

CASO CLÍNICO: Interferencia en la medida de tirotropina asociada a la presencia de anticuerpos anti-rutenio.

Mujer de 67 años en tratamiento por hipotiroidismo primario desde hace 8 años, por el que recibe levotiroxina a dosis de 125 g/día.

En analítica de monitorización del tratamiento se obtuvo un resultado de TSH y T4 libre (FT4), de 8.4 mUI/mL (VR: 0,2 - 4,8) y 1,8 ng/dL (VR: 0,8 -1,8), respectivamente, medidas en un analizador modular Analytics E170 (Roche Diagnostics) mediante electroquimioluminiscencia (ECLIA). Los resultados fueron confirmados en una segunda muestra con la misma metodología.

A pesar de que no se evidenciaron cambios en los síntomas que refería la paciente, se procedió a reajustar la dosis de levotiroxina. En la analítica de control posterior se obtuvieron los siguientes resultados: TSH: 7,32 mUI/mL y FT4: 2,19 ng/dL y la paciente mostraba signos de hipertiroidismo por lo que se restituyó la dosis inicial.

Se solicitó nueva muestra para hacer la determinación en otra plataforma analítica. La nueva medida se realizó en el analizador DXI (Beckman Diagnostics) mediante inmunoanálisis de inmunoquimioluminiscencia (IQA), obteniéndose los siguientes resultados: TSH: <0,03 mUI/mL (VR: 0,34 - 5,6), FT4: 1.63 ng/dL (VR: 0,58 - 1,64). La concentración de T4 libre se mantuvo dentro del intervalo de referencia pero llamaba la atención la discrepancia en TSH.

Ante unos resultados discordantes se realizaron una serie de procedimientos para descartar la presencia de interferencias en TSH (Tabla 1):

- a) Se hicieron diluciones seriadas de la muestra con el diluyente Elecsys Diluent MultiAssay al 1:2, 1:5 y 1:10 y se determinó la concentración de TSH observándose la pérdida de linealidad con diluciones altas, lo que sugería la existencia de un factor interferente.
- b) Para descartar anticuerpos heterófilos la muestra fue procesada previa incubación en un tubo conteniendo un agente bloqueante de dichos anticuerpos (HBT, Scantibodies, Shantee, CA). Se obtuvo una concentración de TSH de 8,10 mUI/mL, descartándose esta interferencia.
- c) Para detectar la presencia de una macro-TSH se realizó la precipitación con polietilenglicol (PEG 6000), obteniéndose un porcentaje de recuperación en la muestra problema de 87,8 %, similar al de una muestra control.
- d) La concentración del factor reumatoide fue indetectable.

Con los resultados obtenidos hasta ese momento, se descartaron las causas de interferencia más frecuentes, quedando la posible interferencia con el rutenio, ya que el sistema ECLIA incluye un anticuerpo monoclonal específico marcado con quelato de rutenio (Figura 1).

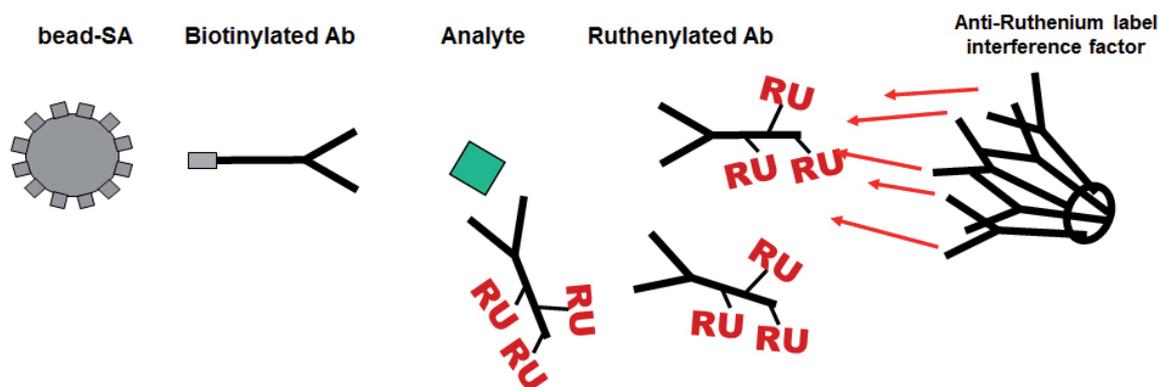


Figura 1. Factor interferente anti Rutenio en el inmunoanálisis de TSH en el sistema ECLIA.
 Biotinylated Ab: Anticuerpo monoclonal anti TSH marcado con Biotina. Ruthenylated Ab: Anticuerpo monoclonal conjugado con Rutenio

A fin de evaluar esta posibilidad, descrita previamente, la muestra fue remitida al Departamento de Investigación y Desarrollo de Roche Diagnostics para completar el estudio. Se determinó la concentración de TSH con tres procedimientos: dos de investigación, uno de los cuales utiliza un conjugado con Rutenio, modificado, para descartar la presencia de un factor interferente contra el rutenio, el otro procedimiento emplea agentes bloqueantes para descartar interferencia en la región Fab2 del anticuerpo y por último el método comercial. En la tabla, se puede observar que las concentraciones de TSH medidas con el segundo y tercer método fueron similares. Sin embargo, la concentración de TSH con el primer método fue inferior al límite de detección, lo que indicaba una posible interferencia por este tipo de factor sobre el rutenio.

Procedimientos	Resultados TSH	Comentarios
Modular Analytics E170 (Roche Diagnostics) ECLIA	8,4 mUI/mL	Se observaron diferentes resultados en función del método empleado
DXI (Beckman Diagnostics) IQA	<0,03 mUI/mL	
Procesamiento tras diluciones	1:2 7,24 mUI/mL	Se observa pérdida de linealidad a medida que aumenta la dilución (disminución de la concentración del factor interferente)
	1:5 6,15 mUI/mL	
	1:10 5,92 mUI/mL	
Procesamiento del sobrenadante tras precipitación con PEG 6000	6,96 mUI/mL (87,8 % recuperación)	Podemos descartar la presencia de una molécula de elevado peso molecular y/o anticuerpos heterófilos
Procesamiento de la muestra tras tratamiento con agentes bloqueantes de anticuerpos heterófilos. (Scantibodies Heterophilic Blocking Reagent)	8,10 mUI/mL	Se considera negativo
Cromatografía de exclusión	Método comercial 8,34 mUI/mL	Se demuestra una posible interferencia por un anticuerpo anti rutenio
	TSHsRu: Inferior al límite de detección.	
	TSH Fab2: 9,36 mUI/mL	

TSHsRu: Procedimiento de investigación que contiene un conjugado modificado.

TSH Fab2: Incluye un agente bloqueante para descartar la interferencia en Fab2

Tabla 1. Procedimientos realizados para identificar la interferencia en TSH

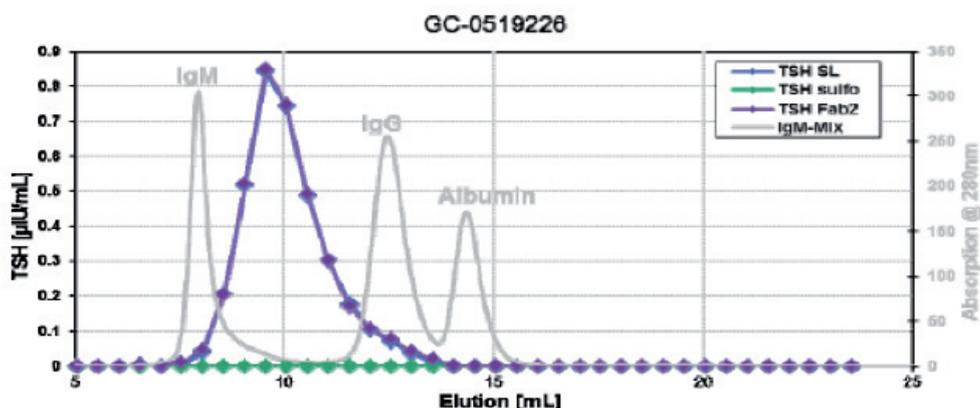


Figura 2. Concentración de TSH después de una cromatografía de exclusión (Superdex 200 10/300 GL, GE Healthcare).

TSH SL: TSH método comercial (Roche Diagnostics); TSH Sulfo: TSH procedimiento de investigación que contiene un conjugado modificado (Roche Diagnostics); TSH Fab2 : incluye un agente bloqueante para descartar la interferencia en Fab2. IgM-Mix: mezcla de proteínas de peso molecular conocido.

Los resultados obtenidos en el Departamento de Investigación y Desarrollo informaban, que utilizando un conjugado modificado de TSH, ésta fue indetectable. Mediante una cromatografía de exclusión se midió la TSH en todas las fracciones y se observó que podía ser detectada en fracciones de alto peso molecular tanto con el reactivo comercial como con el kit que contiene un agente de bloqueante de la interferencia en Fab2 (Fig 2)

De acuerdo con estos resultados la muestra contenía un factor interferente contra el anticuerpo marcado con rutenio, que se utiliza en el actual equipo comercial, que pudo causar el valor falsamente elevado en la TSH.

Discusión

Existen interferencias en inmunoanálisis de TSH que están presentes en un 0,5 – 5 % de las muestras de pacientes. Ante la posible repercusión clínica, es necesario poder identificarlas ya que puede dar lugar a interpretaciones erróneas.

La dilución seriada de la muestra permite detectar interferencias como anticuerpos heterófilos, ya que no dan resultados proporcionales. La realización de las diluciones se utiliza para disminuir el factor que pudiera interferir en la muestra. En nuestro caso vemos una pérdida de linealidad a diluciones elevadas luego nos indicaba la presencia de un factor interferente, que había que investigar.

Para descartar macro-TSH realizamos la precipitación con PEG, siendo el porcentaje de recuperación de 87,8 %, indicativo de que no existía la presencia de ninguna molécula de elevado peso molecular o anticuerpos heterófilos que pudiera estar interfiriendo la determinación de TSH.

La concentración de TSH con el método para descartar la presencia de anticuerpos anti-rutenio fue inferior al límite de detección. Este sería el primer caso descrito en que se produce la interferencia en la TSH aumentando su valor como ocurre en los métodos competitivos de FT3

y FT4. Los casos publicados hasta el momento daban concentraciones falsamente disminuidas. Roche Diagnostics introdujo en 2006 cambios en los reactivos que no llegaron a eliminar la interferencia en todos los casos. Recientemente ha habido nuevas modificaciones en los reactivos para FT4 y FT3 ya que estos análisis son probablemente más susceptibles a la interferencia por anticuerpos anti-rutenio.

Los anticuerpos anti-rutenio se producen cuando el rutenio medioambiental es alto, principalmente en zonas de industria textil en el que se utiliza para el secado de tejido, lo que induce que se generen estos anticuerpos en la población.

Conclusión.

Ante resultados discordantes debemos investigar la posibilidad de interferencia metodológicas.

Los anticuerpos anti-rutenio pueden interferir significativamente en el análisis de TSH y de hormonas tiroideas en el Modular Analytics E170 (Roche Diagnostics). Aunque teóricamente estos anticuerpos pueden interferir en todos los inmunoanálisis de esta plataforma, sólo se ha descrito en TSH y hormonas tiroideas estando ausente en el resto de analitos.

La paciente está siendo controlada mediante la plataforma alternativa (DXI. Beckman) manteniéndose con concentraciones de FT4 y TSH dentro del intervalo de referencia.