

Trabajo de Fin de Grado en Farmacia

“Valoración de parámetros analíticos para el control y seguimiento de la función tiroidea”



Curso académico 2020/2021
Convocatoria de septiembre

Alumna: Sheila Vargas Reyes

Tutor: Dr. Felipe Hernández Luis

Co-tutor: Dr. Guillermo Eloy García García

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| AGRADECIMIENTOS..... | 3 |
| ABSTRACT..... | 4 |
| RESUMEN..... | 5 |
| 1.- INTRODUCCIÓN..... | 6 |
| 1.1.- Glándula tiroides..... | 6 |
| 1.2.- Tiroxina libre (T4F)..... | 9 |
| 1.3.- Hormona tiroestimulante (TSH)..... | 10 |
| 1.4.- Anticuerpos anti - Peroxidasa tiroidea (anti - TPO o anti - microsomales)..... | 11 |
| 1.5.- Anticuerpos anti - Tiroglobulina (anti - TG)..... | 12 |
| 1.6.- Enfermedad de Hashimoto..... | 13 |
| 2. - OBJETIVOS..... | 14 |
| 3.- METODOLOGÍA..... | 14 |
| 3.1.- Obtención y conservación de la muestra a analizar..... | 14 |
| 3.2.- Materiales y reactivos..... | 15 |
| 3.3.- Fundamento y realización de la prueba..... | 15 |
| 4.- RESULTADOS..... | 17 |
| Caso clínico n.º 1..... | 17 |
| Caso clínico n.º 2..... | 21 |
| Caso clínico n.º 3..... | 24 |
| 5.- CONCLUSIONES..... | 28 |
| 6.- BIBLIOGRAFÍA..... | 29 |
| 7.- ABREVIATURAS..... | 30 |
| 8.- ANEXO..... | 31 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--------------|----|
| Tabla 1..... | 7 |
| Tabla 2..... | 9 |
| Tabla 3..... | 11 |
| Tabla 4..... | 12 |
| Tabla 5..... | 16 |
| Tabla 6..... | 17 |
| Tabla 7..... | 21 |
| Tabla 8..... | 23 |
| Tabla 9..... | 24 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | |
|--------------------|----|
| Ilustración 1..... | 6 |
| Ilustración 2..... | 16 |

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar este trabajo a mi familia, a la que estoy profundamente agradecida por darme el apoyo que necesitaba en estos 5 años, por tranquilizarme en los momentos de ansiedad y por motivarme a seguir siempre hacia delante a pesar de las dificultades.

También quiero agradecer al Dr. Felipe Hernández Luis y al Dr. Guillermo Eloy García García, por su paciencia, por el conocimiento que me han aportado, por estar disponibles y dispuestos siempre que los he necesitado y en definitiva por saber guiarme en la elaboración de este trabajo.

“La mejor forma de predecir el futuro es creándolo”.

- Peter F. Drucker.

ABSTRACT

The thyroid is a gland located in the anterior region of the neck, which regulates important physiological processes through the production and release of hormones. The aim of this work is the assessment of thyroid function by analysing important parameters of thyroid function such as thyroid stimulating hormone (TSH), free T4, or anti-thyroid antibodies Anti-TG and Anti-TPO.

The list of clinical analytical tests related to thyroid function is extensive. By way of illustration, a non-exhaustive list of these parameters will be shown and then we will focus on the four parameters mentioned in the previous paragraph.

Due to the chronological scope of the results used in this work, they have been extracted from the database of the clinical laboratory, the most recent results having been carried out with the author of this dissertation present at the laboratory. It should be noted that the patients' follow-up data go back 15 years.

The graphical representation of each parameter has been made in order to visualise its evolution over time. In addition, the clinical characteristics of each patient have been taken into account for the analysis of the three clinical cases discussed.

In order to protect the anonymity of the patients, their identity with respect to first and last names has been omitted. The laboratory has, however, provided age, sex and date of the results obtained.

The discovery of the evolution of the parameters selected for study, the graphic visualisation of these parameters, as well as the importance of the storage and custody of the historical data, which have been retrieved from the database used, have been particularly significant. All of this allows the conclusions reached as a final complement to this Final Degree Project to be obtained.

RESUMEN

El tiroides es una glándula situada en la región anterior del cuello, que regula procesos fisiológicos de relevancia a través de la producción y liberación de hormonas. El objetivo de este trabajo es la valoración de la función tiroidea mediante el análisis de parámetros importantes en dicha función como son: la hormona estimulante del tiroides (TSH), la T4 libre, o los anticuerpos antitiroideos Anti-TG y Anti-TPO.

El listado de pruebas analíticas clínicas relacionadas con el funcionamiento del tiroides es amplio. A modo ilustrativo se mostrará una relación no exhaustiva de dichos parámetros para luego centrarnos en los cuatro parámetros expresados en el párrafo anterior.

Por razones de amplitud cronológica de los resultados utilizados en este trabajo, han sido extraídos de la base de datos de un laboratorio clínico, siendo los más recientes efectuados con la presencia del autor del presente TFG en las instalaciones del mismo. Cabe destacar la existencia de datos de seguimiento de los pacientes de 15 años atrás.

La representación gráfica de cada parámetro se ha efectuado para visualizar su evolución a lo largo del tiempo de manera visual. Además se han tenido en cuenta junto con las características clínicas de cada paciente para el análisis de los tres casos clínicos.

Para salvaguardar el anonimato de los pacientes se ha omitido su identidad respecto a nombres y apellidos. El laboratorio ha proporcionado, sin embargo, edad, sexo y fecha de los resultados obtenidos.

Ha resultado especialmente emotivo el descubrimiento de la evolución de los parámetros seleccionados en el estudio, la visualización gráfica de la misma, la importancia de la guarda y custodia de los datos históricos rescatados de la base de datos utilizada, sin olvidarnos de la obtención de las conclusiones alcanzadas como colofón final de este Trabajo de fin de grado.

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Glándula tiroides

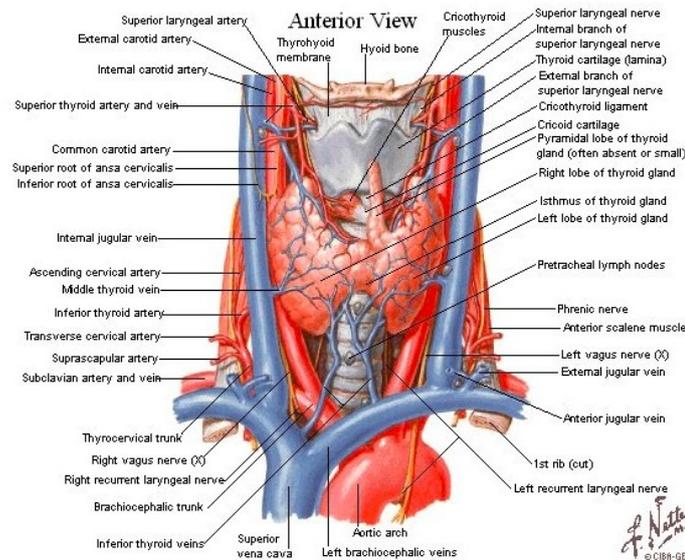


Ilustración 1: Estructura de la glándula tiroidea [1]

El tiroides es una glándula que se encuentra en la región anterior del cuello, encima del lugar donde se une la clavícula. Está constituida por dos lóbulos simétricos situados a los lados de la tráquea unidos entre sí. El tiroides está innervado por el sistema adrenérgico cuyas ramas proceden de los ganglios cervicales y por el sistema colinérgico procedente del nervio vago. La glándula tiroides también está sometida por hormonas reguladoras como la TSH (hormona estimulante del tiroides).

Es encargada de producir y liberar diversas hormonas, como son la Tiroxina (T4) y la Triyodotironina (T3), aunque ésta última en menor cantidad. Las hormonas tiroideas están involucradas en varias funciones importantes dado que controlan todas las células del cuerpo que utilizan energía, es decir, están directamente relacionadas con el metabolismo. Su función es importante para el crecimiento y para la regulación de las funciones corporales, como puede ser la temperatura, ciclos de sueño, entre otras [2].

Son numerosas las pruebas que se pueden realizar para realizar el diagnóstico de las patologías tiroideas, cabe destacar que estas pruebas se deben realizar como parte de un

conjunto, ya que por sí solas no confirman una patología. En este trabajo se ha hecho uso de cuatro pruebas: Tiroxina (T4) libre, TSH, y anticuerpos Anti-TG y Anti TPO.

Tabla 1. Listado no exhaustivo de pruebas analíticas de la función tiroidea [3-4]

| Pruebas analíticas | Relevancia clínica |
|---|--|
| Captación de T3 | Funcionalidad de las proteínas transportadoras |
| Triyodotironina (T3) total | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo |
| Triyodotironina libre (T3F) | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo |
| Tiroxina (T4) total | Diagnóstico de hipotiroidismo |
| Tiroxina libre (T4F) | Diagnóstico estado tiroideo |
| Captación de T4 libre | Hipertiroidismo o hipotiroidismo |
| Test de captación externa de yodo | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo |
| Índice de conversión de yodo | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo |
| Índice de yodo proteico (PBI) | Diagnóstico de Hipertiroidismo |
| Supresión con Triyodotironina (Test de Wener) | Diagnóstico de Hipertiroidismo |
| Estimulación con TRH | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo discreto |
| Test de infusión de calcio | Cáncer medular de tiroides |
| TSH sérica | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo |
| Anti - TG (Anti - tiroglobulina) | Hipertiroidismo o hipotiroidismo |
| Anti - TPO (microsomales) | Hipertiroidismo o hipotiroidismo |
| Tiroglobulina | Cáncer de tiroides |
| Anticuerpos Receptores TSH (TSI) | Hipertiroidismo |

| Pruebas analíticas | Relevancia clínica |
|---------------------------|----------------------------------|
| Índice de tiroxina libre | Hipotiroidismo |
| Índice T4/TBG | Hipertiroidismo o Hipotiroidismo |

1.2.- Tiroxina libre (T4F)

La T4 es liberada al torrente sanguíneo, permaneciendo en su mayoría (99,9%) ligada a 3 proteínas, TBG (globulina transportadora de tiroxina), TBPA (prealbúmina transportadora de tiroxina) y albúmina. La fracción que queda libre es considerada la parte activa de la hormona. Lo cual es un parámetro importante en análisis de la función tiroidea.

Sobre dicha fracción de hormona, llamada T4 libre, actúan los mecanismos reguladores de la función tiroidea. Es por esto, por lo que la concentración de T4 libre es relativamente independiente frente a la concentración de proteínas portadoras.

En función de este parámetro se puede establecer si un paciente es hipotiroideo o hipertiroideo. En los pacientes con hipertiroidismo la T4 libre se eleva, mientras que en los pacientes con hipotiroidismo la concentración se sitúa en niveles bajos [4].

Tabla 2. Valores de referencia indicativos de T4 libre por grupos de edad [5]

| Grupos de edad | Valor de referencia (ng/dL) |
|----------------|-----------------------------|
| Hasta 2 años | 0,94 – 1,44 |
| 2-12 años | 0,86 – 1,40 |
| 13-20 años | 0,83 – 1,43 |
| Adultos | 0,89 – 1,76 |

1.3.- Hormona tiroestimulante (TSH)

Para analizar la función tiroidea además de estudiar la T4 libre, también se estudian las hormonas encargadas de la regulación de la glándula tiroidea, como es la hormona tirotrópica u hormona tiroestimulante (TSH).

La TSH es el principal factor de estimulación de la glándula tiroidea, esta hormona controla la producción de hormonas T3 y T4. La TSH se produce en las células tirotrópicas de la hipófisis anterior.

La secreción de esta hormona reguladora está controlada por el sistema nervioso central mediante la TRH (hormona estimulante de tirotrópica), que es un neuropéptido hipotalámico, y de neuromoduladores como la somatostatina o la dopamina. Por otro lado altos niveles de T3 y T4 inhiben la secreción de TSH por la hipófisis.

Al igual que en el caso de la T4 libre, el estudio de esta hormona puede ser importante para el diagnóstico de hipertiroidismo o hipotiroidismo, ya que en pacientes hipertiroides la concentración de TSH se ve reducida en gran medida, pudiendo ser incluso difícil de detectar, con excepción de los casos en los que no hay efecto de retrocontrol negativo por parte de las hormonas tiroideas, pues en estos casos la TSH permanece en altas concentraciones aunque el paciente sea hipertiroides.

Por el contrario en el caso de los pacientes hipotiroides la concentración de TSH se ve enormemente aumentada y por consiguiente los valores de hormonas tiroideas disminuyen. En el caso de los hipotiroidismos parciales se puede aumentar la TSH manteniéndose una producción tiroidea normal incluso durante años [3-4].

Tabla 3. Valores de referencia indicativos de TSH en suero por grupos de edad [5]

| Grupos de edad | Valor de referencia (μ U/mL) |
|----------------|-----------------------------------|
| 1 – 30 días | 0,430 – 16,100 |
| 1 mes a 2 años | 0,870 – 6,150 |
| 2 – 12 años | 0,670 – 4,160 |
| Adultos | 0,550 – 4,780 |

1.4.- Anticuerpos anti - Peroxidasa tiroidea (anti - TPO o anti - microsomales)

Otros procesos a tener en cuenta en el estudio de la función tiroidea son los ocasionados por reacciones autoinmunes. Estos causan trastornos de la glándula tiroidea debido a la producción de autoanticuerpos.

La TPO (peroxidasa tiroidea) es una enzima que se localiza en la glándula del tiroides y se encarga de catalizar la iodación de los residuos de la tirosina en tiroglobulina durante la síntesis de las hormonas tiroideas.

Esta enzima tiene relevancia en la enfermedad de Hashimoto, ya que los pacientes con esta patología, presentan altas concentraciones séricas de anticuerpos anti-TPO en el 90% de los casos [4].

1.5.- Anticuerpos anti - Tiroglobulina (anti - TG)

Lo mismo que con la peroxidasa tiroidea, ocurre con la propia tiroglobulina, que es una glicoproteína encargada del almacenaje y síntesis de las hormonas tiroideas. Los autoanticuerpos anti - tiroglobulina se encuentran en pacientes con enfermedades tiroideas autoinmunes, al igual que los anti - TPO.

Los anti - TG se detectan en un 85% de los pacientes con enfermedad de Hashimoto, pero es más frecuente encontrar niveles altos de anticuerpos anti - TPO, pues la presencia de anti - TG está más relacionada con hipertiroidismo o hipotiroidismo ligero y más frecuentemente en pacientes con alguna enfermedad autoinmune de base, con la artritis reumatoide o diabetes tipo I.

La concentración de anticuerpos no define la actividad clínica de la enfermedad, pues las concentraciones de anticuerpos pueden disminuir durante la patología pudiendo llegar a normalizarse. La reaparición de los anticuerpos después de la remisión de la enfermedad es un indicativo probable de recidiva [4].

Tabla 4. Valores de referencia indicativos de anticuerpos antitiroideos medidos en suero por inmunoluminiscencia [5]

| Anticuerpo antitiroideo | Valor de referencia (UI/ mL) |
|-------------------------|------------------------------|
| Anti tiroglobulina | Hasta 4,1 |
| Anti TPO (microsomales) | Hasta 5,6 |

1.6.- Enfermedad de Hashimoto

Dada la importancia de la glándula tiroides también son relevantes las enfermedades causadas por un problema tiroideo. Una de ellas es la enfermedad de Hashimoto, que es una enfermedad de carácter autoinmunitario donde el propio organismo crea anticuerpos que dañan la glándula.

En esta enfermedad, también conocida como tiroiditis linfocítica crónica, se produce habitualmente una disminución de la actividad tiroidea, siendo la causa más común de hipotiroidismo. A pesar de que se desconoce la causa de la enfermedad, algunos factores como el sexo, la edad o los antecedentes familiares podrían aumentar el riesgo de padecerla.

Este trastorno evoluciona por lo general, de forma lenta causando daño crónico en la glándula tiroides. Aunque puede no presentar síntomas o signos al inicio de la enfermedad, cuando se dan, se corresponden con los signos y síntomas de una glándula tiroidea hipoactiva. Estos pueden ser: inflamación de la parte frontal de la garganta, fatiga, uñas quebradizas y pérdida de cabello, agrandamiento de la lengua, aumento de peso inexplicable o debilidad muscular, entre otros.

La enfermedad de Hashimoto no tratada puede presentar algunas complicaciones importantes: problemas cardiacos, mentales o coma mixedematoso. El tratamiento consiste en sustituir las hormonas tiroideas, dando por lo general un pronóstico favorable [6]

2. - OBJETIVOS

- Obtener conocimientos sobre el uso de equipos automatizados de un laboratorio de análisis clínicos para la determinación experimental de parámetros.
- Obtención de diversas pruebas analíticas para el Trabajo de Fin de Grado.
- Conocer el procedimiento a seguir en la conservación de muestras biológicas utilizadas..
- Aprender los conceptos y pruebas diagnósticas usadas en el análisis de la función tiroidea.
- Utilizar la base de datos y programas para la realización de cálculos y gráficas.
- Interpretar y sacar conclusiones en base a los resultados obtenidos.

3.- METODOLOGÍA

3.1.- Obtención y conservación de la muestra a analizar

Una vez practicada la extracción sanguínea al paciente y dispensada la muestra en el correspondiente tubo etiquetado debidamente destinado a la obtención de suero, se deja coagular a temperatura ambiente. Posteriormente se procede a su centrifugación a 1500 rpm durante 10 minutos, tras los cuales se separa el sobrenadante del coágulo. Corresponde la porción superior indicada al suero sanguíneo con el que se trabajará y realizarán las pruebas tiroideas a estudiar.

El suero se procesa una vez obtenido, con el volumen necesario y a la temperatura de trabajo del equipo analítico. Si hubiera que repetir alguna prueba, o ampliar el estudio iniciado con otras, se utilizará el suero que se haya guardado en refrigeración (2 a 8 grados centígrados) o en congelación (por debajo de -10 grados centígrados) si se realiza a mayor periodo temporal.

Las muestras se emplean a temperatura ambiente, el día de la extracción; a temperatura de refrigeración, durante los 3 días siguientes; y a temperaturas de congelación, una vez ha transcurrido la primera semana de la extracción.

3.2.- Materiales y reactivos

Han sido utilizados:

- Conos: incluidos en la composición del kit de reactivos proporcionado por la casa comercializadora de la técnica, en este caso BioMerieux España,S. A.
- Cartuchos: incluidos en la composición del kit indicado. Se utilizan tantos como conos necesarios.
- Pipeta de puntas desechables.
- Guantes desechables sin talco.
- Suero Control para la técnica a desarrollar: incluido en la composición del kit.
- Calibrador de la técnica: incluido en la composición del kit comercial.

3.3.- Fundamento y realización de la prueba

Se ha procedido a la realización de pruebas cuantitativas automatizadas con el instrumento identificado como MiniVIDAS® que permite la valoración inmunoenzimática de los cuatro parámetros objeto del presente estudio presentes en suero sanguíneo por la técnica denominada ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*).

Mini VIDAS® es un sistema de inmunoensayo compacto basado en los principios de la tecnología ELFA (Combinación del método ELISA con una lectura final por fluorescencia).

Los reactivos se conservan en refrigeración y deben ser atemperados previamente 30 minutos antes para poder utilizarlos a temperatura ambiente. Se empleará un cartucho y un cono para cada muestra, control o calibrador que se vaya a evaluar.

Las pruebas se identifican adecuadamente con su nombre o número específico en el sistema según el parámetro que vayamos a valorar. El calibrador se nombrará obligatoriamente como “S1”, que según la técnica se analizará por duplicado o triplicado; el control se identifica adecuadamente con “C1”, “C2”, o lo que corresponda. Se homogenizan el calibrador, el control y las muestras con un mezclador tipo Vortex.



Ilustración 2: Equipo MiniVidas utilizado

Tabla 5. Volumen de muestra necesarios para cada parámetro medidos en μL

| Parámetro | Cantidad (μL) |
|-----------|----------------------------|
| TSH | 200 |
| T4 Libre | 100 |
| Anti-TPO | 100 |
| Anti-TG | 100 |

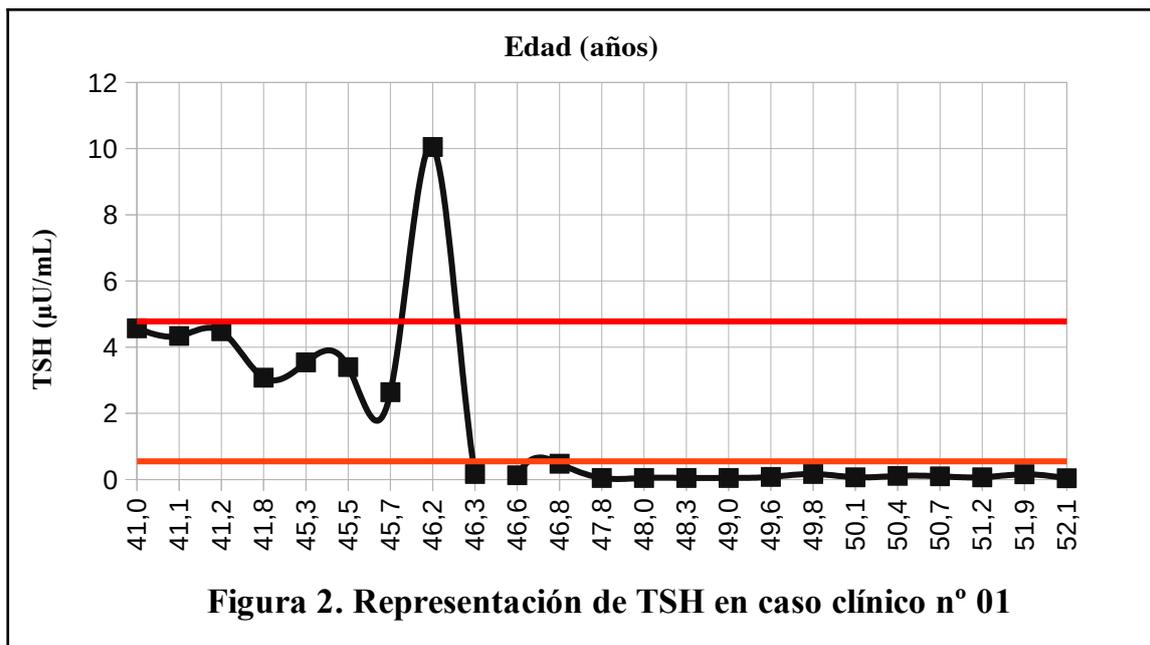
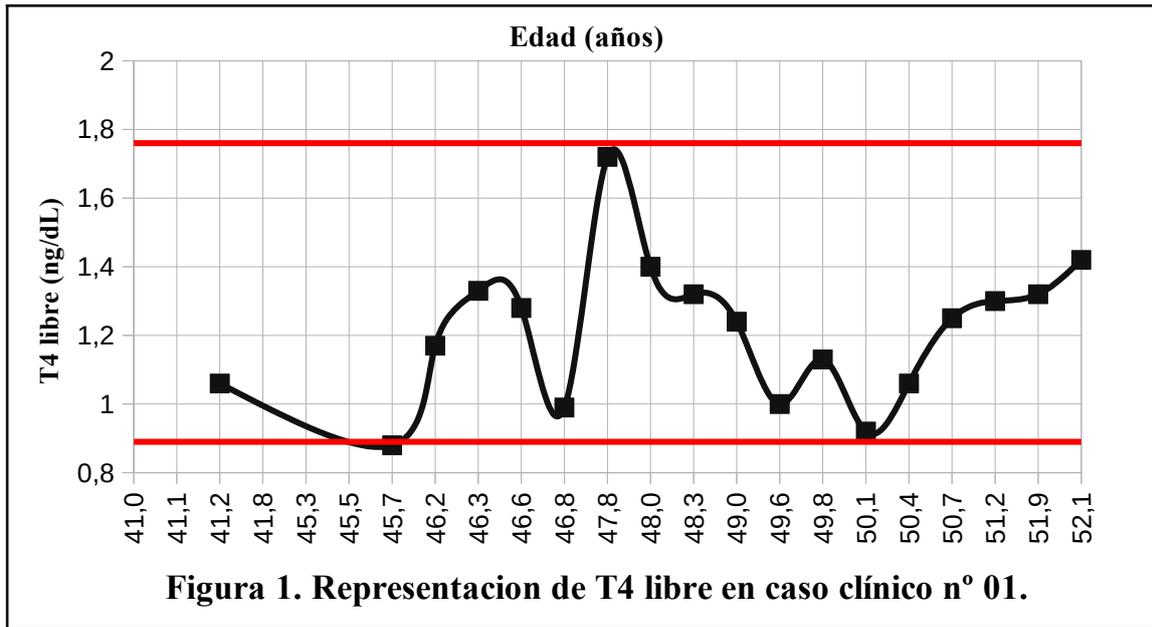
Se introducen los cartuchos y conos en el sistema e iniciamos el análisis tal como se indica en el manual de utilización. Las etapas son gestionadas de forma automática por el MiniVIDAS®. Cada prueba tiene un tiempo de duración de análisis característico. Tras lo cual se retirarán los cartuchos y conos del aparato. Los resultados se imprimen automáticamente y/o son transferidos directamente al ordenador central en la ficha de cada paciente, para ver verificados por el facultativo analista clínico.

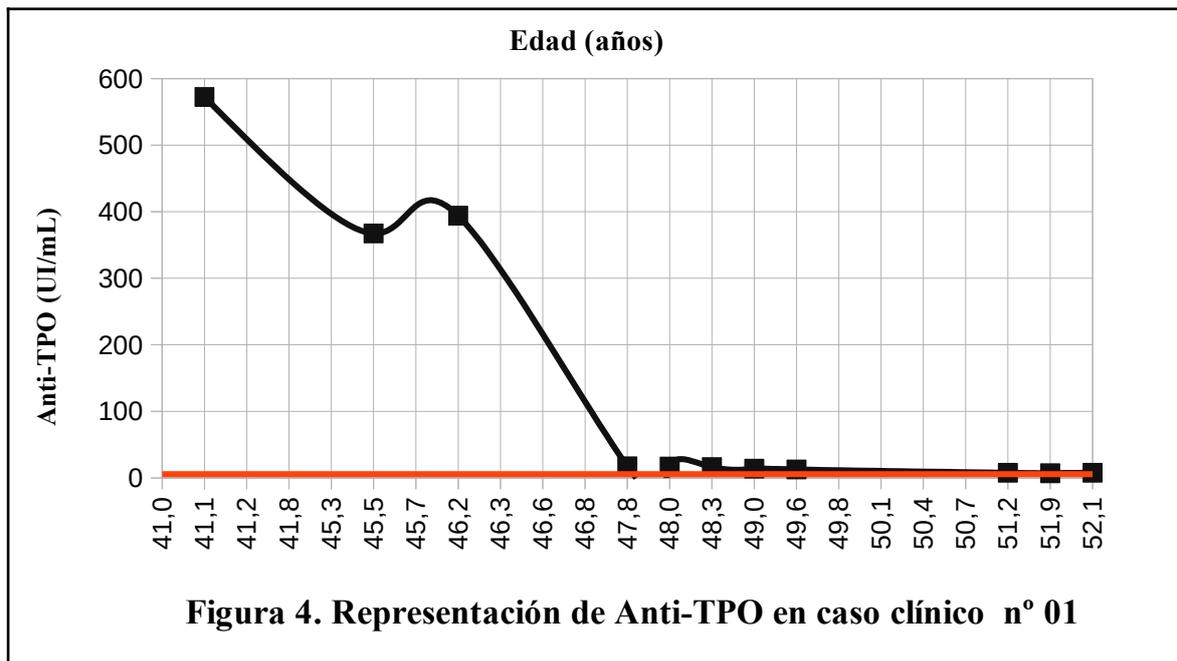
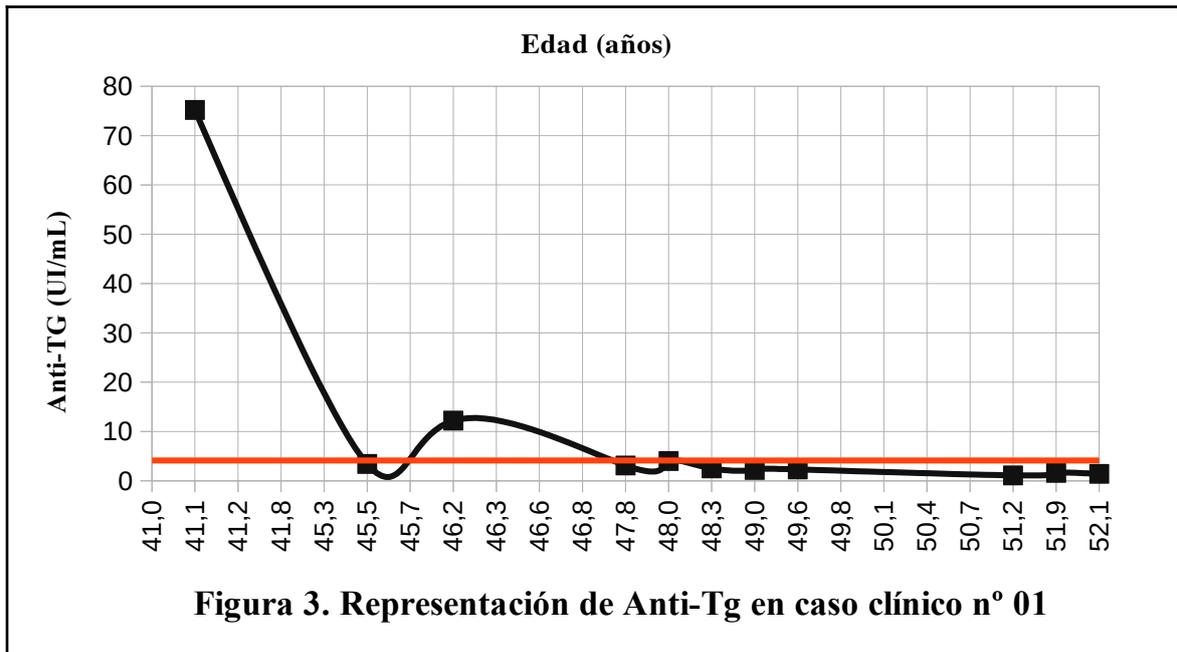
4.- RESULTADOS

Caso clínico n.º 1

Tabla 6. Valores obtenidos por edad para el caso clínico n.º 1

| EDAD | T4 LIBRE | TSH | Anti-TG | Anti-TPO |
|------|----------|-------|---------|----------|
| 41,0 | | 4,57 | | |
| 41,1 | | 4,34 | 75,20 | 572,36 |
| 41,2 | 1,06 | 4,48 | | |
| 41,8 | | 3,08 | | |
| 45,3 | | 3,54 | | |
| 45,5 | | 3,40 | 3,40 | 367,30 |
| 45,7 | 0,88 | 2,64 | | |
| 46,2 | 1,17 | 10,05 | 12,20 | 394,00 |
| 46,3 | 1,33 | 0,17 | | |
| 46,6 | 1,28 | 0,13 | | |
| 46,8 | 0,99 | 0,48 | | |
| 47,8 | 1,72 | 0,05 | 3,10 | 17,50 |
| 48,0 | 1,40 | 0,05 | 4,00 | 17,00 |
| 48,3 | 1,32 | 0,05 | 2,50 | 16,30 |
| 49,0 | 1,24 | 0,05 | 2,20 | 14,00 |
| 49,6 | 1,01 | 0,08 | 2,30 | 12,70 |
| 49,8 | 1,13 | 0,17 | | |
| 50,1 | 0,92 | 0,07 | | |
| 50,4 | 1,06 | 0,11 | | |
| 50,7 | 1,25 | 0,10 | | |
| 51,2 | 1,30 | 0,07 | 1,10 | 7,70 |
| 51,9 | 1,32 | 0,16 | 1,60 | 7,10 |
| 52,1 | 1,42 | 0,04 | 1,40 | 7,70 |





El caso clínico nº1 corresponde a una mujer de 52 años de edad en la actualidad. Las 4 representaciones de este caso muestran las pruebas estudiadas: T4 libre, TSH y anticuerpos antitiroideos, respectivamente, frente a la edad en el día de la analítica.

Todos sus valores de T4 libre discurren dentro del margen de normalidad señalados por los límites superior e inferior (líneas de color rojo).

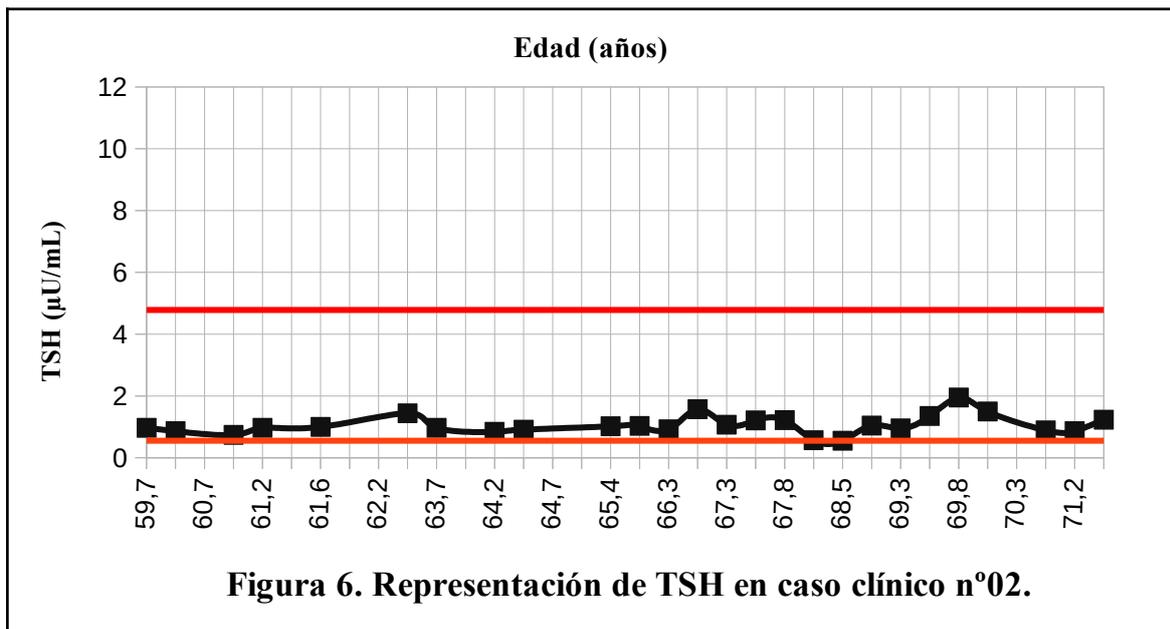
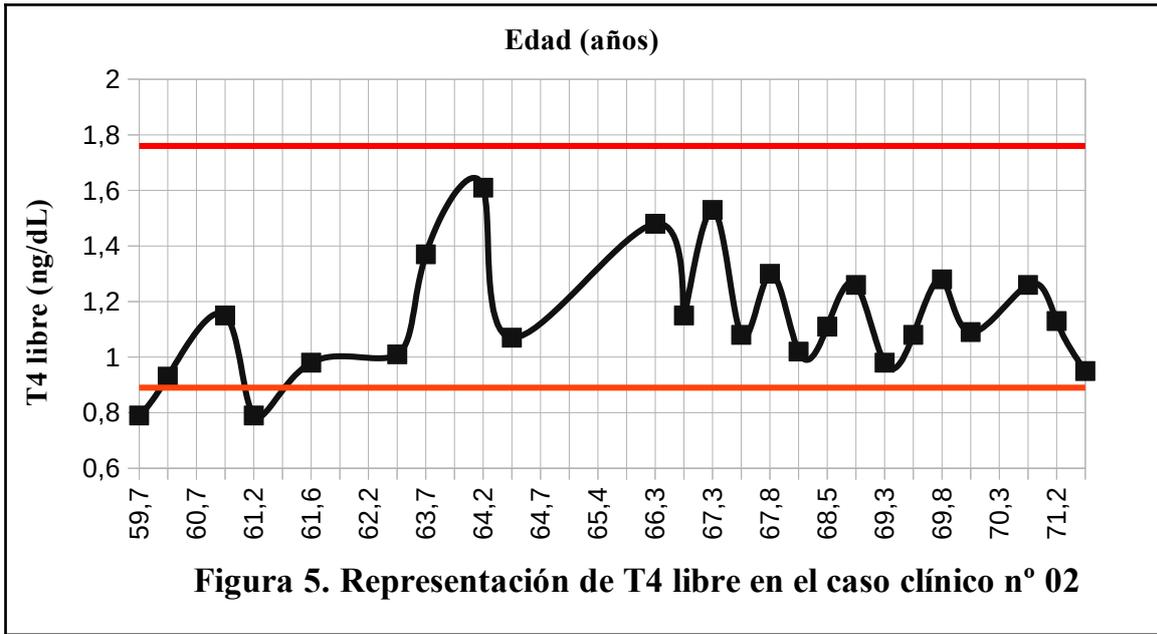
Los 3 primeros valores de la TSH se sitúan próximos al límite superior para luego descender antes del registro de una elevación hasta los 10,05 $\mu\text{U}/\text{mL}$. Seguidamente a ello esta prueba muestra valores bajo al margen inferior de normalidad.

La evolución de los anticuerpos antitiroideos es más llamativa: niveles altamente incrementados desde el comienzo de las mediciones registradas, para poco a poco irse normalizando, disminuyendo paulatinamente.

Según criterio médico la paciente fue diagnosticada de poseer la enfermedad de Hashimoto o tiroiditis linfocítica. En las gráficas se observa la efectividad del tratamiento seguido por la misma. Los valores evolucionan hacia la normalidad después de tratar farmacológicamente la enfermedad.

Caso clínico n.º 2.**Tabla 7. Valores obtenidos por edad para el caso clínico n.º 2**

| EDAD | T4 LIBRE | TSH |
|-------------|-----------------|------------|
| 59,7 | 0,79 | 0,97 |
| 60,5 | 0,93 | 0,86 |
| 60,7 | | |
| 60,9 | 1,15 | 0,74 |
| 61,2 | 0,79 | 0,97 |
| 61,4 | | |
| 61,6 | 0,98 | 1,00 |
| 61,9 | | |
| 62,2 | | |
| 62,6 | 1,01 | 1,44 |
| 63,7 | 1,37 | 0,97 |
| 63,8 | | |
| 64,2 | 1,61 | 0,84 |
| 64,6 | 1,07 | 0,91 |
| 64,7 | | |
| 64,9 | | |
| 65,4 | | 1,02 |
| 65,8 | | 1,03 |
| 66,3 | 1,48 | 0,92 |
| 66,9 | 1,15 | 1,57 |
| 67,3 | 1,53 | 1,07 |
| 67,6 | 1,08 | 1,21 |
| 67,8 | 1,30 | 1,22 |
| 68,2 | 1,02 | 0,57 |
| 68,5 | 1,11 | 0,55 |
| 68,8 | 1,26 | 1,04 |
| 69,3 | 0,98 | 0,95 |
| 69,6 | 1,08 | 1,35 |
| 69,8 | 1,28 | 1,95 |
| 70,2 | 1,09 | 1,50 |
| 70,3 | | |
| 70,6 | 1,26 | 0,89 |
| 71,2 | 1,13 | 0,86 |
| 71,6 | 0,95 | 1,23 |



En las dos figuras anteriores se representan los valores de T4 libre y TSH en función de la edad para el caso clínico n°2, el cual es un varón de 71 años en la actualidad.

De manera global se observan valores dentro de rango de normalidad, tanto para la T4 libre como para la TSH.

Para el presente paciente se realizaron, en la misma fecha la valoración de los anticuerpos Anti-Tiroglobulina y Anti-peroxidasa tiroidea, que proporcionaron datos dentro de la normalidad. Es por ello por lo que no se continuó realizándole seguimiento de dichos anticuerpos antitiroideos.

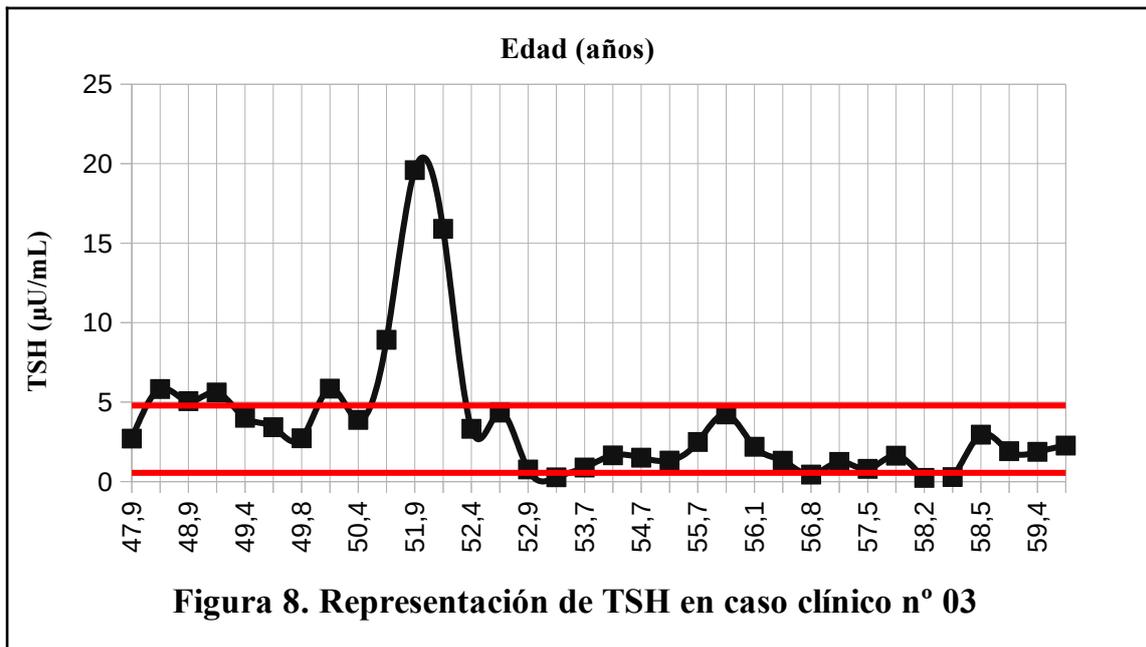
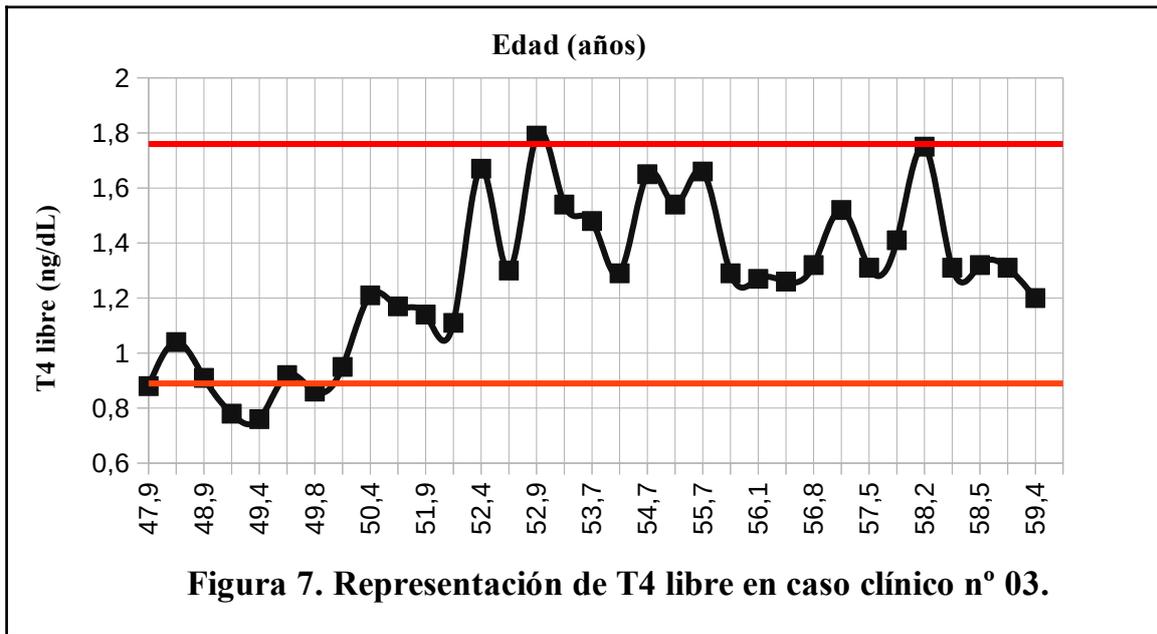
Tabla 8. Valores experimentales de anticuerpos para el caso clínico n°2.

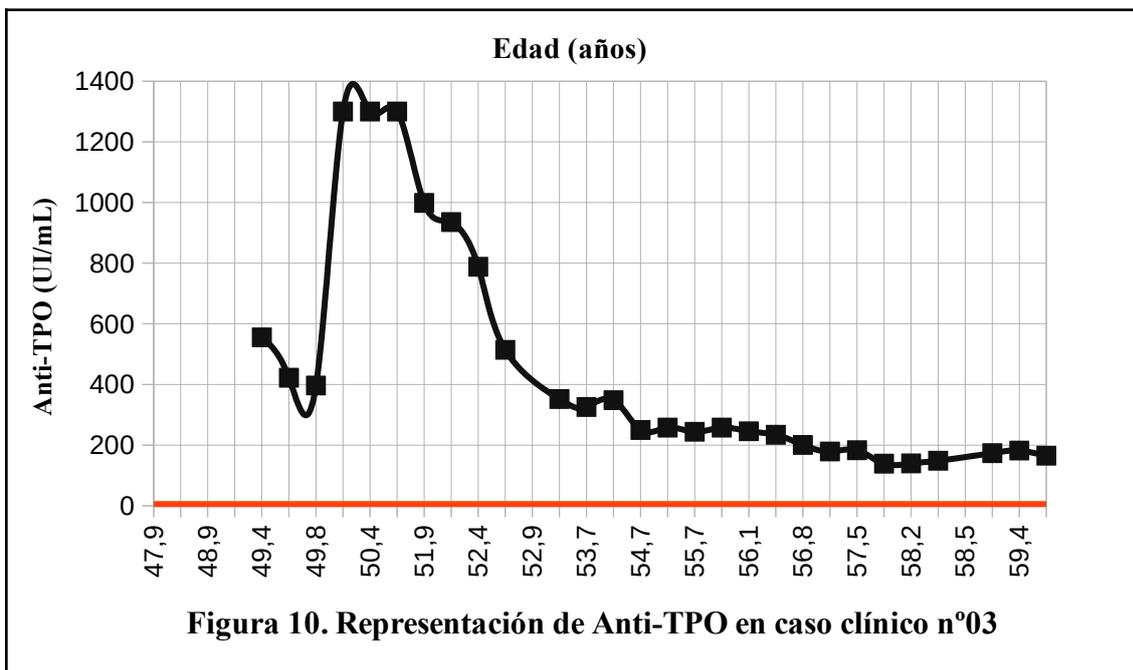
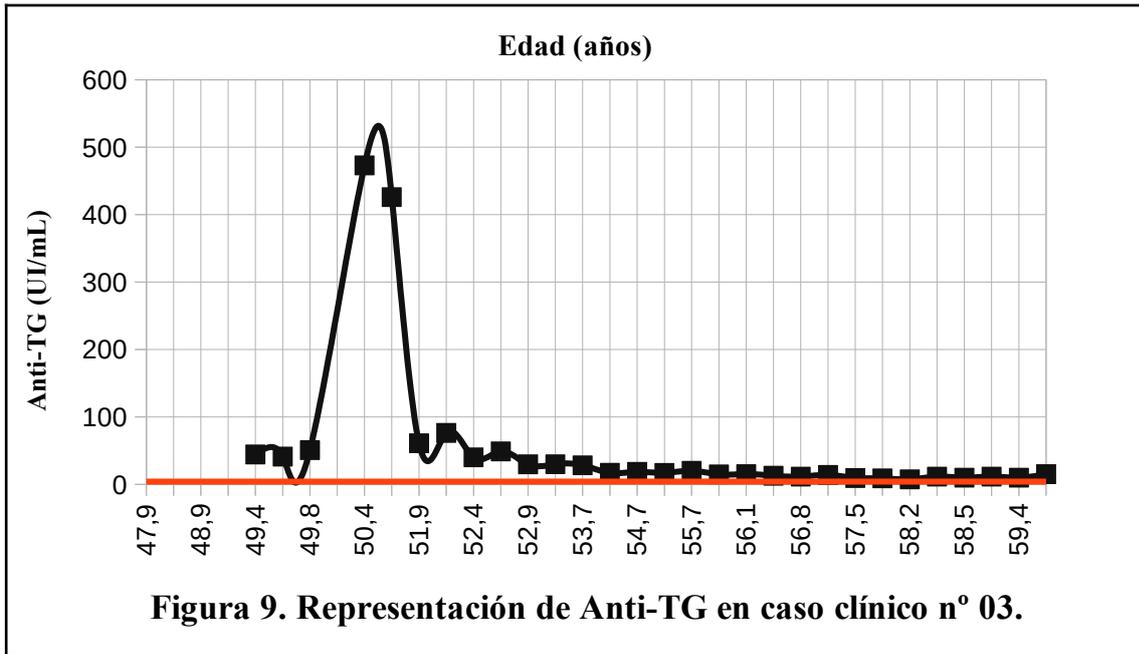
| Fecha | Anti-TG (UI/mL) | Anti-TPO (UI/mL) |
|------------|-----------------|------------------|
| 21/03/2011 | <0,16 | 1,18 |

Por todo ello podemos concluir que el estudio de los parámetros analíticos considerados no arroja indicios de patología tiroidea.

Caso clínico n.º 3.**Tabla 9. Valores obtenidos por edad para el caso clínico n.º 3**

| EDAD | T4 LIBRE | TSH | Anti – TG | Anti – TPO |
|-------------|-----------------|------------|------------------|-------------------|
| 47,9 | 0,88 | 2,70 | | |
| 48,8 | 1,04 | 5,82 | | |
| 48,9 | 0,91 | 5,06 | | |
| 49,2 | 0,78 | 5,60 | | |
| 49,4 | 0,76 | 4,01 | 44,40 | 555,28 |
| 49,7 | 0,92 | 3,42 | 41,37 | 422,16 |
| 49,8 | 0,86 | 2,72 | 50,81 | 396,56 |
| 50,2 | 0,95 | 5,85 | 500,00 | 1.300,00 |
| 50,4 | 1,21 | 3,88 | 473,00 | 1.300,00 |
| 50,8 | 1,17 | 8,92 | 426,00 | 1.300,00 |
| 51,9 | 1,14 | 19,60 | 61,10 | 998,50 |
| 52,1 | 1,11 | 15,90 | 76,40 | 935,30 |
| 52,4 | 1,67 | 3,32 | 40,20 | 788,10 |
| 52,8 | 1,30 | 4,34 | 48,90 | 514,00 |
| 52,9 | 1,79 | 0,76 | 29,80 | |
| 53,2 | 1,54 | 0,27 | 29,90 | 351,70 |
| 53,7 | 1,48 | 0,88 | 28,40 | 325,60 |
| 54,1 | 1,29 | 1,65 | 17,20 | 348,20 |
| 54,7 | 1,65 | 1,50 | 18,60 | 249,80 |
| 55,2 | 1,54 | 1,32 | 17,10 | 257,50 |
| 55,7 | 1,66 | 2,49 | 20,20 | 243,90 |
| 55,9 | 1,29 | 4,22 | 14,90 | 257,60 |
| 56,1 | 1,27 | 2,19 | 15,30 | 245,80 |
| 56,4 | 1,26 | 1,31 | 12,90 | 233,90 |
| 56,8 | 1,32 | 0,44 | 11,60 | 200,50 |
| 57,1 | 1,52 | 1,23 | 14,00 | 179,00 |
| 57,5 | 1,31 | 0,80 | 9,60 | 183,20 |
| 57,8 | 1,41 | 1,63 | 9,00 | 138,90 |
| 58,2 | 1,75 | 0,23 | 7,50 | 139,80 |
| 58,5 | 1,31 | 0,28 | 11,60 | 148,60 |
| 58,5 | 1,32 | 2,95 | 10,00 | |
| 58,9 | 1,31 | 1,91 | 11,60 | 173,70 |
| 59,4 | 1,20 | 1,87 | 10,00 | 182,00 |
| 59,9 | | 2,26 | 15,30 | 165,20 |





El caso clínico n.º 3 se ocupa de una paciente de 59 años en la actualidad.

La representación gráfica de los valores de T4 libre en función de la edad, evidencia como todos los puntos se encuentran dentro del rango de normalidad, a excepción de dos de ellos a los 48,9 y 49,4 años, respectivamente, que se encuentran ligeramente disminuidos por debajo del mínimo, lo cual no se considera relevante.

La representación de la TSH manifiesta como a los 49,8 años se incrementa el valor de esta hormona muy por encima del límite máximo establecido. Un comportamiento similar se aprecia con los valores de anticuerpos Anti - TG y Anti - TPO.

Estos picos sobrepasan de forma llamativa los límites máximos establecidos para estos parámetros, lo cual ha ayudado en el diagnóstico por cáncer de tiroides hecho a esta paciente a la edad aproximada de 50 años. En las representaciones gráficas de este caso clínico se puede observar como la paciente evoluciona favorablemente después de ser intervenida quirúrgicamente, aunque los valores de anticuerpos Anti - TPO siguen siendo elevados.

Este control analítico es vital para evaluar el tratamiento farmacológico posterior a la intervención.

5.- CONCLUSIONES.

- Se ha aprendido a usar equipos de laboratorio automatizados para la realización análisis clínicos.
- Se ha aprendido el fundamento de las técnicas usadas para la medida de parámetros relevantes en la función tiroidea.
- Se han realizado algunas medidas experimentales con muestras reales.
- Se han utilizado, de forma anónima, los datos contenidos en la base de datos de laboratorio.
- Se han tabulado y graficado dichos datos frente al tiempo para varios casos concretos.
- Se han utilizado dichas gráficas para intentar sacar conclusiones sobre el funcionamiento del sistema tiroideo en tres pacientes.

6.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Theodorakys Marín. Glándula tiroides y paratiroides [Internet]. Tu preparador de anatomía. 2007. [consultado el 4 de marzo de 2021]. Disponible en: <http://tuprepadeanato.blogspot.com/2007/02/glndula-tiroides-y-paratiroides.html>
2. María Fernanda Hernández Stegmann, Milton Rendón Villa, M. Mesa Marrero. Fisiología de las glándulas tiroides y paratiroides [internet]. Barcelona: [consultado 4 mar 2021]. Disponible en: <https://seorl.net/PDF/cabeza%20cuello%20y%20plastica/140%20-%20FISIOLOGÍA%20DE%20LAS%20GLÁNDULAS%20TIROIDES%20Y%20PARATIROIDES.pdf>
3. Balcells Gorina A., Soriano Jiménez. La clínica y el laboratorio: interpretación de análisis y pruebas funcionales: exploración de los síndromes: cuadro biológico de las enfermedades. 15ª ed. Barcelona: Salvat; 1990.
4. Fichas técnicas de las pruebas clínicas analíticas T4 libre, TSH, Anticuerpos anti- TPO y anti-TG de la casa comercial BioMerieux, S. A.
5. Valores de referencia considerados por el laboratorio de análisis clínicos del Dr. Guillermo García donde se realizaron las prácticas del TFG.
6. Enfermedad de Hashimoto [Internet]. MayoClinic.org. [consultado el 15 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/hashimotos-disease/symptoms-causes/syc-20351855>

7.- ABREVIATURAS

| | |
|------|--|
| dL | Decilitros |
| ELFA | Ensayo fluorescente ligado a enzimas |
| h | Horas |
| mL | Mililitros |
| ng | Nanogramos |
| PBI | Índice de yodo proteico |
| T3 | Triyodotironina |
| T3F | Triyodotironina libre |
| T4 | Tiroxina |
| T4F | Tiroxina libre |
| TBG | Globulina transportadora de tiroxina |
| TBPA | Prealbúmina transportadora de tiroxina |
| TG | Tiroglobulina |
| TPO | Peroxidasa tiroidea |
| TRH | Hormona liberadora de tirotropina |
| TSH | Tirotropina |
| UI | Unidades internacionales |
| μU | Microunidades |

8.- ANEXO

VIDAS® FT4 (FT4N)

IVD

VIDAS FT4 es un enzimoimmunoensayo automatizado cuantitativo para utilizar en los instrumentos de la familia VIDAS que permite la valoración de tiroxina libre (FT4) en suero o plasma humano (heparina de litio) con la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Se destina a la valoración de tiroxina libre como ayuda en el diagnóstico y control del tratamiento de desórdenes tiroideos.

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DE LA PRUEBA

A partir del momento que se secreta la tiroxina o tetrayodotironina (T4), producida por la glándula tiroidea al torrente sanguíneo, está mayoritariamente (99,9%) ligada a las proteínas portadoras: TBG (Thyroxine Binding Globulin), TBPA (Thyroxine Binding PreAlbumin), albúmina. La fracción que permanece libre (FT4), se considera como la parte activa de la hormona (1). Los mecanismos de regulación de la función tiroidea actúan directamente sobre la concentración de dicha fracción libre, lo cual explica su relativa independencia frente a la concentración de proteínas portadoras (2-3).

En los hipertiroideos, la concentración de FT4 se eleva, mientras que en los hipotiroideos la concentración es baja en general.

Los pacientes bajo hormonoterapia substitutiva (LT4) pueden presentar una elevación de la FT4 a pesar de ser clínicamente eutiroidianos.

La prueba VIDAS FT4 es una ayuda para el diagnóstico de los desórdenes tiroideos.

La determinación de la FT4 debe ser usada conjuntamente con otras pruebas, como el análisis de la TSH, así como el examen clínico del paciente (4).

PRINCIPIO

El principio de determinación asocia el método inmunoenzimático por competición con una detección final por fluorescencia (ELFA).

El cono (SPR®) desechable sirve a la vez de fase sólida y como sistema de pipeteo. Los otros reactivos de la prueba inmunológica, están listos para su empleo y previamente repartidos en el cartucho.

El instrumento realiza automáticamente todas las etapas del análisis. Estas etapas consisten en una sucesión de ciclos de aspiración/expulsión del medio de reacción.

Se toma la muestra y se transfiere al pocillo que contiene el antígeno T4, marcado con fosfatasa alcalina (conjugado). El antígeno presente en el suero y el antígeno marcado compiten por los sitios específicos del anticuerpo anti-T4 que recubre la superficie interior del cono.

Durante la etapa final de detección, el sustrato (4-Metil-umbeliferil-fosfato) se aspira y se expulsa a través del cono. La enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida se mide a 450 nm. El valor de la señal de fluorescencia es inversamente proporcional a la concentración del antígeno específico presente en la muestra. Al final de la prueba, el instrumento calcula los resultados automáticamente con relación a una curva de calibración memorizada, y después los imprime.

COMPOSICIÓN DEL EQUIPO (60 PRUEBAS):

| | | |
|---|-----|--|
| 60 cartuchos FT4N | STR | Listos para su empleo |
| 60 conos FT4N 2 x 30 | SPR | Listos para su empleo. Conos sensibilizados con tiroxina. |
| Control FT4N 1 x 2 ml (líquido) | C1 | Listos para su empleo. Suero humano* + L-tiroxina + azida sódica (1 g/l). El intervalo de confianza en pmol/l está indicado en la tarjeta MLE con la indicación: "Control C1 Dose Value Range". |
| Calibrador FT4N 1 x 2 ml (líquido) | S1 | Listos para su empleo. Suero humano * + azida sódica (1 g/l). La concentración en pmol/l está indicada en la tarjeta MLE con la indicación: "Calibrator (S1) Dose Value". El intervalo de confianza en "Relative Fluorescence Value" está indicado en la tarjeta MLE con la indicación: "Calibrator (S1) RFV Range". |
| 1 tarjeta MLE (Master Lot Entry) | | Especificaciones con los datos necesarios para calibrar el test: leer los datos MLE, consultar el Manual de Usuario. |
| 1 Ficha técnica suministrada con el equipo o que se descargue de www.biomerieux.com/techlib | | |

* Se ha verificado la ausencia de antígeno HBs, de anticuerpos anti-VIH1, VIH2 y de anticuerpos anti-VHC. Sin embargo, dado que ningún análisis puede aportar una garantía absoluta, este producto debe manipularse con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos.

El cono

El cono se sensibiliza en el momento de su fabricación con tiroxina. Cada cono se identifica por su código FT4N. Sacar de la bolsa sólo el número de conos necesarios y **cerrar correctamente la bolsa tras su apertura.**

El cartucho

El cartucho está compuesto por 10 pocillos cerrados mediante un sello de aluminio con etiqueta. Dicha etiqueta incluye un código de barras que contiene principalmente el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad del envase. El primer pocillo está perforado para facilitar la introducción de la muestra. **El último pocillo es una cubeta que permite la lectura por fluorimetría. Los pocillos de la sección central contienen varios reactivos necesarios para la prueba.**

Descripción del cartucho FT4N

| Pocillo | Reactivos |
|-----------|---|
| 1 | Pocillo de muestra. |
| 2 - 3 - 4 | Pocillos vacíos. |
| 5 | Conjugado: fosfatasa alcalina sensibilizada con anticuerpos anti-T4 + 1 g/L Metilisotiazolona (MIT) (400 µL). |
| 6 | Tampón de lavado: Tris, NaCl (0,05 mol/l) pH 7,4 + 1 g/L Metilisotiazolona (MIT) (600 µL). |
| 7 | Tampón de lavado: Tris-Tween, NaCl (0,05 mol/l) pH 7,4 + 1 g/L Metilisotiazolona (MIT) (600 µL). |
| 8 | Tampón de lavado: dietanolamina* (1,1 mol/l, es decir, 11,5%) pH 9,8 + 1 g/L ázida sódica (600 µL). |
| 9 | Pocillo vacío. |
| 10 | Cubeta de lectura con sustrato: 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l)+ dietanolamina ** (0,62 mol/l, es decir, 6,6% pH 9,2) + 1 g/L ázida sódica (300 µL). |

*** Reactivo NOCIVO:**

- **R 48/22:** Nocivo: riesgo de efectos graves para la salud en caso de exposición prolongada por ingestión.
- **R 41:** riesgo de lesiones oculares graves.
- **S 26:** en caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
- **S 46:** en caso de ingestión, acúdase inmediatamente al médico y muéstresele la etiqueta o el envase.

**** Reactivo IRRITANTE:**

- **R 36:** irrita los ojos.
 - **S 26:** en caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
- Para mas información, consultar la ficha de datos de seguridad disponible bajo pedido.

MATERIALES Y DESECHABLES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Pipeta con puntas desechables para distribuir 100 µl.
- Guantes desechables sin talco.
- Para otros materiales y desechables específicos, consultar el Manual de Usuario del instrumento.
- Instrumento de la familia VIDAS.

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Únicamente para diagnóstico *in vitro*.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- **Este envase contiene componentes de origen humano. Dado que ninguno de los métodos de análisis actualmente conocidos puede garantizar la ausencia de agentes patógenos transmisibles, se recomienda manipularlos con las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos (consultar el Manual de bioseguridad en el laboratorio – OMS - Ginebra - última edición).**
- Este envase contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos: (no ingerir, ni inhalar).
- No utilizar los conos cuya bolsa esté dañada.
- No utilizar los cartuchos visiblemente alterados (lámina de aluminio o plástico dañados).
- No emplear los reactivos pasada su fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.

- No mezclar reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.
- No utilizar **guantes con talco**, ya que este producto puede motivar falsos resultados en ciertos análisis inmunoenzimáticos.
- Los reactivos del envase contienen ázida sódica susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre formando nitratos metálicos explosivos. Se recomienda enjuagar con chorro de agua abundante en el caso de verter cualquier líquido que contiene ázida sódica por los desagües para evitar una acumulación.
- El tampón de lavado del pocillo 8 contiene un agente nocivo (dietanolamina al 11,5%). Tome nota de las frases de riesgo "R" y de los consejos de prudencia "S" indicados más arriba.
- El sustrato del pocillo 10 contiene un agente irritante (dietanolamina al 6,6%). Tome nota de las frases de riesgo "R" y de los consejos de prudencia "S" citados más arriba.
- Las salpicaduras deben limpiarse con un líquido detergente o una solución de lejía, que contenga al menos un 0,5% de hipoclorito sódico. Consultar el Manual de Usuario para eliminar los derramamientos producidos sobre o en el interior del instrumento. No procesar en autoclave el objeto tratado con lejía.
- El instrumento debe limpiarse y desinfectarse con regularidad (consultar el Manual de Usuario).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- Conservar el envase VIDAS FT4 a 2-8°C.
- **No congelar los reactivos.**
- **Mantener los reactivos no utilizados a 2-8°C.**
- Al abrir el envase, verificar su integridad y el buen cierre de la o las bolsas de conos, y en caso contrario, no utilizar los mismos.
- **Después de cada utilización, volver a cerrar cuidadosamente la bolsa con su deshidratante, para mantener la estabilidad de los conos, y volver a guardar el envase a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta siempre que se hayan conservado según las condiciones recomendadas.

MUESTRAS

Naturaleza y toma de las muestras:

Suero o plasma humano (heparina de litio).
No utilizar tubos con EDTA.

Tipos de tubos validados:

- Tubo de cristal recubierto con silicona,
- Tubo de plástico con activador de coágulo,
- Tubo de plástico con activador de coágulo y gel de separación,
- Tubo de plástico con heparina de litio,
- Tubo de plástico con heparina de litio y gel de separación.

Nota: Los resultados de los tubos de extracción sanguínea pueden variar de un fabricante a otro según los materiales y aditivos usados.

Cada laboratorio es responsable de validar el tipo de tubo de muestra que use y debe seguir las recomendaciones de uso del fabricante.

Preparación de las muestras

Tubos sencillos: espere hasta que las muestras coagulen **y centrifugar** según las recomendaciones del fabricante de tubo para eliminar la fibrina.

Otros tubos: siga las recomendaciones de uso del fabricante.

Muestras conservadas congeladas: tras su descongelación, deben homogeneizarse todas estas muestras antes de realizar las pruebas. Homogeneizar bien con la ayuda de un agitador tipo Vórtex. Clarificar las muestras por centrifugación antes, si fuera necesario.

Interferencias relacionadas con la muestra

No se ha observado que ninguno de los siguientes factores tenga influencia significativa en esta prueba:

- hemólisis (después de sobrecargar las muestras con hemoglobina: de 0 a 300 $\mu\text{mol/l}$ [monómero]),
- la lipemia, (después de sobrecargar las muestras de lípidos de 0 a 30 g/l de un equivalente en triglicéridos),
- la bilirrubinemia (después de sobrecargar las muestras de bilirrubina de 0 a 480 $\mu\text{mol/l}$).

Sin embargo, se recomienda no utilizar muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictericas y llevar a cabo, caso de ser posible, una nueva toma de muestras.

Estabilidad de las muestras:

Las muestras pueden conservarse hasta 8 días como máximo a 2-8 °C en tubos con tapón; si se requiere una conservación más larga, congelar el suero o plasma a $-25 \pm 6^\circ\text{C}$. Las muestras tipo suero pueden conservarse hasta 6 meses a $-25 \pm 6^\circ\text{C}$, con 4 ciclos de congelación/descongelación.

Las muestras recogidas en heparina de litio no deben conservarse por encima de los 4 meses a $-25 \pm 6^\circ\text{C}$, con 2 ciclos de congelación/descongelación.

MODO OPERATIVO

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización.

Protocolo de introducción de datos VIDAS PTC

Al emplear la prueba por primera vez, **y antes de leer los datos MLE**, escanee el/los código/s de barra (incluidos al final de la ficha técnica) con un lector de códigos de barras externo. Esta lectura permitirá que los datos de protocolo VIDAS PTC se transfieren al software del equipo para su actualización. Sólo se deben leer estos datos al usar la prueba por primera vez.

Introducción de datos MLE

Nota: Al emplear la prueba por primera vez, introduzca el protocolo de VIDAS PTC (códigos de barras al final de la ficha técnica) antes de leer los datos MLE. En caso de haber leído los datos MLE antes de los datos de protocolo VIDAS PTC, lea los datos MLE otra vez.

Cuando se utiliza un nuevo lote de reactivos, las especificaciones (o datos de fabricación) deben introducirse en el instrumento con la ayuda de los datos MLE. Si esta operación no se realizase **antes de comenzar las pruebas**, el instrumento no podría procesar los resultados. Estas especificaciones solamente se introducen una vez para cada lote.

Es posible introducir las especificaciones manualmente o de forma automática mediante el uso de la tarjeta MLE.

Calibración

La calibración, que se realiza con la ayuda del calibrador incluido en el equipo, debe efectuarse cuando se abra un nuevo lote después de introducir las especificaciones del mismo y de forma regular cada 14 días. Esta operación permite ajustar la calibración a cada aparato y a la evolución eventual del reactivo en el tiempo.

El calibrador, identificado por "S1", será analizado **en duplicado** (ver Manual de Usuario). El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV "Relative Fluorescence Value" fijados. Si no es así, la media no será memorizada: repetir una calibración.

Procedimiento

1. **Sacar únicamente los reactivos que se vayan a usar. Se pueden usar de forma inmediata.**
2. Utilice un cartucho "FT4N" y un cono "FT4N" del envase para cada muestra, control o calibrador que se haya de evaluar. **Verificar que la bolsa de los conos está bien cerrada después de cada utilización.**

3. El test se identifica con el código "FT4N" en el instrumento. El calibrador se identificará obligatoriamente como "S1", y debe analizarse **en duplicado**. Si se analiza el control, será identificado como "C1".
 4. Si fuera necesario, clarificar las muestras mediante centrifugación.
 5. Homogeneizar bien con la ayuda de un agitador tipo Vórtex, el calibrador, el control y las muestras (para el suero o plasma separado del sedimento).
6. **Para esta prueba, el volumen de muestra, de control y de calibrador es 100 µl.**
7. Introduzca los conos "FT4N" y cartuchos "FT4N" en el instrumento. Verificar bien la concordancia de las etiquetas de color con el código de la prueba en los conos y cartuchos.
 8. Iniciar el análisis como se indica en el Manual de Usuario. Todas las etapas son controladas automáticamente por el aparato.
 9. Volver a cerrar los viales y tras el pipeteado ponerlos de nuevo a 2–8 °C.
 10. La duración de la prueba es **de unos 40 minutos**. Al final del análisis, retirar los conos y los cartuchos del instrumento.
 11. Eliminar los conos y los cartuchos usados en un recipiente apropiado.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Una vez finalizado el análisis, el sistema informático calcula automáticamente los resultados. El aparato realiza dos medidas de fluorescencia en el pocillo de lectura para cada análisis. La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta de sustrato antes de que se ponga en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con la enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Relative Fluorescence Value) es el resultado de la diferencia de las dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados. Los resultados se calculan automáticamente por el instrumento con relación a una curva de calibración memorizada (modelo matemático: modelo logístico de 4 parámetros) y se expresan en pmol/l.

No deben diluirse los sueros para la determinación de las hormonas libres que se expresan en > 100 pmol/l.

Los resultados de una determinación de VIDAS FT4 deben interpretarse dentro de una evaluación clínica y como complemento de un examen del funcionamiento de los tiroides, incluyendo por lo menos la determinación de TSH.

CONTROL DE CALIDAD

Cada envase de VIDAS FT4 incluye un control. Dicho control debe ser utilizado al abrir cada nuevo lote con el fin de comprobar la ausencia de alteraciones en los reactivos. Cada calibración debe ser igualmente verificada con la ayuda de este control. Para que el equipo pueda verificar el valor del control, es necesario identificarle como C1.

Si el valor del control se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados.

Nota

Es responsabilidad del usuario el comprobar que el control de calidad se ha realizado conforme a la legislación local en vigor.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

- Puede producirse una interferencia entre ciertos sueros que contengan anticuerpos dirigidos contra componentes del reactivo. Por este motivo, los resultados de esta prueba deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otros análisis.
- Algunas drogas pueden interferir con las pruebas de hormona tiroidea libre (5,6,7).

VALORES ESPERADOS

A título indicativo, el 95% de los valores corresponden a 623 individuos adultos clínicamente o biológicamente eutoroideos sin patología severa asociada están comprendidos entre: 10,6 – 19,4 pmol/l.

Se recomienda a cada laboratorio establecer de sus propios valores de referencia sobre una población rigurosamente seleccionada (8).

PRESTACIONES

Los estudios sobre VIDAS FT4 han dado los siguientes datos:

Rango de medida

El rango de medida del reactivo VIDAS FT4 se extiende desde 1 a 100 pmol/l.

Detección y límites de cuantificación

El Límite de Detección (LoD; Limit of Detection) es la concentración de T4 libre en una muestra que se pueda distinguir de la muestra en blanco con una probabilidad del 95%.

LoD = 0,70 pmol/L.

El Límite de Cuantificación (LoQ; Limit of Quantitation) es la concentración más baja de T4 libre que se pueda cuantificar con un nivel de exactitud y precisión aceptables.

LoQ = 1,11 pmol/L.

Se realizó el estudio según las recomendaciones del CLSI®, documento EP17-A.

Precisión

Se ensayaron 7 muestras en duplicado en 40 series diferentes (2 series/día) con 2 lotes de reactivos en 3 centros (n=240).

Se calculó la repetibilidad (la precisión en series), y la reproducibilidad (intrasistema intralote y entre sistemas intralote) usando este protocolo, basado en las recomendaciones del CLSI®, documento EP5-A2:

| Muestra | Concentración media (pmol/l) | Repetibilidad | | Reprod. en sistema intralote | | Reprod. entre sistema intralote | |
|-----------|------------------------------|-------------------|--------|------------------------------|--------|---------------------------------|--------|
| | | Desviación típica | CV (%) | Desviación típica | CV (%) | Desviación típica | CV (%) |
| Muestra 1 | 4,1 | 0,25 | 6,2 | 0,42 | 10,3 | 0,54 | 13,2 |
| Muestra 2 | 10,21 | 0,37 | 3,6 | 0,67 | 6,6 | 0,84 | 8,3 |
| Muestra 3 | 10,39 | 0,39 | 3,8 | 0,54 | 5,2 | 1,35 | 13,0 |
| Muestra 4 | 19,84 | 0,61 | 3,1 | 0,86 | 4,3 | 1,46 | 7,4 |
| Muestra 5 | 33,15 | 0,82 | 2,5 | 1,18 | 3,6 | 1,68 | 5,1 |
| Muestra 6 | 51,53 | 1,18 | 2,3 | 1,96 | 3,8 | 3,02 | 5,9 |
| Muestra 7 | 74.47 | 2.25 | 3.0 | 2.98 | 4.0 | 4.86 | 6.5 |

Especificidad

Se evaluó la interferencia según las recomendaciones del CLSI®, documento EP7-A2.

| Compuesto analizado | Ninguna interferencia observada hasta una concentración de : |
|---------------------|--|
| 3,5,-diiodotirosina | 223,6 µg/L |
| 3,5,-diiodotironina | 546,2 µg/L |
| L-Triiodotironina | 27,1 µg/L |
| D-tiroxina | 2,9 µg/L |

Comparación con otro método de análisis

Se han analizado en paralelo 587 muestras séricas con VIDAS FT4 y un equipo de enzimoimmunoensayo según las recomendaciones del CLSI®, documento EP9-A2.

La ecuación de la recta de alometría obtenida es la siguiente:

$$Y = 1,067 X - 1,123$$

Coefficiente de correlación = 0,978 (n = 587)

ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Eliminar tanto los reactivos usados como los no utilizados, así como los materiales desechables contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos. Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SAPIN R., D'HERBOMEZ M. - Dosage des hormones thyroïdiennes : thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3). In La thyroïde, LECLERE J., ORGIAZZI J., ROUSSET B., SCHLIENGER Elsevier, ed. 2001, 268-274.

- PEARCE C.J., BYFIELD P.G.H. - Free thyroid hormone assays and thyroid function. Ann. Clin. Biochem., 1986, 23, 230-237.
- EKINS R. - Measurement of Free Hormones in Blood - Endocrine Reviews, vol. 11, n°1, 1990, 5-46.
- CARAYON P., NICCOLI-SIRE P., LEJEUNE P.J., et al. - Recommendation de consensus sur le diagnostic et la surveillance des maladies de la glande thyroïde. Ann. Biol. Clin.- mai-juin 2002, vol. 60, n°3.
- STOCKIGT J. R. - Drug effects on thyroid function. Thyroid international 2 (2000).
- GRONROOS P. E., IRJALA K. M., SELEN G. P., FORSSSTROM J. J. - Computerized monitoring of potentially interfering medication in thyroid function diagnostics. Int J. Clin. Monit. Comput., 1997, 14(4), 255-259.
- Norme CLSI. Measurement of Free Thyroid Hormones: Approved Guideline CA45-A V24 N°31.
- Laboratory Support for the Diagnosis and Monitoring of Thyroid Disease. Laboratory Medicine Practice Guidelines Editors : L. M. Demers, C. A. Spence, 2002, 1-32.

TABLA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|---|--|
|  | Número de catálogo |
|  | Producto sanitario para diagnóstico in vitro |
|  | Fabricante |
|  | Límite de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |
|  | Código de lote |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |

BIOMERIEUX, el logo azul, VIDAS y SPR son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux SA o a cada una de sus filiales.

CLSI es una marca registrada que pertenece a Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Cualquier otro nombre o marca es propiedad de su respectivo propietario.



69280 Marcy-l'Étoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS[®] TSH (TSH)

VIDAS TSH es una prueba cuantitativa automatizada en los instrumentos de la familia VIDAS que permite la valoración inmunoenzimática de la hormona estimulante de la tiroides en suero o plasma humano (heparina de litio) con la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DE LA PRUEBA

La hormona tirotrópica u hormona tiroideoestimulante (TSH) es una glicoproteína con un peso molecular de 28.000 a 30.000 daltons. Está constituida por 2 subunidades peptídicas α y β unidas en forma no covalente. La subunidad α , compuesta por 92 aminoácidos, es similar a las de la FSH, de la LH, y de la hCG. La subunidad β , compuesta por 112 aminoácidos, determina la especificidad biológica e inmunológica de la hormona. A estas subunidades peptídicas están ligados residuos glucánicos (1, 3).

La TSH es producida por las células tirotrópicas de la hipófisis anterior. Su secreción en la circulación sanguínea sigue un ritmo circadiano cuyo máximo se alcanza entre la 1 h y las 2 h de la madrugada.

La TSH constituye el principal factor de estimulación de la glándula tiroidea que determina la producción de las hormonas tiroideas T3 y T4. De regreso, estas hormonas tiroideas ejercen un retrocontrol sobre la hipófisis anterior que frena la secreción de TSH. La secreción de TSH está además, bajo el control del sistema nervioso central mediante un neuropéptido hipotalámico, la TRH, y de neuromediadores como la somatostatina o la dopamina.

En el caso de hipertiroidismo (enfermedad de Basedow, adenomas tiroideos, tiroiditis inflamatorias), la concentración de TSH se ve enormemente disminuida, siendo incluso indetectable. En raras formas de hipertiroidismo de origen alto, al no tener efecto el retrocontrol negativo de las hormonas tiroideas, la tasa de TSH no se ve disminuida.

En los hipotiroidismos primitivos, la concentración de TSH es siempre muy netamente superior a la normal, y va acompañada de una disminución de los valores de hormonas tiroideas

En los hipotiroidismos parciales o frustrados, un aumento moderado de la TSH permite mantener una producción tiroidea normal, pudiendo mantenerse este estado durante muchos años sin trastorno clínico evidente (2).

La prueba VIDAS TSH es una ayuda al diagnóstico de los desórdenes tiroideos o hipofisarios.

PRINCIPIO

El principio de la prueba asocia el método inmunoenzimático tipo sandwich en una etapa a una detección final en fluorescencia (ELFA).

El cono (SPR[®]) de uso único sirve a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. Los otros reactivos de la reacción inmunológica están listos para su uso y previamente repartidos en el cartucho.

Todas las etapas de la prueba son efectuadas automáticamente por el instrumento. Están constituidas por una sucesión de ciclos de aspiración/ expulsión del medio reactivo. La muestra es tomada y luego transferida a las cubetas que contienen el anticuerpo anti-TSH marcado con fosfatasa alcalina (conjugado). La mezcla muestra/ conjugado es aspirada y luego expulsada varias veces por el cono. Esta operación permite que el antígeno se una por una parte a las inmunoglobulinas fijadas en el cono y por otra al conjugado, formando así un "sandwich".

Las etapas de lavado eliminan los compuestos no fijados. Durante la etapa final de revelado, el sustrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) es aspirado y luego expulsado en el cono; la enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida se mide a 450 nm. El valor de la señal de fluorescencia es proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra.

Al final de la prueba, los resultados son calculados automáticamente por el instrumento en relación con una curva de calibración memorizada, y luego se imprimen.

COMPOSICIÓN Y RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (60 PRUEBAS):

| | | |
|--|-----|--|
| 60 cartuchos TSH | STR | Listos para su uso. |
| 60 conos TSH 2 x 30 | SPR | Listos para su uso. Conos sensibilizados con inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-TSH. |
| Control TSH 1 x 3 ml (liofilizado) | C1 | Reconstituir con 3 ml de agua destilada. Esperar de 5 a 10 minutos y después homogeneizar. Tras su reconstitución, es estable 14 días a 2-8°C o hasta la fecha de caducidad del envase a $-25 \pm 6^\circ\text{C}$. Son posibles 5 ciclos de congelación/ descongelación. Suero humano* + TSH humana + conservantes. Los datos MLE indican el intervalo de confianza en $\mu\text{IU/ml}$ (micro unidad internacional por mililitro) ("Control C1 Dose Value Range"). |
| Calibrador TSH 1 x 2 ml (lío-filizado) | S1 | Reconstituir con 2 ml de agua destilada. Esperar de 5 a 10 minutos y después homogeneizar. Tras su reconstitución, es estable 14 días a 2-8°C o hasta la fecha de caducidad del envase a $-25 \pm 6^\circ\text{C}$. Son posibles 5 ciclos de congelación/ descongelación. Suero de ternera + TSH humana + conservantes. Los datos MLE indican la concentración en $\mu\text{IU/ml}$ ("Calibrator (S1) Dose Value") y el intervalo de confianza en "Relative Fluorescence Value" (Calibrator (S1) RFV Range)". |
| Diluyente TSH 1 x 3 ml (líquido) | R1 | Listo para su uso. Suero de ternera + azida sódica 0,9 g/l. |
| Especificaciones de los datos de fabricación necesarias para la calibración de la prueba: | | |
| <ul style="list-style-type: none"> • Datos MLE (Master Lot Entry) suministrados en el equipo, o • Código de barras MLE impreso en la etiqueta del envase. | | |
| 1 Ficha técnica suministrada en el equipo o a descargar en www.biomerieux.com/techlib . | | |

* Se ha comprobado la ausencia de antígeno HBs, de anticuerpos anti-VIH1, VIH2 y de anticuerpos anti-VHC. No obstante, puesto que ninguna prueba puede aportar una garantía absoluta, este producto debe ser manipulado con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos.

El cono

El cono es sensibilizado en el momento de la fabricación con inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-TSH. Cada cono está identificado con el código TSH. Extraer únicamente el número de conos necesarios y **luego cerrar bien la bolsa**.

El cartucho

El cartucho está compuesto por 10 cubetas recubiertas por una hoja de aluminio sellada y etiquetada. En la etiqueta hay un código de barras donde figura principalmente el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad del equipo. La primera cubeta lleva una parte precortada para facilitar la introducción de la muestra. La última cubeta es una cubeta que permite la lectura en fluorescencia. Los distintos reactivos necesarios para el análisis están contenidos en las cubetas intermedias.

Descripción del cartucho TSH

| Cubetas | Reactivos |
|---------------|--|
| 1 | Cubeta de muestra. |
| 2 - 3 - 4 - 5 | Cubetas vacías. |
| 6 | Conjugado: inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-TSH marcadas con fosfatasa alcalina + azida sódica 1 g/l (400 µl). |
| 7 - 8 | Tampón de lavado: fosfato de sodio (0,01 mol/l) pH 7,4 + azida sódica 1 g/l (600 µl). |
| 9 | Tampón de lavado: dietanolamina* (1,1 mol/l o sea 11,5 %, pH 9,8) + azida sódica 1 g/l (600 µl). |
| 10 | Cubeta de lectura con substrato: 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina** (DEA) (0,62 mol/l o sea 6,6%, pH 9,2) + azida sódica 1 g/l (300 µl). |

* Palabra de advertencia : **PELIGRO**

Indicación de peligro

H318 : Provoca lesiones oculares graves.

H373 : Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

H315 : Provoca irritación cutánea.

H302 : Nocivo en caso de ingestión.

Consejo de prudencia

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P309 + P311 : EN CASO DE exposición o si se encuentra mal: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

** Palabra de advertencia : **PELIGRO**

Indicación de peligro

H318 : Provoca lesiones oculares graves.

Consejo de prudencia

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305 + P351 + P338 : EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Para más información, consulte la ficha de seguridad.

MATERIALES Y DESECHABLES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Pipeta de punta desechable de 2ml, 3ml y 200µL.
- Guantes sin talco de uso único.
- Para otros materiales y desechables específicos, consultar el Manual de Utilización del instrumento.
- Instrumento de la familia VIDAS.

PRECAUCIONES DE USO

- Para diagnóstico *in vitro* únicamente.
- Para uso profesional únicamente.
- Este equipo contiene componentes de origen humano. Ningún método de análisis actualmente conocido puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible. Se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (consultar el Manual de bioseguridad en el laboratorio – OMS - Ginebra - última edición).

- Este equipo contiene componentes de origen animal. Puesto que el control sobre la procedencia y/o el estado sanitario de los animales no puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan ningún agente patógeno transmisible, se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir; no inhalar).
- No utilizar los conos cuya bolsa esté perforada.
- No utilizar cartuchos visiblemente alterados (hoja de aluminio o de plástico dañada).
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del equipo.
- No mezclar los reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.
- No utilizar **guantes con talco**, ya que el talco puede falsear los resultados en algunas pruebas inmunoenzimáticas.

- Los reactivos del equipo contienen un conservante (azida sódica) susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre, formando azidas metálicas explosivas. Se recomienda enjuagar con agua todos los vertidos.
- El tampón de lavado (cubeta 9 del cartucho) contiene un agente nocivo (dietanolamina 11,5 %). Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas anteriormente.
- El sustrato (cubeta 10 del cartucho) contiene un agente irritante (dietanolamina 6,6%). Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas anteriormente.
- Las salpicaduras deben tratarse con un líquido detergente o con una solución de lejía que contenga al menos un 0,5% de hipoclorito de sodio. Consultar en el Manual de Utilización para eliminar los derramamientos producidos sobre o en el interior del instrumento. No someter a autoclave productos con lejía.
- El instrumento debe limpiarse y desinfectarse con regularidad (consultar el Manual de Utilización).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- Conservar el equipo VIDAS TSH a 2-8°C.
- **No congelar los conos ni los cartuchos.**
- **Dejar a 2-8°C los reactivos no utilizados.**
- Al abrir el equipo, comprobar la integridad de la(s) bolsas de conos y que cierra(n) correctamente. En caso contrario, no utilizar los conos.
- **Después de cada uso, cerrar bien la bolsa con su deshidratante para conservar la estabilidad de los conos y llevar de nuevo todo el equipo a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiqueta del equipo cuando son conservados en las condiciones recomendadas. Para modos de conservación especiales, consultar la tabla de composición del equipo.

MUESTRAS

Tipo y toma de muestras:

Suero o plasma (tubo con bolas separadoras, tubo con gel separador, tubo con heparina de litio).

Se aconseja que cada laboratorio valide el tipo de tubo de toma de muestras utilizado.

Puesto que la presencia de EDTA comporta una disminución de los valores medidos, **no debe utilizarse el plasma tomado en EDTA.**

Para esta valoración no se ha observado ninguna influencia significativa:

- hemólisis (después de sobrecargar las muestras con hemoglobina: de 0 a 300 µmol/l (monómero)),
- lipemia (tras sobrecarga de muestras en lípidos de 0 a 5 mg/ml de equivalente en triglicéridos),
- bilirrubinemia (tras sobrecarga de muestras en bilirrubina de 0 a 513 µmol/l).

No obstante, se aconseja no utilizar muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictéricas, y efectuar si es posible una nueva toma.

Estabilidad de las muestras:

Las muestras pueden conservarse 48 horas como máximo a 2-8 °C en tubos con tapón; si se requiere una conservación más larga, congelar el suero o plasma a -25 ± 6 °C durante 2 meses como máximo. Evitar las congelaciones y descongelaciones sucesivas.

INSTRUCCIONES DE USO

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización.

Lectura de los datos MLE

Antes de usar un nuevo lote de reactivos, las especificaciones (o datos de fábrica) deben introducirse en el equipo con ayuda de los datos MLE.

Si esta operación no se efectúa **antes de comenzar los tests**, el equipo no podrá imprimir resultados.

Es posible introducir los datos MLE de forma manual o de forma automática dependiendo del equipo (consulte el Manual de Usuario).

Nota: Las especificaciones (o datos de fábrica) se introducen solo una vez por cada lote.

Calibración

La calibración, mediante el calibrador incluido en el equipo, debe efectuarse con cada nuevo lote después de introducir las especificaciones de dicho lote, y luego cada 14 días. Esta operación permite ajustar la calibración a cada instrumento y a la eventual evolución del reactivo a lo largo del tiempo.

El calibrador, identificado por S1, debe analizarse **en doble** (ver Manual de Utilización). El valor del calibrador debe estar comprendido dentro de los límites de RFV "Relative Fluorescence Value" fijados. En caso contrario, volver a efectuar una calibración.

Realización de la prueba

1. **Sacar únicamente los reactivos necesarios, dejarlos 30 minutos a temperatura ambiente antes de usarlos.**
 2. Utilice un cartucho "TSH" y un cono "TSH" para cada muestra, control o calibrador que se haya de evaluar. **Verificar que la bolsa de los conos está bien cerrada después de cada utilización.**
 3. La prueba se identifica por el código "TSH" en el sistema. El calibrador, identificado obligatoriamente como "S1", debe ser utilizado **en doble**. Si debe probarse el control, será identificado como C1.
 4. Mezcle el calibrador, el control y las muestras con un mezclador de tipo Vortex (para suero o plasma separado del sedimento).
5. **Para este test, el volumen de muestra, control y calibrador es 200 µL.**
6. Introduzca los cartuchos "TSH" y conos "TSH" en el sistema. Comprobar la correcta concordancia de códigos (colores y letras) entre el cono y el cartucho.
 7. Iniciar el análisis como se indica en el Manual de Utilización. Todas las etapas son gestionadas automáticamente por el instrumento.
 8. Vuelva a cerrar los viales y retórnalos a la temperatura adecuada tras pipetear.
 9. La duración de la prueba es de aproximadamente 40 minutos. Al finalizar el análisis, retirar los conos y los cartuchos del instrumento.
 10. Eliminar los conos y los cartuchos utilizados en un recipiente apropiado.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Al finalizar la prueba, los resultados son automáticamente analizados por el sistema informático. El instrumento efectúa dos valoraciones de fluorescencia en la cubeta de lectura para cada una de las pruebas. La primera lectura toma en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta sustrato antes de la puesta en contacto del sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con la enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Relative Fluorescence Value) resulta de la diferencia de las dos valoraciones. Aparece en la hoja de resultados.

Los resultados en TSH son calculados automáticamente por el instrumento en relación con una curva de calibración memorizada (modelo matemático: modelo logístico con 4 parámetros) y se expresan en µIU/ml (2º IRP 80/558).

Las muestras que presenten concentraciones de TSH superiores a 60 µIU/ml deben reanalizarse tras dilución en el diluyente TSH (R1). Si el factor de dilución no ha sido introducido durante la creación de la lista de trabajo (ver el Manual de Usuario), multiplicar el resultado por el factor de dilución para obtener la concentración de la muestra.

La interpretación de los resultados de la prueba debe efectuarse teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otras pruebas.

CONTROL DE CALIDAD

En cada equipo VIDAS TSH se incluye un control. Este control debe utilizarse al abrir cada nuevo kit con el fin de comprobar la ausencia de alteración de los reactivos. Cada calibración debe comprobarse asimismo mediante este control. Para que el instrumento pueda comprobar el valor del control, éste debe identificarse como C1.

Si el valor del control se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados.

Observación

Es responsabilidad del usuario asegurarse de que el control de calidad se aplica en conformidad con la legislación local en vigor.

LIMITES DE LA PRUEBA

Con determinados sueros que contengan anticuerpos dirigidos contra componentes del reactivo, puede hallarse una interferencia,

Los resultados de una determinación de TSH deben interpretarse en el marco de una evaluación clínica. En caso de discordancia, este balance debe completarse con la valoración de las hormonas tiroideas.

VALORES ESPERADOS

Eutiroidismo: 0,25 - 5 µIU/ml.
 Hipertiroidismo: < 0,15 µIU/ml.
 Hipotiroidismo: > 7 µIU/ml.

Estos resultados se dan a título indicativo; se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia sobre una población rigurosamente seleccionada.

RESULTADOS

Los estudios de VIDAS TSH han obtenido los siguientes resultados:

Rango de medida

El rango de medida del equipo VIDAS TSH alcanza hasta 60 µIU/ml.

Límite de detección analítica

Se define como la menor concentración en TSH significativamente distinta de la concentración cero, con una probabilidad del 95%: **0,05 µIU/ml.**

Efecto Hook

No se ha observado ningún efecto Hook hasta concentraciones en TSH de 2.500 µIU/ml.

PrecisiónReproducibilidad intra-análisis:

Se analizaron cinco muestras 30 veces en una misma serie.

| Muestra | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------|------|------|------|-------|-------|
| Concentración media (µIU/ml) | 1,05 | 1,88 | 8,28 | 24,90 | 33,40 |
| CV % | 4,7 | 4,1 | 2,8 | 3,7 | 2,4 |

Reproducibilidad inter-análisis:

Se valoraron cinco muestras en simple en 24 series en un mismo instrumento VIDAS en un periodo de 9 semanas.

| Muestra | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------|------|------|------|-------|-------|
| Concentración media (µIU/ml) | 0,84 | 2,21 | 8,05 | 20,50 | 31,40 |
| CV % | 3,5 | 4,3 | 3,1 | 3,8 | 3,2 |

Especificidad:

| Compuestos analizados | % de reacciones cruzadas |
|-----------------------|--------------------------|
| TSH | 100 |
| LH | < 0,01 |
| FSH | < 0,01 |
| hCG | < 0,01 |

ExactitudPrueba de dilución

Se diluyeron tres muestras en el diluyente TSH y se analizaron en simple en 3 series. La concentración media medida en relación con la concentración esperada se expresa en porcentaje medio de recuperación.

| Muestras n° | Factor de dilución | Concentración media esperada (µIU/ml) | Concentración media medida (µIU/ml) | Porcentaje de recuperación medio (%) |
|-------------|--------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | 1/1 | 9,00 | 9,00 | 100 |
| | 1/2 | 4,50 | 4,36 | 97 |
| | 1/4 | 2,20 | 2,28 | 102 |
| | 1/8 | 1,10 | 1,12 | 100 |
| | 1/16 | 0,60 | 0,59 | 105 |
| | 1/32 | 0,30 | 0,27 | 96 |
| 2 | 1/1 | 22,50 | 22,50 | 100 |
| | 1/2 | 11,20 | 11,96 | 107 |
| | 1/4 | 5,60 | 5,91 | 105 |
| | 1/8 | 2,80 | 2,94 | 105 |
| | 1/16 | 1,40 | 1,51 | 108 |
| | 1/32 | 0,70 | 0,71 | 102 |
| 3 | 1/1 | 38,90 | 38,90 | 100 |
| | 1/2 | 19,50 | 17,90 | 92 |
| | 1/4 | 9,70 | 9,50 | 98 |
| | 1/8 | 4,90 | 4,64 | 95 |
| | 1/16 | 2,40 | 2,34 | 96 |
| | 1/32 | 1,20 | 1,10 | 91 |

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS

Eliminar los reactivos utilizados o no utilizados así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de sus desechos y efluentes según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

BIBLIOGRAFÍA

1. GREEN E.D., BAENZIGER J.U. Asparagine-linked oligosaccharides on Lutropin, Follitropin and Thyrotropin. J Biol Chem, 1988, 263, 25-35.
2. SCANLON M.F., TOFT A.D. Regulation of Thyrotropin Secretion. In BRAVERMAN L.E. and UTIGER R.D. eds. Werner and Ingbar's The Thyroid, 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996, 220-240.
3. WONDISFORD F.E., MAGNER J.A. and WEINTRAUB B.D., Chemistry and Biosynthesis of Thyrotropin. In BRAVERMAN L.E. and UTIGER R.D. eds. Werner and Ingbar's The Thyroid, 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996, 190-207.

TABLA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|---|---|
|  | Número de catálogo |
|  | Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Fabricante |
|  | Límite de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |
|  | Código de lote |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |
|  | Fecha de fabricación |

HISTÓRICO DE REVISIONES

Categoría de tipo de cambio :

| | |
|----------------|---|
| N/A | No aplica (primera modificación) |
| Corrección | Corrección de anomalías en la documentación |
| Cambio técnico | Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto |
| Administrativo | Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario. |

Nota : *Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales, y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.*

| Fecha de publicación | Versión | Tipo de cambio | Resumen de cambios |
|----------------------|---------|----------------|--|
| 2015/01 | 06266K | Administrativo | TABLA DE SÍMBOLOS HISTÓRICO DE REVISIONES |
| | | Cambio técnico | COMPOSICIÓN Y RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (60 PRUEBAS) PRECAUCIONES DE USO INSTRUCCIONES DE USO |

BIOMERIEUX, el logo de BIOMERIEUX, SPR y VIDAS son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux, o a una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

El resto de marcas y nombres de productos mencionados pertenecen a sus propietarios respectivos.

VIDAS[®] Anti-Tg (ATG)

VIDAS Anti-Tg es una prueba cuantitativa automatizada en los instrumentos de la familia VIDAS, que permite la detección de anticuerpos autoinmunes de tipo IgG anti-tiroglobulina (anti-Tg) en suero o plasma humano por técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). La prueba VIDAS Anti-Tg está destinada a la ayuda en el diagnóstico de enfermedades tiroideas autoinmunes.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO DE LA PRUEBA

A menudo los trastornos de la glándula tiroidea están causados por reacciones autoinmunes, debido a la producción de autoanticuerpos.

La tiroglobulina (Tg) es una glicoproteína de 670 000 daltons constituida por dos subunidades idénticas. Se produce en la glándula tiroidea y constituye el componente principal del coloide folicular.

La función principal de la tiroglobulina es el almacenaje y la síntesis de las hormonas tiroideas. Proporciona 40 de los 140 residuos de tirosina para la iodación de la L-tirosina permitiendo la biosíntesis de las hormonas tiroideas tiroxina (T4) y tri-iodotironina (T3). Así mismo, es responsable de la acumulación de yodo por la glándula tiroidea (1).

Los autoanticuerpos anti-tiroglobulina se encuentran frecuentemente presentes en pacientes con enfermedades tiroideas autoinmunes. También se detecta en el 30 % de los pacientes afectados por la enfermedad de Graves (Basedow) y en el 85 % de los pacientes afectados por la enfermedad de Hashimoto (2). A veces, en estas enfermedades, es más frecuente encontrar niveles elevados de autoanticuerpos dirigidos contra la tiroperoxidasa que niveles elevados de anticuerpos anti-tiroglobulina. Los anticuerpos anti-Tg están asociados a los casos de hipotiroidismo o hipertiroidismo ligero y se presentan frecuentemente en pacientes afectados por otras enfermedades auto-inmunes tales como artritis reumatoide, anemia perniciosa y diabetes tipo I (3, 4).

La concentración de anticuerpos no correlaciona con la actividad clínica de la afección. Los títulos de anticuerpos inicialmente elevadas, pueden descender al valor normal después de un periodo prologado de la enfermedad así como durante la remisión. La reaparición de anticuerpos después de la remisión es un indicador probable de recidiva.

Los anticuerpos anti-Tg se detectan en el 30-60 % de los pacientes afectados de carcinoma tiroideo. En estos pacientes, la valoración de tiroglobulina sérica se acompaña de la determinación de auto-anticuerpos anti-Tg, dado que las concentraciones significativas de anticuerpos anti-Tg pueden interferir con la valoración de la Tg (5, 6).

Por otro lado, concentraciones bajas de anticuerpos anti-Tg son detectables en el 20 % de los individuos asintomáticos, en particular en personas ancianas y más frecuentemente en mujeres que en varones, aunque el significado clínico de estos auto-anticuerpos no estén totalmente explicados (7, 8).

PRINCIPIO

El principio de determinación asocia un método inmunoenzimático tipo sandwich de dos pasos con una detección final por fluorescencia (ELFA).

El cono (SPR[®]) de un solo uso sirve a la vez de fase sólida y como sistema de pipeteo. Los otros reactivos de la prueba inmunológica, están listos para su empleo y previamente repartidos en los cartuchos sellados.

El instrumento realiza automáticamente todas las etapas del análisis. Estas etapas consisten en una sucesión de ciclos de aspiración/expulsión del medio de reacción.

Tras el lavado preliminar y los pasos de dilución de la muestra, los anticuerpos anti-Tg presentes en la muestra se unirá a la proteína fijada en el interior del cono.

Los componentes no unidos se eliminan durante un ciclo de lavado. Los anticuerpos anti-IgG humanas conjugados con fosfatasa alcalina se unen al complejo inmune que recubre el interior del cono.

Un nuevo ciclo de lavado elimina el conjugado en exceso. Durante el paso de detección final, el sustrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) se aspira y se expulsa del cono. La enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida se mide a 450 nm. El valor de la señal de fluorescencia es inversamente proporcional a la concentración de anticuerpos anti-Tg presentes en la muestra. Al final de la prueba, el instrumento calcula los resultados automáticamente con relación a una curva de calibración memorizada, y después los imprime.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (30 PRUEBAS) :

| | | |
|------------------------------------|------|---|
| 30 cartuchos ATG | STR | Listos para su empleo. |
| 30 conos ATG 1 x 30 | SPR® | Listos para su empleo. Conos sensibilizados con Tiroglobulina. |
| Control positivo ATG 1 x 2,5 mL | C1 | Listo para su empleo. IgG monoclonales anti-Tg en tampón fosfato pH 7,2 + estabilizante proteico + conservantes. Los datos MLE indican el intervalo de confianza en IU/mL ("Control C1 (+) Dose Value Range"). |
| Calibrador ATG 1 x 2,5 mL | S1 | Listo para su empleo. IgG monoclonales anti-Tg en tampón fosfato pH 7,2 + estabilizante proteico + conservantes. Los datos MLE indican la concentración en IU/mL ("Calibrador (S1) Dose Value") y el intervalo de confianza en "Relative Fluorescence Value" (Calibrador (S1) RFV Range). |

Especificaciones de los datos de fabricación necesarias para la calibración de la prueba:

- Datos MLE (Master Lot Entry) suministrados en el equipo,
- Código de barras MLE impreso en la etiqueta del envase.

1 Ficha técnica suministrada en el equipo o a descargar en www.biomerieux.com/techlib.

El cono

El cono se sensibiliza en el momento de su fabricación por absorción de Tg nativa. Cada cono se identifica por su código "ATG". Sacar de la bolsa sólo el número de conos necesarios y **cerrar correctamente la bolsa tras su apertura**.

El cartucho

El cartucho está compuesto por 10 pocillos cerrados mediante un sello de aluminio con etiqueta. Dicha etiqueta incluye un código de barras que contiene principalmente el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad del envase. El primer pocillo está perforado para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo es una cubeta que permite la lectura por fluorimetría. Los pocillos de la sección central contienen varios reactivos necesarios para la prueba.

Descripción del cartucho ATG

| Pocillo | Reactivos |
|-----------|---|
| 1 | Pocillo de muestra. |
| 2 | Diluyente de la muestra: Tampón fosfato + NaCl pH 7.2 + estabilizante proteico + conservante (600 µL). |
| 3 - 4 - 5 | Tampón de lavage : Tampon Tris + NaCl + Tween pH 7,8 + conservante (600 µL). |
| 6 | Conjugado: tampón fosfato + NaCl pH 6.1 + neutralizantes + estabilizantes proteicos y químicos + conservante + anticuerpos IgG anti-humanos conjugados con fosfatasa alcalina (400 µL). |
| 7 - 8 | Tampón de lavado: tampón TRIS + NaCl + Tween pH 7.8 + conservante (600 µL). |
| 9 | Pocillo vacío. |
| 10 | Cubeta de lectura con sustrato: 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/L, es decir, 6,6%, pH 9,2) + 1 g/L ázida sódica (300 µL). |

* Palabra de advertencia : **PELIGRO**

**Indicación de peligro**

H318 : Provoca lesiones oculares graves.

Consejo de prudencia

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305 + P351 + P338 : EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Para más información, consulte la ficha de seguridad.

MATERIALES Y DESECHABLES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Pipeta con puntas desechables para distribuir 100 µL.
- Guantes desechables sin talco.
- Para otros materiales y desechables específicos, consultar el Manual de Usuario del instrumento.
- Instrumento de la familia VIDAS.

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Únicamente para diagnóstico *in vitro*.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- **Este equipo contiene compuestos de origen humano. Ningún método de análisis actualmente conocido puede garantizar de formar absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible. Se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relacionadas con los productos potencialmente infecciosos (consultar en Laboratory biosafety manual - OMS - Ginebra – última edición).**
- Este equipo contiene compuestos de origen animal. El origen y/o el estado sanitario de los animales no puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible, se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relacionadas con los productos potencialmente infecciosos (no ingerir; no inhalar).
- No utilizar los conos cuya bolsa esté perforada.
- No utilizar cartuchos visiblemente alterados (hoja de aluminio o plástico dañado).
- No emplear los reactivos pasada su fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- No mezclar reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.
- No utilizar **guantes con talco**, ya que este producto puede motivar falsos resultados en ciertos análisis inmunoenzimáticos.
- Los reactivos del envase contienen un conservante (nitruro sódico) susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre formando nitratos metálicos explosivos. Se recomienda enjuagar con abundante agua en el caso de verter cualquier líquido que contenga nitruro sódico por los desagües para evitar una acumulación.
- El substrato del pocillo 10 contiene un agente nocivo (dietanolamina 6,6 %). Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas a continuación.
- Las salpicaduras deben limpiarse con un líquido detergente o una solución de lejía, que contenga al menos un 0,5% de hipoclorito sódico. Consultar el Manual de Usuario para eliminar los derramamientos producidos sobre o en el interior del instrumento. No procesar en autoclave el objeto tratado con lejía.
- El instrumento debe limpiarse y desinfectarse con regularidad (consultar el Manual de Usuario).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- Conservar el envase VIDAS Anti-Tg a 2-8°C.
- **No congelar los reactivos.**
- **Mantener los reactivos no utilizados a 2-8°C.**
- Al abrir el envase, verificar su integridad y el buen cierre de la o las bolsas de conos, y en caso contrario, no utilizar los mismos.

- **Después de cada utilización, volver a cerrar cuidadosamente la bolsa con su deshidratante, para mantener la estabilidad de los conos, y volver a guardar el envase a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase, cuando se conserva en las condiciones recomendadas.

MUESTRAS

Naturaleza y toma de muestra :

Suero o plasma humano

Tipos de tubos validados:

- Tubo seco,
- Tubo con heparinato de litio,
- Tubo con heparinato de litio y gel separador,
- Tubo de plástico con activador de la coagulación,
- Tubo plástico con activador de la coagulación y gel separador,
- Tubo EDTA.

Nota: Los resultados de los tubos de extracción sanguínea pueden variar de un fabricante a otro según los materiales y aditivos usados.

Cada laboratorio es responsable de validar el tipo de tubo de muestra que use y debe seguir las recomendaciones de uso del fabricante

Preparación de las muestras

Tubos secos : esperar la coagulación de las muestras y **centrifugar** según las recomendaciones del fabricante de tubos para eliminar cualquier presencia de fibrina.

Otros tubos: siga las recomendaciones de uso del fabricante.

Muestras conservadas congeladas: tras su descongelación, deben homogeneizarse todas estas muestras antes de realizar las pruebas. Homogeneizar bien con la ayuda de un agitador tipo Vórtex. Clarificar las muestras por centrifugación antes, si fuera necesario.

Interferencias relacionadas con la muestra

Se estudiaron las interferencias según las recomendaciones del CLSI® EP7-A2.

No se ha observado que ninguno de los siguientes factores tenga influencia significativa en esta prueba:

- hemólisis (después de sobrecargar las muestras con hemoglobina: de 0 a 300 µmol/L de monómero),
- la lipemia, (después de sobrecargar las muestras con lípidos de 0 a 30 g/L de equivalente en triglicéridos),
- la bilirrubinemia (después de sobrecargar las muestras con bilirrubina hasta 510 µmol/L),
- albúmina humana: (después de sobrecargar las muestras con albúmina humana hasta 60 g/L).

Sin embargo, se recomienda no utilizar muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictericas y llevar a cabo, caso de ser posible, una nueva toma de muestras.

Estabilidad de las muestras

Las muestras de suero y plasma pueden conservarse hasta 8 horas a 18-25°C en tubos con tapón o a 2-8°C hasta un máximo de 7 días; si se requiere una conservación más larga, congelar el suero o plasma a -25 ± 6 °C.

No congelar el suero más de 3 veces.

Un estudio realizado sobre muestras congeladas durante 6 meses mostró que la calidad de los resultados no resultara afectada.

MODO OPERATIVO

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización.

Lectura de los datos del protocolo VIDAS® PTC (Protocol Test Change) y de los datos MLE

Durante el primer uso de la prueba :

Con la ayuda del lector de código de barras externo del instrumento,

1. Leer el(los) código(s) de barra(s) PTC situado(s) al final de la ficha técnica o descargar en www.biomerieux.com/techlib.

Esta lectura permite registrar los datos del protocolo VIDAS® PTC en el programa del instrumento para su actualización.

2. Leer los datos MLE situados en la etiqueta del envase.

Nota : si los datos MLE se han leído antes del protocolo VIDAS® PTC, volver a leer los datos MLE.

Cuando se usa un nuevo lote de reactivos :

Introducir las especificaciones (o datos de fabricación) en el instrumento con la ayuda de los datos MLE.

Si esta operación no se ha efectuado antes de comenzar las pruebas, el instrumento no podrá editar resultados.

Nota: estas especificaciones solo se introducen una vez para cada lote.

Es posible introducir los datos MLE manualmente o de forma automática según el instrumento (consultar el Manual de Usuario).

Calibración

La calibración, que se realiza con la ayuda del calibrador incluido en el equipo, debe efectuarse cuando se abra un nuevo lote después de introducir las especificaciones del mismo y de forma regular cada 28 días. Esta operación permite ajustar la calibración a cada aparato y a la evolución eventual del reactivo en el tiempo

El calibrador, identificado por "S1", será analizado **en duplicado** (ver Manual de Usuario). El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV "Relative Fluorescence Value" fijados. Si no se encuentra entre estos límites : repetir una calibración con el calibrador S1.

El calibrador está estandarizado frente al estándar internacional NIBSC 65/093.

Procedimiento

1. **Sacar únicamente los reactivos que se vayan a usar. Se pueden usar de forma inmediata.**
2. Utilice un cartucho "ATG" y un cono "ATG" para cada muestra, control o calibrador que se vaya a analizar. **Verificar que la bolsa de los conos está bien cerrada después de cada utilización.**
3. La prueba se identifica con el código " ATG" en el instrumento. El calibrador se identificará obligatoriamente como "S1", y debe analizarse **en duplicado**. Si se analiza el control, será identificado como "C1".
4. Si fuera necesario, clarificar las muestras mediante centrifugación.
5. Homogeneizar bien con la ayuda de un agitador tipo Vórtex, el calibrador, el control y las muestras (para el suero o plasma separado del sedimento).

| |
|--|
| 6. Para esta prueba, el volumen de muestra, de control y de calibrador es 100 µL. |
|--|

7. Introduzca los conos " ATG " y cartuchos " ATG " en el instrumento. Verificar bien la concordancia de las etiquetas de color con el código de la prueba en los conos y cartuchos.
8. Iniciar el análisis como se indica en el Manual de Usuario. Todas las etapas son controladas automáticamente por el aparato.
9. Volver a cerrar los viales y tras el pipeteado ponerlos de nuevo a 2-8°C.
10. La duración de la prueba es **de unos 25 minutos**. Al final del análisis, retirar los conos y los cartuchos del instrumento.
11. Eliminar los conos y los cartuchos usados en un recipiente apropiado.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Una vez finalizado el análisis, el sistema informático calcula automáticamente los resultados. El aparato realiza dos medidas de fluorescencia en el pocillo de lectura para cada análisis.

La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta de sustrato antes de que se ponga en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con la enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Relative Fluorescence Value) es el resultado de la diferencia de las dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados.

Los resultados se calculan automáticamente por el instrumento con relación a una curva de calibración memorizada (modelo matemático: modelo logístico de 4 parámetros) y se expresan en IU/mL (IU = International Units).

Las muestras con concentraciones de anticuerpos anti-Tg superiores a 800,0 UI/mL deben repetirse después de diluir al 1/10 en un suero humano negativo (1 volumen de muestra + 9 volúmenes de suero humano negativo en anticuerpos anti-Tg).

Puede que la dilución de algunas muestras no sea lineal debido a la heterogeneidad de las propiedades físico-químicas de los auto-anticuerpos.

Si el factor de dilución no se indica en el momento de crear la lista de trabajo (ver Manual de Usuario), multiplicar el resultado por el factor de dilución para tener la concentración de la muestra.

Aproximadamente el 20% de las muestras asintomáticas pueden contener auto-anticuerpos anti-Tg, esto refleja la prevalencia en las poblaciones aparentemente sanas. La prevalencia de anticuerpos anti-Tg puede igualmente depender de la edad, sexo y factores geográficos de la población seleccionada.

En el marco del diagnóstico de la enfermedad tiroidea, la interpretación de los resultados de la prueba debe hacerse teniendo en cuenta la historia clínica y eventualmente los resultados de otras pruebas.

CONTROL DE CALIDAD

Cada envase de VIDAS Anti-Tg incluye un control positivo.

Dicho control debe ser utilizado al abrir cada nuevo lote con el fin de comprobar la ausencia de alteraciones en los reactivos. Cada calibración debe ser igualmente verificada con la ayuda de este control. Para que el equipo pueda verificar el valor del control, es necesario identificarle como C1.

Si el valor del control se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados

Nota

Es responsabilidad del usuario el comprobar que el control de calidad se ha realizado conforme a la legislación local en vigor.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Puede producirse una interferencia entre ciertos sueros que contengan anticuerpos dirigidos contra componentes del reactivo. Por este motivo, los resultados de esta prueba deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otros análisis.

PRESTACIONES

Los estudios sobre las prestaciones de la prueba VIDAS Anti-Tg han dado los siguientes resultados:

Rango de medida

El rango de medida de la prueba VIDAS Anti-Tg se extiende desde 6,4 a 800,0 UI/mL.

Precisión

Se ha realizado un estudio según las recomendaciones de CLSI® EP5-A2. Se analizaron seis muestras humanas en doble, 2 veces por día, durante 20 días, en 3 instrumentos distribuidos en 2 centros, con la ayuda de 2 lotes de reactivos (N=240). Se han utilizado dos curvas de calibración para cada lote de reactivos durante el estudio. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

| Muestra | N | Concentración media (UI/mL) | Repetibilidad | | Reproducibilidad inter-sistema, intra-lote | | Reproducibilidad inter-sistemas, inter-lote | |
|------------|-----|-----------------------------|---------------------------|--------|--|--------|---|--------|
| | | | Desviación típica (UI/mL) | CV (%) | Desviación típica (UI/mL) | CV (%) | Desviación típica (UI/mL) | CV (%) |
| Muestra 1* | 240 | 7,6 | 0,7 | 9,5 | 1,2 | 16,0 | 2,5 | 32,6 |
| Muestra 2 | 240 | 21,5 | 1,0 | 4,4 | 1,6 | 7,5 | 1,6 | 7,7 |
| Muestra 3 | 240 | 34,2 | 1,5 | 4,2 | 2,3 | 6,6 | 3,0 | 8,6 |
| Muestra 4 | 240 | 75,1 | 2,1 | 2,8 | 4,2 | 5,6 | 4,6 | 6,1 |
| Muestra 5 | 240 | 373,5 | 9,8 | 2,6 | 21,0 | 5,6 | 24,5 | 6,6 |
| Muestra 6 | 240 | 576,8 | 16,7 | 2,9 | 31,9 | 5,5 | 31,9 | 5,5 |

* Esta muestra se encuentra por debajo del límite de detección funcional de la prueba VIDAS Anti-Tg.

Límite de detección funcional

El límite de detección funcional se define como la concentración de anticuerpos anti-Tg que se pueda medir con un CV intra-ensayo del 20%. En un estudio interno, el límite de detección funcional se determinó en 9,0 UI/mL.

Detección y límites de cuantificación

El Límite de Detección (LoD; Limit of Detection) es la concentración de anticuerpos anti-Tg en una muestra que se puede distinguir de la muestra blanco con una probabilidad del 95%. El LoD se determinó en 6,2 UI/mL.

El Límite de Cuantificación (LoQ; Limit of Quantitation) es la concentración más baja de anticuerpos anti-Tg que se pueda cuantificar con un nivel aceptable de exactitud y precisión. El LoQ se determinó en 6,4 UI/mL.

El estudio se realizó según las recomendaciones de CLSI EP17-A

VALORES ESPERADOS

Según la Directriz 33 de NACB "Intervalos de Referencia para Pruebas de Anticuerpos anti-tiroideos" (9) se procesaron 137 muestras de plasma de hombres aparentemente sanos mediante la prueba VIDAS Anti-Tg. El 98.5% (135/137) de los individuos tenían valores de anti-Tg inferiores a 18,0 UI/mL.

| n | < 7,0 UI/mL | 7,0 – 11,9 UI/mL | 12,0 – 17,9 UI/mL | 18,0 – 30,0 UI/mL |
|-----|-------------|------------------|-------------------|-------------------|
| 137 | 132 | 1 | 2 | 2 |
| % | 96,4 | 0,7 | 1,5 | 1,5 |

Se facilitan estos resultados a título orientativo. Se recomienda a cada laboratorio establecer sus propios valores de referencia sobre una población rigurosamente seleccionada, teniendo en cuenta la edad, género, situación geográfica y sus prácticas clínicas (10).

Linealidad

La prueba VIDAS Anti-Tg es lineal en el rango de medida de **6,4 a 800,0 UI/mL**, según un estudio realizado con las recomendaciones del CLSI EP6-A.

Efecto Hook

No se encontró ningún efecto Hook hasta concentraciones de anticuerpo anti-Tg : **18 000 UI/mL**

Interferencias

Interferencias de medicamentos

Siguiendo las recomendaciones de CLSI® EP7-A2, se estudiaron las interferencias potenciales con medicinas de uso común con dos concentraciones de anticuerpos anti-Tg (aproximadamente 30 UI/mL y 100 UI/mL).

| Compuesto estudiado | Ninguna interferencia significativa observada hasta una concentración de: |
|---------------------------|---|
| Acetaminofeno | 1324 µmol/L |
| Ácido acetilsalicílico | 3,62 mmol/L |
| Ibuprofeno | 2140 µmol/L |
| Heparina | 3000 UI |
| Metimazol | 129 µmol/L |
| Levotiroxina (L-tiroxina) | 1,29 µmol/L |

Interferencias vinculadas a otras enfermedades autoinmunes y a título de IgG elevados

Siguiendo las recomendaciones de CLSI EP7-A2, se estudiaron las interferencias potenciales de otras enfermedades autoinmunes y muestras de pacientes con títulos altos de IgG al sobrecargar con una alta concentración de anti-Tg (100 UI/mL aproximadamente) en muestras de pacientes que presentan estas patologías.

| Patología | Número de muestras analizadas | Interferencia significativa observada |
|--|-------------------------------|---------------------------------------|
| Anticuerpos Antinucleares | 14 | No |
| Enfermedad de Crohn | 11 | No |
| Esclerosis múltiple | 5 | Si (-8,4%) |
| Lupus Sistémico Eritematoso | 12 | No |
| Artritis reumatoide | 14 | No |
| Diabetes insulino dependiente (tipo 1) | 12 | No |
| Anticuerpos anti-CCP | 12 | Si (-25,8%) |
| Hiperglobulinemia (IgG elevada) | 7 | No |

No se analizaron las interferencias potenciales relacionadas con la colitis ulcerosa o con la presencia específica de anticuerpos anti-MPO y anti-ADN.

Interferencias vinculadas con otras fuentes de perturbación potenciales

Siguiendo las recomendaciones de CLSI EP7-A2, se estudiaron interferencias potenciales relacionadas con HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón) y el factor reumatoide (RF) al sobrecargar con una alta concentración anti-Tg (>100 UI/mL) en muestras positivas para RF y de HAMA.

| Otras sustancias potencialmente interferentes | Número de muestras analizadas | Interferencia significativa observada |
|---|-------------------------------|--|
| HAMA | 6 | No, hasta una concentración de 163,3 ng/mL |
| Factor reumatoide (FR) | 12 | Si (15,0%) |

Reactividad cruzada de anticuerpos anti-TPO

Se han estudiado las reacciones cruzadas según las recomendaciones de CLSI® EP7-A2, a dos concentraciones de anticuerpos anti-Tg (aproximadamente 30 UI/mL y 100 UI/mL) sobrecargando las muestras con una solución de anticuerpos anti-TPO de 10 000 UI/mL. No se observó ningún efecto significativo de anticuerpos anti-TPO con VIDAS Anti-Tg.

Comparación con otra prueba

Se ha comparado el rendimiento de la prueba VIDAS Anti-Tg con el de otra prueba inmunológica comercializada. Durante este estudio, se analizaron 452 muestras procedentes de una población de pacientes que presentaban alteraciones en la función tiroidea para los cuales se prescribió una valoración de anticuerpos antitiroideos. Entre esta población, 258 pacientes presentaron una enfermedad tiroidea auto-inmune (enfermedad de Graves (Basedow) o tiroidismo de Hashimoto).

Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla y las concordancias se calcularon con sus intervalos de confianza del 95% asociados :

| | Otra prueba anti-Tg | | Total | |
|------------------------------|-------------------------------|--------------------|-------|----------------------|
| | Positivo | Negativo | | |
| VIDAS Anti-Tg | Positivo ($\geq 18,0$ UI/mL) | 278 | 7 | 285 |
| | Negativo ($<18,0$ UI/mL) | 41 | 126 | 167 |
| | Total | 319 | 133 | 452 |
| | | % | | [IC _{95%}] |
| Concordancia positiva | | 87,2% (278/319) | | [83,0% – 90,6%] |
| Concordancia negativa | | 94,7% (126/133) | | [89,5% – 97,9%] |
| Concordancia global | | 89,4% (404/452) | | [86,2% – 92,1%] |

Entre las 48 muestras discordantes, 22 (46%) se encontraban en un intervalo del 20% entorno al umbral de otra prueba. Además, el 41,7% procedían de pacientes que presentan una tiroiditis de Hashimoto, el 31,3% procedían de pacientes que presentan una enfermedad de Graves (Basedow) y el 27,1% procedían de valoraciones de rutina.

Sensibilidad clínica

Se ha evaluado la sensibilidad clínica de la prueba VIDAS Anti-Tg. Durante este estudio, se analizaron, 136 muestras de pacientes afectados de tiroidismo de Hashimoto y 131 muestras de pacientes afectados de la enfermedad de Graves (Basedow). Se resumen los datos de este estudio en la siguiente tabla:

| | N | Número de muestras positivas | % de positivos | [IC _{95%}] |
|---------------------------------------|-----|------------------------------|----------------|----------------------|
| Tiroidismo de Hashimoto | 136 | 116 | 85,3% | [78,2% – 90,8%] |
| Enfermedad de Graves (Basedow) | 131 | 96 | 73,3% | [64,8% – 80,6%] |

ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Eliminar tanto los reactivos usados o no utilizados, así como los materiales desechables contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DEGROOT LJ., LARSEN PR., HENNEMANN G. editors. Thyroid hormone synthesis and secretion. In: The Thyroid and its Diseases 6th edition. New York: Churchill Livingstone; 1996:45-8.
- LARSEN PR., INGBAR SH. The thyroid gland. In: Wilson JD, Foster DW, editors. Williams textbook of endocrinology. 8th ed. Philadelphia: W.B. Sanders, 1992: 357-487.
- RUF J., FELDT-RASMUSSEN U., HEGEDÜS L. et al. Bispecific thyroglobulin and thyroperoxidase autoantibodies in patients with various thyroid and autoimmune diseases. J Clin Endocrinol Metab 1994;79(5):1404-9.
- SCHERBAUM WA. On the clinical importance of thyroid microsomal and thyroglobulin antibody determination. Acta Endocrinol (Copenh) 1987;S281:325-9.
- FELDT-RASMUSSEN U., RASMUSSEN ÅK. Serum thyroglobulin (Tg) in presence of thyroglobulin autoantibodies (TgAb). Clinical and methodological relevance of the interaction between Tg and TgAb in vitro and in vivo. J Endocrinol Invest 1985;8:571-6.
- SCHAADT B., FELDT-RASMUSSEN U., RASMUSSEN B. et al. Assessment of the influence of thyroglobulin (Tg) autoantibodies and other interfering factors on the use of serum Tg as tumor THYROID 1995;5(3):165-170.
- ROSENBAUM D., DAVIES TF. The clinical use of thyroid autoantibodies. The Endocrinologist 1992;2(1):55-62.
- MARIOTTI S., CHIOVATO L., FRANCESCHI C. et al. Thyroid autoimmunity and aging. Exp Gerontol 1998;33(6):535-41.
- DEMERS L., SPENCER C. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Laboratory Support for the Diagnosis of thyroid Disease – Volume 13/2002.
- LA'ULU S., SLEV P., ROBERTS W. Performance characteristics of 5 automated thyroglobulin autoantibody and thyroid peroxidase autoantibody assays. Clinica Chimica Acta. 2007; 376:88-95.

TABLA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|---|--|
|  | Número de catálogo |
|  | Producto sanitario para diagnóstico in vitro |
|  | Fabricante |
|  | Límite de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |
|  | Código de lote |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |
|  | Fecha de fabricación |

HISTÓRICO DE REVISIONES

Categoría de tipo de cambio :

| | |
|----------------|---|
| N/A | No aplica (primera modificación) |
| Corrección | Corrección de anomalías en la documentación |
| Cambio técnico | Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto |
| Administrativo | Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario. |

Nota : *Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales, y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.*

| Fecha de publicación | Versión | Tipo de cambio | Resumen de cambios |
|----------------------|----------|----------------|---|
| 2015/01 | 9300917D | Administrativo | TABLA DE SÍMBOLOS HISTÓRICO DE REVISIONES |
| | | Cambio técnico | COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (30 PRUEBAS) PRECAUCIONES DE USO |
| 2015/06 | 9300917E | Cambio técnico | COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (30 PRUEBAS) MODO OPERATIVO |

BIOMERIEUX, el logo de BIOMERIEUX, SPR y VIDAS son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux, o a cada una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

CLSI es una marca registrada que pertenece a Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

El resto de marcas y nombres de productos mencionados pertenecen a sus propietarios respectivos.

VIDAS[®] Anti-TPO (ATPO)

VIDAS Anti-TPO es un ensayo inmunoenzimático automatizado cuantitativo para utilizar en los instrumentos de la familia VIDAS que permite la detección de anticuerpos de tipo IgG de peroxidasa tiroidea (anti-TPO) en suero o plasma humano con la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). La prueba VIDAS Anti-TPO está destinada a la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad tiroidea autoinmune.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO DE LA PRUEBA

A menudo los trastornos de la glándula tiroidea están causados por reacciones autoinmunes, debido a la producción de autoanticuerpos.

La peroxidasa tiroidea (TPO) es una enzima glicoprotéica ligada a la membrana con una masa aproximada de 107 kDa. Se compone de un gran dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio corto intracelular. El TPO, localizado en la membrana apical de la célula folicular del tiroides, cataliza la iodación de los residuos de la tirosina en tiroglobulina durante la biosíntesis de T3 y T4 (1).

Las altas concentraciones séricas de anticuerpos anti-TPO se encuentran en personas con tiroiditis basada en la autoinmunidad. Se encuentran títulos altos de anti-TPO de hasta el 90% de pacientes con tiroiditis de Hashimoto crónico (2, 3). En la enfermedad de Graves (de Basedow), el 70% de los pacientes tiene un título elevado (4, 3).

Aunque la sensibilidad del método pueda incrementarse al determinar simultáneamente los anticuerpos tiroideos adicionales (anti-Tg: anticuerpo anti-tiroglobulina), un resultado negativo de la prueba no descarta definitivamente la presencia de una enfermedad autoinmune.

El nivel del título de anticuerpos no tiene correlación con la actividad clínica de la enfermedad. Los títulos inicialmente elevados pueden volverse normales tras períodos muy largos de la enfermedad o durante su remisión. Si los anticuerpos reapareciesen tras la remisión, resulta probable una recaída (1 - 8).

La detección de anti-TPO es una ayuda en el diagnóstico de enfermedades tiroideas autoinmunes. Facilita al médico diferenciar los trastornos tiroideos autoinmunes del bocio no autoinmune o el hipotiroidismo.

Se detectan anticuerpos anti-TPO en la mayoría de los casos de tiroiditis posparto y se ha encontrado la presencia de autoanticuerpos en los primeros meses del embarazo asociada con un alto riesgo de hipotiroidismo postparto asintomático (9 - 11).

Con frecuencia se localizan anticuerpos anti-TPO en pacientes con otras enfermedades autoinmunes tales como Artritis Reumatoide, la Enfermedad de Addison y la Diabetes Tipo 1 (12 - 13).

También se detectan a niveles bajos en hasta el 20% de los individuos asintomáticos, en particular en los ancianos, y con mayor frecuencia en mujeres que en hombres, aunque no se explica por completo la importancia clínica de estos autoanticuerpos (14 - 15).

PRINCIPIO

El principio de determinación asocia un método inmunoenzimático de dos pasos por competición con una detección final por fluorescencia (ELFA).

El cono (SPR[®]) desechable sirve a la vez de fase sólida y como sistema de pipeteo. Los otros reactivos de la prueba inmunológica, están listos para su empleo y previamente repartidos en los cartuchos sellados.

El instrumento realiza automáticamente todas las etapas del análisis. Estas etapas consisten en una sucesión de ciclos de aspiración/expulsión del medio de reacción.

Tras el lavado preliminar y los pasos de dilución de la muestra, los anticuerpos anti-TPO presentes en la muestra se unirán a la proteína recombinante que recubre el interior del cono.

Los componentes no unidos se eliminan durante un ciclo de lavado. Los anticuerpos IgG anti-humanos conjugados con fosfatasa alcalina se unen al complejo inmune que recubre el interior del cono.

La etapa de lavado final elimina el conjugado en exceso. Durante el paso de detección final, el sustrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) se aspira y se expulsa del cono. La enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida se mide a 450 nm. El valor de la señal de fluorescencia es inversamente proporcional a la concentración de anticuerpos anti-TPO presentes en la muestra.

Al final de la prueba, el instrumento calcula los resultados automáticamente con relación a una curva de calibración memorizada, y después los imprime.

COMPOSICIÓN DEL EQUIPO (30 PRUEBAS):

| | | |
|---|------|--|
| 30 cartuchos ATPO | STR | Listos para su empleo. |
| 30 conos ATPO 1 x 30 | SPR® | Listos para su empleo. Conos sensibilizados con TPO recombinante. |
| Control Positivo ATPO 1 x 2,5 ml | C1 | Listo para su empleo. IgG anti-TPO monoclonal en tampón fosfato pH 7.2 + estabilizante de proteína + conservantes. Los datos MLE indican el intervalo de confianza en IU/mL ("Control C1 (+) Dose Value Range"). |
| Calibrador ATPO 1 x 2,5 ml | S1 | Listo para su empleo. IgG anti-TPO monoclonal en tampón fosfato pH 7.2 + estabilizante proteico + conservantes. Los datos MLE indican la concentración en IU/mL ("Calibrador (S1) Dose Value") y el intervalo de confianza en "Relative Fluorescence Value" ("Calibrador (S1) RFV Range"). |
| Especificaciones de los datos de fabricación necesarias para la calibración de la prueba: | | |
| <ul style="list-style-type: none"> Datos MLE (Master Lot Entry) suministrados en el equipo, | | |
| o | | |
| <ul style="list-style-type: none"> Código de barras MLE impreso en la etiqueta del envase. | | |
| 1 Ficha técnica suministrada en el equipo o a descargar en www.biomerieux.com/techlib . | | |

El cono

El cono se sensibiliza en el momento de su fabricación por absorción de TPO recombinante. Cada cono se identifica por su código "ATPO". Sacar de la bolsa sólo el número de conos necesarios y **cerrar correctamente la bolsa tras su apertura**.

El cartucho

El cartucho está compuesto por 10 pocillos cerrados mediante un sello de aluminio con etiqueta. Dicha etiqueta incluye un código de barras que contiene principalmente el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad del envase. El primer pocillo está perforado para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo es una cubeta que permite la lectura por fluorimetría. Los pocillos de la sección central contienen varios reactivos necesarios para la prueba.

Descripción del cartucho ATPO

| Pocillo | Reactivos |
|-----------|---|
| 1 | Pocillo de muestra. |
| 2 | Diluyente de la muestra: Tampón fosfato + NaCl pH 7.2 + estabilizante proteico + conservante (600 µL). |
| 3 - 4 - 5 | Tampón de lavado: Tampón TRIS + NaCl + Tween pH 7.8 + conservante (600 µL). |
| 6 | Conjugado: tampón fosfato + NaCl pH 6.1 + neutralizantes + estabilizantes proteicos y químicos + conservante + anticuerpos IgG anti-humanos conjugados con fosfatasa alcalina (400 µL). |
| 7 - 8 | Tampón de lavado TRIS buffer + NaCl + Tween pH 7.8 + conservante (600 µL). |
| 9 | Pocillo vacío. |
| 10 | Cubeta de lectura con sustrato: 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l)+ dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/L, es decir, 6,6%, pH 9,2) + 1 g/L ázida sódica (300 µL). |

* Palabra de advertencia : **PELIGRO**

**Indicación de peligro**

H318 : Provoca lesiones oculares graves.

Consejo de prudencia

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305 + P351 + P338 : EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Para más información, consulte la ficha de seguridad.

MATERIALES Y DESECHABLES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Pipeta con puntas desechables para distribuir 100 µL.
- Guantes desechables sin talco.
- Para otros materiales y desechables específicos, consultar el Manual de Usuario del instrumento.
- Instrumento de la familia VIDAS.

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Únicamente para diagnóstico *in vitro*.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- Este envase contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos: (no ingerir, ni inhalar).
- No utilizar los conos cuya bolsa esté dañada.
- No utilizar los cartuchos visiblemente alterados (lámina de aluminio o plástico dañados).
- No emplear los reactivos pasada su fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- No mezclar reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.
- No utilizar **guantes con talco**, ya que este producto puede motivar falsos resultados en ciertos análisis inmunoenzimáticos.
- Los reactivos del envase contienen ázida sódica susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre formando nitratos metálicos explosivos. Se recomienda enjuagar con abundante agua en el caso de verter cualquier líquido que contenga ázida sódica por los desagües para evitar una acumulación.
- El tampón de lavado del pocillo 10 contiene un agente nocivo (dietanolamina). Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas a continuación.
- Las salpicaduras deben limpiarse con un líquido detergente o una solución de lejía, que contenga al menos un 0,5% de hipoclorito sódico. Consultar el Manual de Usuario para eliminar los derramamientos producidos sobre o en el interior del instrumento. No procesar en autoclave el objeto tratado con lejía.
- El instrumento debe limpiarse y desinfectarse con regularidad (consultar el Manual de Usuario).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- Conservar el envase VIDAS Anti-TPO a 2-8°C.
- **No congelar los reactivos.**
- **Mantener los reactivos no utilizados a 2-8°C.**
- Al abrir el envase, verificar su integridad y el buen cierre de la o las bolsas de conos, y en caso contrario, no utilizar los mismos.
- **Después de cada utilización, volver a cerrar cuidadosamente la bolsa con su deshidratante, para mantener la estabilidad de los conos, y volver a guardar el envase a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta siempre que se hayan conservado según las condiciones recomendadas.

MUESTRAS

Naturaleza y toma de las muestras:

Suero o plasma humano

Tipos de tubos validados:

- Tubo simple,
- Tubo con heparina de litio,
- Tubo con heparina de litio y gel de separación,
- Tubo de plástico con activador de coágulo,
- Tubo de plástico con activador de coágulo y gel de separación,
- Tubo de EDTA.

Nota: Los resultados de los tubos de extracción sanguínea pueden variar de un fabricante a otro según los materiales y aditivos usados.

Cada laboratorio es responsable de validar el tipo de tubo de muestra que use y debe seguir las recomendaciones de uso del fabricante.

Preparación de las muestras

Tubos sencillos: espere hasta que las muestras coagulen **y centrifugar** según las recomendaciones del fabricante de tubo para eliminar la fibrina.

Otros tubos: siga las recomendaciones de uso del fabricante.

Muestras conservadas congeladas: tras su descongelación, deben homogeneizarse todas estas muestras antes de realizar las pruebas. Homogeneizar bien con la ayuda de un agitador tipo Vórtex. Clarificar las muestras por centrifugación antes, si fuera necesario.

Interferencias relacionadas con la muestra

Se estudiaron las interferencias según las recomendaciones del CLSI® EP7-A2.

No se ha observado que ninguno de los siguientes factores tenga influencia significativa en esta prueba:

- hemólisis (después de sobrecargar las muestras con hemoglobina: de 0 a 300 µmol/L [monómero]),
- la lipemia, (después de sobrecargar las muestras con lípidos de 0 a 30 g/L de equivalente en triglicéridos),
- la bilirrubinemia (después de sobrecargar las muestras con bilirrubina hasta 510 µmol/L),
- albúmina humana: (después de sobrecargar las muestras con albúmina humana hasta 60 g/L).

Sin embargo, se recomienda no utilizar muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictericas y llevar a cabo, caso de ser posible, una nueva toma de muestras.

Estabilidad de las muestras

Las muestras de suero y plasma pueden conservarse hasta 8 horas a 18-25°C en tubos con tapón o a 2-8°C hasta un máximo de 7 días; si se requiere una conservación más larga, congelar el suero o plasma a -25 ± 6 °C.

No congelar el suero más de 3 veces.

Un estudio realizado sobre muestras congeladas durante 6 meses mostró que la calidad de los resultados no resultara afectada.

MODO OPERATIVO

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización.

Lectura de los datos del protocolo VIDAS® PTC (Protocol Test Change) y de los datos MLE

Durante el primer uso de la prueba :

Con la ayuda del lector de código de barras externo del instrumento,

1. Leer el(los) código(s) de barra(s) PTC situado(s) al final de la ficha técnica o descargar en www.biomerieux.com/techlib.

Esta lectura permite registrar los datos del protocolo VIDAS® PTC en el programa del instrumento para su actualización.

2. Leer los datos MLE situados en la etiqueta del envase.

Nota : si los datos MLE se han leído antes del protocolo VIDAS® PTC, volver a leer los datos MLE.

Cuando se usa un nuevo lote de reactivos :

Introducir las especificaciones (o datos de fabricación) en el instrumento con la ayuda de los datos MLE.

Si esta operación no se ha efectuado antes de comenzar las pruebas, el instrumento no podrá editar resultados.

Nota : estas especificaciones solo se introducen una vez para cada lote.

Es posible introducir los datos MLE manualmente o de forma automática según el instrumento (consultar el Manual de Usuario).

Calibración

La calibración, que se realiza con la ayuda del calibrador incluido en el equipo, debe efectuarse cuando se abra un nuevo lote después de introducir las especificaciones del mismo y de forma regular cada 28 días. Esta operación permite ajustar la calibración a cada aparato y a la evolución eventual del reactivo en el tiempo.

El calibrador, identificado por "S1", será analizado **en duplicado** (ver Manual de Usuario). El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV "Relative Fluorescence Value" fijados.

El calibrador está estandarizado frente al estándar internacional NIBSC 66/387.

Procedimiento

1. **Sacar únicamente los reactivos que se vayan a usar. Se pueden usar de forma inmediata.**
2. Utilice un cartucho "ATPO" y un cono "ATPO" para cada muestra, control o calibrador que se vaya a analizar. **Verificar que la bolsa de los conos está bien cerrada después de cada utilización.**
3. La prueba se identifica con el código "ATPO" en el instrumento. El calibrador se identificará obligatoriamente como "S1", y debe analizarse **en duplicado**. Si se analiza el control, será identificado como "C1".
4. Si fuera necesario, clarificar las muestras mediante centrifugación.
5. Homogeneizar bien con la ayuda de un agitador tipo Vórtex, el calibrador, el control y las muestras (para el suero o plasma separado del sedimento).
6. **Para esta prueba, el volumen de muestra, de control y de calibrador es 100 µL.**
7. Introduzca los conos "ATPO" y cartuchos "ATPO" en el instrumento. Verificar bien la concordancia de las etiquetas de color con el código de la prueba en los conos y cartuchos.

8. Iniciar el análisis como se indica en el Manual de Usuario. Todas las etapas son controladas automáticamente por el aparato.
9. Volver a cerrar los viales y tras el pipeteado ponerlos de nuevo a 2–8 °C.
10. La duración de la prueba es de **unos 25 minutos**. Al final del análisis, retirar los conos y los cartuchos del instrumento.
11. Eliminar los conos y los cartuchos usados en un recipiente apropiado.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Una vez finalizado el análisis, el sistema informático calcula automáticamente los resultados. El aparato realiza dos medidas de fluorescencia en el pocillo de lectura para cada análisis.

La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta de sustrato antes de que se ponga en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con la enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Relative Fluorescence Value) es el resultado de la diferencia de las dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados.

Los resultados se calculan automáticamente por el instrumento con relación a una curva de calibración memorizada (modelo matemático: modelo logístico de 4 parámetros) y se expresan en IU/mL (IU = International Units).

Se pueden volver a ensayar las muestras con títulos de anticuerpos anti-TPO superiores a 1000,0 IU/mL tras la dilución de 1/10 en suero negativo humano (1 volumen de muestra + 9 volúmenes de suero humano negativo para anticuerpos anti-TPO).

La dilución lineal podría no ser posible para algunas muestras a causa de la diversidad de las propiedades fisicoquímicas de los anticuerpos.

En caso de no introducir el factor de dilución al crear la Lista de Trabajo (consultar el Manual de Usuario), multiplique el resultado por el factor de dilución para conseguir la concentración de la muestra.

Aproximadamente el 20% de las muestras asintomáticas podrían tener autoanticuerpos anti-TPO, lo que refleja el predominio en poblaciones aparentemente sanas. El predominio de anti-TPO también se ve alterado por la edad, género y región geográfica de la población seleccionada.

Como parte del diagnóstico de la enfermedad tiroidea, se deben interpretar los resultados de la prueba teniendo en cuenta el historial del paciente y los resultados de cualquier otra prueba que se haya realizado.

CONTROL DE CALIDAD

Cada envase de VIDAS Anti-TPO incluye un control positivo.

Dicho control debe ser utilizado al abrir cada nuevo lote con el fin de comprobar la ausencia de alteraciones en los reactivos. Cada calibración debe ser igualmente verificada con la ayuda de este control. Para que el equipo pueda verificar el valor del control, es necesario identificarle como C1.

Si el valor del control se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados.

Nota

Es responsabilidad del usuario el comprobar que el control de calidad se ha realizado conforme a la legislación local en vigor.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Puede producirse una interferencia entre ciertos sueros que contengan anticuerpos dirigidos contra componentes del reactivo. Por este motivo, los resultados de esta prueba deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otros análisis.

VALORES ESPERADOS

Según la Directriz 33 de NACB "Intervalos de Referencia para Pruebas de Anticuerpos de Tiroides" (16) se procesaron 145 muestras de suero de hombres aparentemente sanos mediante la prueba VIDAS Anti-TPO.

El 97,9% (142/145) de los individuos tenían valores de **anti-TPO inferiores a 8,0 IU/mL**.

| n | < 2,0 IU/mL | 2,0 - 3,9 IU/mL | 4,0 - 7,9 IU/mL | 8,0 - 12,0 IU/mL |
|-----|----------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| 145 | 132 | 8 | 2 | 3 |
| % | 91,0 | 5,5 | 1,4 | 2,1 |

Se facilitan estos resultados a título orientativo. Se recomienda a cada laboratorio establecer sus propios valores de referencia sobre una población rigurosamente seleccionada, teniendo en cuenta la edad, género, situación geográfica y sus prácticas clínicas (17).

PRESTACIONES

Los estudios sobre las prestaciones de la prueba VIDAS Anti-TPO han dado los siguientes datos:

Rango de medida

El rango de medida de la prueba VIDAS Anti-TPO se extiende desde 0,8 a 1000,0 IU/mL.

Precisión

Se llevó a cabo un estudio siguiendo el CLSI® EP5-A2. Se analizaron en duplicado seis muestras de suero humano a dos horas diferentes cada día a lo largo de 20 días, usando dos lotes de reactivos, en tres instrumentos, en dos centros (N=240).

Para cada lote de reactivos se usaron dos curvas de calibración durante el estudio. Se resumen los datos de este estudio en la siguiente tabla.

| Muestra | N | Concentración media (IU/mL) | Repetibilidad | | Reprod. intralote – sistema intralote | |
|-----------|-----|--------------------------------|------------------------------|--------|---------------------------------------|--------|
| | | | Desviación típica (IU/mL) | CV (%) | Desviación típica (IU/mL) | CV (%) |
| Muestra 1 | 240 | 4,7 | 0,1 | 3,0 | 0,2 | 4,3 |
| Muestra 2 | 240 | 10,2 | 0,2 | 2,3 | 0,4 | 3,6 |
| Muestra 3 | 240 | 22,4 | 0,5 | 2,4 | 0,9 | 4,0 |
| Muestra 4 | 240 | 64,3 | 1,9 | 2,9 | 2,8 | 4,4 |
| Muestra 5 | 240 | 387,9 | 11,2 | 2,9 | 23,8 | 6,1 |
| Muestra 6 | 240 | 605,6 | 23,9 | 3,9 | 45,2 | 7,5 |

La determinación VIDAS Anti-TPO ha sido desarrollada para obtener una reproducibilidad $\leq 12\%$ (CV total) para las muestras que se encuentren en el umbral.

Límite de detección funcional

El límite de detección funcional se define como la concentración anti-TPO que se pueda medir con un CV intra-ensayo del 20%. En un estudio interno, el límite de detección funcional se determinó en 1,9 IU/mL.

Detección y límites de cuantificación

El Límite de Detección (LoD; Limit of Detection) es la concentración de anticuerpos anti-TPO en una muestra que se pueda distinguir de la muestra en blanco con una probabilidad del 95%. El LoD se determinó en 0,6 IU/mL.

El Límite de Cuantificación (LoQ; Limit of Quantitation) es la concentración más baja de anticuerpos anti-TPO que se pueda cuantificar con un nivel aceptable de exactitud y precisión. El LoQ se determinó en 0,8 IU/mL.

El estudio se realizó según las recomendaciones de CLSI EP17-A.

Linealidad

La prueba VIDAS Anti-TPO es lineal dentro de la gama estudiada (**2,4 a 1000,0 IU/mL**), basado en un estudio según el CLSI EP6-A.

Efecto Hook

No se encontró ningún efecto Hook hasta concentraciones de anticuerpo anti-TPO de **27 000 IU/mL**.

Interferencias**Interferencias de medicamentos**

Siguiendo las recomendaciones de CLSI® EP7-A2, se ensayaron las interferencias potenciales con medicinas de uso común con dos concentraciones anti-TPO (aproximadamente de 10 IU/mL y 100 IU/mL).

| Compuesto estudiado | Ninguna interferencia significativa observada hasta una concentración de: |
|----------------------------|--|
| Acetaminofeno | 1324 µmol/L |
| Ácido acetilsalicílico | 3.44 mmol/L |
| Ibuprofeno | 2425 µmol/L |
| Heparina | 3000 IU |
| Metimazol | 129 µmol/L |
| Levotiroxina (L-tiroxina) | 1,29 µmol/L |

Interferencias vinculadas a otras enfermedades autoinmunes y a IgG de alto título

Siguiendo las recomendaciones de CLSI EP7-A2, se estudiaron las interferencias potenciales de otras enfermedades autoinmunes y muestras de pacientes con títulos altos de IgG al sobrecargar a una alta concentración de anti-TPO (100 IU/mL aproximadamente) en muestras típicas de estas patologías.

| Estado Clínico | Número de muestras analizadas | Interferencia significativa observada |
|--|--------------------------------------|--|
| Anticuerpo Antinuclear | 12 | Ninguna |
| Enfermedad de Crohn | 12 | Ninguna |
| Esclerosis múltiple | 5 | Ninguna |
| Lupus Sistémico Eritematoso | 13 | Ninguna |
| Artritis reumatoide | 14 | Ninguna |
| Anticuerpo Anti-CCP | 14 | Ninguna |
| Hiperglobulinemia (IgG alto) | 9 | Ninguna |
| Diabetes Mellitus dependiente de Insulina (tipo 1) | 10 | Sí (-8,7%) |

No se analizaron las interferencias potenciales relacionadas con la colitis ulcerosa o con la presencia específica de anticuerpos anti-MPO y anti-ADN.

Interferencias vinculadas con otras fuentes de perturbación potenciales

Siguiendo las recomendaciones de CLSI EP7-A2, se ensayaron interferencias potenciales de HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón) y el factor reumatoide (RF) al sobrecargar una alta concentración anti-TPO (>100 IU/mL) en muestras positivas RF y de HAMA.

| Otras fuentes de perturbación potenciales | Número de muestras analizadas | Ninguna interferencia significativa observada hasta una concentración de: |
|--|--------------------------------------|--|
| HAMA | 6 | 163,3 ng/mL |
| Factor reumatoide | 12 | 908 IU/mL |

Reactividad cruzada de anticuerpos anti-Tg

Siguiendo las recomendaciones de CLSI EP7-A2, se estudió la reactividad cruzada en dos concentraciones anti-TPO (10 IU/mL y 100 IU/mL aproximadamente) al sobrecargar muestras con una solución de anticuerpos anti-Tg de 10.000 IU/mL. No se observó ningún efecto significativo de anticuerpos anti-Tg con VIDAS Anti-TPO.

Comparación con otra prueba

Se compararon las prestaciones de VIDAS Anti-TPO con otro inmunoensayo disponible en el mercado. Durante dicho estudio, se estudiaron 449 muestras de una población de pacientes con la enfermedad tiroidea y para quienes no se había recetado ninguna prueba de anticuerpos antitiroideos. Entre esta población, 255 pacientes presentaron una enfermedad tiroidea autoinmune (enfermedad de Graves (enfermedad de Basedow) o tiroiditis de Hashimoto).

En la siguiente tabla se resumen los datos de este estudio y la concordancia se calculó para el intervalo de confianza del 95%:

| | Otro ensayo anti-TPO | | Total | |
|------------------------------|------------------------------|--------------------|-------|-----------------|
| | Positivo | Negativo | | |
| VIDAS Anti-TPO | Positivo ($\geq 8,0$ IU/mL) | 310 | 3 | 313 |
| | Negativo ($< 8,0$ IU/mL) | 15 | 121 | 136 |
| | Total | 325 | 124 | 449 |
| | | % | | [95% CI] |
| Concordancia positiva | | 95,4% (310/325) | | [92,5% – 97,4%] |
| Concordancia negativa | | 97,6% (121/124) | | [93,1% – 99,5%] |
| Concordancia total | | 96,0% (431/449) | | [93,7% – 97,6%] |

Entre las 18 muestras discordantes, el 16,7% procedían de pacientes que presentan una tiroiditis de Hashimoto, el 33,3% procedían de pacientes que presentan una enfermedad de Graves (Basedow) y el 50,0% procedían de valoraciones de rutina

Sensibilidad clínica

Se evaluó la sensibilidad clínica de la prueba VIDAS Anti-TPO. Durante este estudio, se ensayaron 134 muestras de pacientes que sufren de tiroiditis de Hashimoto y 130 muestras de pacientes que sufren la enfermedad de Graves (enfermedad de Basedow). Se resumen los datos de este estudio en la siguiente tabla:

| | N | Número de muestras positivas | % Positivo | [95% CI] |
|---|-----|------------------------------|------------|-----------------|
| Tiroiditis de Hashimoto | 134 | 129 | 96,3% | [91,5% – 98,8%] |
| Enfermedad de Graves (Enfermedad de Basedow) | 130 | 114 | 87,7% | [80,8% – 92,8%] |

ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Eliminar tanto los reactivos usados como los no utilizados, así como los materiales desechables contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos. Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DEGROOT LJ., NIEPOMNISZCZE H. Biosynthesis of thyroid hormone: basic and clinical aspects. *Metabolism* 1977;26(6):665-718.
- GUTEKUNST R. Hashimoto-Thyreoiditis: Diagnostik und Verlaufskontrolle. In: Börner W, Weinheimer B (Eds): *Schilddrüse* 1989. Walter de Gruyter, Berlin, New York 1991;348-355.
- MAYER A. ET ORGIAZZI J. Auto-immunité thyroïdienne humaine. *La Thyroïde* 2eme edition 2001; 224-233.
- PFANNENSTIEL P., SALLER B. *Schilddrüsenkrankheiten – Diagnose und Therapie*, 2e édition. Berliner Medizinische Verlagsanstalt 1995; 28-30,141,169-172, 200-201.
- MCINTOSH RS., ASGHAR MS., WEETMAN AP. The antibody response in human autoimmune thyroid disease. *Clin Sci* 1997;6(92):529-541.
- VOLPÉ R. Rational Use of Thyroid Function Tests. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1997;34(5):405-438.
- FELDT-RASMUSSEN U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996;42(1):160-163.
- UTIGER RD. The pathogenesis of autoimmune thyroid disease. *N Eng J Med* 1991;325:278-279.
- DAVIES TF, WEISS I. Autoimmune thyroid disease and pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1981;1:187-92.

10. AMINO N., YABU Y., MIKI T., et al. Serum ratio of triiodothyronine to thyroxine and thyroxine-binding globulin and calcitonin concentrations in Graves' disease and destruction-induced thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;53(1):113-6.
11. GLINOER D. The systematic screening and management of hypothyroidism and hyperthyroidism during pregnancy. *TEM* 1998;9(10):403-11.
12. CHANG C-C, HUANG C-N, CHUANG L-M. Autoantibodies to thyroid peroxidase in patients with type I diabetes in Taiwan. *Eur J Endocrinol* 1998;139:44-8.
13. SCHERBAUM WA. On the clinical importance of thyroid microsomal and thyroglobulin antibody determination. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1987;S281:325-9.
14. ROSENBAUM D., DAVIES TF. The clinical use of thyroid autoantibodies. *The Endocrinologist* 1992;2(1):55-62.
15. MARIOTTI S., CHIOVATO L., FRANCESCHI C. et al. Thyroid autoimmunity and aging. *Exp Gerontol* 1998;33(6):535-41.
16. DEMERS L., SPENCER C. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Laboratory Support for the Diagnosis of thyroid Disease – Volume 13/2002.
17. LA'ULU S., SLEV P., ROBERTS W. Performance characteristics of 5 automated thyroglobulin autoantibody and thyroid peroxidase autoantibody assays. *Clinica Chimica Acta*. 2007; 376:88-95

TABLA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|---|--|
|  | Número de catálogo |
|  | Producto sanitario para diagnóstico in vitro |
|  | Fabricante |
|  | Límite de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |
|  | Código de lote |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |
|  | Fecha de fabricación |

HISTÓRICO DE REVISIONES

Categoría de tipo de cambio :

| | |
|----------------|---|
| N/A | No aplica (primera modificación) |
| Corrección | Corrección de anomalías en la documentación |
| Cambio técnico | Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto |
| Administrativo | Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario. |

Nota : *Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales, y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.*

| Fecha de publicación | Versión | Tipo de cambio | Resumen de cambios |
|----------------------|----------|----------------|--|
| 2015/01 | 9300916E | Administrativo | TABLA DE SÍMBOLOS HISTÓRICO DE REVISIONES |
| | | Cambio técnico | COMPOSICIÓN DEL EQUIPO (30 PRUEBAS) PRECAUCIONES DE USO |
| 2015/06 | 9300916F | Cambio técnico | COMPOSICIÓN DEL EQUIPO (30 PRUEBAS) MODO OPERATIVO |

BIOMERIEUX, el logo de BIOMERIEUX, SPR y VIDAS son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux, o a cada una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

CLSI es una marca registrada que pertenece a Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

El resto de marcas y nombres de productos mencionados pertenecen a sus propietarios respectivos.