ref. do documento em inglês: 04640292, em alemão: 04625889.

Esta brochura contém também os resultados de um estudo detalhado sobre os factores que influenciam os parâmetros da tiróide num grupo de referência bem caracterizado de adultos. Foram aplicados critérios de inclusão e de exclusão diferentes (por ex. resultados de ecografias (volume e densidade da tiróide), bem como critérios que estão de acordo com as directrizes da National Academy of Clinical Biochemistry - NACB).

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho¹³

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170 (n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio			Precisão total	
	Média ng/ml (µg/l)	DP ng/ml (µg/l)	CV %	DP ng/ml (µg/l)	CV %
Amostra					
Soro humano 1	4,11	0,08	1,8	0,12	3,0
Soro humano 2	26,9	0,36	1,4	0,61	2,3
Soro humano 3	184	2,00	1,1	3,40	1,8
PC U ^{b1}	8,75	0,15	1,7	0,24	2,7
PC U2	14,8	0,22	1,5	0,36	2,5

b) PC U = PreciControl Universal



