

RADIOINMUNOANÁLISIS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS

Rodríguez S.¹, Richmond M.¹, Quesada F.², Lahaman S.³, Ramírez A.⁴, Herrera J.F.⁵

RESUMEN

Como culminación de un largo proceso de negociaciones entre la Comunidad Económica Europea y los Programas de Cooperación Técnica del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), se realiza en Costa Rica el Programa ARCAL VIII "Arreglos Regionales Cooperativos para la Promoción de la Ciencia y la Tecnología Nuclear en América Latina". El proyecto está coordinado por el Laboratorio de Inmunoanálisis de INCIENSA y participan cuatro laboratorios del sistema hospitalario nacional.

Con el fin de determinar la confiabilidad de los procedimientos utilizados, se evaluó la variabilidad intra e interlaboratorio de las determinaciones del país, utilizando reactivos NETRIA (North East Thames Region Immunoassay Unit). La variabilidad interlaboratorio osciló entre el 9-20 por ciento para T4, del 12-22 por ciento para TSH y del 22-36 por ciento para T3.

El estudio permitió evaluar la calidad del trazador (T3-I125, T4-I125) producido lo-

calmente con relación a productos comerciales. Al correlacionar los resultados obtenidos con 63 sueros seleccionados al azar y procesados paralelamente con reactivos mixtos (anticuerpo y estándares de NETRIA y trazador propio) con reactivos de Diagnostic Products Corporation (DPC) la variabilidad intralaboratorio resultó ser de 8,4 por ciento para T3 y de 6,8 por ciento para T4.

Se concluye que los ensayos de T4 y TSH son estadísticamente válidos y confiables, no asilos T3. Nuestros datos indican que el trazador preparado en INCIENSA puede usarse hasta 6 semanas después de la marcación con I125. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1988; 9(4): 00-00].

INTRODUCCION

El Organismo Internacional de Energía Atómica ejerce sus funciones en Costa Rica a través de la Comisión de Energía Atómica de Costa Rica. Es una institución de administración autónoma del estado, que fomenta, supervisa y desarrolla las aplicaciones pacíficas de la energía nuclear. En 1984, el organismo estableció un programa regional común, denominado ARCAL, que comprende 11 proyectos específicos (Rodríguez S. Datos no publicados). En Costa Rica, el programa dio inicio en el año 1986 y hasta el momento se han llevado a cabo diversas actividades enmarcadas en el objetivo primordial del aprovechamiento máximo de la energía nuclear con fines pacíficos.

1. Lab. Inmunoanálisis, INCIENSA, Apartado Postal 4, Tres Ríos, Costa Rica.
2. Lab. Medicina Nuclear, Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.
3. Lab. Hormonas, Hospital Calderón Guardia, San José, Costa Rica.
4. Lab. Endocrinología del Hospital México, San José, Costa Rica.
5. Lab. Clínico, Sección RIA, Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica

En el área de la salud se ha estimulado el desarrollo para la producción de reactivos diagnósticos propios, confiables y a un precio asequible (11, 13). En el caso de las patologías tiroideas el OIEA, seleccionó al Laboratorio de Inmunoanálisis del INCIENSA, para que coordinara este proyecto con hospitales de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS) y cumpliera los siguientes objetivos: producir reactivos, reducir los costos de las pruebas, aumentar la confiabilidad de los ensayos, establecer un control de calidad a nivel nacional y capacitar al personal que ejecuta las pruebas de (RIA) en el país.

MATERIALES Y METODOS

INCIENSA, como centro de referencia, distribuyó reactivos NETRIA aportados para el programa por el laboratorio de producción Hospital San Bartolomé de Londres, para un RIA de segundo anticuerpo a cada uno de los cuatro laboratorios cooperantes para las determinaciones de T3, T4 y TSH (Edwards, R. Comunicación personal).

Se enviaron pequeños estuches de 200 tubos para cada hormona, que contenían trazadores anti-TSH-I125 (20 μ Ci, lote 3/ 10), T4-I125 (5 μ Ci lote 3/10) y T3-I125 (4 μ Ci lote 3/10) y anticuerpos anti-TSH fase sólida (lote 098), anti-T4 (lote 048), anti-T3 (lote 078), segundo anticuerpo anti-oveja en burro (lote 088), estándares TSH lote 098, T4 lote 088 y T3 lote 068, sueros control alto, medio y bajo lotes 088.

La preparación de los amortiguadores necesarios para la reconstrucción, se realizó según el protocolo NETRIA, empleando reactivos de las casas Merck y SIGMA: NaHPO₄.2H₂O, (ANSA) ácido anilino naftaleno sulfónico, Tween 20, (PEG) polietilenglicol 6000, Tritón X-100, (BSA) albúmina bovina sérica, (Na₃azida de sodio).

En el laboratorio de Inmunoanálisis de INCIENSA se llevó a cabo con los mismos reactivos una evaluación del trazador propio T3-I125 y T4-I125 durante 6 meses, con intervalos de una semana entre cada determinación. La producción del trazador se realizó por marcación de las hormonas T2 y T3 (SIGMA) con I125 (ICN Radio-

chemicals) por el método de la cloramina T (2,4,9,12).

Con un ensayo mixto (anticuerpos/estándares NETRIA-trazador propio) se efectuó el análisis de 63 sueros de pacientes seleccionados al azar de los hospitales México y San Juan de Dios, correlacionando los resultados obtenidos con los reportados con los reactivos DPC de fase sólida que usan de rutina.

El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación, coeficiente de variación, desviación estándar y T de Student (1,3,7,8,10).

RESULTADOS

Los resultados de los ensayos procesados en cada uno de los laboratorios participantes se muestran en el Cuadro 1, donde se comparan los parámetros de control de calidad de las curvas Dosis/Respuesta; en el Cuadro 2 se observan los resultados obtenidos del análisis de los sueros control.

La técnica de marcación ha sido estandarizada según lo demuestran los parámetros de control de calidad, que se presentan en los Cuadros 3 y 4.

El estudio comparativo de los sueros de pacientes demostró que existe una correlación estadística, entre los resultados de dichos centros con los laboratorios de INCIENSA ($p < 0.05$).

DISCUSION

Las patologías tiroideas ocupan el 30% de la consulta especializada de la CCSS con un promedio mensual de 800 pruebas para T4 y un máximo de 300 pruebas para T3 y TSH. Considerando la importancia de dichas pruebas como criterios diagnósticos, resulta fundamental establecer criterios adecuados de control de calidad (6, 13). En el presente estudio, con el fin de evaluar la variabilidad interlaboratorio de las pruebas realizadas con los reactivos NETRIA, se analizó un grupo de tres sueros control.

Los resultados descritos en los Cuadros 1 y 2 se consideran aceptables con base en los parámetros de control de calidad estipu-

lados por los esquemas de la Organización Mundial de la Salud (8) y señalan a los ensayos de T4 y TSH como estadísticamente válidos y confiables. Por su parte, los datos obtenidos en las determinaciones de T3 (Cuadro 2) resultaron ser inconsistentes y no reproducibles. Podría atribuirse estos resultados negativos a la inadecuada calidad del trazador Netria (5). Con base en diferentes reportes, se considera aceptable una variabilidad entre laboratorios del 10 al 20 por ciento (8,10). Nuestros datos no sólo están comprendidos dentro de ese ámbito sino que además guardan una importante relación con las determinaciones de T3, T4 y TSH reportados por el resto de los países integrantes del programa en la Primera Reunión de Coordinación.

El análisis de los resultados intralaboratorios para T3, T4 (Cuadros 3 y 4) mostraron una variabilidad menor del 10 por ciento, y los índices de control de calidad evaluados estuvieron todos dentro de los valores que se consideran aceptables en un radioinmunoanálisis (1, 5, 8). Estos datos muestran una calidad adecuada del trazador propio, con relación al adquirido comercialmente, lo que fue adicionalmente confirmado por los valores obtenidos del análisis de correlación de los 63 sueros seleccionados al azar. Dicho trazador, como se muestra en el Cuadro 3, mostró una adecuada estabilidad y reproducibilidad hasta 6 semanas después de la marcación.

En conclusión se sentaron las bases para un sistema de control de calidad interno (interlaboratorio en San José, Costa Rica) y externo (programa ARCAL VIII - ALASBIM) para las hormonas tiroideas T3, T4 y TSH y se evaluó la calidad de reactivos producidos en el país con relación a los obtenidos comercialmente.

ABSTRACT

The International Atomic Energy Agency (IAEA) is carrying out the ARCAL VIII Program "Thyroid Hormone Radioimmunoassay".

The Immunoassay Laboratory of INCIENSA is in charge of this program, with the participation of four National Hospital System laboratories, which carried out Thyroxine (T4), Triiodothyroxine (T3) and Thyroid Stimulating Hormone (TSH) assays with NETRIA Reagents (North East Thames Region Immunoassay Unit). The variability was shown to be between 9-20 per cent for T4, 12-22 per cent for TSH and 22-36 per cent for T3.

The study also evaluated the quality of a tracer (T3-1125 and T4 1125) produced at INCIENSA. In this case the intrassay variability was 8,4 per cent for T3 and 6,8 per cent for T4 in 32 determinations evaluated during 6 months.

It was concluded that the T4 and TSH tests but not the T3 test are valid and reproducible when NETRIA Reagents are used.

The tracer made at INCIENSA can be used up to 6 weeks after the radioiodination with 1125. A successful thyroid-related hormones quality control was defined in Costa Rica by taking advantage of the support of a prestigious international agency, the IAEA.

BIBLIOGRAFIA

1. Bedolla, N. T. A., Ulloa-Aguirre, A., Landeros, J., Pérez-Palacios, G. Análisis de Datos y Control de Calidad en el Radioinmunoanálisis. 1. Guía para la Evaluación de Resultados. *Rev. Investig. Clin.* (Mex) 1984; 36:179-192.
2. Berson, S. A. Yallow, R. S. General Principles of Radioimmunoassay. *Clin. Chem. Act.* 1968; 22: 51.
3. Daniel, W. Bioestadística. *Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud.* 5 Ed. Limusa Mex. 1984; 291-324.
4. Hunter W. M., Greenwood F. C. Preparation of iodine-131 labeled human growth of high specific activity. *Nature* (Lond) 1962; 194:495-496.
5. Hunter W. M., Corrie, J. E. TR. *Immunoassay for Clinical Chemistry.* 2 ed. Londres. Churchill Livingstone. 1983; 640-701.

6. Inder, J., Chopra, L. A. A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. *J. Clin. Endoc. Metab.* 1972; 34: 938-947.
7. IAEA. *Laboratory training manual on Radioimmunoassay in animal reproduction.* Vienna. IAEA. (Technical Report series, # 233), 1984; 90-93.
8. IAEA. *Radioimmunoassay and Related Procedures in Medicine.* Vienna. IAEA. 1982; 573-589.
9. Libertum, C. *Radioimmunoanálisis. fundamentos y aplicaciones.* Argentina. López Libreros Editores. 1981; 13-26.
10. Rodbard, D. Statistical Quality Control and routine data processing for radioimmunoassays (RIA) and immunoradiometric assays (IRMA). *Clin. Chem.* 1974; 20:1255-1270.
11. Vaitukaitis, J., Robbins J. B. A method for producing specific antisera with small doses of immunogen. *J. Clin. Endoc* 1971; 33: 988-991.
12. Weir, D. M. Handbook of experimental Immunology. 4 ed. Londres. Churchill Livingstone. 1977; 14. 1-14.40.
13. Wiersinga, W. and Chopra, I. Radioimmunoassay of T4, and T3. In: Kolowick and Kaplan. *Methods in Enzymology.* New York. Academic Press, 1982; 84: 272-303.

AGRADECIMIENTO

A los doctores Mario Montero, Allan Bogantes, Rafael Castillo, Ligia Pérez, Alba Rosa Loría, responsables de los diferentes laboratorios cooperantes del programa ARCAL VIII en Costa Rica.

CUADRO 1

VALORACION ESTADISTICA DE LOS REACTIVOS NETRIA EN COSTA RICA PARAMETROS DE CONTROL DE CALIDAD DE LAS CURVAS DOSIS RESPUESTA RIA-T4 NETRIA

LABORATORIO PARTICIPANTE	PENDIENTE (m)	UNION MAXIMA (%)	COEFICIENTE VARIACION (% CVP)	RELACION ERROR (% RER)	UNION NO ESPECIFICA (% UNE)
1	2,1	36	7,3	8,0	4,0
2	2,2	49	4,4	7,8	2,4
3	2,1	48	5,8	7,4	2,6
4	2,0	19	8,5	—	3,8
5	2,5	36	3,2	—	2,7

CUADRO 2

VARIABILIDAD INTERLABORATORIO DE LOS SUEROS CONTROL NETRIA

SUERO CONTROL	T3		T4		TSH	
	PROMEDIO (mmol/l)	% CV	PROMEDIO (mmol/l)	%CV	PROMEDIO (uUI/ml)	% CV
A	1,2	22,6	51,4	9,2	0,82	19,5
B	2,2	31,5	115,0	20,9	5,97	22,0
C	7,4	36,6	211,0	17,7	29,50	12,0

n = 15

CUADRO 3

**PARAMETROS DE CONTROL DE CALIDAD DE ENSAYOS MIXTOS
CON REACTIVOS NETRIA Y TRAZADOR PROPIO
(PROMEDIO DE 32 ENSAYOS)**

LOTES	T3-I 125			T4-I 125		
	MAYO	JUNIO	AGOSTO	MAYO	JUNIO	AGOSTO
	4/88	5/88	6/88	4/88	5/88	6/88
PENDIENTE (m)	2,2	2,2	2,1	2,1	2,0	2,05
% UNION MAXIMA	31	23	22	49	40	35
% UNION NO ESPECIFICA	4,2	2,3	2,7	4,9	3,1	3,4
%COEFICIENTE DE VARIACION PROMEDIO	7,5	5,7	12	7,1	6,2	7,3

CUADRO 4

**VALORACION ESTADISTICA DE LOS SUEROS CONTROL NETRIA
(PROMEDIO 32 ENSAYOS)**

SUEROS CONTROL	T3		SUERO CONTROL	T4	
	PROMEDIO	% CV		PROMEDIO	%CV
A (0.7-1.5)	1,6	28,0	A (31-43)	31	26,0
B (1.9-2.7)	2,1	10,2	B (72-100)	87	4,0
C (5-7)	5,7	6,1	C (150-170)	166	7,2