

# NOKLUS fagmøte

Interferens i tyreoidea assay

# Hormonlaboratoriet - Aker sykehus

Analyser årlig : ca. 16.000 TSH, 16.000 FT4, 11.000 FT3, 12.000 TRAS og 9000 Anti-TPO

Prøver kommer hovedsakelig fra:

- Tyreoideapoliklinikken Aker sykehus
- Allmennpraktikere i Oslo området

**Prøver kommer fra hele Norge for kontroll av:**

**«rare» tyreoidea-svar**

60 % av norske sykehus bruker Roche (ECLIA) tyreoidea assays

Hormonlaboratoriet får prøver til re - testing av diskordante Roche tyreoidea- svar fra regioner som omfatter ca. 4 million innbyggere.

# Tyreoidea assays i bruk ved Hormonlaboratoriet:

## Delfia (Perkin Elmer):

TSH (ref: 0.5-3.5 mIU/L)

FT4 (8-21 pmol/L)

## Roche Eclia:

FT3 - fra 2016 (ref: 4.0 – 6.8 pmol/L)

TRAS - analyse i perioden juni 2011 – sept. 2018 (Ref <1.8 IU/L)

## Immulfite 2000XPI

Anti- TPO (Ref <35 kIU/L)

re-testing av TSH, FT4, FT3 og TRAS (med TSI)

A

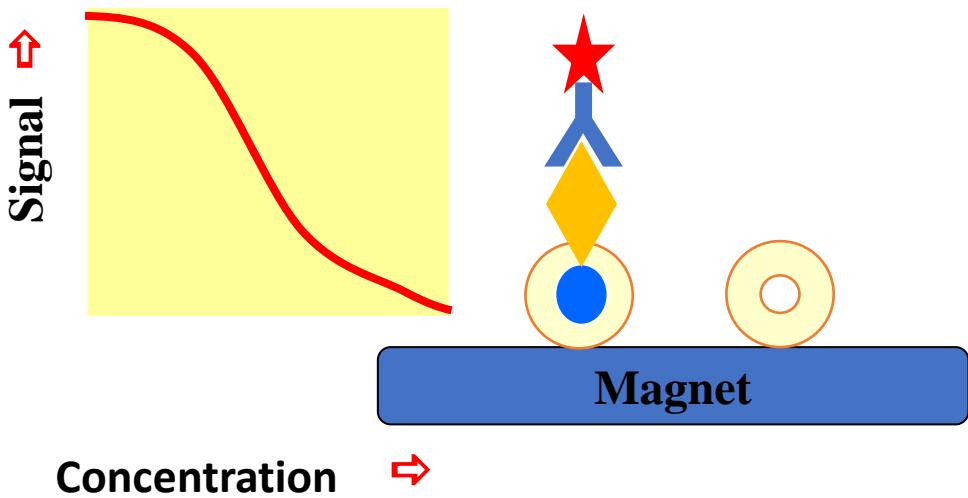
Ruthenium labelled sheep antibody against human FT3

FT3 in the sample

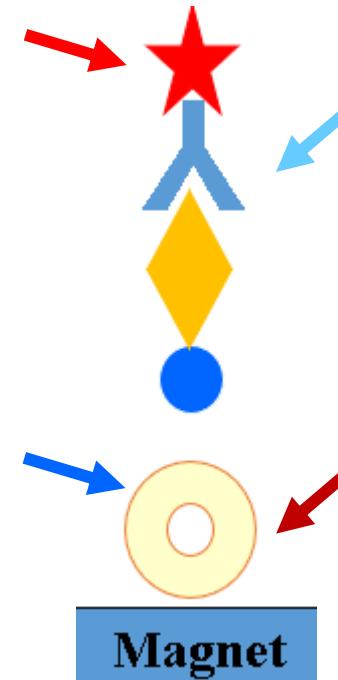
Biotin labelled FT3 analogue

Paramagnetic beads covered with streptavidin

Signal ↑



B



Antibodies against ruthenium

Antibodies against the  
ruthenium labelled FT3 antibody

Biotin treatment

Anti-streptavidin ab



- **Streptavidin** - et protein fra bakterien *Streptomyces avidinii*. Proteinet binder biotin meget sterkt. Årsaken til immunisering mot streptavidin er ukjent.
- **Ruthenium** - et grunnstoff som brukes i legeringer, som oxydant ved farging av klær, i slitesterke elektriske kontakter og for produksjon av film. Det antas at mennesker som eksponeres for ruthenium kan danne antistoffer mot det.  
Brukes som signal substans i Roche assays
- **Biotin- Vit B**
  - brukes til beh. av medfødte metabolske sykdommer (300 mg x 1)
  - forsøks- beh. av Multippel Sclerose (200-300 mg x 1),
  - Helsekostpreparater 5 -10 mg pr tablett ( bra for hud og hår)

Det oppgis i Roche Kit vedlegg at bruk av biotin kan gi feil prøveresultat hvis dosen er >5 mg daglig og prøven er tatt før det er gått 8 timer etter at biotin er gitt.

**Antistoff fra mus-** brukes i Roche TSH og TRAS assays.  
Hvis pasienten har antistoff mot mus (HAMA) kan det gi feil prøvesvar.

## **Roche Kit vedlegg:**

In rare cases, interference due to extremely high titers of antibodies to analyte-specific antibodies, streptavidin or ruthenium can occur. These effects are minimized by suitable test design.

basert på klager er anti-streptavidin interferens estimert å forekomme i

**1/ 41 millioner solgte FT4 tester**

## **Hormonlaboratoriets erfaring:**

Økende antall registrerte prøver med metode avhengig interferens:

**1/500 analyserte prøver**

# **Elecys® FT4 interference incidence**

*Based on complaints confirmed by GCS*

*Assay improvement could reduce the number of complaints*

	2006	2007	2008	2009	2010	2011 (Q1/Q2)	Sum complaints	Sum sold tests (mio)	Interference per sold tests
<b>Sold tests (mio)</b>	39	45.6	53.6	64.6	44.3	38.3		285.4	
<b>Interference to Ru label</b>	23	51	74	-	-	-	148	138.2	1 in 0.9 mio tests
<b>Interference to Ru label with blocking agent</b>	-	-	-	15	4	1	20	147.2	1 in 7.4 mio tests
<b>Interference to Ru interf. blocking agent</b>	-	-	-	0	1	1	2	147.2	1 in 74 mio tests
<b>Solid phase / Streptavidin</b>	-	-	-	-	2	0	2	82.6	1 in 41 mio tests
<b>IgM gammopathy</b>	-	-	-	-	1	1	2	82.6	1 in 41 mio tests



*Life needs answers*

# En laboratorieleges mareritt:

at feil prøvesvar fører til pasient-skade

3 kasuistikker

-metodeavhengig interferens i Roche metode

## Nov -2017 Kliniske opplysninger: Graves hypertyreose

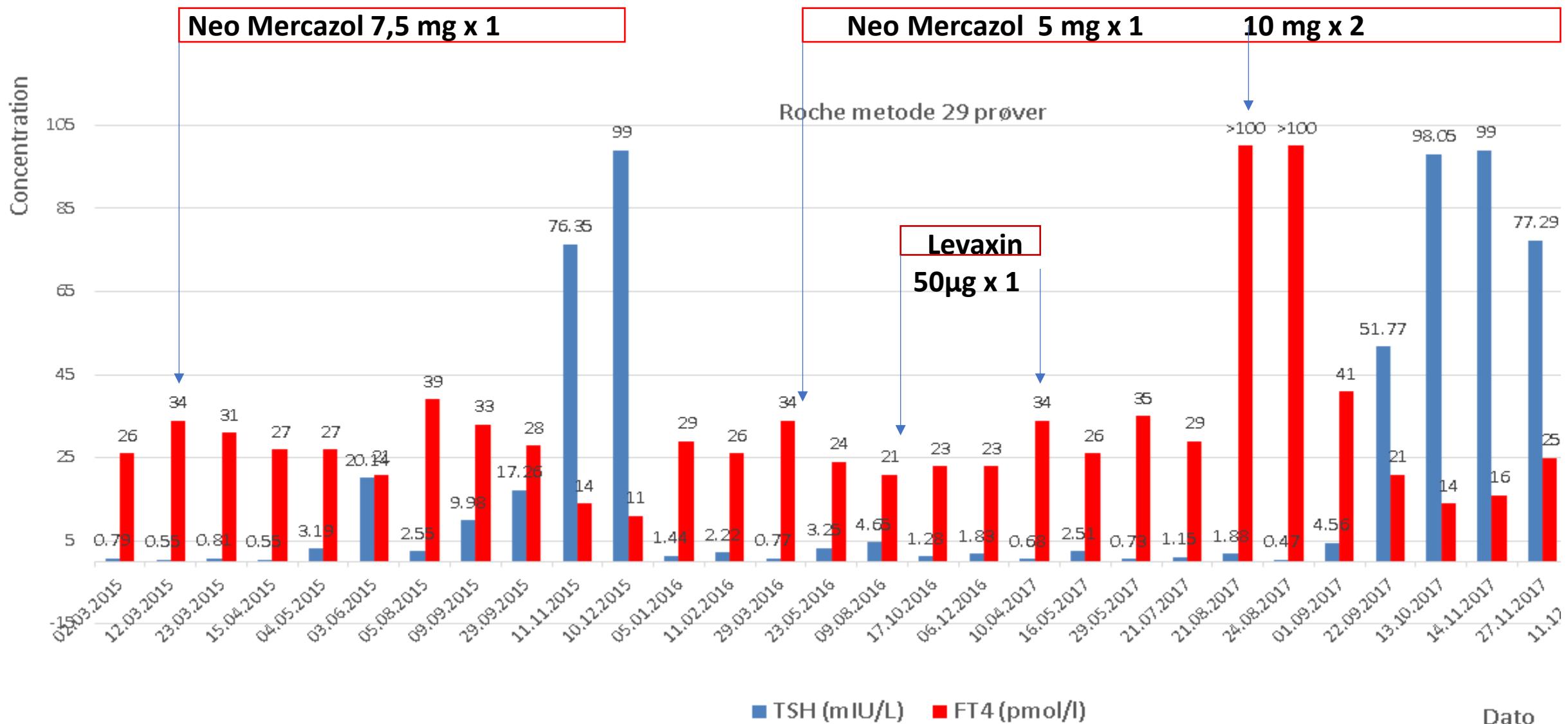
**Kommentar** : Overdosert med Neo Mercazol?

Des- 2017 Barnelegen ringer og opplyser om Roche resultater  
Etter-rekvirerer FT3 og TSI

Metode	Delfia
TSH (mIU/L)	100
FT4 (pmol/l)	6.2
FT3 (pmol/l)	
TRAS (IU/l)	
TSI (IU/L)	

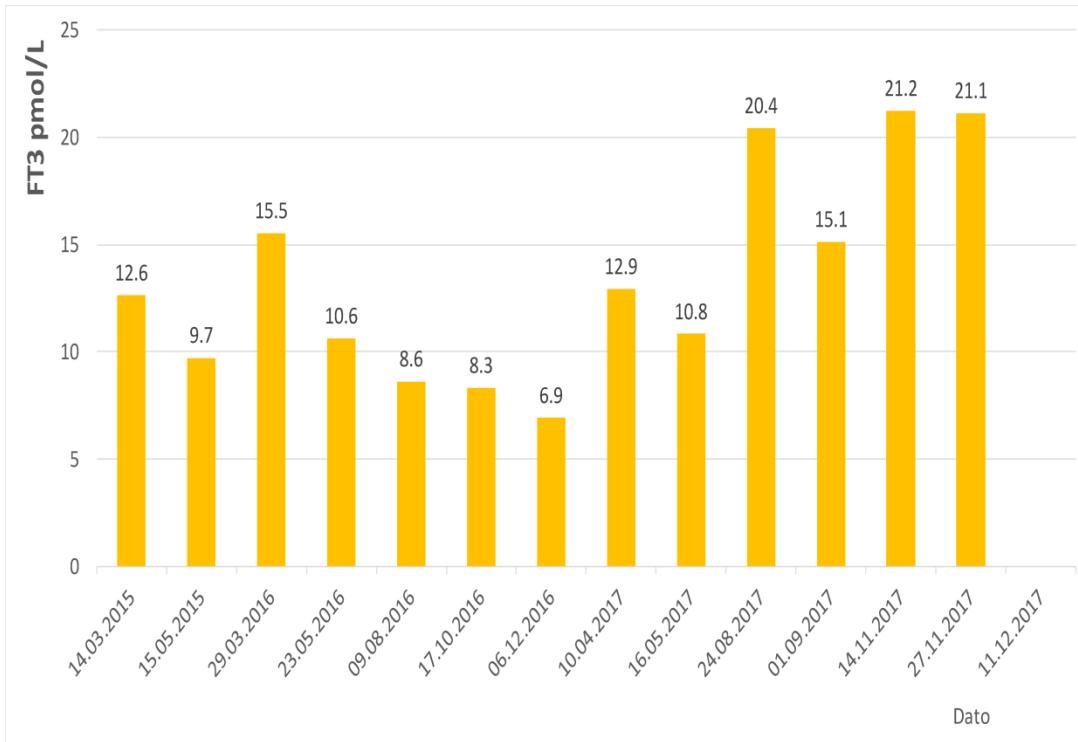
**TSH 1-5 år: 0.7 -6.0 mIU/L**  
**FT4 6-19 år: 10-18 pmol/L**

# TSH (0.70–5.97 mIU/L) og FT4 (12.3–22.8 pmol/L) RR: barn 1-6 år

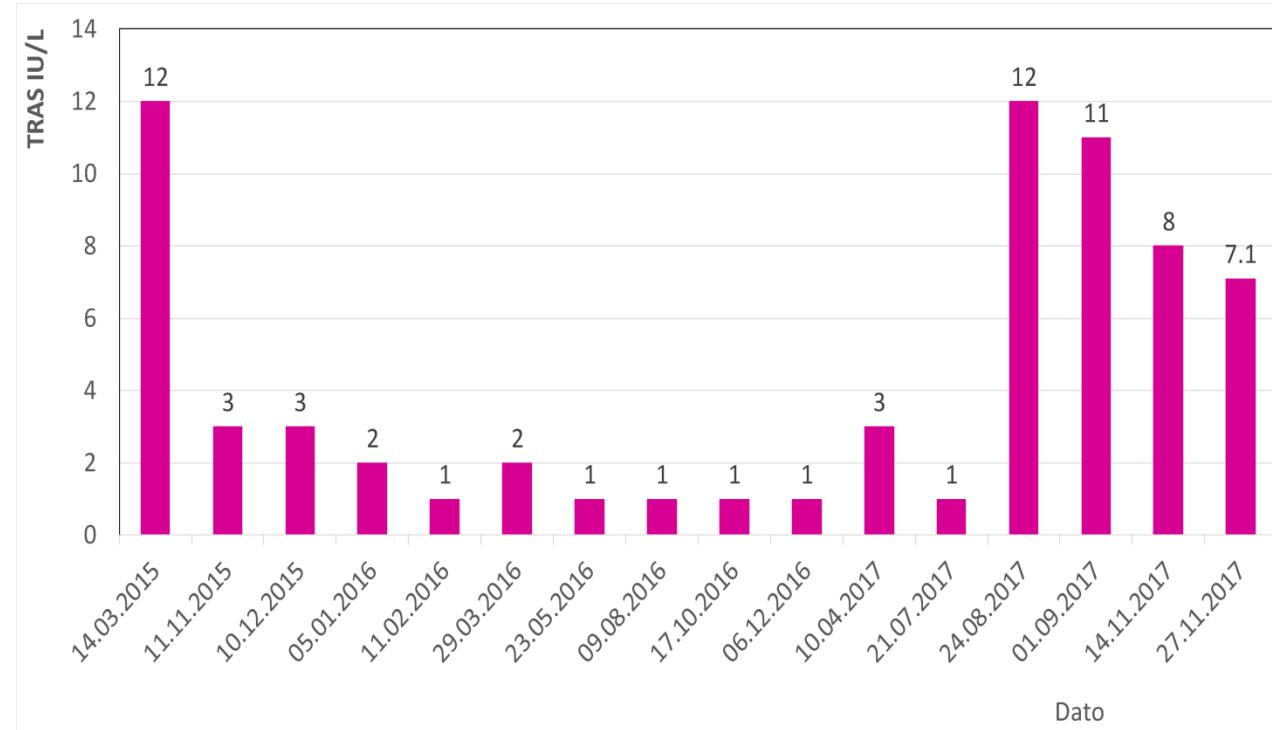


# FT3 og TRAS under Neo Mercazol behandling (RR barn 1-6 år)

## FT3 (3.69–8.46 pmol/L)



## TRAS (<1.8 IU/L)



# Symptomer før behandling?

- Ingen symptomer på hypertyreose
- Ikke struma
- Normal appetitt, søvn, vannlating, defekasjon, hjerte rytme, blod trykk, temperatur, body mass index og normal vekst- kurve

## • Konsekvenser for barnet

- Langvarig Neo Mercazol-behandlet - alvorlig hypotyreose i to omganger
- 29 blodprøver i løpet av 2 år før man fant ut at Roche metode ga feil resultat
- Plager under behandling:
  - hodepine og muskelsmerter, slapp, emosjonelt ustabil, lite selvstendig

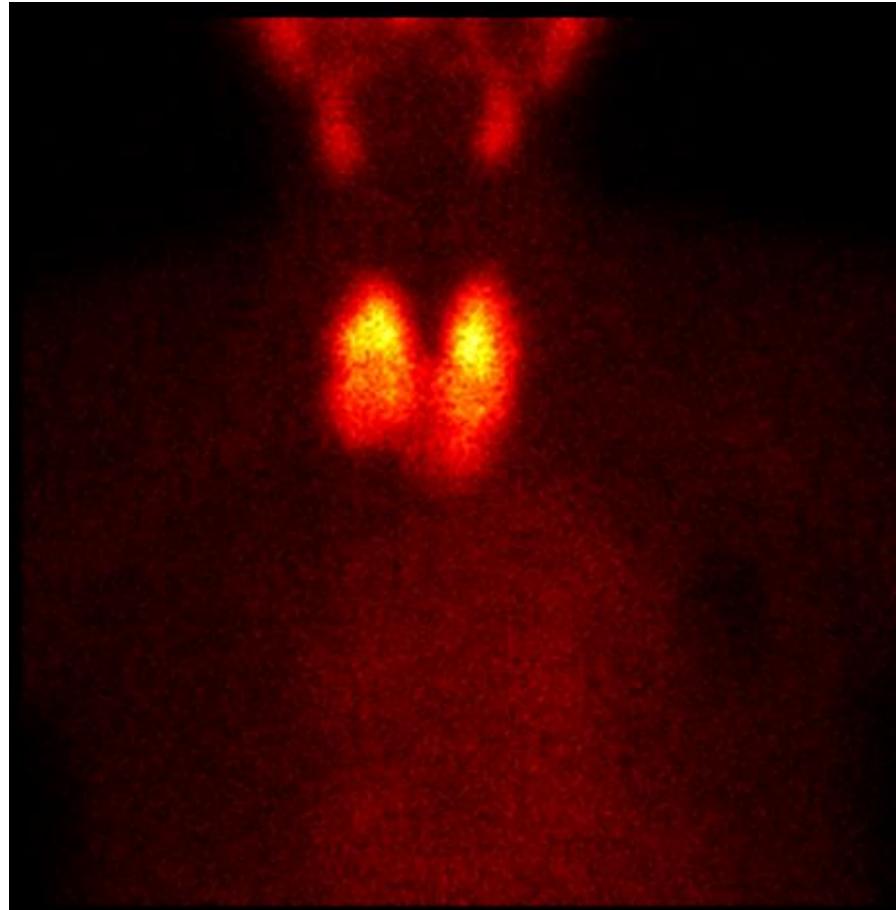
# Kasuistikk 2 Kvinne 86 år

- Pasienten ble tatt opp på tverrfagelig møte på tyreoidea-poliklinikken på Aker sh
- Hypertyreot pasient som ikke responderte på radiojod-behandling.
- falskt forhøyet TSH?

Prøver tatt i mai-2018

Metode	Roche
TSH (mIU/L)	3.8
FT4 (pmol/l)	27
FT3 (pmol/l)	6.9
TRAS (IU/l)	1.6
TSI (IU/L)	

Pasienten var radiojodbehandlet x 3 grunnet vedvarende forhøyet FT4



Januar-16 :

- TSH:1.6(0.5-3.6mIU/L), FT4:**34**(8-21 pmol/L)  
FT3:**8.6**(2.7-6.3 pmol/L ) TRAS:**2.7** (<1.8IU/L)

**300 MBq 131Jod**

April-16:

- TSH:2.3, FT4: **38**, FT3:**11.8**

**350 MBq 131 Jod**

August-16:

- TSH:2.4, FT4: **33**, FT3: **11.7**, TRAS: **3.1**

**700 MBq 131 Jod**

Januar -16 :Normalt Tc –opptak :2.6 %

\*\*\* PREVIEW \*\*\*  
Utklipp

Kommentar ønskes ved patologiske prøvesvar <input type="checkbox"/>			
Relevante medikamenter Calcigran Forte Marevan 2,5mg Digoxin Selo-Zok 100mg Depottablett - Kalenderpakning Dssn 1,5 dgl prednisolon 2,5mg x1 Neo-Mercazole 5mg x1		Relevante opplysninger  Pas med kjent struma og hypertyreose. flimmer Beh neo-mercazol i skiftende doser. I vår/sommer FT4 20-30. Nå prøver Diakonhjemmet FT4: 53 TSH 2,6. Nye prøver etter råd fra endokrinolog Aker. Er av annen lege henvist RH	
Siste menstruasjons første dag		Gravid <input type="checkbox"/>	
Supplerende analyser ønskes		Ja <input checked="" type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/>	

### Analyseresultat

#### Tyreoidea

Analyse		Resultat	Enhet	Referanseområde
A S-TSH	Delfia	3.20	mIU/l	0.5-3.6
A S-Fritt T4		16.5	pmol/l	8-21
A S-Fritt T3		5.8	pmol/l	3.6-8.3
A S-TRAS	Roche	3.5	H IU/l	<1.8

# Konsekvenser for pasienten

- Mange unødige legebesøk for denne gamle pasienten
- Falskt forhøyet FT4, FT3 og TRAS har ført til feil diagnose og feil behandling.
- Radiojod behandlingen har ført til permanent hypotyreose
- Falskt for lav TSH og falskt for høy FT4 og FT3 etter radiojodbehandling har ført til at pasienten ikke fikk behandling for radiojodutløst latent hypotyreose
- Pasienten har følt seg veldig trett lenge og er blitt glemsk

# kasuistikk 3, kvinne 39 år

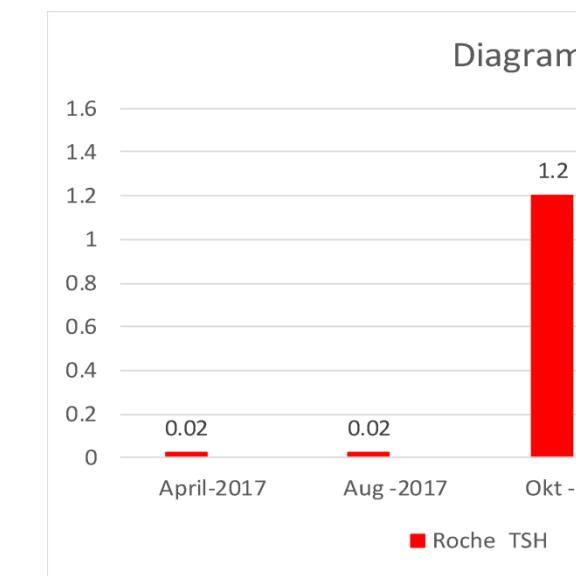
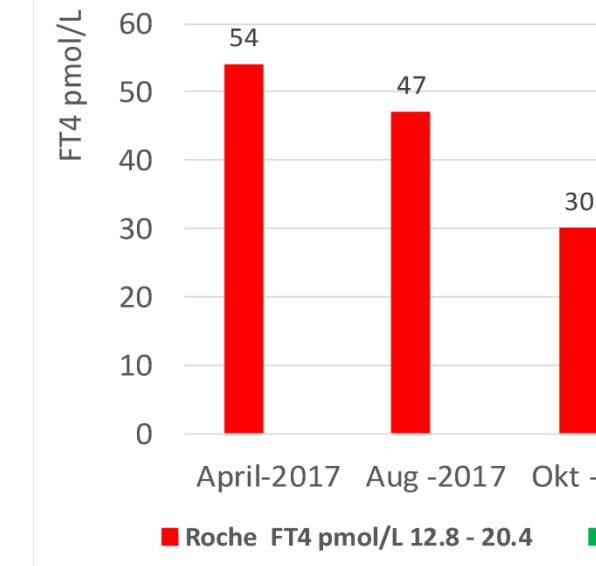
## Kliniske opplysninger:

Metastaserende cancer tyreoidea,

Levaxin i overdose for å hindre vekst av metastaser.

Levaxin 125 µg x 1

Mehod	Roche	Roche
Parameter	TSH mIU/L	FT4 pmol/L
RR	0.27 - 4.2	12.8 - 20.4
April-2017	0.02	54
Aug -2017	0.02	47
Okt - 2017	1.2	30



# Interferens i tyreoidea prøver kan føre til :

- gjentatte prøver
- mistanke om hypofyseadenom → MR hypofyse
- mistanke om tyreoideahormonresistens → Gentest
- feil diagnose - Hypertyreose
- feil behandling med radiojod/tyreostatika for hypertyreose  
-Neo Mercazol kan gi ubehagelige (eller livstruende) bivirkninger  
(hypotyreose, allergi, agranulocytose, trombocytopeni, hepatitt og ANCA - positiv vaskulitt).

**Table 2:** Examples of five widely used hormone immunoassays, using streptavidin-biotin interaction.

Hormone assays	Beckman Coulter (Access, DXi, DxC)	Immuno diagnostic system (Isys)	Ortho Clinical Diagnostic (Vitros)	Roche (Cobas, Elecsys, Modular)	Siemens (Dimension Vista, Exl)
FT3	✓			✓ (286)	✓ (205)
FT4	✓			✓ (82)	✓ (205)
Total T3				✓ (41)	
Total T4				✓ (409)	
TSH			✓ (20.5)	✓ (102)	✓ (2050)
TRAb				✓ (41)	
SHBG	✓			✓ (246)	
Thyroglobulin	✓			✓ (327)	
PTH		✓		✓ (205)	
25OH vit D		✓ (300)		✓ (286)	
Cortisol			✓ (61)	✓ (123)	
ACTH			✓ (41)	✓ (246)	
Testosterone			✓ (41)	✓ (123)	
Estradiol			✓ (20.5)	✓ (147)	✓
FSH			✓ (41)	✓ (246)	✓
LH			✓ (20.5)	✓ (205)	✓
Prolactin			✓ (41)	✓ (164)	✓
IGF1		✓ (300)		✓ (123)	
GH		✓ (300)		✓ (246)	
C peptide				✓ (246)	
Insulin				✓ (246)	

A “✓” mark indicates that the streptavidin biotin interaction is used as immune complexes separation methodology. Biotin concentrations (nmol/L) above which an erroneous result can happen are indicated for each assay, when information is given in the reagent notices (i.e. concentration leading to bias above  $\pm 10\%$  of the target). In theory, the analytes for which erroneous results occur at the lowest biotin concentration, are those that will be most frequently impacted facing biotin supraphysiological intake. Dark rectangle, assay non available in the tests menu.

## Hormonlaboratoriet mottar prøver til re-testing ved diskordante tyreoidea resultater

Mistenk interferens i Roche metode dersom:

- TSH er i normalområdet/ikke supprimert mens FT4 / FT3 er forhøyet
- Anti TPO/ TRAS vedvarende forhøyet uten påvist tyreoideasykdom

### Ønskede opplysninger:

- Hva viser Roche metode: TSH, FT4, FT3 ,Anti-TPO, TRAS.
- Hvilke medikamenter bruker pasienten.

## Hvordan påvirkes andre parametre?

Videre undersøkelser er nødvendig for å finne ut hvordan biotin og antistoffer mot streptavidin påvirker andre assays som bruker streptavidin og biotin i reagensene.

- Østradiol? Testosteron? Cortisol? Vit D, Troponin T, pro BNP?

### Forventer :

- falskt forhøyde resultater i konkurrerende assays
- Falskt for lave resultater i sandwich assays

## Konklusjon:

Uventede prøveresultater må kontrolleres med annen metode.

Alternativ metode må ikke ha lignende reagenser/analyseprinsipp som rutinemetoden.