

Factori care influențează screening-ul pentru hipotiroidie la nou-născut

Doctorand: Călugăr (Oprea) Oana Roxana

Conducător științific: Prof. Dr. Dobreanu Minodora

Programul de screening pentru depistarea hipotiroidiei congenitale are ca scop depistarea și tratamentul cât mai precoce a nou-născuților care prezintă această disfuncție tiroidiană. Incidența în România este de 1:3000-4000 nou-născuți. Ca strategie de screening în România la testarea inițială se efectuează TSH din sânge recoltat în ziua 3-5 post-natal pe spoturi de hârtie de filtru. Determinarea se efectuează cât mai rapid iar în cazul unor rezultate care depășesc valoarea cut-off-ului se efectuează testarea în duplicat a probei inițiale. Cut-off-ul utilizat în România este de 20 mUI/L conform Ghidului publicat de Ministerul Sănătății. Dacă la testarea în duplicat rezultatul depășește valoarea de cut-off se va rechema nou-născutul și se va recolta o nouă probă pentru testarea prin metoda utilizată la screening. Dacă pacientul este confirmat ca pozitiv se va îndruma către un centru de diagnostic și tratament al hipotiroidiei.

Recoltarea corectă reprezintă primul pas în furnizarea unui rezultat corect al oricărui analit indiferent de materialul biologic recoltat. Recoltarea sângelui pe hârtie de filtru prezintă numeroase avantaje iar utilizarea acestor spoturi s-a extins în ultimii ani: de la determinări de substanțe endogene la determinări de biologie moleculară și genetică, monitorizare de droguri, studii epidemiologice sau farmacologice. În cazul determinărilor efectuate în programe de screening utilizarea spoturilor s-a extins de la determinarea a 1-2 parametri dintr-un singur spot la determinări efectuate prin spectrometrie de masă în cadrul cărora se determină mai mulți parametri dintr-un singur spot.

Recoltarea de sânge pe spoturi de hârtie este descrisă în amănunt dar este responsabilitatea fiecărui laborator să își stabilească criteriile de acceptare a probelor. Stabilirea acestor criterii este influențată de parametrii ce urmează a fi determinați din spot deoarece influența recoltării nu este aceeași în cazul tuturor parametrilor determinați. Definirea unor defecte de recoltare și evaluarea factorilor care sunt cunoscuți că influențează rezultatele obținute din spot pot duce la stabilirea unor măsuri care să ducă la obținerea de spoturi recoltate corect în majoritatea cazurilor. Efectul hematocritului este efectul cel mai citat în literatură ca influență asupra rezultatelor obținute din spot. Efectul hematocritului poate fi datorat atât dispersiei diferite a sângelui la valori diferite ale hematocritului cât și datorită recuperării analitului în sine din spot sau conținutului în ser a spotului.

FAZA PREANALITICĂ

Efectuarea TSH din spoturi care conțin o cantitate mai mică de sânge decât cea recomandată poate duce la obținerea unor valori ale TSH mai mici decât cele reale, diferența în aceste cazuri depășind atât valoarea variației intrabiologice cât și valoarea acceptată de 15%, existând riscul nediagnosticării hipotiroidiei congenitale.

Majoritatea nou-născuților au prezentat valori normale ale hematocritului dar în cazul celor cu hematocrit scăzut valorile obținute ar putea fi mai mari decât cele reale datorită prezenței unei cantități crescute de ser în spot. În cazul pacienților cu hematocrit crescut valoarea TSH ar putea fi mai mică decât cea reală, pe de o parte datorită impregnării inomogene cât și datorită prezenței unei cantități scăzute de ser.

Efectul cromatografic ar putea fi mai accentuat în cazul probelor recoltate cu lanțeta și aplicate direct pe hârtia de filtru decât în cazul aplicării cu pipeta în special în cazul spoturilor care sunt impregnate insuficient cu sânge.

Defectele de recoltare cele mai frecvente au fost: recoltarea unei cantități insuficiente de sânge și impregnarea inomogenă a spotului adică factorii care influențează cel mai mult rezultatele în cazul TSH.

Procedura de recoltare nu este respectată întotdeauna iar scorul Sigma obținut arată că în cazul recoltării de spoturi de sânge performanța atinsă de întreg procesul nu atinge nici măcar specificațiile minime (Sigma =3) pentru ca întreg procesul să fie considerat stabil.

Utilizarea unui dispozitiv și a unui algoritm obiectiv de evaluare a spotului de sânge recoltat este preferabilă aprecierii subiective a personalului, eroarea de catalogare finală a algoritmului fiind de 2%.

Pentru ca programul de screening pentru depistare a hipotiroidiei congenitale să își îndeplinească scopul iar influența recoltării să fie minimalizată, criteriile de respingere a spoturilor ar trebui să țină cont și de rata rechemărilor. Având în vedere și rezultatele obținute la evaluarea calității spoturilor și cele mai frecvente defecte prezente este recomandabil să fie rechemați nou-născuții care prezintă valori în apropierea valorii de cut-off +/- incertitudinea de măsurare și care au un spot recoltat cu o cantitate prea mică de sânge. În cazul spoturilor recoltate inomogen acestea ar trebui să fie respinse fără a se efectua TSH din aceste spoturi. Deasemenea în cazul maternităților la care s-a constatat preponderent prezența unui anumit defect de recoltare este necesară reinstruirea personalului.

FAZA ANALITICĂ

În cazul fazei analitice a procesului de testare sunt necesare aplicarea următoarelor strategii:

1. Calcularea metricei Sigma de fiecare dată când sunt efectuate modificări în procedură: recalibrare cu alt lot, rezultate noi ale Bias calculate după fiecare rundă de control extern, modificări de personal etc.

2. Adaptarea regulilor de control în concordanță cu valoarea Sigma. Conform rezultatelor obținute este recomandabilă testarea aleatorie a controlului în duplicat pentru fiecare nivel pe placa de test și încadrarea rezultatelor controlului în intervalul +/- 2,5 DS.

3. Rechemarea nou-născuților pentru retestare să țină cont de incertitudinea de măsurare obținută la fiecare recalculare a incertitudinii de măsurare o dată cu recalibrarea cu un lot nou de reactivi. Deși influența recalibrării este statistic semnificativă aceasta este inclusă în incertitudinea de măsurare a meodei.

4. Pentru a evita influența datorată temperaturii de incubare este recomandabil ca toate testele să fie efectuate cu același protocol pentru a evita efectuarea unui pacient la testarea inițială cu un protocol și apoi repetarea utilizând alt protocol.

5. Valorile biotinei din serul nou-născuților nu ating concentrația necesară pentru a influența testele imunologice efectuate pe metoda CLIA utilizată în studiul nostru. Deși oferă rezultate mai mici decât cele obținute din ser cu CLIA, metoda FEIA este comparabilă cu această metodă astfel încât influența biotinei este improbabilă. Influența biotinei ar putea fi suspicionată în cazul nou-născuților la care s-au obținut valori mici ale TSH și care au primit doze mari de biotină în cadrul tratamentului unor acidoze metabolice. În aceste cazuri determinarea TSH este recomandabil să fie repetată înainte de administrarea dozei de biotină.

FAZA POSTANALITICĂ

Indiferent de metoda utilizată pentru calculul intervalului de referință limita superioară a intervalului de referință s-a situat sub 10 mUI TSH/L sânge. Valoarea de cut-off recomandată în cazul nou-născuților maturi cu greutate normală la naștere și recoltarea efectuată în ziua 3-5 de viață este de 10 mUI/L +/- incertitudinea de măsurare a metodei.

Utilizarea mediei de pacient crește rata detecției erorilor sistematice care pot să apară în determinarea TSH și care nu sunt întotdeauna detectate de controlul intern. O creștere a valorii medii a pacienților poate determina situarea rezultatelor acestora în apropierea valorii de cut-off și conduce la creșterea inutilă a ratei rechemărilor.