

گزارش یک مورد تداخل در سنجش رادیوایمونواسی T₃ به علت آنتی‌بادی‌های هتروفیل

گزارش موردی

دکتر مجید ولی‌زاده، دکتر فریدون عزیزی، دکتر مهدی هدایتی

چکیده

مقدمه: امروزه با توجه به شیوع بالای اختلال‌های عملکرد تیروئید و علائم غیر اختصاصی آن، آزمون‌های سنجش عملکرد تیروئید به وفور درخواست می‌شوند. مواجهه با نتایج غیر طبیعی یا عدم همخوانی نتیجه‌ی آزمون‌های تیروئید با هم دور از انتظار نیست. به علاوه، اشتباه تکنیکی ممکن است به علت نقایص ذاتی این روش‌ها باشد. هیچ روش آزمایشگاهی بی نقص نیست و تکنیک‌های سنجش هورمون‌های تیروئید از این قاعده مستثنی نیستند. با توجه به اینکه در روش‌های رایج از یک یا دو آنتی‌بادی نشان‌دار (با منشاء حیوانی، معمولاً موش) برای سنجش هورمون مورد نظر استفاده می‌شود، مواد تداخل‌گر می‌توانند با این آنتی‌بادی‌ها واکنش داده، نتایج کاذب ایجاد نمایند. این نتایج اشتباه منجر به تشخیص نادرست و در نتیجه انجام اقدام‌های تشخیصی و درمانی نا به جا می‌گردد. تا کنون موارد متعددی از این‌گونه تداخل‌ها گزارش شده است. **مواد و روش‌ها:** این گزارش اختصاص دارد به زنی ۴۷ ساله با شکایت غیر اختصاصی مطرح‌کننده‌ی پرکاری تیروئید که قبلاً به علت T₃ بیش از ۲/۵ برابر حد بالای طبیعی مورد بررسی‌های تشخیصی اضافی و انجام درمان‌های متفاوت قرار گرفته است. **یافته‌ها:** پس از اثبات یوتیروئیدی وی، آزمایش‌های تکمیلی منجر به شناسایی نوعی آنتی‌بادی تداخل‌کننده از نوع آنتی‌بادی‌های هتروفیل و از دسته‌ی IgG در سرم وی شد. **نتیجه‌گیری:** این مورد در حد اطلاع نگارنده و با مرور مقاله‌های ارایه آمده، اولین مورد گزارش تداخل ناشی از آنتی‌بادی‌های هتروفیل در سنجش T₃ به روش رادیوایمونواسی (RIA) می‌باشد. قبل از این موارد متعددی از تداخل اتوآنتی‌بادی‌ها در سنجش T₃ و T₄ به روش RIA گزارش شده است.

واژگان کلیدی: تداخل در آزمون‌های تیروئید، آنتی‌بادی‌های ضد حیوانی، آنتی‌بادی‌های هتروفیل

دریافت مقاله: ۸۴/۴/۱۵ - دریافت اصلاحیه: ۸۵/۳/۲۱ - پذیرش مقاله: ۸۵/۴/۱

مقدمه

می‌شود^۱ و از طرف دیگر هیچ روش آزمایشگاهی کامل و بدون نقص نمی‌باشد. آزمایش‌های ایمونواسی از این قاعده مستثنی نیستند. حتی در صورت انجام دقیق این آزمایش‌ها، نظارت افراد باتجربه و کارکشته و استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال حیوانی، در سنجش مولکول مورد نظر^۲ به علت

امروزه به دلیل شیوع بیماری‌های تیروئید (ابتلای ۵٪ افراد بالغ به ندول تیروئید و ۶-۷٪ افراد بالغ به پرکاری و کم کاری بالینی و تحت بالینی تیروئید) و علائم غیر اختصاصی اختلال‌های عملکرد این غده، آزمون‌های تیروئید به وفور درخواست می‌شوند.^۱ قضاوت پزشک بر مبنای نتیجه‌ی این آزمایش‌ها است. از یک طرف آزمایش‌های هورمونی بسیار حساس هستند و کوچکترین بی دقتی منجر به گزارش اشتباه

i- Technical error
ii- Analyte

پرکاری تیروئید ۳ ماه تحت درمان با داروهای آنتی‌تیروئید قرار گرفته بود که عدم رفع علائم و شکایت‌ها و افزایش TSH منجر به قطع دارو شده بود. همچنین پس از آن قرص لوتیروکسین دریافت کرده بود که پس از مشاهده‌ی افزایش بیشتر T_3 و سرکوب TSH لوتیروکسین قطع شده بود. در زمان مراجعه‌ی بیمار، دو سؤال مطرح بود:

۱) آیا بیمار یوتیروئید است و نتیجه‌ی T_3 اشتباه است یا بیمار با توجه به شکایت‌های غیر اختصاصی هیپرتیروئید است و نتیجه‌ی TSH اشتباه است؟

۲) در صورت اشتباه در هریک از آزمون‌های T_3 و TSH با توجه به اینکه نتیجه‌ی آزمایش در چند آزمایشگاه تکرار شده است، علت آن چیست؟ بنا بر این دو اقدام زیر برای بیمار انجام شد:

۱- اثبات یوتیروئیدی بیمار

۲- شناسایی عامل مداخله‌گر در سنجش T_3

در وهله‌ی اول با اندازه‌گیری جذب ۲۴ ساعته‌ی یدرادیواکتیو و آزمون تحریکی TRH، یوتیروئید بودن بیمار اثبات شد. سپس صحتⁱⁱⁱ آزمون‌های T_3 و TSH با استفاده از آزمون‌های بازیافت و توازی^{iv} بررسی شد. با توجه به عدم کاهش T_3 مطابق انتظار در رقت‌های مختلف (از ۱/۲ تا ۱/۶۴) و همچنین عدم تحقق مقادیر مورد انتظار T_3 ، در آزمون Recovery که مقادیر مشخصی T_3 به سرم بیمار اضافه و سپس آزمایش شد، مطرح‌کننده‌ی تداخل در روش اندازه‌گیری بود. لذا سنجش T_3 با روش RIA از صحت لازم برخوردار نمی‌باشد و عامل مداخله‌گر در این قسمت وجود دارد و منجر به گزارش نتایج نادرست می‌شود.

جدول ۱- نتیجه‌ی آزمون توازی با روش رادیوایمونواسی بر سرم بیمار با غلظت T_3 پایه ۳۰۰ ng/dL

درصد	اندازه‌گیری شده (ng/dL)	مورد انتظار (ng/dL)	نسبت رقت
۹۲/۶	۱۳۹	۱۵۰	۱:۲
۱۱۳/۳	۸۵	۷۵	۱:۴
۱۰۹/۳	۴۱	۳۷/۵	۱:۸
۱۴۹/۳	۲۸	۱۸/۷۵	۱:۱۶
۲۲۴/۵	۲۱	۹/۳۵	۱:۳۲
۳۸۵/۴	۱۸	۴/۶۷	۱:۶۴

مولکول‌های مداخله‌گر به ویژه آنتی‌بادی‌ها که گاه نتایج کاذب مشاهده می‌شود. شیوع این تداخل‌ها زیاد نیست و از ۰/۰۵ تا ۱ درصد گزارش شده است^{۲-۴} ولی به علت نتایج مهمی که به بار می‌آورند بایستی این تداخلات در موارد عدم تطابق نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی با هم یا نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی با وضعیت بالینی بیمار همیشه مدنظر باشند. البته در موارد ناهمخوانی آزمون‌ها با یکدیگر بعضی آزمایشگاه‌ها نتایج را دستکاری می‌کنند و بعضی که صادقانه نتایج را گزارش می‌کنند از طرف پزشک ناآشنا با این‌گونه تداخل‌ها به بی‌دقتی متهم می‌شوند. در موارد متعددی عدم کشف تداخل در نتایج آزمایش‌های باعث تشخیص نادرست و در نهایت منجر به انجام اقداماتی با صدمات جبران ناپذیر برای بیمار شده است. به طور مثال مواردی گزارش شده که بالا بودن β hCG در اثر تداخل منجر به هیستریکتومی و انجام شیمی‌درمانی شده است.^۲ در مورد آزمون‌های تیروئید که بیش از یک آزمون برای ارزیابی عملکرد تیروئید انجام می‌شود (مثلاً سنجش TSH و T_3 و T_4) احتمال پی بردن به تداخل بیشتر است، چون احتمال ایجاد تداخل هم‌زمان در هر سه آزمایش زیاد نیست. در اکثر آزمایشگاه‌ها روش سنجش T_3 و T_4 با TSH متفاوت است و در حال حاضر معمولاً T_3 ، T_4 به روش رادیوایمونواسی (RIA) یا به روش الیزا (ELISA)ⁱ و TSH به روش ایمونورادیومتریک IRMAⁱⁱ سنجیده می‌شوند.

مواد و روش‌ها

خانم ۴۷ ساله‌ای با شکایت افزایش تحریک‌پذیری، تعریق و تپش قلب مراجعه کرد. علائم وی از یک‌سال قبل شروع شده و طی مدت مذکور ۳ کیلوگرم کاهش وزن داشته است. عادت ماهانه‌ی بیمار منظم بود و سابقه‌ی کم‌کاری تیروئید را در خواهر خود ذکر می‌کرد.

در معاینه تیروئید حدود ۲ برابر اندازه‌ی طبیعی (۴۰ گرم) با قوام لاستیکی داشت. ضربان قلب ۹۵ در دقیقه و انتهایها مرطوب نبود.

در آزمایش‌های به عمل آمده مقادیر T_3 RU، TSH و T_4 طبیعی ولی در روش RIA میزان T_3 حدود ۲/۵ برابر حد طبیعی بود. پس از تکرار آزمایش‌ها نیز، نتایج مشابهی به دست آمد. حتی اندازه‌گیری مقادیر آزاد T_3 (FT_3) نشان‌دهنده‌ی بالا بودن FT_3 بود. بیمار قبلاً با تشخیص

iii- Accuracy

iv- Recovery and Parallelism Test

i- Enzyme Linked Immunosorbent assay

ii- Immunoradiometric assay

جدول ۲) میزان T₃ سرم بیمار و شاهد قبل و بعد از افزودن پلی اتیلن گلیکول

T ₃ (ng/dL)	قبل از افزودن PEG	بعد از افزودن PEG
بیمار	۲۹۹	۱۸۰
کنترل	۱۷۲	۱۶۵

سپس این فرضیه مطرح شد که عامل تداخل کننده، آنتی بادی از ردهی آنتی بادی های هتروفیل است که با آنتی بادی به کار رفته در کیت RIA برای سنجش T₃ تداخل می کند ولی نسبت به خود T₃ تمایلی ندارد. ابتدا با منفی بودن نتیجهی آزمون فاکتور روماتوئید در سرم بیمار، تداخل فاکتور مذکور منتفی شد. پس از اینکه انکوباسیون سرم بیمار با سرم موش و سایر حیوانات (خرگوش، بز و گاو) نتوانست منجر به رفع تداخل شود، برای حذف آنتی بادی های IgG و IgM تداخل کننده، از چند مرحله انکوبه کردن نمونهی سرم بیمار با Anti-human IgM و Anti-human IgG به چاهک های الیزا استفاده شد. این عمل منجر به رفع تداخل در صورت استفاده از میکروتیوب های Coat شده با Antihuman IgG Rabbit شد. به طوری که غلظت T₃ سرم بیمار از ۲۸۵ ng/dL به ۱۵۰ ng/dL رسید در حالی که Goat Antihuman IgM تغییر قابل ملاحظه ای در نتیجهی اندازه گیری ایجاد نکرد. بنا بر این عامل مداخله گر می بایست یک آنتی بادی هتروفیل از دستهی IgG باشد. کسب نتایج یکسان از تکرار این روش نشان دهندهی دقت^v بررسی بود.

بحث

در بیمار مورد بررسی با توجه به عدم همخوانی آزمون های تیروئید با یکدیگر^{vi}، طبیعی بودن مقادیر T₄، TSH بالا بودن میزان T₃ و اثبات یوتیروئیدی بیمار، تجسس در مورد عامل مداخله کننده منجر به شناسایی آنتی بادی های هتروفیل از دستهی IgG به عنوان مسئول ایجاد تداخل شد. آنتی بادی های هتروفیل اصطلاحی است که اولین بار برای توصیف آنتی بادی IgG در مونوکلونال عفونی به سبب آگلوتینه کردن گلبول های قرمز گوسفند به کار برده شد. این آنتی بادی ها همچنین با پروتئین های گلبول قرمز گونه های مختلف (rat، گوسفند، اسب، خرگوش، خوکچهی هندی و گاو)

قدم بعدی شناسایی عامل مداخله گر بود. علت اصلی که منجر به تداخل در روش سنجش RIA می شوند عبارتند از:

- ۱) پروتئین های باند کنندهⁱ غیر طبیعی از نظر غلظت، مانند TBG effect، تغییر مقادیر تام هورمون ها در اثر تغییر غلظت پروتئین های باند کننده و یا از نظر تمایل یا افینیته مانند دیس آلومینیمی.^{v-vii}
- ۲) اتوانتی بادی علیه T₃ که ممکن است طی بیماری های اتوایمیون تیروئید مانند هاشیماتو علاوه بر Anti-TPO ایجاد شوند. این اتوانتی بادی ها به جز موارد نادر غلظتشان به حدی نیست که در سنجش T₃ تداخل ایجاد نماید.^{viii}

بنا بر این ابتدا غلظت آلومین و سایر پروتئین های باند کننده با روش های کمی و نیمه کمیⁱⁱ مانند اندازه گیری، رنگ سنجی و کمی آلومین (روش اتصال رنگ یا روش بروموکرزول سبزی)، الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید در حضور سدیم دودسیل سولفاتⁱⁱⁱ و رنگ آمیزی با نیترات نقره سنجیده شد که نتیجهی این اندازه گیری ها، طبیعی بود.

نتیجهی آزمایش Anti-TPO در سرم بیمار نیز منفی گزارش شد. در مرحلهی بعد سرم بیمار با T₃ نشان دار (I¹²⁵) (T₃ انکوبه و سپس الکتروفورز به روی کاغذ استات سلولز و یکبار نیز به روش SDS PAGE انجام شد. ولی در کمال تعجب در هیچ یک از باندهای پروتئین، گاما کانتر رادیواکتیویتهی بیشتری را نسبت به سرم شاهد تشخیص نداد و در تکرار آزمایش ها نیز نتایج مشابهی به دست آمد، یعنی پروتئین اتصالی با تمایل غیر طبیعی در سرم بیمار یافت نشد. بنا بر این فرضیهی تداخل به سبب حضور یک پروتئین با تمایل اتصال بالا (آلومین، گاماگلوبین یا آلفاگلوبولین) نسبت به T₃ نیز مردود شد. پس ماهیت عامل تداخل کننده چه بود؟

از آنجایی که افزودن پلی اتیلن گلیکول^{iv} با جرم مولکولی ۶۰۰۰ دالتون (روش رسوب گاماگلوبولین ها) موجب تصحیح نتیجهی سنجش T₃ در سرم بیمار شده بود، به نظر می رسید عامل مداخله گر از گروه گاماگلوبولین ها می باشند (جدول ۲).

i- Binding Proteins
ii- Semi quantitative
iii- SDS PAGE
iv- PEG

v- Reproducible
vi- Internal Inconsistency

مثلاً در سنجش T_3 ، از یک آنتی‌بادی با تمایل بالا علیه T_3 استفاده می‌شود. عامل تداخل کننده باید غلظت بالا یا تمایل بالایی برای مولکول مورد بررسی داشته باشد. در گزارش فوق، احتمال غلظت بالای عامل تداخل‌کننده منتفی شد چرا که روش الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید به صورت SDS-PAGE و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره قادر به شناسایی پروتئین‌ها در حد نانوگرم در لیتر می‌باشد که در این مورد هیچ پروتئینی با غلظت بالا یافت نشد. تداخل به دلیل عاملی با تمایل بالا برای اتصال به مولکول مورد بررسی معمولاً در وضعیتی مانند حضور آنتی‌بادی ضد T_3 دیده می‌شود. یعنی آنتی‌بادی تداخل‌کننده به طور اختصاصی در برابر مولکول مورد سنجش در بدن ساخته می‌شود. استفاده از هورمون نشان‌دار و عدم اتصال آن به عامل تداخل‌کننده، امکان حضور عامل تداخل‌گر با تمایل بالا را نیز منتفی نمود. درحالی که آنتی‌بادی‌های هتروفیل به جز در موارد آنتی‌بادی‌های ضد حیوانی، تمایل کمی برای ترکیب با آنتی‌بادی مورد استفاده در سنجش دارند. با توجه به اینکه در این گزارش فرد مورد بررسی، سابقه‌ی تزریق آنتی‌بادی‌های منوکلونال با مقاصد تشخیصی یا درمانی نداشت. علت پیدایش چنین آنتی‌بادی‌های در سرم وی مشخص نیست. به هر حال در مرور مقالات منتشر شده تا سال ۲۰۰۵ این تنها مورد گزارش شده تداخل در سنجش T_3 با روش رادیوایمونواسی در اثر آنتی‌بادی‌های هتروفیل است.

بنا بر این، زمانی که نتیجه‌ی آزمون‌های عملکرد تیروئید با یکدیگر یا با وضعیت بالینی بیمار تطابق ندارند، پزشک علاوه بر اشکال تکنیکی آزمایشگاه، باید احتمال تداخل در سنجش را نیز مد نظر داشته باشد. ارتباط بیشتر پزشک با آزمایشگاه در تصمیم‌گیری صحیح برای اجتناب از آزمایش‌ها پیچیده‌تر و انجام درمان‌های نا به جا ضروری است.

آزمایشگاه باید آزمایش مشکوک را تکرار کند تا یافته‌ی به دست آمده اثبات شود. اگر یافته‌ی قبلی تکرار شد:

الف: یافته‌های بالینی مانند وضعیت بیمار و درمان مجدداً مرور شوند و اطلاعات مربوط به نمونه مانند وضعیت نمونه، شرایط و زمان نگهداری آن و نتایج سایر آزمایش‌ها به ویژه ایمونواسی‌های انجام شده روی همان نمونه کنترل شوند.

ب: اندازه‌گیری مذکور با یک روش قابل مقایسه دیگر مانند LLSA مجدداً تکرار شود.

واکنش نشان می‌دهند. با گذشت زمان، از آنجایی که در تکنیک‌های ایمونواسی، شناسایی مولکولی با کمک آنتی‌بادی‌هایی با منشأ حیوانی (عمدتاً موش) انجام می‌شود، تعریف آنتی‌بادی‌های هتروفیل گسترده‌تر شد و گاه به جای آن از اصطلاح ضدآنتی‌بادی حیوانی یا آنتی‌بادی انسانی علیه آنتی‌بادی موش (HAMA) استفاده می‌شود.^{۱۰-۱۲}

گروهی از محققان فاکتور روماتوئید را نیز جزو آنتی‌بادی‌های هتروفیل در نظر می‌گیرند اما عده‌ای دیگر این فاکتور را مستقل قلمداد می‌کنند.^۴ بدون در نظر گرفتن فاکتور روماتوئید، شیوع آنتی‌بادی‌های هتروفیل در ۲ تا ۱۵٪ جمعیت گزارش شده است. حضور آنتی‌بادی‌های هتروفیل در سرم به معنی تداخل نیست چون معمولاً تمایل کمی برای واکنش با آنتی‌بادی‌های مورد استفاده در ایمونواسی‌ها دارند. به هر حال حداقل در ۰/۵-۰/۰۵ درصد موارد تداخل در تصمیم‌گیری بالینی تأثیرگذار می‌باشند. این آنتی‌بادی‌ها بیشترین تداخل را در ایمونواسی‌های دو جایگاهی^۱ دارند. در روش‌های مذکور از دو آنتی‌بادی، به نام‌های آنتی‌بادی گیرنده^{۱۱} و آنتی‌بادی علامت‌دهنده (Signal یا Detection) برای ساندویچ نمودن مولکول مورد نظر استفاده می‌شود.^{۱۳}

آنتی‌بادی‌های هتروفیل قادرند در طیف وسیعی از ایمونواسی‌ها مانند سنجش آلفا فیتوپروتئین، آنتی‌ژن‌های ویروسی، فریتین، β -hCG، پرولاکتین، CEA-FSH و LH تداخل کنند.

در مورد تداخل آنتی‌بادی‌های هتروفیل در آزمون‌های عملکرد تیروئید گزارش‌های متعددی وجود دارد که تقریباً همه‌ی آن‌ها تداخل در سنجش TSH با روش دو جایگاهی صورت گرفته است.

تنها گزارش اختلال در تمام آزمون‌های تیروئید (T_4 تام و آزاد، T_3 تام و TSH) با آنتی‌بادی‌های هتروفیل توسط فیاد و همکاران^{۱۴} در سال ۱۹۹۴ صورت گرفت انجام شد وجود آنتی‌بادی‌هایی که هم‌زمان در بیش از یک سنجش تداخل می‌کنند و منجر به الگوی هورمونی غیر طبیعی می‌شوند بسیار نادر است. در گزارش مورد بحث، آنتی‌بادی‌های هتروفیل مسئول ایجاد تداخل بودند اما تداخل مذکور بر خلاف معمول در سنجش به روش رادیوایمونواسی (RIA) اتفاق افتاده است. در روش RIA معمولاً از یک آنتی‌بادی با تمایل بالا بر علیه مولکول مورد اندازه‌گیری استفاده می‌شود.

i- Two-site

ii- Capture

و سرکار خانم قدس، کارشناس ارشد بیوشیمی مرکز پژوهش‌های ابن‌سینای دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و سرکار خانم صنم سلیمی کارشناس آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی ابراز می‌دارند.

در نهایت چنانچه برای مقادیر تام هورمون‌های TSH، T₃ و T₄ در آزمون توازی (رقت‌های متوالی)، رابطه‌ی خطی مشاهده نشد، باید به تداخل شک کرد. این کار در مورد سنجش مقادیر آزاد هورمون‌ها صدق نمی‌کند.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب قدردانی خود را از همکاری و زحمات آقای دکتر محمد جواد رسائی، استاد دانشگاه تربیت مدرس

References

۱. حیدریان پیمانه، عزیزی فریدون. بررسی بیماری‌های تیروئید بالغین در تهران. پایان نامه فوق تخصصی غدد درون‌ریز و متابولیسم، تهران: مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی ۱۳۸۰.

2. Bjerner J, Nustad K, Norum LF, Olsen KH, Borner OP. Immunometric assay interference: incidence and prevention. *Clin Chem*. 2002;48: 613-21.
3. Krahn J, Parry DM, Laroux M, Dalton J. High percentage of false positive cardiac troponin I results in patient with rheumatoid factor. *Clin Biochem* 1999; 32: 477-80.
4. Marks V. False-positive immunoassay results: a multicenter survey of erroneous immunoassay results from assays of 74 analytes in 10 donors from 66 laboratories in seven countries. *Clin Chem* 2002; 48: 2008-16.
5. Robbins J. Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding. In: Braverman LE, Utiger RD editors. *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2000. p. 105-115.
6. Refetof S. Thyroid Hormone serum Transport proteins. In: DeGroot LJ, Hennemann G. (editors). *Thyroid Disease Manager*. South Dartmouth, Mass: Endocrine Education, 2002.

7. Sunthornthepvarakul T, Likitmaskul S, Ngowngarmratana S, Angsusingha K, Kitvitayasak S, Scherberg NH, et al. Familial dysalbuminemic hypertriiodothyroninemia: a new, dominantly inherited albumin defect. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1448-54.
8. Sugeno A, Mizuno E, Haniuda M, Fujimori M, Masuda H, Kasuga Y, et al. Anti-triiodothyronine autoantibodies in a euthyroid woman: confirmation of immunoglobulin G antibodies employing protein A column chromatography. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1991; 124: 115-20.
9. Ginsberg J, Segal D, Ehrlich RM, Walfish PG. Inappropriate triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) radioimmunoassay levels secondary to circulating thyroid hormone autoantibodies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1978; 8: 133-9.
10. Kaplan IV, Levinson SS. When is a heterophile antibody not a heterophile antibody? When it is an antibody against a specific immunogen. *Clin Chem* 1999; 45: 616-8.
11. Frost SJ. More on heterophile and human anti-animal antibodies. *Clin Chem* 1999; 45: 2042-3.
12. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-56.
13. Despres N, Grant AM. Antibody interference in thyroid assays: a potential for clinical misinformation. *Clin Chem* 1998; 44: 440-54.
14. Fiad TM, Duffy J, McKenna TJ. Multiple spuriously abnormal thyroid function indices due to heterophilic antibodies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 41: 391-5.