

## EL CONTROL DE CALIDAD INTERNO Y EXTERNO EN LAS DETERMINACIONES DE LAS HORMONAS TIROIDEAS.

Rodríguez S.,\* Richmond M.,\* González L.,\* Sáenz E.,\*

### RESUMEN

Motivados por el desarrollo exitoso del Programa ARCAL VIII del Organismo Internacional de Energía Atómica, se propuso evaluar la función tiroidea en la población adulta sana, aún no evaluada, mediante las determinaciones de T3, T4 utilizando un radioinmunoanálisis (RIA) de segundo anticuerpo y para la TSH un ensayo radioinmunométrico (IRMA) sensible. La evaluación de los parámetros de control de Calidad Interno (CCI) y externo (CCE) en estas determinaciones fue el principal objetivo en este estudio.

Los datos señalan que la variabilidad interensayo en los 25 análisis realizados durante este período fue de 6,93 para TSH, 6,22 para T4, y 5,67 para T3. Además, los resultados del programa nacional de intercomparación de datos a nivel regional para el RIA de las Hormonas Tiroideas (CCE), puede reportar que la variabilidad obtenida fue de 19,3, 18 y 20,5 para T3, T4, TSH, respectivamente. Estos resultados son correctos, de acuerdo a los criterios de aceptabilidad sugeridos por el Joint Steering Committee para hormonas peptídicas.

---

\*(Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), Apto 4-2250. Tres Ríos, Cartago, Costa Rica.

### INTRODUCCION

Las alteraciones en la secreción de las hormonas tiroideas conllevan una amplia variedad de modificaciones metabólicas. En aquellos casos, en que existen anomalías discretas en la concentración de las hormonas tiroideas de difícil diagnóstico, el laboratorio ofrece un importante recurso (1-7). El médico puede seleccionar la prueba óptima dentro de una amplia gama, pues no existe una única prueba para todas las situaciones clínicas. Como es sabido, la determinación de T4 (tiroxina), y de T3 (triiodotironina), hormonas secretadas por la glándula constituyen un buen índice para detectar la función tiroidea. Son estas las iodotironinas más activas y biológicamente responsables de casi todo el efecto metabólico atribuido a la actividad tiroidea. La T3 y la T4 circulan en el suero humano unidas a proteínas en un 99,9% (8,9).

La síntesis y liberación de T3 y T4, se encuentra regulada por la hormona estimulante de la glándula tiroides TSH (7,8), que es esencial para la función tiroidea normal, y ejerce un control hipofisiario muy sensible que mantiene la concentración de hormonas dentro de un intervalo limitado (10,11). La T3 y T4 circulantes ejercen retroalimentación negativa sobre la secreción de TSH y sobre el tripéptido hipotalámico piroglutamil-histidil-prolinamida (TRH) que estimula la secreción de la TSH (7). Por lo

tanto, los niveles aumentados de TSH llevan a cantidades disminuidas de T3 y T4 en la circulación.

Hoy día el tamizaje de las enfermedades tiroideas se fundamenta en la determinación de T3 y T4 libres y un TSH ultrasensible TSH-IRMA, ensayo inmunoradiométrico (12,13).

Las determinaciones de T3 y T4 libres son claramente los indicadores más sensibles de hipotiroidismo. La estrategia que utiliza la determinación del TSH es muy útil para referir desórdenes endocrinos. Es una prueba de primera línea para individuos con T4 total normal y de TSH normal o ligeramente aumentado, posible reflejo de un hipotiroidismo subclínico y que debe ser diferenciado de un hipotiroidismo primario y un hipertiroidismo en pacientes eutiroideos en una población general (14,15).

Debe reiterarse que el hecho de que no existe en esta clase de patologías, una prueba sencilla que permita el diagnóstico concluyente (8,13); por lo que se deben realizar varias y tener la seguridad del valor reportado. Se recurre, por tanto, a los esquemas de intercomparación de datos conocidos como sistemas de Control de Calidad (CC).

El CC se define como el conjunto de medidas tomadas que permiten evaluar la calidad de cualquier análisis cuantitativo. Su objetivo es el mantener y mejorar la calidad del ensayo para contribuir al diagnóstico del paciente o dar seguimiento a una investigación (16).

Para validar un RIA específicamente se estima la precisión, la reproducibilidad y la desviación. Los parámetros de CC intra análisis evalúan precisión y desviación y los de CC inter análisis la reproducibilidad y desviación de un RIA con respecto al otro (17).

El CC externo lo realiza una agencia internacional o nacional. Su propósito es contro-

lar y disminuir la variabilidad entre laboratorios; este sistema compara en forma retrospectiva y objetiva resultados de diferentes laboratorios (16,18).

Se presenta aquí los resultados del control de calidad interno y externo para la determinación de hormonas tiroideas y los hallazgos en una muestra de donadores voluntarios de sangre dentro de un programa promovido en América Latina por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).

## **MATERIALES Y METODOS**

En este estudio experimental y prospectivo, se determinaron los niveles de las hormonas tiroideas T3, T4 y TSH en una población sana de 1053 donadores voluntarios de sangre, quienes se presentaron en las campañas de Donación Voluntaria del Banco Nacional de Sangre a nivel de empresa durante los meses de Noviembre y Diciembre de 1989.

El tamaño de la muestra se determinó según el programa EPISTAT (paquete estadístico) que arrojó una n de 864 con una variabilidad del 2%. La recolección de las 1053 muestras fue superiora la determinada por el paquete estadístico utilizado. Se hizo semanalmente y estuvo sujeta al número de donantes que se presentaron durante el período designado.

Los reactivos utilizados fueron NETRIA (North East Thames Region Immunoassay Unit) del laboratorio de producción del Hospital San Bartolomé de Londres donados por el OIEA dentro del Proyecto ARCAL VIII "Radioinmunoanálisis de las Hormonas Tiroideas". Los lotes correspondientes a sueros control #079, segundo anticuerpo (anti gama) #088, estándares T3 #068, antiT3 #078, estándares T4 #068, anti-T4 #048, estándares TSH #079, anti-TSH fase sólida #098 y #108. Los trazadores fueron producidos en INCIENSA por la técnica de Greendowd y Hunter (18).

La técnica utilizada fue un RIA de segundo anticuerpo y polietilenglicol para T3 y T4, para TSH se usó un IRMA con anticuerpo monoclonal (18).

Para el análisis de los datos se empleó el programa IBM compatible del OIEA para RIA (17). Con éste, se evaluaron como parámetros de control de calidad: unión máxima, unión no específica, dosis al 50%, pendiente de las curvas Dosis/Respuesta y la relación error respuesta (RER).

Además, durante el período de procesamiento de los sueros se evaluaron las muestras de la Tercera Campaña Regional del programa Latinoamericano de Control de Calidad de laboratorios de RIA ARCAL VIII/ALASBIMN. El análisis de estos resultados fue hecho en Argentina con el Programa para el procesamiento de datos para realizar el Control de Calidad Externo de la Comisión de Energía Atómica Argentina (CONEA).

## RESULTADOS

En el cuadro 1 se presentan los valores encontrados y los parámetros estadísticos para las determinaciones de hormonas tiroideas en donadores voluntarios de sangre cuyos niveles promedios fueron de 1,66 nmol/l, 125,9 nmol/l y 2,25 uUI/ml para T3, T4 y TSH, respectivamente.

Los resultados de los parámetros de control de calidad inter e intraanálisis de los 25 ensayos donde se determinaron los niveles de hormonas de las 1053 muestras analizadas se resumen en los cuadros 2 y 3.

En el cuadro 4 se presentan los parámetros de variabilidad en la Tercera Campaña Regional ARCAL VIII/ALASBIMN durante el período en el que se llevaron a cabo las pruebas.

## DISCUSION

En la mayoría de las personas, la concentración de T4 total es un buen índice para probar la función tiroidea, pero es sabido que diversos factores fisiológicos extratiroideos afectan el nivel de hormonas libres en suero. Aún así, la prueba de T4 total se considera, con base en múltiples reportes, como una de las tres estrategias en el diagnóstico de estos padecimientos (12). En el diagnóstico de los estado hiper o hipotiroideos entre el 10 al 18% de los estudios completan el panel tiroideo con T4 total, captación de T3 y TSH (13,14). Estudios previos han demostrado una prevalencia del 0,8 de enfermedades tiroideas de significancia clínica no diagnosticada en pacientes con algún tratamiento y del 1,8 en personal sano que labora en el sector salud (12,15).

En el análisis de T3, T4 totales y TSH en la población adulta sana costarricense, permite deducir que los valores reportados en el estudio (cuadro 1) no son diferentes a los descritos en otros países miembros del programa regional del OIEA ARCAL VIII (7), específicamente en México, en donde se utiliza la misma tecnología. Aún cuando la determinación de los niveles de hormonas libres constituye una herramienta útil en la investigación de las hormonas tiroideas en sangre, y que existe una amplia variedad de productos comerciales a nivel metodológico, de instrumentación y de precisión, que permiten evaluarlas, varios estudios clínicos han demostrado que las concentraciones de hormonas tiroideas libres en el suero no reflejan el estado tiroideo clínico (11,12). Además, desde el punto de vista práctico, debemos considerar lo difícil y costoso que resulta cuantificar estos niveles tan bajos de hormonas en los rangos de picomoles/L, que corresponden el 0,02-0,03 % del valor total de la hormona y que solo ciertos laboratorios de investigación lo tienen disponible.

Este estudio permitió, dentro del programa ARCAL VIII del OIEA con sede en IN

CIENSA, evaluar por un período de cinco meses la calidad de los trazadores producidos, y comprobar a través de los parámetros de CC de los ensayos, la calidad de éstos T3 -125, T4-1125 y anti-TSH monoclonal I-125 (cuadros 2 y 3). No se encontró diferencia significativa alguna entre las pruebas realizadas con productos comerciales y las que utilizan trazadores producidos en INCIENSA.

La estadística intra e ínter ensayo (CCI) reflejada en la desviación estándar (cuadros 2 y 3) demuestra que los ensayos son válidos y aceptables (17,18).

Desde 1989 el Proyecto ARCAL VIII estableció en Costa Rica un programa de control de calidad el RIA de las Hormonas Tiroideas que funciona tanto a nivel nacional como regional (CCE). Se cuenta en el país con la participación de 9 laboratorios (5 estatales y 4 privados) y en la región colaboran 74 laboratorios de 12 países latinoamericanos. La variabilidad obtenida en este esquema regional (cuadro 4) puede ser comparada con la reportada en el esquema de Control de Calidad Externo de las Hormonas Tiroideas en el Reino Unido por Ratcliffe y col. (19) cuyos criterios de aceptabilidad son los sugeridos por el Joint Steering Committee para Hormonas Peptídicas que pueden resumirse en variabilidades acumulativas de >15% para T4, >20% para T3 y >25% para TSH.

#### ABSTRACT

*An evaluation of the serum thyroid hormone levels in young adults and the results of "an External Quality Control (EQC)" for the thyroid related Hormones: Thyroxine (T4), Triiodothyronine (T3) and Thyroid Stimulating hormone (TSH) are presented, for Costa Rica.*

*Hormone levels in the 1503 sera evaluated range from 0,2 to 3,52 nmol/l, from 43 to 207 nmol/l, and from 0 to 6,2 uIU/ml, for*

*T3, T4 and TSH, respectively.*

*Nine radioimmunoassay laboratories (five public health institutions and four private ones) participated in the EQC. The mean variability among laboratories was 19,3%, 18% and 20,5% for T3, T4 and TSH, respectively.*

*The Internal Quality Control (IQC) in the reference laboratory (Immunoassay, INCIENSA) showed a mean variability of 5,67%, 6,22% and 6,93% for the same hormones respectively.*

#### AGRADECIMIENTO

Damos las más sinceras gracias al Dr. Ezequiel Vieto y a la Sra. María Elena Barberena funcionarios del Banco Nacional de Sangre de la Cruz Roja Costarricense por su valiosa colaboración en la recolección de las muestras.

#### REFERENCIAS

1. Picado, C. Investigaciones sobre fisiopatología tiroidea. San José, Costa Rica: Imprenta. Nacional, 1943.
2. Flores ME, López ME, Santiesteban I, De Céspedes C. Epidemiología del Bocio Endémico en Costa Rica. BoL. of Sanit. Paman. 1981, 91 (6): 531-537.
3. Estrada Y, Loría AR, Brenes C. Bocio endémico infantil. Rev. Med. Hosp. Nac. Niños Costa Rica. 1979; (14): 137- 149.
4. Calzada LD, Bogantes A, Loría A, Estrada Y. Valores normales de T3, T4 y TSH en niños de 6 días a 36 meses. Rev. Med. Hosp. Nac. Niños Costa Rica.

- Rica, 1979; 14(2): 137-149.
5. Estrada Y, Calzada LD, Fuscaldo C, Bogantes A, Artavia E, Loría A, Hipotiodismo por Enfermedad de Basedow en edades pediátricas. Rev. Med. Hosp. Nac. Niños Costa Rica. 1984; 19(2):65-80.
  6. Loría AR, Bogantes A, Estrada Y, Feoli J. Concentración de T4 en leche materna y de vaca por RIA, doble anticuerpo fase líquida. Rev. Med. Hosp. Nac. Niños Costa Rica. 1986; 21(2): 153-158.
  7. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Manual del Laboratorio de Hormonas. Dpto. Biol. Repr. México D.F. 1983; 15-20.
  8. Spencer CA. Thyroid profiling for the 1990s: Free T4 Estimate or sensitive TSH measurement. J. Clin Imm 1989; 12(2) :82-89.
  9. Hulling DA, McGrane M, Pugh R, Davis S. Simultaneous Free Thyroxine and Thyrotropin Measurement as a strategy for Thyroid Function testing. J. Clin Imm. 1989; 13(2): 106-110.
  10. Gómez N, Nonji N, Castro A. Método totalmente automatizado para el radioinmunoensayo de Tiroxina. Act Biop Clin Latin 1981; 15(2): 309-318.
  11. Wilke J. Estimation of Free Thyroid Hormone Concentrations in the Clinical Laboratory. Clin Chem 1986; 32(4): 585-592.
  12. Nystrom E, Peterson K, Lindsted G, Lundberg PA. Screening for Thyroid Disease in women >50 years of age Seeking Hospital care: Influence of common non Thyroidal Illness on serum Free Thyroxin as determined by analog Radioimmunoassay. Clin Chem 1986; 32(4): 603- 608,1986.
  13. Hopton MR, Harroa JS. Immunoradiometric assay of Thyrotropin as a "first-line" Thyroid Function Test in Routine Laboratory. Clin Chem 1986; 32(4):691-693.
  14. Wilken JT, Eastment HT. Discriminative ability of tests for free and total Thyroid Hormones in Diagnosing Thyroid Disease. Clin Chem 1986; 32(9): 1746-1750.
  15. Beck JR. Laboratory Decision Science applied to chemometrics: Strategic Testing of Thyroid Function. Clin Chem 1986; 32(9): 1707-1 713.
  16. Vargas M, Hoslst I, Schosinsky K, Brilla E. Seguridad de Calidad en Química Clínica. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica, Fac. de Microbiología, 1989: 67. 92-110.
  17. Piyasena RD, Lafranco G. Radioimmunoassay data processing program for IBM PC Computers. A user's manual. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1989:11-54. (IAEA - TECDOC-509).
  18. Hunter WM, Corrie JE. Inmunoassay for Clinical Chemistry, 2da. ed., Londres: Churchill Livingstone, 1983; 139-146.

19. Bacon R, Hunter WM, Ratcliffe G. IAEA external quality assessment scheme: Thyroid-

related hormones. En: Radio immunoassay and related procedures in medicine. Vienna International Atomic Energy Agency, 1982; 573-589.

### CUADRO 1

#### VALORES DE REFERENCIA PARA LAS HORMONAS TIROIDEAS DETERMINADAS EN 1053 PERSONAS SANAS EN COSTA RICA

	T3	T4	TSH
muestra	816	951	1053 (n)
promedio (x)	1,66nmol/l	125,9nmol/l	2,25uUI/ml
límites de confianza al 95%	(0,2-3,52) nmol/l	(43-207) nmol/l	(0-6,2) uUI/ml
Valores re- portados en México	(0,6-3,6)	(65-207)	(0-6,5)

Método: RIA de 2do. anticuerpo.

**CUADRO 2****CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE LAS HORMONAS TIROIDEAS  
PARAMETROS EVALUADOS EN 25 ENSAYOS. PC/ RIA V.1.0.**

PARAMETROS	RIA-T3	RIA-T4	IRMA- TSH
UNION MAXIMA (a)	34±10	59±7,6	32,6±6,1
UNION NO ESPECIFICA (d)	3,17±0,84	5,04±1,8	0,99±0,76
DOSIS AL 50% (c)	5,69±1,05	43±7,9	62±12,7
PENDIENTE (b)	2,4±0,27	2,3±0,2	2,1±0,76
RELACION ERROR RESPUESTA (RER) (R)	5,67±2,2	6,22±1,6	6,93±1,4

**CUADRO 3**

**ESTADISTICA DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN  
LOS SUEROS CONTROL EVALUADOS EN LOS  
25 ENSAYOS LOTE 079**

	SUERO CONTROL A	SUERO CONTROL B	SUERO CONTROL C
T3 nmol/1 (*)	1.09±0,39 (0,95)	3,4±0,45 (3,5)	7,2±1,0 (7,5)
T4 nmol/1 (*)	49±8,4 (52)	95±17 (95)	155±16,6 (168)
TSH uUI/ml (*)	1,52±0,52 (1,3)	8,84±1,18 (6,4)	26,8±2,89 (26)

(\*)valor promedio reportado por NETRIA (North East Thames Region Immunoassay Unit).



**CUADRO 4**

**VARIABILIDAD DE LOS ANALISIS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN  
LA TERCERA CAMPAÑA REGIONAL  
(% COEFICIENTE DE VARIACION)**

	T3	T4	TSH
VALOR PROMEDIO	2,5 nmol/l	98,6 nmol/l	2,39uUI/ml
% COEFICIENTE DE VARIACION	19,3%	18%	20,5%

(Programa Control de Calidad Externa de la Comisión de Energía Atómica de Argentina).