

Multicenter validatie van een nieuwe TSI antistoffen assay

Manou Batstra

Reinier Haga Medisch Diagnostisch Centrum - Afdeling Medische Immunologie en Microbiologie, Delft

Reinier de Graaf 

Michiel Heron

Laboratorium Medisch Microbiologie en Immunologie, Elisabeth-Tweesteden Ziekenhuis, Tilburg

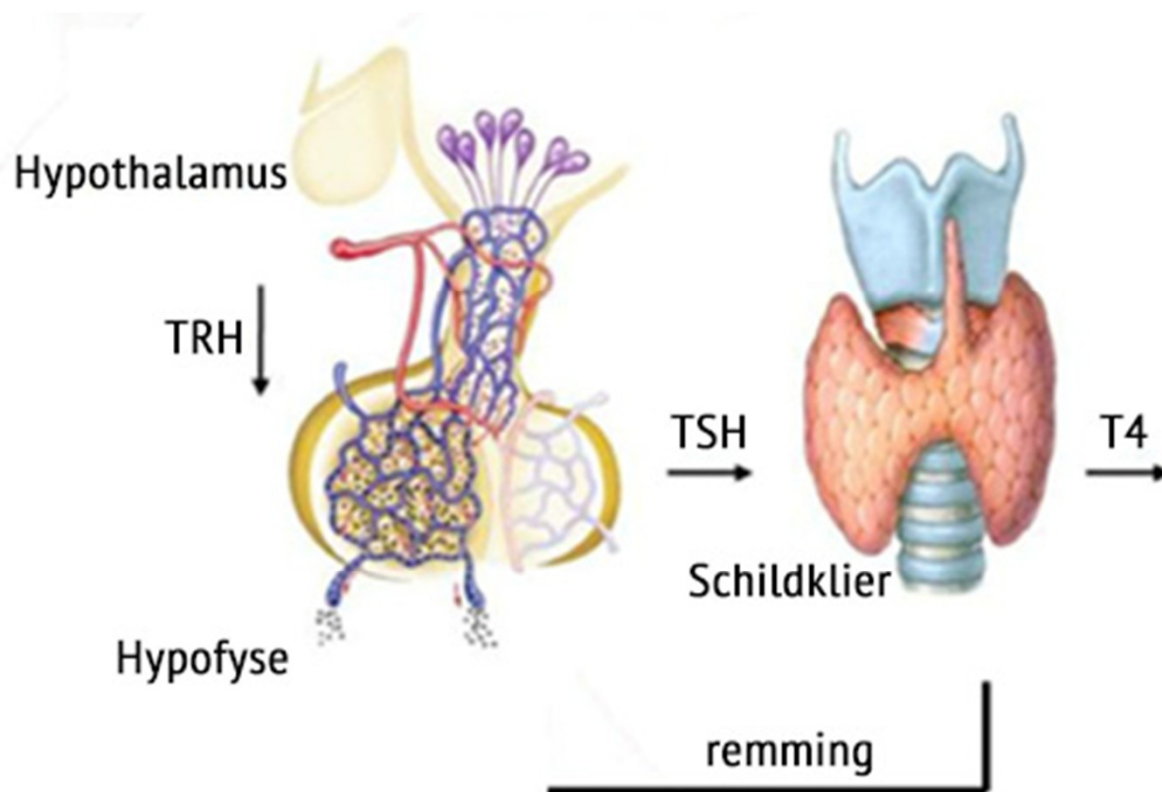


Rein Hoedemakers

Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch

Jeroen BOSCH  **ziekenhuis**

Schildklier regulatie



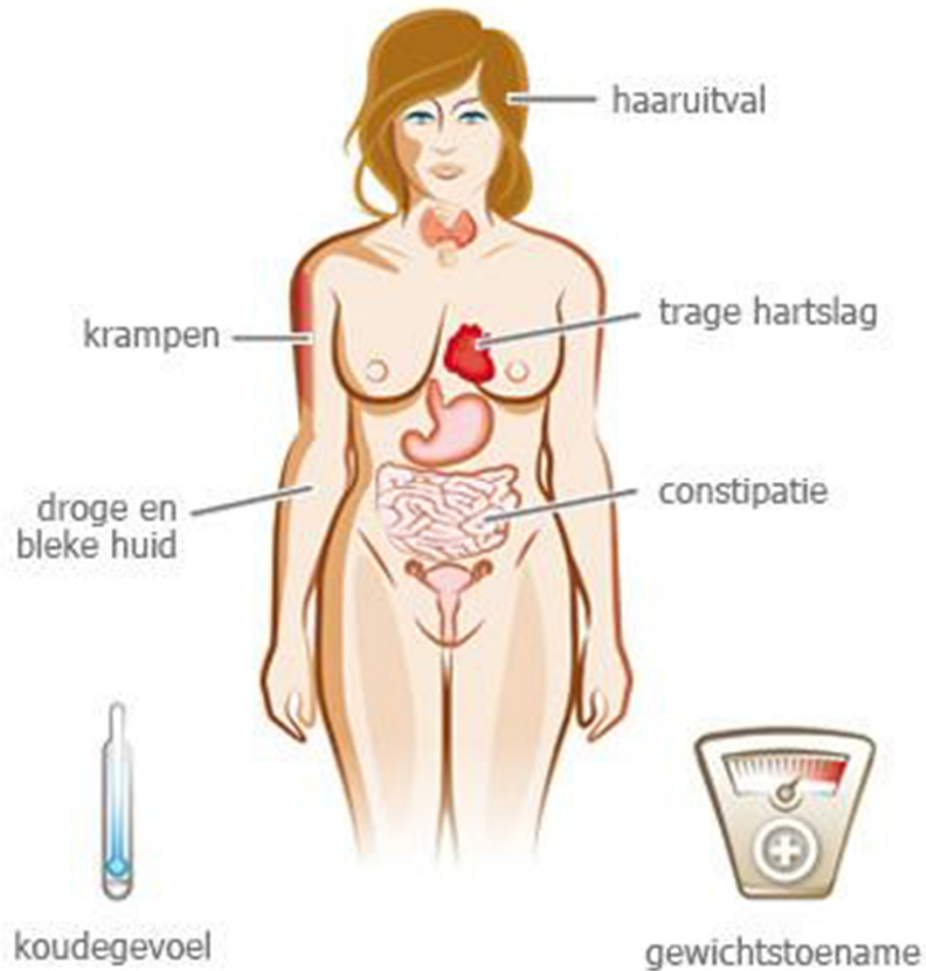
Regelkring

Als de schildklier te snel werkt/
te veel schildklierhormoon:
TSH omlaag

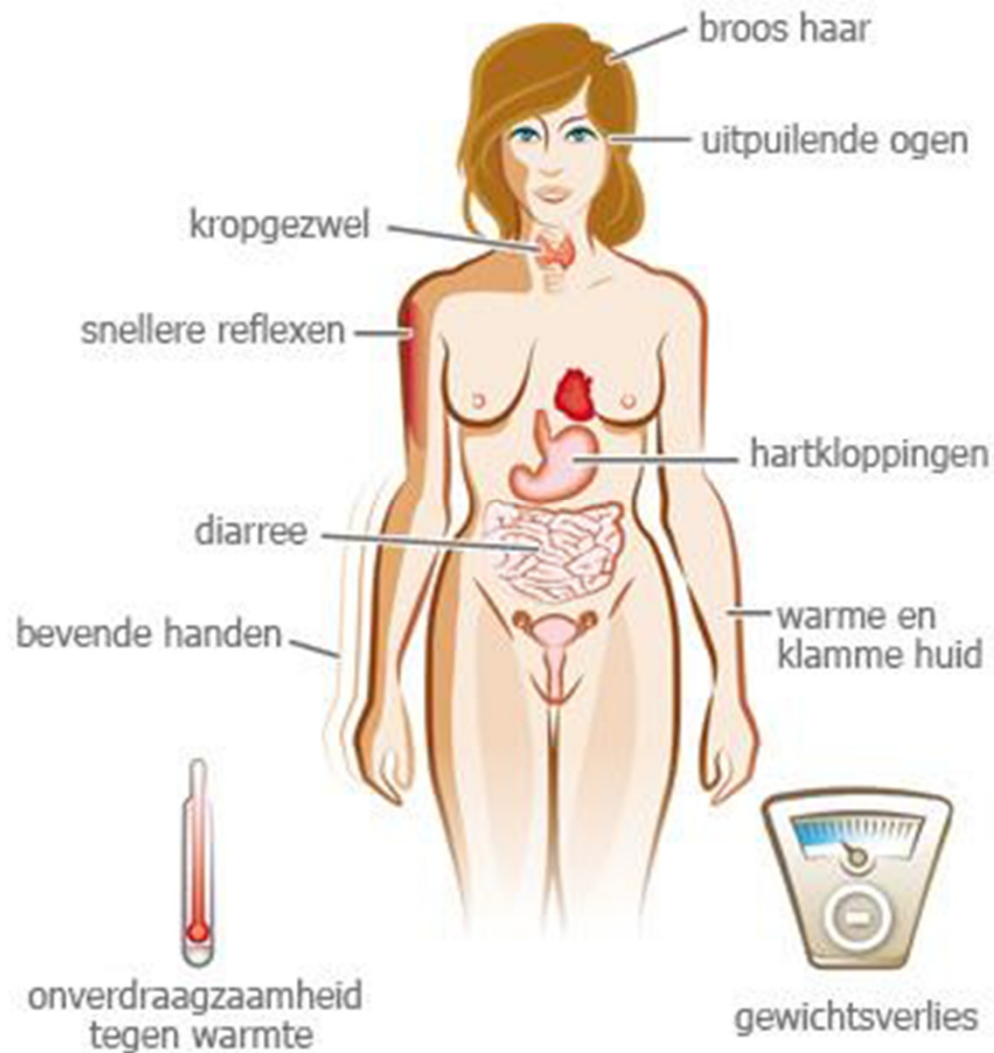
Als de schildklier te traag werkt/
te weinig schildklierhormoon:
TSH omhoog

Normale werking van de schildklier:
TSH normaal

Symptomen hypothyreoidie



Symptomen hyperthyreoïdie



M. Graves



Drahreg01 CC-BY-SA-3.0

Diffuus struma

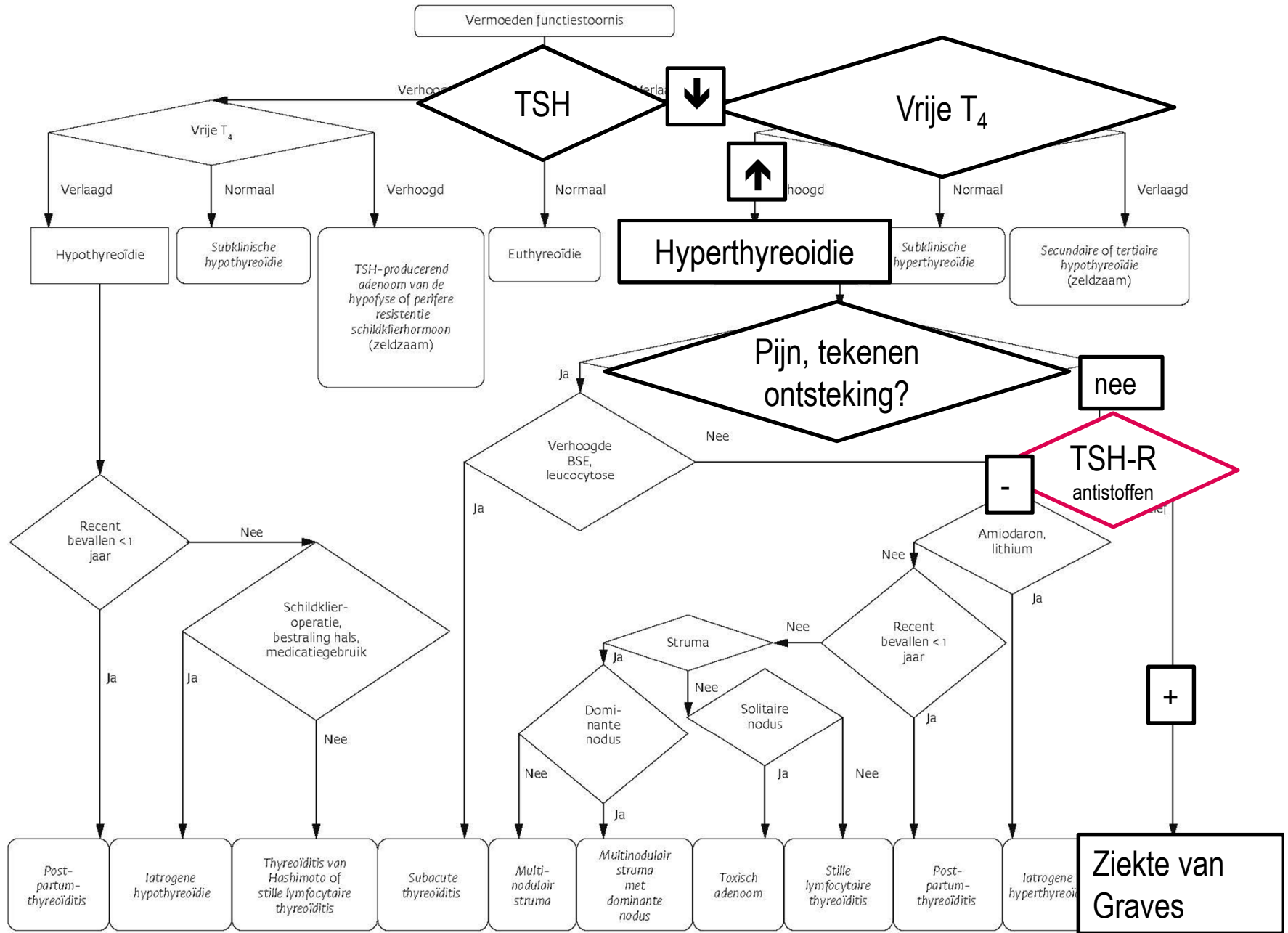
- symmetrisch
- Vast aanvoelend



Jonathan Trobe, MD. CC-BY 3.00

Ophthalmopathy

Stroomschema Diagnostiek bij vermoeden van een schildklierfunctiestoornis



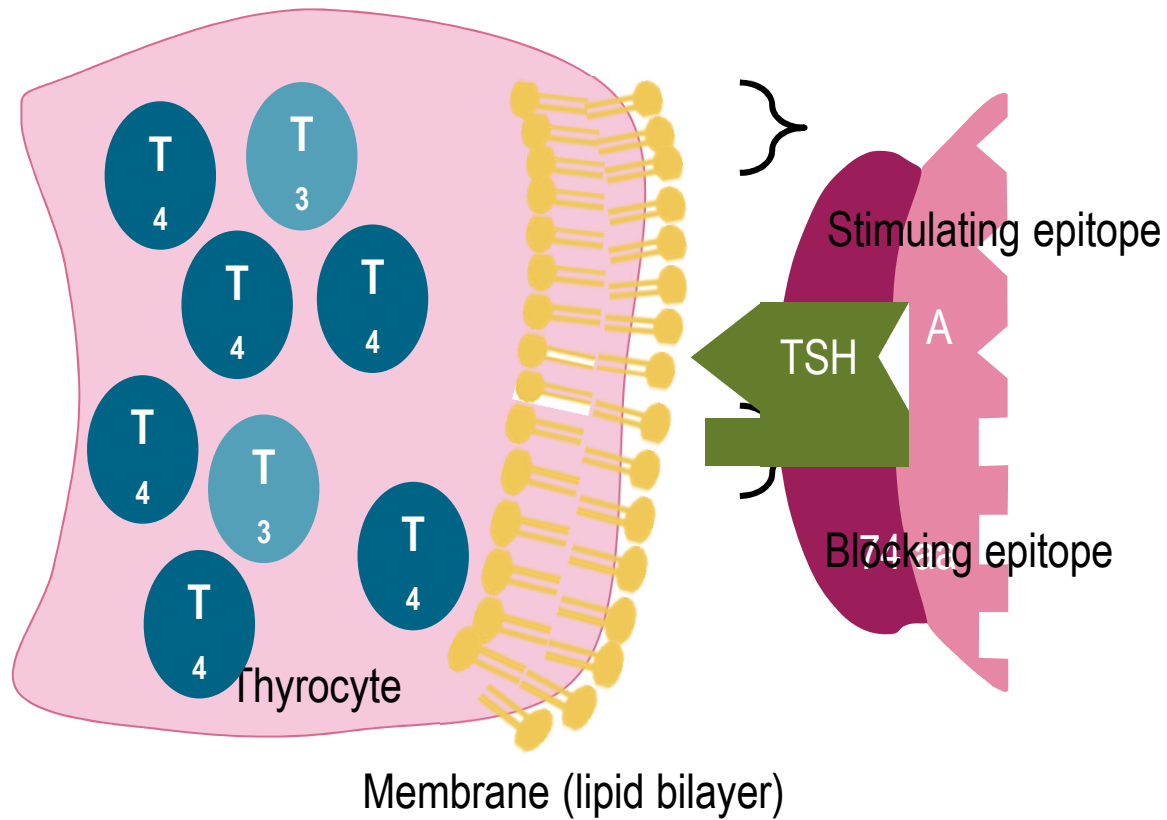
Differentiaal diagnostiek hyperthyreoidie

- M Graves --- TSH-R antistoffen!
- (Multi) Nodulaire schildklierandoeningen
- Subacute thyreoiditis (M. Quervain)
- Toxisch adenoom
- Post partum thyreoiditis
- Iatrogeen (lithium, amiodarone, jodium houdend contrast, ...)
- Stille lymfocyttaire thyreoiditis

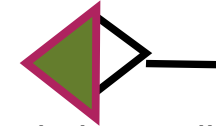
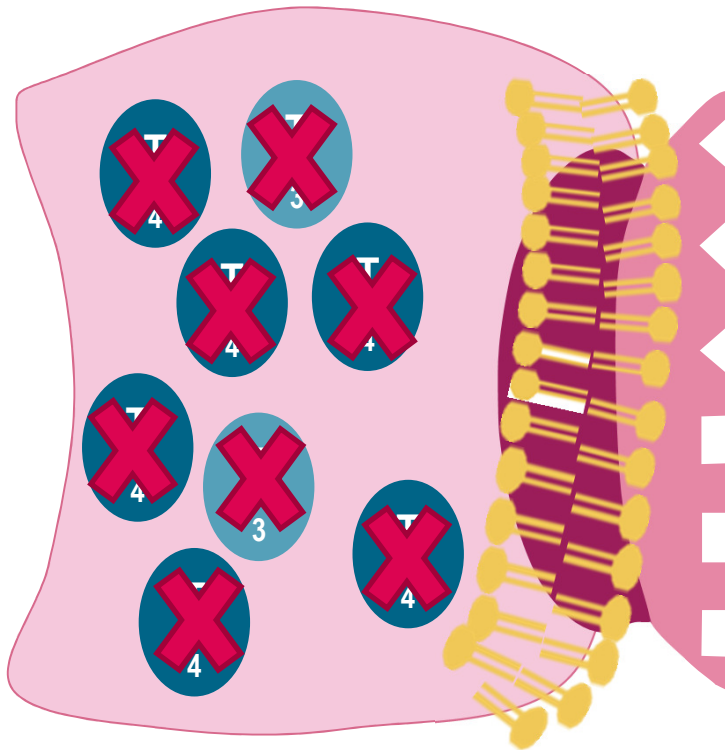
Plaats van TSH-R antistoffen in diagnostiek van hyperthyroidie

- TSH-R antistoffen: 70-90% van de onbehandelde patiënten met de ziekte van Graves.
- TSH-R antistoffen kunnen de schildklierfunctie beïnvloeden:
Blokkerend vs stimulerend
- Met de huidige routine testen kan geen onderscheid worden gemaakt tussen stimulerende en blokkerende antistoffen (uit richtlijn NIV)

TSH receptor



TSH-R antistoffen



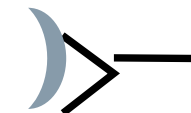
Thyroid stimulating antibody (TSAb) /
Thyroid stimulating immunoglobulin (TSI)

TSH↓, T₄↑



Thyroid blocking antibody (TBAb) /
Thyrotropin binding inhibiting
immunoglobulin (TBII)

TSH↑, T₄↓

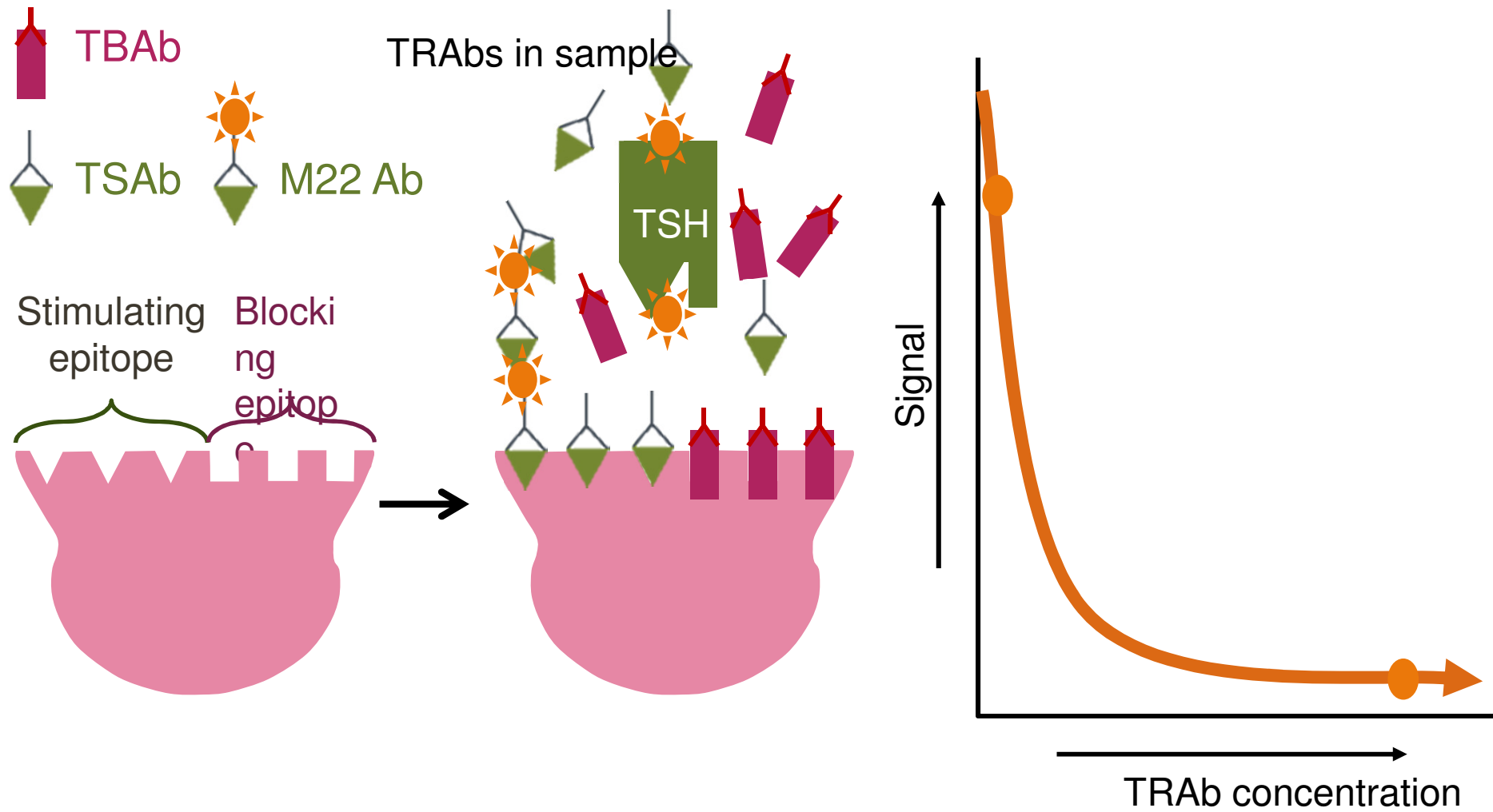


Neutral antibody

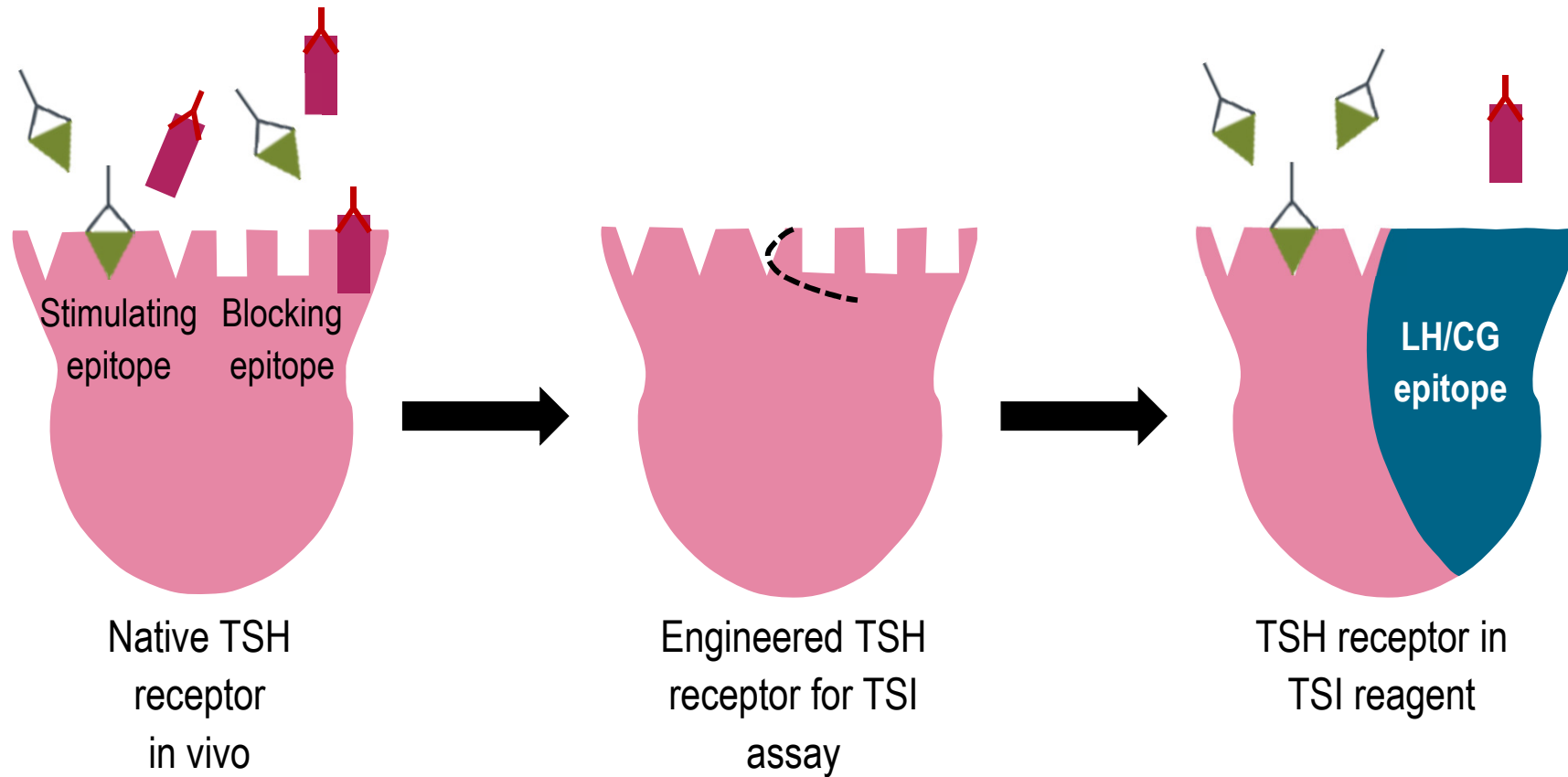
Plaats van TSH-R antistoffen in diagnostiek van hyperthyroidie

- TSH-R antistoffen: 70-90% van de onbehandelde patiënten met de ziekte van Graves.
- TSH-R antistoffen kunnen de schildklierfunctie beïnvloeden:
Blokkerend vs stimulerend
- Met de huidige routine testen kan geen onderscheid worden gemaakt tussen stimulerende en blokkerende antistoffen (uit richtlijn NIV)

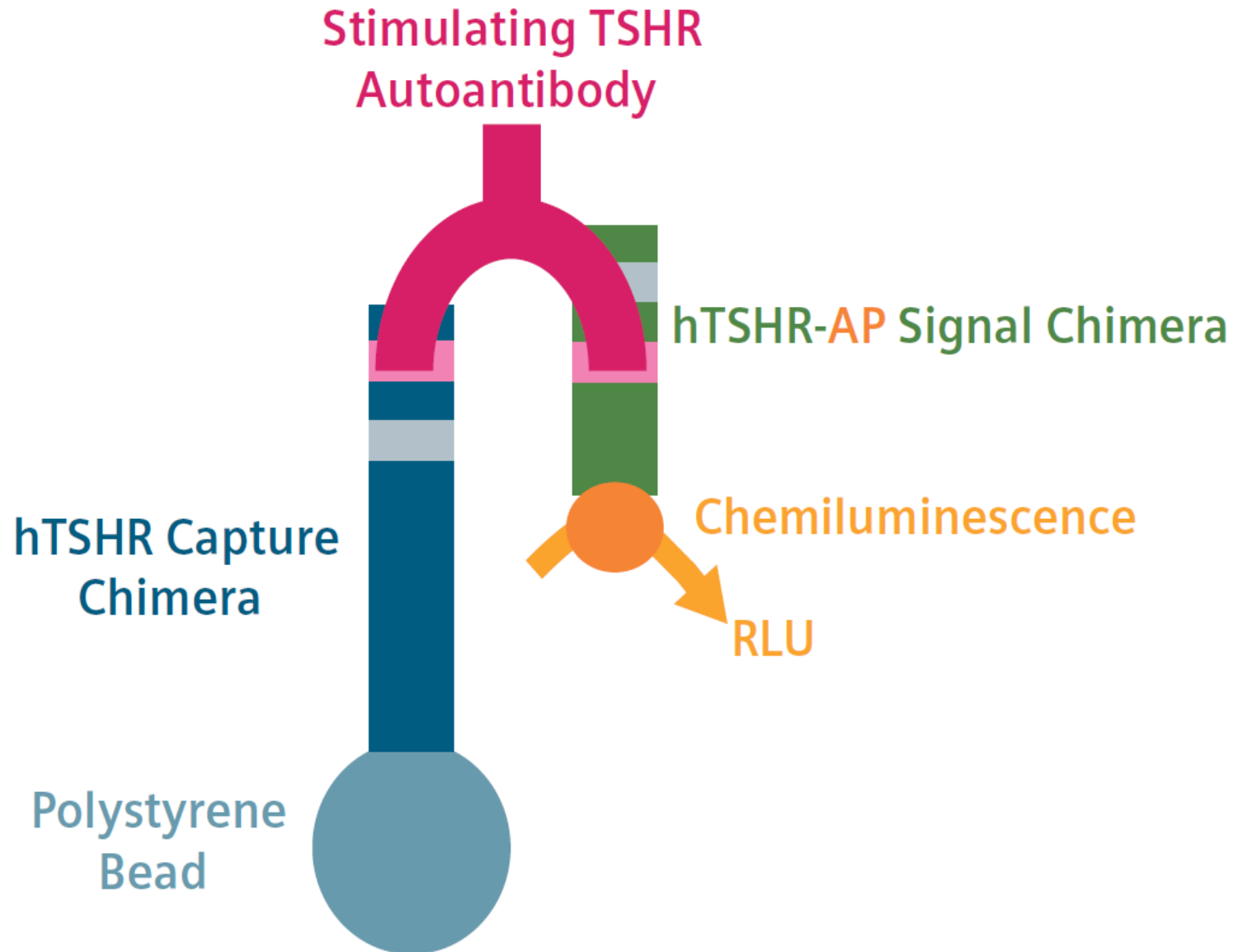
TSH-R antistoffen assays in de huidige routine



De nieuwe immulite TSI assay gebruikt een recombinant chimeer TSH-R



Immulite TSI test



Claims Immulite TSI assay

- 98.3% clinical sensitivity, 99.7% clinical specificity
- Great precision across analytical measuring range
- Traceable to the WHO NIBSC 08/204 standard
- 4 week long calibration interval

Performance van de Immulite TSI test

- Technische performance:
 - Reproduceerbaarheid
 - intra-assay (7%)
 - Inter assay (8.3%)
 - Lineair bereik
 - Interlaboratorium vergelijking 3 laboratoria
 - Correlatie met twee andere TSH-R antistoffen assays

- Klinische validatie:
 - Vraag: betere sensitiviteit en specificiteit dan de bestaande TSH-R antistoffen assays?

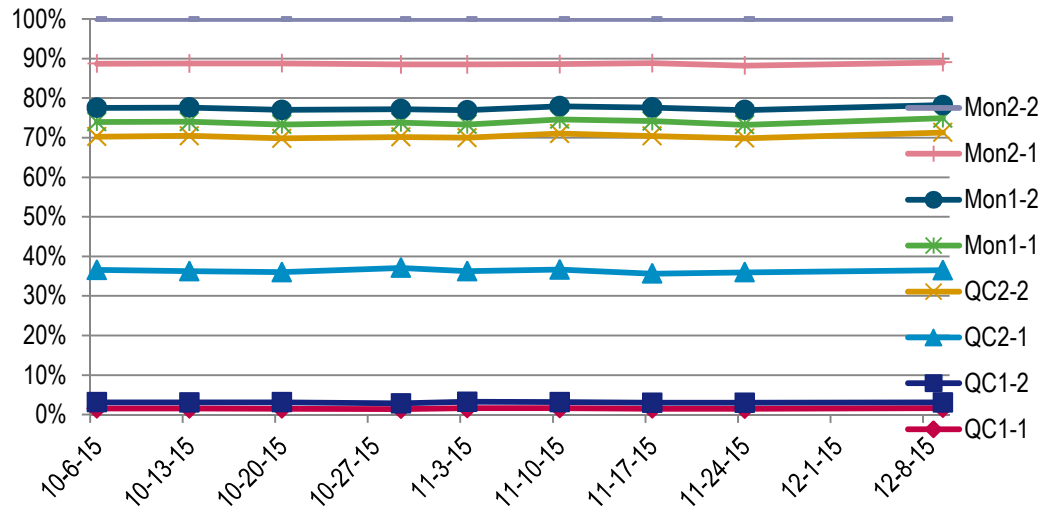
Technische validatie – reproduceerbaarheid 1

Intra assay variatie: (norm: < 7%)

	TSI 1	TSI 25
Mean	1,07	25,4
SD	0,04	0,83
VC%	3,87	3,29

2 controlemonsters, behorend bij de kit

Technische validatie: reproduceerbaarheid 2

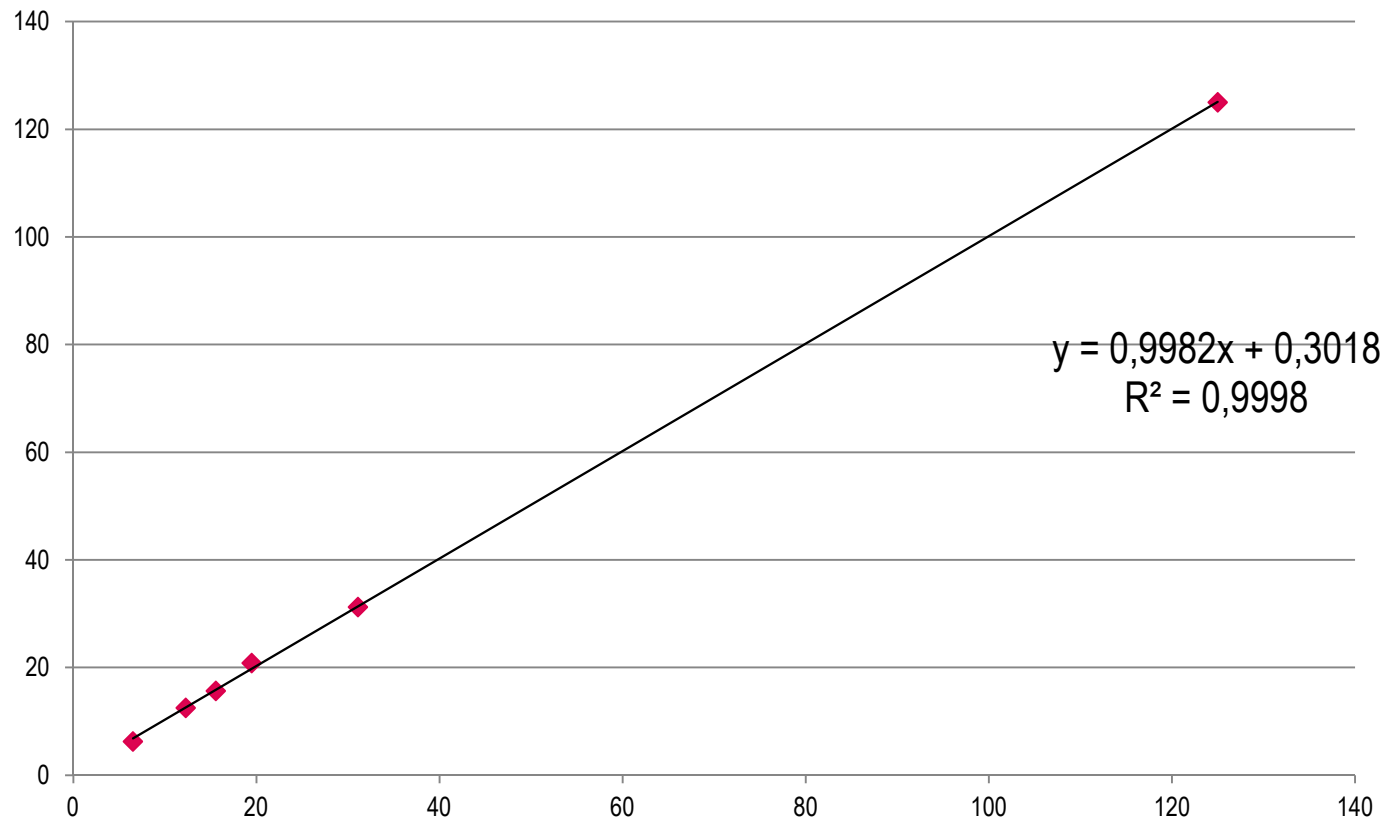


**Inter assay variatie
(on board stability):
(norm: < 8,3%)**

Total N	QC1	QC2	Mon1	Mon2
Total mean	1,04	23,04	2,42	7,71
Total SD	0,06	1,07	0,13	0,30
Total VC%	6,12	4,64	5,25	3,89

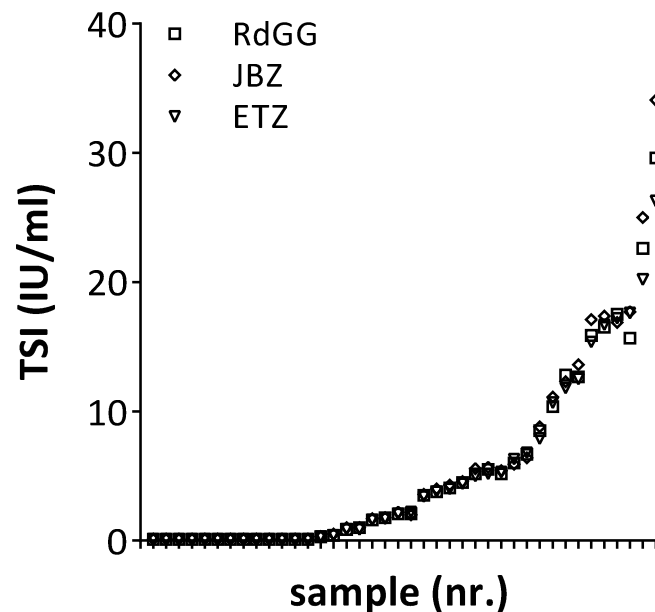
Technische validatie – lineair bereik

Serum 125 IU/ml, 4 voudige verdunningsreeks



Technische validatie: Interlaboratorium vergelijking

- 3 laboratoria, 1 lotnummer kits
- 40 monsters geselecteerd op aanvraag TSH-R antistoffen, evenredig verdeeld over verschillende concentraties (Euroimmun)
- Op een dag getest, zonder vriezen dooien

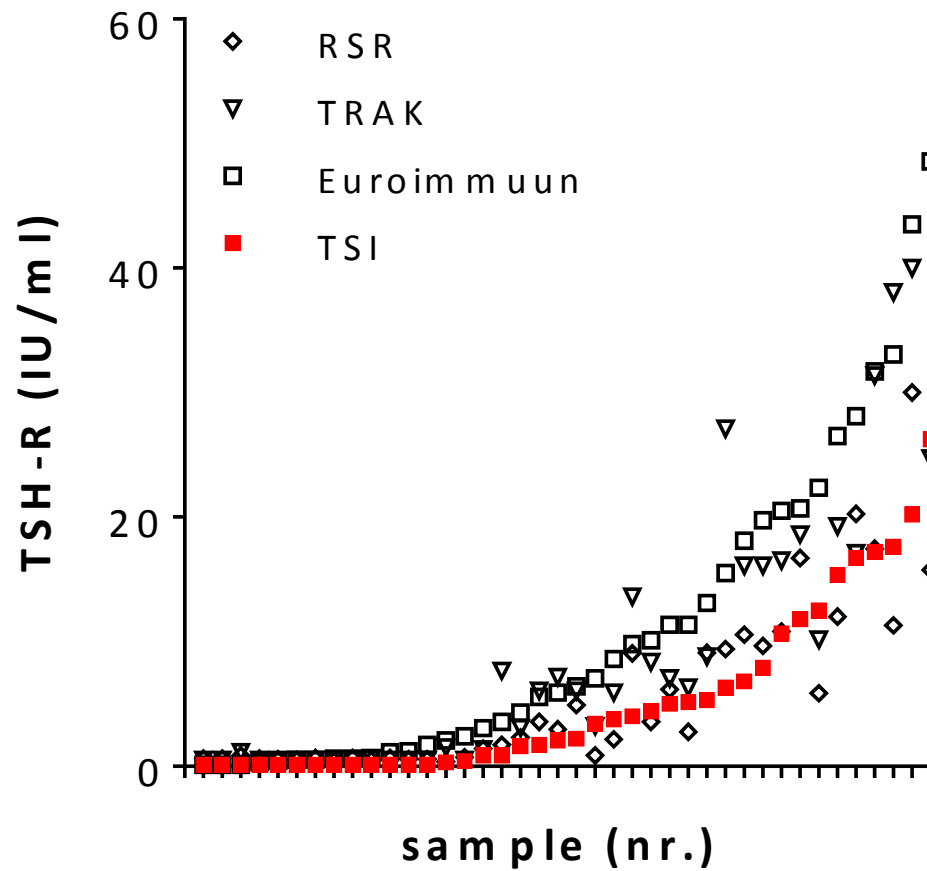


R^2	RdGG	JBZ	ETZ
RdGG	x	0.99	0.99
JBZ		x	0.98

Vergelijking TSI met 3 testkits

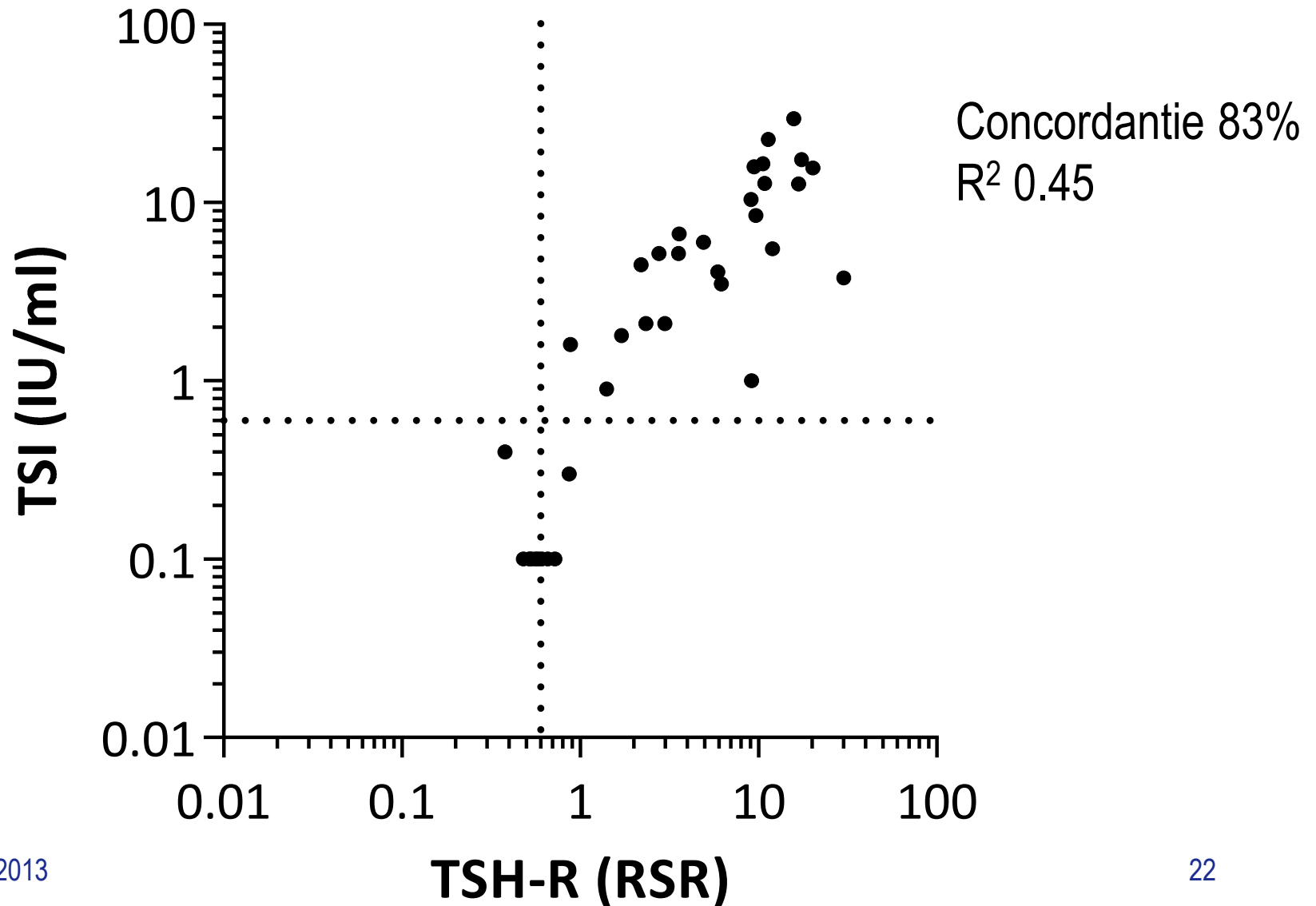
- Euroimmuun Anti-TSH Receptor FAST ELISA
 - Coating; TSH-R via een bridge, herkomst humaan of varken onduidelijk
 - M22 antistof - peroxidase
- RSR ELISA, 3rd generation
 - Coating: hu-TSH-R
 - M22 antistof biotine
- B·R·A·H·M·S TRAK human LIA (Therofisher)
 - Capture Hu-TSHR
 - Hu-TSH

Overeenkomst 3 TSH-R testen en TSI

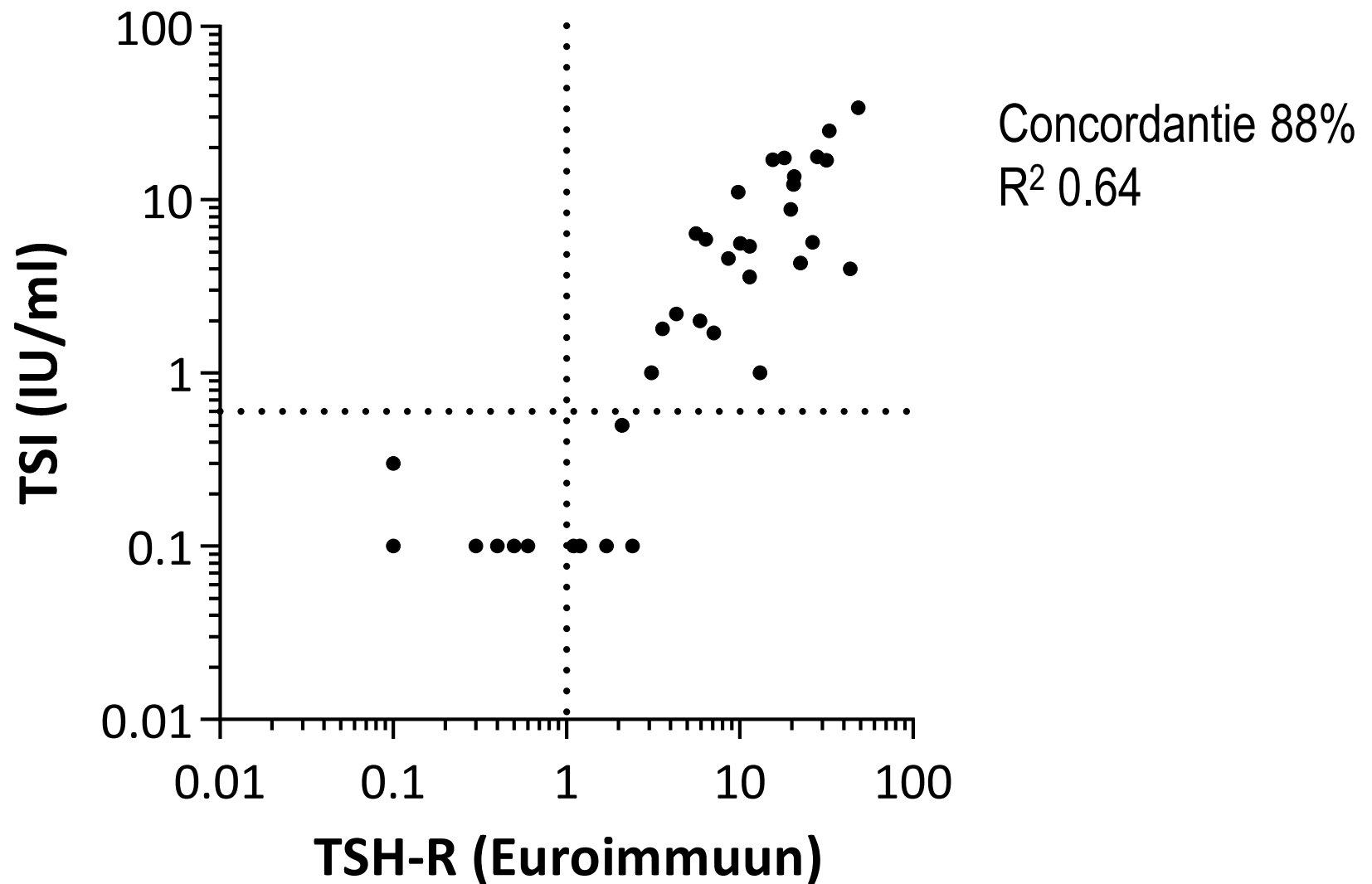


R^2	RSR	TRAK	Euroim
RSR	x	0,79	0,82
TRAK		x	0,82

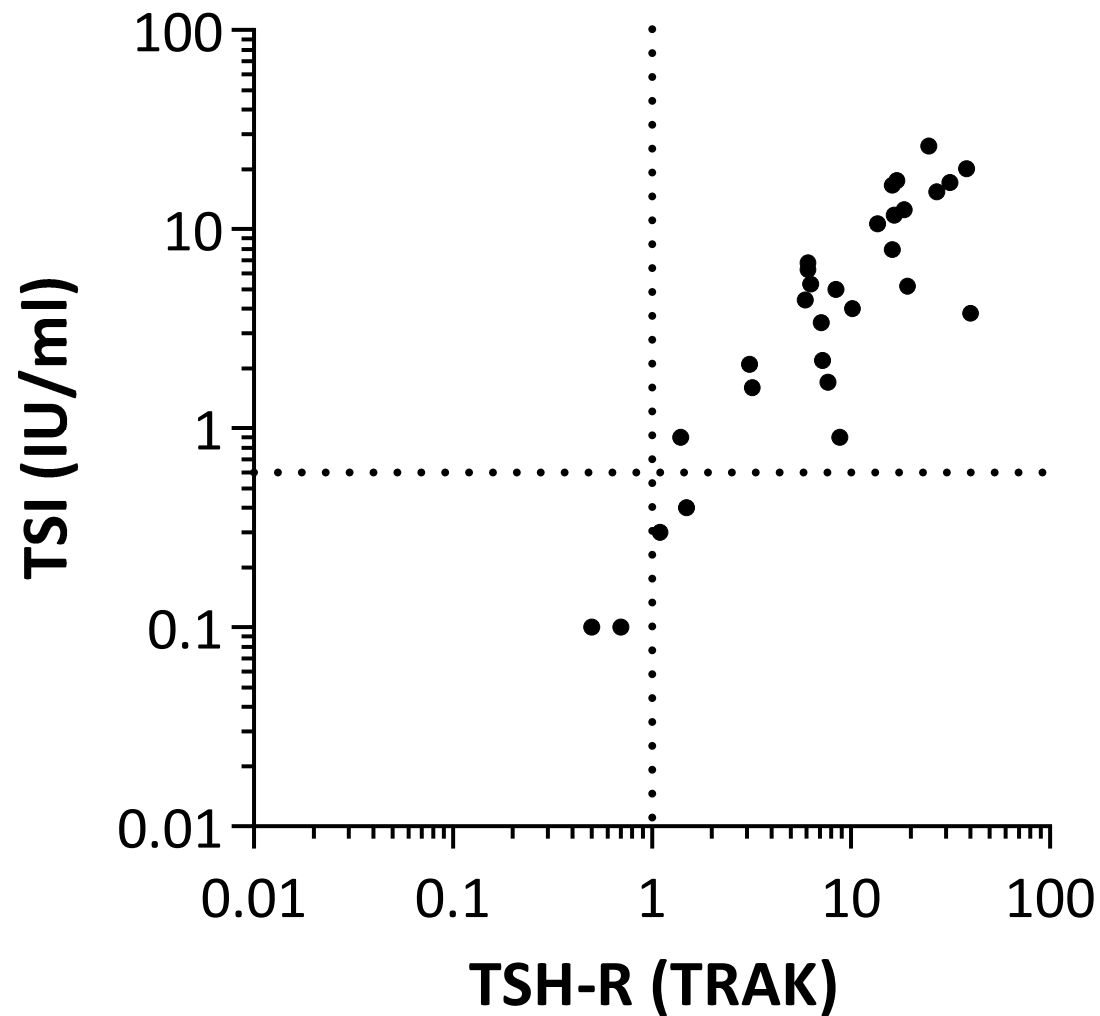
Technische validatie: testvergelijking 1 - RSR



Technische validatie: testvergelijking 2 - Euroimmuun



Technische validatie: testvergelijking 3 - TRAK



Concordantie 95%
 R^2 0.61

Klinische validatie

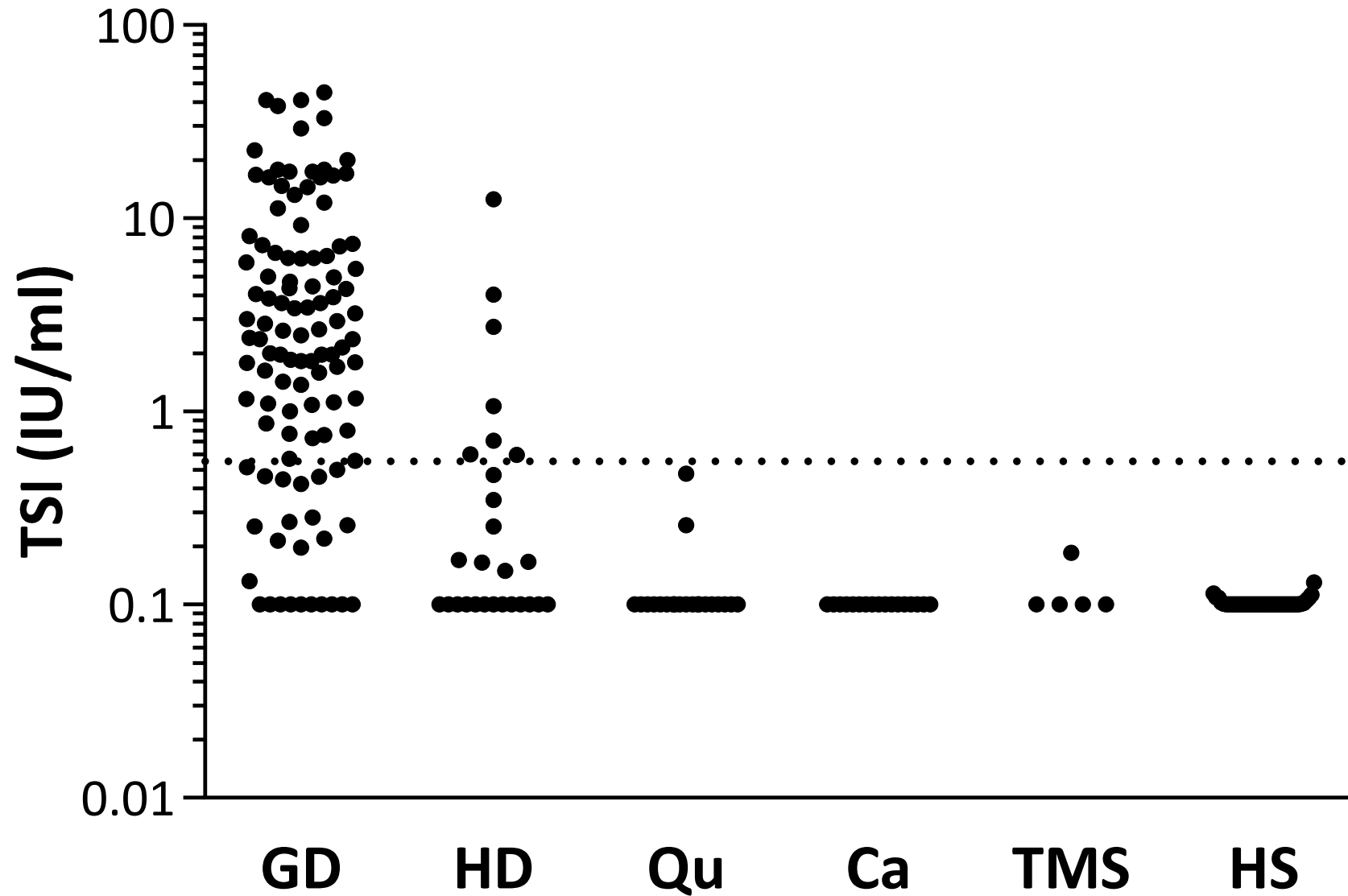
Patiënten selectie:

- Periode januari 2014 – december 2015
- Ingestuurd voor TSH-R antistoffen
- Behandeling Endocrinoloog RdGG, diagnose registratie in EPD
- Onderstaande diagnoses:
 - M. Graves (n=110, n = 68, ziekte duur <30 d)
 - M. Hashimoto (n=27)
 - Multinodulair struma
 - M de Quervain (n=21)
 - Schildklier carcinoom (n=17)

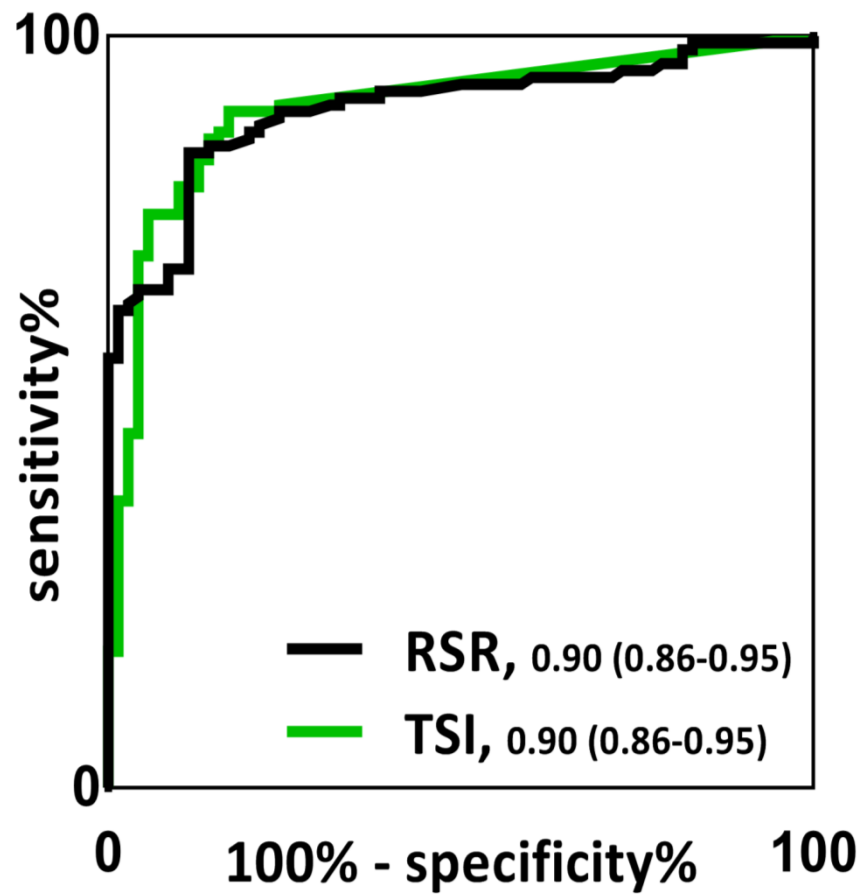
Gezonde controles (n=40)

- Aanvraag door huisarts,
- TSH, Hb, Leuko's, trombo's BSE en CRP niet afwijkend

Klinische validatie: TSI in patientengroepen



ROC curve TSH-R RSR en TSI Siemens



Sensitiviteit specificiteit TSI en TSH-R antistoffen

Alle M. Graves

		TSI		
		+	-	
Graves	+	86	18	104
	-	7*	63	70
		93	81	174

Sens 83%; ppv 0,92,

spec 90%; npv 0,78

* Allen M. Hashimoto

		TSH-R		
		+	-	
Graves	+	91	13	104
	-	17#	53	70
		108	66	174

Sens 88%, ppv 0,84

spec 76% npv 0,80

#M. Hashimoto en Quervain

Sensitiviteit specificiteit TSI en TSH-R antistoffen

		TSI		
		+	-	
Graves	+	59	7	66
	-	7	63	70
	?			0
		66	70	136

Sens 89%, ppv 0,89

spec 90%, npv 0,90

		TSH-R		
		+	-	
Graves	+	63	3	66
	-	17	53	70
	?			0
		80	56	136

Sens 95%, ppv 0,79

spec 76%, npv 0,95

TSI antistoffen - conclusies

- Technische validatie
 - Robuuste assay, voldoet volledig aan technische claims van de fabrikant
 - Eenvoudig te implementeren op Immulite
- Klinische validatie
 - Goed onderscheid tussen patientengroepen
 - Hoge specificiteit t.o.v. Healthy controls
 - Verbeterde specificiteit (90 vs 76%)
 - Geen verhoogde sensitiviteit (89 vs 95%)

Verder onderzoek

- Aard van antistoffen in positieve Hashimoto patiënten:
functionele assay
- Recent gediagnosticeerde M. Hashimoto
- Validatie rapport volgens normen NVKC en CMI zal op korte termijn beschikbaar zijn

Dank voor uw aandacht

M. Batstra, M. Heron. R Hoedemakers