

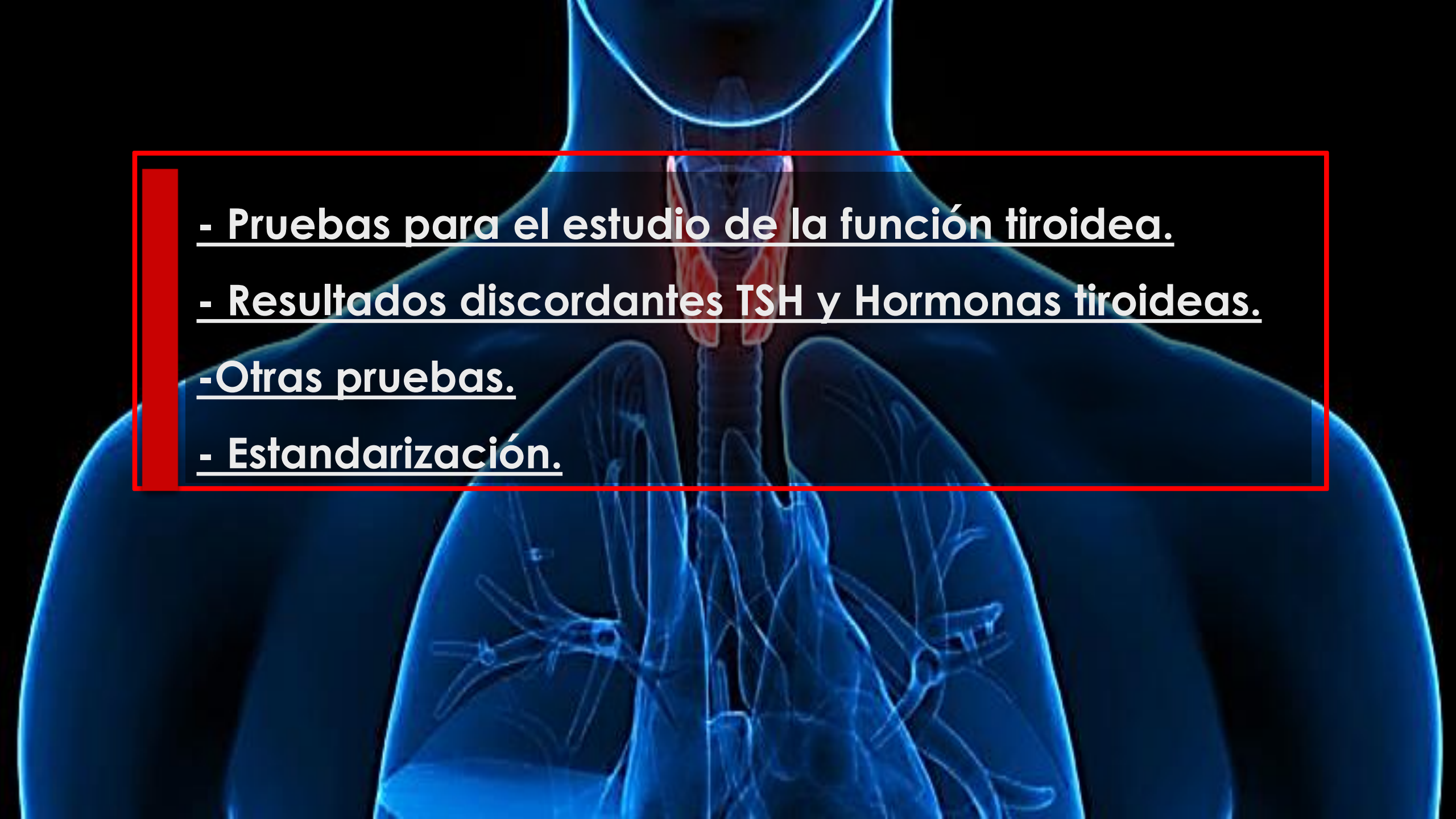


El laboratorio en el estudio de la función tiroidea.

SERGIO GÓMEZ VERA

FARMACÉUTICO INTERNO RESIDENTE

COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE BADAJOZ

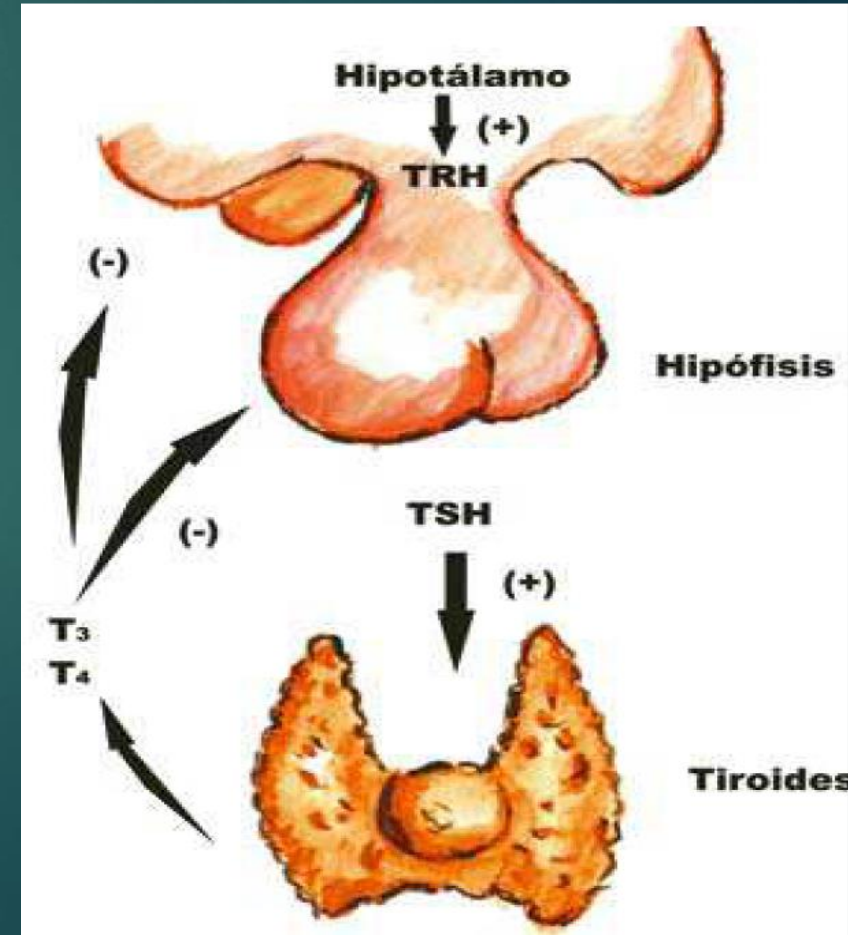
- 
- Pruebas para el estudio de la función tiroidea.
 - Resultados discordantes TSH y Hormonas tiroideas.
 - Otras pruebas.
 - Estandarización.

TIROTROPINA o TSH

- Cribado de la disfunción tiroidea (un ligero cambio en T4L → variación exponencial TSH).

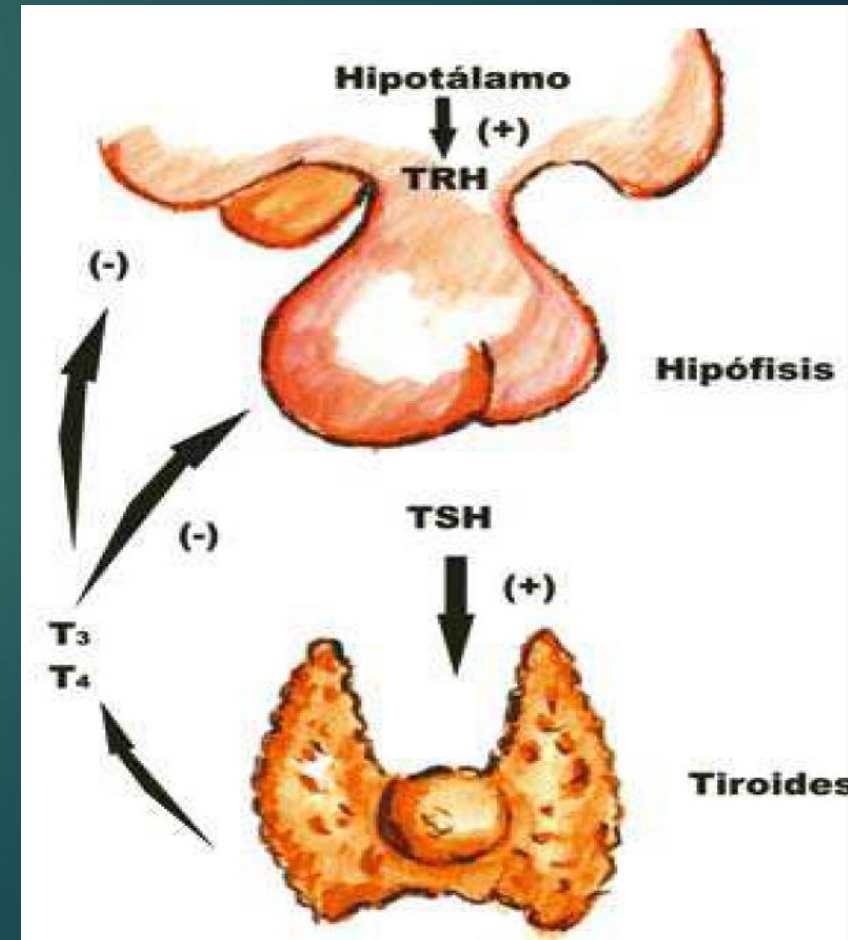
TSH es mas sensible a la hora de detectar excesos o deficiencias leves o subclínicas de las hormonas tiroideas.

- No siempre detecta tumores hipofisarios secretores TSH (TSH normal pero con mayor actividad).
- Permite valorar el tto sustitutivo, aunque tarda en normalizarse 6-8 semanas después de T4L.



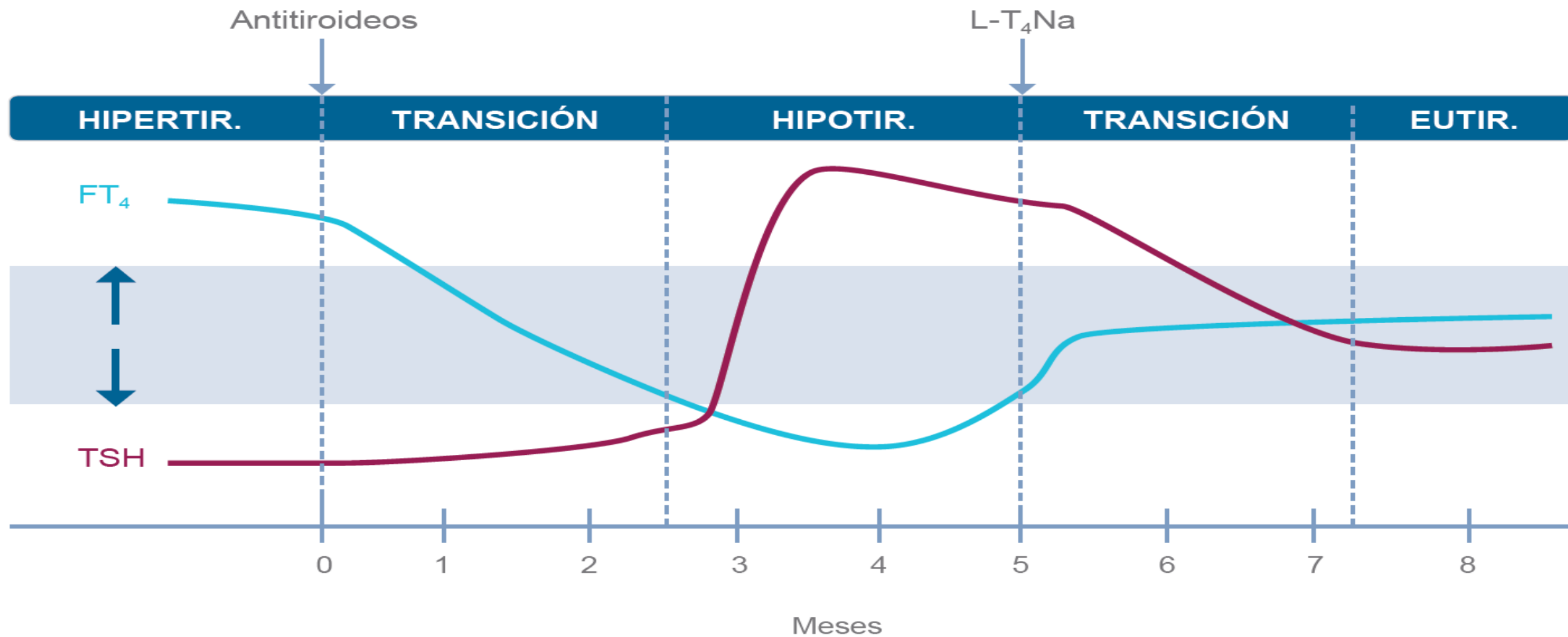
TIROTROPINA o TSH

- ↑↑↑ TSH → HIPOFUNCIÓN TIROIDEA.
 - >20 uUI/ml → ↓↓↓ Hormonas Tiroideas (HT).
- ↑ TSH (<15 uUI/ml) , HT normales → HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO.
- [TSH]: 0,27-4,2 uUI/ml → Función tiroidea normal.
- ↓↓↓ TSH → HIPERFUNCIÓN TIROIDEA.
 - T4L y T3L Normales → HIPERTIROIDISMO SUBCLÍNICO.
 - T4L Normal y T3L ↑↑↑ → HIPERTIROIDISMO POR T3
 - Ambas ↑↑↑ → HIPERTIROIDISMO CLÍNICO.



CAMBIOS EN TSH

- Etapas de transición o fase de ajuste de la terapia



CAMBIOS EN TSH

- Etapas de transición o fase de ajuste de la terapia
- Hospitalizados con enfermedades no tiroideas: $\uparrow$ o $\downarrow$ transitorio de TSH.

- $\uparrow$ TSH:

- Hipotiroidismo primario.
- Infradosificación levotiroxina
- TSHoma
- Hipotiroidismo subclínico.
- Resistencia a HT.
- Fcos: amiodarona, sulpirida, haloperidol, clorpromacina, inhibidores de la tirosín quinasa, anfetaminas, interferón alfa...
- 2-3 primeros días de vida.

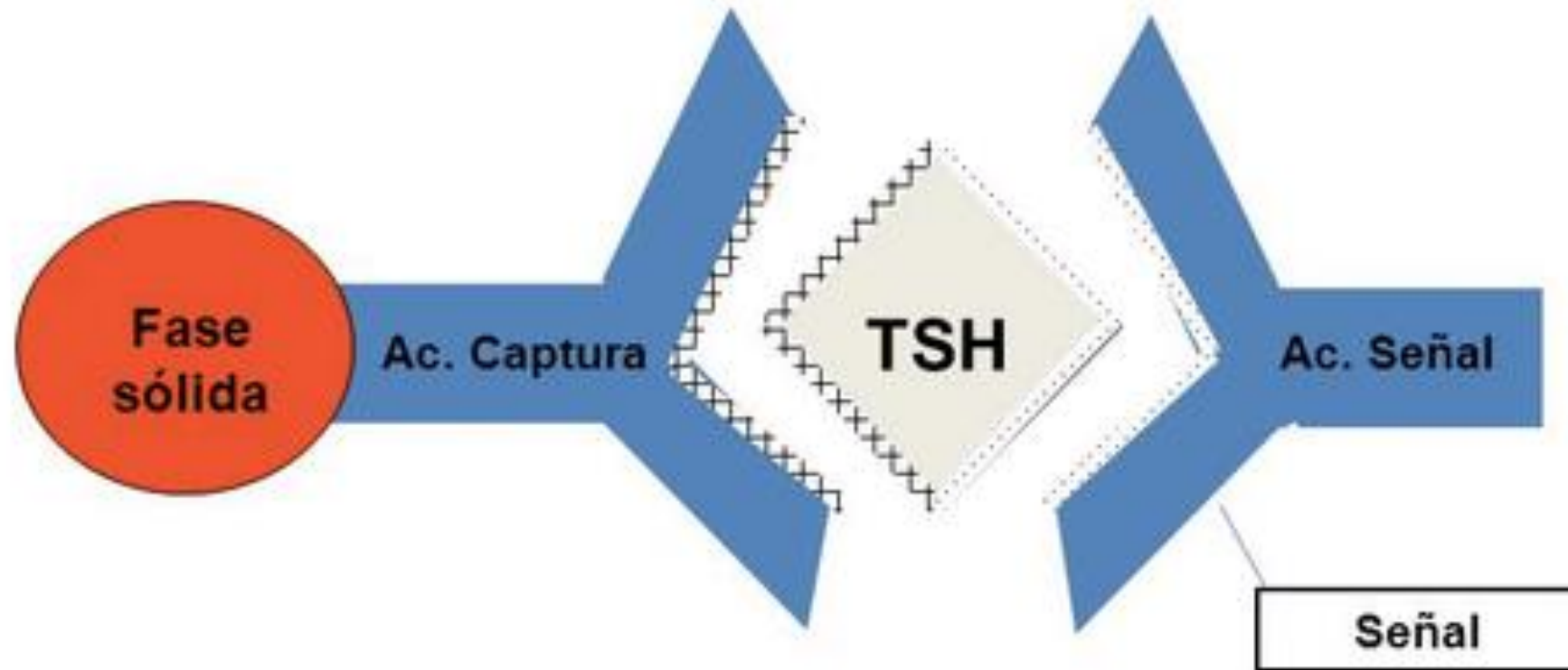
- $\downarrow$ TSH:

- Hipotiroidismo secundario.
- Dopamina o dopaminérgico, litio, corticoides, somatostatina, carbamacepina...
- Sd Cushing, hipertiroidismo primario, hipotiroidismo primario con exceso de tto.
- Primer trimestre gestación, deshidratación grave...

CAMBIOS EN TSH

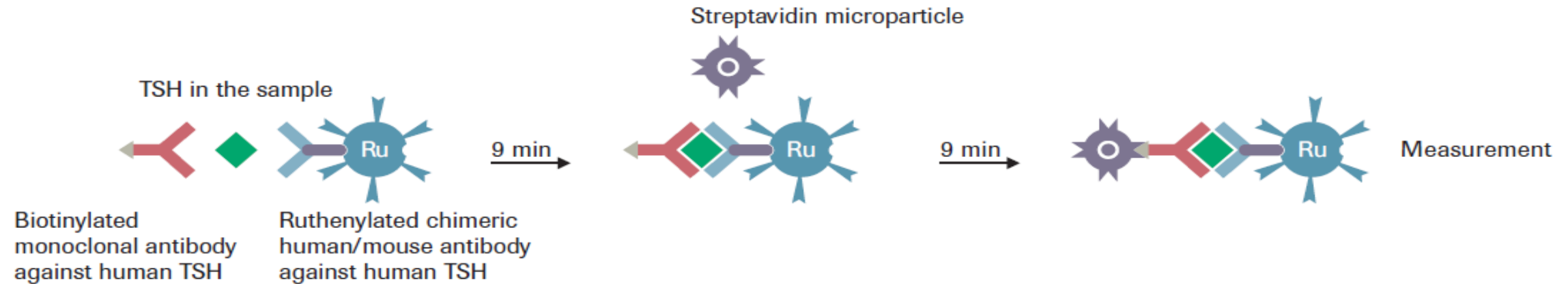
- Etapas de transición o fase de ajuste de la terapia
- Hospitalizados con enfermedades no tiroideas: $\uparrow$ o $\downarrow$ transitorio de TSH.
- $\uparrow$ TSH
 - La TSH es una hormona lábil, sujeta a influencias hipofisarias no tiroideas
 - corticoides,
 - (glucocorticoides, somatostatina, dopamina... que pueden alterar la
 - rio,
 - relación TSH/T4L $\rightarrow$ puede aparecer TSH anormal con TIROIDEAS normales. o de tto.
 - Fcos: amiodarona, sulpirida, haloperidol,
 - Primer trimestre gestación, deshidratación grave...
 - clorpromacina, inhibidores de la tirosín
 - quinasa, anfetaminas, interferón alfa...
 - 2-3 primeros días de vida.

TSH. ENSAYO ACTUAL



TSH. ENSAYO ACTUAL

Test principle: one-step sandwich assay



Principio del test

Principio sándwich. Duración total del test: 18 minutos.

- 1.ª incubación: 50 µL de muestra, un anticuerpo monoclonal biotinilado anti-TSH y un anticuerpo monoclonal anti-TSH marcado con quelato de rutenio forman un complejo sándwich.
- 2.ª incubación: después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.
- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de medida donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell/ProCell M. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.
- Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster proporcionada por el código de barras del reactivo o el código de barras electrónico.

TSH. ENSAYO ACTUAL

En pacientes en tratamiento con altas dosis de biotina (> 5 mg/día), no recoger la muestra antes de transcurridas como mínimo 8 horas tras la última administración.

No se han observado interferencias por factores reumatoides (hasta 3250 UI/mL) ni en muestras de pacientes en diálisis.

No se ha registrado el efecto prozona (high dose hook) con concentraciones de TSH de hasta 1000 μ UI/mL.

Se analizaron in vitro 26 fármacos de uso extendido sin encontrar interferencias.

La presencia de autoanticuerpos puede inducir la formación de complejos de alto peso molecular (macro-TSH) causantes de valores altos inesperados de TSH.⁸

En casos aislados pueden presentarse interferencias por títulos extremadamente altos de anticuerpos dirigidos contra anticuerpos específicos del analito, la estreptavidina o el rutenio. Estos efectos se han minimizado gracias a un adecuado diseño del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

0.005-100 μ UI/mL (definido por el límite inferior de detección y el máximo de la curva máster). La sensibilidad funcional es de 0.014 μ UI/mL.⁶ Los valores inferiores al límite de detección inferior se indican como < 0.005 μ UI/mL. Los valores superiores al intervalo de medición se indican como > 100 μ UI/mL, o bien diluidos por el factor 10, respectivamente hasta 1000 μ UI/mL.

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección del test

Límite inferior de detección: 0.005 μ UI/mL

El límite inferior de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como la concentración situada a 2 desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (calibrador máster, estándar 1 + 2 DE, estudio de repetibilidad, $n = 21$).

Dilución

Las muestras con concentraciones de TSH superiores al intervalo de medición pueden diluirse con Diluent MultiAssay. Se recomienda una dilución a 1:10 (automáticamente por los analizadores o bien de forma manual). La concentración de la muestra diluida debe superar los 10 μ UI/mL.

LIMITACIONES INMUNOANÁLISIS DE TIROTROPINA

- Heterogeneidad molecular.
- Ac heterófilos.
- Ac anti TSH.
- Factor reumatoide.
- Ac anti Rutenio en Cobas.

LIMITACIONES INMUNOANÁLISIS DE TIROTROPINA

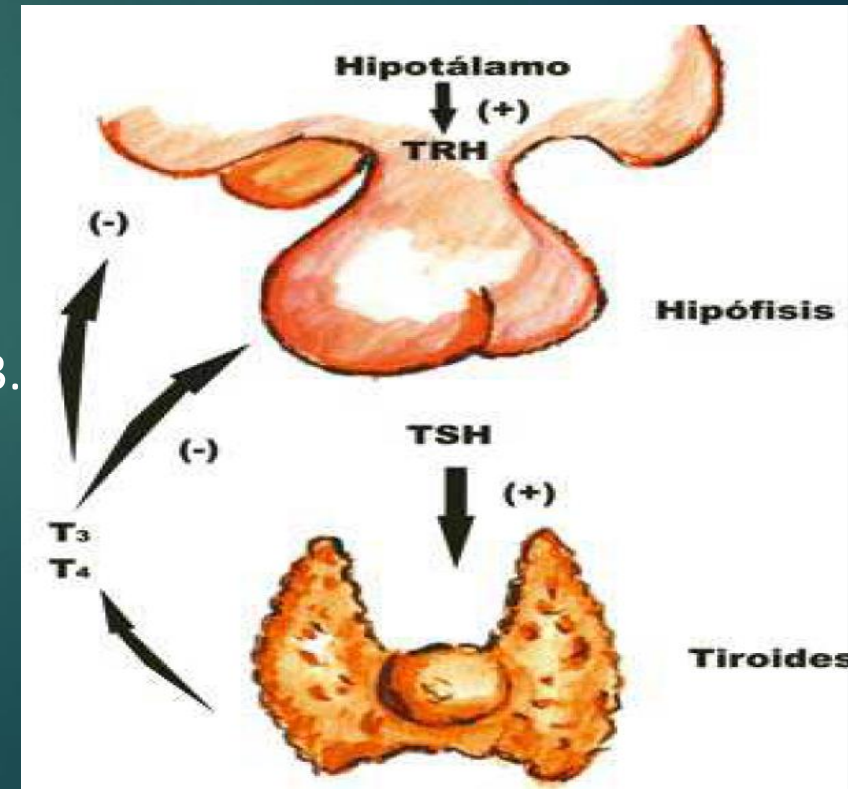
- **HETEROGENICIDAD MOLECULAR:**

- Distintas isoformas circulantes, algunas con baja actividad y la mayoría de los métodos las miden.

- Ej: Hipotiroidismo central, secretan formas glicosiladas inactivas y aparecen cifras normales TSH.

HORMONAS TIROIDEAS: TIROXINA Y TRIYODOTIRONINA

- ¿Cuándo solicitarlas?:
 - TSH $\uparrow$ $\rightarrow$ solicitar T4L: $\uparrow$ (hipertiroidismo 2ario), $\downarrow$ (Hipotiroidismo 1ario), normal (hipotiroidismo subclínico).
 - TSH $\downarrow$ $\rightarrow$ solicitar T4L: $\uparrow$ (hipertiroidismo 1ario), $\downarrow$ (Hipotiroidismo 2ario), normal (hipertiroidismo subclínico).
 - Al inicio de tto sustitutivo: T4L
 - ¿Cuándo T3L?
 - TSH suprimida y T4L normal, para descartar tirotoxicosis por T3.
 - Se eleva antes que T4, aunque es mas precoz el descenso TSH.
 - Estudio de tirotoxicosis por amiodarona.



CAMBIOS EN HT

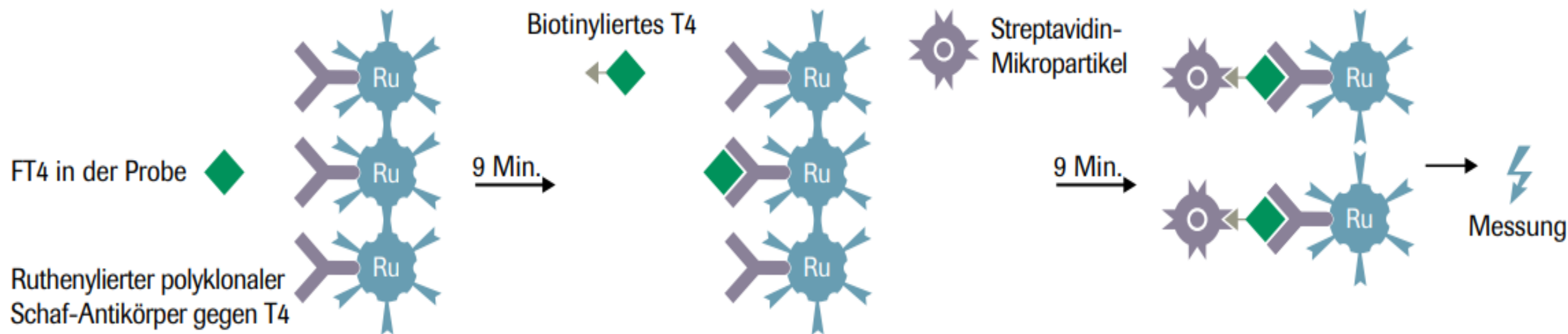
- ↑ HT:

- Hipertiroidismo primario y secundario.
- Aumento de proteínas transportadoras
- Deshidratación grave
- Amiodarona
- Litio
- Sales yodadas...

- ↓ HT:

- Hipotiroidismo
- Déficit yodo.
- Enfermedades graves.
- Anciano sano (T3L_↓)
- Inhibidores de la tiroxina quinasa, betabloqueantes, corticoides, fenitoínas...
- Gestación.

T₄L. ENSAYO ACTUAL



Principio de competición con una duración total de 18 minutos.

- 1ª incubación: 15 µL de muestra y un anticuerpo específico anti-T₄ marcado con un complejo de rutenio.
- 2ª incubación: Tras la incorporación de T₄ biotinilada y de micropartículas recubiertas de estreptavidina, los sitios de unión aún libres del anticuerpo marcado se ocupan formándose un complejo anticuerpo-hapteno. El complejo total se fija a la fase sólida por la interacción entre la biotina y la estreptavidina.

- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo ProCell/ProCell M. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.
- Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo.

T₄L. ENSAYO ACTUAL

Limitaciones del análisis - interferencias

El test no se ve afectado por ictericia (bilirrubina < 701 µmol/L o < 41 mg/dL), hemólisis (Hb < 0.621 mmol/L ó < 1.0 g/dL), lipemia (Intralipid < 2000 mg/dL), ni biotina (< 81.8 nmol/L o < 20 ng/mL), IgG < 7 g/dL, IgA < 1.6 g/dL e IgM < 1 g/dL.

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial.

En pacientes en tratamiento con altas dosis de biotina (> 5 mg/día), no recoger la muestra antes de transcurridas como mínimo 8 horas tras la última administración.

No se han observado interferencias por factores reumatoides (hasta 1200 UI/mL) ni en muestras de pacientes en diálisis.

Las influencias que llegan a afectar el comportamiento de fijación de las proteínas de fijación, también pueden alterar el resultado del análisis de T₄ libre (p.ej. fármacos, enfermedades de origen no tiroideo o pacientes con hipertiroidismo disalbuminémico familiar).^{9,10}

El presente test no debe aplicarse en pacientes bajo tratamiento con hipolipemiantes que contienen D-T₄. Si se desea evaluar la función tiroidea de estos pacientes se recomienda suspender el tratamiento durante 4-6 semanas a fin de restablecer su estado fisiológico.¹¹

Los autoanticuerpos contra las hormonas tiroideas pueden interferir en el ensayo.⁷

Límites inferiores de medición

Límite del blanco, límite de detección y límite de cuantificación

Límite del blanco = 0.3 pmol/L

Límite del blanco = 0.5 pmol/L

Límite de cuantificación = 3 pmol/L con un error máximo permisible del $\leq 30\%$

El Límite del Blanco, el Límite de Detección y el Límite de Cuantificación fueron determinados cumpliendo con los requerimientos EP17-A del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute).

El Límite de Blanco es el valor del percentil 95 obtenido a partir de $n \geq 60$ mediciones de muestras libres de analito en varias series independientes. El Límite de Blanco corresponde a la concentración por debajo de la cual se encuentran, con una probabilidad del 95 %, las muestras sin analito.

El Límite de Detección se determina basándose en el Límite de Blanco y en la desviación estándar de muestras de baja concentración. El Límite de Detección corresponde a la menor concentración de analito detectable (valor superior al Límite de Blanco con una probabilidad del 95 %).

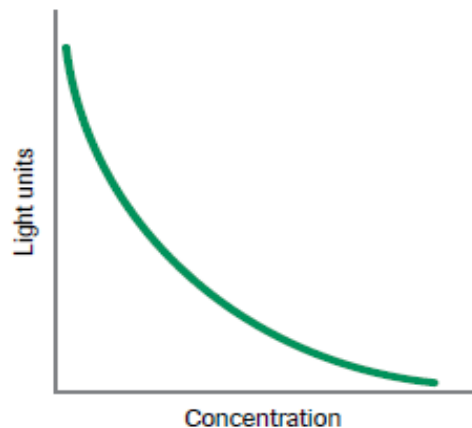
El límite de cuantificación se define como la menor concentración de analito en una muestra que puede cuantificarse exactamente con un error máximo admisible de $\leq 30\%$.

Dilución

No diluir las muestras destinadas a la determinación de FT₄, ya que la T₄ en sangre se encuentra en equilibrio entre la hormona libre y la ligada a proteína. Si se produce un cambio en la concentración de las proteínas de fijación, este equilibrio también sufre alteraciones.

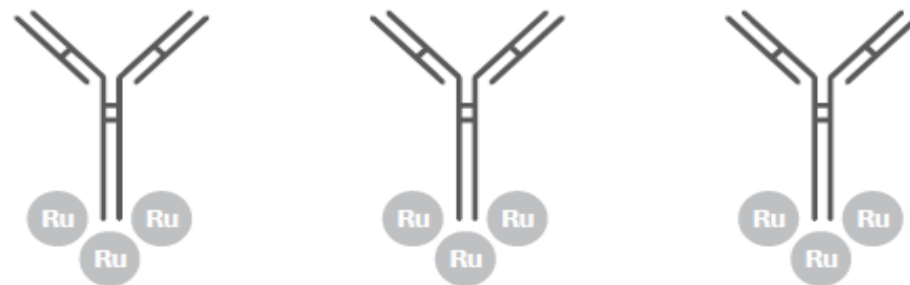
Elecsys[®] FT4 reaction principle

Roche



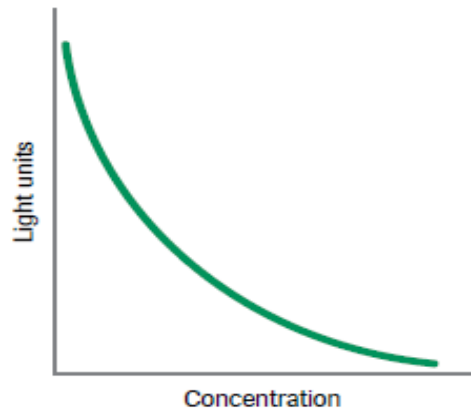
Patient sample with free T₄ is incubated with T₄-specific antibodies labelled with a Ruthenium complex

i

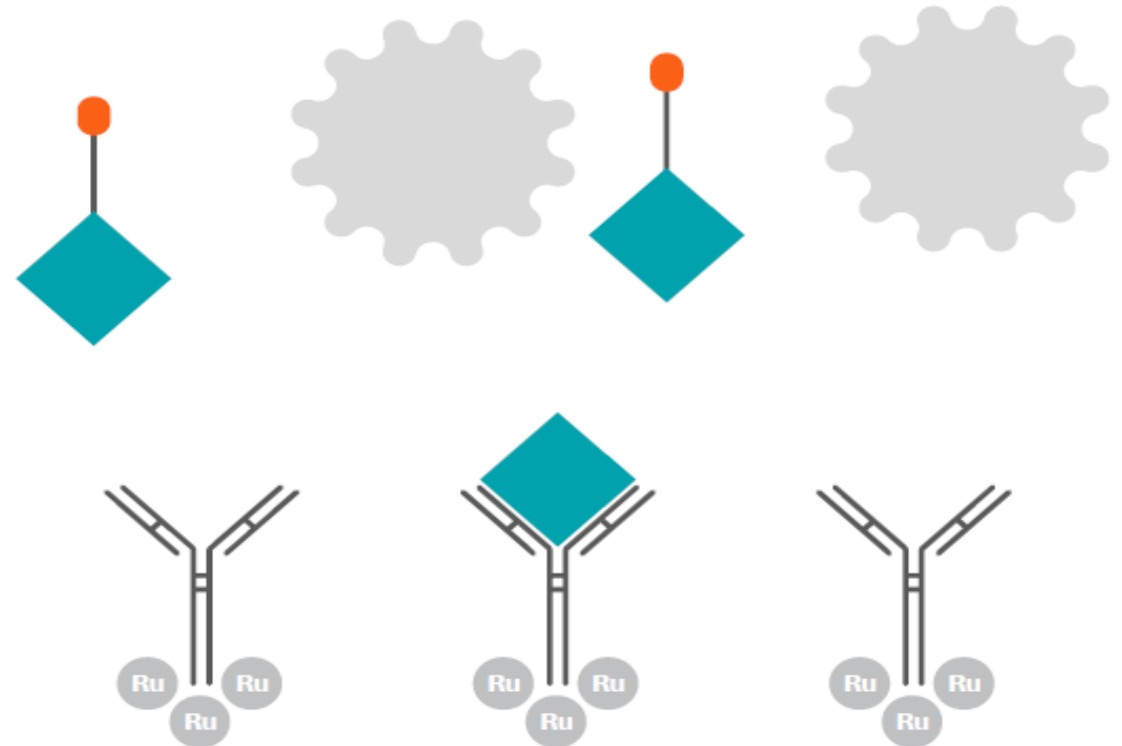


Elecsys[®] FT4 reaction principle

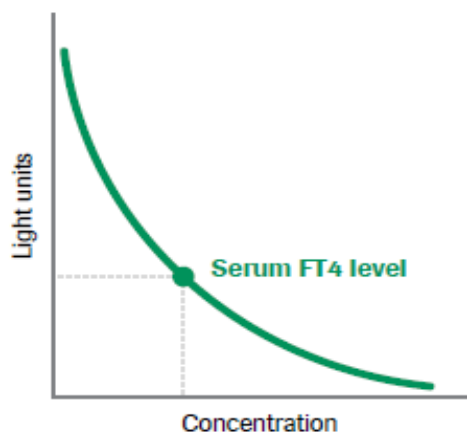
Roche



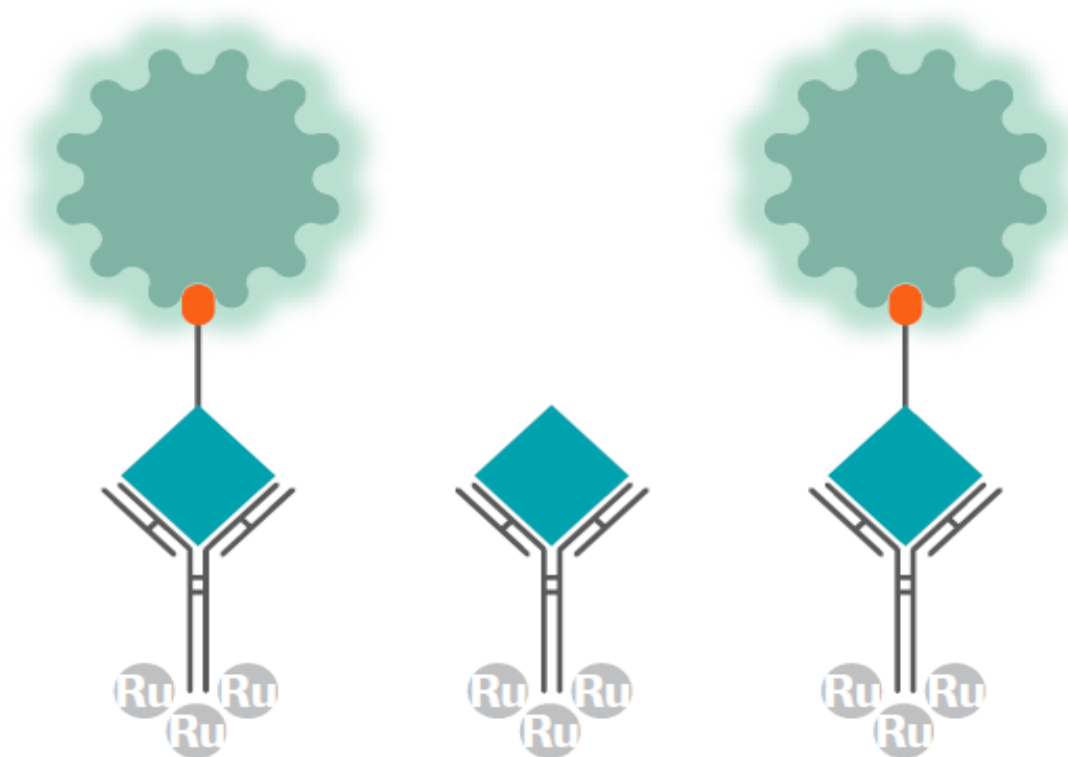
After addition of streptavidin-coated microparticles and biotinylated FT4, free binding sites of the labelled antibodies become occupied, forming a complex.



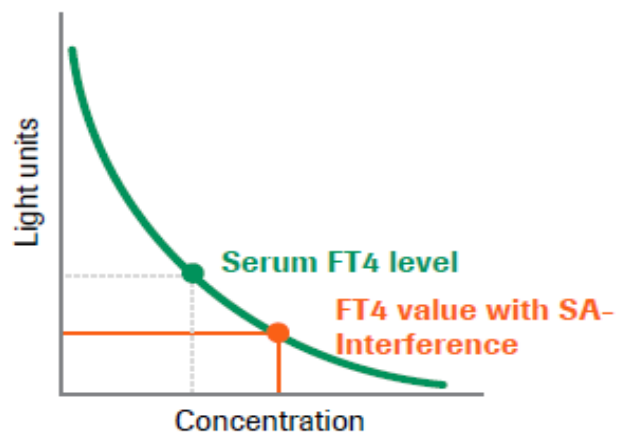
Elecsys[®] FT4 reaction principle



Application of a voltage produces the light signal, which varies inversely with the concentration of free FT4 in the sample.

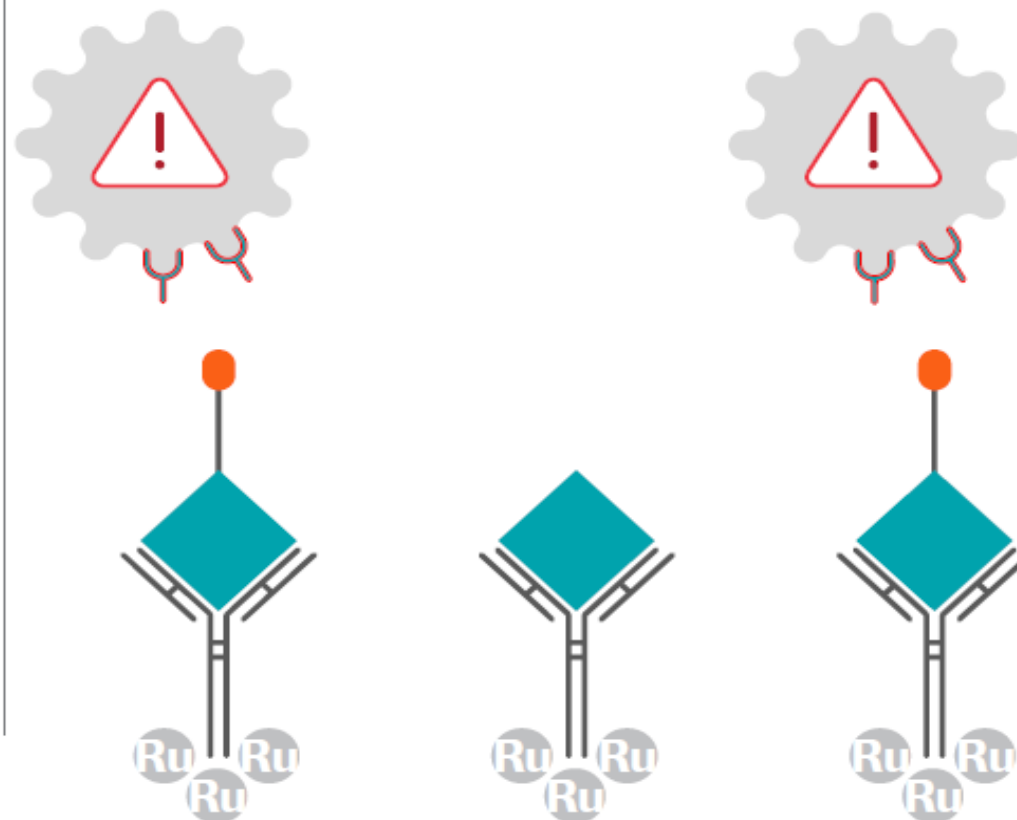


Interference from Anti-SA factors (IgG or IgM)



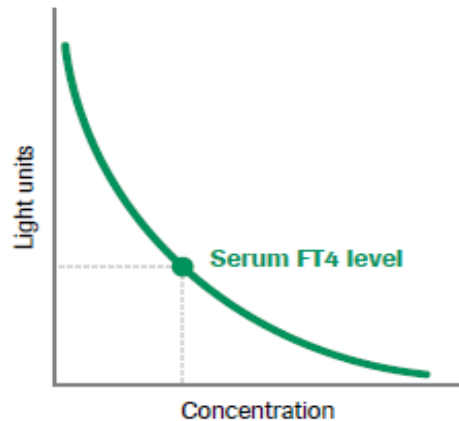
The streptavidin (SA) is masked by unspecific Anti-SA interference factor, therefore, the biotin-T₄-antibody complex is hindered from generating a signal.

For the competitive Elecsys[®] FT₄ assay this leads to a falsely elevated result.



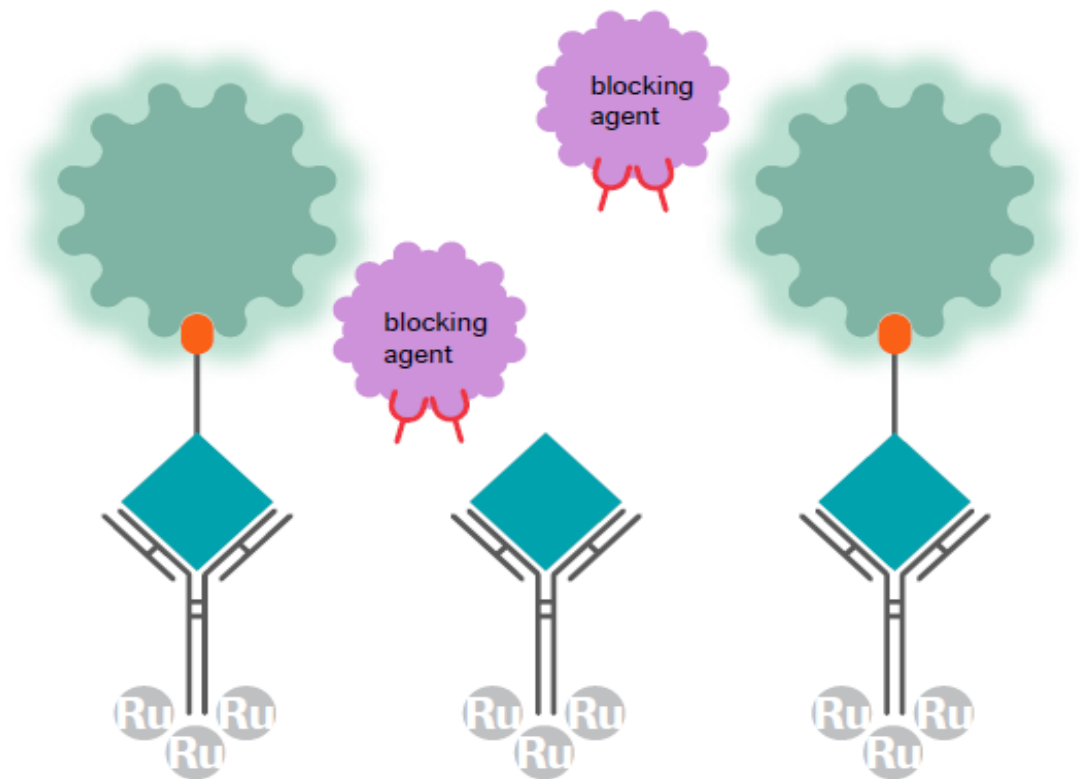
Elecsys® FT4 III solution

Use of new blocking agent

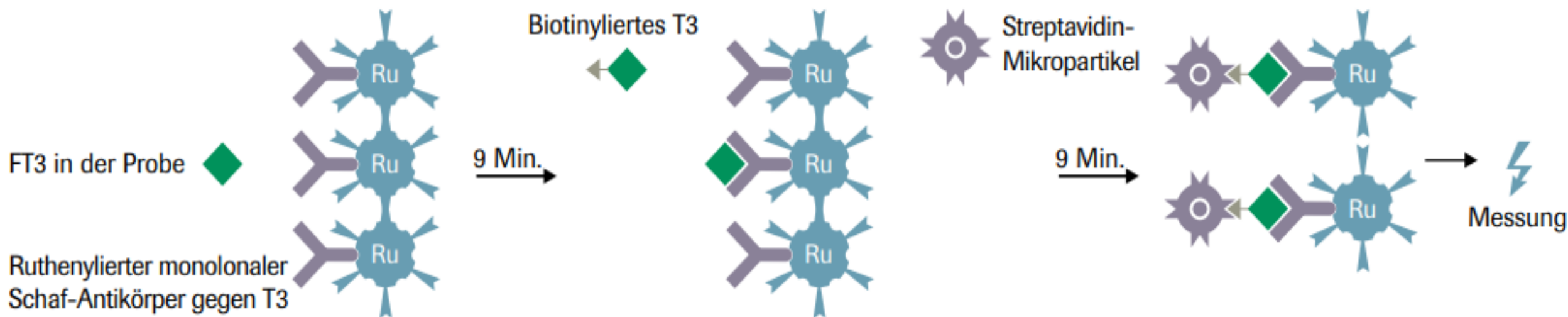


The blocking agent is a protein that captures the anti-SA interference factor in the patient serum.

Changing the blocking agent significantly reduced interference.



T₃L. ENSAYO ACTUAL



Principio de competición con una duración total de 18 minutos.

- 1ª incubación: La muestra (15 µL) y un anticuerpo anti-T3 marcado con quelato de rutenio.
- 2ª incubación: Tras la incorporación de T3 marcada con biotina y de micropartículas recubiertas de estreptavidina, los puntos de fijación aún libres del anticuerpo marcado se ocupan formándose un complejo anticuerpo-hapteno. El complejo entero se fija a la fase sólida por la interacción entre la biotina y estreptavidina.

- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo ProCell/ProCell M. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.
- Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo.

T₃L. ENSAYO ACTUAL

Limitaciones del análisis - interferencias

El test no se ve afectado por ictericia (bilirrubina < 1128 µmol/L o < 66 mg/dL), hemólisis (Hb < 0.621 mmol/L ó < 1.0 g/dL), lipemia (Intralipid < 2000 mg/dL), ni biotina (< 286 nmol/L o < 70 ng/mL), IgG < 7 g/dL, IgA < 1.6 g/dL e IgM < 1 g/dL.

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10 \%$ del valor inicial.

En pacientes en tratamiento con altas dosis de biotina (> 5 mg/día), no recoger la muestra antes de transcurridas como mínimo 8 horas tras la última administración.

No se han observado interferencias por factores reumatoides hasta una concentración de 1200 UI/mL.

Las influencias que llegan a afectar el comportamiento de fijación de las proteínas de fijación, también pueden alterar el resultado del análisis de T₃ libre (p.ej. fármacos, enfermedades de origen no tiroideo o pacientes con hipertiroidismo familiar).^{10,11}

Límites inferiores de medición

Límite del blanco, límite de detección y límite de cuantificación

Límite del blanco = 0.4 pmol/L

Límite de detección = 0.6 pmol/L

Límite de cuantificación = 1.5 pmol/L con un error máximo admisible del $\leq 30 \%$

El Límite del Blanco, el Límite de Detección y el Límite de Cuantificación fueron determinados cumpliendo con los requerimientos EP17-A del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute).

El Límite de Blanco es el valor del percentil 95 obtenido a partir de $n \geq 60$ mediciones de muestras libres de analito en varias series independientes. El Límite de Blanco corresponde a la concentración por debajo de la cual se encuentran, con una probabilidad del 95 %, las muestras sin analito.

El Límite de Detección se determina basándose en el Límite de Blanco y en la desviación estándar de muestras de baja concentración. El Límite de Detección corresponde a la menor concentración de analito detectable (valor superior al Límite de Blanco con una probabilidad del 95 %).

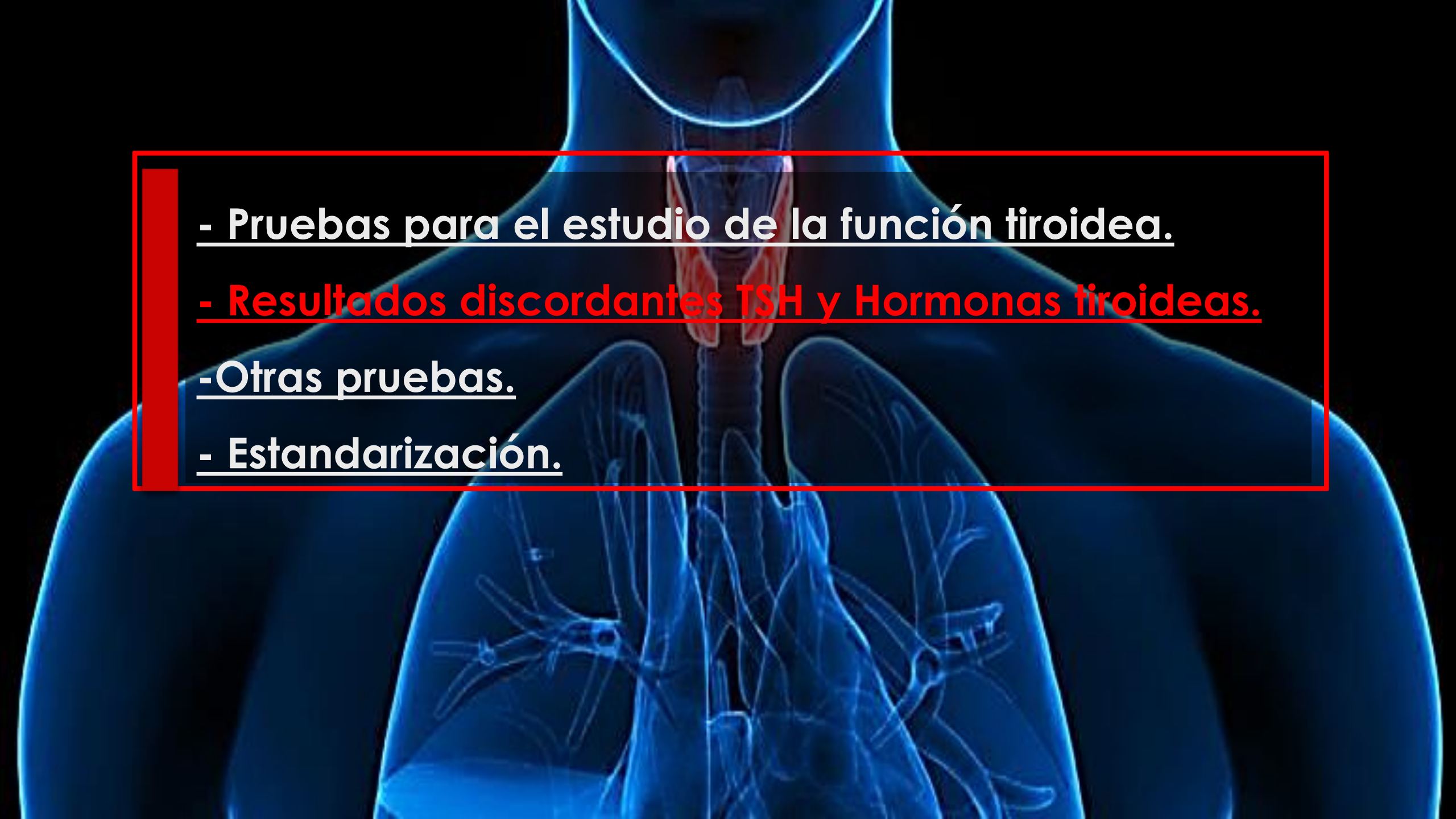
El límite de cuantificación se define como la menor concentración de analito en una muestra que puede cuantificarse exactamente con un error máximo admisible de $\leq 30 \%$.

Dilución

No diluir las muestras destinadas a la determinación de fT₃, ya que la T₃ en sangre se encuentra en equilibrio entre la hormona libre y la ligada a proteína. Si se produce un cambio en la concentración de las proteínas de fijación, este equilibrio también sufre alteraciones.

LIMITACIONES INMUNOANÁLISIS DE HT LIBRES

- Dependencia de las variaciones en las proteínas transportadoras (globulina de unión a tiroxina TBG, transtiretina TTR o prealbúmina, y albumina) → estiman la concentración de hormona libre.
- Importante en déficit o exceso de TBG, gestación o hipertiroidismo familiar.
- También interferidos por FR, Ac anti HT, Ac heterófilos, Ac antirruteno o Ac antistreptavidina.
- Fcos como la heparina, furosema, salicilatos, anticonvulsivos... pueden causar fluctuaciones.

- 
- Pruebas para el estudio de la función tiroidea.
 - Resultados discordantes TSH y Hormonas tiroideas.
 - Otras pruebas.
 - Estandarización.

CAUSAS RESULTADOS DISCORDANTES TSH y HT

- Tto sustitutivo
 - Evaluación temprana (TSH no normalizada).
 - Incumplimiento terapéutico
- Dopamina: inhibe secreción TSH
 - Puede enmascarar un hipotiroidismo primario, al no elevarse la TSH.
 - Eutiroideos con TSH↓, pudiéndose confundir con Hipertiroidismo subclínico.
- Glucocorticoides y propranolol: inhiben paso de T4 a T3.
- Furosemida y AINEs: desplazan la T4 de sus proteínas de unión.

CAUSAS RESULTADOS DISCORDANTES TSH y HT

- **Amiodarona**: alto contenido en I → cambio [HT] (↓T3, ↑ rT3, T4 y TSH).
 - Tras 3 meses tto: T4 en límite alto o ligeramente ↑, T3 en límite bajo o ligeramente ↓, TSH <-> o ↑.
 - Induce alteraciones bioquímicas, con o sin disfunción tiroidea.
- **Litio**: acción parecida al yodo. Mecanismo desconocido.
- **Fenitoínas y carbamacepina**: aumento metabolismo HT y desplazan unión a proteínas.
- **Interferón alfa**: induce o acelera la enfermedad tiroidea.
- **Estrógenos**: incrementan TBG y por tanto los niveles de T4 total, pero sin afectar TSH (se controla por T4L).
- **Heparina**: estimula in vitro la LPL → se generan NEFA que se unen a albumina → ↑ T4L.

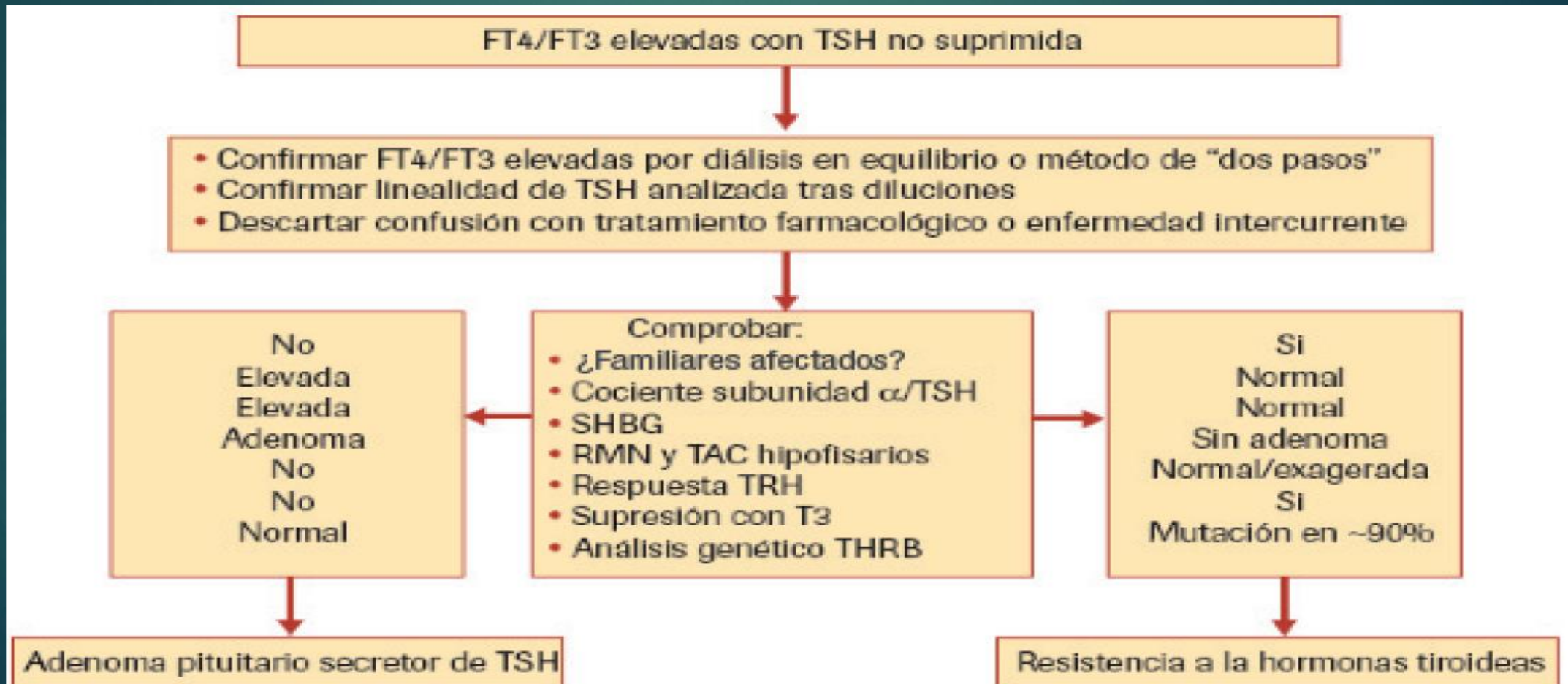
CAUSAS RESULTADOS DISCORDANTES TSH y HT

- **Biotina** (>5 mg/día): interfiere en el IA con biotina-estreptavidina.
- **Sd resistencia HT (TRH).**
 - Mutación gen receptor HT.
 - HT ↑ ↑ ↑ , TSH normal o ligeramente ↑ , SHBG Normal (HT inducen la síntesis SHBG).
 - Tras descartar el resto de causas de secreción inapropiada de TSH → diagnóstico molecular.
- **Enfermedad no tiroideas (NTI)**
 - Enfermedades, tanto agudas como crónicas, a menudo presentan anomalías en las pruebas tiroideas pero normalmente no tienen disfunción tiroidea.
- **Variante de albumina de la hipertiroidismo disalbuminémica familiar:** mayor afinidad por T4 y análogos usados en ensayos. Al ser ensayo competitivo, se sobreestima la T4L.

CAUSAS RESULTADOS DISCORDANTES TSH y HT

• Tumor productor TSH:

- Secreción autónoma y refractaria de retroalimentación negativa.
- HT ↑ con TSH detectable (30% pacientes TSH normal, TSH con actividad biológica aumentada).
- Hacer diagnóstico diferencial con la resistencia a HT.

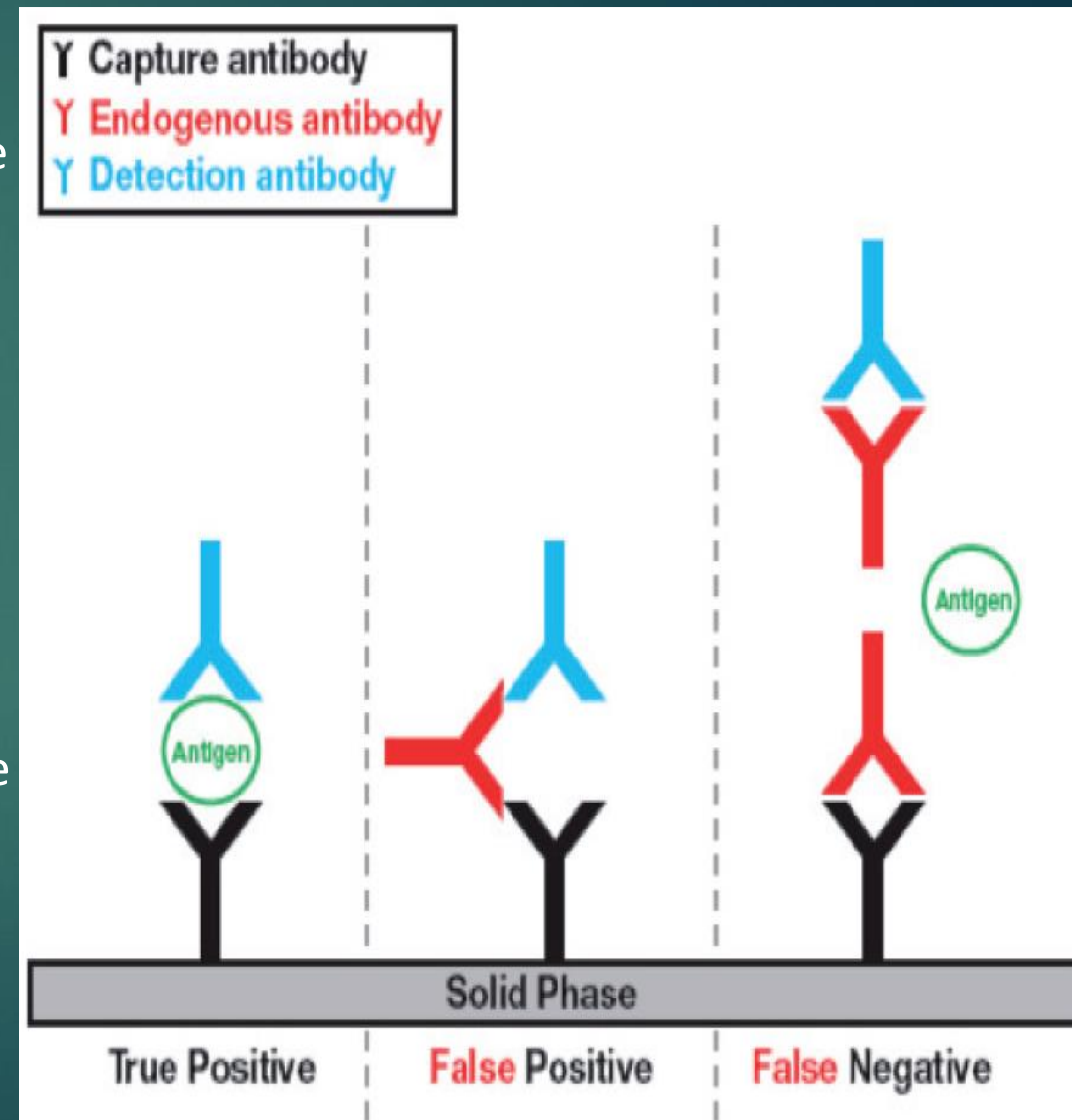


INTERFERENCIAS METODOLÓGICAS

- ¿Cuándo sospecharemos?
 - Discordancia Laboratorio-Clínica.
 - Discordancia T4L-TSH
- Factor reumatoide:
 - Se une al Ac del reactivo → se alteran los resultados.
- Autoanticuerpos anti T4 y anti T3:
 - Resultados ↑↑ HT.
 - Se determinan incubando el suero con 125 I-T4 y 125 I-T3 y precipitación con polietilenglicol.

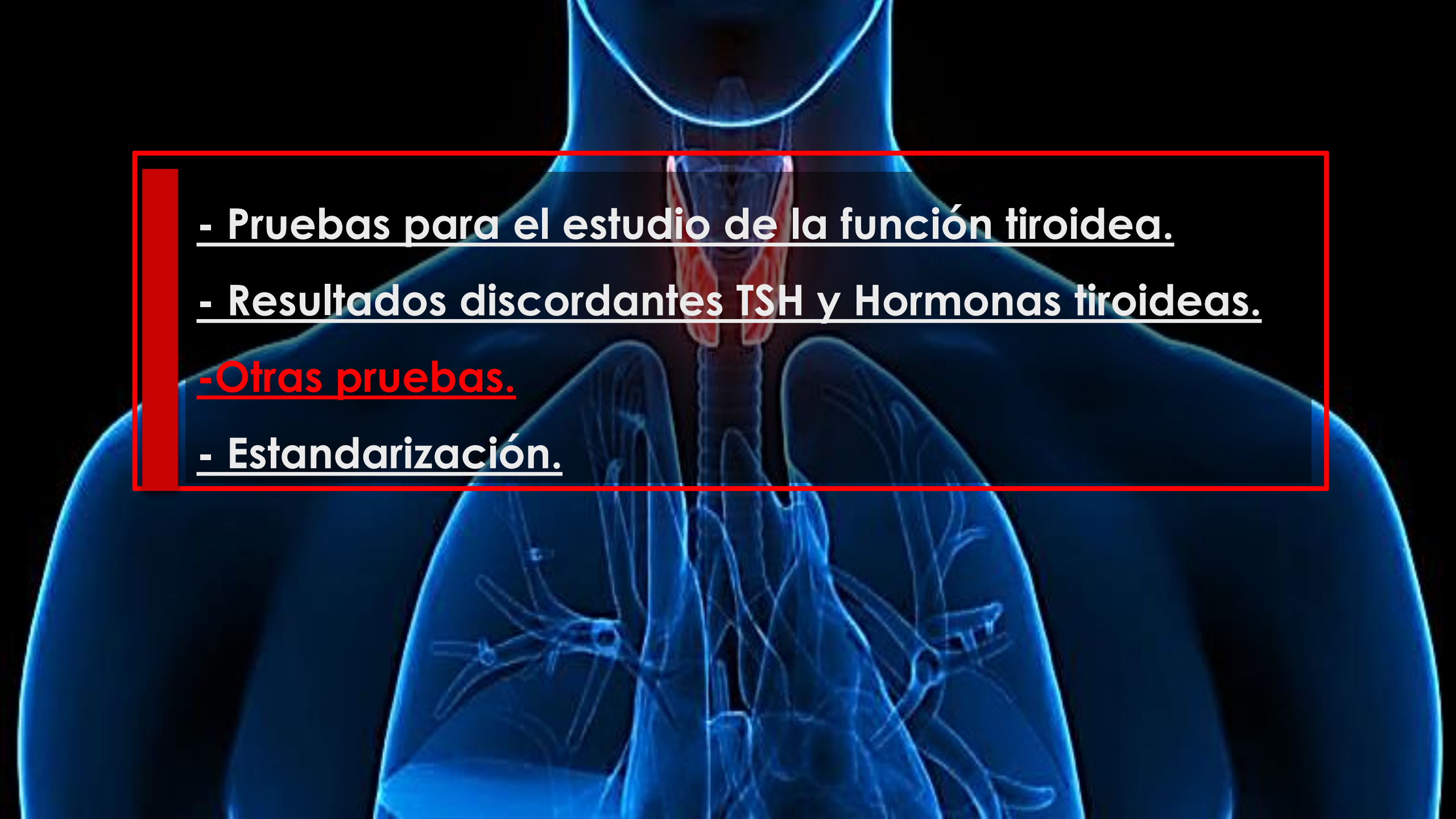
INTERFERENCIAS METODOLÓGICAS

- **Anticuerpos heterofílicos**: ac frente Ig de otras especies, pudiendo ser los usados en el IA.
 - Resultados falsamente ↑, normalmente, o ↓, depende de diseño del ensayo.
 - Reactivos bloqueantes del fabricante lo minimizan.
 - Procesar muestra tras sucesivas diluciones. Con interferente se pierde la linealidad.
 - Usar otro IA que use Ac de un animal distinto.
 - Incubación previa en tubos con agentes bloqueantes de Ac heterofílicos (HBT: Heterophilic Blocking Tube)



INTERFERENCIAS METODOLÓGICAS

- Macro TSH: complejo TSH-Ig
 - Resultados falsamente elevados
 - Precipitación con polietilenglicol y procesar el sobrenadante.
 - La prueba definitiva es cromatografía de gel-filtración.
- Interferencias propias el sistema de medida:
 - Anticuerpos anti Rutenio y anti estreptavidina, en los IA de ECLIA de Roche.
 - Han introducido reactivos bloqueantes, disminuyendo la frecuencia de esta interferencia.

- 
- Pruebas para el estudio de la función tiroidea.
 - Resultados discordantes TSH y Hormonas tiroideas.
 - Otras pruebas.
 - Estandarización.

RELACIÓN TSH/T₄

- Relación logarítmica inversa TSH - T₄L → ligeras modificaciones T₄L produce una respuesta amplificada TSH.
- La función tiroidea se puede medir directamente con T₄L o indirectamente con TSH.

European
Thyroid Journal

Letter to the Editor

Eur Thyroid J 2015;4:69–70
DOI: 10.1159/000369796

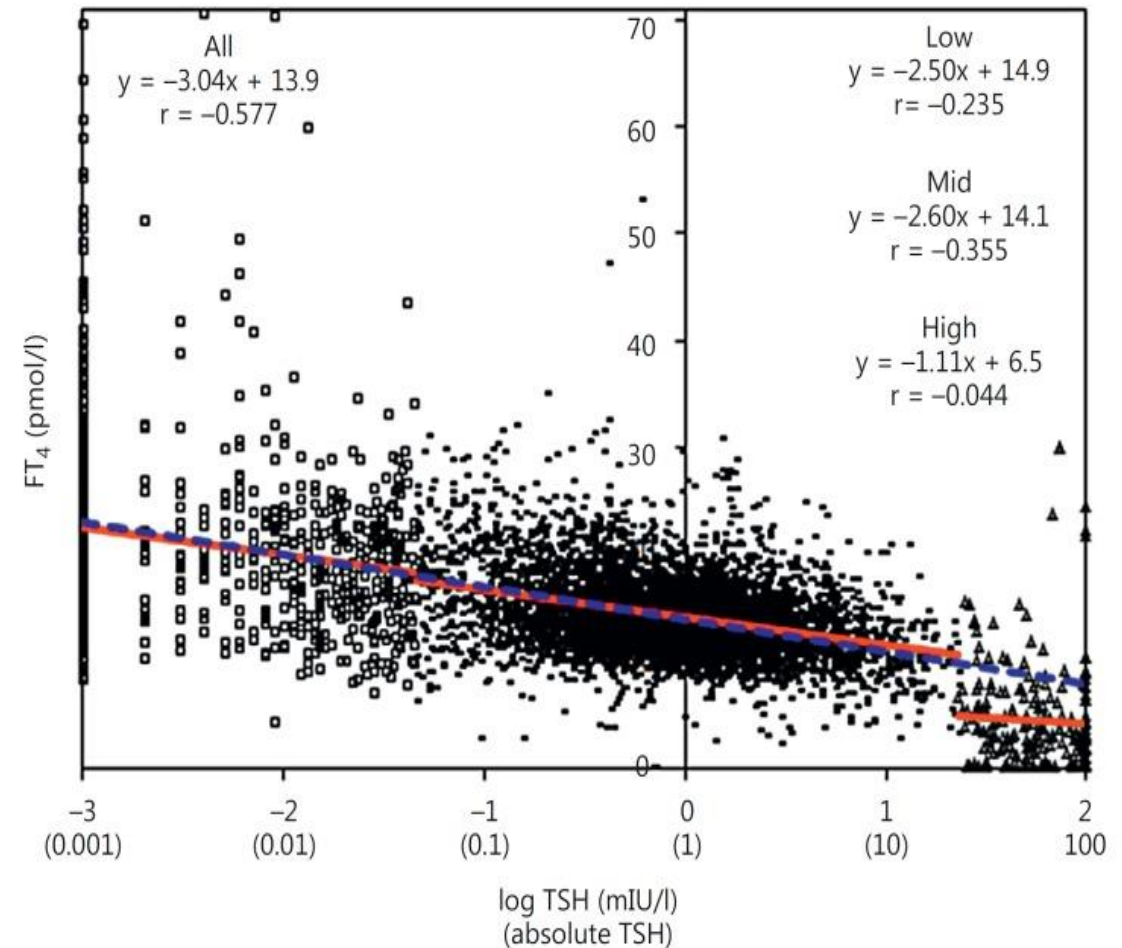
Received: September 4, 2014
Accepted after revision: November 7, 2014
Published online: February 14, 2015

A Fresh Look at the Relationship between TSH and Free Thyroxine in Cross-Sectional Data

Linde A.C. De Grande Katleen Van Uytvanghe Linda M. Thienpont

Laboratory for Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium

- ¿Puede haber tres relaciones diferentes en función del rango de hipo, eu e hipertiroidismo?
- 3 grupos en función de la concentración de TSH.
- Línea azul: regresión para el rango completo.
- Las distintas rojas es de los diferentes grupos.
- Relación log-lineal hasta cierto valor, que dependerá del ensayo



RELACIÓN TSH/T₄

Clinical Chemistry 57:1
122–127 (2011)

Endocrinology and Metabolism

Inverse Log-Linear Relationship between Thyroid-Stimulating Hormone and Free Thyroxine Measured by Direct Analog Immunoassay and Tandem Mass Spectrometry

Hendrick E. van Deventer,¹ Damodara R. Mendu,² Alan T. Remaley,¹ and Steven J. Soldin^{1,2,3*}

- la relación log-lineal está bien descrita y se puede usar en la evaluación de ensayos T4L.
- CONCLUSIÓN: la relación log-lineal fue mejor en la T4L medida por tándem. Además la correlación significativa del IA-FT4 con albumina y TBG sugiere que este método depende de la UPP y por tanto no refleja con precisión el T4L.

ORIGINAL ARTICLE

Endocrine Research

The Relationship Between TSH and Free T₄ in a Large Population Is Complex and Nonlinear and Differs by Age and Sex

Narelle C. Hadlow, Karen M. Rothacker, Robert Wardrop, Suzanne J. Brown, Ee Mun Lim, and John P. Walsh

- Cuestionan la relación log-lineal: ¿ es log-lineal en todos los rangos de edad, sexo...?.

CONCLUSIÓN:

No es log-lienal inversa, pero se describe mediante dos curvas sigmoideas negativas que se superponen.

A concentraciones fisiológicas de FT4, la TSH es mayor en hombres y en mayores.

OTRAS PRUEBAS DE FUNCIÓN TIROIDEA

- Anticuerpos anti-peroxidasa tiroidea (anti-TPO).

- Después de confirmar una TSH alta, para establecer la causa autoinmune.
- A mayor concentración, mas rápido es el desarrollo de la disfunción tiroidea.
- En suero de pacientes con tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves.
- Al comienzo del embarazo, determinar TSH y anti-TPO, para no llegar a desarrollar tiroiditis postparto.
- Se asocian a aborto y fracaso en la fertilización in vitro.

- Anticuerpos anti-tiroglobulina

- Determinar siempre junto al análisis de tiroglobulina sérica.
- Bajas concentraciones pueden interferir con las mediciones de Tiroglobulina → usar métodos sensibles y específicos.
- Pacientes con Ac Tg positivos → determinaciones seriadas sustituyen a la Tg como marcador tumoral en carcinoma diferenciado de tiroides.

OTRAS PRUEBAS DE FUNCIÓN TIROIDEA

- Anticuerpos antirreceptor de TSH, Inmunoglobulina estimulante del tiroides (TSI)
 - Utilidad en la enfermedad de Graves.
 - Factor de riesgo de hipertiroidismo fetal, debe determinarse al principio del embarazo.
- Tiroglobulina: marcador tumoral en el carcinoma diferenciado del tiroides.
- Calcitonina: marcador tumoral en el carcinoma medular de tiroides.
- Pruebas funcionales:
 - Estimulación con TRH
 - Test de TSHr para el seguimiento carcinoma tiroideo.
 - Test de supresión con T3

OTRAS PRUEBAS DE FUNCIÓN TIROIDEA

- Screening de hipotiroidismo congénito
 - 1:3500 nacimientos > 1:1000000 hipotiroidismo central.
 - TSH sangre seca. Ensayo anormal → confirmar con ensayos tiroideos suero con intervalos de referencia ajustado por edad.
 - TSH + T4L, ya que la TSH es menos sensible para detectar hipotiroidismo secundario.

PERFILES y PERIODICIDAD

- PERFIL DE CRIBAJE- DIAGNÓSTICO DE DISFUNCIÓN TIROIDEA.

- TSH. Valor alterado: hacer T4L
- TSH baja, T4L normal → determinar T3L (normal: hipertiroidismo subclínico, alta: hipertiroidismo)
- TSH alta, T4L normal → hipotiroidismo subclínico → hacer TPO para asociarlo a causa inmune.
- Solo en pacientes con sospecha clínica. Se recomienda en mujeres > 50 años para descartar patología tiroidea subclínica.
- Antes del embarazo o primer trimestre: TSH y anti TPO.

- PERFIL DE SEGUIMIENTO DE DISFUNCIÓN TIROIDEA

- TSH y T4L. Puede que también TSI.
- Paciente no estable y en tto con Iodo: cada 3-6 semanas.
- Paciente estable: a los 6 y 12 meses, para pasar después a un control anual.
- Tto con antitiroideos: cada 3 meses T4L.

Sospecha enfermedad tiroidea →

Bocio →

Hipercolesterolemia (>300 mg/dL) →

TSH

← Anemia refractaria (VCM alto, RDW

← Taquiarritmia refractaria

← Uso de fármacos: amiodarona, litio.

Disminuida o
suprimida

Normal
--> Eutiroidismo

Aumentada

T4L

T4L

Disminuida -->
Hipotiroidismo
secundario

Aumentada -->
Hipertiroidismo

Normal

Disminuida -->
hipotiroidismo

Aumentada -->
hipertiroidismo
secundario

Normal -->
hipotiroidismo
subclínico

T3L

TPO

Aumentada -->
Hipertiroidismo

Normal -->
Hipertiroidismo
subclínico

TPO positivo -->
Hipotiroidismo
autoinmune

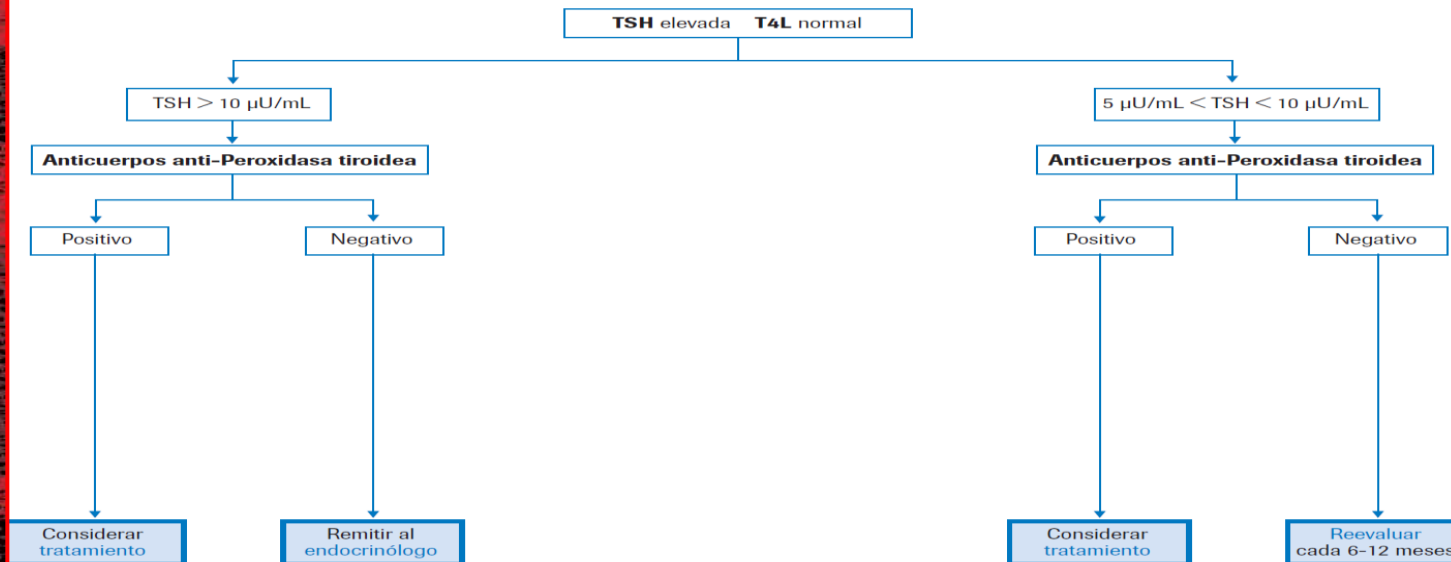
ALGORITMOS EN BASE A VALORES DE TSH

Algoritmos

2ª edición con nuevos algoritmos

Guías clínicas de ayuda a la petición de exploraciones de laboratorio clínico para 124 enfermedades comunes, con los algoritmos de sospecha y seguimiento de la enfermedad y un breve manual de los parámetros con información de los mismos, valores de normalidad según tipo de muestra, aspectos preanalíticos, enfermedades en las que está alterado e interferencias analíticas o medicamentosas que pueden también alterar el resultado. Orientado para la Atención Primaria y las Urgencias Hospitalarias.

Hipotiroidismo subclínico

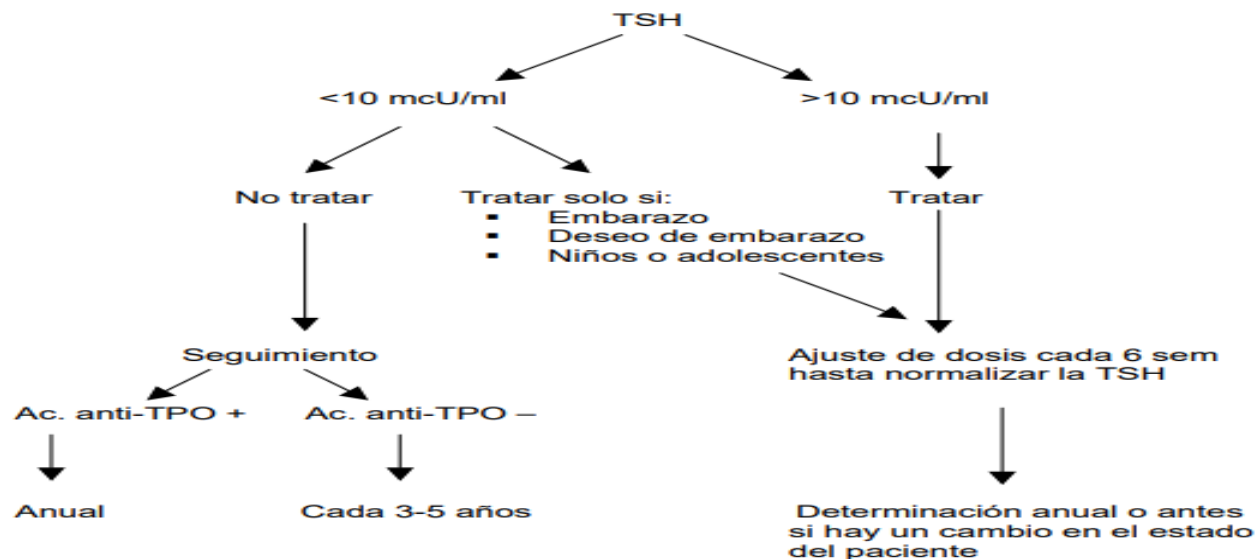


PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE UN PACIENTE CON HIPOTIROIDISMO

GERENCIA ÁREA SALUD PLASENCIA
SERVICIO EXTREMEÑO SALUD
CONSEJERÍA SANIDAD Y CONSUMO

MAYO 2006

ALGORITMO TERAPÉUTICO DEL HIPOTIROIDISMO PRIMARIO SUBCLÍNICO



ALGORITMOS EN BASE A VALORES DE TSH

Algoritmos

2ª edición con nuevos algoritmos

- TSH no está estandarizada

- No se puede usar algoritmos con cifras numéricas de TSH sin conocer el ensayo

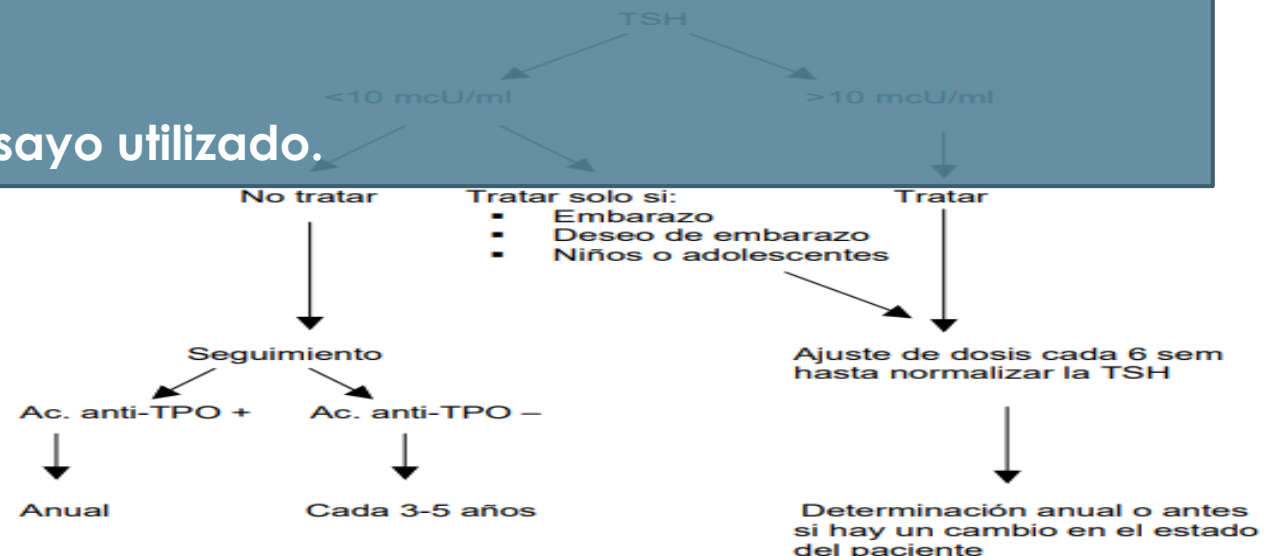
usado en el estudio.

- Deben especificar el inmunoensayo utilizado.

Hipotiroidismo subclínico



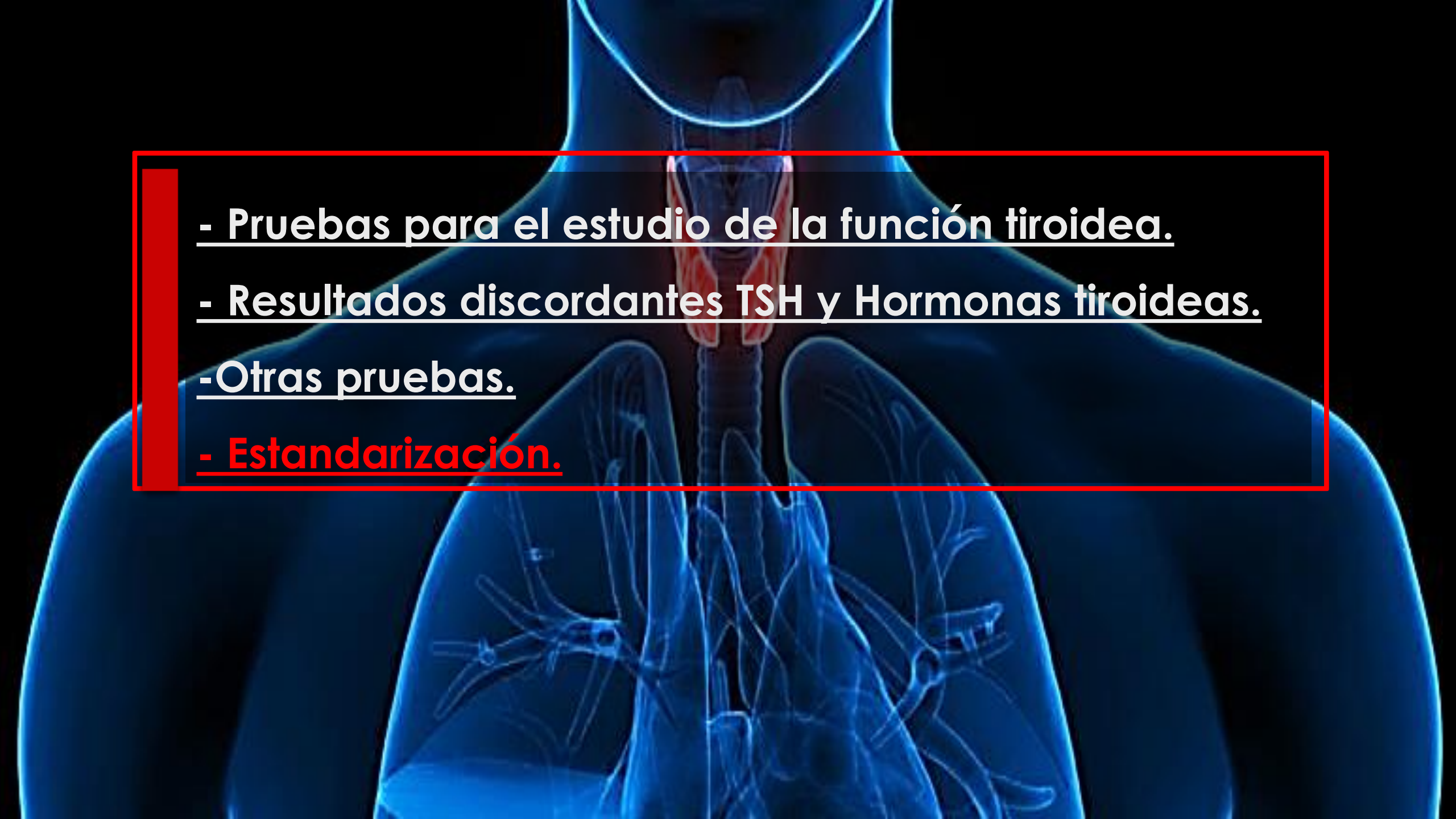
ALGORITMO TERAPÉUTICO DEL HIPOTIROIDISMO PRIMARIO SUBCLÍNICO



PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE UN
PACIENTE CON HIPOTIROIDISMO

GERENCIA ÁREA SALUD PLASENCIA
SERVICIO EXTREMEÑO SALUD
CONSEJERÍA SANIDAD Y CONSUMO

MAYO 2006

- 
- Pruebas para el estudio de la función tiroidea.
 - Resultados discordantes TSH y Hormonas tiroideas.
 - Otras pruebas.
 - Estandarización.

Estandarización de pruebas de función tiroidea

- El laboratorio clínico debe centrarse en mejorar la exactitud y reproducibilidad de las mediciones entre diferentes laboratorios y métodos.
- Necesidad de estandarización para lograr la comparabilidad de los resultados de diferentes métodos.
- A día de hoy no están estandarizadas las pruebas de función tiroidea.
- Principal beneficio: intervalos de referencia/ límites de decisión clínica comunes.
- En un futuro, será posible el desarrollo de guías clínicas con recomendaciones en base a límites de decisión uniformes en lugar de específicos para cada ensayo.
- The Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT) of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)

IFCC y el tiroides.

- The Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT) of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)
 - <http://www.ifcc.org/ifcc-scientific-division/sd-committees/c-stft/>
 - Desarrollaron la base necesaria para implementar la estandarización de las pruebas de función tiroidea:
 - Sistemas de medición de referencia para establecer la trazabilidad de los análisis de T4L y TSH.
 - Infraestructura para la adquisición de paneles de suero.
 - Demostraron se puede usar un intervalo de referencia común.
 - Informaron a la comunidad clínica e investigadora sobre la importancia de la estandarización.



IFCC y el tiroides.

- Proyectos actuales:

- Establecimiento red de laboratorios de referencia.
- Desarrollar y establecer panel de seguimiento para TSH.
- Colaboración con organizaciones para garantizar que se estandaricen de manera constante.
- Definir las poblaciones de referencia y planificar el estudio para hacer intervalos de referencia.
- Información y capacitación sobre la importancia la estandarización de TSH y T4L y apoyar a las organizaciones que trabajan en la promocionar la calidad de las pruebas de función tiroidea.



A Progress Report of the IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function Tests

Linda M. Thienpont^a Katleen Van Uytfanghe^a Sofie Van Houcke^a Barnali Das^c
James D. Faix^d Finlay MacKenzie^f Frank A. Quinn^e Michael Rottmann^g
Annick Van den Bruel^b for the IFCC Committee for Standardization of Thyroid
Function Tests (C-STFT)

^aLaboratory for Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Gent University, Gent, and ^bDepartment of Endocrinology, General Hospital Sint Jan, Bruges, Belgium; ^cBiochemistry and Immunology Laboratory, Kokilaben Dhirubhai Ambani Hospital and Medical Research Institute, Mumbai, India; ^dStanford University School of Medicine, Palo Alto, Calif., and ^eMedical and Scientific Affairs, Abbott Diagnostics, Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill., USA; ^fBirmingham Quality/UK NEQAS, University Hospitals Birmingham NHS Foundation Trust, Birmingham, UK; ^gRoche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany

IFCC y el tiroides.

- Estudio fase III con muestras clínicas de un amplio espectro de enfermedades tiroideas.
- Objetivo: ampliar el trabajo de viabilidad y explorar el impacto de la estandarización / armonización en el rango de concentración clínicamente relevante.
- 2 conjuntos de muestras (74 para FT4, 94 para TSH) en un entorno clínico. Ocho fabricantes participaron en el estudio (con 13 ensayos FT4 y 14 de TSH). Los objetivos para el FT4 se establecieron mediante el procedimiento de medición de referencia convencional internacional de la IFCC; los de TSH se basaron en la media truncada de todos los procedimientos. Los fabricantes ajustaron la calibración, ajustando los valores de sus calibradores maestros, contra estos objetivos.
- Todos los ensayos de FT4 tuvieron un sesgo negativo en el rango de concentración medio a alto, con una discrepancia máxima entre ensayos de aproximadamente el 30%. Para la TSH, la comparabilidad entre ensayos fue razonable en el rango de concentración media, pero peor en los rangos fisiopatológicos. La recalibración pudo eliminar las diferencias entre los ensayos, por lo que la dispersión restante de los datos se debió casi en su totalidad a los componentes de error aleatorio dentro del ensayo. El impacto de la recalibración en los resultados numéricos fue particularmente alto para FT4.
- La estandarización y armonización de las mediciones de FT4 y TSH es factible desde un punto de vista técnico. Debido al impacto en los valores numéricos, se tiene que implementar con cuidado, queda un largo camino por recorrer antes de que sea efectiva.

Progress in Standardization of Thyroid Function Tests

Dr. Katleen Van Uytfanghe

*On behalf of the IFCC C-STFT
Chaired by Prof. Dr. Linda Thienpont
www.ifcc-cstft.org*

Katleen.vanuytfanghe@ugent.be



XXII

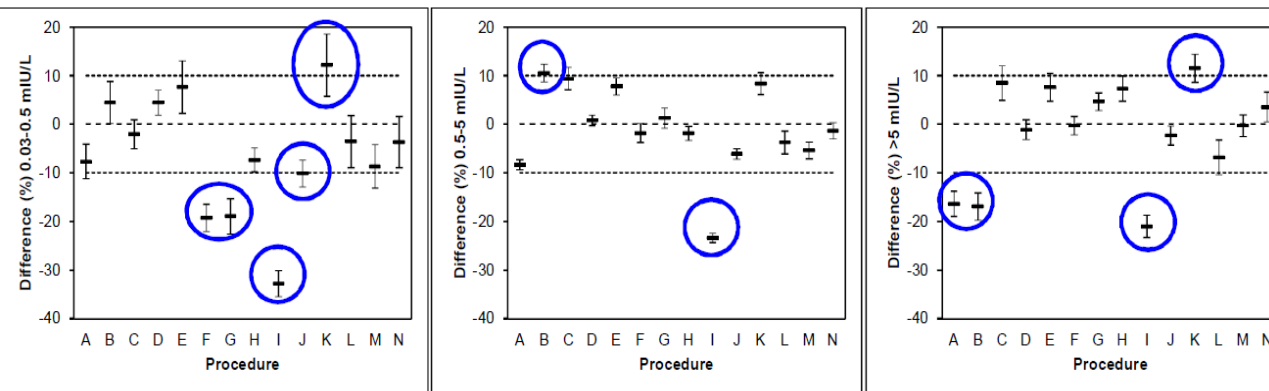
Congreso Latinoamericano de
Bioquímica Clínica
COLABIOCLI 2015



"Desde la Mitad del Mundo hacia la Bioquímica del nuevo Milenio"

Standardization status – TSH

Phase III – Bias to APTM#

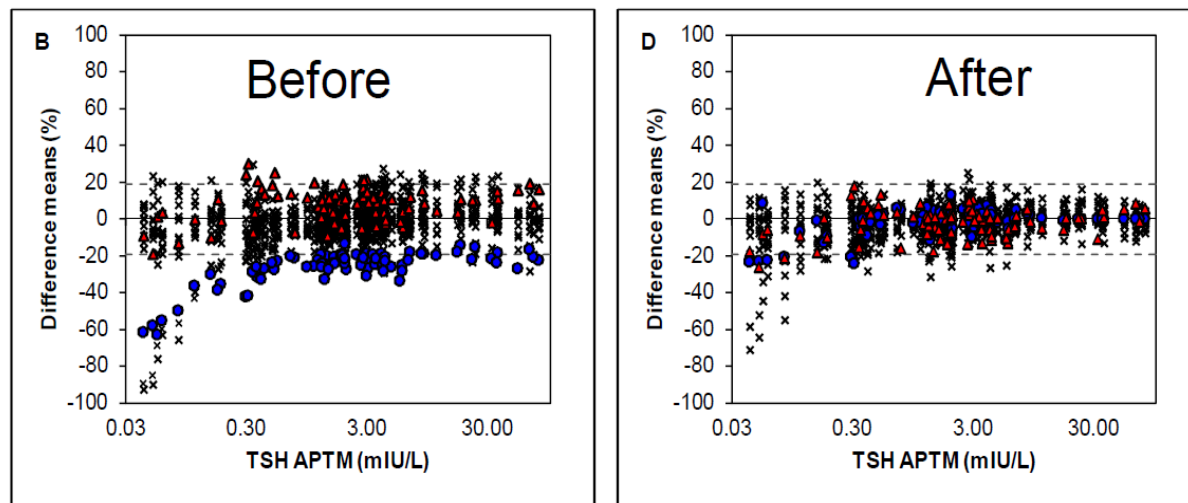


TSH concentration range of the panel: 0.04 – 80 mIU/L

- 0.5 – 5 mIU/L: comparability quite good; only 2 assays differ by $>10\%$ from APTM
- <0.5 mIU/L & >5 mIU/L: max 5 out of 14 assays outside the $\pm 10\%$ limit
- Max discrepancy between assays up to $\sim 33\%$ (whole range)

Feasibility of standardization/recalibration

TSH – Phase III#



- Recalibration nicely centers the distribution of the assay differences around zero
- Remaining dispersion from within-assay effects
- Indirect proof of glycosylation blind assays

- La recalibración centra muy bien la distribución de las diferencias de ensayo alrededor de cero.
- Dispersión remanente debido al ensayo
- Ensayo ciego de detección de TSH glicosilada.

Standardization status – FT4

**Phase III –
Bias to ED ID-MS#**

9–27 pmol/L:

-25% (mean)

Range: -14% to -42%

>27 pmol/L:

-37% (mean)

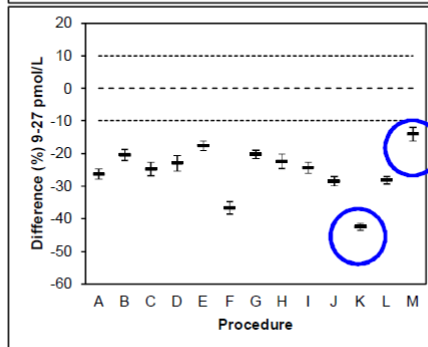
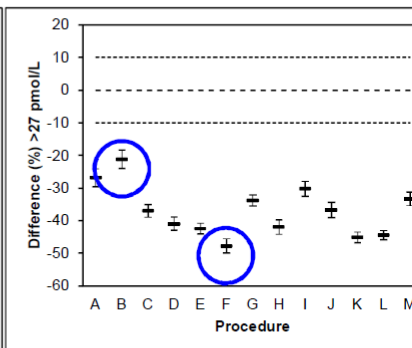
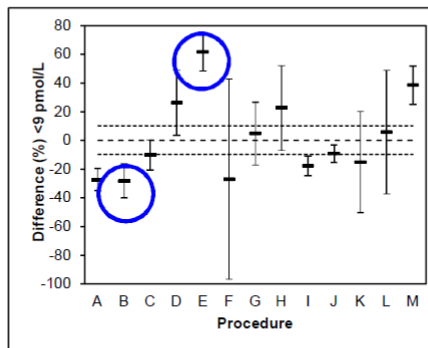
Range: -21% to -48%

<9 pmol/L:

2% (mean)

Range: -28% to 62%

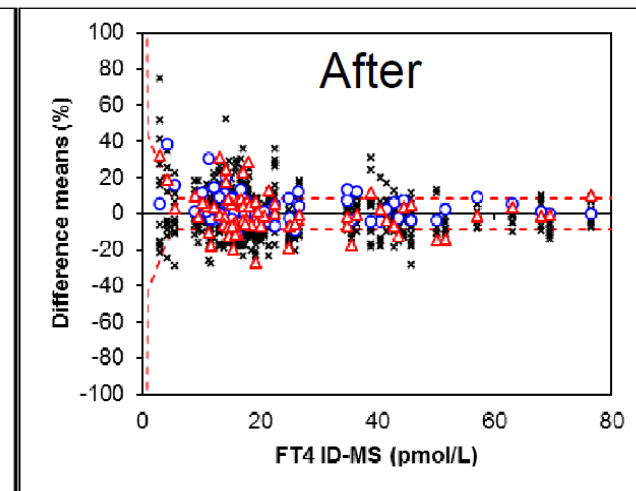
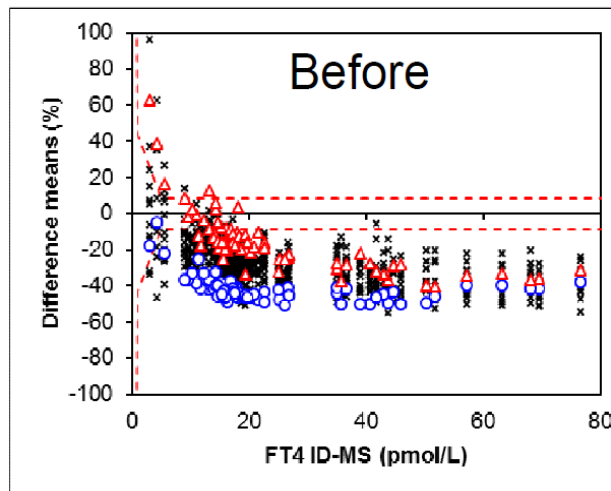
→ All assays strongly negatively biased



**FT4 concentration
range of the panel:
3 to 77 pmol/L**

Feasibility of standardization/recalibration

FT4 – Phase III#



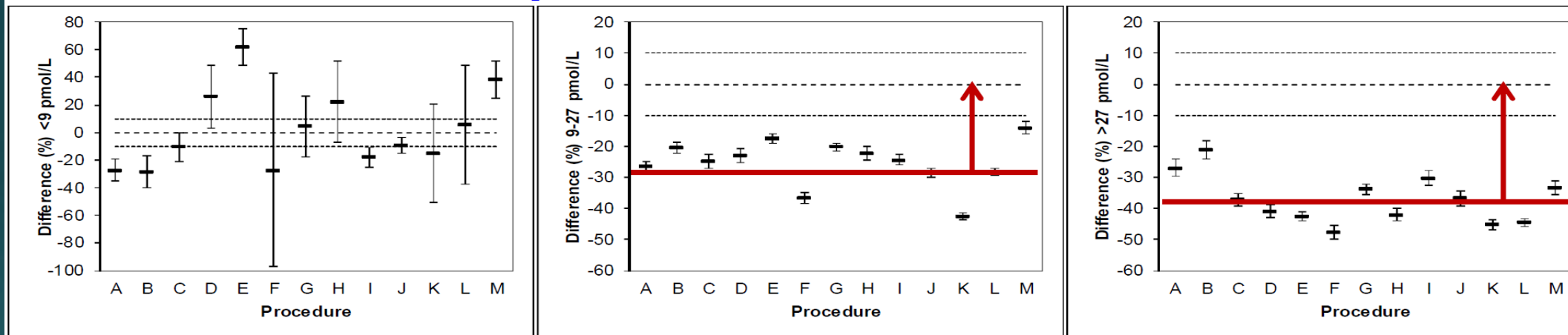
→ Bias to ED ID-LC/tandem MS removed

→ Residual dispersion nearly entirely due to within-assay effects

- Todos los ensayos tienen un sesgo negativo importante.
- El sesgo se elimina tras la recalibración.
- Dispersión residual casi debido a efectos del ensayo.

Obstacles to implementation

Impact of standardization



- **Most pronounced for FT4 testing**
 - **Effect mainly in the eu- & hyperthyroid range**
- **Measurement values will increase in general by 30 – 50%**
- **Reference intervals will change**

ESTANDARIZACIÓN TEST FUNCIÓN TIROIDEA

European
Thyroid Journal

Letter to the Editor

Eur Thyroid J 2015;4:271–272
DOI: 10.1159/000440614

Received: July 3, 2015
Accepted after revision: August 21, 2015
Published online: October 6, 2015

Standardization of Free T₄ and Harmonization of TSH Measurements: A Request for Input from Endocrinologists and Other Physicians

Linda M. Thienpont^a James D. Faix^{b, c} Graham Beastall^d

^aMass Spectrometry Reference Laboratory, Laboratory for Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium; ^bClinical Chemistry and Immunology, Montefiore Medical Center, and ^cDepartment of Pathology, Albert Einstein School of Medicine, New York, N.Y., USA; ^dInternational Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Milan, Italy

- ESTANDARIZACIÓN DE FT₄ Y ARMONIZACIÓN DE LAS MEDIDAS DE TSH.
- Procedimiento de medida de referencia para FT₄ (diálisis de equilibrio y EM) → estandarizar.
- No hay procedimiento de medición de referencia TSH, ni TSH de referencia → armonización (alternativa a la estandarización).

ESTANDARIZACIÓN TEST FUNCIÓN TIROIDEA

European
Thyroid Journal

Letter to the Editor

Eur Thyroid J 2015;4:271–272
DOI: 10.1159/000440614

Received: July 3, 2015
Accepted after revision: August 21, 2015
Published online: October 6, 2015

Standardization of Free T₄ and Harmonization of TSH Measurements: A Request for Input from Endocrinologists and Other Physicians

Linda M. Thienpont^a James D. Faix^{b, c} Graham Beastall^d

^aMass Spectrometry Reference Laboratory, Laboratory for Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium; ^bClinical Chemistry and Immunology, Montefiore Medical Center, and ^cDepartment of Pathology, Albert Einstein School of Medicine, New York, N.Y., USA; ^dInternational Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Milan, Italy

- Ajuste de calibración, recalibración entre fabricantes, permitirá que los ensayos utilicen intervalos de referencia comun o límites de decisión para la interpretación de resultados.
- Este estudio solo es valido en eutiroideos e hipo o hiper sin complicaciones. No se podría aplicar a todas las situaciones clínicas.
- En T4L puede cambiar hasta un 80% el límite superior, para algunos ensayos.
- En la TSH las alteraciones serán mas leves, 20 % aprox.
- Preguntan al lector: ¿que riesgo supone para el seguimiento cambiar los intervalos?

ESTANDARIZACIÓN TEST FUNCIÓN TIROIDEA. TSH

Clinical Chemistry 63:7
000-000 (2017)

Endocrinology and Metabolism

Harmonization of Serum Thyroid-Stimulating Hormone Measurements Paves the Way for the Adoption of a More Uniform Reference Interval

Linda M. Thienpont,^{1,2*} Katleen Van Uytvanghe,³ Linde A.C. De Grande,¹ Dries Reynders,⁴ Barnali Das,⁵ James D. Faix,⁶ Finlay MacKenzie,⁷ Brigitte Decallonne,⁸ Akira Hishinuma,⁹ Bruno Lapauw,¹⁰ Paul Taelman,¹¹ Paul Van Crombrugge,¹² Annick Van den Bruel,¹³ Brigitte Velkeniers,¹⁴ and Paul Williams¹⁵
on behalf of the IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT)

- ARMONIZACIÓN MEDIDAS TSH SÉRICA ALLANA EL CAMINO PARA LA ADOPCIÓN DE UN INTERVALO DE REFERENCIA MAS UNIFORME.

- Comparación de métodos de múltiples ensayos, mediante media truncada de todos los procedimientos.
- Recalibración o ajuste de la calibración, mediante la reasignación de valores a sus calibradores maestros, y luego transformación matemática de los resultados de las muestras, como si se hubiera usado los calibradores con el valor ajustado.

ESTANDARIZACIÓN TEST FUNCIÓN TIROIDEA. TSH

Clinical Chemistry 63:7
000-000 (2017)

Endocrinology and Metabolism

Harmonization of Serum Thyroid-Stimulating Hormone Measurements Paves the Way for the Adoption of a More Uniform Reference Interval

Linda M. Thienpont,^{1,2*} Katleen Van Uytvanghe,³ Linde A.C. De Grande,¹ Dries Reynders,⁴ Barnali Das,⁵ James D. Faix,⁶ Finlay MacKenzie,⁷ Brigitte Decallonne,⁸ Akira Hishinuma,⁹ Bruno Lapauw,¹⁰ Paul Taelman,¹¹ Paul Van Crombrugge,¹² Annick Van den Bruel,¹³ Brigitte Velkeniers,¹⁴ and Paul Williams¹⁵
on behalf of the IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT)

- Las primeras fases empezaron con la comparación de métodos usando muestras de individuos presumiblemente sanos → la recalibración aumentó a armonización entre ensayos.
- Este es una fase IV, con un panel de sueros con concentraciones que cubren los rangos de ensayo de 14 participantes.
- Este estudio proporciona evidencia de que la armonización puede permitir a los fabricantes lograr intervalos de referencia mas uniformes en un futuro próximo.

ESTANDARIZACIÓN TEST FUNCIÓN TIROIDEA. FT₄

Clinical Chemistry 63:10
1642-1652 (2017)

Endocrinology and Metabolism

Standardization of Free Thyroxine Measurements Allows the Adoption of a More Uniform Reference Interval

Linde A.C. De Grande,¹ Katleen Van Uytfanghe,² Dries Reynders,³ Barnali Das,⁴ James D. Faix,⁵
Finlay MacKenzie,⁶ Brigitte Decallonne,⁷ Akira Hishinuma,⁸ Bruno Lapauw,⁹ Paul Taelman,¹⁰
Paul Van Crombrugge,¹¹ Annick Van den Bruel,¹² Brigitte Velkeniers,¹³ Paul Williams,¹⁴ and
Linda M. Thienpont,^{1,15*} on behalf of the IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function
Tests (C-STFT)

- **LA ESTANDARIZACIÓN DE LAS MEDICIONES DE TIROXINA LIBRE PERMITE LA ADOPCIÓN DE UN INTERVALO DE REFERENCIA.**
- Recalibración o ajuste de la calibración de calibradores maestros, frente al procedimiento de referencia de diálisis de equilibrio y EM

ESTANDARIZACIÓN TEST FUNCIÓN TIROIDEA. FT₄

Clinical Chemistry 63:10
1642-1652 (2017)

Endocrinology and Metabolism

Standardization of Free Thyroxine Measurements Allows the Adoption of a More Uniform Reference Interval

Linde A.C. De Grande,¹ Katleen Van Uytfanghe,² Dries Reynders,³ Barnali Das,⁴ James D. Faix,⁵
Finlay MacKenzie,⁶ Brigitte Decallonne,⁷ Akira Hishinuma,⁸ Bruno Lapauw,⁹ Paul Taelman,¹⁰
Paul Van Crombrugge,¹¹ Annick Van den Bruel,¹² Brigitte Velkeniers,¹³ Paul Williams,¹⁴ and
Linda M. Thienpont,^{1,15*} on behalf of the IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function
Tests (C-STFT)

- Fase IV: evaluar si la recalibración permite establecer un intervalo de referencia común.
 - Los resultados resalta alta imprecisión y falta de robustez de la calibración.
 - Después de la recalibración, ¿el uso de un intervalo de referencia es factible?: Sí, ya que se consigue reducir significativamente los sesgos de los inmunoensayos.
 - No se puede extrapolar a todas las situaciones clínicas (proteínas de unión anormales, embarazadas....)..
 - Tras implementar ensayos recalibrados, tener en cuenta cambios de lote e inestabilidad del instrumento.

El Laboratorio Clínico y la Función Hormonal

Coordinadores:
C. Fernández Castro
L. Rodelgo Jiménez
M.A. Ruiz Ginés
G. Ruiz Martín



OTROS DOCUMENTOS DE CONSULTA



EDUCACIÓN CONTINUADA
EN EL LABORATORIO CLÍNICO
Ed Cont Lab Clín; 17: 23-31

2013-2014

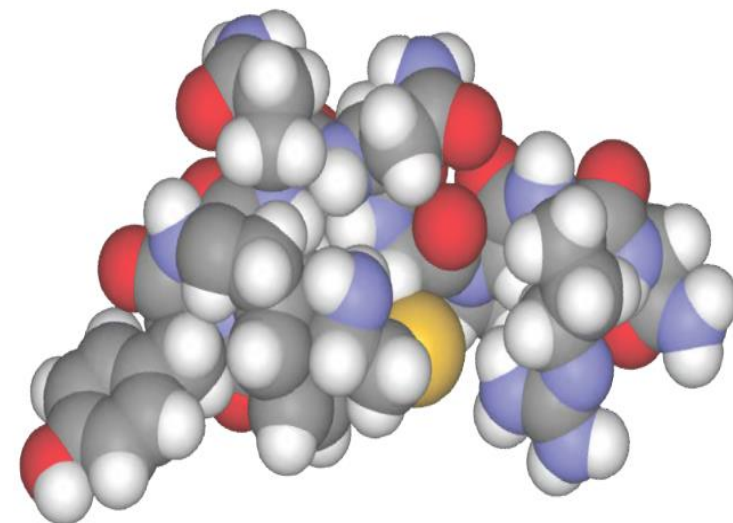
CAUSAS DE RESULTADOS DISCORDANTES ENTRE TSH Y HORMONAS TIROIDEAS.

Montserrat Mauri Dot, Rocio Alfayate Guerra.

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Alicante.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO EN ENDOCRINOLOGÍA

Rocío Alfayate, Carmen Fajardo y José Miguel González-Clemente



Patrocinado por:



Avalado por:

