

GENERAZIONI DI TEST DEL TSH A CONFRONTO



Foto The Image Bank

Lavoro di diploma di
Gloria Häfliger

Con la supervisione del
Dottor Franco Keller

Ricerca eseguita presso
Laboratorio Centrale e Laboratorio di Immunologia Clinica
dell'Ospedale San Giovanni di Bellinzona

Responsabile
Signor Roberto Francesconi

Scuola Superiore Medico Tecnica
Locarno, 07.06.2005

INDICE

1.	RIASSUNTO	3
2.	NOMENCLATURE.....	4
2.1.	Misure di grandezza.....	4
2.2.	Abbreviazioni.....	4
3.	INTRODUZIONE.....	5
3.1.	TSH ormone stimolante della tiroide.....	5
3.1.1	Secrezione	5
3.1.2	Meccanismo d'azione del TSH	6
3.2.	Utilità clinica	6
3.2.1	Interferenze nel dosaggio del TSH.....	7
3.2.1.1.	Effetti della matrice del campione.....	7
3.2.1.2.	Anticorpi eterofili	7
3.2.1.3.	Contaminanti enzimatici.....	7
3.2.1.4.	Effetti emodinamici	7
3.3.	Evoluzione nell'analisi del TSH.....	7
3.3.1.	Classificazione dei dosaggi del TSH.....	8
3.3.1.1.	Generazioni del TSH	8
4.	OBIETTIVO	9
5.	MATERIALI E METODI	10
5.1.	Metodo di riferimento	10
5.2.	Metodo di ricerca	10
5.3.	Campioni	11
5.3.1.	Conservazione dei campioni	11
5.3.2.	Misurazione dei campioni.....	11
5.4.	Apparecchiature.....	12
5.4.1.	Immolute 2000, principio di funzionamento.....	12
5.4.1.1.	Kit TSH terza generazione Immolute 2000.....	12
5.4.2.	Vidas, principio di funzionamento.....	13
5.4.2.1.	Kits, TSH seconda e terza generazione Vidas.....	13
6.	RISULTATI.....	14
6.1.	Tabella dei risultati TSH Immolute e Vidas.....	15
6.2.	Confronti.....	16
6.2.1.	TSH terza generazione Immolute 2000 e TSH terza generazione Vidas.....	16
6.2.2.	TSH terza generazione Immolute 2000 e TSH seconda generazione Vidas.....	18
6.2.3.	TSH seconda generazione Vidas e TSH terza generazione Vidas.....	20
7.	DISCUSSIONE.....	22
7.1.	Risultati.....	22
7.2.	Costi.....	23
8.	CONCLUSIONE	24
9.	LESSICO.....	25
10.	BIBLIOGRAFIA	26
11.	RINGRAZIAMENTI	27
12.	ALLEGATI.....	28

1. RIASSUNTO

Questo lavoro è stato fatto per valutare la sensibilità funzionale del test TSH di terza generazione con sistema Vidas, con la finalità di introdurre questo test nei laboratori dell' Ente Ospedaliero Cantonale, in sostituzione a quello di seconda generazione attualmente utilizzato nei casi di urgenza. I campioni sono stati ottenuti attingendo alle richieste di TSH che arrivavano ogni giorno al Laboratorio di Immunologia clinica con sede all'Ospedale San Giovanni di Bellinzona, dove viene eseguito di routine il TSH di terza generazione su Immulite 2000.

Abbiamo eseguito delle misurazioni con i test di seconda e terza generazione nel Vidas e con il test di terza generazione nell'Immulite 2000. Si sono analizzati 40 campioni di pazienti con età comprese tra 24 e 96 anni, di cui 11 uomini e 29 donne; tra i quali vi erano campioni ipertiroidei, eutiroidei e ipotiroidei. Per la misurazione si sono rispettate le indicazioni delle metodiche dei rispettivi test.

I campioni sono stati misurati in doppio, e abbiamo potuto constatare che i risultati del Vidas erano notevolmente più alti di quelli dell'Immulite 2000. Una volta ottenuti i risultati delle misurazioni si sono eseguiti dei confronti statistici con tre metodi diversi: Anova, Bias plots e Deming.

La statistica ci ha dimostrato che:

TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH terza generazione Vidas, sono due metodi diversi.

TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH seconda generazione Vidas, sono due metodi diversi.

I metodi TSH terza generazione Vidas e TSH seconda generazione Vidas non sono diversi.

Visto che i metodi di TSH seconda e terza generazione per il Vidas non sono diversi e che quello di terza generazione apporterebbe una maggiore sensibilità funzionale molto importante soprattutto nel caso di pazienti ipertiroidei primari, l'Ente Ospedaliero Cantonale, dovrà valutarne la convenienza dell'adozione.

ABSTRACT

This research has been conducted in order to evaluate the functional efficiency of the third-generation TSH assay using the Vidas system, the object being to introduce this assay in the laboratories of the Cantonal Hospital to replace the second-generation one currently in use in urgent cases. The samples have been obtained with reference to the TSH requests coming in daily at the Clinical Immunology Laboratory of the San Giovanni Hospital in Bellinzona, where TSH is carried out as a matter of routine with the third generation in the Immulite 2000.

We have recorded measurements with the second- and third-generation assays in Vidas and with the third-generation assay in the Immulite 2000. 40 specimens have been analyzed involving patients of an age ranging between 24 and 96 years, 11 of them being men and 29 women; these included hyperthyroidal, euthyroidal, and hypothyroidal specimens.

Measurements were carried out in accordance with the instructions and methods for the respective assays.

The specimens were measured in pairs, and we were able to ascertain that the Vidas results were considerably higher than those for Immulite 2000. Once the results of the measurements had been obtained, statistical comparisons were made with three different methods: Anova, Bias plots, and Deming.

The statistics showed that:

third-gen.TSH Immulite 2000 and third-gen.TSH Vidas are two different methods.

Third-gen. Immulite 2000 and second-gen. TSH are two different methods.

Third-gen.TSH Vidas and second-gen. TSH Vidas are not two different methods.

Seeing that the second- and third-generation TSH methods for Vidas are not different and that the third-generation one would result in a much more significant functional efficiency, especially in the case of primary hyperthyroidal patients, the Cantonal Hospital will have to decide how far they are financially worthwhile.

2. NOMENCLATURE

2.1. MISURE DI GRANDEZZA

mU/L	milli-unità per litro
mU/die	milli-unità per giorno
µg/d	micro-grammi per giorno
µIU/ml	micro-unità internazionali per millilitro
µL	microlitri

2.2. ABBREVIAZIONI

AC	Adenilato- Ciclasi
cAMP	Adenosin monofosfato ciclico
DPC	Diagnostic Products Corporation
I ¹²⁵	Iodio ¹²⁵
LC-CIC	Laboratorio centrale- chimica e immunologia clinica
OSG	Ospedale San Giovanni
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
TPOAb	Tireoperossidasi
TRH	Ormone stimolante della tireotropina
TSH	Ormone stimolante della tiroide

3. INTRODUZIONE

Lo sviluppo dell'analisi del TSH con la terza generazione, rappresenta un passo avanti molto importante nella diagnosi di uno stato tiroideo. Per questa ragione si desidera valutare la fattibilità d'adozione di questa nuova tecnica per la determinazione del dosaggio di TSH, con la finalità di dimostrarne la vera sensibilità analitica. Suddetta valutazione è stata dunque lo scopo della presente ricerca, che comprende nella fase introduttiva una breve spiegazione del TSH e delle sue principali funzioni, l'importanza clinica e i metodi analitici.

3.1. TSH, ORMONE STIMOLANTE DELLA TIROIDE

Secreto dalle cellule tireotrope dell'ipofisi anteriore, è una glicoproteina con peso molecolare di 28,000 Daltons costituita da due sub-unità, denominate α e β . Rispettivamente di 92 e 118 aminoacidi unite da legami non covalenti e da una componente carboidratica pari al 16% della sua massa molecolare. Mentre la sub-unità α è comune a tutti gli ormoni glicoproteici ipofisari, la sub-unità β è unica e determina la specifica attività biologica dell'ormone intero.²

3.1.1. Secrezione

La secrezione di TSH è aumentata dall'ormone ipofisiotropo TRH ed è inibita, con un meccanismo a retroazione negativa da T_3 e T_4 libere circolanti, una piccola riduzione degli ormoni tiroidei circolanti nel siero causa un incremento amplificato dei livelli sierici nel TSH; al contrario, uno scarso incremento, provoca una riduzione della concentrazione del TSH sierico. (vedasi fig 1) Un medicamento come la dopamina inibisce la secrezione di TSH e può talvolta ridurre i livelli di TSH elevati del paziente ipotiroideo, fino a valori normali. I glucocorticoidi a dosaggi elevati possono ridurre il livello di T_3 sierico o ridurre la secrezione del TSH.⁶

La secrezione presenta una ritmica circadiana con valori massimi durante la notte tra le 23.00 e le 03.00 ed i minimi verso le 11.00 del mattino. La quantità secreta normalmente è di 40-150 mU/die; il livello plasmatico medio è di circa 0.2-4 $\mu\text{m/L}$. L'emivita è di 40-50 minuti.²

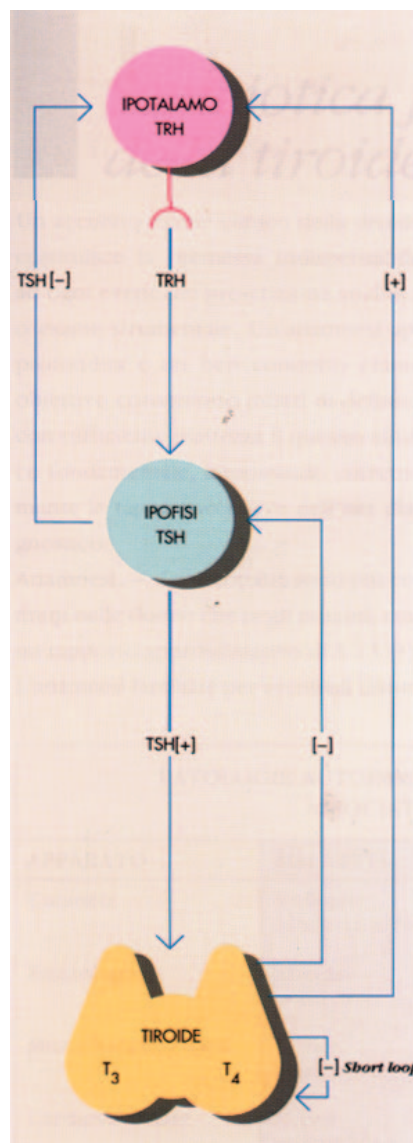


Figura 1. Secrezione del TSH ³

2) Fisiopatologia dell'asse Ipotalamo-Ipofisi-Tiroideo.

3) Fisiopatologia della Tiroide.

6) L'automazione nella patologia tiroidea.

3.1.2. Meccanismo d'azione del TSH

Il TSH stimola tutte le tappe della biosintesi e della secrezione degli ormoni tiroidei. Stimola inoltre molte tappe del metabolismo intermedio tiroideo e l'espressione di molti geni nel tessuto tiroideo, provocando iperplasia e ipertrofia della tiroide. Le azioni del TSH iniziano attraverso il legame con il suo recettore specifico di membrana. È la sub-unità β del TSH a legarsi con il recettore, ma il legame a elevata affinità e la trasduzione del segnale richiedono anche la sub-unità α . Il legame del TSH con il suo recettore attiva la AC determinando un aumento della produzione di AMP ciclico, che a sua volta attiva numerose proteine chinasi. Come questo processo sia legato a fasi specifiche del metabolismo dello iodio o agli altri processi metabolici tiroidei non è ancora noto. IL TSH regola la produzione del suo recettore in senso positivo. Il TSH stimola anche la fosfolipasi C, probabilmente attraverso lo stesso recettore, aumentando quindi il ricambio dei fosfoinositidi, la concentrazione di calcio intracellulare e l'attività della proteina chinasi C.

L'aumento della formazione di iodotironine indotto dal TSH è rapido e avviene in assenza di un incremento misurabile nella produzione di H_2O_2 . La stimolazione da parte del TSH dell'attività della T4-5'-desiodasi aumenta la quota di T_3 secreta, aiutando quindi a mantenere le riserve di iodio.⁹

Il TSH stimola il consumo di ossigeno, l'utilizzazione del glucosio e di acidi grassi nelle cellule tiroidee, stimola le pompe iodio nella membrana cellulare le quali trasportano lo iodio dentro le cellule contro gradienti elettrochimici ed induce l'ipertrofia e l'iperplasia della tiroide, in altri termini la formazione del gozzo.¹⁰ (vedasi allegato 12.4.3)

3.2. UTILITÀ CLINICA

Il dosaggio della concentrazione del TSH sierico rappresenta oggi il test d'esordio per la valutazione dello stato tiroideo in quasi tutti i pazienti ambulatoriali. Naturalmente è necessario che la capacità dell'ipofisi di secernere il TSH sia intatta e che lo stato tiroideo sia stabile.

Nell'ipotiroidismo primario, dove si verifica una diminuzione della produzione di ormoni tiroidei, il livello di TSH è fortemente elevato >10 mU/L; quasi tutti questi pazienti devono essere trattati, una volta che la concentrazione di TSH nel siero dimostra la presenza di un'insufficienza tiroidea; la determinazione dei livelli sierici di T_4 libero (FT_4) o tiroxina totale (TT_4) costituirà un aiuto per confermare la diagnosi e fornire le informazioni di base per la valutazione dell'adesione durante il trattamento. Il dosaggio degli anticorpi diretti contro la tiroide, particolarmente quelli diretti contro la TPOAb può essere di aiuto per la prognosi.⁶

Nell'ipertiroidismo, il livello di TSH è tipicamente soppresso a livelli sempre inferiori a 0.1 mU/L e generalmente più basso di 0.05 mU/L, se si utilizza un dosaggio che ha una sensibilità funzionale inferiore a < 0.02 mU/L. Una concentrazione bassa di TSH sierico non è sufficiente tuttavia a porre la diagnosi, soprattutto nelle persone più anziane. Una concentrazione aumentata di T_4 sierico dovrebbe confermare la diagnosi.

Un paziente può avere un TSH sierico basso ma un livello sierico di FT_4 normale; il paziente in questo caso ha una fisiologia tiroidea anormale, ma non è generalmente clinicamente ipertiroideo. Questo viene spesso definito o chiamato ipertiroidismo subclinico e questi pazienti hanno un maggiore rischio di diventare ipertiroidei.

TSH basso potrebbe essere il risultato di un nodulo tiroideo iperfunzionante, un gozzo multinodulare tossico o non tossico, o della età avanzata. Tuttavia in questi casi è necessario dosare anche il T_3 per svelare una eventuale tossicosi da T_3 .

Inoltre il TSH viene dosato per monitorare la terapia tireostatica sostitutiva e la TSH-soppressiva e per il monitoraggio funzionale dopo terapia con radio-iodio dopo chirurgia tiroidea.⁶

6) L'automazione nella patologia tiroidea.

9) Endocrinologia e metabolismo.

10) Essential Endocrinology, third edition.

3.2.1. Interferenze nel dosaggio del TSH

3.2.1.1. Effetti della matrice del campione

La reazione antigene-anticorpo avviene molto rapidamente in quanto è limitata solo dalla diffusione degli elementi di reazione. La velocità di diffusione effettiva, peraltro, può essere notevolmente ridotta se vi sono altre macromolecole nella miscela di reazione. I dosaggi del TSH vengono eseguiti su siero o plasma umano non diluito né estratto, nel quale ne sono presenti proteine sieriche come l'albumina, le globuline, le lipoproteine, l' α -macroglobulina e il fibrinogeno (questo ultimo ovviamente solo nel plasma), in grande quantità, rispetto ai livelli molto modesti del TSH. Data la complessità della struttura delle proteine, si formeranno inevitabilmente complessi, con una stabilità estremamente variabile, tra queste proteine e l'analita ormonale e l'anticorpo. Queste interazioni ritardano notevolmente i processi di diffusioni che portano alla formazione del complesso antigene-anticorpo e riducono la costante di affinità del legame ormone-anticorpo all'equilibrio. Questo effetto della matrice del campione può essere compensato utilizzando un volume uguale di siero privo di ormoni nella preparazione di campioni di riferimento.⁹

3.2.1.2. Anticorpi eterofili

In diversi protocolli terapeutici vengono talora utilizzati anticorpi monoclonali di topo, di modo che il paziente produrrà anticorpi diretti contro le gammaglobuline murine. Cimentare il siero di uno di questi pazienti con uno dei preparati di dosaggio disponibili in commercio, che impiegano comunemente anticorpi monoclonale murini, può dare luogo a una notevole interferenza con la reazione tra l'anticorpo monoclonale e l'ormone. Questi anticorpi possono essere presenti anche in pazienti non trattati precedentemente e dovrebbero essere presi in considerazione quando si cercano possibili spiegazioni alla base di risultati inattesi.⁹

3.2.1.3. Contaminanti enzimatici

La contaminazione microbiologica di campioni di sangue o di siero può essere dovuta a un'infezione del paziente oppure alla manipolazione o alla conservazione errata del campione. La degradazione in vitro di uno o più reagenti di dosaggio oppure dell'ormone stesso da parte di enzimi proteolitici presenti nel campione contaminato può essere la causa di un grossolano errore di misurazione. L'aggiunta di un agente batteriostatico come la sodioazide a tutte le soluzioni utilizzate nel dosaggio può ritardare il processo di proteolisi. Per evitare la contaminazione batterica è solitamente sufficiente manipolare rapidamente il campione e conservarlo a -20°C.⁹

3.2.1.4. Effetti emodinamici.

Le variazioni di pressione tra la posizione supina e quella eretta possono causare spostamenti dei liquidi intracorporei, con conseguenti modifiche del volume ematico e della concentrazione degli ormoni, che non diffondono liberamente attraverso l'endotelio capillare.⁹

3.3. EVOLUZIONE NELL'ANALISI DEL TSH

La metodica radioimmunologica di prima generazione per il TSH, usata in passato nella valutazione degli ipotiroidismi conclamati, aveva sensibilità piuttosto bassa e non riusciva a discriminare, per esempio, valori di TSH ancora nei limiti della norma da quelli già leggermente abbassati di alcuni ipertiroidismi.

Verso la meta degli anni '80 furono messi a punto le tecniche immunometriche chiamate di seconda generazione, le quali usano due anticorpi anti-TSH. Il primo di estrazione monoclonale, aggiunto in eccesso e legato ad una fase solida, estrae il TSH dal campione

9) Endocrinologia e metabolismo.

di siero in modo estremamente selettivo, essendo diretto specificamente contro la sub-unità β ; il secondo anticorpo di estrazione monoclonale o policlonale è marcato con apposito tracciante il quale si lega successivamente ad un altro sito molecolare completando la reazione. Il TSH viene quindi intrappolato tra i due anticorpi (metodica sandwich). La quantità di anticorpo marcato rivelata in associazione al complesso rispecchia fedelmente il titolo in tireotropina del siero in esame.

A seconda del composto usato come tracciante anticorpale, le metodiche saranno radioimmunometriche usando lo I^{125} , immunofluorometriche usando fluoroflori, immunochemiluminometriche usando molecole chemiluminescenti.³

Più recentemente negli anni 90 sono stati introdotti i metodi di terza generazione i quali sono ultrasensibili e permettono l'estensione routinaria del dosaggio del TSH anche ai pazienti portatori di atipie sierologiche variamente associate ad affezioni extra-tiroidee.³

3.3.1. Classificazione del dosaggio del TSH

La classificazione dei dosaggi del TSH è basata sulla sensibilità funzionale piuttosto che su quella analitica. La sensibilità funzionale per il TSH viene definita come la più bassa concentrazione alla quale il dosaggio è capace di mantenere il coefficiente di variazione tra dosaggi intorno al 20% o meno.⁶

3.3.1.1. Generazioni del TSH

Generazione	Sensibilità funzionale
Prima	1-2 μ IU/mL
Seconda	0.1-0.2 μ IU/mL
Terza	0.01-0.02 μ IU/mL

- La sensibilità funzionale dei dosaggi di prima generazione cade all'interno del range eutiroidico permettendo solamente la determinazione dei livelli di TSH medio-normali sino a quelli elevati.
- Il dosaggio di TSH di seconda generazione, più sensibile, permette di estendere verso il basso lo studio nella regione dei valori di TSH soppressi.
- Il dosaggio di TSH di terza generazione estende il range funzionale un ordine di grandezza più basso nella regione dei valori di TSH estremamente ridotti (vedasi fig.2).

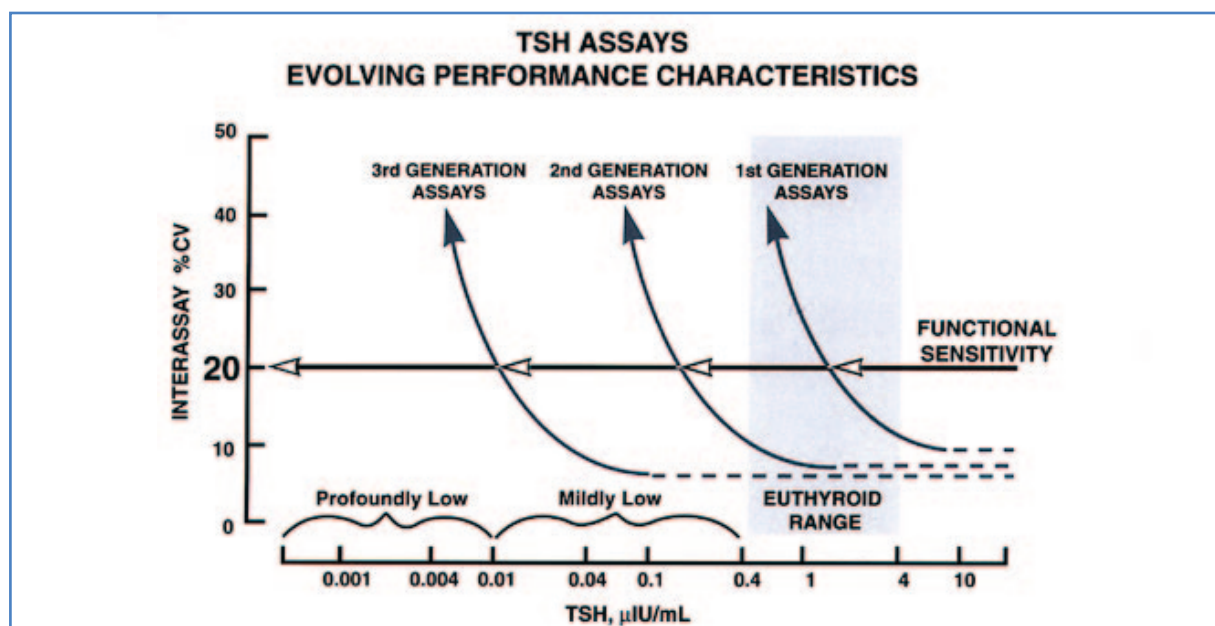


Figura 2. Evoluzioni del dosaggio del TSH ⁴

3) Fisiopatologia della tiroide.

4) Immulite. Evolution of TSH Assays: A Third Generation Viewpoint.

6) L'automazione nella patologia tiroidea.

4. OBIETTIVO

La realizzazione di questo lavoro è indirizzata alla valutazione di fattibilità della impostazione del metodo di terza generazione per l'analisi del TSH su apparecchiature Vidas, in sostituzione del metodo TSH di seconda generazione utilizzato al momento nei casi d'urgenza nei laboratori dell'Ente Ospedaliero Cantonale.

Il cambiamento di metodo analitico comporterebbe una maggiore sensibilità funzionale in considerazione del fatto che il dosaggio del TSH di terza generazione possiede una sensibilità funzionale da 0.01 $\mu\text{IU/mL}$ a 0.02 $\mu\text{IU/mL}$ a differenza del test di TSH seconda generazione che mostra una sensibilità funzionale da 0.1 $\mu\text{IU/mL}$. a 0.2 $\mu\text{IU/mL}$.

Dal momento che pazienti con ipertiroidismo certo hanno concentrazioni sieriche di TSH sempre inferiori a 0.1 $\mu\text{IU/mL}$, con un dosaggio di terza generazione si potrebbe ottenere un risultato più preciso in questa tipologia di pazienti.

5. MATERIALI E METODI

5.1. METODO DI RIFERIMENTO

Il TSH Immulite di terza generazione, che come è stato dimostrato ha un limite di individuazione di 0,002 $\mu\text{IU/mL}$, fornisce una reale sensibilità di terza generazione lotto dopo lotto. In una valutazione indipendente, il dosaggio del TSH di terza generazione Immulite è stata dimostrata una sensibilità funzionale di 0,008 $\mu\text{IU/mL}$. Il profilo di precisione è stato ottenuto per un periodo di 30 giorni su 20 determinazioni di un pools di pazienti per il range di concentrazione del TSH. (vedasi fig.3)⁶

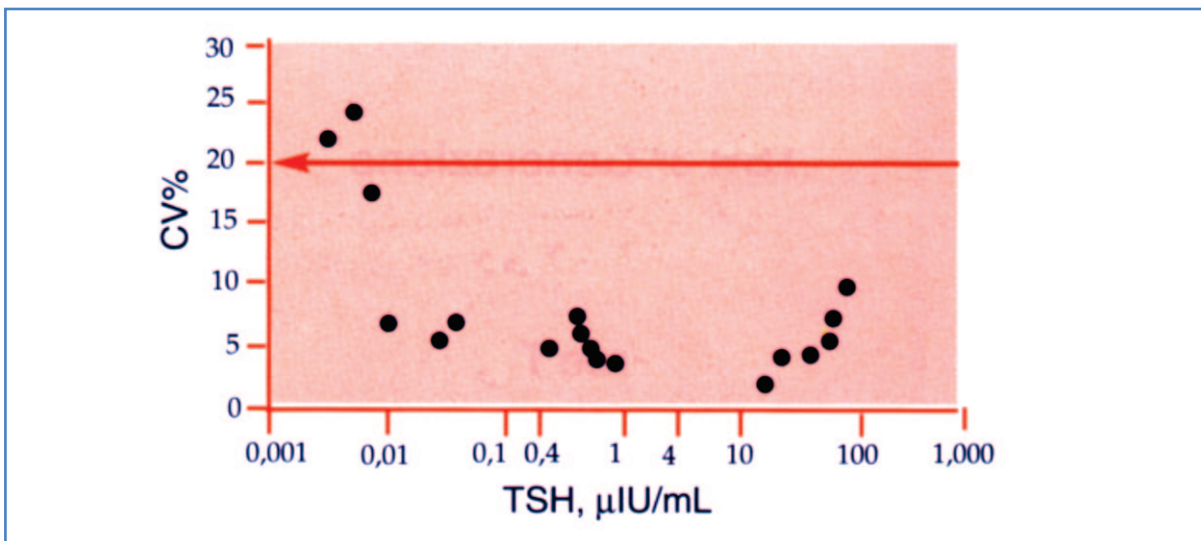


Figura 3. profilo di precisione Immulite 2000 TSH terza generazione⁶

5.2. METODO DI RICERCA

Con la finalità di dimostrare la funzionalità analitica del test di terza generazione per il TSH con il Vidas, mi è stato indicato da parte del Dr. Franco Keller di effettuare delle misurazioni con i test di seconda e terza generazione con apparecchiature Immulite 2000 e Vidas nella seguente forma:

1. Misurazioni dei campioni con il test di TSH terza generazione Immulite 2000, in doppio.
2. Misurazioni dei campioni con il test di TSH seconda generazione Vidas, in doppio.
3. Misurazioni dei campioni con il test di TSH terza generazione Vidas, in doppio.

In seguito eseguire tre confronti statistici così suddivisi:

1. TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH terza generazione Vidas.
2. TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH seconda generazione Vidas.
3. TSH seconda generazione Vidas e TSH terza generazione Vidas.

6) L'automazione nella patologia tiroidea.

5.3. CAMPIONI

Si sono misurati 40 campioni di siero, ottenuti dalle richieste di routine di TSH che arrivano ogni giorno al Laboratorio di Immunologia Clinica con sede all'Ospedale San Giovanni di Bellinzona. I campioni arrivano in provetta tappo marrone con gel, volume di 6 ml della BD Diagnostics

La raccolta è avvenuta tra il 31 gennaio e il 21 marzo 2005, il range dei campioni adatti al mio lavoro doveva essere situato tra 0,004 $\mu\text{IU/mL}$ e 10 $\mu\text{IU/mL}$, da misurazione Immulite 2000, questo con la finalità di potere comprovare la sensibilità analitica del test su pazienti con ipotiroidismo e con ipertiroidismo.

Nella scelta si è anche tenuto conto che i valori dei risultati dei campioni fossero rappresentativi dei tre livelli: basso, medio e alto di TSH.

5.3.1. Conservazioni dei campioni

Visto che non era evidente di poter ottenere tutti i 40 campioni che si necessitavano contemporaneamente, man mano che arrivava qualche campione con valori adatti alla mia ricerca, prelevavo 1,5 ml di siero in provette di plastica, davo a ogni campione la mia propria numerazione e lo congelavo a -20°C fino al momento della misurazione, che non poteva oltrepassare un mese dal giorno del prelievo.

5.3.2. Misurazione dei campioni

In una prima fase avvenuta il 23 e 24 di febbraio, ho potuto misurare i miei primi 34 campioni su sistema Vidas con il test di TSH seconda e terza generazione in doppio, e consecutivamente su Immulite 2000 con il test TSH di terza generazione, per ottenere così la seconda misurazione sull' Immulite 2000.

Pertanto tra la prima e la seconda misurazione del test di TSH terza generazione su Immulite 2000 è trascorso quasi un mese.

In seguito ho continuato a raccogliere i campioni per selezionare i 6 che mi mancavano e il 22 di marzo ho misurato questi ultimi campioni nella stessa forma che avevo usato misurare i primi 34 campioni.

Per la misurazioni dei campioni si sono rispettate le indicazioni delle metodiche dei kits:
Kit TSH terza generazione per Immulite 2000, Ditta DPC, USA,
Kit TSH seconda generazione per Vidas, Ditta Biomerieux, Francia,
Kit TSH terza generazione per Vidas, Ditta Biomerieux, Francia.

5.4. APPARECCHIATURE

5.4.1. Immulite 2000 della ditta DPC Los Angeles, CA 90045-5597, USA



Foto 1. Immulite 2000 LC-CIC. Sede OSG.

Principio di funzionamento:
Immunometrico in chemiluminescenza.
La reazione è generata dall'interazione tra il reagente marcato con fosfatasi alcalina ed il substrato Adamantil Dioxelano fosfato. L'anione instabile prodotto dalla reazione determina un'emissione di luce, la cui intensità è tale per cui sono sufficienti solo pochissime moli di marcato per generare segnale discriminabile.⁵

5.4.1.1. Kit TSH terza generazione per Immulite 2000, Ditta DPC, USA

Costo: Fr. 1.830. –
Contenuto per 600 test.
Inoltre Fr 760.- di substrato chemiluminescente per 2000 test.
Campione richiesto: siero
Volume: 75 μ L
Tempo di esecuzione: 60 minuti
Range di dosaggio: fino a 75 μ IU/mL
Calibrazione consigliata a intervalli di 4 settimane.⁶

Intervalli di riferimento (vedasi figura 4)

I Kits di TSH terza generazione per l'apparecchiatura Immulite, essendo questa analisi di routine nel laboratorio di Immunologia Clinica dell'Ospedale San Giovanni di Bellinzona, erano già disponibili.

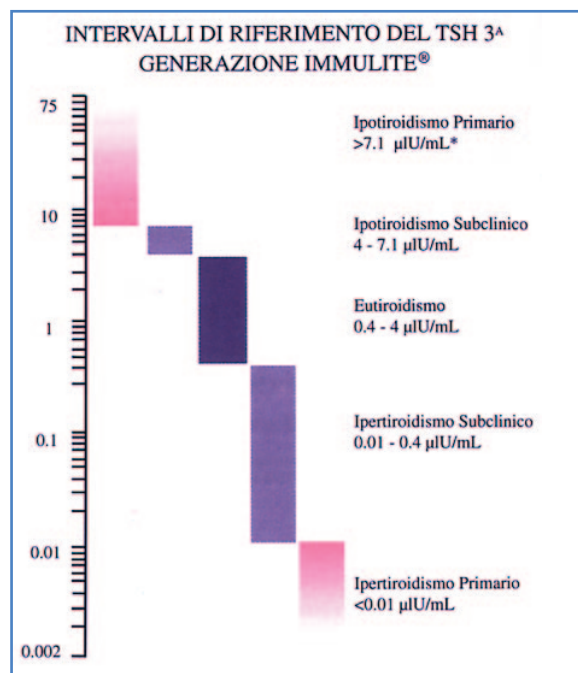


Figura 4. Intervalli di riferimento ⁶

5) Immulite 2000, Guida dell'operatore.

6) L'automazione nella patologia tiroidea.

5.4.2. VIDAS della ditta Biomerieux sa, Marcy l'Etoile, Francia



Foto 2. Vidas. Sede OSG.

Principio di funzionamento:
ELFA, il quale associa un metodo immuno-enzimatico a sandwich in una fase ad una rivelazione finale in fluorescenza.⁷

5.4.2.1. Kits

Kit TSH seconda generazione per Vidas

Costo Fr. 279.- per 60 test.

Campione richiesto: siero o plasma

Volume richiesto: 200 μ l.

Tempo di esecuzione: circa 40 minuti

Valori di riferimento per:

Eutiroidismo: 0,27 – 4,7 μ U/mL

Iperitiroidismo: < 0,27 μ U/mL

Ipotiroidismo: > 4,7 μ U/mL

La calibrazione viene effettuata ogni 14 giorni.⁸

Kit TSH terza generazione per Vidas

Costo Fr. 390.- per 60 test

Campione richiesto: siero o plasma

Volume richiesto: 200 μ l

Tempo di esecuzione: 80 minuti

Valori di riferimento

Eutiroidismo: 0,25 – 5 μ U/mL

Iperitiroidismo: < 0,15 μ U/mL

Ipotiroidismo: > 7 μ U/mL(1)

La calibrazione viene effettuata ogni 14 giorni.⁷

Tra gli altri materiali utilizzati:

centrifuga, pipette, provette, congelatore, supporto informatico.

Per l'ottenimento dei Kits del TSH di terza e seconda generazione per l'apparecchiatura Vidas, ho avuto la collaborazione del Signor Roberto Francesconi, capo laboratorio che li ha ordinati alla ditta Biomerieux, Ginevra.

7) Scheda tecnica di uso TSH seconda generazione Vidas.

8) Scheda tecnica di uso TSH terza generazione Vidas.

6. RISULTATI

Nella tabella a pagina 15 sono riportati i risultati dei 40 campioni misurati. Nella prima colonna si può notare che ad ogni campione è stato assegnato un numero dall'1 al 40. Nella seconda colonna è indicato il sesso, dalla quale risulta che abbiamo analizzato 29 campioni di sesso femminile e 11 di sesso maschile, l'età dei pazienti varia tra 24 e 96 anni.

In seguito ci sono i risultati delle misurazioni in doppio dell'Immolute 2000 con il test TSH di terza generazione. L'unità di misura dei risultati è $\mu\text{IU/mL}$ (la quale nella tabella viene indicata come u. di misura). I campioni sono stati messi in ordine ascendente dei risultati ottenuti nella prima misurazione con Immolute 2000, e vanno da 0.004 a 7.820 $\mu\text{IU/mL}$. Come si può notare ci sono campioni ipertiroidici primari, eutiroidici e ipotiroidici primari. (vedi Intervalli di riferimento, figura 4, pag. 12).

Si può vedere che nella seconda misurazione con Immolute 2000 i primi 3 campioni danno un risultato indicativo $<0.004 \mu\text{IU/mL}$ questo indica che il risultato reale sarebbe inferiore a questo limite, però la sensibilità analitica di questo test arriva solo fino a 0.004 $\mu\text{IU/mL}$. Questi tre risultati sarebbero dunque più bassi di quelli ottenuti con la prima misurazione, si deve tenere conto che è trascorso quasi un mese tra una misurazione e l'altra e che comunque in una stadiazione di un stato tiroideo i campioni sono sempre situati nel range di ipertiroidismo primario.

In sintesi posso dire che guardando i risultati delle due misurazioni del TSH di terza generazione effettuati con Immolute 2000, i risultati della prima misurazione sono tendenzialmente più alti a confronto dei risultati ottenuti nella seconda misurazione, una tendenza presente soprattutto nei campioni ipertiroidici.

In seguito troviamo i risultati delle misurazioni in doppio con Vidas TSH di seconda generazione, l'unità di misura dei risultati è $\mu\text{IU/mL}$. In queste misurazioni si può notare che i primi 10 campioni (ad eccezione del campione n°4 nella seconda misurazione) presentano solo un valore indicativo $<0.05 \mu\text{IU/mL}$ ciò significa che il test non riesce ad individuare valori sotto questo limite, il che dimostra che è veramente un test di seconda generazione. Si può comunque notare che i risultati correlano tra loro.

I risultati del test TSH di seconda generazione Vidas sono tendenzialmente più alti di quelli ottenuti col test di TSH di terza generazione Immolute 2000.

Successivamente ci sono i risultati delle misurazioni Vidas TSH terza generazione, unità di misura $\mu\text{IU/mL}$. Come si può vedere i primi 3 campioni presentano un valore indicativo di $<0.005 \mu\text{IU/mL}$ il limite di determinazione del test. Ciò dimostra la sua vera sensibilità analitica di terza generazione, le due misurazioni di questa generazione correlano tra loro, come pure con i risultati ottenuti nella misurazione di seconda generazione Vidas. Parimenti a quelli ottenuti con la seconda generazione Vidas i risultati sono più alti di quelli ottenuti con Immolute 2000.

Ogni campione è stato misurato 6 volte, per un totale di 240 misurazioni.

6.1 TABELLA DEI RISULTATI TSH IMMULITE 2000 E VIDAS

Campione	Sesso	Anni	Immulite 2000		Vidas				
			TSH		TSH		TSH		
			U. di misura	Terza Generazione µIU/mL	U. di misura	Seconda Generazione µIU/mL	U. di misura	Terza Generazione µIU/mL	U. di misura
		Prima misurazione	Seconda misurazione	Prima misurazione	Seconda misurazione	Prima misurazione	Seconda misurazione	Prima misurazione	Seconda misurazione
1	Femmina	70	0.004	<0.004	<0.05	<0.05	0.005	<0.005	
2	Maschio	75	0.008	<0.004	<0.05	<0.05	<0.005	<0.005	
3	Femmina	24	0.012	<0.004	<0.05	<0.05	<0.005	<0.005	
4	Femmina	81	0.018	0.025	<0.05	0.07	0.048	0.053	
5	Femmina	46	0.024	0.011	<0.05	<0.05	0.005	0.007	
6	Femmina	36	0.026	0.015	<0.05	<0.05	0.016	0.021	
7	Femmina	77	0.038	0.017	<0.05	<0.05	0.026	0.105	
8	Femmina	54	0.039	0.036	<0.05	<0.05	0.035	0.043	
9	Femmina	69	0.040	0.029	<0.05	<0.05	0.025	0.025	
10	Femmina	57	0.044	0.044	<0.05	<0.05	0.050	0.048	
11	Femmina	53	0.045	0.045	0.100	0.120	0.105	0.108	
12	Femmina	73	0.148	0.134	0.100	0.140	0.118	0.131	
13	Femmina	67	0.197	0.192	0.260	0.270	0.266	0.269	
14	Maschio	24	0.278	0.261	0.210	0.260	0.273	0.283	
15	Femmina	26	0.299	0.290	0.320	0.350	0.344	0.355	
16	Femmina	44	0.376	0.353	0.370	0.410	0.426	0.468	
17	Femmina	59	0.393	0.371	0.440	0.440	0.386	0.390	
18	Femmina	77	0.396	0.404	0.460	0.410	0.483	0.468	
19	Femmina	63	0.418	0.438	0.650	0.740	0.599	0.618	
20	Maschio	85	0.459	0.429	0.510	0.660	0.602	0.611	
21	Maschio	71	0.471	0.463	0.670	0.660	0.630	0.616	
22	Maschio	64	0.571	0.577	0.530	0.640	0.528	0.644	
23	Maschio	70	1.150	1.210	1.430	1.480	1.311	1.238	
24	Femmina	88	1.600	1.520	1.400	1.670	1.390	1.560	
25	Femmina	47	2.000	2.060	2.170	2.200	2.137	2.072	
26	Femmina	78	2.960	3.040	3.400	3.420	2.838	3.330	
27	Maschio	61	3.160	3.050	4.060	3.920	3.684	4.139	
28	Femmina	83	3.480	3.900	3.910	4.910	3.657	4.466	
29	Femmina	75	4.020	4.120	4.280	5.050	4.464	5.175	
30	Femmina	40	4.130	7.550	9.050	9.610	8.874	9.207	
31	Femmina	65	4.170	4.420	5.610	4.950	4.798	4.673	
32	Femmina	86	4.910	5.600	6.440	6.090	5.453	6.133	
33	Maschio	82	5.010	5.140	6.310	6.120	5.386	5.461	
34	Femmina	65	5.890	6.160	7.910	7.600	6.579	6.711	
35	Femmina	58	6.240	10.300	9.310	10.760	10.307	10.830	
36	Maschio	53	6.300	6.770	8.330	10.430	9.899	10.870	
37	Maschio	89	6.820	6.630	8.150	9.700	8.917	9.220	
38	Femmina	70	7.080	7.560	8.400	9.560	8.668	9.154	
39	Femmina	84	7.370	7.900	9.240	10.490	9.549	10.857	
40	Maschio	96	7.820	7.970	9.910	8.970	8.744	9.036	

Le misurazioni sono state effettuate in doppio per ottenere una media, una deviazione standard, per potere ottenere la varianza delle misure.

In seguito si sono fatti dei confronti statistici con tre metodi diversi:

- ANOVA metodo statistico per determinare la varianza
se $P > 0.05$, si accetta l' ipotesi 0.
- Bias plot grafico dello scostamento
- Deming metodo statistico per la regressione

6.2. CONFRONTI

6.2.1. TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH terza generazione Vidas

Per questo confronto si sono utilizzati 37 campioni della tabella 1 a pagina 15, in quanto i primi tre campioni presentavano un valore solo indicativo, mentre per la statistica si necessita di valori determinati.

Campione	comparazione del TSH			
	Immolute TSH3a		Vidas TSH3a	
1	0,018	0,025	0,048	0,053
2	0,024	0,011	0,005	0,007
3	0,026	0,015	0,016	0,021
4	0,038	0,017	0,026	0,105
5	0,039	0,036	0,035	0,043
6	0,040	0,029	0,025	0,025
7	0,044	0,044	0,050	0,048
8	0,045	0,045	0,105	0,108
9	0,148	0,134	0,118	0,131
10	0,197	0,192	0,266	0,269
11	0,278	0,261	0,273	0,283
12	0,299	0,290	0,344	0,355
13	0,376	0,353	0,426	0,468
14	0,393	0,371	0,386	0,390
15	0,396	0,404	0,483	0,468
16	0,418	0,438	0,599	0,618
17	0,459	0,429	0,602	0,611
18	0,471	0,463	0,630	0,616
19	0,571	0,577	0,528	0,644
20	1,150	1,210	1,311	1,238
21	1,600	1,520	1,390	1,560
22	2,000	2,060	2,137	2,072
23	2,960	3,040	2,838	3,330
24	3,160	3,050	3,684	4,139
25	3,480	3,900	3,657	4,466
26	4,020	4,120	4,464	5,175
27	4,130	7,550	8,874	9,207
28	4,170	4,420	4,798	4,673
29	4,910	5,600	5,453	6,133
30	5,010	5,140	5,386	5,461
31	5,890	6,160	6,579	6,711
32	6,240	10,300	10,307	10,830
33	6,300	6,770	9,899	10,870
34	6,820	6,630	8,917	9,220
35	7,080	7,560	8,668	9,154
36	7,370	7,900	9,549	10,857
37	7,820	7,970	8,744	9,036

ANOVA

Comparazione del TSH	n	Media	SD	SE		
Immolute 3a	74	2,5328	2,8727	0,33395		
Vidas 3a	74	3,1218	3,6697	0,42659		
					F	p
					26,49	<0.0001

n = il numero di campioni analizzati
 Media = la media delle 74 misurazioni.
 SD = la deviazione standard
 SE = l'errore standard

F = la Varianza
 P = la probabilità
 I3a = Immolute 3a generazione
 V3a = Vidas 3a generazione

Ipotesi 0: metodo I3a e metodo V3a, non sono diversi. Vero o falso?

Con F = 26.49 e P < 0.001 si nega l'ipotesi 0; dunque i due metodi sono diversi.

BIAS PLOTS

n: 37

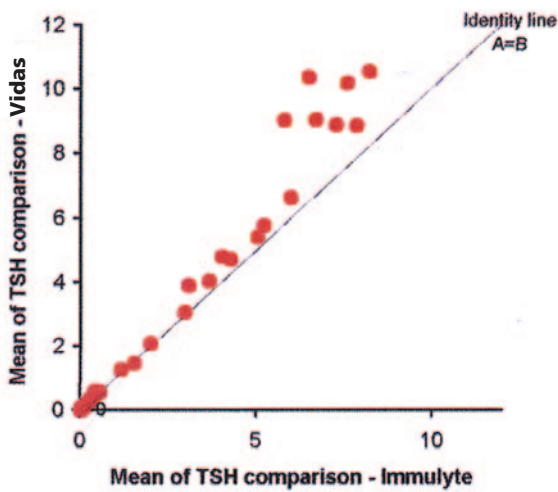
Bias 0.5891

95% CI 0.2235 a 0.9546

n. = il numero di campioni.

Bias. = scostamento

95% CI. = intervallo di confidenza



Se 95% CI è superiore a 0, Bias è veramente superiore a 0, ed i due metodi sono diversi.

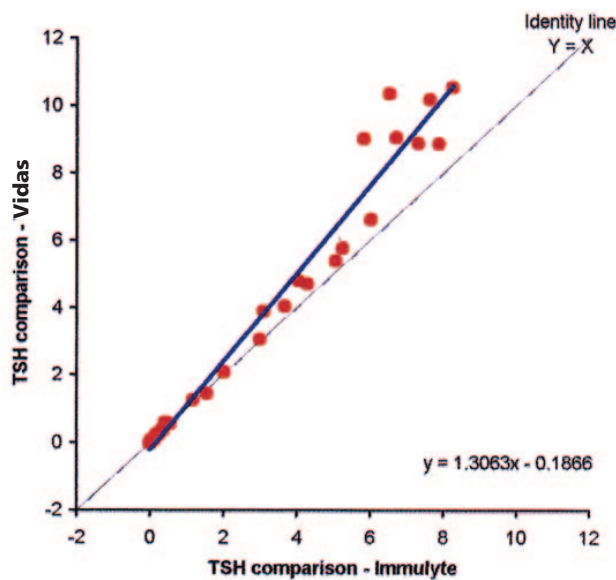
DEMING

N:37

Imprecisione DS 0.6348

Raggio di variazione 5.3036

	Coefficiente	SE	95% CI
Intercetta	- 0.1866	0.1413	- 0.4735 a 0.1003
Pendenza	1.3063	0.0373	1.2305 a 1.3820



Siccome 95% CI intercetta comprende 0, l'intercetta non è statisticamente un valore diverso da 0. Con una pendenza di 1.3063 i due metodi sono diversi. I risultati del Vidas terza generazione tendono sull'alto in rapporto a quelli del Immulite terza generazione che sono più bassi. Bias proporzionale man mano che i valori si innalzano, si disperdono.

6.2.2. TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH Seconda generazione Vidas

Per questo confronto ci sono utilizzati solo gli ultimi 30 campioni della tabella 1 a pagina 15, in quanto i primi dieci campioni presentavano un valore solo indicativo, mentre per la statistica si necessita di valori determinati.

Campione	Comparazione del TSH			
	Immuline TSH3a		Vidas TSH2a	
1	0,045	0,045	0,100	0,120
2	0,148	0,134	0,100	0,140
3	0,197	0,192	0,260	0,270
4	0,278	0,261	0,210	0,260
5	0,299	0,290	0,320	0,350
6	0,376	0,353	0,370	0,410
7	0,393	0,371	0,440	0,440
8	0,396	0,404	0,460	0,410
9	0,418	0,438	0,650	0,740
10	0,459	0,429	0,510	0,660
11	0,471	0,463	0,670	0,660
12	0,571	0,577	0,530	0,640
13	1,150	1,210	1,430	1,480
14	1,600	1,520	1,400	1,670
15	2,000	2,060	2,170	2,200
16	2,960	3,040	3,400	3,420
17	3,160	3,050	4,060	3,920
18	3,480	3,900	3,910	4,910
19	4,020	4,120	4,280	5,050
20	4,130	7,550	9,050	9,610
21	4,170	4,420	5,610	4,950
22	4,910	5,600	6,440	6,090
23	5,010	5,140	6,310	6,120
24	5,890	6,160	7,910	7,600
25	6,240	10,300	9,310	10,760
26	6,300	6,770	8,330	10,430
27	6,820	6,630	8,150	9,700
28	7,080	7,560	8,400	9,560
29	7,370	7,900	9,240	10,490
30	7,820	7,970	9,910	8,970

ANOVA

Comparazione del TSH	n	Media	SD	SE		
Immuline 3a	60	3,1170	2,8942	0,37364		
Vidas 2a	60	3,9327	3,7219	0,48050		
					F	p
					35,98	<0.0001

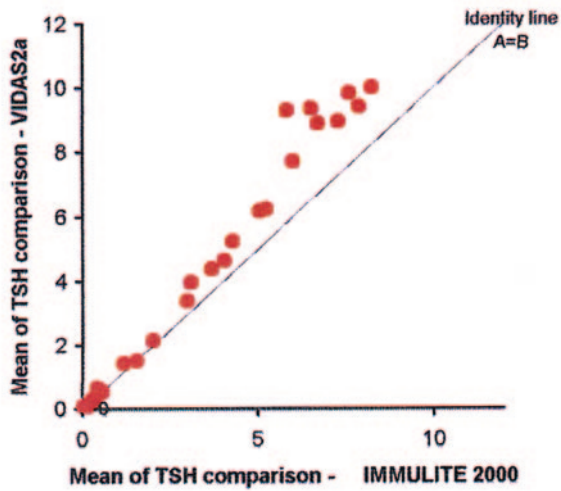
Ipotesi 0: metodo I3a e metodo V2a, non sono diversi. Vero o falso?
 Con F = 35.98 e P < 0.001 si nega l'ipotesi 0, i due metodi sono diversi.

BIAS PLOTS

n:30

Bias 0.8157

95% CI 0.3965 a 1.2349



Se 95% CI è superiore a 0, Bias è veramente superiore a 0, ed i due metodi sono diversi.

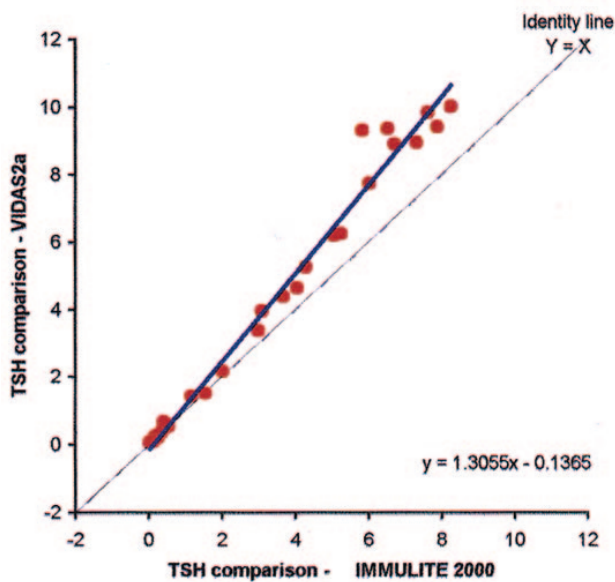
DEMING

n:30

Imprecisione DS 0.7050

Radio di variazione 1.9299

	Coefficiente	SE	95% CI
Intercetta	- 0.1365	0.1352	- 0.4135 a 0.1404
Slope	1.3055	0.0321	1.2397 a 1.3713



Con una pendenza di 1.3055 i due metodi sono diversi.

I risultati del Vidas hanno sempre la tendenza sull'alto in relazione a quelli dell'Immulate.

6.2.3. TSH seconda generazione Vidas e TSH terza generazione Vidas.

Per questo confronto si sono utilizzati 30 campioni, sono stati esclusi i primi 10 campioni della tabella 1 a pagina 15.

Comparazione del TSH				
Campione	Vidas TSH2a		Vidas TSH3a	
1	0,100	0,120	0,105	0,108
2	0,100	0,140	0,118	0,131
3	0,260	0,270	0,266	0,269
4	0,210	0,260	0,273	0,283
5	0,320	0,350	0,344	0,355
6	0,370	0,410	0,426	0,468
7	0,440	0,440	0,386	0,390
8	0,460	0,410	0,483	0,468
9	0,650	0,740	0,599	0,618
10	0,510	0,660	0,602	0,611
11	0,670	0,660	0,630	0,616
12	0,530	0,640	0,528	0,644
13	1,430	1,480	1,311	1,238
14	1,400	1,670	1,390	1,560
15	2,170	2,200	2,137	2,072
16	3,400	3,420	2,838	3,330
17	4,060	3,920	3,684	4,139
18	3,910	4,910	3,657	4,466
19	4,280	5,050	4,464	5,175
20	9,050	9,610	8,874	9,207
21	5,610	4,950	4,798	4,673
22	6,440	6,090	5,453	6,133
23	6,310	6,120	5,386	5,461
24	7,910	7,600	6,579	6,711
25	9,310	10,760	10,307	10,830
26	8,330	10,430	9,899	10,870
27	8,150	9,700	8,917	9,220
28	8,400	9,560	8,668	9,154
29	9,240	10,490	9,549	10,857
30	9,910	8,970	8,744	9,036

ANOVA

TSH comparison	n	Mean	SD	SE		
Vidas 2a	60	3.9327	3.7219	0.48050		
Vidas 3a	60	3.8418	3.7250	0.48089		
					F	p
					1,49	0.2256

Ipotesi 0: metodo V2a e metodo V3a, non sono diversi. Vero o falso?

Con F= 1.49 e P= 0.2256 si accetta l'ipotesi, i due metodi non sono diversi.

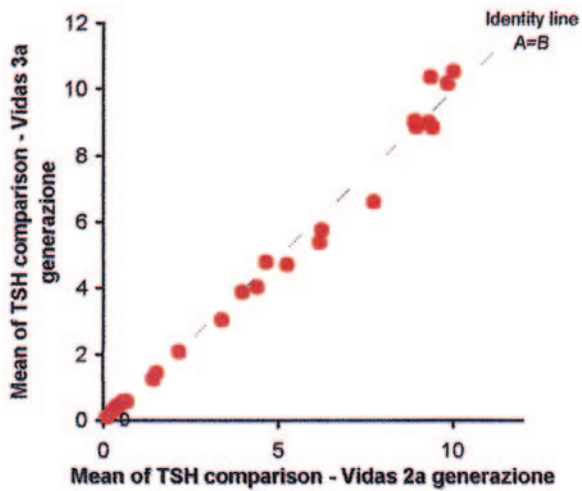
Se P > 0.05 si accetta l'ipotesi 0. I due metodi sono uguali.

BIAS PLOTS

n:30

Bias -0.0909

95% CI -0.2930 a 0.1113



Se 95% CI è inferiore a 0, Bias è veramente inferiore a 0, ed i due metodi sono uguali.

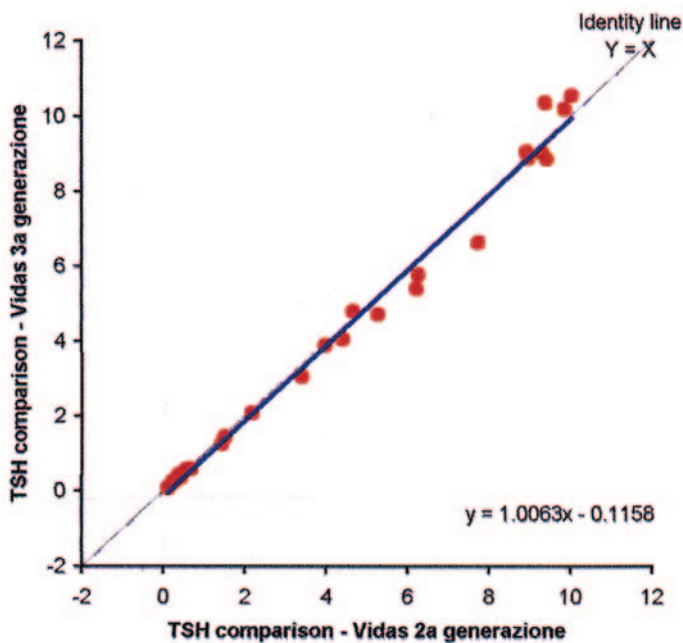
DEMING

n:30

Imprecisione DS 0.5075

Radio di variazione 2.7512

	Coefficiente	SE	95% CI
Intercetta	- 0.1158	0.1052	- 0.3314 a 0.0998
Slope	1.0063	0.0196	0.9663 a 1.0464



Con una pendenza di 1.0063 i due metodi sono uguali.

7. DISCUSSIONE

7.1. RISULTATI

I risultati ottenuti dalle misurazioni in doppio sull'Immuline 2000 TSH terza generazione correlano. Nelle misurazioni degli stessi campioni con il Vidas di seconda e di terza generazione, i risultati sono in generale più alti in ambedue le generazioni ma correlano tra loro. Abbiamo notato che il range dei valori di riferimento per il TSH Vidas seconda e terza generazione è più ampio, ciò potrebbe spiegare in parte il perché di questa tendenza a dare risultati più alti.

Ciò dimostra che si tratta di metodi diversi per fare un bilancio della funzionalità tiroidea. Infatti un campione analizzato con il metodo TSH terza generazione Immuline 2000 con un risultato di 4.5 $\mu\text{IU/mL}$ entra nel rango ipotiroideo $> 4 \mu\text{IU/mL}$, lo stesso campione analizzato con una delle due generazioni di TSH Vidas entrerebbe nel rango definito come di eutiroidismo.

Con lo scopo di sapere il perché di questa differenza di risultati abbiamo preso contatto con il Signor Rodolphe Gerber della ditta Bühlmann Laboratories AG di Schönenbuch, Svizzera (rappresentante della DPC con sede a Los Angeles, USA) per Immuline 2000 e con la Signora Nathalie Grau della ditta Biomerieux di Ginevra, per Vidas.

Il Signor Rodolphe Gerber ci ha confermato questa differenza nelle misurazioni tra Vidas e Immuline con la seguente nota trasmessa via mail il giorno 24 marzo 2005:

“Concernente la differenza di dosaggio della TSH su Vidas e Immuline, posso per ora confermare questa tendenza nel Controllo di qualità, nell'ordine del 10% fino al 15%.”

Ci ha anche informato di non aver mai effettuato confronti su campioni tra Immuline 2000 e Vidas

Allo stesso tempo la rappresentante della ditta Biomerieux Signora Nathalie Grau ci ha informato che questa discrepanza dei risultati può essere dovuta all'interferenza da parte di anticorpi eterofili nel siero del paziente che possono interagire contro qualche componente del reattivo i quali portano frequentemente ad innalzamenti fittizi del TSH.

Osservazione che ho trovato poco attendibile. Ritengo poco probabile la presenza di questi anticorpi in tutti campioni misurati.

Inoltre ci possono essere altri possibili fattori di interferenza come ad esempio anticorpi anti TSH, patologie non tiroidee, ipopituitarismo anteriore, e la sindrome della resistenza all'ormone tiroideo.¹²

È importante determinare un fattore di conversione per i risultati ottenuti con uno o l'altro sistema, affinché, determinato il risultato con uno dei metodi si possa approssimativamente determinare quello con l'altro metodo.

Abbiamo provato con due metodi:

TSH terza generazione Immuline 2000 e TSH terza generazione Vidas, ed abbiamo trovato nel caso specifico con il sistema statistico Deming la seguente formula:

$$y = 1,3063 x - 0,1866$$

Dove “y” rappresenta le misurazioni con il Vidas, e “x” quelle con Immuline 2000. Ad esempio nel confronto 6.2.1 prendiamo il campione 20, prima misurazione con Immuline 2000 TSH3a = 1,150 e vogliamo sapere approssimativamente quanto sarebbe il risultato dello stesso campione se misurato con Vidas TSH3a:

$$y = 1,3063 (1,150) - 0,1866 = 1.315$$

12) www.medicalsystem.it

7.2. COSTI

Valutazione dei costi delle analisi del TSH con le diverse generazioni

Apparecchio e metodo	Costo del kit	Test contenuti	costo per analisi	costo totale analisi	+7.6% IVA	Totale
Immulite 2000 TSH 3za generaz.	Fr. 1830.- Più Fr.760.- di susbtrato	: 600 : 2000	= 3,05.- = 0,38.-	} Fr. 3,43.-	+ Fr. 0,26.-	= Fr. 3,69.-
VIDAS TSH 2da generaz.	Fr. 279.-	: 60	=			
VIDAS TSH 3za generaz.	Fr. 390.-	: 60	=	Fr. 6,50.-	+ Fr. 0,49.-	= Fr. 6,99.-

Si può notare la differenza dei costi tra i diversi metodi e apparecchiature:

- TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH seconda generazione Vidas
I costi dell'analisi con Immulite sono inferiori a quelli con Vidas del 26%.
- TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH terza generazione Vidas
I costi dell'analisi con Immulite sono inferiori a quelli con Vidas del 47%.
- TSH seconda generazione Vidas e TSH terza generazione Vidas
I costi dell'analisi con la seconda generazione sono inferiori in relazione a quelli della terza generazione del 29%.

La differenza dei costi tra TSH seconda generazione Vidas e TSH terza generazione Vidas è ca. del 29%, il cambiamento comporterebbe dunque un aumento dei costi per L'ente Ospedaliero Cantonale.

Comunque questo nuovo metodo apporterebbe una maggiore sensibilità analitica e conseguentemente una diagnosi più precisa.

8. CONCLUSIONE

Una volta eseguite le misurazioni ed i confronti come descritto nel metodo di ricerca abbiamo potuto comprovare che il test di TSH terza generazione Vidas offre un'effettiva sensibilità analitica di terza generazione, avendo individuato risultati con valori di TSH fino a 0.005 μ IU/mL.

I risultati ottenuti con i metodi Vidas sono più alti in relazione a quelli ottenuti con Immulite, pertanto come raccomanda la Biomerieux questi risultati devono essere interpretati nel quadro di un profilo clinico completo, in caso di discordanza, questo bilancio deve essere completato con il dosaggio degli ormoni tiroidei.

La statistica ci ha confermato che il metodo di misurazione del TSH di terza generazione Immulite 2000 ed i due metodi TSH seconda e terza generazione Vidas sono diversi, mentre i due metodi di determinazione del TSH effettuati con Vidas seconda e terza generazione non sono diversi fra loro.

Visto che TSH terza generazione Immulite 2000 e TSH 3a generazione Vidas sono due metodi diversi sarebbe indicato fare uso del fattore di conversione, per avere un'indicazione approssimativa dei possibili risultati ottenibili con l'altro metodo; tale fattore sarebbe :

$$y = 1,3063 x - 0,1866. \quad y = \text{misurazioni Vidas} \quad x = \text{misurazioni Immulite 2000}$$

Per una decisione definitiva di introduzione del metodo di terza generazione TSH Vidas nei laboratori dell'Ente Ospedaliero Cantonale, si dovrà monitorare entro un certo lasso di tempo, la frequenza di campioni ipertiroidei primari che arrivano per urgenze nei laboratori.

Se la frequenza sarà considerevole l'adozione del sistema Vidas di 3a generazione potrebbe rivelarsi auspicabile.

9. LESSICO

- Eutiroidismo: Funzionamento normale della tiroide
- Ormonogenesi: Sintesi ormonale
- Ormone: Sostanza secreta da una ghiandola endocrina nel sistema circolatorio agisce su un tessuto bersaglio.
- Ritmi circadiani: Bioritmo caratterizzato da una periodicità di circa 24h scandita da un orologio interno regolato sia da fattori ambientali che fisiologici.
- Secrezione: Processo per mezzo del quale una sostanza viene rilasciata da una cellula.
- Tireociti: cellule della tiroide.
- Tireotrope: Cellule dell'adenoipofisi che secernono l'ormone che stimola la tiroide.
- Tossicosi: Condizione patologica associata o causata da un'avvelenamento, viene detta endogena se è causata da tossici che si formano nell'organismo, esogena se è conseguenza all'assunzione esterna di sostanze tossiche contenute soprattutto negli alimenti.
- Trofismo: disturbo funzionale delle ghiandole endocrine

10. BIBLIOGRAFIA GENERALE

- 1 Anatomia & fisiologia ,*Gary A. Thibodeau e Kevin T. Patton*. Terza edizione. Casa Editrice Ambrosiana. 2000
- 2 Fisiopatologia dell'asse Ipotalamo-Ipofisi-Tiroideo, *a cura di P.Beck – Pecozz e D.Preziati*. Istituto di scienze endocrine, Ospedale Maggiore IRCCS, Milano, edito da Boehringer Mannheim Diagnostic. Italia, 1997.
- 3 Fisiopatologia della tiroide. *Abbot divisione Diagnostic, Prof. John T. Nicoloff, University of South California*.
- 4 Immulite. Evolution of TSH Assays: A Third Generation Viewpoint. *Dr. Peter Bodlaender*, Ph.D. Technical Director DPC 1993.
- 5 Immulite 2000, Guida dell'operatore. Diagnostics Products Corporation Conforme a normativa ISO 9001, certificazione giugno 2001.
- 6 L'automazione nella patologia tiroidea. *A cura di Dr. Luca Giovanella*, Laboratorio di endocrinologia, medicina nucleare ospedale del circolo e fondazione Macchi, Varese. Edito da Medical Systems, Genova, 1999.
- 7 Scheda tecnica di uso TSH seconda generazione Vidas, versione italiana, Biomerieux, Marcy- l'Etoile, Francia, 2003.
- 8 Scheda tecnica di uso TSH terza generazione Vidas, versione Italiana, Biomerieux, Marcy- l'Etoile, Francia, 2004.
- 9 Endocrinologia e metabolismo, *Philip Felig, John D.Baxter, Lawrence A. Frohman*, Edito da Mc Graw-Hill, terza edizione italiana, 1997
- 10 Essential Enocrinology, third edition, *John Laycock and Peter Wise*, Oxford Universitypress.
- 11 Istologia umana, seconda edizione, *Alan Stevens e James lowe*, Casa editoriale Ambrosiana.
- 12 www.medicalsystem.it

11. RINGRAZIAMENTI

Innanzitutto un ringraziamento alla Scuola Superiore Medico Tecnica di Locarno, al Direttore Alessandro Arcidiacono e a tutto lo staff di insegnanti per avermi concesso la possibilità e la fiducia necessaria per poter svolgere questa interessante formazione professionale.

Ai seguenti specialisti per la preziosa consulenza:

Dr. Franco Keller, Supervisione generale

Dr. Marco Balerna, Statistica

Professore Andrea Boffini, Metodologia

Sig: Roberto Francesconi, Logistica

Dr. Giovanni Togni, Metodologia e Chimica Clinica

Docente Daniela Marcacci, Supervisore scolastico

Ai laboratoristi Medici del Laboratorio Centrale e Laboratorio di Immunologia Clinica, Ospedale San Giovanni di Bellinzona, in particolare :

Maria Grazia Demma e Michela Lomazi per la loro disponibilità nelle misurazioni.

Hans Heuser e Franca Musso per l'apporto di letteratura professionale,

La Dr. Daniela Foletta, Anamedica SA, per l'apporto di letteratura professionale.

Un ringraziamento particolare a mio marito Lucas Häfliger per il suo appoggio e comprensione in tutti i momenti, incondizionatamente.