



**THE NATIONAL ACADEMY
OF CLINICAL BIOCHEMISTRY**



**Institut national
de la santé et de la recherche médicale**

L'exploration biologique dans le diagnostic et la surveillance des maladies de la glande thyroïde

sous la direction de

Pierre Carayon

et du comité de rédaction formé de

**Bernard Conte-Devolx, Pierre-Jean Lejeune,
Jean Ruf et Jean-Louis Wémeau**

avec le concours de

**Merck-Lipha-Santé (France)
ZenTech (Belgique)**

sous l'égide de

**Société Française de Biologie Clinique,
Société Française d'Endocrinologie
Groupe de Recherche sur la Thyroïde**

Table des Matières

Présentation de l'édition en langue française	4
Préface	5
Traduction de l'édition en langue anglaise	7
1. Préface	8
2. Facteurs pré-analytiques	10
3. Explorations thyroïdiennes	30
A. Dosages de la thyroxine et de la triiodothyronine totales (T4T et T3T)	30
B. Dosages de la thyroxine et de la triiodothyronine libres (T4L et T3L)	33
C. Dosage de la thyrotropine (TSH)	49
D. Dosages des auto-anticorps anti-thyroïde	65
E. Dosage de la thyroglobuline (Tg)	88
F. Calcitonine (CT) et proto-oncogène <i>ret</i>	105
G. Dosage de l'iode urinaire	114
H. Cytologie après aspiration à l'aiguille fine (FNA)	121
I. Dépistage de l'hypothyroïdie congénitale	130
4. Importance de l'interface entre le clinicien et le biologiste.	143
5. Références bibliographiques	150
6. Annexes	
A. Liste des personnes ayant contribué au document original	194
B. Programmes de contrôle de qualité du dépistage biologique de l'hypothyroïdie congénitale	199
C. Abréviations	200

Copyright 2002 National Academy of Clinical Biochemistry. L'impression de copies individuelles de tout ou parties du document, pour un usage personnel est permise à partir de sources Internet autorisées telles que la page d'accueil de la *NACB* (www.nacb.org), étant assuré que l'utilisateur imprime également la page de couverture des parties concernées, ou mentionne clairement que le texte est une production du NACB. La traduction du document en une autre langue ne peut être faite qu'avec l'autorisation écrite de L'Académie Nationale de Biochimie Clinique (NACB, 2101 L Rue, Ns.W., Washington, DC 20037-1526). Une telle autorisation est ordinairement accordée sous réserve de la présence du logo du NACB et de l'avis suivant apparaissant distinctement au début du document : reproduit ou traduit avec la permission de la National Academy of Clinical Biochemistry, Washington, DC, USA.

Archived

Présentation de l'édition en langue française

Directeur de la Publication

- **Pierre Carayon**, Unité 555 Inserm, Marseille

Comité de Rédaction

- **Bernard Conte-Devolx**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Pierre-Jean Lejeune**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Jean Ruf**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Jean-Louis Wémeau**, Centre Hospitalier Universitaire, Lille

C'est avec reconnaissance que nous mentionnons les noms des personnes qui ont participé au travail de traduction et de mise en forme du document original sur lequel cette monographie est basée :

- **Albert Burger**, Centre Médical Universitaire, Genève
- **Paul Czernichow**, Unité 457 Inserm, Paris
- **Valérie Estienne**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Daniel Glinier**, Centre Hospitalier Universitaire, Bruxelles
- **Jean-François Henry**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Michèle D'Herbomez**, Centre Hospitalier Universitaire, Lille
- **Pierre Lecomte**, Centre Hospitalier Universitaire, Tours
- **Bernard Mallet**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Catherine De Micco**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Philippe De Nayer**, Centre Hospitalier Universitaire, Bruxelles
- **Patricia Niccoli-Sire**, Unité 555 Inserm, Marseille
- **Jean-Edmond Toubanc**, Unité 457 Inserm, Paris
- **Sabine Zulewski-Simon**, Centre Médical Universitaire, Genève

Ce document a été réalisé dans le cadre des activités de recherche de l'**Unité 555 Inserm-Université de la Méditerranée** et des **Services de Biochimie et Biologie Moléculaire**, d'**Endocrinologie**, de **Chirurgie Endocrinienne** et d'**Anatomopathologie** de la **Faculté de Médecine de Marseille** et de l'**Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille**.

Ce travail est placé sous l'égide de l'**Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale**, de la **Société Française de Biologie Clinique** et de la **Société Française d'Endocrinologie** ainsi que du **Groupe de Recherche sur la Thyroïde**.

Les encouragements et l'aide matérielle apportés par **Jean-Louis Vaudo** de la société **Merck-Lipha-Santé** (France) et par **Jean-Claude Havaux** de la société **ZenTech** (Belgique) méritent des remerciements particulièrement chaleureux.

Préface

Evolution de l'exploration des maladies thyroïdiennes.

Dans les années 60, l'exploration thyroïdienne se limitait au PBI (protein bound iodine) qui reflétait de manière imparfaite la concentration sérique de la thyroxine (T4). L'introduction de la radio-immunologie, au début des années 70, a bouleversé l'exploration thyroïdienne avec l'introduction des dosages sériques de la thyrotropine (TSH) puis de la T4 et de la T3 totales (T4T et T3T) assortis d'une évaluation de la fraction libre de ces hormones (index de thyroxine libre ou ITL dans le cas de la T4). L'évolution s'est poursuivie avec l'introduction des dosages de T3 et T4 libres (T3L et T4L), des protéines de transport des hormones thyroïdiennes (thyroxin binding globulin, TBG et transthyréline (TTR ou TBPA) et de la thyroglobuline (Tg). Plus récemment, des méthodes immuno-métriques non isotopiques ont permis d'améliorer considérablement la sensibilité et la spécificité des dosages. Ceci a fait du dosage de la TSH un test de détection non seulement de l'hypothyroïdie mais aussi de l'hyperthyroïdie, et de la Tg un marqueur précieux dans la surveillance des carcinomes thyroïdiens dont le diagnostic a été facilité par la biopsie par aspiration à l'aiguille fine (fine needle aspiration biopsy ou FNAB). Cet arsenal diagnostique a été complété par le dosage des auto-anticorps dirigés contre la thyroperoxydase (TPO) en complément de ceux qui sont dirigés contre la Tg et le récepteur de la TSH. Enfin, le dosage de la calcitonine (CT) et la recherche de mutations de l'oncogène *ret* ont radicalement changé le diagnostic et, par là, le pronostic des cancers médullaires de la thyroïde. Actuellement, l'évolution est le fait d'améliorations dans la fiabilité et la puissance diagnostique des dosages grâce à de meilleurs réactifs, notamment des anticorps monoclonaux plus spécifiques, à l'automatisation des dosages et à l'introduction de nouvelles techniques de mesure.

Les recommandations de consensus : une nécessité.

La pathologie thyroïdienne a, souvent, une présentation insidieuse qui peut la faire méconnaître si des moyens diagnostiques adéquats ne sont pas mis en jeu. Cette difficulté justifie pour certains la mise en place de dépistages ciblés. Par ailleurs, les maladies thyroïdiennes, pour la quasi-totalité des patients, ont pour cause des processus auto-immuns ou tumoraux probablement sous-tendus par des facteurs génétiques ou environnementaux. Les moyens thérapeutiques actuels sont dirigés contre les conséquences mais non contre les causes des dysthyroïdies : on sait traiter mais on ne sait pas guérir. En d'autres termes, la majorité de ces patients resteront toute leur vie sous une surveillance médicale faisant largement appel à la biologie. Etant donné la large palette d'explorations disponibles pour le diagnostic et la surveillance des maladies thyroïdiennes une augmentation inacceptable des coûts était à craindre. Ceci a fait apparaître la nécessité d'une rationalisation de l'exploration thyroïdienne sous l'angle du rapport coût-bénéfice. Encouragées par les pouvoirs publics, de nombreuses organisations professionnelles françaises et étrangères ont proposé des recommandations de consensus.

Les recommandations de consensus : une utopie.

Les recommandations de consensus font, *a priori*, l'unanimité quant à leur nécessité. Aussitôt rédigées, elles sont l'objet de critiques quant à leur inadéquation à régler les problèmes. L'analyse de ces critiques montre que les attaques contre le contenu des recommandations aboutissent à une véritable mise en cause du principe même des recommandations de consensus. Il est vrai que les recommandations proposent des solutions « standardisées » dans un domaine, le vivant, qui n'est pas « standardisable » et que proposer une riposte univoque

face à des situations très diverses est à l'évidence inadéquat. C'est dans la difficulté à réconcilier leur nécessité et leur inadéquation que réside la première limitation des recommandations de consensus. A la diversité des patients s'ajoute la diversité des méthodes mises en jeu. Pour un même paramètre, TSH ou T4L par exemple, la puissance diagnostique du test va dépendre de la trousse utilisée et de l'intervalle normal de référence retenu. La conséquence en est une diversité dans les opinions : le choix entre TSH et T4L comme test de première intention dans l'exploration thyroïdienne reste un sujet débattu dans certains pays. Une critique supplémentaire adressée aux recommandations de consensus est celle de leur obsolescence en regard de l'évolution des moyens mis en jeu dans l'exploration des patients. Cette évolution peut être faite de l'émergence d'un concept nouveau (l'immuno-analyse en est un exemple), d'une découverte scientifique (la TPO en tant qu'antigène majeur de l'auto-immunité thyroïdienne), de progrès techniques (utilisation de protéines recombinantes dans les trousses de clonage), etc.... Pour expliquer les divergences observées dans des recommandations d'origines diverses, il faut aussi prendre en compte des facteurs culturels, économiques et environnementaux, l'apport d'iode dans l'alimentation en est un d'importance. Ces facteurs s'ajoutent aux précédentes critiques de fond pour faire peser un grand scepticisme sur la validité des recommandations dans la pratique médicale.

Les recommandations de consensus : une nouvelle approche

En 1996, l'American Association for Clinical Chemistry (AACC) et son émanation, la National Academy of Clinical Chemistry (NACB), publiaient des recommandations pour le diagnostic et la surveillance des maladies thyroïdiennes. Quoique faisant appel à quelques auteurs non-américains, ce document est apparu fortement influencé par les pratiques américaines. La mise à jour de ce document, décidée par la NACB en 2000, offrait l'opportunité d'y faire participer les associations de recherche sur la thyroïde d'Amérique du Nord, d'Amérique du Sud, d'Asie, d'Europe et d'Océanie. Le but était d'établir des recommandations faisant l'objet d'un consensus au niveau mondial et, corrélativement, d'identifier les points pour lesquels un consensus ne pouvait être obtenu afin d'éclairer les causes de divergence. Ce document est paru dans sa version définitive sur le site de la NACB et sa publication en français s'imposait.

Traduction de l'édition en langue anglaise

Directeurs de la Publication

- **Laurence M. Demers, Ph.D., F.A.C.B.**, Département de Médecine, Université de Pennsylvanie, Centre Médical M.S. Hershey, Philadelphie, PA, Etats-Unis d'Amérique
- **Carole A. Spencer, Ph.D., F.A.C.B.**, Université de Californie du Sud, Los Angeles, CA, Etats-Unis d'Amérique

Comité de Rédaction

La préparation de cette monographie révisée a été réalisée avec la contribution des Directeurs de la Publication, de membres du Comité de Recommandations des explorations médicales, et d'experts qui ont soumis un manuscrit pour chaque partie de cet ouvrage. Le texte a été soumis pour commentaires à un grand nombre d'experts qui sont énumérés dans l'appendice A. Le contenu de cette monographie représente les opinions des participants à la rédaction du document et ne représente pas la position officielle de l'Académie Nationale de Biochimie Clinique ou des autres organisations qui ont parrainé ce travail.

La *National Academy of Clinical Biochemistry* est l'académie officielle de l'*American Association of Clinical Chemistry*. ©2002 by the National Academy of Clinical Biochemistry.

Remerciements

Nous mentionnons avec reconnaissance les personnes suivantes qui ont fourni les manuscrits originaux sur lesquels cette monographie est basée :

- **Zubair Baloch, M.D., Ph.D.**, Centre Médical de l'Université de Pensylvanie, Philadelphie, PA, Etats-Unis d'Amérique
- **Pierre Carayon, M.D., D.Sc.**, U555 INSERM et Département de Biochimie & Biologie Moléculaire, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Marseille, France
- **Bernard Conte-Devolx, M.D., D.Sc.**, U555 INSERM et Département d'Endocrinologie, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Marseille, France
- **Ulla Feldt-Rasmussen, M.D., Ph.D., M.Sc.**, Département de Médecine, Hôpital National Universitaire, Copenhague, Danemark
- **Jean-François Henry, M.D.**, U555 INSERM et Département de Chirurgie Endocrine, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Marseille, France
- **Virginia A. LiVolsi, M.D.**, Centre Médical de l'Université de Pennsylvanie, Philadelphia, PA, Etats-Unis d'Amérique
- **Patricia Niccoli-Sire, M.D., D.Sc.**, U555 INSERM et Département d'Endocrinologie, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Marseille, France
- **Rhys John, Ph.D., F.R.C.Path.**, Hôpital Universitaire du Pays de Galles, Cardiff, Pays de Galles, Royaume-Uni
- **Jean Ruf, D.Sc.**, U555 INSERM et Département de Biochimie & Biologie Moléculaire, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Marseille, France
- **Peter P.A. Smyth, M.S., Ph.D.**, Département de Médecine et Thérapeutique, Collège Universitaire de Dublin, Dublin, Irlande
- **Jan R. Stockigt, M.D., F.R.A.C.P., F.R.C.P.A.**, Unité Métabolique « Ewen Downie », Hôpital Alfred, Melbourne, Victoria, Australie

1. Préface

Les cliniciens ont besoin d'explorations biologiques de qualité pour assurer, efficacement et au meilleur coût, le diagnostic et la surveillance des affections thyroïdiennes. Lorsque la suspicion clinique est forte, comme devant une hyperthyroïdie cliniquement évidente chez un jeune adulte ou en présence d'une masse thyroïdienne augmentant rapidement de volume, le simple dosage des hormones thyroïdiennes par le laboratoire confirmera facilement la suspicion clinique.

Cependant, dans la majorité des cas, les symptômes pouvant suggérer une affection thyroïdienne se présentent de manière plus subtile, de sorte qu'une exploration biologique accompagnée, éventuellement, d'un examen cytopathologique après ponction à l'aiguille fine, pourront permettre d'établir un diagnostic correct. Dans tous les cas, que le problème thyroïdien du patient permette un diagnostic évident ou difficile, une collaboration ouverte et franche entre le clinicien et le biologiste clinique est essentielle pour une prise en charge efficace des patients présentant une affection thyroïdienne.

Les dysfonctionnements thyroïdiens et, plus particulièrement, l'hypothyroïdie par carence en iode, est un problème mondial de santé publique. La carence en iode n'est jamais un problème affectant de manière homogène l'ensemble de la population d'un même pays. Bien au contraire, des études menées en Europe et aux Etats-Unis suggèrent que la carence en iode doit être considérée comme un « désordre localisé » c'est-à-dire qu'il peut présenter une plus grande prévalence dans certaines zones que dans d'autres d'un même pays (1-3).

La création de cette monographie mise à jour a été l'effort commun de nombreux experts de la thyroïde issus d'organisations professionnelles concernées par les maladies thyroïdiennes : *American Association of Clinical Endocrinologists (AACE)*, *Asia & Oceania Thyroid Association (AOTA)*, *American Thyroid Association (ATA)*, *British Thyroid Association (BTA)*, *Latin American Thyroid Society (LATS)* et l'*Association Européenne de la Thyroïde (ETA)*. Ces organisations professionnelles font autorité et sont à la pointe de la recherche en matière de thyroïde. Elles ont publié des normes pour le traitement des maladies thyroïdiennes pour chaque région du monde. Dans la mesure où des facteurs économiques et géographiques ont une influence sur l'usage des méthodes d'exploration de la thyroïde, cette monographie est concentrée sur les aspects techniques des tests thyroïdiens et sur les critères de qualité nécessaires pour une utilisation optimale dans un environnement global de plus en plus sensible au coût.

Les pratiques des cliniciens et des biologistes, dans le monde, montrent des différences dans la stratégie de l'exploration de la thyroïde (4). Cette monographie ne peut pas entrer dans le détail de ces différences de pensée et d'opinion, mais nous espérons que les lecteurs de ce document apprécieront nos efforts pour prendre en compte quelques-unes de ces différences en les intégrant dans les stratégies recommandées. Nous pensons que la plupart des dosages et des procédures d'exploration utilisés pour diagnostiquer et assurer le suivi des désordres thyroïdiens sont évoqués dans ce texte. Cette monographie est conçue pour donner aux biologistes comme aux cliniciens un aperçu des performances et des limites des dosages thyroïdiens les plus employés en pratique clinique. Des recommandations de consensus sont faites tout au long du document. Le niveau de consensus atteint peut être considéré comme supérieur à 95 %, sauf dans certains cas dûment mentionnés. Dernier point, des commentaires constructifs sur les sites Internet restent les bienvenus pour améliorer la monographie pour une prochaine révision.

Ressources complémentaires

Des recommandations cliniques récentes ont été publiées dans les références qui suivent (4-11). En outre, des manuels tels que "Thyroid" et "The Thyroid and its Diseases" (12,13) ainsi que le site Internet "www.thyroidmanager.org" sont des références très utiles. De plus, une liste de symptômes suggérant la présence d'affections thyroïdiennes ainsi que les codes ICD-9

recommandés à « *Medicare* » par l' « *American Thyroid Association* » est disponible sur le site Internet de cette société savante (www.thyroid.org). Les orientations de pratique clinique peuvent varier dans les différentes régions du monde. Plus d'informations peuvent être obtenues de chacune des organisations nationales et internationales en rapport avec la thyroïde :

- Asia & Oceania Thyroid Association (AOTA: www.dnm.kuhp.kyoto-u.ac.jp/AOTA);
- American Thyroid Association (ATA: www.thyroid.org);
- European Thyroid Association (ETA: www.eurothyroid.com);
- Latin American Thyroid Society (LATS: www.lats.org).

Perspective Historique

Au cours des quarante dernières années, les améliorations dans la sensibilité et la spécificité des explorations biologiques de la thyroïde ainsi que le développement de la biopsie par aspiration à l'aiguille fine (FNA) et l'amélioration des techniques cytologiques ont eu un impact considérable sur les stratégies cliniques mises en œuvre dans le diagnostic et la surveillance des maladies thyroïdiennes. Dans les années 50, la seule exploration thyroïdienne disponible appliquée au sérum était le "*protein bound iodine*" ou "*PBI*", une estimation indirecte de la concentration totale circulante de la thyroxine (T4 libre + T4 liée à des protéines sériques). Aujourd'hui, la concentration urinaire en iode est mesurée directement par des techniques dites de cendres sèches ou humides et est employée pour estimer la prise alimentaire en iode. Au début des années 70, et plus récemment, les méthodes de dosages immuno-métriques non compétitifs (IMA) ou méthodes "sandwich" ont progressivement amélioré la spécificité et la sensibilité des dosages thyroïdiens. Actuellement, sont disponibles des dosages sériques des hormones thyroïdiennes totales (T4T et T3T) et libres (T4L et T3L) (14,15). En outre, la mesure des protéines du sérum liant les hormones thyroïdiennes c.-à-d. la thyroxin binding globulin (TBG), la transthyréline (TTR ou TBPA pour thyroxin binding prealbumin) et de l'albumine sont disponibles (16). Les améliorations, considérables dans la sensibilité des dosages de la thyrotropine (TSH), permettent maintenant d'utiliser ceux-ci dans le dépistage de l'hyper- comme de l'hypothyroïdie. Plus encore, les dosages sériques de la thyroglobuline (Tg), protéine précurseur des hormones thyroïdiennes, et de la calcitonine (CT) sont devenus des marqueurs tumoraux majeurs dans la prise en charge des patients présentant, respectivement, des carcinomes thyroïdiens différenciés et des cancers médullaires de la thyroïde. La reconnaissance de l'auto-immunité comme la cause majeure des dysfonctionnements de la thyroïde a conduit au développement de dosages plus sensibles et plus spécifiques des auto-anticorps anti-peroxydase thyroïdienne (TPOAb), anti-thyroglobuline (TgAb) et anti-récepteur de TSH (TRAb). Actuellement, les dosages thyroïdiens de routine sont habituellement exécutés sur des échantillons de sérum à l'aide de méthodes manuelles ou, le plus souvent maintenant, automatisées qui emploient des anticorps spécifiques (17). La méthodologie continue à évoluer avec le développement de nouvelles technologies et instrumentations et l'établissement de normes de qualité de plus en plus élevées.

2. Facteurs pré-analytiques

La plupart des variables pré-analytiques ont en principe relativement peu d'effets sur le dosage de la TSH sérique, le test le plus communément utilisé pour l'évaluation initiale de

l'état fonctionnel thyroïdien chez les patients ambulatoires. Les variables pré-analytiques et les substances interférentes présentes dans des échantillons peuvent influencer sur la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines plasmatiques et risquer ainsi d'altérer l'exactitude d'un diagnostic basé sur le dosage des hormones thyroïdiennes T3 et T4, soit liées aux protéines du sérum (T3 et T4 totales ou T3T et T4T), soit sous formes libres (T3L et T4L) et de la TSH sérique (Tableau 1). Comme cela est discuté en détail ailleurs (2.B2 et 3.B3), les résultats des mesures de T4 libre et de TSH peuvent conduire à des diagnostics erronés chez des patients présentant des maladies non thyroïdiennes (NTI) sévères, surtout lorsque l'on s'adresse à des patients hospitalisés. Dans ces circonstances en effet, des patients normothyroïdiens ont fréquemment des concentrations sériques anormales de TSH et/ou d'hormones thyroïdiennes totales et libres. Il peut en être de même suite à la prise de médicaments qui interfèrent avec la synthèse ou la sécrétion des hormones. Lorsqu'il existe une forte suspicion qu'une de ces variables puisse affecter les résultats des dosages, l'avis du clinicien ou du biologiste clinique doit être requis.

Tableau 1. Causes de discordance entre T4L et TSH en l'absence de pathologie associée

Test discordant	Résultats TSH T4L	Causes probables	Mesures à prendre
T4L	N	Hypothyroïdie : 1) infraclinique non traitée car non diagnostiquée 2) diagnostiquée et insuffisamment traitée 3) non compliance à un traitement correct	1) doser anti-TPO et vérifier TSH après 6 semaines 2) augmenter la dose de L-T4 3) insister sur la compliance
	N _{ou}	Hyperthyroïdie : 1) infraclinique non traitée car non diagnostiquée 2) diagnostiquée et traitée par un excès de L-T3	1) rechercher un nodule toxique 2) doser la T3L, élevée si hyperthyroïdie à T3
	N	Discordance T4L / statut clinique 1) traitement par la L-T4 2) anomalie des protéines de liaison (FDH) 3) interférences dans le test (aT4, aT3, HAMA,...)	1) situation courante à surveiller 2) doser la T4L par une méthode de référence 3) doser la T4L par une méthode de référence
	N	Discordance T4L / statut clinique 1) présence d'inhibiteurs des protéines de liaison 2) grossesse	1) doser la T4L par une méthode de référence 2) se référer aux valeurs normales de la grossesse
TSH	N	Discordance TSH / statut clinique 1) traitement récent (< 6-8 semaines) par la L-T4 2) interférences dans le test (aTSH, HAMA,...)	1) vérifier la TSH avant de changer la dose de L-T4 2) vérifier la TSH avec un kit différent
	N	Discordance TSH / statut clinique 1) traitement récent (< 2-3mois) pour hyperthyroïdie 2) traitement (dopamine, glucocorticoïdes,...)	1) doser T3L et T4L pour évaluer le statut thyroïdien 2) doser T3L et T4L pour évaluer le statut thyroïdien
	N _{ou}	Adénome hypophysaire à TSH	1) doser la TSH avec un kit différent puis la TSH α 2) faire test TRH (stimulation) et L-T3 (freination) 3) exploration morphologique hypophysaire
	N	Hypothyroïdie centrale	1) mesurer la bioactivité de la TSH (diminution ?) 2) rechercher d'autres signes d'hypopituitarisme 3) test au TRH (réponse < 2fois le taux de base ?)

En plus de la variabilité physiologique intrinsèque des valeurs hormonales, des facteurs peuvent influencer la sensibilité, la réactivité et la spécificité des dosages thyroïdiens chez des patients qui présentent des anomalies génétiques des protéines de liaison ou une maladie non thyroïdienne sévère (NTI). De plus, des facteurs iatrogènes comme l'administration de médicaments thyroïdiens et non thyroïdiens (par exemple : glucocorticoïdes, β -bloquants) peuvent influencer sur l'exactitude du diagnostic, en conduisant à une interprétation erronée des résultats des dosages. Il faut également tenir compte d'autres facteurs, comme la présence dans le sérum d'auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes, d'anticorps anti-Tg, et d'anticorps hétérophiles (HAMA), qui peuvent influencer sur l'exactitude des dosages. Le Tableau 2 énumère les facteurs pré-analytiques qui doivent être pris en considération pour l'interprétation des dosages thyroïdiens.

A. Variables physiologiques

En pratique, chez l'adulte ambulatoire, des variables comme le sexe, la race, la saison, la phase du cycle menstruel, le tabagisme, l'activité physique, le jeûne ou la stase veineuse (induite par la phlébotomie) n'ont que des effets mineurs sur les normes de référence des dosages thyroïdiens (18). Étant donné que les différences liées à ces variables physiologiques sont plus petites que celles qui sont dues à la méthodologie des dosages, elles sont considérées comme sans conséquences. Par contre, d'autres variables peuvent interférer avec les dosages, la grossesse en est un excellent exemple.

Tableau 2. Variables pouvant interférer avec les résultats de l'exploration thyroïdienne.

A. Variables physiologiques	B. Variables pathologiques	C. Variables propres au spécimen
Relation TSH/T4 libre	Dysfonctionnement thyroïdien	Facteurs interférents
Age	Dysfonctionnement rénal ou hépatique	
Grossesse	Médications	
Variations biologiques	Maladies systémiques	

Recommandation 1 : Orientation générale pour les Laboratoires & les Cliniciens

- Les laboratoires devraient stocker (à 4-8°C) tous les échantillons de sérum employés pour des dosages thyroïdiens pendant au moins une semaine après la communication des résultats, afin de permettre aux cliniciens de demander des tests supplémentaires.
- Les échantillons provenant de patients atteints de cancer différencié de la thyroïde, envoyés pour dosage de thyroglobuline (Tg) sérique, devraient être conservés (à - 20°C) pendant six mois au minimum.

A. 1. La relation TSH/T4 libre dans le sérum

Une compréhension de la relation normale qui existe entre les niveaux de la T4 libre (T4L) et la TSH sérique est essentielle pour l'interprétation des dosages thyroïdiens. Un axe hypothalamo-hypophysaire intact constitue une condition préalable si le dosage de la TSH est utilisé pour déterminer un dysfonctionnement primaire de la thyroïde (19). Un certain nombre de conditions cliniques et des agents pharmacologiques peuvent perturber la relation T4L/TSH. Comme cela est indiqué dans le Tableau 1, les dosages de T4L sont plus fréquemment trompeurs que ceux de TSH.

Lorsque la fonction hypothalamo-hypophysaire est normale, il existe une relation log/linéaire inverse entre la TSH sérique et les concentrations de T4L, suite à l'inhibition de la sécrétion de TSH par l'hypophyse par le rétro-contrôle exercé par les hormones thyroïdiennes. Donc, la fonction thyroïdienne peut être évaluée soit directement en mesurant le produit de la glande thyroïde, la T4 (de préférence la T4L), soit indirectement en évaluant le niveau de TSH qui reflète (de façon inverse) les concentrations d'hormones thyroïdiennes auxquelles aura réagi le « thyrostat » hypophysaire. Il s'ensuit qu'un taux élevé de TSH avec une T4L basse sont caractéristiques de l'hypothyroïdie et un taux abaissé de TSH avec une T4L élevée caractérisent l'hyperthyroïdie. En réalité, maintenant que la sensibilité et la spécificité des dosages de TSH ont été améliorées, on accepte que l'approche indirecte (par le dosage de la TSH sérique) offre une meilleure sensibilité pour détecter un dysfonctionnement thyroïdien que l'approche directe (par le dosage de la T4L) (10).

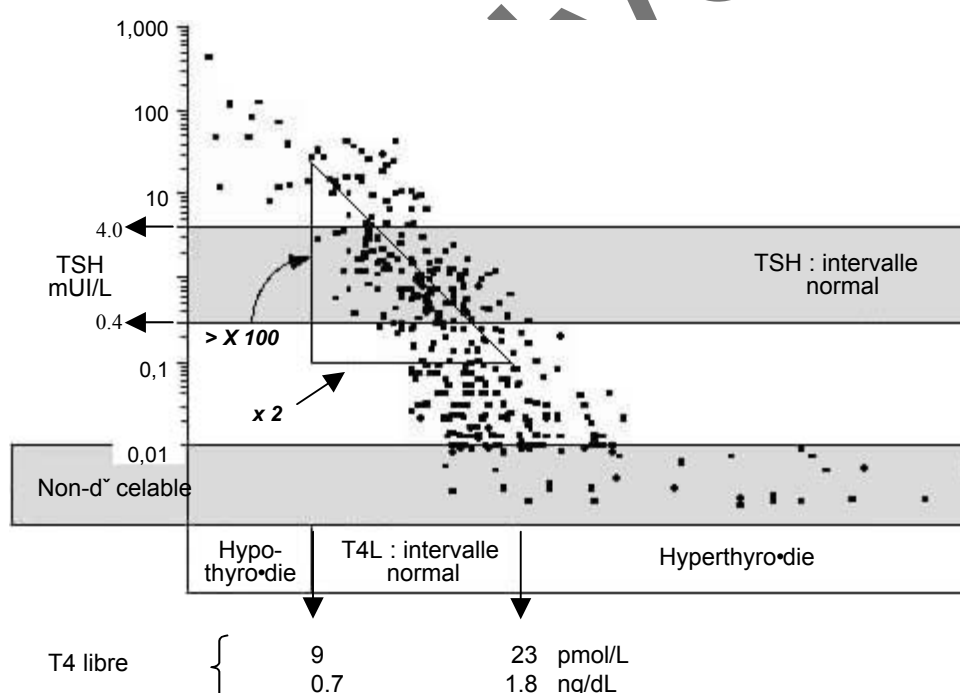


Figure 1 : Relation entre la TSH sérique et les concentrations de T4 libre chez des sujets présentant un état thyroïdien stable et une fonction hypothalamo-hypophysaire normale. Adapté de la référence (20).

Il existe deux raisons pour utiliser une stratégie centrée sur la TSH chez le patient ambulatoire. Comme cela est montré dans la Fig. 1, les concentrations sériques de la TSH et

de la T4L présentent une relation inverse log-linéaire, de sorte que des modifications légères de la T4L entraînent une réponse plus large (amplificatrice) de la TSH sérique (20).

Les variations individuelles étroites des valeurs des dosages thyroïdiens (observées dans des études chez des jumeaux) suggèrent que chaque individu a un niveau propre de T4L génétiquement prédéterminé (21,22). Tout excès (même faible) ou toute déficience de la T4L sera détecté par l'hypophyse, par rapport au point de repère individuel de la T4L, et entraînera une réponse amplifiée et inverse de la sécrétion de TSH. Il s'ensuit que dans les stades débutants d'un dysfonctionnement thyroïdien, les anomalies de la TSH sérique précéderont l'apparition d'une T4L anormale, en raison de la réponse exponentielle de la TSH à des modifications, même subtiles de la T4L, alors que cette dernière reste encore dans les normes de référence d'une population. Si les normes de référence d'une population sont larges, c'est parce qu'elles reflètent les différents niveaux individuels de la T4L des membres d'une cohorte de sujets normaux étudiés.

Actuellement, les mesures des concentrations de la TSH sérique constituent l'indicateur le plus fiable du statut thyroïdien au niveau tissulaire. Des études portant sur l'excès ou la carence légère (infra-clinique) en hormones thyroïdiennes (TSH anormale/T4L et T3L dans la zone normale) démontrent l'existence d'anomalies de marqueurs de l'action des hormones thyroïdiennes au niveau de nombreux tissus (comme le cœur, le cerveau, l'os, le foie et les reins). Ces anomalies sont abolies lorsqu'un traitement est initié normalisant la TSH sérique (23-26).

Il est important de reconnaître les situations cliniques où les valeurs de la TSH sérique ou de la T4L peuvent conduire à des diagnostics erronés (Tableau 1). Celles-ci incluent des anomalies de la fonction hypothalamique ou hypophysaire, comme les tumeurs hypophysaires sécrétant de la TSH (27-29). De plus, comme cela est indiqué dans la Fig. 2, les résultats des mesures de la TSH sérique peuvent induire des erreurs diagnostiques pendant les périodes transitoires correspondant à un état thyroïdien instable, par exemple pendant les phases initiales du traitement de l'hyper et de l'hypothyroïdie ou au cours d'un changement de posologie de L-T4. De façon spécifique, il faut 6 à 12 semaines pour que la sécrétion hypophysaire de TSH se rééquilibre à un nouveau statut fonctionnel thyroïdien (30). De telles périodes de statut thyroïdien instable peuvent aussi survenir à l'occasion d'un épisode de thyroïdite, incluant les thyroïdites du post-partum, où des résultats discordants de la TSH et de la T4L sont observés.

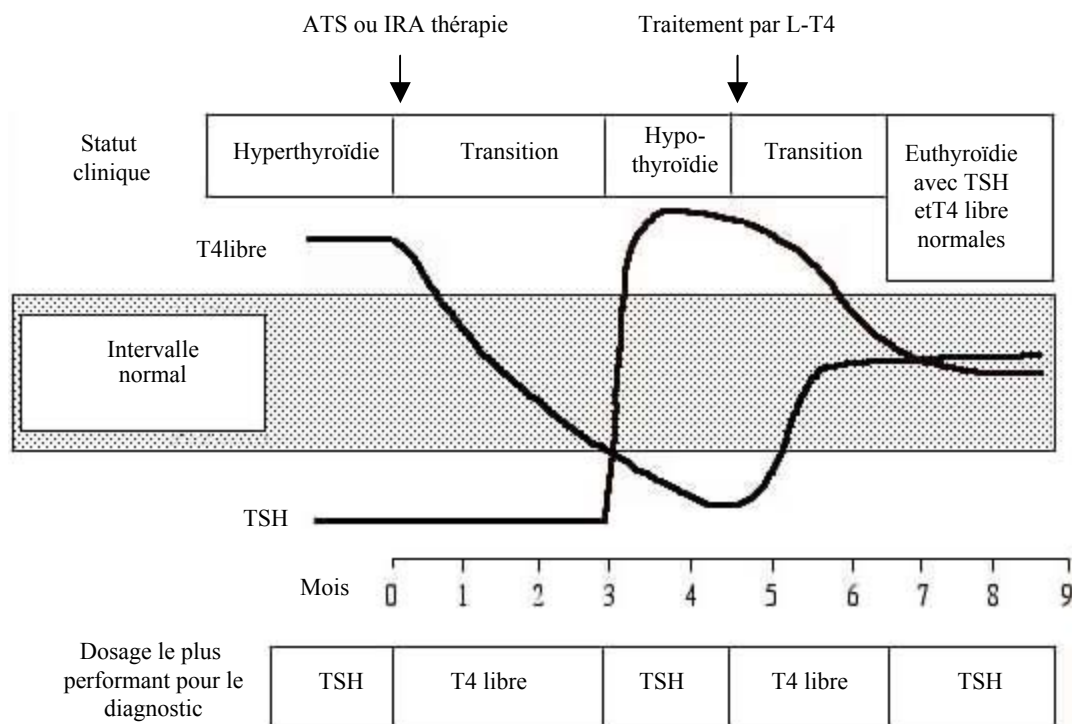


Figure 2. Retard dans la remise à niveau de la TSH hypophysaire pendant les périodes de transition en présence d'un statut thyroïdien instable suite au traitement de l'hyper- ou de l'hypothyroïdie.

Recommandation 2. Exploration thyroïdienne des patients ambulatoires

- **Patients avec un statut thyroïdien stable :** Quand le statut thyroïdien est stable et la fonction hypothalamo-hypophysaire intacte, le dosage de la TSH est plus sensible que celui de la T4L pour la détection des anomalies discrètes de l'hormonémie thyroïdienne, excès comme carences (formes dites infra-cliniques). La sensibilité diagnostique supérieure de la TSH sérique reflète la relation log/linéaire qui existe entre TSH et T4L et la grande sensibilité de l'hypophyse pour détecter des anomalies de la T4L par rapport au niveau génétiquement pré-déterminé de la T4L chez chaque individu.
- **Patients avec un statut thyroïdien instable :** le dosage de la T4L sérique est un indicateur plus fiable du statut thyroïdien que celui de la TSH, lorsque l'état métabolique est temporairement instable, comme pendant les 2-3 premiers mois d'un traitement d'hypo- ou d'hyperthyroïdie. Les patients qui présentent une hypothyroïdie sévère

chronique peuvent développer une hyperplasie thyroïdienne hypophysaire, qui peut ressembler à un adénome hypophysaire, mais qui se résorbe après plusieurs mois de traitement par la L-T4. Chez les patients hypothyroïdiens que l'on soupçonne de non "compliance" au traitement de remplacement par L-T4, les mesures couplées de la TSH et de la T4L devraient être employées pour le suivi clinique. De tels patients peuvent présenter des valeurs de TSH sérique et de T4L qui sont discordantes (TSH et T4L élevées), en raison du déséquilibre persistant entre T4L et TSH.

Les médicaments qui influencent la sécrétion de la TSH par l'hypophyse (par exemple : dopamine, glucocorticoïdes, etc...) ou qui altèrent la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines plasmatiques sont également susceptibles de donner des valeurs discordantes de TSH [3.B3 (c) vi].

A. 2. Effets de l'âge sur les normes de référence des dosages thyroïdiens

(a) Adultes. Malgré certaines études montrant des différences mineures entre sujets âgés et plus jeunes, des normes de référence adaptées à l'âge chez l'adulte normothyroïdien sont inutiles pour les dosages des hormones thyroïdiennes et de la TSH (18, 31-33). Pour ce qui concerne les sujets âgés normothyroïdiens, la valeur moyenne de la TSH augmente pour chaque décennie, comme d'ailleurs la prévalence des concentrations de TSH sérique basses et élevées, en comparaison avec les sujets plus jeunes (18, 34, 35). Malgré une variabilité plus grande de la TSH sérique chez les sujets plus âgés, il n'y a aucune justification à utiliser des normes de référence élargies ou adaptées à l'âge (31, 32). Cette approche conservatrice est justifiée par les études qui ont montré une association significative entre taux de TSH sérique inhibés ou légèrement élevés et morbidité et mortalité cardio-vasculaires majorées (36, 37).

(b) Nouveau-nés, Nourrissons et Enfants. Chez l'enfant, l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien subit une modulation et une maturation progressive. Plus spécifiquement, on note une diminution progressive du rapport TSH/T4L, du milieu de la gestation jusqu'à après l'achèvement de la puberté (38-43). En conséquence, des concentrations plus élevées de TSH sont typiquement observées chez l'enfant (44). Ce processus de maturation implique l'emploi de normes de référence spécifiques pour l'âge pendant la période pédiatrique. Toutefois, il existe des différences significatives entre les différents dosages de T4L et de TSH en fonction des méthodes employées [3.B et 3.C]. Du fait que la plupart des fabricants de "kits" n'ont pas établi individuellement des normes de référence spécifiques pour l'âge, ces limites peuvent être calculées pour des dosages différents en ajustant les limites supérieures et inférieures des normes de l'adulte avec le rapport des valeurs de l'adulte versus l'enfant, comme indiqué dans le Tableau 3.

Tableau 3. Normes de référence relatives pour la TSH et la T4L pendant la grossesse et l'enfance (données reprises de la référence (42) avec T4L mesurée par dialyse directe à l'équilibre).

Age	TSH	TSH	T4L	T4L
	Ratio enfant/ adulte	Plages mUI/L	Ratio enfant/ adulte	Plages pmol/L (ng/dL)
Fœtus à mi-terme	2,41	0,7-11	0,2	2-4 (0,15-0,34)
Sérum du cordon	4,49	1,3-20	0,8	8-17 (0,64-1,4)
(faibles poids)				
Nourrisson à terme	4,28	1,3-19	1	10-22 (0,8-1,9)
3 jours	3,66	1,1-17	2,3	22-49 (1,8-4,1)
10 semaines	2,13	0,6-10	1	9-21 (0,8-1,7)
14 mois	1,4	0,4-7,0	0,8	8-17 (0,6-1,4)
5 ans	1,2	0,4-6,0	0,9	9-20 (0,8-1,7)
14 ans	0,97	0,3-5,0	0,8	8-17 (0,6-1,4)
Adulte	1	0,3-4,0	1	9-22 (0,8-1,8)

Des valeurs plus basses de T3 sérique totale et libre (dosées par la plupart des méthodes) sont observées pendant la grossesse, la période néonatale, chez les personnes âgées et pendant la déprivation calorique (15). De plus, des concentrations plus élevées de T3 totale et libre sont typiquement observées chez les enfants normothyroïdiens. Ceci suggère que la limite supérieure de la T3 chez de jeunes patients (moins de 20 ans) devrait être déterminée pour chaque tranche d'âge : entre 6,7 pmol/L (440 ng/dl) chez l'adulte, et jusqu'à 8,3 pmol/L (540 ng/dl) chez l'enfant de moins de 3 ans (45).

Recommandation 3. Exploration thyroïdienne de l'enfant

L'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien subit une maturation pendant l'enfance jusqu'à la fin de la puberté.

- Les concentrations de TSH et de T4T sont plus élevées chez l'enfant, particulièrement pendant la première semaine de vie et la première année. Ne pas reconnaître ces variations spécifiques au jeune âge risquerait de conduire à ne pas diagnostiquer et/ou à sous-traiter les hypothyroïdies congénitales.

- Pour tous les dosages thyroïdiens, des normes de référence spécifiques pour l'âge devraient être utilisées (Tableau 3).

A.3. Grossesse

Pendant la grossesse, la production d'œstrogènes augmente progressivement, entraînant une élévation des concentrations moyennes de TBG. Les valeurs de la TBG plafonnent à 2-3 fois celles d'avant la grossesse, et le plateau est atteint vers la vingtième semaine (46, 47). Cette élévation de la TBG conduit à des modifications des normes de référence de la T4 et de la T3 totales, approximativement plus hautes de 1,5 fois les valeurs d'avant grossesse, vers la 16^{ème} semaine (48-50). Ces changements sont associés à une diminution de la TSH sérique au cours du premier trimestre, de sorte qu'un taux de TSH sérique infra-normal s'observe dans environ 20 % des grossesses normales (46, 47, 51). La diminution de la TSH est attribuée à l'activité de stimulation thyroïdienne de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) qui présente une homologie de structure avec la TSH (52, 53). Le pic de l'hCG et le nadir de la TSH sérique surviennent ensemble vers 10-12 semaines de gestation. Dans environ 10 % de ces cas (soit 2 % de toutes les grossesses) l'accroissement de la T4 libre atteint des valeurs supra-normales et lorsque cette situation se prolonge, ceci peut conduire à un syndrome intitulé "thyrotoxicose gravidique transitoire" (TGT), caractérisé par des symptômes et des signes plus ou moins prononcés (52-54). Cet état est fréquemment associé à une hyperémèse du premier trimestre de la grossesse (55,56).

La diminution de la TSH pendant le premier trimestre de la grossesse est associée en général avec un accroissement modeste de la T4L (46, 47, 51). Ensuite, dans le second et troisième trimestres de grossesse, il existe un consensus pour admettre que les taux sériques de T4L et de T3L diminuent d'approximativement 10-20 % sous les moyennes normales. Cette diminution des hormones libres est encore amplifiée quand le statut nutritionnel de la mère en iode est restreint ou carencé (46, 47, 51). Chez certaines parturientes, la T4L peut tomber en-dessous de la limite inférieure de référence de sujets non gravides (51, 57-60). La fréquence des concentrations infra-normales de T4L dans ces conditions dépend de la méthode de dosage utilisée (57, 59, 60). Des patientes qui reçoivent un traitement de remplacement par L-T4 et qui deviennent enceintes peuvent nécessiter une plus forte dose quotidienne pour maintenir un taux de TSH sérique normal (61, 62). Le statut thyroïdien de ces patientes devrait être vérifié en mesurant TSH + T4L pendant chaque trimestre de la gestation. Le dosage de T4L devrait être ajusté pour maintenir des concentrations normales de TSH et de T4L. Les concentrations sériques de Tg s'élèvent typiquement pendant la grossesse normale (46). Les patientes avec un carcinome thyroïdien différencié et chez lesquelles du tissu thyroïdien est toujours présent montrent typiquement un doublement de leur Tg sérique pendant la gestation, et un retour aux valeurs de base dans les 6 à 8 semaines qui suivent l'accouchement.

Recommandation 4. Exploration thyroïdienne chez les patientes enceintes

- Le dépistage des dysfonctionnements thyroïdiens en tout début de grossesse (premier trimestre), par le dosage sérique de la TSH, de T4T et de TPO-Ab, est important pour détecter des insuffisances thyroïdiennes légères ($TSH > 4 \text{ mUI/L}$) et pour prédire le risque ultérieur de thyroïdite du post-partum (TPO-Ab élevé).
- La mise en place d'un traitement à base de L-T4 devrait être envisagée si le taux sérique de TSH est $> 4 \text{ mUI/L}$ pendant le premier trimestre de la grossesse (et également si la T4T est infra-normale).
- Des titres élevés de TPO-Ab pendant le premier trimestre représentent un facteur de risque de thyroïdite dans le post-partum.
- Le dosage de TSH sérique devrait être employé pour évaluer le statut thyroïdien à chaque trimestre lorsque les parturientes suivent un traitement à base de L-T4, et avec des fréquences de dosage plus rapprochées si la posologie de L-T4 est modifiée.
- Des normes de référence trimestrielles spécifiques devraient être employées pour interpréter les résultats des dosages thyroïdiens chez les patientes enceintes.
- Le dosage de T3 et T4 totales peut être utile pendant la grossesse si des dosages fiables de T4L ne sont pas disponibles, pour autant que les normes de référence soient 1,5 fois plus élevées que celles de femmes non enceintes.
- Les normes de référence de T3L et T4L pendant la grossesse sont dépendantes de la méthode employée, et devraient être établies séparément pour chaque méthode.
- Lorsque des patientes avec un DTC ont des résidus de tissu thyroïdien normal ou de tissu tumoral, une augmentation de la thyroglobuline (Tg) sérique pendant la grossesse n'est pas nécessairement une cause d'alarme. La Tg sérique s'élève pendant la grossesse normale et retourne aux valeurs de base dans le post-partum.

La disponibilité réduite des hormones thyroïdiennes maternelles peut être un facteur critique compromettant le développement neurologique du fœtus au début de la gestation, avant que la glande thyroïdienne fœtale ne devienne active. Plusieurs études récentes ont montré à la fois des morts fœtales et des déficits en QI chez les nourrissons nés de mères avec une hypothyroïdie non diagnostiquée, une T4L basse ou des TPO-Ab positifs (63-65). Cependant, une étude suggère que l'identification précoce et le traitement de l'hypothyroïdie infra-clinique pourrait éviter les effets à long-terme de faibles niveaux d'hormones thyroïdiennes sur les systèmes psychomoteur et auditif du nouveau-né (66).

B. Variables pathologiques

B. 1. Médicaments

Les médicaments peuvent affecter les dosages thyroïdiens aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Ceci peut conduire à des erreurs d'interprétation des résultats de laboratoire et à un diagnostic inapproprié, ou à réaliser des dosages complémentaires inutiles et donc à un accroissement des coûts de la prise en charge médicale (67, 68).

(a) Effets *in vivo* : En général, la concentration de TSH sérique est moins affectée par des médicaments que les concentrations des hormones thyroïdiennes (Tableau 1). Par exemple, l'élévation de la TBG induite par les oestrogènes élève les taux sériques de T4T, mais n'affecte pas la concentration sérique de la TSH, parce que la sécrétion de TSH par l'hypophyse est contrôlée par la T4L, indépendamment des effets des protéines de liaison. Les glucocorticoïdes (à des doses importantes) peuvent abaisser le niveau sérique de la T3 et inhiber la sécrétion de TSH (69, 70). La dopamine inhibe également la sécrétion de TSH et peut même masquer l'élévation de la TSH dans une hypothyroïdie primaire chez des malades hospitalisés (71). Le propranolol, souvent administré pour traiter les symptômes de thyrotoxicose, a un effet inhibiteur sur la conversion de T4 en T3. Le propranolol à fortes doses, donné à des sujets sans affection thyroïdienne peut entraîner une élévation de la TSH (72). L'iode, contenu dans des solutions désinfectantes de la peau, des produits de contraste radio-opaques employés en coronarographie et CT-scanners, peut entraîner des hyper- comme des hypothyroïdies chez des individus prédisposés (73). En outre, des médicaments anti-arythmiques comme l'amiodarone, contenant de grandes quantités d'iode, utilisés pour le traitement des cardiopathies, ont des effets complexes sur le fonctionnement de la thyroïde, et peuvent induire des hyper- comme des hypothyroïdies chez des individus prédisposés avec TPO-Ab positif (74-78).

Recommandation 5. Exploration thyroïdienne des patients prenant de l'amiodarone

Un traitement par l'amiodarone peut induire le développement d'une hypo- comme d'une hyperthyroïdie chez 14 à 18 % des patients avec une glande thyroïde apparemment normale ou avec des anomalies préexistantes.

- ***Avant l'instauration du traitement.*** Examen physique complet de la thyroïde et dosages de TSH et TPO-Ab de base, les dosages de T4L et T3L ne sont nécessaires que si la TSH est anormale. Un titre positif de TPO-Ab est un facteur de risque pour le développement d'un dysfonctionnement thyroïdien au cours du traitement.
- ***Premier 6 mois.*** Des dosages anormaux peuvent survenir dans les six premiers mois après l'instauration du traitement. La TSH peut être discordante avec les taux des hormones thyroïdiennes (TSH élevée/T4 élevée/T3 basse). Habituellement la TSH se normalise si les patients restent normothyroïdiens au cours du traitement au long cours.
- ***Suivi à long terme.*** Contrôler l'état thyroïdien tous les 6 mois par la TSH. La TSH sérique est l'indicateur le plus fiable de l'état thyroïdien pendant le traitement.

- **Hypothyroïdie.** Une thyroïdite de Hashimoto préexistante et/ou la positivité de TPO-Ab est un facteur de risque pour le développement d'une hypothyroïdie à n'importe quel moment pendant le traitement.
- **Hyperthyroïdie.** Un taux bas de TSH sérique suggère l'hyperthyroïdie. La T3 (totale et libre) reste habituellement basse pendant le traitement, mais peut aussi être normale. Une T3 élevée signe l'hyperthyroïdie.

Deux types d'hyperthyroïdies induites par l'amiodarone peuvent se développer pendant le traitement, bien que des formes mixtes soient fréquemment rencontrées (20 %). La distinction entre ces deux types est souvent difficile. Un flux sanguin réduit à l'examen par Doppler et des taux élevés d'interleukine-6 suggèrent le type II. Si l'étiologie est incertaine, diriger le traitement vers les deux types I et II.

Type I, induit par l'iode. Le traitement recommandé est l'administration simultanée d'ATS et de perchlorate de potassium (si disponible). Certains recommandent l'acide iopanoïque avant thyroïdectomie. La plupart des auteurs recommandent l'arrêt de l'amiodarone. Le type I se rencontre plus souvent dans les régions à apport iodé faible. Cependant, dans les zones avec apport iodé suffisant, la fixation de l'iode radioactif peut être basse, empêchant l'option thérapeutique de l'iode radioactif. Dans les régions avec un apport insuffisant d'iode, la fixation thyroïdienne peut être normale ou élevée.

-Type Ia : goitre nodulaire. Le plus souvent observé dans les zones géographiques avec des carences en iode telles que l'Europe.

-Type Ib maladie de Basedow. Le plus souvent observé dans les zones géographiques sans carence en iode telles que les USA.

Type II, thyroïdite destructrice induite par l'amiodarone. Traitement recommandé par les glucocorticoïdes et/ou les β -bloquants si l'état cardiaque le permet. Lorsque l'hyperthyroïdie est sévère, la chirurgie peut être envisagée. La fixation de l'iode radioactif est typiquement basse ou inhibée. Le type II est le plus souvent rencontré dans des régions iodo-suffisantes.

Les patients traités par L-T4 et qui prennent de l'amiodarone peuvent avoir des concentrations de TSH sérique anormalement élevées par rapport à leur concentration de T4T (75). Deux types d'hyperthyroïdie induites par l'amiodarone (HIA) peuvent se développer pendant le traitement, bien que des formes mixtes soient rencontrées dans 20 % des cas. La distinction entre les deux est souvent difficile ; un flux sanguin réduit à l'examen par Doppler et des taux élevés d'interleukine-6 suggèrent le type II. Si l'étiologie est incertaine, orienter le traitement vers les types I et II.

Type I : L'HIA paraît être induite dans les glandes thyroïdiennes anormales par l'excès d'iode contenu dans le médicament. Une combinaison d'ATS et de perchlorate de potassium a souvent été employée pour traiter de tels cas.

Type II : L'HIA paraît résulter d'une thyroïdite destructrice qui est souvent traitée par prednisone et ATS. Certaines études rapportent un niveau élevé d'interleukine-6 dans le Type II (79). La T3 sérique (libre et totale) est typiquement basse pendant le traitement. Une T3 paradoxalement normale ou élevée est un élément utile pour confirmer le diagnostic d'hyperthyroïdie induite par l'amiodarone.

Le lithium peut provoquer l'hypo- ou l'hyperthyroïdie chez 10 % des patients traités par lithium, surtout ceux qui ont des titres positifs de TPO-Ab (81-83). Certains agents thérapeutiques et diagnostiques (exemples : phénytoïne, carbamazépine ou furosémide) peuvent inhiber compétitivement la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines plasmatiques dans un échantillon, et ainsi accroître sensiblement la T4T ce qui, par le mécanisme du rétro-contrôle, conduit à une réduction des valeurs de la T4T sérique [3.B3 (c) vi].

(b) Effets *in vitro*. L'administration d'héparine par voie intraveineuse peut libérer des acides gras libres (FFA) par la stimulation *in vitro* de la lipoprotéine-lipase, ce qui inhibe la liaison de la T4 aux protéines sériques et élève artificiellement la T4L [3.B3 (c) vii] (84). Dans certaines conditions pathologiques comme l'insuffisance rénale, des constituants anormaux du sérum, comme l'acide indolacétique peuvent s'accumuler et interférer avec la liaison des hormones thyroïdiennes (85). Les méthodes de dosages thyroïdiens qui utilisent des signaux fluorescents peuvent être sensibles à la présence dans l'échantillon d'agents fluorophores thérapeutiques ou diagnostiques (86).

B.2. Maladies non thyroïdiennes sévères (NTI)

Les malades dans un état grave ont souvent des anomalies de leurs dosages thyroïdiens, mais habituellement pas de dysfonctionnement thyroïdien (87, 88). Ces anomalies, qui sont vues dans les affections critiques chroniques ou aiguës, sont considérées comme résultant d'une inhibition centrale "mal-adaptée" des hormones de libération hypothalamiques, dont la TRH (89, 90). Les termes "maladie non thyroïdienne" (nonthyroidal illness ou NTI), ainsi que "maladie euthyroïdienne (euthyroid sick syndrome)" et "syndrome de basse T3" sont souvent utilisés pour décrire ce sous-ensemble de patients (91). Comme indiquée à la Fig. 3, la très grande variabilité des modifications qui interviennent dans les dosages thyroïdiens est liée à la sévérité et aux stades de ces maladies, ainsi qu'aux facteurs techniques affectant les méthodologies et dans certains cas aux médicaments donnés à ces patients.

Il a été établi que les dosages de T4L et de TSH ont une spécificité réduite pour détecter les dysfonctionnements thyroïdiens lorsque les patients ont des NTI sévères, en comparaison avec les patients ambulatoires (20, 92, 93). Il est généralement recommandé que l'évaluation de la fonction thyroïdienne chez des patients hospitalisés de ce type soit limitée aux symptômes cliniques ou aux antécédents de dysfonction thyroïdienne (93). Les raisons qui expliquent la spécificité réduite des dosages thyroïdiens dans ces circonstances sont multifactorielles. Beaucoup de patients de ce type reçoivent des médicaments tels que dopaminergiques, glucocorticoïdes, furosémide ou héparine lesquels inhibent directement la sécrétion de TSH par l'hypophyse soit inhibent indirectement la liaison de la T4 aux protéines, comme discuté précédemment. De plus, il a été montré que les affinités de liaison des protéines de transport sont réduites, peut-être en raison de la présence d'inhibiteurs endogènes circulants dans certaines de ces conditions pathologiques (60, 85, 94-96).

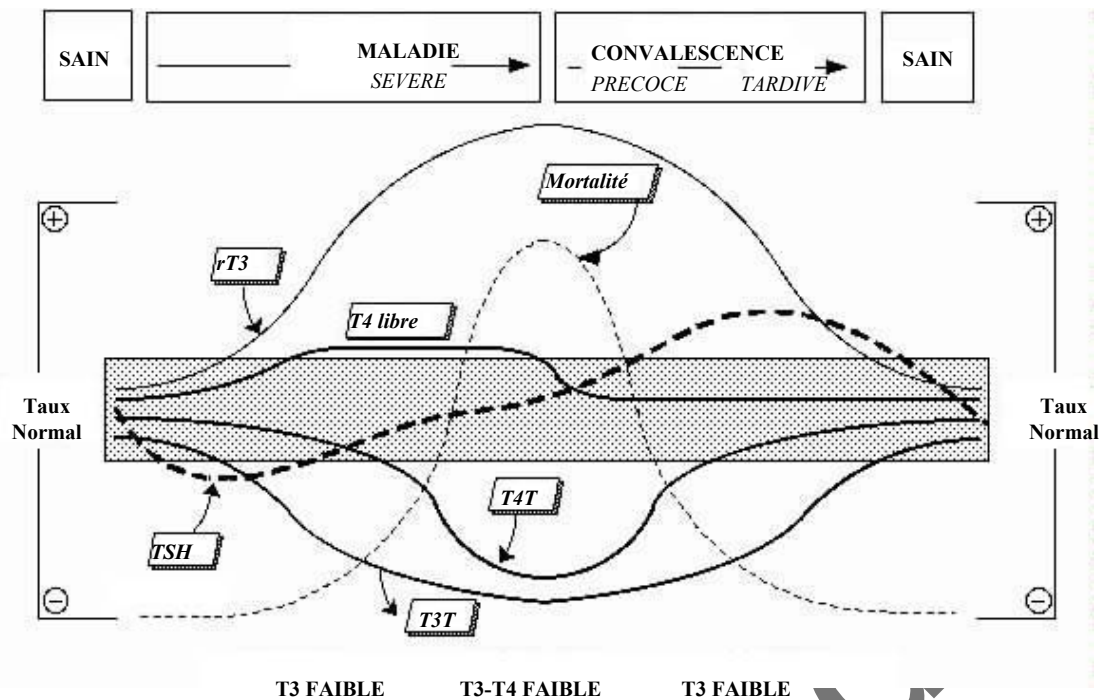


Figure 3. Modifications des résultats des dosages thyroïdiens au cours de l'évolution d'une maladie non-thyroïdienne.

La plupart des patients hospitalisés ont des taux de T3 sérique totale et libre abaissés, mesurés par la plupart des méthodes (14, 97). Avec l'augmentation de la sévérité de la maladie, la T4 sérique totale s'abaisse à son tour, en raison d'une rupture des affinités des protéines de liaison, éventuellement due aux inhibiteurs de la liaison de T4 présents dans la circulation (91, 98, 99). Il faut noter que des valeurs infra-normales de T4 totale n'apparaissent que lorsque les affections atteignent des seuils critiques (habituellement septicémie). De tels patients séjournent habituellement en USI (unités de soins intensifs). Si une T4 totale basse n'est pas associée à une TSH sérique élevée (> 20 mUI/L) et si le patient n'est pas gravement atteint, un diagnostic d'hypothyroïdie centrale secondaire à une déficience hypophysaire ou hypothalamique doit être envisagé.

L'estimation des valeurs de T4L et T3L dépend des méthodes employées qui peuvent être faussement abaissées ou élevées, en fonction des principes méthodologiques propres à chaque dosage. Par exemple, les dosages de T4L sont peu fiables si la méthode est sensible à la libération des acides gras générés *in vitro* suite à l'injection d'héparine par voie intraveineuse [3.B3 (c) vii] ou est sensible à des artefacts de dilution (84, 94, 97, 98, 100, 101). Les méthodes de dosage de la T4L comme la dialyse à l'équilibre et l'ultrafiltration, qui séparent physiquement les hormones libres de celles qui sont liées aux protéines, font état habituellement de valeurs normales ou élevées chez les patients en état critique [2.B2 et 3.B3 (c)viii] (94, 102). Ces valeurs élevées témoignent souvent des effets de l'héparine administrée par voie intraveineuse (101).

Les concentrations de la TSH sérique restent dans des limites normales chez la majorité des patients atteints de NTI, pour autant qu'on n'administre pas de traitement à base de dopamine ou de glucocorticoïdes (87, 93). Cependant, dans les situations de NTI aiguës, il peut y avoir une diminution transitoire et faible de la TSH sérique jusqu'à 0,02-0,3 mUI/L, suivie d'un rebond à des valeurs légèrement supra-normales pendant la phase de guérison (103). En milieu hospitalier, il est vital d'employer des dosages de TSH qui ont une sensibilité

fonctionnelle à $\sim 0,02$ mUI/L. Sans ce niveau de sensibilité, il est impossible de différencier de manière fiable les patients hyperthyroïdiens vrais, avec une valeur de TSH très basse ($< 0,02$ mUI/L), de ceux qui présentent simplement une inhibition transitoire faible de TSH causée par la NTI ($0,02$ - $0,3$ mUI/L). Des élévations mineures de TSH sont moins fiables pour le diagnostic de l'hypothyroïdie en milieu hospitalier. Les patients qui souffrent d'hypothyroïdie associent typiquement la combinaison d'une T4 basse et d'une TSH élevée (> 20 mUI/L) (92).

Recommandation 6. Exploration thyroïdienne des patients hospitalisés avec une maladie non thyroïdienne (NTI)

- Les maladies non thyroïdiennes aiguës ou chroniques ont des effets complexes sur les résultats des tests de la fonction thyroïdienne. Chaque fois que cela sera possible, il est préférable de reporter les analyses diagnostiques jusqu'à guérison de la maladie, sauf lorsque le passé médical du patient ou ses caractéristiques cliniques suggèrent la présence d'un dysfonctionnement thyroïdien.
- Les médecins devraient reconnaître que certains dosages thyroïdiens sont fondamentalement non interprétables chez les patients sévèrement malades ou recevant des médicaments multiples.
- La TSH, en l'absence d'administration de dopamine ou de glucocorticoïdes, est le dosage le plus fiable chez les patients avec NTI.
- Les estimations de la T4 libre ou de la T4 totale (en présence d'une NTI) devraient être interprétées avec prudence, en conjonction avec un dosage de TSH sérique. Les dosages combinés de T4 + TSH sont les plus fiables pour distinguer un vrai dysfonctionnement primaire thyroïdien (anomalies T4/TSH concordantes) d'anomalies transitoires résultant de la NTI *per se* (anomalies T4/TSH discordantes).
- Un dosage de T4L anormal, en présence d'une maladie somatique sévère, n'est pas fiable car les méthodes utilisées par les laboratoires cliniques pour la T4L manquent de spécificité diagnostique pour évaluer ce type de malade.
- Un résultat anormal de T4L chez un patient hospitalisé devrait être confirmé par un dosage de T4T "réflexe". Si les T4 totale et libre sont anormales (et vont dans le même sens), une pathologie thyroïdienne réelle peut-être présente. Lorsque les résultats des dosages de T4T et T4L sont discordants, l'anomalie de la T4L n'est probablement pas due à un dysfonctionnement thyroïdien, mais représente plus vraisemblablement une conséquence de la maladie, des médicaments administrés ou un artéfact de dosage.

- Les anomalies de T4 totale devraient être évaluées par rapport à la sévérité de la maladie, car une T4T basse en présence de NTI n'est typiquement rencontrée que chez les patients sévèrement atteints, ayant un taux de mortalité élevé. Une concentration de T4T basse chez le patient qui n'est pas en soins intensifs est suspecte d'hypothyroïdie.
- Une valeur élevée de T3T ou de T3L est un indicateur fiable d'une hyperthyroïdie chez le patient hospitalisé, mais un taux de T3 normal ou abaissé n'exclut pas ce diagnostic présomptif pour autant.
- Les dosages de T3 reverse (r-T3) sont rarement utiles en milieu hospitalier, parce que des valeurs paradoxalement normales ou abaissées peuvent résulter d'anomalies de la fonction rénale et de concentrations basses des protéines de liaison. De plus, ce dosage n'est pas directement disponible dans la majorité des laboratoires.

Il est clair que le diagnostic et le traitement d'un dysfonctionnement thyroïdien en présence de NTI sévère ne sont pas simples, et requièrent l'aide d'un endocrinologue spécialisé. Un traitement empirique d'une T4T basse en cas de NTI n'a pas amélioré les résultats (en terme de survie, par exemple) et reste encore considéré comme expérimental (104-106). Le dosage de la T4T sérique reste peut-être plus utile au diagnostic que l'utilisation des dosages radio-immunologiques de T4T actuellement disponibles, lesquels présentent une importante variabilité dans leur précision diagnostique pour l'évaluation de tels patients. Il convient toutefois de s'assurer que les valeurs de T4T sont interprétées en prenant en compte la sévérité de l'affection sous-jacente. Par exemple, la T4 basse en cas de NTI est avant tout constatée chez des patients sévèrement malades, habituellement aux soins intensifs (71). Des valeurs de T4T basses chez des patients hospitalisés, et qui ne sont pas sévèrement malades, devraient conduire à rechercher une hypothyroïdie. Bien que la spécificité diagnostique de la TSH est réduite en présence d'affections somatiques, une valeur de TSH sérique détectable dans la zone de 0,02 à 20 mUI/L, mesurée par un dosage ayant une sensibilité fonctionnelle $\leq 0,02$ mUI/L permet habituellement d'éliminer un dysfonctionnement thyroïdien significatif, sous réserve que la fonction hypothalamo-hypophysaire soit intacte et que le patient ne reçoive pas de traitement médicamenteux qui affecte la sécrétion de TSH par l'hypophyse. En général, il est préférable d'éviter tout dosage thyroïdien de routine chez des patients hospitalisés, lorsque c'est possible.

C. Les variables de l'échantillon

C. 1. Stabilité

Quelques études ont examiné les effets du stockage des échantillons de sang sur les concentrations sériques des hormones thyroïdiennes totales et libres, de TSH et de Tg (107). En général, ces études suggèrent que les hormones thyroïdiennes sont relativement stables si l'échantillon est stocké à température ambiante, réfrigéré ou congelé. Certaines études ont montré que la T4 sérique reste stable pendant des mois lorsqu'elle est stockée à $+4^{\circ}\text{C}$ ou pendant des années lorsqu'elle est congelée à -10°C (108, 109). La TSH et la T4T dans des échantillons séchés de sang total employés pour le dépistage des hypothyroïdies néonatales sont également stables pendant des mois, si les échantillons sont stockés en présence d'un dessiccant. La TSH sérique a été rapportée comme étant légèrement plus stable que la T4

(110). Il est important de noter cependant, comme déjà discuté précédemment, que des échantillons non congelés de patients qui reçoivent de l'héparine peuvent voir générer des acides gras libres *in vitro*, lesquels risquent d'élèver faussement la T4L lorsque celle-ci est dosée par certaines techniques (84).

C. 2. Constituants du sérum

L'hémolyse, la lipémie, et l'hyper-bilirubinémie ne produisent en général pas d'interférences significatives dans les dosages radio-immunologiques. Cependant, les acides gras libres peuvent déplacer la T4 des protéines de liaison sériques, ce qui peut partiellement expliquer les valeurs de T4T basses rencontrées souvent dans les NTI (100).

Recommandation 7. Evaluation de résultats de dosages thyroïdiens discordants

Les résultats de tests thyroïdiens discordants peuvent résulter d'interférences techniques ou de conditions cliniques rares.

- **Interférences techniques :** Une interférence technique peut parfois être détectée en dosant l'échantillon par une autre méthode, parce que l'intensité de la plupart des interférences dépend de la méthode utilisée. Alternativement, la non linéarité des dilutions d'un échantillon peut indiquer l'existence d'une interférence technique dans les dosages de T4T, T3T ou de TSH. A noter : une dilution de 100 fois d'un sérum "normal" ne provoque en théorie qu'une réduction mineure (< 2 %) de la concentration de T4L. Il n'est pas recommandé de diluer les dosages de T4L et de T3L utilisés en routine par des laboratoires cliniques, parce que ces tests dépendent des liaisons protéiques et ne donnent pas des réponses linéaires en cas de dilution.
- **Conditions cliniques rares :** Des résultats de dosages thyroïdiens inopinément anormaux ou discordants peuvent se rencontrer dans quelques conditions cliniques rares mais cependant significatives, comme l'hypothyroïdie centrale, les tumeurs hypophysaires sécrétant de la TSH, la résistance aux hormones thyroïdiennes, ou en présence d'anticorps hétérophiles (HAMA) ou d'auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes (T4 et/ou T3).

C. 3. Les anticorps hétérophiles (HAMA)

Les anticorps hétérophiles peuvent se rencontrer dans le sérum des patients. Ces anticorps se divisent en deux groupes. Soit ce sont des anticorps faiblement réactifs, multi-spécifiques et poly-réactifs correspondant fréquemment à un facteur rhumatoïde (de type IgM), soit ce sont des anticorps largement réactifs induits par les infections ou par l'exposition à des traitements contenant des anticorps monoclonaux (112-114). Ceux-ci sont parfois appelés anticorps

humains anti-souris (HAMA). Alternativement, de tels anticorps peuvent correspondre à des immunoglobulines humaines anti-animal (HAAA), produits contre des antigènes spécifiques bien définis après exposition à un agent thérapeutique lequel contient des antigènes d'origine animale (par exemple : anticorps de souris) ou encore à la suite d'une immunisation occasionnelle dans le cadre d'une exposition sur les lieux de travail (par exemple : les travailleurs manipulant des animaux) (115). HAMA comme HAAA affectent la méthodologie des immuno-dosages plus que des tests immunologiques par compétition, en créant un pont entre l'anticorps de capture et l'anticorps du signal, entraînant ainsi un faux signal et, comme conséquence, des valeurs de mesure très élevées et inappropriées (116, 117). Le résultat impropre n'est pas nécessairement anormal, et peut très bien se retrouver inopportunément normal. Les producteurs des dosages de laboratoire essaient actuellement d'utiliser diverses approches pour traiter cette question des HAMA, avec des degrés de réussite variables, incluant par exemple l'emploi de combinaisons chimériques d'anticorps et d'agents bloquants afin de neutraliser les effets des HAMA sur leurs dosages (118).

C. 4. Collecte des échantillons et procédure

La plupart des fabricants recommandent le sérum comme échantillon préféré plutôt que du plasma sur EDTA ou traité à l'héparine. Pour obtenir des résultats optimaux et un rendement maximal du sérum, il est recommandé de laisser les échantillons de sang total coaguler pendant 30 minutes au moins avant centrifugation et séparation. Le sérum peut ensuite être stocké à + 4-8° C pendant une semaine. Le stockage à - 20°C est recommandé si le dosage doit être réalisé après plus d'une semaine. La collecte de sérum en tubes de "gel-barrière" n'affecte pas les résultats de la plupart des dosages de TSH et d'hormones thyroïdiennes.

C. 5. Standards de performance des dosages thyroïdiens

(a) Variations biologiques. Les valeurs sériques des hormones thyroïdiennes ainsi que leur précurseur protéique, la thyroglobuline (Tg) sont très stables (intra-individuellement) sur une période de 1 à 4 ans (Tableau 4) (22, 119). Tous les échantillons thyroïdiens montrent une plus grande variabilité inter-individuelle comparativement à la variabilité intra-individuelle (Tableau 4) (33, 119, 120). La stabilité des concentrations de T4 sérique intra-individuelle reflète la longue demi-vie (7 jours) de la thyroxine et le niveau individuel de référence de la T4T, génétiquement prédéfini (21). La stabilité des concentrations de T3 intra-individuelle reflète l'autorégulation du taux de conversion de T4 en T3 (121). La variabilité inter-individuelle est particulièrement importante pour les concentrations de la Tg sérique, parce que les sujets ont des volumes thyroïdiens très différents dans une population. Cette variation est liée aux niveaux sériques de TSH et aussi aux conditions pathologiques altérant le parenchyme thyroïdien en raison des niveaux sériques de TSH, et peut-être parce qu'il peut exister des conditions pathologiques associées avec atteinte du parenchyme thyroïdien (par exemple: thyroïdite). Tous ces facteurs influencent les concentrations sériques de Tg (122). Les valeurs sériques de TSH montrent également une variabilité élevée, aussi bien inter-qu'intra-individuelle (22). Cette variabilité reflète principalement la demi-vie brève de la TSH (~ 60 minutes) avec ses variations circadiennes et diurnes, où les niveaux culminent la nuit et atteignent leur nadir entre 10H et 16H (123, 124). L'amplitude de la variabilité diurne de la TSH sur une période de 24 heures varie approximativement du simple au double (123, 124). Cependant, comme ces changements se situent dans les normes de référence normales de la TSH pour l'ensemble de la population (~ 0,3 à 4,0 mUI/L), ils ne compromettent pas l'utilité d'un résultat isolé, individuel de TSH pour diagnostiquer un dysfonctionnement thyroïdien.

De plus, la TSH est généralement dosée pendant la journée et en ambulatoire, période pendant laquelle la variabilité de la TSH est la plus réduite.

La performance d'un test de laboratoire peut être évaluée biologiquement ou analytiquement. Le Tableau 4 montre la variation biologique de divers échantillons sériques thyroïdiens, exprimée en termes de variabilités inter-individuelle et intra-individuelle, au cours de différentes périodes de temps (22, 33, 119, 120, 125).

La performance analytique est typiquement évaluée au laboratoire pour des paramètres tels que :

- La précision à l'intérieur d'un dosage et entre dosages pour des concentrations d'échantillon différentes.
- La limite minimale de détection (c.-à-d. la sensibilité analytique) (126, 127)
- La sensibilité fonctionnelle, définie comme le % du CV, en rapport avec la variabilité biologique et méthodologique spécifique de l'échantillon.
- La linéarité des dosages effectués dans la zone des valeurs mesurables.
- La récupération d'un échantillon ajouté à la matrice standard.
- Intervalle de normalité des valeurs (moyenne +/- 2 déviations standards) pour une cohorte de sujets sans maladie.
- Corrélation avec une méthode de référence.

Tableau 4. Variabilité intra- et inter-individuelle des dosages thyroïdiens (Données extraites des références 22, 33, 119, 120, 125).

Echantillon de sérum	durée	% CV*	% CV**
T4T-T4L	1 semaine	3,5	10,8
	6 semaines	5,3	13,0
	1 an	9,2	17,1
T3T-T3L	1 semaine	8,7	18,0
	6 semaines	5,6	14,8
	1 an	12,0	16,8
Thyrotropine (TSH)	1 semaine	19,3	19,7
	6 semaines	20,6	53,3
	1 an	22,4	37,8
Thyroglobuline (Tg)	1 semaine	4,4	12,6
	6 semaines	8,7	66,6
	4 mois	14,0	35,0

*intra-individuelle : **inter-individuelle

Bien que les paramètres analytiques de performance constituent le fondement des contrôles de qualité de la plupart des laboratoires et des programmes d'assurance de qualité, il est largement admis que les objectifs de performance analytique devraient être établis sur la base de principes biologiques (variations intra- et inter-individuelles) ainsi que sur les nécessités

cliniques (33). Il a été proposé que les erreurs analytiques totales soient idéalement inférieures à la moitié du coefficient de variation biologique inter-individuel (33, 125, 128-130).

Pour les tests diagnostiques, les résultats des dosages thyroïdiens sont rapportés à un intervalle de référence dit "normal" qui reflète la variabilité inter-individuelle. Cette zone de référence fournit un point de repère pour dépister les cas anormaux. Les normes de référence ne peuvent cependant pas être utilisées pour déterminer si des différences entre les résultats de dosages consécutifs, obtenus pendant la surveillance du traitement d'un patient, constituent un changement clinique véritable (donc significatif) ou reflètent simplement une variabilité d'ordre technique (imprécision entre dosages différents) ou biologique (variabilité intra-individuelle) de ce dosage (131). L'intervalle de référence "normal" est habituellement sans intérêt lors d'une prise en charge post-opératoire, quand des marqueurs tumoraux sont utilisés, comme la Tg (132). Clairement, les biais méthodologiques et les objectifs de précision ne doivent pas être aussi rigoureux lorsqu'un dosage est utilisé comme test diagnostique, en comparaison avec l'utilisation de dosages consécutifs pour la surveillance des patients. Bien que l'intervalle de référence "normal", donné par le rapport habituel du laboratoire, constitue une aide pour le médecin qui doit établir un diagnostic, cet intervalle ne fournit pas d'informations pertinentes pour aider le praticien à évaluer la signification de changements qui résulteraient du traitement administré.

Tableau 5. Biais et cibles de précision pour les dosages thyroïdiens.

Dosage	T4T	T4L	T3T	T3L	TSH	Tg
	nmol/L (µg/dL)	pmol/L (ng/dL)	nmol/L (ng/dL)	pmol/L (ng/L)	mUI/L	µg/L (ng/mL)
Intervalle Normal	58-160/4,5-12,6	9-23/0,7-1,8	1,2-2,7/80-180	3,5-7,7/23-50	0,3-4,0	3,0-40,0
Intra-individuel % CV	6,0	9,5	5,6	7,9	19,7	8,7
Inter-individuel % CV	12,1	12,1	14,8	22,5	27,2	66,6
X	1,3	2,4	1,4	2,0	5,2	2,2
Y	7,6	7,7	7,9	11,9	28,6	33,6
Z	2,7	4,8	2,8	4,0	10,3	4,4

Résultat suggéré comme maximum en % pour : X : le biais dans le suivi d'un patient ; Y : l'imprécision dans l'évaluation diagnostique; Z : l'imprécision dans le suivi d'un patient.

Le Tableau 5 montre les biais et les objectifs de précision pour les principaux dosages thyroïdiens à la fois comme test diagnostique ou de surveillance. Les valeurs indiquées ont été calculées à partir d'études sur les estimations de précision intra- et inter-individuelles, en se référant à diverses études basées sur des concepts bien établis (22, 33, 119, 120, 130, 133, 134).

Recommandation 8. Principes d'interprétation des résultats des dosages thyroïdiens

- Pour les tests diagnostiques (recherche de cas anormaux), les résultats des dosages thyroïdiens sont typiquement rapportés à un intervalle de référence "normal" qui reflète la variabilité inter-individuelle.
- L'intervalle de référence "normal" ne fournit pas d'indication utile pour les différences entre les résultats de dosages successifs chez un même sujet, qui peuvent constituer un changement clinique significatif.

La variabilité analytique de même que l'estimation des variabilités biologiques inter-individuelles et pour un individu donné suggèrent que l'amplitude des différences dans les valeurs de dosages thyroïdiens, qui seraient cliniquement significatives lors du suivi d'un patient traité, sont :

T4 T = 28 (2,2) nmol/L (μ g/dL)

T4 L = 6 (0,5) pmol/L (ng/mL)

T3 T = 0,55 (35) nmol/L (ng/dL)

T3 L = 1,5 (0,1) pmol/L (ng/L)

TSH = 0,75 mUI/L

Tg = 1,5 μ g/L (ng/mL)

3. Dosages thyroïdiens pour le Clinicien et le Biologiste

3. A. Méthodes de dosage de la thyroxine totale (T4T) et de la triiodothyronine totale (T3T)

La T4 est l'hormone principale sécrétée par la thyroïde. La totalité de la T4 circulante provient de la sécrétion thyroïdienne, alors que seulement près de 20 % de la T3 circulante est d'origine thyroïdienne. L'essentiel de la T3 dans le sang est produit par des enzymes dans des tissus non-thyroïdiens par 5'monodésiodation de la T4 (121). En fait, la fonction de la T4 apparaît comme celle d'une pro-hormone de la T3, biologiquement plus active. La majeure partie de la T4 circulante (~ 99,98 %) est liée à des protéines de transport plasmatiques spécifiques: la thyroxin binding globulin (TBG) (60-75 %), TTR/TBPA (pré-albumine/transthyrétine) (15-30 %) et l'albumine (~ 10 %) (12,16). Approximativement 99,7 % de la T3 circulante sont liés à des protéines de transport plasmatiques, et plus spécifiquement à la TBG. L'affinité de celle-ci pour la T3 ne correspond qu'à 10 % de celle pour la T4 (12). Les hormones thyroïdiennes liées aux protéines ne pénètrent pas dans les cellules et sont ainsi considérées comme biologiquement inertes. Elles fonctionnent comme réservoirs d'hormones thyroïdiennes circulantes alors que les hormones libres présentes à faible concentration entrent facilement dans les cellules par des mécanismes spécifiques de transport membranaire pour exercer leurs effets biologiques. Dans l'hypophyse, le mécanisme de rétrocontrôle négatif des hormones thyroïdiennes exercé sur la sécrétion de la TSH est principalement médié par la T3 qui est produite *in situ* par la T4 libre entrant dans les cellules thyroïdiennes.

Techniquement, il a été plus facile de développer des méthodes de dosage des concentrations d'hormones thyroïdiennes totales (libres + liées aux protéines), que des tests qui évaluent les concentrations des fractions d'hormones libres. En effet, les concentrations totales d'hormones (T4T et T3T) sont mesurées aux niveaux « nanomolaires » alors que les concentrations d'hormones libres (T4 libre et T3 libre) le sont dans les plages « picomolaires ». Pour être valables, elles doivent être libres d'interférences dues à la concentration d'hormone totale beaucoup plus élevée.

1. Les méthodes de dosage des hormones thyroïdiennes totales

Au cours des quarante dernières années, les méthodes de dosage de T4 et T3 totales (T4T et T3T) sériques ont évolué grâce à une variété d'apports technologiques. Le test PBI des années 50 qui estimait la concentration de T4T à partir de « l'iodure lié aux protéines » a été remplacé dans les années 60 par des méthodes de compétition utilisant les protéines de liaison. Ultérieurement, dans les années 70, suivirent les méthodes de dosage radio-immunologiques (RIA). Actuellement, les concentrations sériques de T4T et de T3T sont dosées par des méthodes immunologiques compétitives qui sont désormais surtout, non-isotopiques. Elles utilisent des enzymes, la fluorescence ou des molécules chimiluminescentes comme signaux (135). Les dosages d'hormones totales nécessitent la présence d'un inhibiteur (agent déplaçant ou bloquant) tel que l'acide 8-anilino-1-naphtalène-sulfonique (ANS), ou le salicylate pour libérer les hormones des protéines porteuses (136). L'inhibition de la liaison par ces agents ainsi que la dilution importante des échantillons dans les tests modernes, facilitent la liaison des hormones aux anticorps. La concentration de T3T, dix fois moindre que celle de la T4T dans le sang, présente un défi technique de sensibilité et de précision et

cela malgré l'emploi d'un volume d'échantillon plus conséquent (137). Bien qu'un dosage fiable de la T3T dans les valeurs élevées soit capital pour diagnostiquer l'hyperthyroïdie, un dosage fiable dans les plages normales est aussi important pour ajuster les dosages d'antithyroïdiens ainsi que pour détecter une hyperthyroïdie chez des patients hospitalisés, chez lesquels une valeur de T3 paradoxalement normale peut indiquer une hyperthyroïdie.

Malgré la disponibilité de préparations hautement purifiées de L-thyroxine et de L-triiodothyronine cristallisées (ex : United States Pharmacopoeia (16201 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852) aucune méthode de référence pour la T4T ou la T3T n'a encore été établie (138,139). La nature hygroscopique des préparations cristallisées peut influencer sur l'exactitude de la pesée gravimétrique (140).

En deuxième lieu, les diluants employés pour reconstituer les préparations de L-T4 et L-T3 servant de calibrateurs sont soit des matrices de protéines modifiées, soit des préparations de sérums humains dépourvus d'hormones par divers moyens. Dans l'un ou l'autre cas, la composition de la matrice protéique du calibrateur n'est pas identique à celle du sérum du patient. Cela peut provoquer une libération par l'inhibiteur de la liaison aux protéines (ex : ANS) de quantités différentes d'hormones à partir de la matrice des protéines du calibrateur et de la TBG dans les échantillons. Cela peut avoir un impact sur l'exactitude diagnostique des dosages quand la liaison aux protéines porteuses est anormale, tel que dans les maladies non thyroïdiennes (NTI).

Recommandation 9. Pour les fabricants développant des méthodes de dosage de la T4 totale et de la T3 totale

Les divergences de méthode devraient être réduites par :

- Le développement de préparations de référence pour L-T4 et L-T3 et l'établissement de méthodes internationales de référence.
- S'assurer que les instruments ne sont pas sensibles aux différences entre le sérum humain et la matrice du calibrateur.
- S'assurer que pendant le processus du dosage, la quantité d'hormones thyroïdiennes libérées par les protéines liantes sériques est la même que celle libérée en présence du diluant du calibrateur.

2. L'exactitude diagnostique des dosages d'hormones totales

L'exactitude diagnostique des dosages d'hormones thyroïdiennes totales équivaldrait à celle des hormones libres si tous les patients avaient des niveaux de protéines liantes identiques (TBG, TTR/TBPA et albumine) avec des affinités similaires pour les hormones thyroïdiennes. Malencontreusement des concentrations sériques anormales de T4T et de T3T sont plus fréquemment la conséquence d'anomalies des protéines porteuses que de véritables dysfonctionnements thyroïdiens. Des anomalies de la TBG sérique, à la suite d'une grossesse ou d'une thérapie oestrogénique, ainsi que des anomalies génétiques des protéines porteuses, sont fréquemment rencontrées en pratique clinique (141). Des concentrations anormales de

TBG et/ou d'affinité pour les hormones thyroïdiennes peuvent altérer le rapport entre les dosages d'hormones libres et totales (142). En outre, le sérum de certains patients contient d'autres protéines de liaison anormales telles que des auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes. Ils rendent les dosages d'hormones totales non fiables pour le diagnostic (143-145). Ces anomalies des protéines de liaison compromettent l'utilisation des dosages de T4T ou de T3T isolément pour l'appréciation de l'état fonctionnel thyroïdien. Les dosages sériques de T4T et de T3T font plutôt partie de tests à deux volets incluant également une évaluation de l'état des protéines liantes. Celle-ci est réalisée, soit directement par dosage immunologique de la TBG, soit par un test « d'adsorption » [3.B2(b)]. Spécifiquement, le rapport mathématique entre la concentration d'hormones totales et le résultat du test « d'adsorption » est employé comme « index » d'hormones libres (146). Des indices d'hormones libres (IT4L et IT3L) ont été employés comme estimation de dosages d'hormones libres depuis trois décennies. Ils sont rapidement remplacés par un test immunologique, unique, d'estimation d'hormones libres [3.B3].

3. Intervalles de référence normaux pour les T4T et T3T sériques

Les valeurs sériques de T4T présentent une certaine variabilité selon les méthodes. La référence typique est approximativement de 58 à 160 nmol/L (4,5-12,6 µg/dL). De la même manière, les valeurs sériques de T3T sont dépendantes de la méthode employée, avec des plages de référence approchant 1,2 à 2,7 nmol/L (80 - 180 ng/dL). Les dosages d'hormones totales (T4T et T3T) devraient rester facilement disponibles pour évaluer des dosages discordants d'hormones libres.

Recommandation 10. Dosage sérique de la T4 Totale et de la T3 totale

Des concentrations sériques anormales de T4T et de T3T sont plus souvent dues à des anomalies des protéines de liaison et non à des dysfonctionnements thyroïdiens.

- L'utilisation de tests d'estimation de la T4L est préférable aux dosages de la T4T quand la concentration de TBG est anormale. Cependant, le dosage de la T4L peut être sans valeur diagnostique quand l'affinité de la TBG est modifiée ou des protéines liant la T4, anormales, sont présentes.
- Les dosages de T4T et de T3T doivent rester disponibles afin de conserver la possibilité d'évaluer les causes de discordances des dosages de T4L et de T3L

3. B. Dosages de la thyroxine libre et de la triiodothyronine libre

La T4 circulante est plus fortement liée aux protéines de transport sériques que ne l'est la T3. Par conséquent, la fraction de T4 libre (T4L) est très inférieure à celle de la T3 libre (respectivement, 0,02% et 0,2%, pour T4L et T3L). Malheureusement, les techniques physiques seules capables de séparer avec précision les hormones libres de la fraction prédominante liée aux protéines, sont techniquement exigeantes, difficiles à utiliser et relativement chères pour un usage de routine en biologie clinique. Ces méthodes (c.-à-d. dialyse à l'équilibre, ultrafiltration et filtration sur gel) sont en principe uniquement disponibles dans des laboratoires de référence.

Comment: laboratoire pourrait être conservé

La biologie clinique de routine utilise une variété de dosages des hormones libres. Ils estiment la concentration des hormones libres en présence des hormones liées aux protéines. Ces estimations des hormones libres emploient, soit, une stratégie à deux tests pour calculer un "index" d'hormone libre [3.B2] ou une variété d'approche de dosages du ligand (14,145,147). En réalité, malgré les affirmations des fabricants, la plupart, sinon tous les dosages de la T4L et de la T3L sont, dans une plus ou moins grande mesure, dépendants des protéines porteuses (148,149). Cette dépendance de la liaison aux protéines a un impact négatif sur l'exactitude diagnostique des méthodes de dosage des hormones libres. Elles sont, en effet, sujettes à une variété d'interférences qui peuvent conduire à des erreurs d'interprétation ou à des conclusions fausses (Tableau 1). De telles interférences incluent la sensibilité à des anomalies des protéines, aux effets *in vivo* ou *in vitro* de divers médicaments [3.B3(c)vi], à un niveau élevé d'acides gras libres et à des inhibiteurs endogènes ou exogènes de la liaison des hormones aux protéines, présents dans certaines conditions.

1. Nomenclature des méthodes d'évaluation de T4 Libre (T4L) et de T3 Libre (T3L)

Une confusion considérable existe dans la nomenclature des dosages d'hormones thyroïdiennes libres. La controverse persiste quant à la validité technique des dosages eux-mêmes et de leur utilité clinique dans des conditions associées à des anomalies des protéines de liaison (145,147,148,150,151). Le dosage d'hormones libres en biologie clinique est réalisé en utilisant, soit le calcul d'index qui exige deux tests séparés, soit le dosage en une étape du ligand, soit encore en faisant appel à des méthodes par séparation physique qui isolent les hormones libres de celles liées aux protéines avant le dosage direct d'hormone dans la fraction libre. Les dosages sont étalonnés, soit, à partir de solutions qui contiennent des concentrations d'hormones établies par gravimétrie, soit, ils utilisent un calibrateur avec des valeurs assignées par une méthode de séparation physique (c.-à-d. dialyse à l'équilibre et/ou ultrafiltration). Les méthodes par séparation physique sont uniquement manuelles, techniquement exigeantes et trop onéreuses pour un usage clinique courant. L'évaluation des index d'hormones libres et les dosages directs de celles-ci sont les plus communément utilisés en biologie clinique, où ils sont généralement exécutés par des techniques automatisées d'immuno-analyse (17).

Recommandation 11. Nomenclature des dosages des hormones libres

- Les méthodes de dosage des hormones libres utilisées le plus souvent en biologie clinique (index et dosages directs) ne pratiquent pas la séparation physique entre hormones “ liées ” et “ libres ” et ne dosent pas directement les concentrations d’hormones libres ! Ces tests sont typiquement et dans une plus ou moins grande mesure, dépendants des protéines de liaison et devraient être appelés de manière plus appropriée « **tests d’estimation de la concentration des hormones libres** », en abrégé ET4L et ET3L.
- En général, des tests d’estimation des hormones libres surestiment le niveau de T4 libre en présence de concentrations de protéines élevées et sous-estiment la T4 libre en cas de concentrations faibles de protéines.

Malheureusement, une pléthore de termes, prêtant à confusion, a été utilisée pour différencier les méthodes de dosage des hormones libres. La littérature est pleine d’incohérence dans la nomenclature de ces tests. Actuellement, il n’y a aucune distinction méthodologique claire entre des termes tels que “ T7 ”, “ proportion effective de thyroxine ”, “ une étape ”, “ analogue ”, “ deux étapes ”, “ titration de sites libres ”, “ séquentiel ”, “ extraction immunologique ” ou “ séquestration immunologique ”, “ dosage du ligand ” parce que les fabricants ont modifié les techniques originelles ou les ont adaptées pour l’automatisation (147). A la suite du lancement des premiers dosages “ analogues ” en une étape dans les années 70, le terme “ analogue ” a provoqué une confusion (147). Cette première génération de dosages d’hormones à l’aide d’“ analogues ” s’est avérée extrêmement dépendante des protéines de liaison. Elle a été remplacée depuis par une nouvelle génération de dosages par anticorps “ analogues ” marqués qui sont plus résistants à la présence de protéines de liaison anormales (147,152). Malheureusement, les fabricants divulguent rarement tous les composants du test ou le nombre d’étapes impliquées dans une procédure de telle façon qu’il n’est pas possible d’utiliser la nomenclature de la méthode (deux étapes, analogue, etc...) pour en déterminer l’exactitude diagnostique chez des patients présentant des protéines de liaison anormales (152).

2. Méthodes par calcul de l’index d’hormone libre : IT4L et IT3L

Les méthodes d’index sont des estimations des hormones libres qui exigent deux dosages séparés (146) : un dosage des hormones totales (T4T ou T3T) et une évaluation de la concentration des protéines de liaison des hormones thyroïdiennes utilisant un test immunologique pour la TBG, ou un test “ d’adsorption ” de la T4 ou de la T3 appelé rapport de liaison des hormones thyroïdiennes (THBR pour thyroid hormone binding ratio). Les index peuvent également être calculés à partir d’un dosage de T4T associé à une évaluation de la fraction de T4 libre déterminée par dialyse avec la ¹²⁵IT4. Dans ce cas, la qualité et la pureté du traceur employé ont un impact critique sur l’exactitude de l’index (149,153,154).

(a) Index qui utilisent le dosage de la TBG. Le calcul d’un IT4L qui utilise exclusivement la TBG améliore l’exactitude diagnostique par rapport à la T4T lorsque les anomalies résultent

d'une concentration anormale de TBG. L'approche par l'index T4T/TBG n'est pas complètement dépendante de la TBG, elle ne corrige pas la présence de protéines liantes anormales différentes de la TBG ni la présence de molécules de TBG qui ont des affinités anormales (141,155-158). Donc, en dépit des avantages théoriques à utiliser un dosage de TBG direct, les index T4T/TBG sont rarement utilisés parce que la capacité de fixation de la TBG peut être altérée indépendamment de changements dans la concentration de la TBG, surtout chez des patients avec une affection non thyroïdienne (NTI pour nonthyroidal illness (99)). De plus, la liaison par la TBG reflète 60–75 % de la capacité liante totale du sérum, donc compter sur la seule TBG exclut la liaison d'hormones à la transthyréline et à l'albumine.

(b) Index qui utilisent un ratio de liaison des hormones thyroïdiennes (THBR) ou test de capture (ou de transfert). Les tests “d'adsorption” ont été utilisés pour estimer la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines depuis les années 50. Deux types différents de “tests d'adsorption” ont été utilisés. Les tests “classiques” d'adsorption ajoutent une trace de T3 ou de T4 radio-marquée à l'échantillon et permettent à l'hormone marquée de se répartir entre les protéines de liaison de la thyroxine exactement de la même manière que les hormones endogènes (146,154). Comme seulement une trace de T3 ou de T4 marquée est utilisée, l'équilibre initial est à peine modifié. La distribution du traceur dépend de la saturation des protéines liantes. L'addition d'un liant secondaire ou adsorbant (résine d'échangeuse d'anions, talc, éponge de polyuréthane, charbon de bois, ou des billes enrobées, etc.) conduit à une redistribution du traceur de T3 ou de T4 dans un nouvel équilibre qui inclut alors le liant. La quantité de traceur séquestrée par l'adsorbant dépend de la saturation des protéines liantes : elle est proportionnelle au degré de saturation des protéines liantes. La fixation du traceur par l'adsorbant mime un dosage indirect de TBG. Pour une concentration de TBG basse, les sites de liaison de la TBG sont fortement saturés en T4 de telle sorte qu'une plus petite quantité de T3 traceur se liera à la TBG et davantage capté par l'adsorbant. Inversement, quand la concentration de TBG est élevée, sa saturation de T4 est faible. Plus de traceurs occupent alors des sites inoccupés de la TBG, et moins se fixent à l'adsorbant. Malheureusement le rapport entre THBR et la concentration de TBG est non linéaire, de sorte que les dosages par index ne corrigent habituellement pas les anomalies de la T4T qui résultent de concentrations de TBG nettement anormales (158).

Il a été recommandé d'utiliser un échantillon de sérum normal comme standard pour normaliser la réponse des dosages et permettre de rendre le résultat sous forme d'un ratio par rapport à la normale c.-à-d. un “ratio de liaison d'hormones thyroïdiennes (THBR)” (154). Les épreuves d'adsorption “classiques” ont utilisé la T3 comme traceur parce que l'affinité de liaison T3-TBG inférieure à celle T4-TBG résulte en une adsorption isotopique supérieure par l'adsorbant et donc un temps de mesure plus court. Cependant, comme la validité de l'utilisation d'une épreuve d'adsorption de T3 pour corriger une valeur de T4T est contestable, quelques épreuves non isotopiques actuelles utilisent “l'adsorption de T4”. Beaucoup de fabricants utilisent encore l'approche “classique” pour produire des épreuves d'adsorption de T3 dans lesquelles le pourcentage d'adsorption moyen normal peut varier de 25 à 40 % (mesure de la fraction liée/mesure totale). Traditionnellement, l'index de thyroxine libre, quelquefois appelé “T7” est dérivé du produit d'un test d'adsorption de T3 et d'un dosage de T4T. Il est souvent exprimé en % d'adsorption (mesure de la fraction liée à l'adsorbant divisée par la mesure totale).

Recommandation 12. Ratio de liaison des hormones thyroïdiennes (THBR) ou test d'adsorption

- Les tests d'adsorption devraient être appelés épreuves de “ ratio de liaison des hormones thyroïdiennes ”, abrégé : THBR et inclure l'indication de l'hormone utilisée, c.-à-d. THBR (T4) ou THBR (T3).
- Un signal de T4 est préféré à celui de la T3 pour les dosages de THBR, reflétant mieux les anomalies des protéines de liaison de la T4.
- Les valeurs de THBR devraient être rapportées comme un ratio par rapport à un sérum normal, ce dernier ayant une valeur assignée de 1,00.
- Les calculs de THBR devraient être basés sur la proportion du nombre de coups de l'adsorbant et ceux du total moins ceux de l'adsorbant, plutôt que sur la proportion des coups fixés à l'adsorbant et ceux du total.
- Le résultat THBR devrait être rapporté en plus de la valeur de l'index des hormones totales et des hormones libres.
- Les tests THBR ne devraient pas être utilisés comme une mesure indépendante de l'état thyroïdien, mais devraient être interprétés en association avec un dosage de T4T et/ou de T3T et utilisés pour calculer une estimation des hormones libres (index de T4L ou de T3L).

Les tests “ classiques ” d'adsorption de T3 ou THBR sont typiquement influencés par la concentration de T4 endogène de l'échantillon. Cette limitation peut être contournée par l'utilisation d'une très grande quantité de traceur T4 non isotopique avec une affinité pour les protéines liantes comparable à celle de la T4. Les tests THBR actuels produisent habituellement des valeurs de T4L et de T3L normales lorsque les anomalies de la TBG sont faibles (ex : pendant la grossesse). Cependant, quelques-uns de ces tests peuvent produire des valeurs d'index erronément anormales quand les patients présentent d'importantes anomalies des protéines liantes (élévation ou diminution congénitale de la TBG, hyperthyroïdisme dysalbuminémique familiale (FDH), auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes et NTI) et en présence de certains médicaments qui influencent la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines [3.B3(c)vi].

(c) Index qui utilisent une détermination de la fraction des hormones libres. Les premiers dosages des hormones libres développés dans les années 60 étaient des index, calculés à partir du produit de la fraction de l'hormone libre d'un dialysat et du dosage de la T4T (fait par PBI puis par RIA) (159,160). L'approche par index de la fraction libre a ensuite été étendue à la mesure du taux de transfert d'hormones marquées à travers une membrane séparant deux chambres contenant le même échantillon non dilué. Les index d'hormones libres calculés avec les fractions libres isotopiques ne sont pas complètement indépendants des

concentrations de TBG et en outre sont influencés par la pureté radio-chimique du traceur, la matrice du tampon et le facteur de dilution employé (161,162).

3. Dosages du ligand pour l'estimation de la T4 libre et la T3 libre

Ces méthodes emploient, soit une approche en deux étapes, soit en une seule. Les tests en deux étapes utilisent une séparation physique des hormones libres et liées avant le dosage des hormones libres par un dosage immunologique sensible. Alternativement, un anticorps est utilisé pour une extraction immunologique d'une partie du ligand présent dans l'échantillon avant quantification. Par contraste, les dosages du ligand en une étape visent à quantifier les hormones libres en présence des protéines de liaison. Les méthodes en deux étapes sont moins enclines aux artéfacts non spécifiques. Les méthodes à une étape peuvent être faussées quand l'échantillon et les étalons ont une affinité différente pour le traceur du test (60,145,150).

(a) Dosage du ligand faisant appel à une séparation physique. Les dosages de T4 libre qui isolent les hormones libres de celles liées avant un dosage immunologique sensible sont standardisés par l'utilisation de solutions de T4 préparées par gravimétrie. La séparation physique des hormones libres de celles liées est accomplie, soit avec une membrane semi-perméable qui utilise une chambre de dialyse selon une technique d'ultrafiltration, soit avec une colonne de résine d'adsorption Sephadex LH-20 (161-165).

Une méthode extrêmement sensible de dosage de T4 par RIA est nécessaire pour mesurer les concentrations picomolaires de T4 libre dans les dialysats ou la fraction libre isolée, en comparaison avec les concentrations nanomolaires de T4 totale. Bien qu'il n'y ait pas de méthodes de référence officiellement reconnues ("gold standard") pour le dosage des hormones libres, il est généralement considéré que les méthodes qui emploient la séparation physique sont les moins influencées par les protéines liantes, et fourniraient des valeurs d'hormones libres qui reflètent le mieux le niveau des hormones libres circulantes (94,166). Cependant, les méthodes par dialyse qui emploient une étape de dilution peuvent sous-estimer la T4 libre quand les inhibiteurs de la liaison sont présents dans l'échantillon. L'adsorption de T4 à la membrane peut également poser problème (94,166). Par contraste, de telles méthodes peuvent surestimer la T4 libre sérique de malades traités à l'héparine par suite de génération *in vitro* d'acides gras libres [3.B3(c)vii] (84,97,98, 100,101,167-170). Cet effet *in vitro* de l'héparine est la cause primaire de valeurs de T4 libre faussement élevées chez les malades atteints d'une NTI (101). Les méthodes par séparation physique sont fastidieuses et trop coûteuses pour un dosage de routine en biologie clinique. Elles sont habituellement uniquement pratiquées dans les laboratoires de référence. Les méthodes de dosage de T3 libre qui emploient la séparation physique ne sont disponibles que dans quelques laboratoires de recherche spécialisés (102).

(b) Dosage du ligand sans séparation physique. La plupart des méthodes de dosage immunologique des hormones libres utilisées actuellement emploient un anticorps spécifique à haute affinité pour séquestrer une petite quantité de l'hormone totale de l'échantillon. Les sites de liaison inoccupés de l'anticorps sont habituellement inversement proportionnels à la concentration de l'hormone libre, et peuvent être quantifiés en utilisant l'hormone marquée par radioactivité, fluorescence ou chimiluminescence. Le signal produit est converti en une concentration d'hormones libres utilisant des calibrateurs basés sur des valeurs d'hormones libres définies par une méthode employant la séparation physique. La proportion effective d'hormones thyroïdiennes totales séquestrées varie avec le concept de la méthode, mais dépasse largement la concentration d'hormones libres réelle ; elle devrait être < 1-2 % pour

minimiser la perturbation de l'équilibre libres/liées. La séquestration active d'hormones par l'anticorps anti-hormone thyroïdienne dans le test produit une libération continue d'hormones des protéines liantes et ainsi la perturbation de l'équilibre hormones liées/libres. Les clés de validité de ces méthodes sont doubles. En premier lieu, il est nécessaire d'utiliser des conditions qui maintiennent l'équilibre entre les hormones libres et celles liées aux protéines, et de minimiser les effets de dilution qui affaiblissent l'influence de tout inhibiteur endogène présent dans l'échantillon. Deuxièmement, il est important d'utiliser des calibrateurs sériques qui contiennent des concentrations d'hormones libres connues et qui se comportent pendant le dosage d'une manière identique aux échantillons des patients. Trois approches générales ont été utilisées pour développer des dosages immunologiques de T4 libre et T3 libre de ce type : (i) deux étapes avec hormone marquée; (ii) une étape avec analogue marqué; et (iii) anticorps marqués.

Recommandation 13. Pour fabricants développant des dosages des hormones libres

- Les méthodes qui ne séparent pas physiquement les hormones libres de celles liées ne devraient pas extraire plus de 1-2% de l'hormone totale liée aux protéines, afin que l'équilibre thermodynamique soit maintenu dans la mesure du possible. Minimiser les effets de la dilution qui affaiblissent l'influence de tout inhibiteur endogène présent dans l'échantillon.
- Utiliser des calibrateurs sériques contenant des concentrations d'hormones libres connues qui se comportent dans le test d'une façon identique aux échantillons des patients.
- Exécuter la procédure du dosage à 37°C.

(i) Méthodes à deux étapes, hormones marquées /rétro-titrage.

Les méthodes à deux étapes ont été d'abord développées pour la recherche vers la fin des années 70 et ont été adaptées par la suite pour produire des méthodes commerciales pour la T4 libre et la T3 libre. Dans une première étape d'incubation, ces méthodes ont utilisé un anticorps anti-hormone avec une affinité élevée ($> 10^{11}$ mol/L) lié à un support solide (tube, particules ou Sephadex ultrafin) pour séquestrer une petite proportion d'hormone totale d'un échantillon de sérum dilué. Après une courte période d'incubation, les éléments non liés sont éliminés avant la deuxième étape dans laquelle une quantité suffisante d'hormone marquée est ajoutée pour se lier aux sites inoccupés de l'anticorps. Après lavage, la quantité d'hormone marquée liée à l'anticorps fixé à la phase solide est quantifiée grâce à des standards gravimétriques ou de calibrateurs qui ont des valeurs d'hormones libres définies par une méthode de référence. Les méthodes en une étape, faisant appel à des analogues d'hormones marqués ont été introduites vers la fin des années 70. Ces nouvelles méthodes étaient moins exigeantes en main-d'œuvre que les techniques en deux étapes. En conséquence, les méthodes en deux étapes ont perdu en popularité en dépit d'études comparatives montrant qu'elles sont moins affectées par la concentration d'albumine et les anomalies des protéines liantes qui ont un impact négatif sur l'exactitude diagnostique des épreuves par analogues en une étape (147,171-173).

(ii) Méthodes par analogues marqués d'hormones en une étape

La validité physico-chimique des méthodes en une étape par analogues marqués d'hormones était dépendante du développement d'un analogue possédant une structure moléculaire totalement non réactive avec les protéines sériques, mais pouvant se lier aux sites inoccupés de l'anticorps anti-hormone. Quand ces conditions sont remplies, l'analogue, qui est chimiquement associé à un signal tel qu'un isotope ou une enzyme, peut entrer en compétition avec les hormones libres pour un nombre limité de sites de liaison de l'anticorps dans un format classique de dosage immunologique par compétition. Bien que conceptuellement attirante, cette approche est techniquement difficile à réaliser dans la pratique, en dépit d'affirmation de succès initiaux. Les méthodes par analogues ont été principalement mises au point pour des valeurs normales de T4libre en présence de TBG élevée (ex : grossesse). Cependant, il a été établi que leur exactitude diagnostique était faible en présence de concentrations anormales d'albumine, FDH, NTI, concentrations élevées d'acides gras libres ou d'auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes. Des efforts considérables ont été faits pendant les années 80 pour corriger ces problèmes par l'addition de produits chimiques brevetés pour bloquer la liaison des analogues à l'albumine ou en ajustant de façon empirique les valeurs du calibrateur pour corriger les biais dus aux protéines. Cependant, la plupart des méthodes avec analogues ont été abandonnées après une décennie de critiques, parce que ces problèmes n'ont pas trouvé de solution satisfaisante (147).

(iii) Méthodes par anticorps marqués

Les méthodes par anticorps marqués dosent également les hormones libres à partir de la fraction des sites des anticorps anti-hormones occupés. Cette approche compétitive utilise des immuno-absorbants spécifiques pour évaluer les sites de liaison de l'anticorps inoccupé dans le mélange réactionnel. Une approche apparentée a été l'utilisation en phase solide de complexes hormone/protéine non marqués (quelquefois évoqués sous le nom de "analogues") ne réagissant pas de manière significative avec les protéines sériques, pour quantifier les sites de liaison inoccupés de l'anticorps anti-hormone dans la phase liquide. La base physico-chimique de ces méthodes par anticorps marqués suggère qu'elles peuvent être sujettes aux mêmes erreurs que les méthodes plus anciennes d'analogues. Cependant, les différences physico-chimiques dues à la liaison d'analogues au support solide s'accompagnent de différences cinétiques qui résultent en une diminution de l'affinité des analogues pour les protéines liantes endogènes et ainsi en un dosage de l'hormone libre plus fiable. L'approche par l'anticorps marqué est actuellement l'approche préférée pour le dosage des hormones libres sur la plupart des plates-formes automatisées.

(c) Performance des dosages de T4 libre et de T3 libre dans différentes situations cliniques . La seule raison de choisir une méthode pour doser les hormones thyroïdiennes libres (T4L ou T3L) de préférence à un dosage des hormones thyroïdiennes totales (T4T ou T3T) est d'améliorer l'exactitude diagnostique afin de détecter une hypo- ou une hyperthyroïdie chez des malades avec des anomalies de liaison des hormones thyroïdiennes qui compromettent la valeur diagnostique du dosage des hormones totales (60). Malheureusement, l'exactitude diagnostique des méthodes disponibles pour le dosage des hormones libres ne peut pas être assurée, ni par le type de méthode (une étape, deux étapes, anticorps marqué, etc...) ni par une vérification *in vitro* de leur validité technique, tel qu'un test de dilution de l'échantillon. Le calcul des index (IT4I et IT3I) aussi bien que les méthodes de mesure du ligand sont toutes dans une certaine mesure dépendantes des protéines, et peuvent donner des valeurs non fiables quand les protéines liantes présentent des anomalies significatives (148). Les dosages des hormones libres devraient être exécutés à 37°C sachant

que les dosages exécutés à température ambiante augmentent faussement les valeurs des échantillons quand ils ont une concentration de TBG très basse (174,175).

Recommandation 14. Utilité clinique du dosage de la T3 Libre sérique

Le dosage de la T3 sérique a peu de spécificité ou de sensibilité pour diagnostiquer l'hypothyroïdie, car la conversion de la T4 en T3 maintient des concentrations de T3 normales jusqu'à ce que l'hypothyroïdie devienne sévère. Les malades avec une NTI ou une privation calorique ont typiquement des valeurs de T3T et de T3libre basses. Le dosage de la T3 sérique, interprété avec celui de la T4libre, est utile pour diagnostiquer des présentations complexes ou inhabituelles d'hyperthyroïdie et certaines conditions rares :

- Une T3 sérique élevée est souvent un signe précurseur de rechute de l'hyperthyroïdie de Basedow.
- Le rapport T3T/T4T peut être utilisé pour distinguer les hyperthyroïdies liées à la maladie de Basedow et celles d'origine différente.
- Spécifiquement, un rapport de T3T/T4T ($> 20 \text{ ng}/\mu\text{g}$ ou $> 0,024 \text{ mol/L}$) élevé suggère une stimulation thyroïdienne comme dans la maladie de Basedow.
- Le dosage de la T3 sérique peut être utilisé pour surveiller la réponse aiguë à un traitement de la thyrotoxicose de Basedow.
- Une T3 sérique élevée ou paradoxalement normale peut indiquer une hyperthyroïdie chez un patient atteint d'une NTI avec une TSH indétectable ($< 0,01 \text{ mUI/L}$).
- Une T3 sérique élevée ou paradoxalement normale peut être l'indice d'une hyperthyroïdie induite par l'amiodarone.
- Chez les malades porteurs d'un goitre vivant en régions de carence en iode, il est indiqué de doser la T3L en plus de la TSH pour détecter une thyrotoxicose à la T3 causée par une autonomie focale ou multifocale.
- Une T3 sérique élevée est fréquemment observée en présence d'un goitre congénital, du fait d'un défaut d'organification de l'iode (anomalie de la TPO) ou d'une anomalie de la synthèse de la thyroglobuline.
- Une T3 sérique élevée précède généralement une thyrotoxicose induite par l'iodure chez les malades atteints d'un goitre multi-nodulaire ancien.

- Une T3 sérique élevée est souvent constatée lors de la sécrétion excessive de TSH par une tumeur de l'hypophyse.
- Une T3 sérique augmentée est souvent constatée dans les syndromes de résistance aux hormones thyroïdiennes qui habituellement se présentent sans signes d'hyperthyroïdie clinique.
- Le dosage de la T3 sérique est utile pour s'assurer de la compliance à un traitement freinateur par la T3 avant une scintigraphie à l'Iode 131 pour cancer thyroïdien différencié.
- Le dosage de la T3 sérique est utile pour distinguer une hyperthyroïdie (sub-clinique) légère (TSH basse/T4L normale) d'un état de thyrotoxicose à T3, quelquefois provoquée par des aliments diététiques contenant de la T3.
- Le dosage de la T3 sérique est utile pour détecter une carence en iode (caractérisée par T4 basse/T3 élevée).
- Le dosage de la T3 sérique peut être utile dans la surveillance d'un traitement par antithyroïdiens de synthèse pour corriger un excès persistant de T3, en dépit de valeurs de T4 sériques normales ou basses.
- Le dosage de la T3 sérique peut être utilisé pour détecter une rechute précoce de thyrotoxicose après arrêt d'un traitement par anti-thyroïdiens.
- Le dosage de la T3 sérique peut être utilisé pour établir l'ampleur de l'excès de T3 lors d'une thérapie suppressive par la T4 ou après un surdosage intentionnel de T4.

La fréquence d'anomalies des protéines de liaison à la base de discordances entre concentrations des hormones thyroïdiennes totales et libres a conduit à développer des tests visant à doser les hormones libres. Malheureusement, aucun test de T4L n'est, à l'heure actuelle, exact dans toutes les conditions cliniques. Quand la concentration de TBG est anormale, la plupart des méthodes T4L donnent des résultats qui sont d'un point de vue diagnostique plus utiles que le dosage de la T4T. Cependant, les artéfacts pré-analytiques ou analytiques dans les dosages surviennent dans beaucoup de situations associées avec des anomalies des protéines liantes: lorsque la liaison du traceur à l'albumine est anormale ; en présence de médicaments qui déplacent la T4 de la TBG ; pendant des phases critiques des NTI ; et pendant la grossesse (Tableau 1). La fréquence d'artéfacts dans les tests de T4L suggère que la TSH ou le rapport TSH/T4L est un paramètre thyroïdien plus fiable qu'une évaluation de T4L seule.

En cas de suspicion d'un résultat inapproprié de T4L, la T4L devrait être vérifiée par une méthode différente (habituellement dans un laboratoire différent). En outre, ou alternativement, la relation T4L et T4T peut être vérifiée pour déceler une éventuelle discordance car une interférence n'affecte que rarement les deux dosages au même degré et dans la même sens.

(i) Grossesse

L'augmentation de la TBG sérique et les concentrations basses de l'albumine pendant la grossesse, provoquent des variations de dosage de T4L largement dépendantes de la méthode employée [2.A3] (47,59). Les méthodes dépendantes de l'albumine peuvent produire des valeurs de T4L basses chez jusqu'à 50 pour cent des patients et être inadéquates pour évaluer l'état thyroïdien pendant la grossesse à cause du biais négatif dû à la diminution progressive de la concentration de l'albumine sérique au troisième trimestre (59). Inversement, les méthodes telles que la dialyse au moyen d'un radio-isotope ont tendance à montrer un biais positif probablement lié aux impuretés du traceur (60). L'usage de plages de référence spécifiques à la méthode et la définition de valeurs en fonction des trimestres peuvent améliorer l'exactitude diagnostique du dosage des hormones libres pendant la grossesse. Cependant, peu, sinon aucun fabricant n'a développé de tels renseignements.

Recommandation 15. Effets d'anomalies des protéines porteuses des hormones thyroïdiennes dans les dosages de T4L

Les anomalies des protéines porteuses provoquent des artéfacts pré-analytiques ou analytiques dans les dosages de T4L. La fonction thyroïdienne devrait être évaluée à partir du rapport TSH/T4T quand:

- La liaison du traceur du test à l'albumine est anormale (ex : FDH).
- Le malade prend des médicaments qui déplacent la T4 de la TBG, ex : phénytoïne, carbamazépine ou furosémide .
- Le malade a une maladie non thyroïdienne critique ou sévère.

(ii) Enfants prématurés

Un taux de thyroxine bas sans élévation de la TSH est communément rencontré chez les enfants prématurés de moins de 28 semaines de gestation (39,176). Quelques évidences cliniques suggèrent qu'un traitement à la L-T4 pourrait améliorer l'évolution neurologique (176). Cependant, comme décrit ci-dessus, il est possible que les différences entre méthodes de dosage de T4L risquent de compromettre la fiabilité de la détection d'hypothyroxinémie chez le prématuré.

(iii) Anomalies génétiques des protéines porteuses

Les variations héréditaires et acquises de l'albumine et de la TBG avec une affinité pour T4 ou T3 altérée peuvent provoquer des concentrations d'hormones totales anormales chez des sujets euthyroïdiens avec des concentrations d'hormones libres normales (141). Le variant de l'albumine responsable de l'hyperthyroxinémie dysalbuminémique familiale (FDH) a une affinité supérieure marquée pour la T4 et de nombreux traceurs analogues de T4 résultant en

des valeurs de T4 libre sérique faussement élevées dans ces méthodes (145,177). Dans la FDH, les valeurs de la T4T sérique et de l'IT4L sont élevées. Certains tests de T4L donnent également des valeurs supra-normales, alors que les dosages de la T3T, la T3L, la TSH et la T4L sériques, par d'autres méthodes, y compris la dialyse à l'équilibre, sont normaux (177). L'absence de reconnaissance de la présence du variant d'albumine FDH, qui peut se rencontrer avec une prévalence jusqu'à 1 pour 1000 dans quelques populations latino-américaines, peut résulter en une interprétation erronée du test et même mener à l'ablation de la thyroïde (178).

(iv) Auto-anticorps

Le sérum de certains patients contient des auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes qui sont à l'origine d'artéfacts méthodologiques dans les dosages d'hormones totales ou libres (143,145). Les interférences dues aux anticorps dépendent du type de méthode. Le traceur T4 ou T3 lié aux anticorps endogènes est faussement classé comme lié par les méthodes par adsorption, ou libre par les méthodes à double anticorps, menant respectivement à des valeurs de T4T ou T3T sériques erronément élevées ou basses (144,145). Les traceurs analogues de T4 utilisés dans certaines méthodes de T4L peuvent se lier à ces auto-anticorps, donnant des résultats de T4L sérique faussement élevés. Des anticorps anti-phase solide interférant dans des méthodes d'hormones libres à anticorps marqués ont même été décrits (179).

(v) Thyrotoxicose et hypothyroïdie

Le rapport entre T4 libre et totale et T3 dans la thyrotoxicose est non linéaire. Dans les thyrotoxicoses sévères, les élévations de la T4T et de la T4L sont disproportionnées. Cette non linéarité reflète autant une baisse de la concentration de TBG qu'une saturation de la capacité de liaison de la TBG en dépit de l'augmentation de la liaison à la TTR et à l'albumine (180). De la même façon, les concentrations de T3L peuvent être sous-estimées par suite d'une capacité de liaison T4-TBG plus élevée. La situation réciproque existe dans les hypothyroïdies sévères avec une occupation réduite de toutes les protéines de liaison (180). Dans cette situation, un excès de sites de liaison inoccupés peut atténuer la réponse de la T4L au traitement. Cela suggère que chez un malade hypothyroïdien, une dose initiale de charge de L-T4 est l'approche la plus rapide pour restaurer le taux de T4L à un niveau thérapeutique.

(vi) Médicaments qui entrent en compétition avec la liaison des hormones thyroïdiennes

Quelques agents thérapeutiques et diagnostiques tel que phénytoïne, carbamazépine ou furosémide peuvent, de manière compétitive, inhiber la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines sériques. La réduction des sites de liaison disponibles résulte en une augmentation aiguë de la T4L et dans certains cas de l'action hormonale comme mis en évidence par une réduction de la TSH (181). Les augmentations de T4L sont influencées par la dilution du sérum pratiquée dans la méthode. Elles sont également constatées dans les méthodes de dialyse (182,183). Durant l'administration chronique de ces substances compétitives la clairance d'hormones est augmentée. Cependant, le système rétablit un "équilibre normal" : le niveau de T4L se normalise aux dépens d'une concentration de T4T abaissée. A ce stade, la suppression de la médication causera une chute initiale de T4L dès lors que plus de sites sur les protéines porteuses deviennent disponibles. Il s'en suit un retour de la T4L à la normale ; l'équilibre est ré-établi par une sécrétion plus importante d'hormones par la thyroïde. La durée et l'ampleur de ces effets dépendent de la demi-vie de l'agent compétiteur.

Plusieurs médicaments et agents entrent en compétition avec la liaison de la T4 et de la T3 à la TBG. et provoquent une augmentation aiguë de disponibilité de T4L ou de T3L. Beaucoup

de ces agents thérapeutiques fréquemment prescrits diffèrent dans leur affinité pour la TBG par rapport à la T4 (96,184). Le furosémide, par exemple, se lie à la TBG mais avec une affinité qui est approximativement trois fois moindre que celle de la T4 alors que l'aspirine se lie avec une affinité sept fois moindre que la T4 (170,185). *In vivo* la compétition observée avec de tels agents est en rapport avec leur affinité pour la TBG plutôt qu'avec leurs niveaux thérapeutiques, la fraction libre ou l'affinité pour les protéines non - TBG, en particulier l'albumine (170,186).

Les dosages actuels de T4L qui emploient une dilution peuvent ne pas détecter une élévation de la T4L due à la présence d'agents compétiteurs. Par exemple, un échantillon qui contient à la fois de la T4L (fraction libre 1 pour 4000) et un inhibiteur compétitif (fraction libre 1 pour 100) soumis à une dilution séquentielle maintiendra la concentration de T4L jusqu'à une dilution de 1 pour cent, suite à la dissociation progressive de la T4 des protéines liantes. Par contraste, la concentration de la substance libre diminuera sensiblement, après une dilution de 1 pour 10. Donc, l'effet de déplacement des hormones exercé par des substances qui rivalisent pour la liaison de la T4 sera sous-estimé dans les dosages de T4L utilisant un protocole de dilution élevée de l'échantillon. L'usage de dialyse symétrique à l'équilibre et d'ultrafiltration de sérum non dilué peut minimiser cet artéfact (94,165,187,188).

(vii) Artéfacts induits par le traitement à l'héparine

Il est bien connu qu'en présence d'une concentration d'albumine normale, les concentrations d'acides gras libres (FFA) > 3mmol/L augmentent la T4L en déplaçant l'hormone de la TBG (84,97,98,100, 101,167-170). Le sérum de malades traités à l'héparine, y compris des préparations d'héparine de faible poids moléculaire, peut présenter des valeurs de T4L faussement élevées, suite à une activité *in vitro* de la lipase induite par l'héparine qui augmente les acides gras libres. Ce problème est observé, même avec des doses d'héparine aussi faibles que 10 unités et est amplifié par la conservation de l'échantillon. Des niveaux de triglycérides sériques augmentés, des concentrations basses d'albumine sérique ou une incubation prolongée durant le dosage à 37°C peuvent accentuer ce problème.

(viii) Maladie non thyroïdienne grave

Un grand nombre d'observations rassemblées depuis plus de deux décennies traitent de la spécificité de différentes méthodes de dosage de la T4L chez les malades hospitalisés avec une NTI [2.B2]. Cette littérature peut amener à une confusion, et est compliquée par l'hétérogénéité des populations de patients étudiés et la qualité des résultats qui sont méthode-dépendants. Avec le temps, les fabricants ont progressivement modifié leurs méthodes, dans une tentative d'améliorer la spécificité dans ce cadre particulier et dans d'autres situations présentant des anomalies des protéines de liaison. Cependant, la composition exacte des méthodes actuelles reste brevetée. Il est difficile pour les fabricants d'obtenir des échantillons correctement identifiés de tels malades pour tester leurs méthodes de façon rigoureuse. Dans une étude comparative récente de méthodes de dosage de T4L une différence marquée a été constatée au septième jour après transplantation de moelle osseuse chez des sujets euthyroïdiens soumis à une thérapie à base de plusieurs médicaments comprenant de l'héparine et des glucocorticoïdes (101). Dans cette étude, les concentrations de T4T étaient normales chez la plupart des sujets (95 %) et la TSH sérique était < 0,1 mUI/L dans approximativement la moitié d'entre eux. Cette situation était logique au vu de la thérapie à base de glucocorticoïdes. Cependant, autant de valeurs élevées que sub-normales de T4L ont été rapportées par différentes méthodes. Il est apparu que les valeurs de T4L élevées observées chez 20 à 40 % des patients dans certaines méthodes étaient probablement le résultat de l'effet *in vitro* de l'héparine I.V. discuté ci-dessus [3.B3(c)vii]. Par contraste, les méthodes par traceurs analogues qui sont influencées par la liaison du traceur à l'albumine

donnaient des valeurs de T4L sub-normales chez 20-30 % de malades (101). De tels artéfacts de dosage de T4L produisent une discordance entre les résultats de T4L et de TSH, augmentant ainsi le risque d'un diagnostic erroné de thyrotoxicose ou d'hypothyroïdie secondaire. Ces observations suggèrent que les dosages de T4T seraient plus fiables dans le cadre de maladies non thyroïdiennes critiques.

(d) Validation des méthodes de T4. Malheureusement, la plupart des méthodes de dosage des hormones libres font l'objet d'une évaluation inadéquate avant leur introduction pour usage clinique. Les fabricants étendent rarement la validation de leurs méthodes au-delà de l'étude de patients ambulatoires hypo- ou hyperthyroïdiens, femmes enceintes et une catégorie mal définie de "malades NTI/hospitalisés". Cependant, il n'y a aucun consensus quant aux meilleurs critères à utiliser pour évaluer ces méthodes de dosage de la T4 libre. Il est insuffisant de simplement démontrer qu'une nouvelle méthode peut faire la distinction entre valeurs d'hypothyroïdie, valeurs normales et d'hyperthyroïdie, et de montrer la comparabilité avec les méthodes existantes ; toute méthode d'évaluation des hormones libres satisfera à ces critères sans renseigner nécessairement sur la concentration physiologique réelle des hormones libres.

Recommandation 16. Pour les fabricants : estimation de l'exactitude diagnostique des méthodes de dosage de la T4L

- L'exactitude diagnostique de la méthode devrait être testée en utilisant des échantillons identifiés de patients ambulants avec des anomalies des protéines porteuses suivantes:
 - anomalies de la TBG (œstrogènes élevés, excès et déficit congénital de TBG)
 - hyperthyroïxémie dysalbuminémique familiale (FDH)
 - affinité de la transthyrétine (TTR) augmentée
 - auto-anticorps anti-T4 et anti-T3
 - facteur rhumatoïde
- Tester la méthode pour interférences avec des échantillons sériques normaux enrichis de concentrations pertinentes d'inhibiteurs habituels aux concentrations qui provoquent le déplacement des hormones des protéines liantes dans le sérum non dilué, effets qui disparaissent après dilution c.-à-d.:
 - furosémide 30 µM
 - acide disalicylique 300 µM
 - phénytoïne 75 µM
 - carbamazépine 8 µM
- Relever toutes les interférences connues avec l'importance et le sens des erreurs qui en résultent

- Documenter les effets *in vitro* de l'héparine sur la génération d'acides gras libres pendant l'incubation du dosage

Les nouvelles méthodes devraient être testées avec des échantillons cliniques identifiés, surtout avec ceux qui peuvent mettre en doute la validité du dosage. Une autre approche est de tester un critère particulier en manipulant les composants d'un échantillon de sérum normal (148). Qu'importe l'approche adoptée, les questions clés sont en rapport avec la similitude entre échantillons et étalons car toutes les méthodes sont généralement comparables. Les autres approches incluent le test de récupération quantitative de L-T4 ajoutée, ou la détermination des effets de la dilution du sérum, car une dilution de 100 fois d'un sérum "normal" cause théoriquement une réduction insignifiante (moins de 2 %) de la concentration de la T4L (94,152) (58,189). Ces approches cependant ne testent que la dépendance de la méthode aux protéines, c.-à-d. le degré de dépendance de la valeur T4 libre de la dissociation des hormones libres des formes liées (148). Il est prévisible que ces approches donnent une évaluation défavorable des méthodes qui impliquent une importante dilution de l'échantillon comparées aux méthodes qui minimisent la dilution de l'échantillon. Il n'y a aucune évidence cependant, pour certifier que ces approches reflètent l'exactitude diagnostique de la méthode quand utilisées pour évaluer des échantillons cliniques difficiles. Finalement, comme avec toute méthode diagnostique, la spécificité d'une méthode de la T4L ne deviendra évidente qu'après avoir testé un spectre complet d'échantillons d'individus avec et sans dysfonctionnement thyroïdien présentant des anomalies des protéines porteuses ou sous médications connues pour affecter la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines plasmatiques. Une interférence inattendue ne pourrait être notée qu'après un certain temps d'utilisation tels les effets du facteur rhumatoïde qui peuvent produire des estimations de T4 libre sérique faussement élevées (112). La fluorescence non spécifique due à la présence dans le sang de substances telles que les acides organiques chez des malades urémiques, peut être une autre cause d'interférence non spécifique (190).

L'approche préférée est de porter une attention particulière aux échantillons qui sont susceptibles de causer une interférence non spécifique dans le test (98). Idéalement, dans le cadre de patients ambulatoires, il faudrait inclure des échantillons qui présentent : a) des anomalies de la TBG (grossesse, contraception orale, excès et déficits congénitaux de TBG) ; b) une hyperthyroxinémie dysalbuminémique familiale (FDH) ; c) des auto-anticorps anti-T4 et anti-T3 ; d) des substances interférentes telles que le facteur rhumatoïde et e) un large spectre d'agents pharmacologiques. En situation hospitalière, trois classes de malades devraient être testés: a) malades sans dysfonctionnement thyroïdien mais avec une T4T basse ou élevée, dû à une NTI ; b) malades avec une hypothyroïdie avérée, associée à une NTI sévère et, c) malades avec une hyperthyroïdie avérée, associée à une NTI. Cependant, il est extrêmement difficile pour les fabricants d'obtenir des spécimens identifiés représentatifs de tous ces malades. Puisqu'aucun fabricant n'a testé sa méthode de façon adéquate chez des malades gravement atteints, il est difficile pour les cliniciens d'avoir confiance dans le fait que des résultats anormaux de T4L reflètent bien chez de tels malades un véritable dysfonctionnement thyroïdien plutôt qu'une NTI. Dès lors chez des malades hospitalisés suspects d'un dysfonctionnement thyroïdien, une combinaison de dosages de TSH sérique et de T4T peut fournir plus de renseignements que le seul dosage de T4L, à condition que la valeur de T4T soit interprétée en fonction du degré de sévérité de la maladie. Spécifiquement, une T4T basse dans les NTI est habituellement limitée à des cas sévères dans le cadre de soins intensifs. Une T4T basse en cas de maladie non critique devrait inciter à envisager un dysfonctionnement de l'hypophyse. Chez les malades ambulants, les dosages de la T4L

sérique sont souvent, du point de vue diagnostique plus exacts qu'un dosage de T4T. Cependant, quand un résultat de T4L anormal ne correspond pas à l'image clinique ou quand il y a une discordance inexpiquée entre TSH et T4L, il peut être nécessaire de demander un dosage de la T4T comme confirmation. Eventuellement, le laboratoire pourrait envoyer l'échantillon à un laboratoire différent qui utilise une autre méthode de T4L ou à un laboratoire de référence qui peut exécuter un dosage de T4L basé sur une séparation physique, telle que dialyse à l'équilibre ou ultrafiltration.

(e) Interférences dans les dosages thyroïdiens. Idéalement, une méthode de dosage des hormones thyroïdiennes devrait être dépourvue d'interférence de tout composé, médicament ou substance endogène (ex : bilirubine) dans tous les échantillons, à toutes concentrations. Les études disponibles auprès des fabricants varient largement dans le nombre de composés étudiés et dans les concentrations testées. Habituellement le laboratoire ne peut détecter des interférences de manière "proactive" qu'à partir de la cohérence du rapport de T4L et de TSH. Si un seul dosage est effectué, une interférence est suspectée en premier lieu par le clinicien qui observe une incohérence entre la valeur rapportée et l'état clinique du malade. Les contrôles classiques du laboratoire par la vérification de l'identité de l'échantillon et un test de dilution, ne permettent pas toujours de détecter une interférence. Typiquement les interférences dans les dosages de T4T ou de T4L provoquent des valeurs anormales inappropriées en regard d'une TSH sérique normale (Tableau 1). Les interférences dans les tests immunologiques de compétition ou de non compétition entrent dans trois catégories: (i) problèmes de réactivité hétéro-spécifique, (ii) anticorps endogènes dirigés contre l'analyte, (iii) interactions médicamenteuses (191).

(i) Réactivité hétéro-spécifique (Réaction croisée)

Les problèmes de réactivité hétéro-spécifique résultent de l'incapacité de l'anticorps de faire la différence entre l'analyte et une molécule structurellement apparentée (192). Les dosages d'hormones thyroïdiennes sont moins sujets à ce type d'interférence que la TSH. Les anticorps anti-iodothyronine sont en effet sélectionnés pour leur spécificité au moyen de préparations purifiées. La disponibilité d'anticorps monoclonaux et polyclonaux purifiés pour leur affinité a réduit la réactivité hétéro-spécifique des tests de T4 et de T3 actuels à moins de 0,1% pour tous les précurseurs et métabolites iodés de L-T4. Des interférences dans le dosage de T3L par l'acide 3-3',5-triiodothyroacétique (TRIAC) et de D-T4 dans les dosages de T4L ont toutefois été rapportées (14,135).

(ii) Auto-anticorps endogènes

Les auto-anticorps endogènes anti-T4 et anti-T3 ont à plusieurs reprises été détectés dans le sérum de malades présentant des affections auto-immunes thyroïdiennes ainsi que non thyroïdiennes. En dépit de leur prévalence élevée, les interférences causées par de tels auto-anticorps sont relativement rares. Ces interférences sont caractérisées par des valeurs faussement basses ou élevées, selon le type et les composants du dosage utilisé (193).

(iii) Interférences médicamenteuses

Les interférences médicamenteuses *in vitro* peuvent résulter de la présence dans le sérum d'agents thérapeutiques ou diagnostiques à des concentrations suffisantes pour perturber les tests thyroïdiens (67,68). Les méthodes utilisant des signaux fluorescents peuvent être sensibles à la présence d'agents thérapeutiques ou diagnostiques fluorophores dans l'échantillon (190). Dans le cas d'administration I.V. d'héparine, l'activation *in vitro* de

lipoprotéine-lipases peut générer des acides gras libres qui peuvent induire des valeurs faussement élevées de T4L [3.B3(c)vii] (84,97,98,100,101,167-170).

(f) Intervalles de référence des valeurs normales de T4L et de T3L. Les méthodes de séparation physique sont utilisées pour assigner des valeurs aux calibrateurs employés dans la plupart des dosages de T4L. Il y a une concordance plus proche entre les intervalles de référence des diverses méthodes de dosage des hormones libres utilisées en biologie clinique qu'entre les diverses méthodes qui font appel à une séparation physique. Les intervalles de référence pour les méthodes par dosage immunologique de T4L sont proches de 9-23 pmol/L (0,7-1,8 ng/dL). Par contraste, les limites supérieures de T4L pour les méthodes telles que la dialyse à l'équilibre s'étendent au-delà de 30 pmol/L (2,5 ng/dL). Les intervalles de référence pour les méthodes immunologiques de T3L se situent entre 3,5-7,7 pmol/L (0,2-0,5 ng/dL). Les méthodes de dosage T3L avec séparation physique ne sont à l'heure actuelle disponibles que comme dosages effectués pour la recherche (102).

(g) Standardisation ou calibration. Au niveau international, il n'existe pas d'étalons standards ou de méthodes de référence pour les dosages d'hormones libres. Bien que des méthodes de référence aient été suggérées pour les dosages de T4T, il sera difficile d'adapter de telles méthodes pour les hormones libres (139). Chaque méthode et chaque fabricant aborde le problème de standardisation uniquement dans sa propre perspective.

Les méthodes d'évaluation de la T4L qui exigent deux tests indépendants (dialyse à l'équilibre avec traceur et tests d'ultrafiltration ainsi que les méthodes par index) utilisent une mesure de l'hormone totale et de la fraction libre. Les dosages d'hormones totales sont standardisés grâce à des calibrateurs préparés par gravimétrie à partir de préparations hormonales de grande pureté et commercialement disponibles. La fraction libre est déterminée par une mesure de radioactivité (cpm) dans un dialysat ou un ultrafiltrat. Dans le cas des méthodes par calcul d'index, la saturation ou la capacité de liaison des protéines de transport est mesurée en utilisant un test déterminant un ratio de liaison des hormones thyroïdiennes (THBR), quelquefois repris comme test d'"adsorption". Les tests THBR sont standardisés vis à vis de sérums avec des protéines liantes normales. Une valeur de 1,0 leur est assignée [3.B2(b)].

Une situation plus compliquée se rencontre dans le dosage des hormones libres. En général ces dosages sont fournis avec des étalons qui ont des valeurs d'hormones libres, connues ou assignées, déterminées par une méthode de référence (habituellement dialyse à l'équilibre avec RIA de T4L dans le dialysat). Cette démarche est classiquement exécutée par le fabricant dans le but d'établir des valeurs d'hormones libres pour les calibrateurs à base de sérum humain à inclure dans la trousse. Une approche alternative utilise la loi d'action de masse pour calculer la concentration d'hormones libres dans le cas d'hormones fortement liées, telles que la thyroxine, (194). La concentration d'hormones totales, un dosage de la capacité de liaison totale pour les hormones dans cet échantillon sérique, et la constante d'équilibre fournissent les renseignements nécessaires pour calculer la concentration de l'hormone libre. Cette approche est valable pour les calibrateurs et les contrôles fabriqués à partir de sérum humain contenant de la TBG à capacité de liaison normale. Cela permet au fabricant de faire des calibrateurs et des contrôles de niveaux fixes.

L'usage de calibrateurs, préparés comme décrits ci-dessus, permet de compenser l'extraction excessive d'hormones de leurs protéines liantes. Spécifiquement, dans le cas de la thyroxine et de la triiodothyronine, l'anticorps dans la trousse lie les hormones libres, et extrait une quantité significative (~ 1-2 %) d'hormones liées. Dosée directement, la concentration d'hormones libres, due à l'extraction excessive serait anormalement élevée. Cependant, l'usage de calibrateurs de niveaux d'hormones libres connus et préparés dans du sérum

humain permet d'affecter des valeurs au signal du système de lecture du dosage (isotopique, enzymatique, fluorescent ou chimiluminescent) correspondant aux concentrations d'hormones libres connues. Toutefois, cette approche n'est valable que si le pourcentage d'hormones extrait du calibrateur est identique à celui de l'échantillon. Ceci est rarement le cas pour des échantillons qui contiennent des anomalies des protéines porteuses (ex : TBG congénitale élevée et abaissée, FDH,NTI, etc...).

4. Le dosage des hormones libres : le futur

L'époque des dosages immunologiques pour la quantification des hormones thyroïdiennes et stéroïdes dans les fluides biologiques a débuté dans les années 70. Cette époque touche à sa fin. L'application de spectrométrie de masse au dosage des hormones dans les fluides biologiques émerge progressivement (138). Il n'y a aucun doute que la spectrométrie de masse fournira une meilleure quantification grâce à une plus grande spécificité analytique et à moins d'interférences analytiques que dans les dosages immunologiques. Pour l'instant, de telles techniques n'ont été appliquées que pour doser la T4T (139). Cependant, l'exigence d'une libération complète des hormones du complexe hormones/protéines restera incontournable pour les dosages d'hormones totales. Pour les dosages d'hormones libres, l'exigence d'une séparation physique, entre hormones libres et liées, avant quantification restera également maintenue. Pour réaliser cette dernière, une nouvelle technologie de séparation sera nécessaire, avant qu'une méthode ne puisse être considérée comme une référence. La dilution implicite de petites molécules est une limitation de la dialyse à l'équilibre qui doit être solutionnée. L'ultrafiltration se montre prometteuse, mais les méthodes actuelles présentent des difficultés techniques et sont peu praticables pour cette tâche. La qualité des mesures par spectrométrie de masse d'hormones liées à des protéines sériques sera directement dépendante des étapes de préparation de l'échantillon à doser. Néanmoins la méthode de référence idéale de dosage des hormones libres serait une technique qui fait appel d'une part à l'ultrafiltration à 37°C, pour éviter les effets de la dilution et d'autre part à la mesure directe des hormones libres dans l'ultrafiltrat par spectrométrie de masse.

Recommandation 17. Pour les laboratoires réalisant des dosages de T4L et de T3L

- Les cliniciens devraient avoir un accès aisé aux renseignements sur les effets de médicaments et l'exactitude diagnostique du test utilisé pour évaluer l'état thyroïdien de patients avec diverses anomalies des protéines porteuses et celui de malades sévèrement atteints.
- En cas de demande du clinicien, le biologiste devrait être à même de confirmer un résultat mis en question en exécutant une mesure des hormones totales ou une vérification de la T4L par une méthode de référence dans laquelle les hormones libres et liées sont physiquement séparées, telle que la dialyse à l'équilibre directe ou ultrafiltration.
- Des résultats mis en question devraient faire l'objet, pour vérification, d'une recherche d'interférences en répétant le dosage avec une méthode différente (Envoi à un laboratoire différent si nécessaire.)

3. C. Thyrotropine ou Thyroid Stimulating Hormone (TSH)

Depuis plus de 25 ans, les dosages de TSH sont capables de détecter des augmentations des taux sériques caractéristiques de l'hypothyroïdie primaire. Par leur sensibilité accrue, ces méthodes peuvent aujourd'hui, aussi, détecter des valeurs basses typiques de l'hyperthyroïdie. Ces nouvelles techniques sont le plus souvent des méthodes immuno-métriques non isotopiques adaptées sur automates d'immuno-analyse. Ces dosages atteignent pour la plupart une sensibilité fonctionnelle (SeF) de 0,02 mUI/L ou moins, ce qui est la limite de détection nécessaire pour couvrir toute la zone de mesure de TSH rencontré de l'hypo- à l'hyperthyroïdie. Avec cette sensibilité, il est possible de mieux quantifier les états de thyrotoxicose (en distinguant les hyperthyroïdies sévères à $TSH < 0,01$ mUI/L, des hyperthyroïdies frustes ou sub-cliniques dont la TSH reste comprise entre 0,01 et 0,1 mUI/L), de mieux suivre la récupération hypophysaire lors du traitement de ces hyperthyroïdies, de mieux adapter les traitements freinateurs, de suivre les patients hospitalisés en mauvais état général (nonthyroidal illness ou NTI).

En quelques années, l'augmentation de la sensibilité des dosages de TSH a modifié la stratégie diagnostique des dysfonctions thyroïdiennes. Il est actuellement admis que le dosage de TSH est un test plus sensible que celui de la mesure de T4L pour détecter une hypo- et une hyperthyroïdie. Pour diagnostiquer une dysfonction thyroïdienne, de nombreux pays recommandent le dosage de TSH seul, pour les patients ambulatoires (à condition que la SeF du dosage soit $< 0,02$ mUI/L, ce qui est la caractéristique des dosages de troisième génération). L'approche par les dosages de TSH et T4L est préférée lorsque l'axe hypothalamo-hypophysaire n'est pas intègre, lors d'hypo- ou d'hyperthyroïdie d'origine centrale [3.C4 (f)]: tumeurs hypophysaires sécrétant de la TSH [3.C4 (g)], états de résistance aux hormones thyroïdiennes. Certaines interférences ou situations exceptionnelles peuvent être repérées par des discordances dans le rapport TSH/T4L, ce que ne permet pas le seul dosage de TSH (Tableau 1).

1. Spécificité

(a) Hétérogénéité de la molécule de TSH. Dans le sang, la TSH est une molécule hétérogène qui présente différentes isoformes circulantes. Ces isoformes sont aussi présentes au niveau hypophysaire. Actuellement les standards, utilisés dans les dosages, proviennent d'extraits hypophysaires (Conseil de la Recherche Médicale MRC 80/558). Ils pourraient être dans le futur, remplacés par des préparations de TSH humaine recombinante qui serviraient de standards primaires. Les méthodes immuno-métriques actuelles utilisent des anticorps monoclonaux anti-TSH qui ne croisent plus avec les autres hormones glycoprotéiques. Ces dosages peuvent cependant détecter des isoformes de TSH anormales sécrétées soit par des sujets euthyroïdiens, soit par des patients présentant des pathologies hypophysaires et induire des taux de TSH paradoxalement normaux et même élevés pour la majorité des méthodes (195, 197,199). Par exemple, au cours d'une hypothyroïdie centrale, des isoformes de TSH anormalement glycosylées et à activité biologique réduite sont sécrétées. De même une tumeur hypophysaire sécrétant des isoformes de TSH à activité biologique exacerbée peut donner des concentrations de TSH sérique paradoxalement normale chez des sujets dont la thyroïde est hyperfonctionnelle.

(b) Problèmes techniques. Les élévations de TSH artéfactuelles peuvent être dues à des étapes de lavage/rinçage mal réalisées (202), à des anticorps hétérophiles (HAMA) qui jouent le rôle de pont entre les anticorps du dosage et créent un signal positif erroné [2.C3] (202,203).

(c) Détection des interférences dans un dosage de TSH. Le traditionnel test de dilution ne permet pas de détecter toutes les interférences. Le meilleur moyen, lorsque l'on recherche une interférence, est de vérifier le résultat par un dosage d'un autre fabricant. Quand le résultat varie de plus de 50 %, c'est qu'il existe une interférence.

Devant un taux de TSH anormalement bas, une épreuve de stimulation par la TRH (200 µg I.V.) peut être utile ; devant un taux de TSH anormalement élevé c'est un test de freinage qui sera réalisé (1 mg de L-T4 ou 200 µg de L-T3 *per os*). Pour des sujets normaux, l'épreuve de stimulation doit accroître le taux de TSH d'au moins 4 mUI/L. Lors d'une épreuve de freinage, il doit décroître de 90 % en 48 heures.

Recommandation 18. Investigation des valeurs sériques de TSH discordantes chez des patients ambulatoires

Une valeur de TSH discordante pour un patient ambulatoire, en état de stabilité thyroïdienne, peut être une erreur technique. La perte de spécificité peut résulter : d'une erreur de laboratoire, de substances interférentes (anticorps hétérophiles), ou de l'existence d'isoformes inhabituelles de TSH (Recommandation 7 et Tableau 1). Les cliniciens peuvent demander à leur laboratoire les vérifications suivantes :

- Confirmer l'identité du prélèvement (éliminer une substitution d'échantillon)
- Quand le taux de TSH est élevé de façon inattendue, demander de diluer l'échantillon de préférence dans un sérum thyrotoxique pour vérifier le parallélisme
- Demander de doser l'échantillon par une autre méthode (fabricant différent, envoi à un autre laboratoire si nécessaire). Si la variabilité du résultat est > à 50%, une substance interférente peut-être présente
- Lorsque les différents problèmes techniques ont été éliminés, des aides peuvent être apportées par les tests biologiques :
 - pour vérification d'une TSH basse discordante, réalisation d'un test de stimulation par le TRH. On attend une multiplication par 2 du taux de TSH pour une réponse normale (augmentation $\geq 4,0$ mUI/L)
 - pour vérification d'une TSH élevée discordante, réalisation d'un test de freinage par les hormones thyroïdiennes. Une réponse normale à 1 mg de L-T4 ou 200 µg L-T3 *per os* induira une diminution de plus de 90 % du taux de TSH en 48 heures.

2. Sensibilité

Historiquement, la « qualité » d'une méthode de dosage de TSH sérique a été déterminée par un repère clinique. Le dosage est capable de discriminer les taux euthyroïdiens (0,4 à 4 mUI/L) des taux effondrés de TSH rencontrés dans les thyrotoxicoses franches liées à la maladie de Basedow ($< 0,01$ mUI/L). La plupart des méthodes de TSH ont une limite de détection inférieure ou égale à 0,02 mUI/l (dosage de troisième génération).

Les fabricants ont, en général, abandonné l'utilisation de la « sensibilité analytique » calculée à partir de la précision intra-essai du calibrateur zéro, lequel ne reflète pas la sensibilité d'un test en pratique clinique (126, 127). A la place, c'est le paramètre de sensibilité fonctionnelle qui a été adopté (202). La sensibilité fonctionnelle est calculée pour un coefficient de variation inter-séries du dosage de 20 % et elle est utilisée pour établir la limite la plus faible se rapportant au test (202).

Recommandation 20. Protocole pour déterminer la sensibilité fonctionnelle et la précision inter-séries d'un dosage de TSH

La sensibilité fonctionnelle du dosage de TSH est définie par la mesure, au moins 10 fois, de pools de sérums humains couvrant la gamme de mesure du dosage. La valeur du pool le plus bas doit être 10 % au-dessus de la limite de détection et la valeur du pool le plus élevé à 90 % de la limite supérieure de mesure.

- La contamination croisée doit être testée par mesure du pool à concentration la plus faible juste après le pool à concentration la plus élevée
- Utilisez le même test pour les pools et les sérums de patients (c'est-à-dire en simple ou en double)

- L'opérateur de l'automate doit ignorer l'utilisation de pools de sérum comme contrôle
- Les contrôles des dosages de TSH doivent être espacés dans un intervalle représentatif de la pratique clinique (c'est-à-dire 6 à 8 semaines pour des patients en ambulatoire)
- Utilisez au moins 2 lots différents de réactifs et deux lots différents de calibrateurs pendant la période de contrôle
- Si on utilise le même kit de dosage sur deux automates différents, des contrôles doivent être réalisés périodiquement et en aveugle pour s'assurer de la corrélation entre les résultats obtenus avec chacun des automates.

La sensibilité fonctionnelle doit être déterminée en suivant strictement le protocole recommandé (Recommandation 20). Le protocole est conçu pour déterminer, avec réalisme, la limite de détection minimale du dosage en pratique clinique et prendre en considération différents facteurs susceptibles d'influencer l'imprécision du dosage avec un retentissement en pratique clinique. Ces facteurs sont:

- la différence de matrice entre le sérum du patient et le diluant du standard
- la diminution de la précision au cours du temps
- la variabilité inter-lots des réactifs fournis par le fabricant
- des différences de calibration entre les automates et les opérateurs techniques
- la contamination de sérum à taux bas par un sérum à taux élevé

Recommandation 21. Pour les laboratoires réalisant des dosages de TSH

La sensibilité fonctionnelle est le critère de performance le plus important dans le choix d'un dosage de TSH. Les facteurs pratiques comme l'instrumentation, les temps d'incubation, le coût, l'assistance technique bien qu'importants constituent des considérations secondaires. Les laboratoires devraient utiliser des intervalles de calibration qui optimisent la sensibilité fonctionnelle, même si la recalibration doit être plus fréquente qu'il n'est recommandé par le fabricant

- Sélectionner un dosage de TSH ayant une sensibilité fonctionnelle inférieure ou égale à 0,02 mUI/L
- Etablir la sensibilité fonctionnelle, en suivant la Recommandation 20, indépendamment de celle du fournisseur
- Il n'y a pas de justification scientifique à utiliser un dosage moins sensible plutôt qu'un dosage plus sensible (le manque de sensibilité a pour conséquence des valeurs faussement élevées, pas faussement basses)

L'utilisation de la sensibilité fonctionnelle comme la limite de détection minimale est une approche conservatoire pour s'assurer que tout résultat de TSH correspond à une détectabilité réelle. De plus, le coefficient de variation inter-séries de 20 % approche l'imprécision maximale admise pour un test diagnostique (Tableau 5).

3. Intervalles de référence pour la TSH

En dépit de différences modestes en rapport avec l'âge, le sexe, l'appartenance ethnique révélées dans l'enquête NHANES III US, il n'apparaît pas nécessaire, en pratique clinique, d'ajuster l'intervalle de référence pour ces facteurs (18). Les taux de TSH sérique montrent une variation diurne, avec un pic survenant la nuit et le nadir, qui représente approximativement 50 % de la valeur du pic, survenant entre 10 et 16 H (123, 124). Les variations biologiques ne doivent pas influencer l'interprétation diagnostique d'un dosage de TSH, étant donnée que dans leur majorité les prélèvements sont réalisés pour des patients en ambulatoire entre 8 et 18 heures et que les intervalles de référence de TSH sont, le plus souvent, établis à partir d'échantillons collectés pendant cette période. Les intervalles de référence de la TSH sérique doivent être établis à partir d'échantillons provenant de sujets euthyroïdiens, ambulatoires, sans anticorps anti-thyroperoxydase, sans dysfonction thyroïdienne personnelle ou familiale et sans goitre visible. La variation des intervalles de référence d'une méthode à une autre peut refléter les différences dans la reconnaissance épitopique des anticorps utilisés dans les différents kits mais aussi un manque de rigueur dans la sélection des sujets considérés comme normaux.

Recommandation 22. Intervalles de référence pour la TSH

Les intervalles de référence pour la TSH doivent être établis avec un intervalle de confiance à 95 % venant de la transformation logarithmique des valeurs de TSH d'au moins 120 volontaires normaux, euthyroïdiens rigoureusement choisis et qui n'ont :

- Aucun anticorps anti-thyroïdien détectable : pas d'anticorps anti-thyroperoxydase ou d'anticorps anti-thyroglobuline (mesurés par un immuno-dosage sensible)
- Aucun passé de dysfonction thyroïdienne personnel ou familial
- Aucun goitre visible ou palpable
- Aucune médication (sauf les oestrogènes)

La distribution des concentrations de TSH sérique déterminée chez les sujets normaux euthyroïdiens révèle une « queue » vers les valeurs les plus hautes. La transformation logarithmique de ces valeurs donne une répartition normale qui permet de calculer l'intervalle de référence à 95 % (valeur moyenne de la population typique : 1,5 mUI/L, plage de référence : 0,4 à 4 mUI/L dans les populations à apport iodé suffisant) (202, 206). Cependant,

étant donnée la prévalence élevée d'hypothyroïdie sub-clinique de la population générale, il est possible que la limite supérieure actuelle de la plage de référence soit influencée par l'inclusion de personnes ayant une dysfonction thyroïdienne occulte (18).

(a) Limites supérieures de référence pour la TSH. Ces deux dernières décennies, la limite supérieure de l'intervalle de référence pour la TSH a décliné régulièrement de 10 à 4,0–4,5 mUI/L. Cette diminution reflète plusieurs facteurs y compris l'amélioration de la sensibilité et des spécificités des anticorps monoclonaux utilisés dans les dosages immuno-métriques, la reconnaissance de la distribution normale des valeurs logarithmiques des taux de TSH, et cela est important, les améliorations des sensibilité et spécificité des tests de recherche des anticorps anti-thyroïdiens utilisés en pré-tri des sujets.

L'étude récente de suivi de la cohorte Whickham a trouvé que les sujets avec une TSH sérique > 2 mUI/L lors de leur première évaluation ont eu une probabilité plus élevée de développer une hypothyroïdie pendant les vingt prochaines années surtout si les anticorps anti-thyroïdiens étaient élevés (35). Cette augmentation de probabilité a été aussi observée pour les sujets négatifs en anticorps. Il est probable que de tels sujets avaient des taux faibles d'anticorps anti-thyroïdiens, mais ceux-ci n'étaient pas détectés alors par la méthode peu sensible par agglutination de recherche des anticorps anti-microsomaux (207). Même les dosages actuels sensibles d'anticorps anti-thyroperoxydase peuvent ne pas identifier tous les individus présentant une insuffisance thyroïdienne occulte. Dans le futur, il est probable que la limite supérieure du domaine de référence normal pour la TSH serait réduite à 2,5 mUI/L parce que l'intervalle de référence à 95 % des volontaires normaux, rigoureusement sélectionnés, ont des valeurs de TSH, dans le sérum, comprises entre 0,4 et 2,5 mUI/L.

(b) Limites inférieures de référence de TSH. Avant l'ère des dosages immuno-métriques, les dosages de TSH étaient trop peu sensibles pour détecter les valeurs les plus basses du domaine de référence (209). Les méthodes actuelles sont capables de mesurer des TSH entre 0,2 et 0,4 mUI/L (202). Comme la sensibilité fonctionnelle de ces méthodes a été améliorée, il y a eu un intérêt croissant à définir la vraie limite inférieure de la normalité pour déterminer l'existence clinique d'une hyperthyroïdie frustre (sub-clinique). Les études actuelles suggèrent que des valeurs de TSH dans la plage de normalité de 0,1 à 0,4 mUI/L peuvent représenter un excès en hormones thyroïdiennes et chez les patients âgés être associées à un risque accru de fibrillation auriculaire et de mortalité cardio-vasculaire (36, 37). Il est donc important d'exclure des sujets avec goitre et toute pathologie de la cohorte normale sélectionnée pour l'étude des valeurs de référence.

4. Utilisation clinique des dosages sériques de TSH

(a) Dépistage de dysfonctions thyroïdiennes chez les patients ambulatoires. Lors de la recherche de dysfonctions thyroïdiennes chez les sujets ambulatoires, la plupart des sociétés savantes médicales recommandent l'utilisation d'un dosage de TSH ayant une sensibilité fonctionnelle inférieure ou égale à 0,02 mUI/L (4, 10, 210). La spécification de la sensibilité du dosage est essentielle à la détection fiable de valeurs infra-normales. Des dosages moins sensibles de TSH sont enclins à produire des résultats faussement négatifs (plage normale) pour des échantillons avec des taux de TSH sub-normaux (202). La relation log-linéaire entre les concentrations de TSH et T4L impose la préférence à la détermination de la TSH qui seule peut détecter des excès ou des déficits minimes en hormones thyroïdiennes (Fig.4)[2.A1]. Un dysfonctionnement thyroïdien frustre (sub-clinique), caractérisé par un taux de TSH anormal associé à une concentration de T4L dans les limites de la normale est rapporté, dans des

études de population, avec une prévalence à 10 % et 2 % respectivement pour les hypo- et les hyperthyroïdies subcliniques (10, 18, 25, 211).

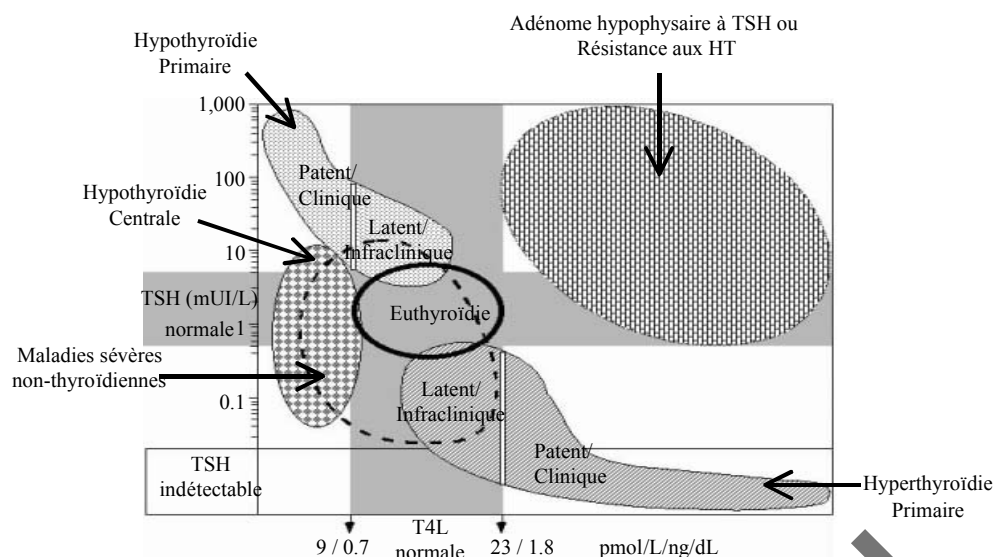


Figure 4. Relation entre les concentrations en TSH et en T4 libre dans différentes situations cliniques.

Malgré la sensibilité clinique du dosage de TSH, une stratégie centrée sur le seul dosage de TSH a intrinsèquement deux limitations primaires. En premier, elle suppose que la fonction hypothalamo-hypophysaire est intacte et normale. En second, elle suppose que l'état thyroïdien des patients est stable, c'est-à-dire que le patient n'a pris aucune thérapie récente pour hypo- ou hyperthyroïdie [D.2 A], (Fig. 2) (19). Si l'un ou l'autre de ces critères n'est pas rempli, les résultats de la TSH sérique peuvent conduire à un diagnostic erroné (Tableau 1).

Quand on recherche la cause d'un taux de TSH anormal en présence de taux de formes libres de T3 et de T4 normaux, il est important de prendre en compte la labilité du taux de la TSH, sujette à des influences pituitaires, donc non thyroïdiennes (glucocorticoïdes, somatostatine, dopamine, etc.) qui peuvent perturber la relation TSH/T4L (69, 70, 71, 212). Il est important de confirmer toute valeur anormale de TSH par un nouveau prélèvement effectué trois semaines plus tard avant de retenir un diagnostic de dysfonctionnement thyroïdien frustré (sub-clinique). Après avoir confirmé une anomalie importante du taux de TSH, il est utile d'en rechercher l'étiologie par la mise en évidence d'anticorps anti-thyroperoxydase qui prouveront l'existence d'une auto-immunité thyroïdienne. La rapidité de développement d'une pathologie thyroïdienne est proportionnelle à l'élévation du taux d'anticorps anti-thyroperoxydase. Après la confirmation d'un taux de TSH anormalement bas, il peut être difficile d'établir de manière univoque un diagnostic d'hyperthyroïdie sub-clinique surtout si le patient est âgé et ne reçoit pas de thérapie par la L-T4 (34). Si un goitre multi-nodulaire est présent, l'autonomisation thyroïdienne est une cause possible d'hyperthyroïdie sub-clinique (213).

Il n'y a pas de consensus en ce qui concerne l'âge optimal pour commencer le dépistage. L'American Thyroid Association recommande le dépistage à partir de 35 ans et tous les 5 ans ensuite (10). L'analyse décisionnelle paraît conforter l'efficacité de cette stratégie, en particulier pour les femmes (215). La stratégie d'utilisation du dosage de TSH pour dépister les hypo- et les hyperthyroïdies sub-cliniques restera en discussion jusqu'à un accord plus large sur les conséquences cliniques et le devenir d'une TSH chroniquement anormale. Il est nécessaire aussi de trouver un accord sur le taux de TSH à atteindre pour la mise en place d'un traitement (216, 217).

Il y a de plus en plus d'évidence que, des patients présentant une anomalie persistante de la concentration de TSH, s'ils sont laissés sans traitement, soient exposés à un plus grand risque. Une étude récente a rapporté un taux plus élevé de mortalité cardio-vasculaire pour des patients présentant un taux bas persistant de TSH (37). Un nombre croissant de rapports indiquent que, l'hypothyroïdie frustre, en début de grossesse, diminue les apports au fœtus et affaiblit le QI de la progéniture (63-65). De telles études prônent le dépistage précoce de la fonction thyroïdienne, en particulier chez les femmes en âge de procréer.

(b) Patients âgés. La plupart des études incitent au dépistage des dysfonctions thyroïdiennes chez les personnes âgées (10, 35, 214). La prévalence d'une TSH basse ou haute (associée à une T4L normale) est augmentée pendant la vieillesse par comparaison à des patients plus jeunes. La thyroïdite auto-immune, associant un taux de TSH élevé et des anticorps anti-thyroperoxydase détectables, est rencontrée avec une prévalence croissant avec l'âge (35). L'incidence d'un taux de TSH bas est aussi accrue chez les personnes âgées (35). Une concentration de TSH basse peut être transitoire mais être persistante pour approximativement 2 % des personnes âgées sans autre évidence de dysfonction thyroïdienne (36, 214). Ceci pourrait être dû à une modification du thyroïdostat T4L/TSH, à une modification de la bio-activité de la TSH ou à un léger excès d'hormones thyroïdiennes (218). Une étude récente de Parle et coll. a montré un taux de mortalité cardio-vasculaire plus élevé chez de tels malades (37). Le goitre multi-nodulaire constitue une étiologie à reconnaître, en particulier, dans des régions de carence en iode (213). Les prises médicamenteuses antérieures doivent être connues (y compris les prises de préparations en vente libre dont quelques unes contiennent de la T3). S'il n'y a pas de goitre, ni de prise médicamenteuse particulière, le taux de TSH sérique doit être réévalué avec recherche d'anticorps anti-thyroperoxydase 4 à 6 semaines plus tard. Si le taux de TSH reste bas et que la recherche d'anticorps anti-thyroperoxydase est positive, il faut considérer la possibilité d'une dysfonction thyroïdienne d'origine auto-immune. Le traitement devra être envisagé au cas par cas.

(c) Thérapie substitutive par de la thyroxine L-T4. Il est maintenant bien admis que les patients hypothyroïdiens ont des concentrations de T4L dans le 1/3 supérieur des valeurs de référence quand le traitement substitutif par la L-T4 a amené le taux de TSH dans la zone thérapeutique (entre 0,5 et 2 mUI/L) (219, 220).

La levothyroxine (L-T4) est la médication substitutive préférée pour l'hypothyroïdie. L'état d'euthyroïdie est habituellement atteint chez l'adulte avec une dose de 1,6 µg/kg/jour. Les enfants ont besoin de doses plus élevées (jusqu'à 4 µg/kg/jour) et les personnes plus âgées de doses plus faibles (1 µg/kg/jour). La dose initiale et le temps optimum pour établir la substitution complète doivent être individualisés en fonction de l'âge, du poids et du statut cardiaque. Les besoins en thyroxine sont augmentés pendant la grossesse [2.A3] et en période post-ménopausique pour les femmes débutant un traitement hormonal substitutif (223).

Recommandation 23. Thérapie substitutive par la L-T4 de l'hypothyroïdie primaire

- La L-T4, et non plus les extraits de thyroïde desséchée, est la médication préférée pour la substitution au long terme de l'hypothyroïdie
- Un état d'euthyroïdie est habituellement atteint avec une dose moyenne de 1,6 µg/kg/jour. La dose initiale et le moment pour atteindre la substitution totale devraient être individualisés en fonction de l'âge, du poids et du statut cardiaque. Une dose initiale est habituellement de 25 à 50 µg/jour. La mesure du taux de TSH après six semaines indiquera la nécessité d'ajuster la dose par incréments de 25 – 50 µg.
- Les enfants ont besoin de doses de L-T4 plus élevées, jusqu'à 4 µg/kg/jour du fait d'un métabolisme plus rapide. Les deux dosages de TSH et T4L doivent être réalisés et interprétés en utilisant des intervalles de référence spécifiques de l'âge et de la méthode (Tableau 3).
- Un taux de TSH compris entre 0,5 et 2 mUI/L est généralement considéré comme la zone thérapeutique optimale pour un traitement substitutif par la L-T4 de l'hypothyroïdie primaire
- A la suite d'un changement de posologie de L-T4, la TSH s'adapte lentement (Recommandation 2). Six à huit semaines sont nécessaires, après un ajustement thérapeutique, avant de réévaluer le taux de TSH
- Une compliance intermittente ou négative avec la thérapie de remplacement de levothyroxine (L-T4) donnera des valeurs de TSH et de T4L discordantes (TSH élevée/T4L élevée) à cause d'un état thyroïdien instable persistant (Recommandation 2). TSH et T4L devraient être utilisées pour surveiller de tels malades.
- Les besoins en thyroxine déclinent avec l'âge. Les individus âgés peuvent nécessiter moins de 1,0 µg/kg/jour et peuvent avoir besoin d'être dosés lentement. Certains cliniciens préfèrent doser ces malades progressivement. Une dose initiale de 25 µg est recommandée pour les malades avec des signes d'insuffisance coronarienne suivi par une augmentation de la dose de 25 µg toutes les 3-4 semaines jusqu'à la dose de substitution complète. Quelques-uns pensent qu'une valeur cible de TSH plus élevée (0,5-3,0 mUI/ml) peut-être appropriée pour les malades âgés.

- Pour une hypothyroïdie sévère, une charge initiale de L-T4 est le moyen le plus rapide pour retrouver un niveau thérapeutique de T4L parce que l'excès de sites de liaison inoccupés peut amoindrir la réponse T4L au traitement.
- Les besoins en thyroxine augmentent pendant la grossesse. L'état thyroïdien devrait être vérifié par TSH + T4L chaque trimestre de la grossesse. La dose de L-T4 devrait être augmentée (habituellement de 50 µg/jour) pour maintenir la TSH entre 0,5 et 2,0 mUI/L et une T4L dans le tiers supérieur de l'intervalle de référence normal.
- Les femmes commençant après leur ménopause une thérapie hormonale substitutive peuvent avoir besoin d'une augmentation de leur dose de L-T4 pour garder la TSH sérique dans la zone thérapeutique.
- Le contrôle de la TSH de malades qui reçoivent une dose de L-T4 stable est recommandé sur une base annuelle. Le meilleur moment pour le faire n'est pas influencé par le moment de la prise de L-T4 dans la journée.
- Idéalement, la L-T4 devrait être prise avant de manger, toujours au même moment de la journée et au moins à 4 heures d'intervalle de tout autre médicament ou vitamine. La prise au coucher devrait être à 2 heures après le dernier repas.
- Les malades qui commencent une thérapie chronique avec cholestyramine, sulfate ferreux, carbonate de calcium, protéine de soja, sucralfate et anti-acide contenant de l'hydroxyde d'aluminium qui influence l'absorption de L-T4 peuvent nécessiter une dose de L-T4 plus importante pour maintenir la TSH dans la zone thérapeutique.
- Les malades qui prennent de la rifampicine et des anti-convulsivants qui influencent le métabolisme de la L-T4 peuvent aussi avoir besoin d'une dose de L-T4 augmentée pour maintenir la TSH dans la zone thérapeutique.

Un taux de TSH sérique entre 0,5 et 2 mUI/L est généralement considéré comme la cible thérapeutique pour une dose thérapeutique standard lors du traitement d'une hypothyroïdie primaire.

Une concentration de T4L dans le tiers supérieur de l'intervalle de référence est la cible thérapeutique pour une thérapie par la L-T4 quand les patients souffrent d'hypothyroïdie centrale due à un dysfonctionnement pituitaire et/ou hypothalamique.

L'administration croissante de L-T4 par tranche de 25 µg chaque 6-8 semaines jusqu'à obtention de la substitution complète est le schéma classique. (TSH entre 0,5 et 2 mUI/L). Comme il est montré en Fig. 2, la TSH est lente à se rééquilibrer à un nouveau niveau de thyroxine. Les patients avec hypothyroïdie chronique sévère, peuvent développer une hyperplasie thyroïdienne hypophysaire pouvant mimer la présence d'un adénome hypophysaire, mais qui disparaît après plusieurs mois de thérapie substitutive par la L-T4 (224). Les malades qui prennent de la rifampicine et des anti-convulsivants, qui influencent le métabolisme de la L-T4, ont besoin d'une augmentation de la dose de L-T4 pour maintenir le taux de la TSH dans la zone d'efficacité thérapeutique.

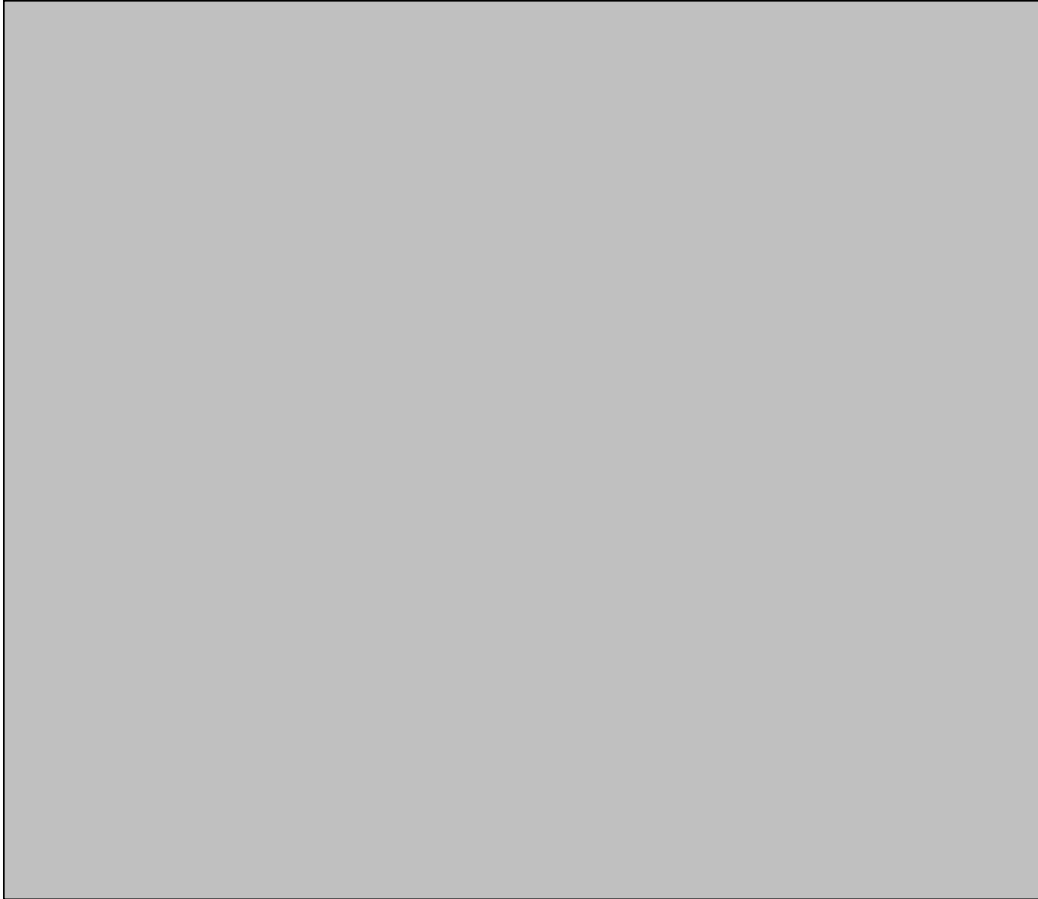
Les dosages de T4 libre et TSH devraient être utilisés pour surveiller les patients hypothyroïdiens suspectés de mauvaise ou d'absence de compliance à leur thérapie par la L-T4. L'association paradoxale d'une T4L et d'une TSH élevées est souvent un signe de mauvaise compliance. Spécifiquement une ingestion importante de L-T4 avant une visite en clinique, élèvera la T4L mais manquera de normaliser le taux de TSH à cause de l'effet "temps de réponse" (Fig. 2). Par essence, la TSH sérique est l'analogue de l'hémoglobine A1c comme reflet du taux de T4 à long terme. Au moins six semaines sont nécessaires avant de redoser la TSH lors d'un changement de dose de L-T4 ou d'autre médication thyroïdienne. Le contrôle annuel de TSH chez les patients recevant une dose stable de L-T4 est recommandé.

Le moment de prélèvement pour ce contrôle n'est pas influencé par l'heure de la prise médicamenteuse (133). Cependant, on retardera la prise médicamenteuse lorsque le contrôle porte sur la T4L comme critère d'évaluation. La T4L sérique est augmentée de façon significative (13 %) au-dessus de la ligne de base pendant 9 heures après ingestion de la dernière dose (225).

Idéalement, la L-T4 devrait être prise avant de manger, toujours au même moment de la journée, et avec un intervalle d'au moins 4 heures avant toute autre prise médicamenteuse. Beaucoup de médicaments peuvent influencer l'absorption de la T4 (surtout colestyramine, sel de fer ou de calcium, protéines de soja, sucralfate, anti-acides qui contiennent de l'hydroxyde d'aluminium, anticonvulsivants ou rifampicine) (4, 226).

(d)Thérapie freinatrice par la L-T4. L'administration de L-T4 conçue pour amener les taux de TSH sérique à des valeurs sub-normales est réservée aux patients atteints de cancer thyroïdien bien différencié pour lequel la thyrotropine est considérée comme un facteur trophique (227). L'efficacité de la thérapie freinatrice par la L-T4 a été déterminée à partir d'études rétrospectives non contrôlées qui font ressortir des résultats contradictoires (228, 229).

Il est important d'individualiser le degré de freinage de la TSH en tenant compte de l'âge du patient, de son état clinique. Ceci inclut les facteurs de risque cardiaques, les facteurs de risque de récurrence de cancer différencié de la thyroïde face aux effets potentiellement délétères des états thyrotoxiques iatrogènes (sub-cliniques) sur le cœur et les os (36). En matière de cancer thyroïdien, de nombreux médecins ciblent une valeur de TSH comprise entre 0,05 et 0,1 mUI/L pour des patients à faible risque et une TSH < 0,01 mUI/L pour ceux qui sont à risque élevé. D'autres réduisent la dose de L-T4 pour obtenir des valeurs de TSH normales basses quand les patients ont un niveau de Tg indétectable et n'ont présenté aucune récurrence dans les 5-10 ans qui ont suivi la thyroïdectomie. La thérapie freinatrice, pour les goitres non endémiques, est généralement considérée comme inefficace (230). En outre, les patients avec goitres nodulaires présentent parfois des taux de TSH freinés dus à l'autonomisation de la glande thyroïde (213).



(e) Mesure de la TSH sérique chez les patients hospitalisés avec NTI. En absence de pathologie thyroïdienne, des anomalies transitoires du taux de TSH, entre 0,02 et 20 mUI/L, sont communément rencontrées bien que la plupart des patients hospitalisés avec NTI présentent des concentrations de TSH dans les limites de la normale (20, 87, 92, 93). Lors de l'évaluation, par le dosage de TSH, d'un patient hospitalisé la valeur prévisionnelle positive de ce paramètre serait améliorée par utilisation d'une plage de référence allant de 0,02 à 10 mUI/L (20, 92, 93, 231). Si ces patients présentent des symptômes cliniques ou des antécédents de pathologie thyroïdienne, l'évaluation conjointe des concentrations de TSH et T4L (ou T4 totale) doit être réalisée (Recommandations 6 et 25).

En cas de prise de dopamine, ou de glucocorticoïdes, l'explication de l'anomalie de la TSH sera évidente (87, 92). Lorsqu'elle est due à une NTI, l'anomalie est parfois transitoire, elle se

résorbe alors avec la guérison. Il est habituel de constater, pendant la phase aiguë de la maladie, un freinage transitoire mineur de la TSH entre 0,02 et 0,2 mUI/L. La récupération

entraînera un passage par des valeurs légèrement élevées (103). En milieu hospitalier, l'utilisation d'un dosage avec une sensibilité fonctionnelle inférieure ou égale à 0,02 mUI/L, déterminera de manière fiable le degré de freinage de la TSH. Des malades atteints d'hyperthyroïdie présenteront des taux de TSH indétectables ($< 0,02$ mUI/L), ce qui permet de les différencier des patients en freinage léger transitoire du fait d'une NTI (20).

Diagnostiquer une hyperthyroïdie chez les patients atteints d'une NTI est problématique. Les méthodes actuelles de dosages de T4L peuvent fournir des valeurs inappropriées aussi bien basses que hautes chez des patients en euthyroïdie mais avec une NTI (101, 232). Le diagnostic d'hyperthyroïdie pourra être éventuellement confirmé par les mesures de T3T et T4T (Recommandation 6). Un taux de TSH $< 0,02$ mUI/L est moins spécifique d'une hyperthyroïdie chez les patients hospitalisés que chez les sujets ambulatoires. Une étude a montré que 14 % des patients hospitalisés ayant un taux de TSH $< 0,005$ mUI/L peuvent être euthyroïdiens. Lors de la stimulation par la TRH, ces malades présentent une réponse détectable de TSH alors que ceux, avec hyperthyroïdie et NTI, ne le font pas (20).

La fréquence élevée d'anomalies du taux de TSH en présence d'une NTI rend le diagnostic d'hypothyroïdie frustre (sub-clinique) difficile lors d'une hospitalisation. Les concentrations de T4L et T4T se situant dans les limites de la normale, aucune anomalie du taux de TSH (0,02 à 20 mUI/L), provenant d'une pathologie thyroïdienne sub-clinique, ne doit modifier la prise en charge lors de l'hospitalisation. Une réévaluation, 2-3 mois plus tard, sera réalisée. En revanche, les patients hypothyroïdiens présenteront l'association typique d'une élévation du taux de TSH (> 20 mUI/L) et celle d'une concentration de T4L basse (92).

Recommandation 25. Mesure de la TSH chez les patients hospitalisés

- C'est la combinaison des dosages de TSH + T4L ou T4T qui est la plus performante pour rechercher une dysfonction thyroïdienne chez les patients hospitalisés
- L'intervalle de référence élargi de 0,05 à 10 mUI/L pour la TSH est le plus approprié dans le cadre hospitalier. Les taux de TSH peuvent devenir transitoirement sub-normaux, lors de la phase aiguë d'une maladie, puis s'élèveront lors de la phase de récupération.
- Un état d'euthyroïdie amènera un taux de TSH compris entre 0,05 et 10 mUI/L. Une anomalie thyroïdienne mineure sera détectée lors d'un re-dosage après amélioration de la pathologie (si les patients ne prennent pas de médication comme la dopamine qui inhibe directement la sécrétion de TSH par l'hypophyse)
- Un taux de TSH bas associé à une T4T et une T3T basses peuvent refléter une hypothyroïdie d'origine centrale consécutive à une maladie prolongée dont le traitement immédiat est actuellement controversé
- La recherche d'anticorps anti-thyroperoxydase contribue à la distinction entre une maladie thyroïdienne auto-immune et une NTI.

Archiv

(f) Hypothyroïdie centrale. La relation logarithmique entre les taux de TSH et T4L impose qu'en cas d'hypothyroïdie primaire, une concentration de T4L infra-normale entraîne un taux de TSH > 10 mUI/L (Fig. 1) [2.A]. Si le degré d'élévation de la TSH paraît faible au regard d'une T4L basse, on recherchera une insuffisance hypophysaire. La stratégie d'utilisation du dosage de TSH seul, en première intention, méconnaîtra un diagnostic d'hypothyroïdie centrale (19).

Recommandation 26. Thérapie substitutive par la L-Thyroxine (L-T4) de l'hypothyroïdie centrale

- Le traitement par la L-T4, d'une hypothyroïdie centrale due à une insuffisance hypophysaire ou hypothalamique, visera à amener le taux de T4L sérique dans le 1/3 supérieur de l'intervalle de référence
- Le critère d'évaluation thérapeutique du traitement d'une hypothyroïdie centrale est le dosage de T4L. Le jour de la mesure de la concentration de T4L, la prise journalière de L-T4 sera différée (pendant les 9 heures qui suivent l'ingestion de L-T4, la T4L augmente d'environ 13 % au-dessus du niveau basal).

Dans une hypothyroïdie centrale, en majorité, la concentration de TSH sera paradoxalement normale ou légèrement augmentée (29). Dans une étude de patients atteints d'hypothyroïdie centrale, 35 % présentaient des valeurs de TSH sub-normales mais 41 et 25 % avaient respectivement des valeurs inopportunément normales ou élevées (233). Il est maintenant admis que ces taux élevés paradoxaux de TSH, constatés dans les hypothyroïdies centrales, sont causés par la mesure d'isoformes de TSH biologiquement inactives sécrétées par l'hypophyse malade ou en état de stimulation insuffisante par la TRH (197). Les anticorps monoclonaux, utilisés dans les dosages actuels de TSH, ne font pas de distinction entre les isoformes de TSH à activité biologique différente en raison de divers degrés de glycosylation, spécifiquement de sialylation de la molécule de TSH. Une sécrétion normale de TRH est indispensable pour induire la sialylation physiologique de la TSH, et l'association des deux sous-unités constituant la TSH mature biologiquement active (29, 197, 234). L'activité biologique de la TSH dans l'hypothyroïdie centrale apparaît inversement corrélée au degré de sialylation de la TSH aussi bien qu'au taux circulant de T4L (29). Le test de stimulation par la TRH peut être utile lors du diagnostic d'une hypothyroïdie centrale (235). Dans de telles conditions spécifiques, les réponses typiques de TSH sont émoussées (augmentation < 2 fois la valeur basale, incrément ≤ 4 mUI/L) et peuvent être retardées (197, 204, 235, 236). De plus la réponse de la T3 à la TSH stimulée par la TRH est émoussée et correspond à l'activité biologique de la TSH (197, 237, 238).

(g) Syndromes de sécrétion inappropriée de TSH. Comme il est indiqué dans le Tableau 1, les anomalies des protéines de liaison, ou les problèmes techniques des dosages sont les

causes les plus fréquentes des discordances de la relation T4L-TSH. La dissociation apparemment paradoxale entre des taux élevés d'hormones thyroïdiennes et l'absence de suppression du taux de TSH a été dénommée « syndromes de sécrétion inappropriée de TSH ». La généralisation des dosages sensibles de TSH, capables de détecter de manière fiable les concentrations infra-normales, a permis leur identification de manière plus fréquente [3.C2].

Archived



Comme il est montré dans le Tableau 1, il est essentiel d'exclure au préalable les causes possibles de rapport TSH/T4L discordant dû, par exemple, à une interférence technique et/ou anomalie de la protéine de liaison. Ces tests de confirmation doivent être exécutés sur un nouvel échantillon en mesurant la TSH et les hormones libres et totales par une méthode différente. C'est seulement après l'élimination des causes de discordance les plus classiques qu'il faut considérer les pathologies les plus rares comme l'existence d'une tumeur de l'hypophyse sécrétant de la TSH ou celle d'un état de résistance aux hormones thyroïdiennes. Quand le profil biochimique anormal a été confirmé, la possibilité qu'une tumeur pituitaire sécrétant de la TSH soit la cause du taux paradoxal de TSH doit être éliminée avant de conserver le diagnostic de résistance aux hormones thyroïdiennes. Il faut remarquer que ces deux conditions peuvent coexister (247). Des tumeurs pituitaires sécrétant de la TSH ont des profils biochimiques similaires à ceux des résistances aux hormones thyroïdiennes ; elles peuvent en être distinguées par le dosage de la sous-unité α et l'imagerie. De plus les tests dynamiques contribuent aussi au diagnostic. Spécifiquement, une réponse de TSH à la stimulation par la TRH et une absence de freinage par la T3, sont caractéristiques dans la plupart des cas de la résistance aux hormones thyroïdiennes (245).

(i) Tumeurs pituitaires sécrétant de la TSH. Les tumeurs pituitaires qui sécrètent de la TSH sont rares. Elles représentent moins de 1 % des cas de sécrétion inappropriée de TSH (27, 28). Ces tumeurs se présentent souvent sous la forme d'un macro-adénome associé à des symptômes d'hyperthyroïdie et à un taux de TSH sérique détectable. La mise en évidence de l'adénome hypophysaire est réalisée par RMN (28).

Après avoir exclu une raison technique d'élévation paradoxale de TSH (cf. HAMA), le diagnostic de tumeur pituitaire sécrétant de la TSH est habituellement retenu sur la base :

- d'un manque de réponse de la TSH au test de stimulation par la TRH,
- d'un taux élevé de sous-unité α ,
- d'un rapport élevé sous-unité α / TSH,
- de la mise en évidence d'un adénome hypophysaire par RMN.

(ii) Résistance aux hormones thyroïdiennes. La résistance aux hormones thyroïdiennes est habituellement due à une mutation du gène du récepteur de l'hormone thyroïdienne (TR β) qui se produit 1 fois pour 50000 naissances (239–242). Bien que la présentation clinique puisse être variable, les patients présentent des profils biochimiques similaires. Spécifiquement, les concentrations de T4L et T3L sériques sont typiquement élevées (l'élévation pouvant être minime à 2–3 fois au-dessus de la norme supérieure de la normale) et sont associées à un taux de TSH dans les limites de la normale ou légèrement augmenté qui répond à la stimulation par la TRH. Cependant, il faut reconnaître que la sécrétion de TSH, n'est pas inappropriée, étant donné que la réponse du tissu à l'hormone thyroïdienne est réduite, nécessitant des taux élevés d'hormones thyroïdiennes pour maintenir un statut métabolique normal. Les patients présentant des états de résistance aux hormones thyroïdiennes ont typiquement un goitre résultant de l'hypersecretion chronique d'isoformes de TSH hybride à haut potentiel biologique (199, 244). La manifestation clinique d'un excès en hormones thyroïdiennes couvre un large spectre. Quelques patients semblent avoir un métabolisme normal avec un taux de TSH proche de la normale et le déficit apparaît comme compensé par l'augmentation des taux d'hormones thyroïdiennes (résistance généralisée aux hormones thyroïdiennes). D'autres patients apparaissent hyper-métaboliques du fait d'une résistance plus sélective de l'hypophyse (résistance pituitaire).

Les traits distinctifs de la résistance aux hormones thyroïdiennes sont la présence d'une TSH non freinée, avec une réponse appropriée à la TRH en dépit de taux d'hormones thyroïdiennes

élevées (242, 245). Bien que rare, ce diagnostic de résistance aux hormones thyroïdiennes n'est pas à méconnaître quand un patient présente des taux d'hormones thyroïdiennes élevés associés à une TSH paradoxalement normale ou élevée (242, 246). De tels malades ont souvent fait l'objet de diagnostics erronés et ont été soumis à une chirurgie thyroïdienne inappropriée ou à un traitement par l'iode radioactif (242).



3. D. Auto-anticorps anti-thyroïdiens dirigés contre la thyroperoxydase (TPOAb), la thyroglobuline (TgAb) et le récepteur de la TSH (TRAb)

Les maladies auto-immunes thyroïdiennes (AITD) provoquent des dégâts cellulaires et modifient la fonction de la glande thyroïde par des mécanismes humoraux et cellulaires. Les dégâts cellulaires se produisent quand les lymphocytes T sensibilisés et/ou les auto-anticorps se fixent aux membranes des cellules thyroïdiennes provoquant des lyses cellulaires et des réactions inflammatoires. Des modifications dans la fonction de la glande thyroïde résultent de l'action d'auto-anticorps stimulants ou bloquants sur les récepteurs de la membrane cellulaire. Trois auto-antigènes thyroïdiens principaux sont impliqués dans les AITD. Il s'agit de la thyroperoxydase (TPO), la thyroglobuline (Tg) et le récepteur de la TSH. D'autres auto-antigènes, comme le co-transporteur Na^+/I^- (NIS) ont également été décrits, mais, pour l'instant, leur rôle diagnostique dans l'auto-immunité thyroïdienne n'a pas été établi (248). Les auto-anticorps anti-récepteurs de la TSH (TRAb) sont hétérogènes et peuvent imiter l'action de la TSH et provoquer une hyperthyroïdie, comme cela est observé dans la maladie de Basedow, ou, alternativement, empêcher l'action de la TSH et provoquer une hypothyroïdie. Cette dernière se produit plus particulièrement chez le nouveau-né à cause des anticorps anti-thyroïdiens apportés par la mère. Les anticorps anti-TPO (TPOAb) ont été impliqués dans les processus de destruction tissulaire associés à l'hypothyroïdie observée dans la thyroïdite de Hashimoto et les thyroïdites atrophiques. L'apparition des TPOAb précède habituellement le développement de dysfonctionnements thyroïdiens. Quelques études suggèrent que les TPOAb peuvent être cytotoxiques pour la thyroïde (249,250). Le rôle pathologique des TgAb reste incertain. Dans les régions riches en iode, les TgAb sont principalement recherchés en complément du dosage de la Tg sérique, parce que la présence des TgAb peut perturber le dosage de la Tg [3.E6]. Dans les régions carencées en iode (la France en est une, quoique faiblement), le dosage des TgAb peut être utile pour détecter les AITD chez les patients avec un goitre nodulaire et pour le suivi d'une thérapie à base d'iode pour goitre endémique.

Les tests de laboratoire qui déterminent les aspects cellulaires du processus auto-immun ne sont pas disponibles actuellement. Cependant, des dosages de la réponse humorale, c.-à-d. des auto-anticorps anti-thyroïdiens, peuvent être effectués dans la plupart des laboratoires cliniques. Malheureusement, l'utilité diagnostique et pronostique du dosage des auto-anticorps anti-thyroïdiens est gênée par des problèmes techniques qui sont discutés plus loin. Bien que les dosages des auto-anticorps soient utiles dans certaines situations cliniques, ils devraient être employés sélectivement.

1. Signification clinique des auto-anticorps anti-thyroïdiens

Les TPOAb et/ou les TgAb sont fréquemment présents dans le sérum des patients atteints de AITD (251). Cependant, occasionnellement, ces patients ont des tests négatifs en auto-anticorps anti-thyroïdiens. Des TRAb sont présents chez la plupart des patients ayant ou ayant eu une maladie de Basedow. Pendant la grossesse, la présence de TRAb est un facteur de risque de dysfonctionnement fœtal ou néonatal à cause du passage trans-placentaire des TRAb maternels (252,253). La prévalence d'auto-anticorps anti-thyroïdiens est augmentée quand les patients souffrent d'affections auto-immunes non-thyroïdiennes comme le diabète de type 1 ou l'anémie pernicieuse (254). Le vieillissement est aussi associé à l'apparition d'auto-anticorps anti-thyroïdiens (255). La signification clinique de taux faibles d'auto-anticorps anti-thyroïdiens chez des sujets euthyroïdiens reste encore inconnue (256). Cependant, des études longitudinales suggèrent que les TPOAb peuvent être un facteur de risque pour la survenue de

dysfonctionnements thyroïdiens comme la thyroïdite du post-partum (PPT) ainsi que pour le développement de complications auto-immunes dues à l'utilisation de divers agents thérapeutiques (50,257,258). Ceux-ci incluent l'amiodarone utilisé dans les cas de maladies cardiaques, l'interféron-alpha pour l'hépatite C chronique et le lithium pour les troubles psychiatriques (75,259-262). Le dosage des auto-anticorps anti-thyroïdiens n'est généralement pas recommandé pour suivre le traitement d'une AITD (263). Ce n'est pas surprenant puisque le traitement d'une AITD s'applique à la conséquence (dysfonctionnement thyroïdien) et non à la cause (auto-immunité) de la maladie. Cependant, des changements dans les concentrations d'auto-anticorps reflètent souvent un changement dans l'activité de la maladie.

2. Nomenclature des dosages des anticorps anti-thyroïdiens

Les nomenclatures utilisées pour les auto-anticorps anti-thyroïdiens se sont multipliées, en particulier dans le cas des anticorps anti-récepteur de la TSH (LATS, TSI, TBII, TSH-R et TRAb). Les abréviations utilisées dans cette monographie, TgAb, TPOAb et TRAb sont celles qui sont recommandées internationalement. Ces abréviations correspondent aux entités moléculaires (immunoglobulines) qui reconnaissent les auto-antigènes indiqués dans les dosages de laboratoire. Des différences dans les dosages peuvent modifier la mesure de ces entités moléculaires, par exemple des dosages peuvent seulement détecter les IgG ou les IgG et les IgM ; les TPOAb ou les anticorps dirigés contre la TPO et d'autres auto-antigènes de membrane ; les TRAb inhibant la fixation de la TSH et/ou stimulant le récepteur de la TSH.

3. Spécificité des dosages des anticorps anti-thyroïdiens

L'utilisation des dosages des auto-anticorps anti-thyroïdiens a été gênée par des problèmes de spécificité. Des études montrent que les résultats varient beaucoup selon le dosage utilisé. Ceci est dû à des différences dans la sensibilité et la spécificité des dosages et à l'absence de standardisation adéquate. Ces dernières années, des études ont montré qu'au niveau moléculaire, les auto-anticorps réagissent avec leurs auto-antigènes cibles, en se liant à des sites ou épitopes « conformationnels ». Le terme « conformationnel » fait référence à l'exigence d'une structure tri-dimensionnelle spécifique pour chacun des épitopes reconnus par les auto-anticorps. En conséquence, les résultats des dosages dépendent fortement de la structure moléculaire de l'antigène utilisé dans le test. De petits changements dans la structure d'un épitope donné peuvent se traduire par une baisse ou une perte dans la reconnaissance de l'auto-antigène par les anticorps dirigés contre cet épitope. Récemment, des anticorps anti-TGPO à spécificité double qui reconnaissent à la fois la Tg et la TPO ont été mis en évidence dans le sang de patients atteints de AITD (264).

Recommandation 29. Différences de sensibilité et de spécificité dans les dosages des anticorps anti-thyroïdiens

- Reconnaître et comprendre que les résultats des dosages d'anticorps anti-thyroïdiens dépendent de la méthode de dosage utilisé.
- Les méthodes de dosages ne reconnaissent pas tous les paratopes parmi ceux qui sont présents dans les populations hétérogènes d'anticorps sériques.
- Les différences dans les dosages d'anticorps anti-thyroïdiens reflètent des différences dans les préparations d'antigènes, de récepteurs (dosages des récepteurs) ou de cellules (dosages biologiques) utilisées pour le dosage.
- Les différences dans les dosages peuvent provenir d'une contamination du réactif antigénique par d'autres auto-antigènes.
- Les différences dans les dosages peuvent provenir du principe de dosage (c.-à-d. dosage immunologique compétitif ou non compétitif) aussi bien que du système de détection utilisé.
- Les différences dans les dosages peuvent provenir de l'utilisation de standards secondaires différents.

Il est connu depuis des années que les auto-anticorps sont dirigés contre quelques épitopes contrairement aux anticorps hétérologues. Les dosages actuels diffèrent beaucoup dans la reconnaissance des épitopes. Les différences de spécificité peuvent provenir d'une mauvaise reconnaissance d'un épitope qui introduit un biais concernant la population d'auto-anticorps testée. Cela entraîne des différences très importantes de résultats, même lorsque les dosages sont standardisés selon la même préparation de référence internationale. Quel que soit l'auto-antigène visé, il est avéré que les auto-anticorps anti-thyroïdiens ne sont pas des entités moléculaires uniques mais, plutôt, des mélanges d'immunoglobulines qui ont seulement en commun leur capacité d'interagir avec la Tg, la TPO ou le récepteur de la TSH.

Les différences dans la sensibilité des dosages d'auto-anticorps peuvent venir du principe du dosage (par exemple la RIA compétitive par rapport à l'IMA à deux sites) aussi bien que la méthode physique utilisée pour la détection (par exemple un radio-isotope par rapport à la chimiluminescence). Des différences dans la spécificité peuvent se produire à la suite d'une contamination de la préparation de l'auto-antigène par d'autres auto-antigènes (par exemple des microsomes thyroïdiens par rapport à la TPO purifiée). De plus, la mauvaise reconnaissance d'un épitope peut entraîner une sous-estimation de la quantité totale d'auto-anticorps circulants présents, diminuant ainsi la sensibilité du test.

La sensibilité fonctionnelle devrait être déterminée avec des mélanges de sérums humains qui contiennent une faible concentration d'auto-anticorps. Le protocole de sensibilité fonctionnelle devrait être le même que celui décrit pour la TSH (Recommandation 20). La précision inter-essais pour les dosages de TgAb utilisés pour surveiller les patients ayant un cancer de la thyroïde avec des TgAb positifs devrait être déterminée durant une plus longue période (6 à 12 mois), selon la fréquence utilisée pour les dosages de routine clinique.

Recommandation 30. Sensibilité fonctionnelle des dosages d'anticorps anti-thyroïdiens

La sensibilité fonctionnelle des dosages d'auto-anticorps anti-thyroïdiens doit :

- être déterminée avec des mélanges sériques humains qui contiennent une faible concentration d'auto-anticorps.
- être déterminée en utilisant le protocole décrit pour la TSH (Recommandation 20) mais avec l'estimation de la précision inter-essais faite sur une période de 6 à 12 mois pour être compatible avec la fréquence des dosages cliniques.

4. Standardisation des dosages d'anticorps anti-thyroïdiens

La standardisation des dosages d'auto-anticorps anti-thyroïdiens est encore perfectible. Les préparations de référence internationales, MRC 65/93 pour les TgAb, MRC 66/387 pour les TPOAb sont disponibles auprès du *National Council for Biological Standards and Control* à Londres, Royaume-Uni (www.mrc.ac.uk). Ces préparations ont été réalisées à partir d'un mélange sérique de patients ayant une AITD et ont été préparées et lyophilisées il y a 35 ans !

Recommandation 31. Pour la standardisation des dosages d'anticorps anti-thyroïdiens par les fabricants

- Les essais devraient être standardisés avec les préparations de référence internationale MRC : MRC 65/93 pour les TgAb, MRC 66/387 pour les TPOAb et MRC 90/672 pour les TRAb.
- De nouvelles préparations de référence internationale devraient être préparées pour les TgAb et les TPOAb.
- Les standards secondaires devraient être totalement caractérisés pour éviter les biais entre dosages différents.
- Les préparations de référence ou les préparations d'antigènes recombinants devraient être utilisées lorsqu'elles sont disponibles.

Il est bien connu que les anticorps lyophilisés se dégradent avec le temps. La dégradation des anticorps a pu introduire un biais dans l'activité de liaison de ces préparations de référence par rapport à des anticorps plus stables mais d'intérêt clinique inconnu. A cause de leur quantité limitée, ces préparations ne sont utilisées que comme standards primaires pour étalonner les dosages. Les trousses de dosage commerciales contiennent des standards secondaires qui sont différents pour chaque trousse. Actuellement, l'étalonnage des dosages varie avec les conditions expérimentales et avec la préparation de l'antigène utilisé par le fabricant. Cela peut introduire un autre biais pour la détection des anticorps hétérogènes présents dans les prélèvements de patients. Dans le cas des TRAb, la préparation de référence MRC 90/672 est plus récente (1990) mais elle est utilisée actuellement par un petit nombre de fabricants.

5. Les dosages des TPOAb

La thyroperoxydase (TPO) est une hémoglycoprotéine membranaire de 110 kDa comportant un grand domaine extra-cellulaire, un domaine trans-membranaire et un domaine intra-cellulaire court. La TPO est impliquée dans la synthèse des hormones thyroïdiennes et elle se situe au pôle apical de la cellule folliculaire. Plusieurs isoformes correspondant à des épissages différentiels de l'ARN de la TPO ont été décrits. Les molécules de TPO peuvent aussi différer au niveau de leur structure tri-dimensionnelle, de leur glycosylation et de leur liaison à l'hème. La plupart des molécules de TPO n'arrivent pas à la membrane apicale et sont dégradées dans la cellule.

Les auto-anticorps anti-TPO ont été décrits initialement comme les auto-anticorps anti-microsomaux (AMA) puisqu'ils réagissaient avec des préparations brutes de membranes de cellules thyroïdiennes. L'antigène microsomal été ultérieurement identifié comme étant la TPO (265). Des dosages plus anciens d'AMA, par immunofluorescence ainsi que par agglutination passive de globules rouges tannés, sont encore utilisés en plus des nouveaux dosages immunologiques, compétitifs et non compétitifs, des TPOAb qui sont plus sensibles. Ces nouveaux dosages immunologiques remplacent actuellement l'ancien dosage par agglutination des AMA parce qu'ils sont quantitatifs, plus sensibles et peuvent être automatisés facilement. Cependant, il y a de grandes variations dans la sensibilité et la spécificité des nouveaux dosages de TPOAb. Pour partie, ces variations proviennent de différences dans les préparations de TPO utilisées dans les différentes trousses de dosage. Lorsqu'elle est extraite du tissu thyroïdien humain, la TPO peut être utilisée comme une préparation brute de membrane ou bien être purifiée par différentes méthodes. La spécificité du dosage peut également différer à cause de la contamination par d'autres antigènes thyroïdiens, particulièrement la Tg, et/ou à cause des variations dans la structure tri-dimensionnelle de la TPO. L'utilisation de TPO humaine recombinante (rhTPO) élimine le risque de contamination mais ne résout pas le problème des différences dans la structure de la TPO qui dépend de la technique utilisée pour la purifier. La plupart des dosages de TPOAb actuels sont quantifiés en unités internationales qui utilisent la préparation de référence MRC 66/387. Malheureusement, l'utilisation de ce standard primaire ne réduit pas les variations constatées entre les diverses méthodes comme le montre la grande variabilité dans les limites de sensibilité affirmées par les fabricants des différentes trousses de dosage (zone de 0.3 à 20 kUI/L) ainsi que les différences dans les limites normales de référence.

Recommandation 32. Dosages conseillés pour les TPOAb

- Des dosages immunologiques de TPOAb sensibles, spécifiques, utilisant des préparations appropriées de TPO humaine native ou recombinante très pures comme antigène, devraient remplacer les anciens tests d'agglutination peu sensibles et semi-quantitatifs des anticorps anti-microsomaux (AMA). (*Niveau du consensus 90 %*)
- La signification clinique d'une faible concentration de TPOAb exige plus d'étude.

(a) Prédominance des TPOAb & limites de référence. L'évaluation de la prédominance des TPOAb dépend de la sensibilité et de la spécificité du dosage employé. La récente étude américaine NHANES III portant sur ~17000 sujets sans maladie thyroïdienne apparente, a rapporté des taux de TPOAb détectables chez 12 % des sujets en utilisant un dosage immunologique par compétition (18). Il n'est pas établi si les taux faibles de TPOAb détectés chez des individus sains et/ou des patients avec des maladies auto-immunes non-thyroïdiennes reflètent une physiologie normale, le stade pré-clinique de AITD, ou un problème dans la spécificité du dosage.

Les valeurs normales de référence pour les dosages des TPOAb sont très variables et souvent établies arbitrairement, afin qu'une grande majorité de patients ayant une AITD soit testée positive, et la plupart des sujets sans évidences cliniques de AITD, négatifs. La limite normale inférieure paraît être en rapport avec des facteurs techniques. Plus précisément, des dosages mentionnant une limite de détection basse (< 10 kUI/L) rapportent en général des taux de TPOAb indétectables chez des sujets normaux méticuleusement sélectionnés. De telles méthodes suggèrent que la présence de TPOAb est un signe pathologique. Par contre, les dosages de TPOAb rapportant une limite de détection plus élevée (> 10kUI/L) indiquent en général une « zone normale de référence » pour les TPOAb. Comme de tels dosages paraissent n'avoir aucune amélioration de leur sensibilité de détection des AITD, ces valeurs comprises dans la « zone normale » peuvent représenter un « bruit de fond » non spécifique du dosage et être sans signification pathologique.

L'étude récente des 20 années de suivi de la cohorte Whickham a rapporté que des titres en TPOAb détectables (dosage des AMA) étaient non seulement un facteur de risque pour l'hypothyroïdie mais que des AMA détectables précédaient l'apparition d'une TSH élevée (Fig. 5) (35). Cela suggère que des TPOAb détectables sont un facteur de risque pour les AITD (Recommandation 34). Cependant, des individus avec des taux faibles en TPOAb auraient eu des AMA indétectables par les méthodes anciennes utilisées dans cette étude (35). La signification clinique des taux faibles en TPOAb qui ne sont pas détectables par les dosages par agglutination des AMA reste à établir par des études longitudinales. Donc, des individus avec des taux faibles en TPOAb et/ou en TgAb ne devraient pas être considérés comme des sujets sains jusqu'à ce que des études de suivi à long terme montrent qu'ils n'ont pas de risque accru de développer un dysfonctionnement thyroïdien.

Recommandation 33. Limites de référence pour les dosages d'anticorps anti-thyroïdiens

Les limites de référence pour les dosages d'anticorps anti-thyroïdiens devraient être établies à partir de 120 sujets « normaux », n'ayant jamais eu de maladies thyroïdiennes : la sélection des sujets devrait minimiser l'inclusion de personnes avec une prédisposition pour une maladie thyroïdienne auto-immune. Les sujets normaux devraient être :

- De sexe masculin
- Jeunes (< 30 ans)
- Avec des taux de TSH sérique entre 0,5 et 2,0 mUI/L
- Sans goitre
- Sans passé personnel ou familial de maladie thyroïdienne
- Sans maladie auto-immune non thyroïdienne (par exemple lupus ou diabète)

Les critères employés pour sélectionner des sujets pour la cohorte normale en vue d'établir une zone normale de référence pour auto-anticorps, sont essentiels. Une telle cohorte devrait être constituée de sujets de sexe masculin, jeunes et biologiquement euthyroïdiens (TSH 0,5 à 2,0 mUI/L), sans goitre et sans passé familial de AITD. Ce processus de sélection rigoureux devrait éviter d'inclure des sujets ayant une prédisposition aux AITD.

(b) Utilisations cliniques des dosages de TPOAb. Les dosages de TPOAb sont les plus sensibles pour détecter une maladie thyroïdienne auto-immune (266). Comme le montre schématiquement la Fig. 5, la présence de TPOAb est typiquement le premier caractère anormal qui survient au cours du développement d'une hypothyroïdie faisant suite à une thyroïdite auto-immune. En fait, quand les TPOAb sont mesurés par un dosage immunologique sensible, plus de 95 % des sujets ayant une thyroïdite auto-immune ont des taux de TPOAb détectables. De telles méthodes détectent également les TPOAb chez la plupart (~ 85 %) des patients ayant une maladie de Basedow (254). Les patients ayant des TPOAb détectés pendant les premiers stades de la grossesse risquent de développer une thyroïdite du post-partum (50). Les patients atteints de trisomie 21 ont un risque accru de dysfonctionnement thyroïdien dû à une AITD et le dosage annuel de la TSH et des TPOAb est important pour eux (267,268).

Des rapports récents ont suggéré que le QI d'enfants nés de mères avec une TSH augmentée et/ou des TPOAb détectables pendant la grossesse peut être affecté (63-65). Cela incite à recommander, pour toutes les femmes enceintes, le dosage de la TSH et des TPOAb dans le premier trimestre de leur grossesse [2.A3] et (Recommandation 4). Ensuite, les dosages de TPOAb peuvent être utiles dans les problèmes de stérilité puisque des taux élevés en TPOAb sont associés à un risque élevé de fausses couches et à des difficultés à concevoir par fécondation *in vitro* (269).

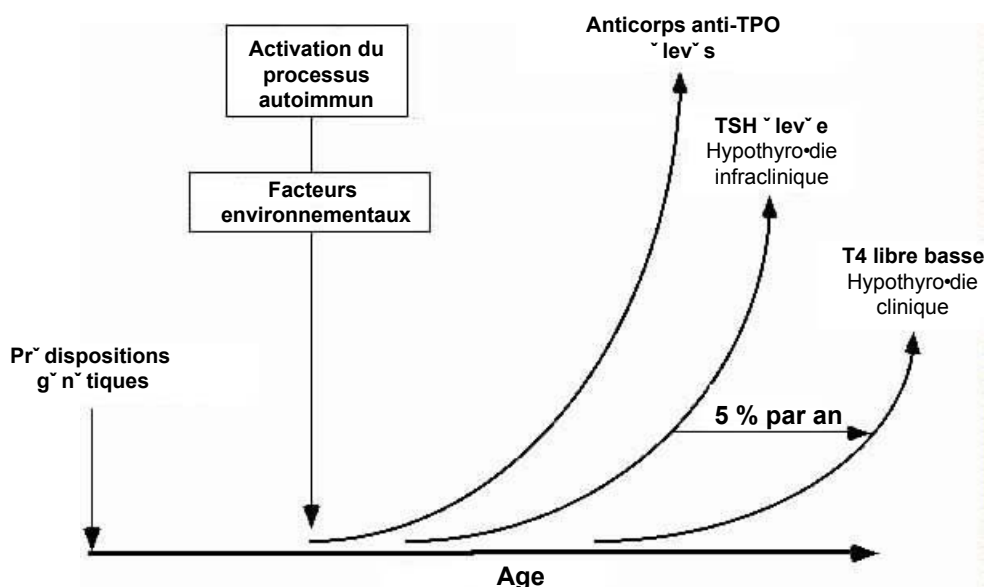


Fig. 5. Changements dans les taux de TPOAb au cours du développement d'une maladie auto-immune thyroïdienne.

Il est bien établi que la présence de TPO Ab est un facteur de risque de dysfonctionnement thyroïdien quand les patients sont traités avec le lithium, l'amiodarone, l'interleukine-2 ou l'interféron α (75,259,260,261,270). Pendant un traitement à l'interféron α , un désordre auto-immun thyroïdien préexistant ou des taux de TPOAb positifs sont des facteurs qui prédisposent au développement d'une maladie thyroïdienne au cours de la thérapie (262). Il apparaît cependant qu'il n'y a aucune augmentation de la fréquence de dysfonctionnements thyroïdiens pendant une thérapie à l'interféron β (271). La présence de TPOAb avant la thérapie indique, avec une sensibilité de 20 %, une spécificité de 95 % et une valeur prédictive de 66.6 %, qu'il y aura développement d'un dysfonctionnement thyroïdien (272).

Recommandation 34. Utilisation du dosage des TPOAb

- Pour le diagnostic de AITD
- Comme facteur de risque pour une AITD
- Comme facteur de risque d'hypothyroïdie pendant une thérapie à base d'Interféron α , d'Interleukine-2 ou de Lithium
- Comme facteur de risque pour un dysfonctionnement thyroïdien pendant une thérapie à l'amiodarone (Recommandation 5)
- Comme facteur de risque d'hypothyroïdie chez les patients atteints de trisomie 21

- Comme facteur de risque pour un dysfonctionnement thyroïdien pendant la grossesse et pour la thyroïdite du post-partum
- Comme facteur de risque pour faire une fausse-couche et pour l'échec de la fécondation *in vitro*

6. Dosage des auto-anticorps anti-thyroglobuline (TgAb)

La thyroglobuline (Tg), la pro-hormone thyroïdienne, est une glycoprotéine soluble de poids moléculaire élevé (660 kDa), composée de deux sous-unités identiques. La Tg présente un degré d'hétérogénéité élevé dû à des différences apportées par ses modifications post-traductionnelles (glycosylation, iodation, sulfatation). Pendant le processus de synthèse et de libération des hormones thyroïdiennes, la Tg est polymérisée et dégradée. Par conséquent, la structure immunologique de la Tg est extrêmement complexe. Les caractéristiques des préparations de Tg peuvent varier largement selon l'origine du tissu thyroïdien humain et le procédé de purification utilisé. C'est le premier indice expliquant pourquoi les dosages des TgAb et de la Tg [3.E2] sont si difficiles à standardiser.

(a) Dosage des TgAb. Comme pour les dosages des TPOAb, les principes de dosage des TgAb ont évolué de l'immunofluorescence sur coupes de tissu thyroïdien à des méthodes par agglutination passive de globules rouges tannés jusqu'aux plus actuels dosages immunologiques compétitifs et non compétitifs. Cette évolution technique a amélioré la sensibilité et la spécificité des dosages des TgAb sériques. Cependant, parce que les dosages plus anciens sont encore utilisés concurremment aux plus récents dans les laboratoires cliniques, la sensibilité et la spécificité des dosages disponibles peuvent varier largement selon le laboratoire. Les dosages sont étalonnés avec des préparations brutes ou purifiées de TgAb en mélangeant les sérums de patients ou des préparations d'immunoglobulines de donneurs. Ces différents standards secondaires sont souvent, mais pas toujours, étalonnés par rapport au standard primaire (MRC 65/93). Cependant, la standardisation avec le MRC 65/93 n'assure pas que des méthodes différentes soient quantitativement ou qualitativement semblables. D'autres raisons entraînant des différences entre méthodes sont en rapport avec l'hétérogénéité des TgAb eux-mêmes. L'hétérogénéité des TgAb est restreinte chez les patients ayant une AITD en comparaison à d'autres désordres thyroïdiens comme les carcinomes thyroïdiens différenciés (DTC) dans lesquels l'hétérogénéité des TgAb apparaît plus large (273). Cela reflète des différences dans l'expression des différents auto-anticorps qui, normalement, peuvent être présents à de très faibles taux chez les individus sains (274). La variabilité inter-essais des taux sériques de TgAb peut également refléter des différences qualitatives dans l'affinité et la spécificité épitopique des TgAb présents dans différents échantillons sériques de patients présentant diverses conditions thyroïdiennes et immunologiques. Une autre raison pour expliquer les différences inter-essais est l'interférence de taux élevés d'antigène circulant (Tg) dans le principe même du dosage, comme on l'observe souvent dans les cas de maladie de Basedow avec métastases de DTC (275).

Recommandation 35. Mise au point des dosages de TgAb par les fabricants

La spécificité épitopique des dosages de TgAb devrait être large et non restreinte, puisque la spécificité épitopique des TgAb de patients positifs en TgAb ayant un DTC peut être plus étendue que celle de patients ayant une AITD.

(b) Prédominance & limites de référence pour les TgAb. Comme pour les anticorps anti-TPO, la prédominance et les valeurs limites normales pour les TgAb dépendent de la sensibilité et la spécificité des dosages (276). L'étude NHANES III a rapporté une prévalence des TgAb, mesurés par un dosage immunologique par compétition, de ~ 10 % dans la population générale, (18). La prédominance des TgAb apparaît deux fois plus élevée que la normale pour les patients ayant un DTC (~ 20 %) (276). Comme pour les TPOAb, la signification clinique de taux faibles en TgAb qui seraient indétectables par les anciennes méthodes par agglutination reste à préciser. Il a été suggéré que des taux faibles puissent représenter des anticorps « naturels » chez les individus normaux ou une réponse anticorps « nettoyante » faisant suite à la libération d'antigène lors d'une chirurgie thyroïdienne ou d'une thérapie à l'iode radioactif. Par ailleurs, des taux faibles peuvent indiquer une AITD silencieuse sous-jacente (256). Divers dosages de TgAb rapportent des valeurs limites normales différentes, comme on l'a vu pour les TPOAb [3.D5 (a)]. En particulier, quelques dosages de TgAb rapportent que les sujets normaux devraient avoir des valeurs en dessous de la limite de détection du dosage, d'autres dosages mentionnent une « zone normale ». Quand le dosage des TgAb est utilisé en complément du dosage de la Tg sérique, la signification des taux faibles de TgAb se rapporte moins à leur valeur physiopathologique qu'à leur capacité d'interférer dans le dosage de la Tg sérique.

Recommandation 36. Dosage des TgAb dans les conditions non néoplasiques

- Dans les régions avec un apport suffisant en iode, il n'est pas toujours nécessaire ou rentable de prescrire à la fois le dosage des TPOAb et des TgAb, parce que les patients négatifs en TPOAb avec des TgAb détectables présentent rarement un dysfonctionnement thyroïdien.
- Dans les régions pauvres en iode, le dosage des TgAb sériques peut être utile pour détecter une AITD quand les patients ont un goitre nodulaire.
- Pour suivre une thérapie à base d'iode dans les cas de goitres endémiques.

(c) Sensibilité et précision des dosages de TgAb. Les dosages quantitatifs sensibles de TgAb constituent un test complémentaire essentiel au dosage de la Tg sérique. Les dosages qualitatifs par agglutination ne sont pas suffisamment sensibles pour détecter les

concentrations basses de TgAb qui peuvent interférer avec le dosage de la Tg sérique (276). Comme pour les dosages des TPOAb [3.D5 (a)], les valeurs absolues rapportées par différents dosages immunologiques des TgAb sont très variables, ce qui empêche d'utiliser des dosages de fabricants différents pour l'étude en série de patients ayant un DTC. Il y a deux types de dosage immunologiques pour les TgAb. Le premier est caractérisé par des limites de détection basses (< 10 kUI/L) et une limite normale de référence indétectable. De tels dosages suggèrent que la présence de TgAb est un signe pathologique. L'autre type de dosage rapporte des limites de détection plus élevées (> 10 kUI/L) et mentionne une « zone normale de référence » pour les TgAb. Il est probable que les valeurs de cette « zone normale » détectable représentent simplement un « bruit de fond » non spécifique du dosage dû à la faible sensibilité du test ou à des problèmes de spécificité puisque ces valeurs faibles de « zone normale » n'interfèrent pas avec les mesures de la Tg sérique [3.E6].

(d) Utilisations cliniques du dosage des TgAb. L'utilité clinique du dosage des TgAb pour attester de la présence d'une auto-immunité thyroïdienne est débattue. L'étude américaine NHANES III a rapporté que 3 % des sujets sans facteurs de risque pour maladies thyroïdiennes avaient des TgAb détectables sans la présence associée de TPOAb (18). Comme cette cohorte n'avait aucune augmentation de TSH associée, les dosages des TgAb ne paraissent pas être un test diagnostique utile pour les AITD dans les régions riches en iode (256,279). Cependant, dans les régions pauvres en iode, les TgAb sont utiles pour détecter une AITD, surtout dans les cas de patients ayant un goitre nodulaire. Les dosages des TgAb sont aussi utiles pour suivre la thérapie à base d'iode pour goitre endémique, puisque les molécules de Tg iodées sont plus immunogéniques.

Recommandation 37. Dosage des TgAb dans les cancers thyroïdiens différenciés (DTC)

La concentration en TgAb devrait être mesurée POUR CHAQUE SERUM DE PATIENT avant le dosage de la Tg parce que des taux faibles en TgAb peuvent interférer dans les dosages de la Tg sérique provoquant soit des valeurs faussement basses ou indétectables, soit des valeurs élevées selon le type de dosage de la Tg utilisé.

- Les TgAb devraient être mesurés dans chaque échantillon sérique envoyé au laboratoire pour le dosage de la Tg.
- Des mesures en série de TgAb devraient être faites sur tous les patients positifs en TgAb ayant un DTC en utilisant la même trousse de dosage parce que l'évolution du taux de TgAb a une signification pronostique pour le suivi d'une réponse à un traitement pour DTC.
- Les dosages pour TgAb devraient être immuno-métriques et non par agglutination, parce que des taux faibles en TgAb peuvent interférer avec les mesures de Tg sériques dans la plupart des dosages, et les dosages en série doivent être quantitatifs et non qualitatifs.

- Le test de récupération de la Tg sérique ne détecte pas de manière fiable la présence de TgAb et devrait être déconseillé comme méthode pour détecter les TgAb (Recommandation 46).
- Avant de changer le dosage des TgAb, le laboratoire devrait en informer les cliniciens demandeurs et évaluer le rapport entre les valeurs obtenues par l'ancien et le nouveau dosage. Le taux de la Tg sérique des patients devraient être re-évalué si la différence entre les deux méthodes a un CV > 10% .

Le dosage des TgAb sériques est utilisé, au départ, comme un test complémentaire quand le dosage de la Tg sérique est demandé. L'utilité clinique du dosage des TgAb sériques chez des patients ayant un DTC est double. En premier, un dépistage sensible et spécifique des TgAb sériques chez ces patients cancéreux est nécessaire, parce que même de faibles concentrations d'anticorps peuvent interférer avec les mesures de la Tg dans la plupart des dosages [3.E6] (275,276). En second, les dosages en série de TgAb peuvent servir comme test de substitution pour la détection de tumeurs chez les patients positifs en TgAb dont la mesure de la Tg peut être peu fiable (276). Plus précisément, les patients positifs en TgAb qui sont guéris deviennent, la plupart du temps, négatifs en TgAb dans l'espace de 1 à 4 ans (276,277,278). Par contre, les patients qui ont une affection persistante après traitement gardent des concentrations de TgAb détectables. En fait, une augmentation du taux de TgAb est souvent la première indication de récurrence chez de tels patients (276).

7. Auto-anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb)

Le récepteur de la TSH est un membre de la « superfamille » des récepteurs à sept domaines trans-membranaires liés aux protéines G. Le gène de 60kb du récepteur de la TSH, localisé sur le bras long du chromosome 14q31, a été cloné et séquencé (272). Les exons 1 à 9 codent pour le domaine extra-cellulaire du récepteur (397 acides aminés) et l'exon 10 code pour la région trans-membranaire (206 acides aminés). L'activation des protéines G par le complexe hormone-récepteur entraîne la stimulation de la production de cAMP par l'adénylate-cyclase et le renouvellement de l'inositol phosphate par les phospholipases (280). La mutagenèse dirigée a montré que la structure tridimensionnelle du récepteur est importante pour l'interaction avec la TSH et/ou les TRAb. Il y a trois grands types de TRAb qui sont dosés soit par dosage biologique, soit par dosage des récepteurs (Tableau 6). Les dosages d'immunoglobulines anti-récepteur ou inhibitrices de la fixation de la TSH (TBII) ne mesurent pas directement l'activité biologique, mais évaluent si l'échantillon contient des immunoglobulines qui peuvent bloquer in vitro la liaison de la TSH à une préparation de récepteurs. Les anticorps stimulant le récepteur de la TSH (TSAb) paraissent lier la portion N-terminale du domaine extra-cellulaire du récepteur et imitent les actions de la TSH en induisant la transduction du signal post-récepteur et la stimulation de la cellule. Par contre, la région C-terminale du récepteur de la TSH est plus importante pour les anticorps qui bloquent le récepteur (TBAb ou TSBAb) ce qui empêche la stimulation par les TSAb ou la TSH et provoque l'hypothyroïdie (281). Les immunoglobulines stimulant la croissance de la thyroïde (TGI) sont moins bien caractérisées.

Aujourd'hui, nous savons que le manque de corrélation entre les taux de TRAb et le statut clinique des patients est, pour une grande part, dû à l'hétérogénéité des TRAb circulants. Le fait que des TRAb différents peuvent coexister chez un patient donné et changer avec le temps explique pourquoi il a été difficile de développer des dosages de TRAb d'une grande fiabilité diagnostique (282,283). En effet, le diagnostic clinique des patients atteints de la maladie de Basedow ayant des TSAb et des TBAb/TSBAb dépendra vraisemblablement de la concentration relative et de l'affinité des anticorps prédominants. Le passage des TRAb stimulants aux TRAb bloquants peut expliquer la rémission spontanée de la maladie de Basedow pendant la grossesse aussi bien que l'induction d'une hypothyroïdie transitoire par l'iode radioactif (281,284). Il est important de noter que les dosages biologiques qui utilisent des préparations cellulaires pour mesurer les effets biologiques des TRAb (stimulation, inhibition de l'activité de la TSH ou de la croissance cellulaire) peuvent détecter des changements fonctionnels dans l'hétérogénéité des TRAb. Par contre, les dosages des anticorps anti-récepteurs, ou des immunoglobulines inhibitrices de la fixation de la TSH (TBII) qui sont utilisés par beaucoup de laboratoires cliniques mesurent simplement la capacité d'un sérum ou d'une préparation d'IgG à bloquer la liaison d'une préparation de TSH à son récepteur et ne mesure pas la réponse biologique (Tableau 6). Cette différence fondamentale dans le principe du dosage explique pourquoi les dosages biologiques et ceux du récepteur affichent habituellement une corrélation faible ($r = 0,31 - 0,65$) (283,285).

(a) Dosage des TRAb. Le premier article sur la présence d'un stimulateur thyroïdien qui différait de la TSH par sa demi-vie plus longue (LATS) a été publié en 1956, utilisant un dosage biologique *in vivo* (286). Le LATS a été identifié ultérieurement comme étant une immunoglobuline. Comme la TSH, les TRAb stimulent à la fois les voies du cAMP et de l'inositol phosphate de la cellule folliculaire thyroïdienne, et donc stimulent et bloquent à la fois la synthèse des hormones thyroïdiennes et la croissance de la glande (283).

Les types de dosages développés pour tester les TRAb sont classés en fonction de leur activité fonctionnelle, comme cela est indiqué dans le Tableau 6. Des études sur des souris et sur des lignées cellulaires FRTL-5, de même que sur des êtres humains, montrent qu'une forte concentration de gonadotrophine chorionique humaine (hCG) est aussi un agoniste faible des TRAb et peut stimuler le AMPc, le transport de l'iodure, et la croissance cellulaire (56). Les fortes augmentations de l'hCG suite à un choriocarcinome peuvent, dans des cas rares, induire un résultat positif en TRAb erroné. Cependant, l'augmentation de l'hCG, courante lors d'une grossesse normale ou chez des patients traités pour une môle hydatiforme, n'est généralement pas suffisamment élevée pour provoquer un faux résultat positif.

(b) Dosages biologiques (TSAb, TBAb/TSBAb et TGI). La plupart des dosages biologiques actuels sont basés sur l'activation par le récepteur de la TSH de la production du deuxième messager (AMPc) à partir d'une préparation cellulaire (FRTL-5/CHO TSH-R) exposée à un échantillon sérique ou une préparation d'IgG (287-289). Le clonage récent du récepteur de la TSH a été bénéfique aux dosages biologiques en facilitant le développement de lignées cellulaires transfectées par le récepteur de la TSH (290,291). Bien que ces dosages biologiques soient disponibles dans plusieurs laboratoires commerciaux aux États-Unis et en Asie, ils le sont moins en Europe à cause des règlements qui interdisent l'usage d'organismes génétiquement modifiés. Malheureusement, la corrélation entre les résultats des dosages de TRAb et le diagnostic clinique est encore faible. Par exemple, la sensibilité diagnostique pour la maladie de Basedow qui utilise le dosage biologique des TRAb s'étend de 62,5 à 81 % (283). Les nouvelles approches qui emploient des dosages utilisant des molécules chimériques peuvent être capables de cibler les emplacements d'épitopes de TRAb et les sites de liaison de

la TSH et donc fournir une meilleure corrélation entre réponse du dosage et diagnostic clinique (281,284,292-294).

Tableau 6. Dosages des anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb).

Anticorps	Fonction	Méthode de détection
TSAb anticorps stimulant la thyroïde	Stimulent la production de AMPc, la capture de l'iodure, la synthèse de la thyroglobuline	dosage biologique cellulaire (FRTL-5/CHO TSH-R) % de la stimulation de la synthèse de AMPc par la TSH comparée à des mélanges de sérums normaux.
TBAb/ TSBAb anticorps bloquant le récepteur de la TSH	Inhibent la production de AMPc induit par la TSH, la capture de l'iodure, la synthèse de la thyroglobuline	dosage biologique cellulaire (le même que précédemment) % d'inhibition de la synthèse de AMPc par la TSH comparée à des mélanges de sérums normaux.
TGI anticorps stimulant la croissance de la thyroïde	Stimulent la croissance cellulaire thyroïdienne	Cellules FRTL-5 incorporation de thymidine tritiée- dosage d'arrêt mitotique
TBII Immunoglobulines qui inhibent la fixation de la TSH à la thyroïde	Inhibent la fixation de la ¹²⁵ I-TSH à son récepteur	dosage des anticorps anti-TSH-R porcin, soluble ou anti-TSH-R humain, recombinant

(c) Dosage des anticorps anti-récepteur de la TSH (TBII). Les dosages des immunoglobulines qui inhibent la liaison de la TSH à la thyroïde (TBII) sont commercialement disponibles et sont utilisés par beaucoup de laboratoires cliniques. Ces dosages mesurent l'inhibition de la fixation de la TSH marquée à l'iode 125 soit aux récepteurs porcins solubilisés ou, plus récemment, aux récepteurs de la TSH humaine recombinante (295-297). Ce type de dosage ne fait pas la distinction entre stimulation et blocage par les TRAb. L'activité TBII est mesurée, en général, à partir d'un sérum positif en TRAb étaloné lui-même à partir d'un sérum standard de référence. Le sérum standard le plus fréquemment utilisé a été le sérum de référence MRC, LATS-B. Un standard OMS (MRC 90/672) est devenu disponible récemment. L'hétérogénéité inhérente des TRAb dans le sérum de patients et la source de récepteurs utilisés (porcin ou humain recombinant) sont des causes possibles de la grande variabilité observée entre les dosages de TBII, en dépit de l'utilisation du même standard (283,298). Bien que les dosages de TBII utilisant le récepteur de la TSH humaine recombinante sont maintenant disponibles et peuvent avoir une plus grande sensibilité diagnostique pour la maladie de Basedow, ils ne paraissent pas offrir une spécificité ou une sensibilité améliorée pour pronostiquer une réponse à une thérapie médicamenteuse anti-thyroïdienne (ATD) (297,299).

Recommandation 38. Dosage des anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb)

Les dosages des TRAb en laboratoire clinique sont soit :

- Des dosages de l'inhibition de la fixation de la TSH à son récepteur (TBII) qui ne mesurent pas directement une activité de stimulation mais détectent des immunoglobulines dans l'échantillon sérique qui bloquent *in vitro* la fixation d'une préparation de TSH marquée à une préparation de récepteur de la TSH. Ces dosages de TRAb sont les plus communément utilisés dans les laboratoires cliniques.
- Des dosages biologiques d'anticorps anti-récepteur de la TSH (TSAb) utilisant des cellules (cellules FRTL-5 ou, plus récemment, cellules CHO transfectées avec le récepteur de la TSH humaine) pour détecter les immunoglobulines qui stimulent la thyroïde (TSAb) en augmentant soit le AMPc, soit la capture de l'iode. Ces épreuves ne sont pas disponibles de manière courante dans tous les pays.
- En général, il y a une faible corrélation entre les résultats de TSAb et de TBII (60-75 %). Les dosages de TSAb affichent une positivité de 80 à 100 % et ceux de TBII une positivité de 70 à 90 % pour les patients ayant une hyperthyroïdie de Basedow non traitée. Aucun des tests n'a une grande spécificité ou sensibilité pour pronostiquer la rémission de l'hyperthyroïdie de Basedow.
- La production normale ou anormale de hCG par un choriocarcinome est connue pour interagir avec le dosage des anticorps anti-récepteur de la TSH ce qui pourrait entraîner de faux résultats positifs. Cela peut être observé dans de rares cas de choriocarcinomes mais pas pendant une grossesse normale ou une môle hydatiforme traitée dans lesquelles le niveau d'hCG n'est pas assez élevé pour provoquer un faux résultat positif.

(d) Limites de référence pour les TRAb. En dépit de l'adoption d'une nouvelle préparation de référence internationale MRC 90/672, les valeurs de TRAb sont encore dépendantes du dosage employé et les limites de référence varient selon la sélection de la population « normale » utilisée pour déterminer le niveau seuil pour un résultat positif. Ce seuil est généralement défini comme valant deux déviations standard de la valeur moyenne des sujets normaux.

8. Utilisations cliniques des dosages des TRAb

L'utilisation clinique des dosages des TRAb pour le diagnostic et le suivi des AITD reste matière à controverse et diffère fortement d'un pays à l'autre.

(a) Hyperthyroïdie. Le diagnostic différentiel de l'hyperthyroïdie peut être établi chez la plupart des patients sans avoir recours au dosage des TRAb. Néanmoins, la présence de TRAb peut distinguer la maladie de Basedow des thyrotoxicoses factices et autres manifestations d'hyperthyroïdie comme la thyroïdite subaiguë ou celle du post-partum et le goitre nodulaire toxique.

Recommandation 39. Utilisations cliniques des dosages des TRAb

- Explorer l'étiologie de l'hyperthyroïdie quand le diagnostic clinique n'est pas évident.
- Une concentration en TRAb déclinante pendant une thérapie médicamenteuse anti-thyroïdienne au long cours suggère une rémission. Cependant les mesures de TRAb peuvent être erronées chez 25 % de ces patients.
- Les dosages de TRAb sont utiles pour diagnostiquer des patients atteints de la maladie de Basedow et pour mettre en relation les taux de TRAb avec un algorithme de traitement.
- Évaluer des patients suspectés « d'ophtalmopathie par euthyroïdie basedowienne ». Cependant, des TRAb indétectables n'excluent pas cette pathologie.
- Bien que les dosages des TSAb présentent des avantages théoriques, quelques-uns croient que les dosages des TBII qui détectent les anticorps stimulants (TSAb) et les rares cas d'anticorps bloquants (TBAb/TSBAb) sont d'une utilité égale.
- Pour les femmes enceintes ayant ou ayant eu une maladie de Basedow. Il est à noter que les femmes enceintes euthyroïdiennes, après avoir reçu un traitement médicamenteux anti-thyroïdien pour la maladie de Basedow antérieurement à leur grossesse, présentent un risque négligeable pour développer une hyperthyroïdie du fœtus ou du nouveau-né.
- Les femmes enceintes euthyroïdiennes (avec ou sans traitement par la L-T4) qui ont eu un traitement à l'iode radioactif pour la maladie de Basedow antérieurement à leur grossesse devraient avoir un dosage des TRAb aussi bien au début de leur grossesse où une valeur élevée est un facteur de risque d'hyperthyroïdie pour le fœtus (2-10%), que pendant le troisième trimestre de leur grossesse afin d'évaluer le risque d'hyperthyroïdie pour le nouveau-né.
- Les femmes enceintes qui prennent des médicaments anti-thyroïdiens (ATD) pour la maladie de Basedow afin de maintenir un état euthyroïdien pendant la grossesse devraient

avoir un dosage de TRAb pendant le troisième trimestre de leur grossesse. Une valeur de TBII élevée devrait inciter à une évaluation clinique et biochimique du nouveau-né pour hyperthyroïdie, aussi bien à la naissance (sang du cordon) que 4 à 7 jours après, lorsque que les effets du passage trans-placentaire d'ATD ont été perdus.

- L'estimation du risque de dysfonctionnement thyroïdien pour le fœtus et le nouveau-né nécessite la détection de TRAb bloquants ou stimulants quand les mères n'ont plus leur thyroïde intacte après une thérapie antérieure pour l'hyperthyroïdie de Basedow.
- Identifier les nouveau-nés avec une hypothyroïdie transitoire due à la présence d'anticorps bloquant le récepteur de la TSH.

(b) Pronostic de l'évolution de la maladie de Basedow traitée. Les dosages de TRAb ont aussi été proposés comme un moyen d'anticiper l'évolution de la maladie de Basedow. Un taux de TRAb déclinant est souvent constaté chez des patients hyperthyroïdiens en rémission clinique après un traitement médicamenteux anti-thyroïdien (ATD). Après l'arrêt de l'ATD, des taux de TRAb très élevés correspondent très bien à une rechute rapide, mais cette situation concerne très peu de patients. Par contre, un bon nombre de patients avec des taux de TRAb indétectables ou bas rechuteront. Une méta-analyse du rapport entre le taux de TRAb et le risque de rechute a montré que 25 % des patients sont « classés » de manière erronée par les dosages de TRAb (263). Cela suggère qu'après une thérapie par ATD, un suivi des patients est nécessaire quels que soient les taux de TRAb au moment de l'arrêt de l'ATD et que le dosage des TRAb n'est pas rentable dans ce cas (263).

(c) Femmes enceintes et nouveaux-nés. Il existe un consensus général pour que les mesures de TRAb puissent être utilisées pour pronostiquer des dysfonctionnements thyroïdiens du fœtus et/ou du nouveau-né chez les femmes enceintes ayant eu une ATD précédemment à leur grossesse (8,252). Des taux élevés de TRAb chez la mère pendant le troisième trimestre de sa grossesse suggèrent un risque de dysfonctionnement thyroïdien chez sa progéniture (8,282). De 2 à 10% de femmes enceintes avec des taux de TRAb très élevés mettent au monde des nouveau-nés hyperthyroïdiens (8). Le risque d'hyperthyroïdie pour le nouveau-né est négligeable après un traitement efficace de l'hyperthyroïdie par médicaments anti-thyroïdiens (ATD), mais elle peut se développer après un traitement à l'iode radioactif si les taux de TRAb restent élevés (8). Les femmes enceintes euthyroïdiennes (avec ou sans traitement par la L-T4) qui ont subi antérieurement une thérapie à l'iode radioactif pour la maladie de Basedow doivent avoir un dosage de TRAb :

- au début de leur grossesse, où une valeur élevée est un facteur du risque considérable pour une hyperthyroïdie du fœtus.
- pendant le troisième trimestre de leur grossesse afin d'évaluer le risque d'hyperthyroïdie pour le nouveau-né (8).

Les femmes enceintes qui prennent des ATD pour une maladie de Basedow devraient avoir un dosage des TRAb pendant le troisième trimestre de leur grossesse. Des taux de TRAb élevés chez de tels patients devrait inciter à une évaluation clinique et biochimique complète du nouveau-né pour hyperthyroïdie, aussi bien à la naissance (sang du cordon) que 4 à 7 jours après, lorsque les effets du passage transplacentaire des ATD ont disparu (300). Il est à noter que les dosages des TBII sont souvent utilisés dans ce but puisqu'ils détectent les anticorps stimulants (TSAb) et, dans de rares cas, les anticorps bloquants (TBAbs/TSBAb) qui provoquent une hypothyroïdie transitoire chez 1 sur 180000 nouveau-nés (301). Il est aussi

recommandé de mesurer les anticorps stimulants et inhibiteurs car l'expression du dysfonctionnement thyroïdien chez la mère peut être différente de celle de l'enfant (253).

(d) Exophtalmie. Le rôle des TRAb dans l'association de l'exophtalmopathie (TAO) à la thyroïde est incertain (302). La TAO paraît être exacerbée par une thérapie à l'iode radioactif (303). En outre, les taux de TRAb et d'autres anticorps anti-thyroïdiens augmentent de manière significative après une thérapie à l'iode radioactif (304-306). Cela suggère que les mesures de TRAb avant la thérapie à l'iode radioactif peuvent être utiles pour pronostiquer le risque de TAO mais, à ce jour, il n'y a pas d'études prospectives pour documenter cette observation.

9. Directions futures

Il est important qu'une étude comparative bien structurée des dosages d'auto-anticorps anti-thyroïdiens commercialement disponibles soit menée. Cela fournirait des évidences irréfutables que des différences existent dans la performance des dosages actuels (296). Cela aiderait aussi à convaincre les scientifiques des laboratoires cliniques d'éviter d'utiliser des dosages qui ont une faible performance clinique et à encourager les fabricants à améliorer leurs produits ou à les retirer du marché.

Recommandation 40. Les améliorations nécessaires dans les dosages des anticorps anti-thyroïdiens

- Les dosages des auto-anticorps anti-thyroïdiens actuels devraient être soumis à une étude comparative de leurs performances analytiques et cliniques.
- Une étude comparative des préparations d'antigènes actuellement utilisées faciliterait l'identification du (des) dosage (s) d'auto-anticorps anti-thyroïdiens convenant le mieux pour une utilisation clinique.
- Les caractéristiques des préparations d'antigènes utilisées dans les dosages devraient être précisées pour tous les dosages d'auto-anticorps anti-thyroïdiens.
- Des préparations d'antigènes de référence devraient être rendues disponibles.

Recommandation 41. Pour les fabricants développant des dosages d'anticorps anti-thyroïdiens

- Des méthodes absolues ou « standards de référence » restent un objectif pour le futur.
- La notice de la trousse de dosage devrait documenter les méthodes utilisées pour produire les réactifs antigéniques, le principe du dosage et toutes les conditions expérimentales qui ont trait aux interactions antigène - anticorps.

- La spécificité des standards secondaires devrait être sélectionnée par rapport aux interactions entre les auto-anticorps dans le sérum des patients et leur antigène spécifique.
- Les dosages immunologiques des TPOAb et des TgAb devraient être testés pour l'effet crochet en utilisant ~20 échantillons avec des concentrations d'anticorps > 1000 kUI/L et ~20 échantillons avec des taux au-dessus de 10000 kUI/L.
- Les dosages des TgAb devraient être testés pour les effets dus à une forte présence d'antigène (Tg) en leur confrontant une gamme de sérums contenant une concentration faible en TgAb avec des taux de Tg compris entre > 10000 et > 100000 µg/L (ng/mL).

Archived

3. E. La thyroglobuline (Tg)

La thyroglobuline (Tg), protéine précurseur de la synthèse des hormones thyroïdiennes est détectable dans le sérum de la plupart des individus normaux en utilisant une méthode sensible. Le niveau de Tg sérique intègre trois facteurs majeurs : (i) la masse de tissu thyroïdien différencié présente ; (ii) toute inflammation ou atteinte de la glande thyroïde qui provoque la libération de Tg ; et (iii) le degré de la stimulation du récepteur de TSH (par TSH, hCG ou TRAb). Une concentration sérique élevée de Tg est un indicateur non-spécifique de dysfonctionnement thyroïdien. La plupart des malades avec une Tg sérique élevée ont des maladies thyroïdiennes bénignes. L'usage principal de la mesure de la Tg sérique est celui de marqueur tumoral pour les malades qui ont présenté un cancer thyroïdien différencié (CTD). Environ 2/3 de ces malades ont un niveau de Tg sérique pré-opératoire élevé qui confirme la capacité de la tumeur à sécréter de la Tg, et qui valide l'usage de la mesure de la Tg sérique comme marqueur post-opératoire de la tumeur (307). Au contraire, quand la concentration pré-opératoire de Tg sérique n'est pas élevée au-dessus de la normale, il n'y a aucune preuve que la tumeur soit capable de sécréter de la Tg, et la valeur d'une Tg sérique post-opératoire indétectable est moins rassurante. Chez de tels malades une Tg sérique post-opératoire détectable pourrait représenter un volume tumoral résiduel important. En général, les changements post-opératoires des taux de Tg sérique représentent des modifications de la masse tumorale, à condition que le niveau de la TSH soit maintenu constant avec le traitement de L-T4.

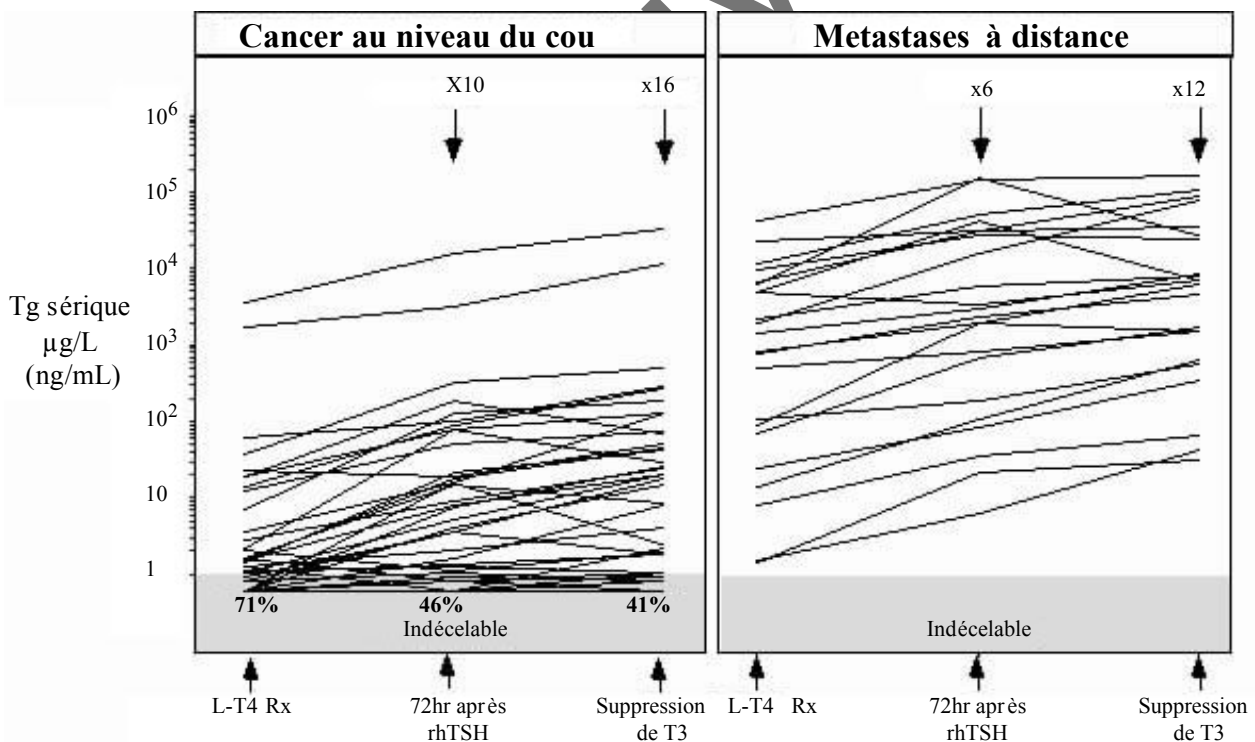


Figure 6. Réponses de la Tg sérique après administration de rhTSH ou arrêt de la T3 (308).

Une Tg sérique mesurée pendant la stimulation de la TSH (TSH endogène ou TSH recombinante humaine, rhTSH) est plus sensible pour détecter un cancer thyroïdien différencié (CTD) résiduel ou métastatique qu'une mesure basale de la Tg faite pendant le traitement par L-T4 (Fig. 6) (308). Le degré d'augmentation de la Tg sérique en réponse à la TSH fournit une indication de la sensibilité de la tumeur à la TSH. Les tumeurs bien différenciées montrent typiquement une augmentation de la Tg sérique de 10 fois le taux de base en réponse à une TSH élevée (309). Les tumeurs faiblement différenciées qui ne concentrent pas l'iodure peuvent afficher une réponse faible à la stimulation par TSH (310).

1. Situation actuelle des méthodes de dosage de la Tg

La thyroglobuline est habituellement mesurée dans le sérum, mais le dosage peut aussi être effectué dans les liquides d'un kyste thyroïdien et les tissus obtenus par cytoponction de nodules thyroïdiens à l'aiguille fine (311). La mesure de la Tg dans le sérum est un défi technique. Actuellement, les méthodes immuno-métriques (IMA) gagnent en popularité sur les méthodes de dosage radio-immunologiques (RIA). C'est parce que les méthodes IMA offrent l'avantage pratique d'un temps d'incubation plus court, une gamme de valeurs mesurées plus étendue et un anticorps marqué réactif plus stable, moins fragile que ceux employés en RIA (312). Les laboratoires peuvent maintenant choisir entre des méthodes isotopiques (immuno-radiométrique, IRMAs) et non isotopiques (surtout chimiluminescence, ICMA). Cependant, les méthodes IMA sont plus sujettes à interférence en cas d'auto-anticorps anti-thyroglobuline (TgAb) positifs, ce qui conduit à une sous-estimation des niveaux de la Tg sérique. Cela a incité certains laboratoires à choisir des méthodes RIA pour mesurer la Tg sérique chez les malades ayant des anticorps anti-Tg positifs et à limiter l'usage de méthodes IMA aux seuls malades sans anticorps anti-Tg. Cependant, aucune méthode ne peut prétendre être totalement libre d'interférences en présence d'anticorps anti-Tg qui peuvent provoquer une sur-estimation comme une sous-estimation des valeurs de Tg mesurées. À côté des problèmes créés par les interférences dues aux anticorps anti-Tg, les méthodes actuelles de dosage de Tg sont aussi handicapées par des différences dans la standardisation et la spécificité. De plus, elles font généralement preuve d'une sensibilité et d'une reproductibilité insuffisante et manifestent un effet « crochet » en cas de valeurs élevées de Tg (312).

(a) Standardisation. Les concentrations de Tg sériques mesurées par les méthodes RIA ou IMA, varient largement (312,313). Un effort de collaboration récent parrainé par le Bureau de Référence de la Commission de la Communauté Européenne a développé une nouvelle préparation de référence internationale de Tg, la CRM-457 (298,314). Cet étalon peut être obtenu auprès du Dr. Christos Profilis, BCR, Rue de la Loi 200, B 1049 Bruxelles, Belgique. Les biais entre les différentes méthodes de mesure de la Tg peuvent résulter de différences entre la matrice libre de Tg utilisée pour diluer les étalons et le sérum de patient, ou de différences dans la reconnaissance de l'épitope par les différents anticorps anti-Tg utilisés par chaque fabricant. Idéalement, les solvants utilisés pour les étalons devraient être du sérum humain libre de Tg /anticorps anti-Tg ou une matrice non-sérique sélectionnée pour produire un signal (coups radioactifs, unités légères relatives, etc...) identique à celui d'un sérum humain libre de Tg/anticorps anti-Tg. Il est essentiel que les médecins soient informés avant que le laboratoire ne change sa méthode de mesure de la Tg pour permettre la redéfinition des valeurs de base des malades ayant un CTD.

Recommandation 42. Pour les fabricants développant des méthodes de dosage de la Tg

- Le diluant utilisé pour les étalons devrait idéalement être du sérum humain libre de Tg et d'anticorps anti-Tg. Les matrices non-sériques devraient être sélectionnées pour produire un signal (coups radioactifs, unités légères relatives, etc...) identique à celui de sérum humain libre de Tg et d'anticorps anti-Tg pour éviter des biais en rapport avec la matrice.

L'adoption généralisée de la norme CRM-457 a été envisagée pour réduire, mais pas éliminer, la variabilité considérable inter méthode qui existe avec ces techniques. Il a été espéré qu'une standardisation mondiale permettrait un meilleur accord dans la littérature d'études différentes aussi bien qu'une amélioration de l'usage clinique de la surveillance répétée de la Tg de malades ayant un CTD qui quelquefois ont des mesures de la Tg sérique effectuées par des laboratoires différents. Malheureusement, l'usage de la nouvelle norme CRM-457 n'a pas éliminé les problèmes de variabilité entre méthodes autant qu'il avait été initialement espéré. Actuellement, les niveaux de Tg sérique déterminés par des méthodes qui utilisent la norme CRM-457 peuvent différer de 1 à 4 (Fig. 7). Ces différences de méthode à méthode sont plus importantes que l'objectif d'imprécision maximale autorisé pour surveiller des malades à titre individuel (Tableau 5). Cela n'autorise pas l'interchangeabilité des méthodes pour mesurer la Tg lorsque l'on suit l'évolution de malades avec cancer de la thyroïde.

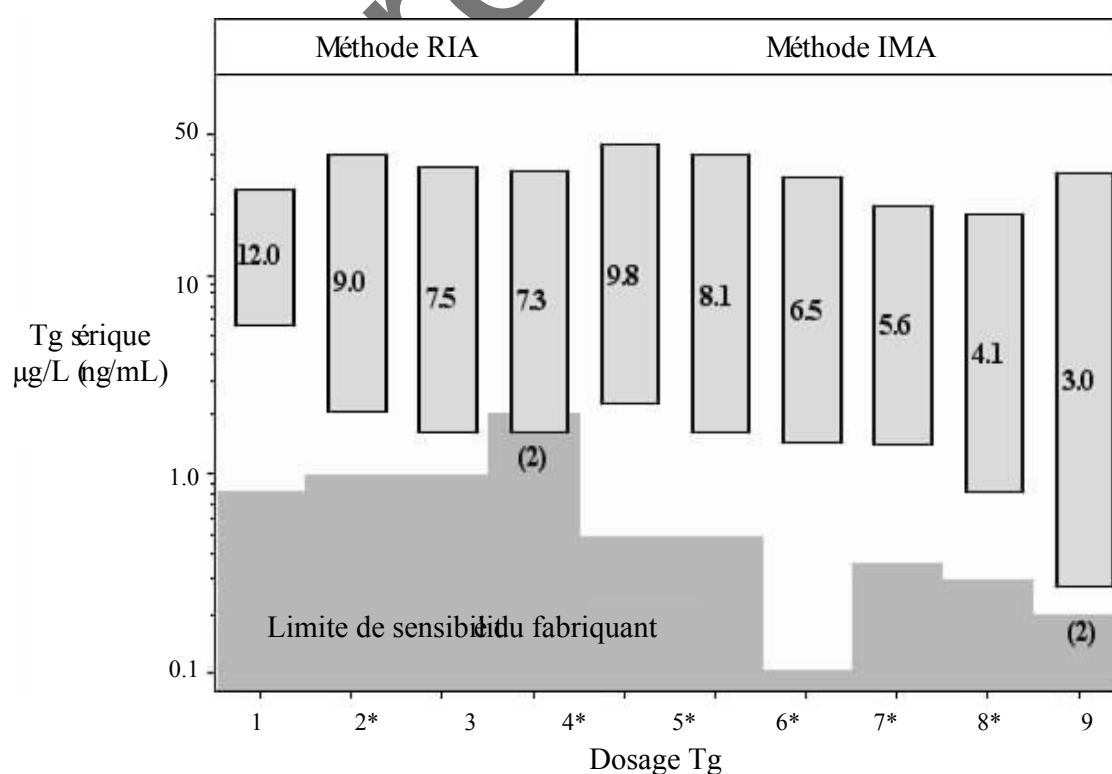


Figure 7. Moyenne $\pm$ 2 écart-types pour mesurer la Tg de 20 sérums normaux sans anticorps anti-Tg par 10 méthodes différentes de dosage de Tg: Méthode 1: Laboratoires des Systèmes Diagnostiques, Webster, TX, USA ; Méthode 2: University of Southern California RIA, Los Angeles, CA, USA ; Méthode 3: Kronus RIA, Boise ID, USA ; Méthode 4: Endocrine Sciences RIA, Calabasas, CA, USA; Méthode 5: Nichols Institute Diagnostics ICMA, San Juan Capistrano, CA, USA ; Méthode 6: Endocrine Sciences ICMA, Calabasas, CA, USA Tarzana, CA, USA ; Méthode 7: Sanofi Pasteur IRMA, Marnes La Coquette, France ; Méthode 8: Kronus OptiQuant IRMA, Boise ID, USA ; Méthode 9: Brahms DynoTest TgS IRMA, Berlin, Allemagne ; Méthode 10: Produits Diagnostic Immulite ICMA, Los Angeles, CA, USA. Un astérisque indique que l'épreuve utilise la norme CRM-457.

(b) Sensibilité. Quelques méthodes pour mesurer la Tg manquent de la sensibilité nécessaire pour détecter la limite inférieure de référence de sujets euthyroïdiens qui est de l'ordre de 1-3 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL) (selon la méthode de dosage). Les méthodes qui sont incapables de détecter la Tg dans des sérums normaux sont habituellement trop peu sensibles pour permettre de dépister une récurrence chez des malades ayant un CTD. Comme avec la TSH, la sensibilité de la méthode pour mesurer la Tg est déterminée par un CV inter-essai de 20 % [3.C2]. Le protocole utilisé pour déterminer la sensibilité de la méthode pour la Tg est le même que celui décrit pour la TSH (Recommandation 20) avec les trois conseils décrits dans la Recommandation 44.

Recommandation 43. Pour les laboratoires envisageant le changement de leur méthode de dosage de la Tg

Sélectionnez une méthode de dosage de la Tg d'après ses caractéristiques de performance et pas pour son coût ou par opportunité. Avant de changer de méthode pour mesurer la Tg, le laboratoire devrait consulter les cliniciens utilisateurs et comparer les résultats entre les deux méthodes, l'ancienne et celle proposée en utilisant des échantillons de patients sans et avec anticorps anti-Tg.

- Pour les patients sans anticorps anti-Tg : si les différences entre les deux méthodes (l'ancienne et la nouvelle) sont $> 10\%$, les cliniciens doivent en être informés et avoir un temps suffisant pour redéfinir les taux de base pour les patients.
- Pour les malades ayant des anticorps anti-Tg positifs : le laboratoire doit prévenir les cliniciens sur le sens de la variation la plus probable du fait de la présence d'anticorps anti-Tg (augmentation ou diminution des valeurs mesurées)
- Si les valeurs de Tg sérique étaient rapportées pour des échantillons ayant des anticorps anti-Tg, un commentaire d'avertissement approprié devrait être présent sur chaque rapport de laboratoire :

POUR LES METHODES IMA :

- Les méthodes IMA peuvent donner des niveaux de Tg sérique improprement bas / sous-estimés en présence d'anticorps anti-Tg. Des résultats de Tg sérique indétectable ne peuvent pas être utilisés pour certifier l'absence de tumeur chez un malade TgAb positif. Un niveau de Tg détectable indique que la Tg est présente, mais les concentrations peuvent être sous-estimées.

POUR LES METHODES RIA :

- Les méthodes RIA peuvent donner des valeurs de Tg sérique improprement élevées ou abaissées (selon la méthode) en présence de TgAb. Les résultats de Tg sérique détectable ne devraient pas être utilisés comme seul facteur pour affirmer la présence de tissu thyroïdien résiduel ou de tissu tumoral.

(c) Précision. Les précisions intra- et inter-essais exprimées en pourcentage de coefficient de variation (% CV) sont des paramètres importants pour valider la performance d'une méthode mesurant la Tg. La précision devrait être établie en utilisant un pool de sérums sans anticorps anti-Tg avec une cible de valeurs de la Tg à trois niveaux différents (Recommandation 44). La précision intra-essai pour les méthodes utilisant un immuno-essai, comme attendu, est meilleure que celle inter-essai. Ceci est dû au fait que les mesures faites dans une seule série ne sont pas soumises à la variabilité introduite en utilisant des lots de réactifs et de gammes d'étalonnage différents. La précision intra-série pourrait être le paramètre le plus pertinent pour évaluer la réponse de la Tg sérique à la stimulation par rhTSH (308). Dans ce cadre, des échantillons de base et après stimulation par rhTSH sont prélevés à 3 à 5 jours d'intervalle et

mesurés dans la même série (Fig. 6) (308,309). A l'opposé, lorsqu'on utilise la mesure de la Tg pour une surveillance régulière, plus l'intervalle entre les différents dosages successifs est important, plus la variabilité sera grande et pire sera la précision inter-séries. Les matrices non humaines utilisées pour déterminer des valeurs mesurées faibles peuvent produire des limites de sensibilité irréalistes, comparées avec les dosages effectués avec un sérum humain dépourvu d'anticorps anti-Tg. Il est important d'établir la sensibilité et la précision inter-essais de prélèvements qui couvrent une période de 6 à 12 mois, car il s'agit là de l'intervalle clinique typique utilisé pour suivre des malades avec CTD.

L'objectif proposé pour l'imprécision maximale des mesures de Tg sérique pour surveiller les malades devrait être $< 5\%$ (Tableau 5). Il est improbable que les méthodes de mesure actuelles de la Tg puissent obtenir une telle précision sur la période habituelle de 6 à 12 mois utilisée pour surveiller des malades avec CTD. Ce problème de la précision peut être résolu en mesurant des échantillons du malade, conservés congelés dans la même série de dosages que le spécimen actuel (9).

Recommandation 44. Sensibilité & précision inter-essais des méthodes pour mesurer la Tg

La sensibilité et la précision inter-essais devraient être établies en utilisant le même protocole que pour la TSH (Recommandation 20) avec trois recommandations importantes :

- Utiliser des pools de sérum humain qui ne contiennent aucun anticorps anti-Tg, état déterminé par un immuno-essai suffisamment sensible.
- Les valeurs-cibles sont recommandées pour des étalons sériques de valeur faible, moyenne et élevée :

-Etalon faible: (utilisé pour déterminer la sensibilité) il devrait avoir une valeur de Tg sérique qui soit de 30 à 50% plus élevée que la limite de la sensibilité attendue (FS). [Si FS = 1,0 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL) le seuil de sensibilité pour une valeur faible devrait être 1,3 à 1,5 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL)]

-Etalon moyen: $\sim 10 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) c.-à-d. près de la valeur moyenne de la normale.

-Etalon pour valeur élevée: $\sim 90 \%$ de la limite supérieure suggérée par le fabricant.

- La période d'évaluation pour la précision inter-essais devrait être d'au moins 6 mois. C'est plus représentatif de l'intervalle clinique utilisé pour surveiller les malades avec CTD que les 6-8 semaines d'intervalle recommandé dans la Recommandation 20 concernant la TSH.

(d) Effet « crochet » pour les valeurs élevées. Un effet « crochet » pour les valeurs élevées affecte essentiellement les méthodes IMA. Des valeurs faussement basses dues à un « effet crochet » sont particulièrement problématiques pour les marqueurs tumoraux tel la Tg, parce qu'il n'est pas exceptionnel de rencontrer de très hautes valeurs quand les malades ont une maladie métastatique avancée (307,310,315). Un effet « crochet » se produit quand une quantité excessive d'antigène dépasse la capacité de liaison de l'anticorps. Cela résulte en un signal faussement bas qui se traduit par un résultat improprement abaissé ou paradoxalement normal bas pour un malade ayant une concentration de Tg sérique excessivement élevée ($> 1000 \mu\text{g/L}$ (ng/mL)) (312). Les fabricants de méthodes IMA essaient de surmonter le problème de l'effet crochet par deux approches :

- mesure « en deux étapes ». Le prélèvement de sérum est mis en réaction avec l'anticorps de capture avant que les composants non liés soient éliminés par lavage et l'anticorps marqué est alors introduit, suivi par une deuxième incubation.
- deux dilutions (habituellement non dilué et au 1/10) sont faites pour chaque prélèvement.

Un effet « crochet » est suspecté lorsque le tube de dilution a un résultat plus élevé que le prélèvement non dilué. Des dilutions complémentaires sont faites jusqu'à ce que le résultat de la dilution dans le tube baisse et que les concentrations de Tg sérique des deux dilutions soient en accord.

Recommandation 45. Mesures à prendre en cas d' » effet crochet »

- Une manipulation en deux étapes est recommandée pour minimiser les effets crochets. Les essais à une étape qui sont plus enclins à des effets crochets devraient mesurer chaque échantillon avec deux dilutions (non dilué et 1:10) pour rechercher une incohérence entre les deux résultats.
- Tout essai (à une ou deux étapes) devrait être validé pour un effet crochet avant diffusion par le fabricant.
- Pour vérifier la présence d'un effet crochet, mesurer successivement 10 fois des dilutions de ~ 20 échantillons différents dépourvus d'anticorps anti-Tg avec des concentrations de Tg sérique au-dessus de $10000 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) et de ~ 20 échantillons différents sans anticorps anti-Tg avec des valeurs de Tg sérique au-dessus de $100000 \mu\text{g/L}$ jusqu'à ce que le parallélisme soit démontré.

(e) Interférence d'auto-anticorps anti-thyroglobuline (TgAb). Les auto-anticorps anti-thyroglobuline (TgAb) sont détectés dans un pourcentage plus élevé de malades avec CTD que dans la population générale (~ 20 % contre ~ 10 %, respectivement) (276). Les mesures répétées de TgAb sérique peuvent être un indicateur de pronostic indépendant de l'efficacité du traitement, ou de récurrence de CTD chez les malades TgAb-positifs (276-278,316). Tout anticorps anti-Tg présent dans l'échantillon peut potentiellement perturber toute méthode de mesure de la Tg (317,318). Du fait de l'hétérogénéité des anticorps anti-Tg, ni la concentration de TgAb mesurée, ni une épreuve exogène de récupération de la Tg n'est fiable à 100% pour prédire si les anticorps anti-Tg présents dans un prélèvement provoqueront une interférence (276,317,318). Probablement la preuve la plus fiable de l'existence d'une interférence par TgAb est la présence d'une discordance des résultats mesurés par RIA/IMA. Plus précisément, la Tg mesurée par RIA est typiquement plus élevée que la Tg mesurée par IMA si l'échantillon contient des anticorps anti-Tg provoquant une interférence (276,309). Il y a maintenant un consensus pour dire que les épreuves de récupération de la Tg sont une approche peu fiable pour détecter la présence d'anticorps anti-Tg et qu'elles devraient être abandonnées (276,318). Des études antérieures qui ont rapporté une récupération faible en l'absence de TgAb dans quelques sérums ont été prises en défaut par l'insensibilité des méthodes anciennes de mesure des anticorps anti-Tg. Quand un immuno-essai sensible est utilisé, la présence d'anticorps anti-Tg est toujours détectée quand la récupération est faible.

Les méthodes par dosages immuno-métriques non-compétitifs (IMA) paraissent être plus enclins à subir des interférences par la présence d'anticorps anti-Tg que les méthodes par RIA, avec comme preuve la mise en évidence de valeurs de Tg indétectable chez des patients atteints de la maladie de Basedow (319,318). Il apparaît que ces IMAs n'arrivent pas à effectuer la mesure de la Tg qui forme, dans quelques cas, un complexe avec les anticorps anti-Tg et cela peut résulter en une sous-estimation de la concentration de Tg totale. A l'opposé, les méthodes par RIA paraissent capables de mesurer les fragments de Tg libre et de Tg liée aux anticorps anti-Tg dans l'échantillon et de fournir typiquement des valeurs plus élevées que les méthodes par IMA en présence de TgAb (276,309). La sensibilité et la spécificité de différents essais pour mesurer les anticorps anti-Tg sont très variables [3.D6(b)]. Il est essentiel que la mesure des anticorps anti-Tg soit faite par le laboratoire qui réalise la mesure de la Tg parce que ce laboratoire a la responsabilité du choix de la méthode de mesure des anticorps anti-Tg la plus adaptée pour détecter une interférence des TgAb avec les méthodes qu'il utilise pour mesurer la Tg.

Quand le sérum qui contient l'anticorps anti-Tg est dosé par les deux méthodes, RIA et IMA, une discordance RIA/IMA (Tg RIA ~ 2 µg/L (ng/mL) ; Tg IMA indétectable] est fréquemment observée. Cette discordance paraît caractériser l'interférence de l'anticorps anti-Tg avec l'une ou les deux méthodes. Comme le seuil actuel pour une valeur positive de la Tg stimulée par rhTSH est de 2 µg/L (ng/mL), ce degré de discordance a la capacité d'influer sur la prise de décision clinique (308). Quelques-uns croient que les mesures par RIA produisent des résultats de Tg sérique cliniquement plus exacts pour les malades TgAb positifs que les dosages par IMA, en s'appuyant sur les corrélations entre l'état clinique et les dosages successifs de TgAb (276,320). Cependant, l'accent devrait être mis sur le fait qu'aucune méthode par RIA n'est à l'abri d'une interférence des TgAb dans tous les sérums contenant des anticorps anti-Tg et que l'influence des TgAb sur les différentes méthodes par RIA est assez variable et est en rapport avec les composants de l'essai et les conditions d'incubation. Plus particulièrement, la qualité du traceur ¹²⁵I-Tg avec la spécificité du réactif de l'anticorps polyclonal anti-Tg détermine la propension de la méthode à être sujette à interférence pour les anticorps anti-Tg (275,321,322).

Recommandation 46. Interférences créées par les anticorps anti-Tg et épreuves de récupération

- Les tests de récupération ne détectent pas les anticorps anti-Tg de manière fiable et devraient être déconseillés et supprimés. Des études antérieures ont montré que des taux faibles de récupération observés en l'absence d'anticorps anti-Tg ont été faussés par l'insensibilité des méthodes anciennes de mesure des anticorps anti-Tg. Quand les tests immunologiques sensibles sont utilisées, les anticorps anti-Tg peuvent toujours être détectés quand le test de récupération est faible.
- Des discordances entre tests IMA et RIA pour la détection d'échantillons avec anticorps anti-Tg positifs suggèrent une interférence liée à la présence de TgAb (si les valeurs observées sont strictement concordantes pour les échantillons ne contenant pas d'anticorps).
- Les laboratoires ne devraient pas donner des résultats de Tg sérique indétectables pour les malades TgAb positifs si la méthode donne des valeurs de Tg sérique faussement basses ou indétectables pour les malades avec CTD documenté et évolutif qui ont des anticorps anti-Tg.

Bien qu'aucune méthode actuelle pour mesurer la Tg ne soit garantie indemne d'interférence en cas d'anticorps anti-Tg circulants, la sous-estimation des concentrations de Tg sérique, typique des interférences liées aux anticorps avec la méthodologie IMA, est le signe le plus probable d'interférence, car la sous-estimation peut masquer la maladie métastatique. Il s'en suit que les laboratoires ne devraient pas donner des résultats de Tg sérique indétectable pour les malades ayant des anticorps circulants positifs si la méthode utilisée donne des valeurs de Tg sérique faussement basses ou indétectables chez les malades avec CTD documenté et évolutif.

Recommandation 47. Pour les fabricants et les laboratoires

Les encarts décrivant les méthodes pour mesurer la Tg devraient donner des caractéristiques de résultats réalistes pour la méthode (c.-à-d. des résultats qui puissent être reproduits à travers un ensemble de laboratoires de biologie clinique).

- Les essais devraient être standardisés par rapport à la préparation de référence CRM-457. Les essais non standardisés devraient fournir un facteur de correction.
- Le niveau moyen de la Tg et les 2 déviations standards de la valeur de référence pour des sujets euthyroïdiens normaux sans anticorps anti-Tg (établis en utilisant la Recommandation 48) devrait être cité dans toutes les publications pour permettre une comparaison de valeurs absolues.
- Les essais qui ne peuvent pas détecter la Tg dans tous les sérums normaux ont une sensibilité insuffisante pour surveiller des malades avec CTD.
- La matrice utilisée pour diluer les étalons devrait être vérifiée pour la recherche de biais d'analyse (Recommandation 42).
- La sensibilité et la précision intra- et inter-essais devraient être établies en utilisant les protocoles décrits dans la Recommandation 44.
- L'interférence liée à la présence d'anticorps anti-Tg devrait être évaluée en vérifiant l'existence de discordances RIA/IMA dans les sérums TgAb positif [niveaux de TgAb 100 à > 1000 kUI/L (UI/mL)].
- Les mesures par immuno-dosage des TgAb et non les études de récupération de Tg exogène devraient être utilisées pour détecter une interférence par TgAb (Recommandation 46).
- Les valeurs de Tg sérique pour les échantillons TgAb positifs ne devraient pas être publiées si la méthode donne des valeurs faussement indétectables chez des malades ayant des CTD documentés et évolutifs.

2. Méthodes de mesure de Tg utilisant l'ARNm

La valeur clinique de mesure de l'ARNm de la Tg dans le sang périphérique doit encore être démontrée. Avant qu'il soit possible d'utiliser les tests mesurant l'ARNm de la Tg pour

faciliter la prise de décision thérapeutique en cas des CTD, les questions concernant la sensibilité et la spécificité tissulaire de l'ARNm de la Tg dans le sang périphérique ont besoin d'être résolues (323-325).

L'amplification par la réaction en chaîne de la polymérase-transcriptase inverse (RT-PCR) spécifique de tissu a été utilisée pour détecter des cellules cancéreuses circulantes dans le sang périphérique de malades avec mélanome, cancers de la prostate ou du sein (326-328). La disponibilité d'amorces spécifiques pour la Tg permet maintenant l'utilisation de cette technique pour la mise en évidence de transcrits d'ARNm de la Tg dans le sang. L'usage de RT-PCR pour détecter un cancer de la thyroïde récidivant a été rapporté pour la première fois en 1996 (329). Par la suite, la technique a été appliquée aux métastases ganglionnaires cervicales et a été trouvée plus sensible que la mesure de la Tg dans le liquide de cytoponction (330).

Plusieurs groupes ont maintenant développé des méthodes quantitatives par RT-PCR pour détecter des transcrits d'ARNm de la Tg dans le sang (323-325,331-333)). Ces études, généralement, trouvent des taux d'ARNm pour la Tg détectables chez tous les sujets normaux mais avec une faible corrélation avec la Tg sérique mesurée par immuno-essai (331,332). La corrélation entre le taux d'ARNm de Tg et la masse tumorale est également variable. Quelques études ont rapporté que la quantité d'ARNm de Tg est corrélée avec la présence ou l'absence de métastases alors que d'autres ne rapportent pas une telle corrélation (324,331,333). Ces contradictions reflètent certainement des différences dans la sensibilité et la spécificité des amorces de la Tg et des systèmes RT-PCR utilisés, des différences dans la sensibilité des techniques d'imagerie et des immuno-essais pour mesurer la Tg utilisés ainsi que des différences dans les taux de TSH du malade. Les problèmes de spécificité (faux positifs) sont une limitation reconnue de la méthodologie RT-PCR (328,334). Des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si les niveaux d'ARNm de la Tg détectables rapportés chez des malades thyroïdectomisés sans métastases connues reflètent une maladie cliniquement occulte, des artefacts des méthodes employées ou des produits de transcription illégitimes.

La corrélation entre les résultats de mesure de l'ARNm de la Tg et la récurrence clinique, surtout chez des malades ayant des ARNm de la Tg - positifs et des niveaux de Tg sérique indétectables, devrait être démontrée avant que les tests pour la mesure de l'ARNm de la Tg soient largement utilisés en pratique clinique. Comme la mesure de l'ARNm de la Tg est plus chère qu'une mesure de la Tg sérique, il est probable que si l'utilité clinique des dosages des ARNm de la Tg est démontrée, ces tests seront réservés pour les malades à haut risque ou ceux qui présentent des anticorps anti-Tg positifs chez lesquels la mesure de la Tg sérique est non fiable pour le diagnostic.

3. Valeurs de référence pour la Tg sérique

(a) Sujets euthyroïdiens normaux. Les concentrations de Tg sérique sont distribuées selon un mode log-linéaire chez les individus euthyroïdiens. Les valeurs ont tendance à être légèrement plus élevées chez les femmes, mais des valeurs de référence en fonction du sexe sont inutiles (335). Le tabagisme est un facteur associé avec un goitre et des valeurs de Tg sérique plus élevées (336). Les valeurs de référence de la Tg varient selon les zones géographiques, puisque la Tg sérique est influencée par la richesse en iode l'importance de son captage thyroïdien (337,338). La sélection de sujets pour établir les normes de référence de la Tg devrait comporter les critères d'exclusion suivants :

- Goitre
- Tabagisme

- Antécédents personnels ou familiaux de maladies thyroïdiennes
- Présence d'auto-anticorps anti-thyroïdiens (anti-Tg et/ou anti-TPO)
- TSH sérique < 0,5 mUI/L ou > 2,0 mUI/L

Recommandation 48. Intervalles de référence normaux pour la Tg sérique

- Les normes de référence pour la Tg devraient être déterminées localement parce que les concentrations de Tg sérique sont influencées par les apports iodés:

-Pays avec apport d'iode adéquat : l'intervalle de référence pour la Tg sérique pour une population de sujets euthyroïdiens sans anticorps anti-Tg qui utilise la norme CRM-457 est environ de 3 à 40 µg/L (ng/mL).

-Pays avec carence en iode : la valeur moyenne de la Tg pour la population et la limite de référence supérieure de la Tg peuvent être augmentées en rapport avec le degré de la carence en iode.

- Les laboratoires devraient valider leurs normes pour la Tg indépendamment du fabricant.
- Les normes de référence pour la Tg devraient être établies après transformation logarithmique à partir des valeurs de 120 sujets normaux, non-fumeurs, euthyroïdiens (TSH 0,5 à 2,0 mUI/L) âgés de moins de 40 ans sans passé personnel ou familial de maladie thyroïdienne et sans anticorps anti-Tg ou anti-TPO.
- Il est trompeur de citer la norme de sujets euthyroïdiens normaux quand on utilise des valeurs de Tg sérique chez des patients avec CTD ayant subi une thyroïdectomie. Les valeurs de référence devraient être en rapport avec les limites de référence de l'euthyroïdie pour la méthode utilisée, la masse thyroïdienne et le taux de la TSH.

Par exemple, les normes ci-dessous seraient appropriées pour une méthode de dosage de la Tg avec une norme de référence en euthyroïdie de 3-40 µg/L (ng/mL) :

Tg µg/L (ng/ml)	condition
3–40	intégrité thyroïdienne (TSH 0,4-4,0 mUI/L)
1,5–20	intégrité thyroïdienne (TSH < 0,1 mUI/L)
< 10	lobectomie thyroïdienne (TSH < 0,1 mUI/L)
< 2	thyroïdectomie quasi-totale (TSH < 0,1 mUI/L)

(b) Valeurs de la Tg sérique après chirurgie thyroïdienne. Comme indiqué dans la Recommandation 48, l'intervalle de référence pour la Tg indiqué sur les rapports de laboratoire ne s'applique pas aux malades qui ont subi une chirurgie thyroïdienne. Dans les premières semaines après l'opération, la Tg sérique sera déterminée par l'étendue de l'intervention chirurgicale, le degré de fuite de Tg fonction du geste chirurgical, et de façon plus importante du taux d'hormone thyroïdienne si un traitement a été administré pour prévenir la montée attendue de la TSH. En fait, la concentration de TSH sérique est un modulateur tellement puissant du niveau de la Tg sérique qu'il est habituellement nécessaire de connaître le taux de la TSH du malade avant de préciser la signification de toute mesure de la Tg sérique.

Dans les premières semaines suivant la thyroïdectomie, les concentrations de Tg sérique chutent habituellement avec une demi-vie d'environ 2-4 jours, quand l'administration d'hormone thyroïdienne prévient l'élévation de la TSH (340,341). Dans ce cadre, le rapport entre les valeurs de Tg sérique préopératoires et postopératoires à 6-8 semaines peut fournir des renseignements qui pourraient influencer le plan du traitement. Pendant une prise en charge à long terme, les concentrations de Tg sérique mesurées avec et sans traitement par L-T4 (TSH, respectivement, basse et élevée) fournissent différents renseignements. Le mode de changement des valeurs de la Tg sérique (sous traitement par L-T4) est un meilleur indicateur d'une modification de masse tumorale que toute autre valeur de la Tg sérique (122). La concentration de Tg sérique avec le traitement par L-T4 est un indicateur de masse tumorale plus stable qu'une Tg sérique mesurée quand la TSH est élevée (arrêt de L-T4 ou administration de rhTSH) avant un contrôle scintigraphique. C'est parce que l'importance de l'élévation de la Tg sérique stimulée par la TSH est influencée par l'ampleur et la chronicité de l'élévation de la TSH, laquelle peut varier de contrôle en contrôle. Cependant, (Fig. 6), parce que la TSH stimule habituellement la Tg sérique plus de cinq fois, les mesures de la Tg sérique stimulée par la TSH sont plus sensibles pour détecter l'extension cervicale de la maladie par rapport aux niveaux de Tg mesurés pendant le freinage de la TSH (308,309). L'importance de la réponse de la Tg sérique stimulée par la TSH fournit un repère de la sensibilité de la tumeur à la TSH. Les tumeurs métastatiques faiblement différenciées, qui sont « non fixantes » à la scintigraphie en IRA, ont des réponses de la Tg sérique stimulée par la TSH plus faibles (moins de trois fois) (310).

4. Usages cliniques des mesures de la Tg sérique

La concentration de Tg sérique dépend de la masse de tissu, une atteinte thyroïdienne et la stimulation par le récepteur de TSH (122). Il s'en suit qu'une Tg sérique élevée est une constatation non spécifique associée avec virtuellement toute pathologie thyroïdienne.

(a) Conditions non néoplasiques . La Tg sérique est élevée quand les malades ont un goitre ou dans la plupart des conditions d'hyperthyroïdie. Une concentration basse de la Tg sérique peut être un paramètre utile pour reconnaître le diagnostic de thyrotoxicose factice, ou l'athyréose comme étiologie d'une hypothyroïdie congénitale (342,343).

Les mesures de la Tg sérique sont aussi quelquefois utiles pour confirmer un antécédent de thyroïdite dans lequel la concentration de Tg sérique est en principe le dernier paramètre biochimique à se normaliser (jusqu'à 2 ans) (344). Des études récentes proposent l'utilisation de la mesure de la Tg sérique pour refléter le statut iodé dans une population donnée (337,338).

Recommandation 49. Mesure de la Tg sérique dans des situations non-néoplasiques

Des concentrations de Tg sérique anormalement élevées résultent d'anomalies de la masse thyroïdienne, d'une stimulation thyroïdienne excessive, ou d'un dommage physique subi par la thyroïde suite à une chirurgie, une cytoponction ou une thyroïdite. Les dosages de Tg sérique sont utiles :

- Pour diagnostiquer une thyrotoxicose factice qui est caractérisée par une non élévation de la Tg sérique.
- Pour explorer l'étiologie d'une hypothyroïdie congénitale détectée lors d'un dépistage néonatal.
- Pour évaluer l'activité d'une thyroïdite inflammatoire, p. ex. : thyroïdite subaiguë ou thyroïdite due à l'amiodarone.

(b) Carcinomes thyroïdiens différenciés (CTD). Dans le cadre des CTD, la concentration de Tg sérique reflète la masse thyroïdienne (tumorale ou résiduelle), une atteinte thyroïdienne (chirurgie ou cytoponction) et la stimulation des récepteurs de TSH (TSH endogène ou rhTSH) (122). Comme le niveau de TSH est un régulateur majeur des concentrations de Tg sérique, il est difficile d'interpréter les valeurs de Tg sérique sans connaître la situation de la TSH du malade. Bien qu'il n'y ait aucune « référence normale de la Tg » pour les malades avec CTD traités, le rapport normal entre masse de la thyroïde et Tg sérique fournit un point de référence important. Spécifiquement, un gramme de tissu thyroïdien normal libère $\sim 1 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) de Tg dans la circulation quand la TSH sérique est normale et $\sim 0,5 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) quand la TSH sérique est freinée en dessous de 0,1 mUI/L.

(i) Tg sérique pré-opératoire. Certaines tumeurs thyroïdiennes n'ont pas la capacité de sécréter de la thyroglobuline. Une valeur de Tg sérique préopératoire élevée est constatée chez 2/3 de malades avec CTD, ce qui indique que ces tumeurs ont la capacité de sécréter de la Tg et par déduction, le suivi de la Tg sérique en postopératoire pourra être utilisé chez ces malades en surveillance clinique (307). Cette information est la clé pour l'interprétation des résultats postopératoires de Tg sérique. Si le niveau de Tg sérique préopératoire est dans des limites de la normale, une valeur postopératoire indétectable de la Tg sérique est moins rassurante parce qu'il n'est pas évident que la tumeur sécrétait au début de la Tg. La sensibilité d'un suivi de la Tg sérique postopératoire pour détecter une récurrence sera maximale avec une tumeur relativement petite ($\sim 2 \text{ cm}$ de diamètre) et une valeur préopératoire de la Tg sérique élevée. (Note: les échantillons préopératoires devraient être prélevés avant cytoponction, et tenus disponibles en attendant le diagnostic cytologique, ou peuvent être prélevés plus de 3 semaines après la cytoponction.)

(ii) Mesure de la Tg sérique 1-2 mois après chirurgie thyroïdienne. Après la chirurgie thyroïdienne, les concentrations de Tg sérique chutent rapidement avec une demi-vie de ~ 2-4 jours (340). Toute libération de Tg à la suite du geste chirurgical devrait, pour une grande part, se résorber dans la période des deux premiers mois après chirurgie. Pendant ce temps, la TSH sera le facteur régulateur dominant de la Tg sérique. Si un traitement par hormone thyroïdienne est commencé immédiatement après la chirurgie pour prévenir l'élévation de la TSH, la concentration de Tg sérique diminuera à un niveau qui reflète la dimension du reste du tissu thyroïdien normal associé à tout tissu tumoral résiduel ou métastatique. Comme le résidu thyroïdien, après thyroïdectomie quasi totale, est habituellement d'environ 2 grammes de tissu, une concentration de Tg sérique $< 2 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) est attendue quand le malade a subi une thyroïdectomie quasi totale satisfaisante et a une TSH sérique maintenue en dessous de 0,1 mUI/L.

(iii) Dosage de la Tg sérique dans le cadre d'une surveillance à long terme d'un traitement par L-T4. Quand le niveau de la TSH est stable pendant un traitement par L-T4, tout changement dans le niveau de Tg sérique reflétera un changement dans la masse tumorale. Une récurrence clinique de tumeurs jugées « faiblement sécrétrices de Tg » (plage de valeurs normale de Tg pré-opératoire) peut s'accompagner de valeurs de Tg sérique post-opératoires basses ou indétectables. A l'opposé, une récurrence de tumeurs considérées comme « fortement sécrétrices de Tg » (valeurs de Tg sérique pré-opératoire élevées) est habituellement associée avec une élévation progressive de la Tg sérique (122). La surveillance répétée du dosage de Tg sérique, effectuée quand le malade a une TSH stable, est cliniquement plus utile qu'une valeur isolée de Tg. Cependant, il est possible d'interpréter un dosage de Tg isolé en connaissant la valeur de référence normale du dosage de Tg, l'étendue de la chirurgie thyroïdienne pratiquée et le niveau de la TSH sérique (en état stable), comme le montre la Fig. 8.

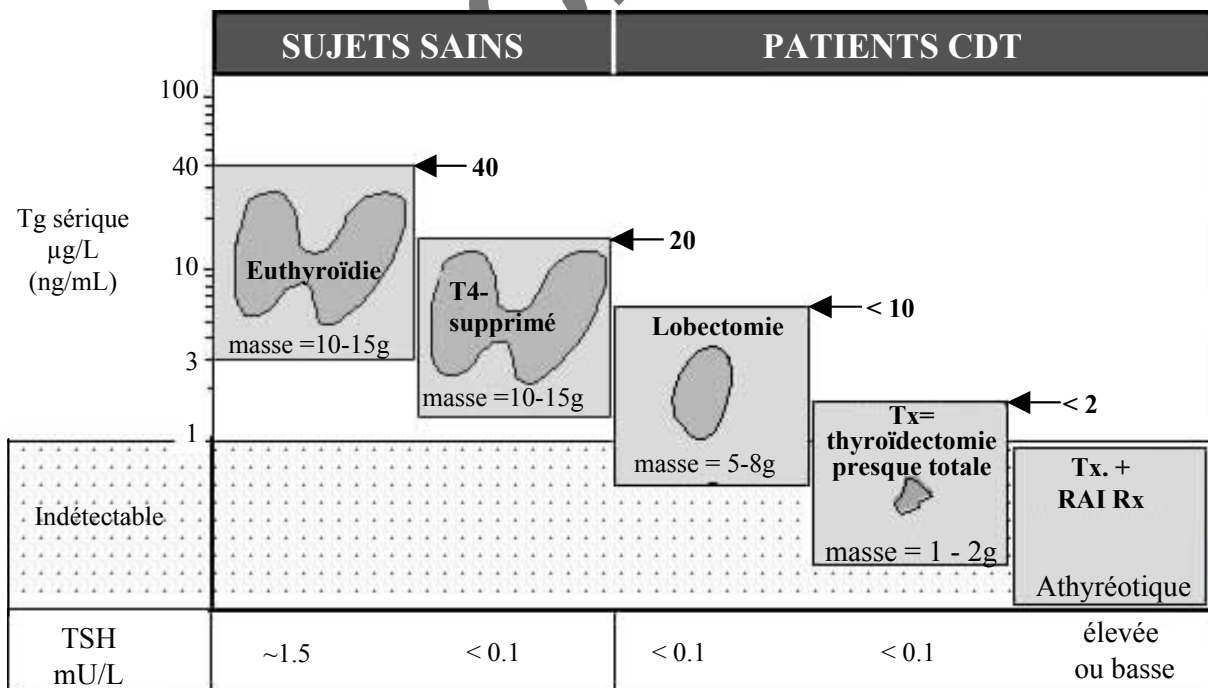


Fig. 8. Valeurs de Tg sérique attendues en rapport avec la masse de tissu thyroïdien et le taux de TSH. Pour les méthodes avec des normes différentes de celles montrées sur cette figure, ajustez les valeurs absolues en appliquant un facteur de correction basé sur la valeur normale moyenne de la méthode. (par exemple : pour des méthodes avec une valeur normale moyenne de 6,2 µg/L (ng/mL) corrigez les valeurs montrées de 50%).

Hypothèses faites pour réaliser cette figure:

- Aucune atteinte thyroïdienne récente (chirurgie ou cytoponction),
- Utilisant la Recommandation 48, la Tg moyenne de contrôle de sujets euthyroïdiens normaux = 13,5 , variation 3-40 (2DS) µg/L (ng/mL),
- Masse de tissu thyroïdien normal = 10-15 grammes,
- Un gramme de tissu thyroïdien normal produit ~ 1 µg/L (ng/mL) de Tg si la TSH sérique est normale,
- Un gramme de tissu thyroïdien normal produit ~ 0,5 µg/L (ng/mL) de Tg si la TSH sérique < 0,1 mUI/L.

(iv) Réponses de la Tg sérique à la stimulation par TSH. L'importance de l'élévation de la Tg sérique en réponse à la TSH endogène (sevrage en hormone thyroïdienne) ou à l'administration de TSH humaine recombinante, fournit une indication de la sensibilité de la tumeur à la TSH (308,309). Normalement, la stimulation par la TSH de résidus thyroïdiens normaux ou une tumeur bien différenciée produit une augmentation > 5 fois de la Tg sérique par rapport au niveau de base (avec freinage de la TSH), chez les malades sans anticorps anti-Tg (Fig. 6). La réponse de la Tg sérique à une élévation de la TSH endogène est généralement plus élevée que pour rhTSH (308,345). De plus, des tumeurs faiblement différenciées s'accompagnent d'une augmentation moindre (< 3 fois) lors de la réponse de la Tg sérique à la stimulation par TSH (310). Il faut noter que des malades avec anticorps anti-Tg ont généralement une réponse de la Tg inhibée ou une non-réponse à la stimulation par rhTSH dans la plupart des cas, même si la concentration de Tg sérique de base est détectable.

Recommandation 50. Mesure de la Tg sérique en cas de carcinome thyroïdien différencié (CTD)

Malades sans anticorps anti-Tg:

- Les valeurs sériques préopératoires (prélevées avant ou plus de 2 semaines après la cytoponction) sont utiles pour déterminer la capacité de sécrétion de Tg par la tumeur.
- La diminution rapide post-opératoire de la Tg sérique reflète l'étendue de la chirurgie avec une demi-vie de 3 à 4 jours pour la Tg (si de la L-T4 est donnée pour prévenir l'élévation de la TSH).

- Il n'y a pas de « valeur normale » pour un malade ayant subi une thyroïdectomie ! Les malades avec thyroïdectomie totale devraient avoir un taux de Tg indétectable dans leur sérum, même si la TSH est élevée.
- Point de référence utile : un gramme de tissu thyroïdien normal libère $\sim 1 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) de Tg dans le sérum quand la TSH est normale, et $\sim 0,5 \mu\text{g/L}$ (ng/mL) quand la TSH est freinée à $< 0,1 \text{ mUI/L}$.
- Quand la Tg sérique est détectable sous traitement par L-T4 (TSH stable), les changements de masse tumorale peuvent être surveillés par des mesures répétées de la Tg sérique sans retrait de l'hormone thyroïdienne ou sous rhTSH.
- Quand la Tg sérique est indétectable sous traitement par L-T4 (et que les anticorps anti-Tg sont absents), une Tg sérique stimulée par la TSH est plus sensible pour détecter une maladie résiduelle cervicale que la Tg sérique mesurée pendant le freinage de la TSH.
- Il y a normalement une augmentation > 5 fois des taux de base de la Tg sérique observés sous traitement par L-T4 après stimulation par TSH (endogène ou rhTSH). Des études en parallèle montrent que les valeurs de Tg stimulée par rhTSH sont approximativement la moitié de celles constatées avec la TSH endogène après arrêt de l'hormone thyroïdienne.

Les malades avec anticorps anti-Tg:

- Montrent typiquement des réponses inhibées voire absentes de la Tg après stimulation par TSH.
- Les mesures répétées des anticorps anti-Tg (par tests immunologiques) constituent des indicateurs pronostiques précieux à la place du marqueur tumoral habituel (Tg).

3. F. Calcitonine (CT) et proto-oncogène RET

Le carcinome médullaire de la thyroïde (CMT) résulte de la transformation maligne des cellules para-folliculaires C de la thyroïde et représente ~ 5-8 % de tous les cas de cancer de la thyroïde. Approximativement, 75 % des CMT sont sporadiques et 25 % sont héréditaires (9,11,347). Parmi les nodules thyroïdiens, la prévalence des CMT est de 0.57 % (348). L'évolution et la prise en charge des CMT sont différentes de celles des carcinomes thyroïdiens bien différenciés d'origine folliculaire (346). Les formes héréditaires de CMT entrent dans le cadre nosologique des néoplasies endocriniennes multiples (NEM) de type 2A et 2B, caractérisées par des atteintes multi-glandulaires héréditaires à transmission autosomique dominante avec pénétrance en rapport avec l'âge et à expression variable. Le CMT familial (FMTC) est un phénotype particulier des NEM2, caractérisé par un CMT isolé sans autre endocrinopathie associée. Le gène responsable pour ces maladies est localisé sur le chromosome 10 dans la région 10q11.2. Les mutations génétiques responsables des NEM2A et 2B et des FMTC ont été identifiées en 1993 dans le proto-oncogène RET (349,350). Les expressions phénotypiques des NEM2 sont résumées dans le Tableau 7.

Tableau 7. Phénotypes des néoplasies endocriniennes multiples (NEM).

Phénotype	Caractéristiques cliniques	
MEN2A (60%)	Carcinome médullaire thyroïdien (CMT) Phéochromocytome Hyperparathyroïdie Notalgia	100% 8-60% 5-20% < 5%
MEN2B (5%)	Carcinome médullaire thyroïdien (CMT) Phéochromocytome Aspect marfanoïde Ganglioneuromatose des muqueuses et du tractus digestif	100% 50% 100% 100%
FMTC (35%)	Carcinome médullaire thyroïdien (CMT)	100%

1. Détection des CMT par le dosage de la Calcitonine sérique (CT)

(a) Biosynthèse de la calcitonine. Le gène CALC-1 qui code pour la CT humaine est localisé sur le bras court du chromosome 11 (11p15.3-15.5). Bien que les cellules C para-folliculaires de la thyroïde soient la source dominante de la CT circulante mature, plusieurs autres catégories de cellules neuroendocrines contiennent et sécrètent normalement de la CT.

La CT mature est un peptide monocaténaire de 32 acides aminés (aa) avec un pont disulfure et une proline amidée sur la partie carboxy-terminale qui ont des rôles fonctionnels importants (350). La CT mature résulte de la maturation post-traductionnelle (Fig. 9) d'un

précurseur de 141 aa (pré-pro-calcitonine) dans les cellules C para-folliculaires. La perte du peptide-signal de la pré-pro-calcitonine conduit à la formation de la pro-calcitonine (proCT), pro-hormone de 116 aa. Le peptide amino-terminal de 57 aa de la proCT est appelé « aminoproCT » (ou PAS-57), et le peptide de 21 aa carboxy-terminal de la proCT est appelé « peptide-1 carboxy-terminal de la calcitonine » (CCP-1 ou Katacalcine). Les 33 aa de la partie centrale de la molécule de proCT constituent la molécule de CT immature. La CT active, ou mature, de 32 aa (incluant une proline amidée à son extrémité carboxy-terminale) est produite à partir de CT immature par l'enzyme d'amidation, le « peptidylglycine-amidating mono-oxidase » (PAM).

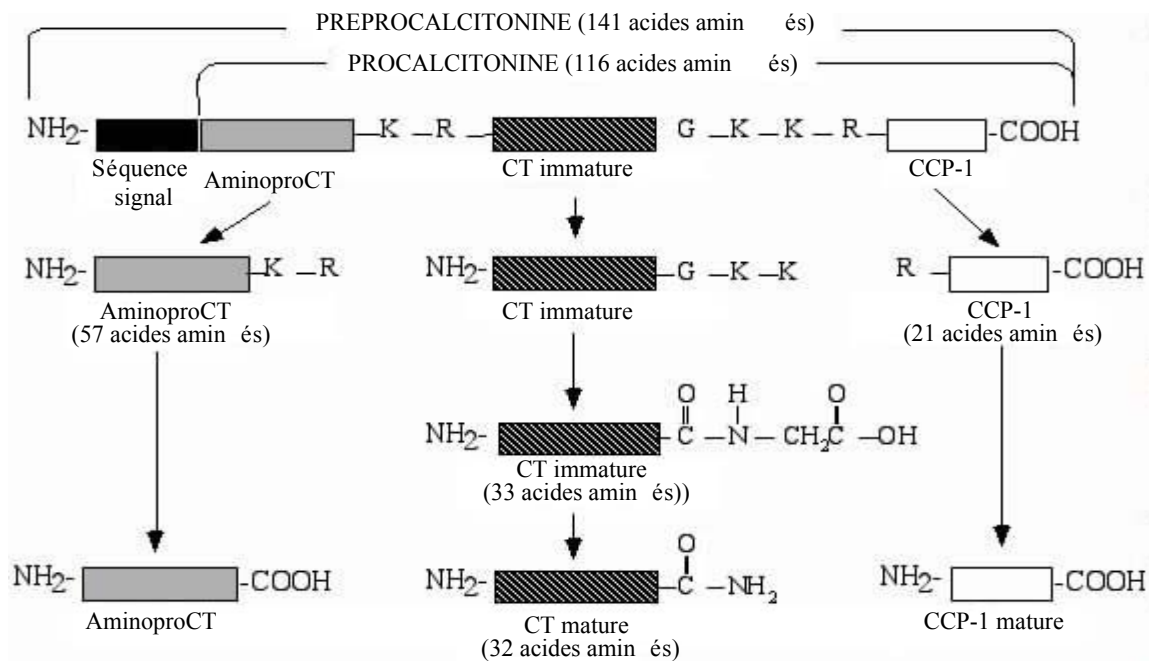


Fig. 9. La maturation post-traductionnelle de la calcitonine.

(b) Méthodes de dosage de la calcitonine (CT). Jusqu'en 1988, les méthodes de dosage de la CT ont été principalement des dosages radio-immunologiques impliquant l'utilisation d'anticorps polyclonaux qui reconnaissent la CT mature monomérique et d'autres formes circulantes (précurseurs et produits de dégradation). Ces dosages manquaient de spécificité et de sensibilité. Depuis 1988, les techniques immuno-métriques basées sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux (l'un spécifique de la région N-terminale et l'autre de la région C-terminale) ont permis le développement de dosages plus spécifiques et sensibles de la CT mature monomérique de 32 aa. Actuellement, les méthodes immuno-métriques de dosage permettent de mesurer la CT dans les échantillons plasmatiques chez 83 % des hommes sains et 46 % des femmes saines (351-353). Les valeurs de CT évaluées par des méthodes différentes peuvent varier, et entraîner des difficultés dans l'interprétation des résultats de CT. Il est important pour les médecins de savoir que des différences entre les méthodes existent et doivent être prises en compte pour l'interprétation et l'utilisation adéquates des valeurs de la CT pour le diagnostic et la prise en charge de CMT.

(c) Valeurs basales de la calcitonine (CT). Les valeurs basales de CT se sont révélées être le marqueur principal pour le diagnostic des CMT dès 1968 (354). Actuellement, les dosages immuno-métriques spécifiques de la CT, montrent que les valeurs de la CT plasmatique sont inférieures à 10 ng/L (pg/mL) chez les témoins sains normaux et chez 90 % de malades atteints de pathologies thyroïdiennes autres qu'un CMT (348,355-357).

Recommandation 51. Dosages de la calcitonine (CT)

- La CT mature (32 acides aminés) est le principal marqueur des CMT.
- Les dosages de la CT utilisés pour le diagnostic et le suivi des CMT doivent être effectués par les techniques immuno-métriques reconnaissant la CT mature monomérique de 32 acides aminés.
- Actuellement, les valeurs de CT inférieures à 10 pg/mL (ng/L) sont considérées comme normales.
- Le seuil de normalité de la CT pourrait être redéfini en fonction de la mise au point de nouvelles trousse de dosage plus sensibles.

Les malades avec micro- ou macro-CMT (forme sporadique ou familiale) ont des niveaux élevés de CT qui sont corrélés avec la masse tumorale (358). Dans les NEM2, l'hyperplasie des cellules C (HCC) est la première constatation histologique et précède le développement d'un micro-carcinome. Dans les NEM2 l'HCC apparaît précocement après la naissance, et à ce stade de la maladie, les valeurs basales de CT peuvent être normales ; de ce fait, un résultat normal de CT ne peut pas exclure une pathologie des cellules C au stade initial.

(d) Tests de stimulation de la calcitonine utilisés pour le diagnostic des CMT. Différents tests de stimulation à partir de sécrétagogues connus de la CT, tels que le calcium et un analogue de la gastrine (pentagastrine, Pg et lorsque la Pg n'est pas disponible, l'oméprazole), ont été utilisés pour détecter les anomalies des cellules C (359-364)). L'avantage de ces tests est de permettre la détection de la pathologie des cellules C dès le stade initial d'HCC ou micro-carcinome, alors que les valeurs basales de CT peuvent être encore normales. Dans les pays où l'utilisation des techniques de génétique moléculaire sont facilement accessibles, l'indication chirurgicale pour les sujets à risque est basée sur la seule preuve de l'atteinte génétique et les tests de stimulation sont rarement utilisés. Dans quelques pays où la Pg est devenue difficile à obtenir, la majorité des interventions chirurgicales y sont maintenant pratiquées sur la seule preuve génétique de la maladie.

Les tests de stimulation sont habituellement employés :

- pour confirmer en pré-opératoire le diagnostic de CMT si les valeurs basales de CT sont seulement peu ou moyennement élevées (moins de 100 pg/mL),
- pour détecter une pathologie des cellules C chez les porteurs d'une mutation du proto-oncogène RET,

- pour évaluer en pré-opératoire les enfants porteurs d'une mutation du proto-oncogène RET,
- pour détecter en postopératoire une récurrence de la tumeur,
- lorsque l'analyse génétique n'est pas disponible aisément.

Recommandation 52. Utilisation clinique des dosages de la CT sérique pour diagnostiquer un CMT

- Les dosages de la calcitonine (CT) sont dépendants de la méthode utilisée. Cela peut avoir un impact sur l'interprétation des résultats de CT.
- Des niveaux de calcitonine augmentés dans le sérum peuvent être constatés chez des malades avec maladies thyroïdiennes auto-immunes (thyroïdite de Hashimoto ou maladie de Basedow).
- L'hyperplasie des cellules C (HCC) est le premier stade histologique pathologique avant le développement d'un micro-carcinome. Une CT normale peut être trouvée malgré une HCC dans les premières stades du développement de CMT.
- Une élévation de CT au-dessus de 10 pg/mL (ng/L) suggère un CMT au stade du micro-carcinome.
- Il y a une corrélation positive entre les niveaux de CT et la masse tumorale.

(i) Test de stimulation par la pentagastrine (Pg). Le test de stimulation par la Pg a largement été utilisé pour le diagnostic de CMT mais n'est pas aisément disponible dans de nombreux pays (359,365). Le test à la Pg consiste en une injection I.V. de Pg (0,5 µg/kg) pendant 5 secondes. L'administration plus lente de la Pg réduit les effets secondaires transitoires (nausée, vomissements, striction thoracique, flush et fourmillements des extrémités) et améliore la tolérance du test. Les échantillons de sang sont prélevés avant l'injection et 1, 3, 5 et quelquefois 10 minutes après le début de l'injection.

Les résultats et l'interprétation des valeurs de CT stimulée par la Pg sont résumés dans le Tableau 8. Le pic de la CT stimulée par Pg est inférieur à 10 ng/L (pg/mL) chez 80 % de volontaires adultes sains, et inférieur à 30 ng/L (pg/mL) dans 95 % de la population globale. Les hommes normaux présentent des valeurs plus élevées que les femmes. Un test positif (pic de CT supérieur à 100 ng/L (pg/mL)) suggère la présence d'un CMT. Lorsque des malades sont porteurs de la mutation familiale responsable d'une NEM2, un pic entre 30 et 100 ng/L (pg/mL) est typiquement révélateur d'un HCC ou d'un micro carcinome. Bien qu'un pic de CT de moins de 100 ng/L (pg/mL) après Pg puisse être constaté chez les adultes avec des anomalies thyroïdiennes autres que CMT (Tableau 9), de tels résultats n'ont jamais été observés chez les enfants de moins de 12 ans qui ne sont pas porteurs d'une mutation du proto-oncogène RET (366). L'absence d'une augmentation de la CT chez un individu jeune portant une mutation de RET n'exclut pas la possibilité du développement d'un CMT ultérieurement.

Tableau 8. Interprétation du test à la pentagastrine (Pg).

N°	CT ng/L (pg/mL)	Interprétation
1	Pic CT < 10	80 % des adultes normaux
2	Pic CT < 30	95 % des adultes normaux
3	Pic CT > 30 et < 50	5 % des adultes normaux
4	Pic CT > 50 et < 100	CMT possible Ou autres pathologies thyroïdiennes
5	Pic CT > 100	CMT probable
6	Valeurs de la CT basales ou post-Pg > 10 pg/ml	Pathologie des cellules C chez des patients NEM2 ou tissu résiduel chez des patients après chirurgie du CMT

Le meilleur âge pour s'assurer, au moyen du test Pg, de la présence éventuelle d'une pathologie des cellules C chez les enfants porteurs d'une mutation de RET responsable d'une NEM2 n'a pas encore été défini. Cela varie avec le type de mutation et le type de NEM2 présents dans ces familles (367,368). Les enfants à risque d'une famille atteinte de NEM2, avec des valeurs basales normales de CT doivent avoir les tests génétiques ou de stimulation par la Pg le plus tôt possible après la naissance pour NEM2B, et à 2 ans pour les NEM2A. Cependant, il faut souligner que la CT est physiologiquement élevée chez les nouveau-nés, jusqu'à l'âge de 1 an; aucune donnée n'est actuellement disponible pour cette tranche d'âge en ce qui concerne les épreuves de stimulation (369). Le test de stimulation devrait être répété au moins une fois par an jusqu'à ce qu'il devienne positif, ce qui implique alors la thyroïdectomie totale. Compte tenu du pronostic des CMT, de la relative mauvaise tolérance du test Pg et les implications psychologiques pour la famille, certaines équipes médicales préfèrent ne pas répéter le test Pg jusqu'à ce qu'il devienne positif et préfèrent opter pour une thyroïdectomie sur tous les porteurs de la mutation de RET âgés de 4 à 5 ans.

(ii) Épreuve de la stimulation par le calcium. Cette épreuve consiste à administrer par I.V., pendant 30 secondes, 2,5 mg/kg de gluconate de calcium. Les échantillons de sang sont prélevés avant puis 1, 2 et 5 minutes après l'injection de calcium. L'HCC est suspectée si les valeurs de CT dépassent 100 ng/L. Aucun effet secondaire n'a été observé avec ce test, hormis une sensation de chaleur généralisée, légère et fugace. Le test d'injection de calcium est considéré comme étant moins sensible que le test Pg pour le diagnostic de CMT (370-372). De plus, ce test n'a pas été évalué avec les trousses de dosage immuno-métriques spécifiques de la CT mature monomérique, et doit donc être réévalué avec les méthodes actuelles de dosage. Il a été rapporté que l'injection de calcium combinée avec l'épreuve par Pg améliore la sensibilité de l'épreuve par Pg (359).

(e) **CT basale et après stimulation pour le suivi de patients après chirurgie.** Après thyroïdectomie, la CT sérique constitue le marqueur biologique pour la détection de tissu tumoral résiduel ou ses métastases. Une valeur de CT détectable, basale ou après stimulation par la Pg constitue la preuve de l'existence de tissu tumoral résiduel (373,374).

Compte tenu des variations de la clairance métabolique de la CT sérique, le premier échantillon de contrôle post-opératoire devrait être effectué au moins 2 semaines après chirurgie (375). Il faut rappeler que l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) est également utilisé, avec la CT, pour détecter la récurrence des CMT. De plus, l'ACE paraît être un marqueur de dé-différenciation des CMT, et donc un indicateur de mauvais pronostic.

Recommandation 53. Suivi post-opératoire des CMT

- La CT et l'ACE sériques devraient être mesurés juste avant et 6 mois après une chirurgie pour CMT. Les valeurs de CT décroissent lentement chez certains malades. La première mesure de CT post-opératoire ne devrait pas être faite dans un délai de moins de 2 semaines après chirurgie.
- On ne peut exclure la présence de tissus résiduels ou une récurrence de CMT que si les valeurs de CT basales et après stimulation par pentagastrine ou calcium sont indétectables.

(f) Hyper-calcitoninémies en dehors du CMT. Des valeurs élevées de calcitonine sont observées dans d'autres pathologies que les CMT et tumeurs neuro-endocrines (Tableau 9). Une hyper-calcitoninémie peut être trouvée dans les maladies thyroïdiennes auto-immunes (thyroïdites de Hashimoto, maladies de Basedow) (376-378). Des augmentations de CT sont également constatées au cours d'affections non thyroïdiennes telles que les insuffisances rénales sévères, l'hyper-calcémie et les hyper-gastrinémies primitives ou secondaires (maladie de Biermer ou iatrogènes), les infections pulmonaires aiguës et autres pathologies infectieuses locales ou générales, etc... (379-381).

Dans la mesure où certaines de ces hyper-calcitoninémies n'ont été observées que par l'utilisation de dosages RIA utilisant des anticorps polyclonaux, certains de ces résultats doivent être confirmés au moyen des dosages immuno-métriques spécifiques de la CT mature monomérique. Les dosages utilisant des anti-sérums spécifiques de la proCT, CT et CCP-1, associés aux techniques d'HPLC et de filtration sur gel, ont montré que certaines des hyper-calcitoninémies observées dans des pathologies non thyroïdiennes sont en fait liées à une augmentation de la proCT, et, dans une moindre mesure, du peptide CT-CCP-1. Ces malades ont habituellement des valeurs de CT mature normales ou seulement discrètement augmentées. En utilisant des anti-sérums spécifiques de la CT et des techniques de purification, il a été montré que des tumeurs autres que les CMT peuvent sécréter des grandes quantités de CT mature et des précurseurs de la CT (382). Cela a été démontré pour les tumeurs neuro-endocrines, et plus particulièrement le cancer pulmonaire à petites cellules et le carcinoïde bronchique. Dans ces cas, l'augmentation de la CT après le test Pg est de faible amplitude, lorsqu'elle existe (383). Une hyperplasie des cellules C peut être associée aux thyroïdites lymphocytaires et aux cancers différenciés de la thyroïde (384-386). Cette HCC peut être responsable d'une légère augmentation de la CT mature ainsi que d'une réponse au test Pg.

Tableau 9. Hypercalcitoninémies hors CMT.

tumeurs neuro-endocrines	cancer pulmonaire à petites cellules, carcinoïde bronchique et intestinal, tumeurs neuro-endocrines
hyperplasie des cellules C (HCC)	maladie auto-immune thyroïdienne, cancer thyroïdien différencié
autres affections	Insuffisance rénale, hyper-gastrinémie, Hyper-calcémie, pseudo-hypoparathyroïdie de type Ia

2. Détection du CMT par analyse du proto-oncogène RET

Jusqu'en 1987, la seule méthode disponible pour détecter les sujets à risque pour CMT était les dosages répétitifs de CT, avec tests de stimulation, effectués chez les membres de la famille de malades atteints de CMT. La localisation du gène responsable de la NEM2 sur le chromosome 10, dans la région péri-centromérique 10q11.2, a rendu possible la détection des sujets à risque par dépistage génétique (378). Il est maintenant établi que plusieurs types de mutations sur le chromosome 10 sont responsables du développement des NEM2, par auto-activation du proto-oncogène RET (349,350). L'identification des mutations du proto-oncogène rend désormais possible le dépistage des sujets atteints de NEM2 avant l'apparition des premiers signes biologiques. Actuellement dans beaucoup de pays développés, le dépistage génétique constitue la première étape du diagnostic des NEM 2. Cependant il est nécessaire, pour une meilleure connaissance de la maladie, que les résultats des dépistages génétiques positifs soient complétés par un suivi exhaustif des membres atteints et sains de la famille.

Le gène RET possède 21 exons et code pour un récepteur membranaire tyrosine kinase. Ce récepteur trans-membranaire est caractérisé par une région extra-membranaire « cadherin-like » (site de liaison aux ligands), une région riche en cystéine à proximité de la partie externe de la membrane cellulaire, et un domaine intra-cellulaire responsable de l'activité tyrosine kinase. Les mutations responsables des NEM2 (Fig. 10) ont été identifiées au niveau des exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16 (368,387-391).

(a) Dépistage génétique des NEM2. Les NEM2 sont des maladies familiales héréditaires à transmission autosomique dominante, dues aux mutations du proto-oncogène RET, elles-mêmes responsables de l'auto-activation du récepteur tyrosine kinase (349). Approximativement 75 % des CMT sont isolés et d'origine sporadique; dans 44 % de ces CMT isolés et sporadiques on trouve une mutation somatique (dans le tissu tumoral) située au niveau du codon 918 (392). Le dépistage génétique doit être effectué d'abord sur tous les membres directs de la famille du cas index (fratrie, ascendants et descendants directs), puis sur les branches collatérales de la famille en fonction des résultats positifs obtenus. Le dépistage est basé sur l'identification d'une mutation génomique du proto-oncogène RET par l'analyse de l'ADN du cas index, puis par la recherche systématique de cette mutation chez tous les membres potentiellement affectés de la famille (Fig. 11) (393,394).

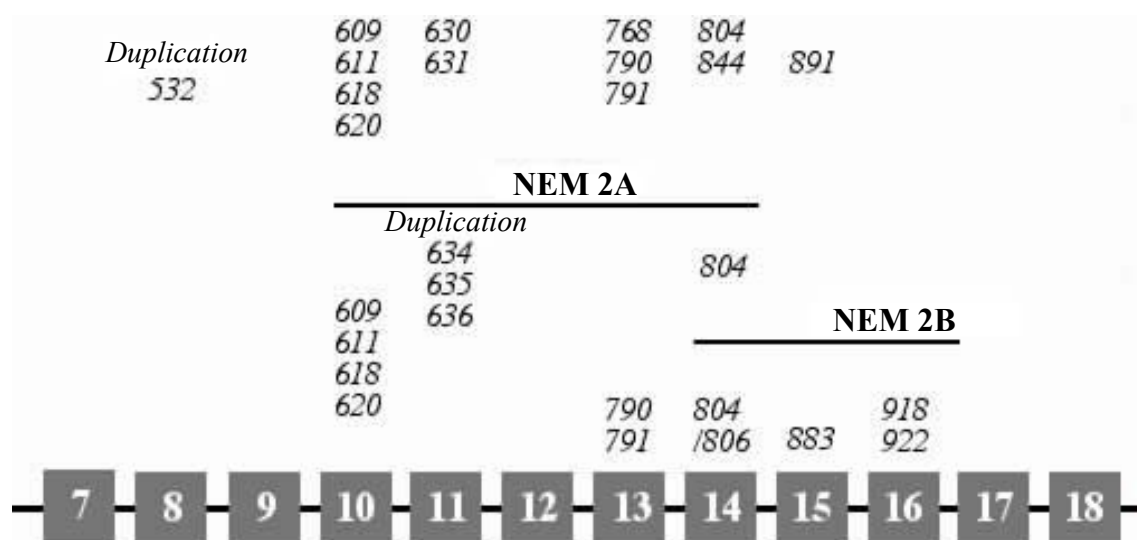


Fig. 10. Mutations les plus fréquentes du proto-oncogène RET.

A ce jour, cinq mutations du gène RET sont présentes dans 97 % de tous les cas de NEM2 (Fig. 10). La majorité des mutations responsables des NEM2A affectent le domaine extra-cellulaire riche en cystéine, chacune d'elles convertissant une cystéine en un autre acide aminé. Ces mutations sont situées dans les codons 609, 611, 618 et 620 de l'exon 10 et dans le codon 634 de l'exon 11 (368,378). Le carcinome médullaire thyroïdien familial (FMTC) est fréquemment associé à des mutations situées dans l'exon 10, ainsi que dans les codons 768 et 804 des exons 13 et 14 (368). La plupart (87 %) des mutations situées sur le codon 634 de l'exon 11 correspondent au phénotype associant les atteintes multi-glandulaires des NEM2A (CMT, phéochromocytome, et hyper-parathyroïdie) (9,378).

Le phénotype NEM2B correspond à des mutations qui codent pour la partie intra-cellulaire du récepteur tyrosine kinase (TK2). La plupart (97 %) des cas de NEM2B impliquent le codon 918, situé dans l'exon 16, responsable de la conversion d'une méthionine en thréonine; il s'agit le plus souvent de néo-mutations germinales (395). Une minorité (5 %) des mutations du NEM2B affectent le codon 883 dans l'exon 15 ou 922 dans l'exon 16 (378,394). Une corrélation entre phénotype et génotype suggère que chez les malades atteints de FMTC avec des mutations de RET n'affectant pas les cystéines du récepteur, le début de la pathologie des cellules C survient à un âge plus tardif par rapport aux FMTC dus aux mutations RET classiques de l'exon 10 (368,396).

Recommandation 54. Risque génétique de CMT

- Dans les NEM2, 50 % des membres de la famille sont potentiellement affectés par la maladie
- Presque tous les malades qui portent des mutations de RET développeront un CMT (les mutations qui inactivent le gène du RET provoquent également la maladie de Hirschsprung)

- 5-10 % des CMT considérés sporadiques sont en fait des FMTC avec des mutations germinales de RET. Par conséquent l'analyse de RET est justifiée chez tous les malades avec CMT apparemment sporadique

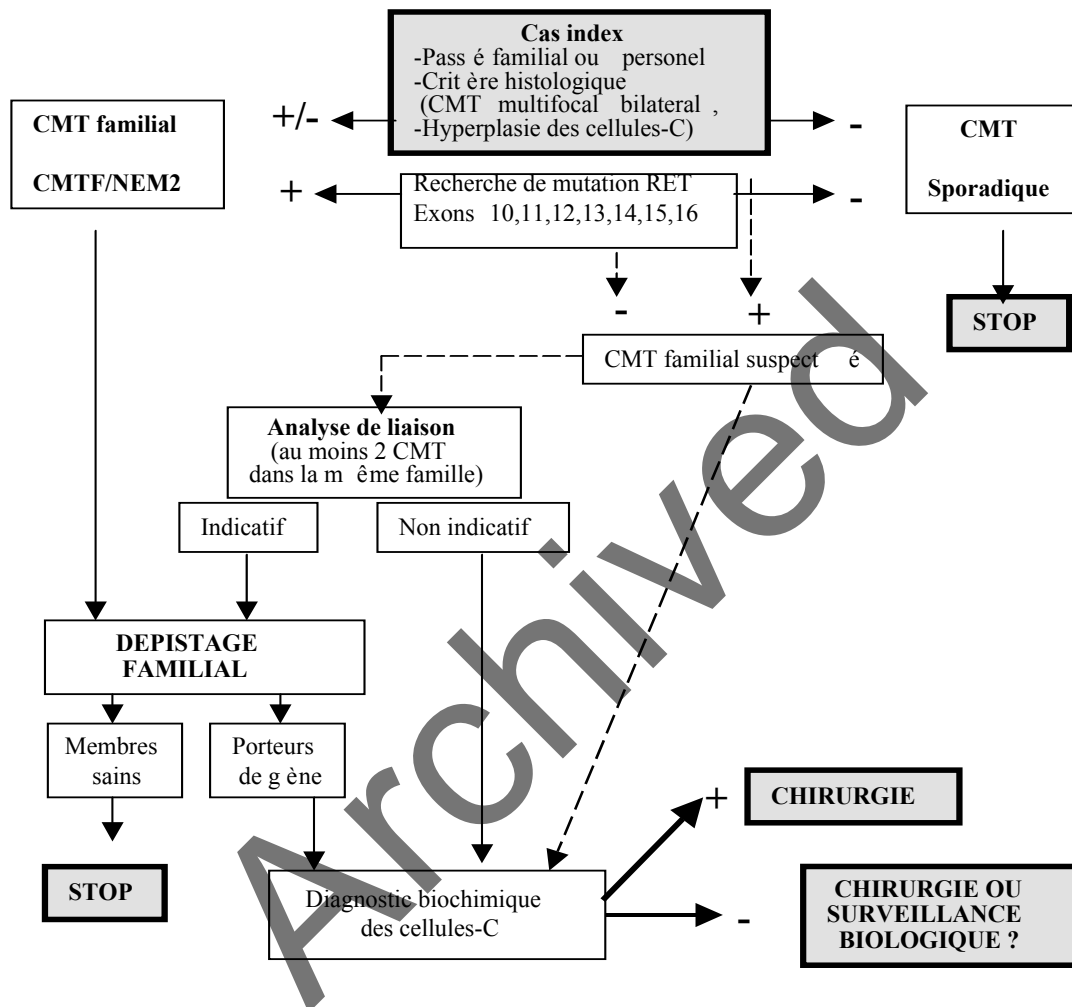


Fig. 11. Algorithme pour le diagnostic et le traitement des CMT.

Quand une mutation a été identifiée dans une famille, on peut être certain que les membres de la famille et leurs descendants qui ne portent pas la mutation sont indemnes de la pathologie. Inversement, les sujets porteurs de la mutation ont la pathologie et exigeront un traitement chirurgical pour la prise en charge, ou la prévention du développement, de la maladie (Fig. 11). Si aucune mutation génomique n'est identifiée dans le cas de l'index, comme c'est le cas dans moins de 3 % des NEM2A et 5 % des FMTC, une analyse de liaison peut être effectuée pour prédire le niveau de risque pour les membres de la famille. Si aucune prédiction génétique n'est possible à cause de la structure généalogique de la famille, la détection de la maladie doit être effectuée par des études cliniques répétées et des tests biologiques spécifiques à intervalles appropriés.

3. G. Mesure de l'iode urinaire (IU)

Une prise alimentaire adéquate d'iode est nécessaire pour une production normale d'hormones thyroïdiennes et pour maintenir un état euthyroïdien. En conséquence la mesure de la prise d'iode à partir des produits alimentaires ou des médicaments a une pertinence clinique. En biologie clinique, les dosages de l'iode sont utilisés principalement pour les études épidémiologiques et pour la recherche (3). A ce jour, l'intérêt principal du dosage de l'iode est d'évaluer la prise alimentaire de cet élément dans une population donnée (3,397,398). C'est une question d'importance considérable, puisqu'il a été proposé que la carence en iode et ses conséquences pathologiques (iodine deficiency diseases ou IDD) affecte potentiellement 2,2 milliards de personnes dans le monde. De plus, dans des pays développés, tels que les USA et l'Australie, on constate une diminution de l'apport alimentaire en iode, alors que cet apport reste limite dans la plupart des pays de l'Europe dont, bien sur, la France(398,399).

Comme la majeure partie de l'iode ingéré est éliminée dans les urines, la mesure de l'excrétion de l'iode urinaire (IU) fournit une bonne évaluation de l'iode alimentaire (399). Dans la plupart des circonstances la détermination de l'IU fournit peu de renseignements utiles sur le statut iodé à long terme d'un individu et les résultats obtenus reflètent simplement la prise récente d'iode. Cependant, mesurer l'IU dans une cohorte représentative d'individus d'une population spécifique fournit un index utile du niveau d'iode endémique de cette région (399,400). En plus de l'estimation de la concentration de l'IU chez les patients, les autres applications du dosage de l'iode incluent sa détermination dans le lait, les aliments et l'eau potable (401,402). Le dosage de l'iode dans les tissus thyroïdien ou mammaire a été réalisé dans le cadre d'études de recherche (403). Comme les concentrations plasmatiques d'iode inorganique basses (~ 1 pg/dL) sont associées avec des concentrations d'iode hormonal relativement élevées, la mesure de l'iode inorganique plasmatique (PII) a été limitée aux études de recherche concernant la grossesse (404).

1. L'excrétion de l'iode urinaire (IU)

Le niveau d'excrétion de l'IU d'une population peut fournir une évaluation relativement exacte de l'état de la prise alimentaire d'iode de cette population (399,400). Cette évaluation est le mieux déterminée à partir d'un échantillon des urines des 24 heures, mais des problèmes de logistique rendent l'utilisation de telles mesures irréalisables pour les études épidémiologiques. Les différences des valeurs de l'iodurie d'une miction à l'autre peuvent être compensées en exprimant les résultats en fonction de la créatininurie, en μg d'iode excrété/gramme de créatinine (405). Les cycles diurnes et saisonniers de l'excrétion urinaire de l'iode et de la créatinine sont différents. Par conséquent le ratio iode/créatinine peut varier au cours de la journée ou de la période de l'année. Dès lors, il n'y a aucun substitut idéal à un recueil des urines des 24 heures, même si celui-ci est difficile à obtenir. Malgré tout, l'estimation de l'IU reste très importante dans les pays en voie de développement bien que l'index iode/créatinine soit moins satisfaisant et bien qu'il existe un taux d'excrétion de créatinine diminué par suite de la malnutrition à des degrés variables (406). Il a aussi été montré que l'excrétion de l'IU peut être variable même chez les sujets sains et avec une alimentation équilibrée. Pour ces raisons, et pour éviter l'introduction d'erreurs liées aux variations de la créatininurie, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a recommandé que, pour les études épidémiologiques, l'excrétion de l'IU puisse être exprimée en μg d'iode par unité de volume (pg/dL ou $\mu\text{g/L}$). Des différences dans les valeurs inhérentes aux variations

de l'iodurie d'une miction à l'autre peuvent être partiellement compensées en utilisant un grand nombre de sujets (~ 50) dans chaque population de l'étude. Les rapports récents suggèrent que l'usage du ratio (IU/Créatininurie), ajusté en fonction de l'âge et du sexe, appliqué à la première miction se rapproche le plus de l'IU des urines des 24 heures, si l'alimentation est satisfaisante (400,407). Bien que les variations saisonnières ne soient pas aussi importantes que dans les climats plus chauds, elles affectent les résultats en Europe du Nord où le lait est une source majeure d'iode alimentaire. Dans de telles populations, l'habitude d'alimenter le bétail en intérieur avec des suppléments riches en minéraux donne une excrétion de l'IU plus élevée pendant les mois d'hiver. Plus récemment il a été suggéré que l'IU a une variation diurne, avec des valeurs médianes tôt le matin ou de 8 à 12 heures après le dernier repas, suggérant que les échantillons devraient être prélevés à ces moments (408).

2. L'Iode alimentaire

Dans beaucoup de pays, la prise alimentaire adéquate d'iode est satisfaite par l'iodation du sel mais la disponibilité du sel iodé est obligatoire seulement dans quelques pays développés et facultative dans beaucoup d'autres. Il a été aussi noté une diminution de la consommation d'iode dans quelques pays industrialisés (399). Une prise moindre d'iode peut se produire avec des alimentations végétariennes, en particulier dans des régions où les fruits et légumes poussent sur des sols carencés en iode (409).

3. Unités de mesure de l'IU

Pour les études épidémiologiques, l'excrétion urinaire de l'iode est normalement exprimée en µg d'iode excrété par unité de volume. La conversion en unités SI équivalentes est:

$$-1,0 \mu\text{g/dL} = 0,07874 \mu\text{mol/L}$$

$$-1,0 \text{ pmol/L} = 12,7 \text{ pg/dL.}$$

4. Applications de la mesure de l'iode

(a) enquêtes épidémiologiques. L'application du dosage de l'iode est particulièrement importante pour les études épidémiologiques. La ration journalière de l'iode recommandée est: 90 µg pour les enfants, 150 µg pour les adultes et 200 µg pour les femmes enceintes ou allaitantes. Les valeurs suggérées pour l'excrétion de l'IU comme index de la sévérité de la carence en iode sont reportées dans le Tableau 10 (398).

Tableau 10. Excrétion de l'iode urinaire et carence en iode.

		<u>Carence en iode</u>			
	Aucune	Légère	Modérée	Sévère	
IU (µg/L)	> 100	50 - 99	20 - 49	< 20	
Prévalence du goitre (%)	< 5	5,0 - 19,9	2 - 29,9	> 30	

(b) La grossesse et le nouveau-né. La survenue d'une carence sévère en iode qui mène à un crétinisme endémique, a été heureusement réduite grâce à des programmes de complémentations alimentaires iodées. Cependant, la carence en iode persiste encore dans beaucoup de régions du globe. Dans le cas de la grossesse, la carence iodée alimentaire peut avoir des conséquences plus sérieuses où le manque d'iode maternel peut compromettre l'état thyroïdien du fœtus ou du nouveau-né (2,410). Les données sur la variation de l'excrétion de l'IU pendant la grossesse diffèrent. Quelques études ont rapporté une diminution ou aucun changement, tandis que d'autres ont montré une augmentation (47,411-413). Ces différences peuvent refléter des variations dans l'apport en l'iode alimentaire (414). Cependant, la mesure de l'IU pour estimer l'apport en iode pendant la grossesse peut induire en erreur, car cet état provoque une augmentation du taux de l'excrétion de l'iode. Cela résulte en une augmentation relative de la concentration de l'IU, donnant une fausse idée du régime en iode (415). Il a été montré que la prise insuffisante d'iode alimentaire pendant la grossesse retentit sur la fonction thyroïdienne, avec augmentation du volume de la thyroïde et de la concentration en thyroglobuline sérique accompagnée d'une baisse modérée de la FT4 (47). L'administration d'iode à des femmes enceintes conduit à une excrétion de l'IU plus élevée et une inversion du statut thyroïdien dû à la carence en iode. L'importance d'éviter tout compromis avec la fonction thyroïdienne pendant la grossesse a été récemment confortée par une étude indiquant que des enfants, nés de mères présentant une hypothyroïdie frustre, peuvent présenter des problèmes pour leur développement neuro-psychologique (64,65). Cette découverte est logique et est en accord avec les études antérieures montrant une diminution de l'iode inorganique plasmatique (PII) pendant la grossesse. Les premières méthodes de dosage de PII étaient basées sur l'administration d'une dose de traceur à l' ^{131}I à des patients et sur la mesure de l'activité spécifique du radio-isotope dans le sérum et l'urine (405). D'autres méthodes sont basées sur l'évaluation du ratio iode/créatinine dans le sérum et l'urine (405,416). Une étude récente utilisant la minéralisation par le perchlorate et la formule: $\text{PII} = \text{iode sérique total} - \text{iode de la protéine liée}$, a conclu qu'au moins dans les régions non carencées en iode, il n'y avait aucune tendance pour des valeurs de PII à être diminuées pendant la grossesse (404).

(c) Prise excessive d'iode. Il est bien connu que la prise excessive d'iode peut, chez les individus susceptibles, conduire à l'inhibition de la synthèse des hormones thyroïdiennes (effet Wolff-Chaikhoff) et qu'elle peut être d'origine iatrogène (417,418). Une prise d'iode excessive, comme précédemment, par des individus ayant présenté une carence en iode, avec une autonomie thyroïdienne, peut produire une hyperthyroïdie (effet Jod-Basedow) (398,420). Les programmes de prise d'iode alimentaire par la population peuvent influencer la forme de la maladie thyroïdienne produite. C'est particulièrement vrai pour l'hyperthyroïdie, avec goitre nodulaire toxique qui est prévalent lorsque la prise d'iode est basse, et la maladie de Basedow lorsque la prise d'iode est élevée. Cependant, il a été montré qu'un programme de prise d'iode alimentaire contrôlée peut, après une hyperthyroïdie transitoire pendant la première année, entraîner une diminution des signes d'un goitre nodulaire toxique ou d'une maladie de Basedow (421). Les différences dans la présentation de la maladie peuvent aussi changer le profil épidémiologique du cancer de la thyroïde avec une augmentation relative de carcinomes thyroïdiens papillaires avec un pronostic amélioré quand l'apport en iode est augmenté (422).

La crainte des effets secondaires de l'iode pris en grande quantité a fait obstacle à l'introduction de programmes de prophylaxie contre la carence en iode et même à la possibilité d'administrer de l'iode après libération accidentelle d'iode radioactif. Il y a cependant unanimité sur le fait que les avantages de l'administration d'iode dépassent de loin les risques d'exposition excessive à l'iode (398). De ce fait, l'intérêt de mesurer l'iode

urinaire peut être plus grand dans l'évaluation de situations d'apport excessif en iode que dans le cas de carences iodées. L'excès d'iode peut résulter de l'usage de médicaments riches en iode tels qu'un anti-arythmique communément prescrit, l'amiodarone, ou des antiseptiques (Recommandation 5) (75,418,419,421,423). Les conséquences thyroïdiennes du traitement par l'amiodarone peuvent dépendre du niveau de l'iode alimentaire de la région où le sujet réside. L'hypothyroïdie est plus fréquente là où la prise de l'iode alimentaire est élevée, telle qu'aux USA, et l'hyperthyroïdie est plus fréquente là où l'apport est insuffisant, comme souvent en Europe (424).

La prise excessive d'iode alimentaire a aussi été impliquée dans l'accroissement de la prédominance de thyroïdites auto-immunes ou dans l'augmentation de la positivité des anticorps anti-thyroglobuline à la suite d'une prophylaxie à l'iode. Cela peut être dû à une immunogénicité plus élevée de formes plus iodées de la thyroglobuline (425,426). L'estimation de l'excès d'iode est réalisée habituellement à partir d'un prélèvement des urines des 24 heures. Il faut tenir compte que l'iode organique présent dans certains produits radiologiques de contraste peut être fixé dans les graisses. La libération lente de l'iode de ces lieux de stockage a été associée avec un taux d'excrétion d'IU élevé qui peut persister pendant plusieurs mois après l'administration de ce produit de contraste. (427).

5. La Méthodologie du dosage de l'iode

Les méthodes qui mesurent l'iode dans les échantillons biologiques reposent traditionnellement sur la conversion de composés iodés organiques en iode inorganique et l'élimination des substances interférentes potentielles (ex : thiocyanate) qui peuvent perturber la mesure colorimétrique de l'iode inorganique (428). La procédure implique une étape préliminaire de minéralisation suivie par l'évaluation colorimétrique de l'iode à travers son action catalytique dans la réaction de Sandell-Kolthoff (SK). Dans cette réaction, les ions cériques (Ce^{4+}) sont réduits en ions cériques (Ce^{3+}), produisant un changement de couleur du jaune à l'incolore, en présence d'ions arsénieux (As^{3+}) lesquels sont oxydés en ions arsénates (As^{5+}). Après une courte période d'incubation, ce changement de couleur peut être déterminé colorimétriquement. Comme cette réaction est dépendante du temps, quelques rapports suggèrent d'arrêter la réaction par addition de sulfate d'ammonium ferreux puis d'exécuter les mesures colorimétriques ultérieurement. D'autres modifications de la réaction SK peuvent être à l'origine d'une épreuve cinétique en changeant les proportions des ions Ce/As. Cette approche, par la méthode cinétique, peut augmenter la sensibilité du dosage (429). Les problèmes associés à l'élimination des substances interférentes telles que le thiocyanate, dans la réaction SK, ont été mentionnés précédemment. Une étude comparant 6 méthodes d'analyse de l'iode a attribué la plupart des interférences avec la réaction SK aux procédures inadéquates de la minéralisation (428). Essentiellement deux méthodes de minéralisation de l'échantillon sont régulièrement employées, la minéralisation par voie sèche et la minéralisation par voie humide.

(a) Minéralisation par voie sèche. La technique de minéralisation par voie sèche a été introduite en 1944 puis modifiée par la suite. La méthode implique la dessiccation préliminaire des échantillons dans un four à 100 °C. Le résidu sec est alors incinéré en présence d'alcali fort ($\text{KOH}/\text{K}_2\text{CO}_3$) pendant approximativement 3 heures à 600 °C. Les cendres sont reprises dans de l'eau distillée et l'iode présent est alors mesuré par colorimétrie comme décrit ci-dessus. C'est une méthode longue et coûteuse, qui exige des éprouvettes en pyrex épais pour supporter les hautes températures et un four à moufle, idéalement équipé avec contrôle de la température par microprocesseur. Cependant, elle donne d'excellents résultats pour les échantillons d'urine, mais elle est aussi appropriée pour mesurer le contenu de l'iode dans les produits alimentaires et les échantillons de tissus qui exigent une digestion complète. Un

contrôle strict de la température est particulièrement utile pour prévenir les pertes d'iode si la température s'élève au-dessus de 600 °C ou si le temps d'incinération est augmenté (429,430). Il est aussi important que des étalons d'iode subissent le même traitement étant donné que la KOH ajoutée est connue pour réduire la sensibilité de l'épreuve basée sur la réaction SK. Ces méthodes ont été développées pour le dosage de l'iode lié à sa protéine de transport (PBI), utilisé pour évaluer les hormones thyroïdiennes, avant la disponibilité des dosages radio-immunologiques spécifiques de T3 et de T4. Comme les échantillons sont incinérés ensemble dans un four à moufle, la méthode de minéralisation par voie sèche est particulièrement sensible à la contamination croisée par un échantillon fortement iodé. Pour éviter cette possibilité quelques chercheurs ont suggéré une sélection préliminaire des échantillons. Le problème de contamination croisée est particulièrement sensible avec la méthode de minéralisation par voie sèche mais, il a aussi le pouvoir d'affecter toutes les méthodes de quantification de l'iode. Il est par conséquent souhaité que le l'endroit où s'effectue la mesure de l'iode soit isolé et maintenu aussi éloigné que possible des autres activités biologiques, en particulier celles qui peuvent impliquer l'usage de réactifs contenant de l'iode. Les techniques de manipulation et la volatilisation d'aussi grands volumes d'urine pour des études épidémiologiques rend l'isolement du laboratoire également recommandé.

(b) Minéralisation par voie humide. La méthode de minéralisation la plus largement utilisée est la technique de minéralisation par voie humide proposée pour la première fois en 1951, bien que cette approche soit controversée. Dans cette méthode, les échantillons d'urine sont minéralisés en utilisant de l'acide perchlorique. Cette méthode a été automatisée. Bien que la méthode utilisant un auto-analyseur soit très répandue, elle dépend de la nature de l'acide utilisé pour réaliser la minéralisation ainsi que du module de dialyse. Ce dernier est enclin à des interférences considérables avec des substances telles que les thiocyanates (428). Plusieurs variations de la méthode de minéralisation par voie humide pour le dosage de l'iode ont été développées. Celles-ci ont pour objectif principal de simplifier les méthodes, en réduisant le coût de la main-d'œuvre, et de rendre la méthode plus accessible pour des études épidémiologiques localisées. Plusieurs méthodes ont été décrites comme donnant des résultats semblables aux méthodes établies (431). Dans une de ces méthodes, les auteurs indiquent qu'un technicien seul peut exécuter 150 épreuves par jour à un coût inférieur à 0,50 \$ chacune (431). Plus récemment, des méthodes plus simples qui utilisent soit la minéralisation par un acide ou par irradiation UV d'échantillons ont été décrites (432). La technique de minéralisation par voie humide a des inconvénients car l'acide perchlorique et le chlorate de potassium sont potentiellement explosifs et leur usage exige une hotte ventilée spécifique et onéreuse. Pour cette raison une méthode moins dangereuse pour minéraliser les échantillons d'urine utilisant le persulfate d'ammonium comme agent oxydant a été proposée. Cependant, le persulfate d'ammonium est considéré comme un agent peu efficace pour minéraliser les composés iodés tels que la T3, la T4, l'amiodarone, etc... Une modification supplémentaire qui implique à la fois la minéralisation et le processus de la réaction SK dans une technologie sur microplaque-96puits a été rapportée (433). Plus récemment, un kit qui permet une mesure quantitative plus rapide de l'UI après purification sur charbon de bois a été mis au point (Urojod, Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne). Cette méthode paraît simple à exécuter et a la capacité d'être utilisée sur le terrain pour les études épidémiologiques ou pour un usage occasionnel dans l'évaluation des conséquences de l'ingestion excessive d'iode (434).

(c) Sensibilité et spécificité des méthodes de dosage de l'iode. Les techniques qui utilisent les réactions SK atteignent des sensibilités comprises entre 10 et 40 µg/L qui sont plus qu'adéquates pour le dosage de l'UI. Une plus grande sensibilité a été rapportée par l'utilisation de la méthode cinétique (0,01 µg/L) (429). Les sensibilités rapportées qui

utilisent la technique de la spectrométrie de masse plasmatique couplée par induction (ICP-MS) sont de l'ordre de 2 µg/L (413,434). Sur la base d'une minéralisation initiale complète, l'épreuve SK est très spécifique de l'iode. Cependant une minéralisation incomplète peut conduire à des interférences par des substances telles que les médicaments contenant de l'iode, les thiocyanates, l'acide ascorbique ou les métaux lourds tels que le Hg et l'Ag (429). Entre les mains d'un expert, la réaction SK donne une excellente précision intra- comme inter-essais avec régulièrement un CV < 5 %, à condition que la digestion soit suffisamment contrôlée afin que la récupération du niveau de l'iode soit de 90 à 100 % (429,430,432).

(d) Epreuves sans minéralisation. En plus des méthodes basées sur les minéralisations alcaline et acide, d'autres méthodes publiées pour la détermination de l'iode incluent l'usage de brome en tant qu'acide comme un agent minéralisant ou l'usage de radiations ultraviolettes (430,435). Des électrodes sélectives à l'iode et la spectrométrie de masse ont été utilisées pour mesurer l'iode dans divers fluides y compris l'urine (436,437). Dans ce cas, l'activité de l'iode mesurée se rapproche de la concentration de l'iode. L'inconvénient majeur de cette méthode est que les électrodes sont rapidement « saturées » ce qui exige un polissage fréquent, et de plus d'autres ions tels que les sulfites interfèrent. Cette approche n'est pas idéale pour les dosages de l'iode dans l'urine mais peut être utilisée pour mesurer l'iode dans d'autres fluides et dans les échantillons de produits alimentaires. Bien que non adaptée à la mesure de routine de l'IU, la technique peut être appliquée à l'estimation de la surcharge en iode dans l'urine chez des malades traités à l'amiodarone ou d'autres composés riches en iode (437). Comme l'électrode ne répond qu'à l'iode et pas aux composés iodés, ceci peut être un moyen utile pour mesurer spécifiquement l'iode en présence d'autres composés iodés. Beaucoup d'autres techniques qui sont clairement inadaptées pour un usage clinique de routine incluent l'analyse par activation nucléaire, ou par HPLC. Une méthode qui a été largement rapportée est l'usage de l'ICP-MS (432,438). Cette méthode a montré une bonne compatibilité avec les techniques conventionnelles de la minéralisation qui utilisent la quantification SK (432,433). Cependant, le matériel exigé est onéreux et n'est pas aisément disponible. L'analyse de la dilution isotopique a été appliquée à l'analyse d'urine et de l'eau potable (402). Des mesures *in vivo* du contenu d'iode intra-thyroïdien ont été réalisées en utilisant la fluorescence aux rayons X qui peut avoir de l'intérêt pour l'évaluation des patients en état d'hyperthyroïdie induite par l'amiodarone (419).

Recommandation 55. Mesure de l'Iode urinaire

- L'Auto-analyseur « Technicon » n'est, en principe, plus commercialement disponible, Dès lors, les laboratoires qui désirent entreprendre le dosage de l'iode devront développer des méthodes internes manuelles.
- La spectrométrie de masse est une méthode simple et reproductible qui peut être recommandée si de tels équipements sont déjà disponibles sur place.

- Beaucoup de méthodes de minéralisation simplifiée qui incorporent la colorimétrie SK ont été décrites.
- L'acide perchlorique, utilisé comme réactif de minéralisation par voie humide, ainsi que le chlorate du potassium sont potentiellement explosifs et leur usage exige la disponibilité d'une hotte aspirante dont le coût est relativement élevé. Un système moins aléatoire basé sur l'emploi de persulfate d'ammonium peut être préférable.
- La mesure de l'iode dans des échantillons autres que les urines (ex : tissus, produits alimentaires) peut encore exiger les techniques plus conventionnelles de minéralisation par voie sèche ou humide.
- Les CV inter- et intra-essais devraient être $< 10 \%$ et la récupération de l'ajout d'iode devrait être comprise entre 90 et 100 %.
- Dans les pays industrialisés, il est fréquemment demandé aux laboratoires de biologie d'exécuter des dosages de l'iode urinaire pour déterminer la surcharge d'iode. Une des méthodes simplifiées décrites ci-dessus, ou un kit semi-quantitatif sera la méthode de choix.
- Pour faciliter l'uniformité des unités de mesure de l'iode urinaire, celles-ci devraient être exprimées en μg d'iodure /L d'urine ($\mu\text{g/L}$).

6. Résumé

Dans un futur immédiat, la mesure de l'iode dans les tissus et les fluides biologiques ne jouera certainement pas de rôle clé dans les laboratoires de biologie clinique de routine. Cependant, vu le grand nombre d'individus avec IDD au niveau mondial (2,2 milliards sont affectés) et les rapports récents sur la diminution (aux États-Unis et en Australie) ou l'insuffisance (Europe) de la prise d'iode alimentaire, l'estimation de l'IU comme partie d'études épidémiologiques continuera à être d'un intérêt considérable. Les laboratoires de référence continueront, indubitablement, à utiliser les techniques de minéralisation par voie sèche ou par voie humide, selon la disponibilité des équipements. Les recommandations récentes soulignant que les laboratoires « doivent disposer de plusieurs méthodes différentes pour permettre à l'utilisateur de sélectionner la méthode la mieux adaptée à des besoins spécifiques » apparaissent judicieuses pour les centres qui se spécialisent dans le dosage de l'iode.

3. H. Cytologie thyroïdienne par aspiration à l'aiguille fine.

La prévalence des nodules thyroïdiens palpables chez l'adulte augmente avec l'âge (moyenne 4 à 7 % pour la population des Etats-Unis). Les nodules thyroïdiens sont plus fréquents chez les femmes que chez les hommes (439-441). Chez les adultes, 95 % de ces nodules sont bénins. Par contre, bien que rares (0.22 % à 1.8 %) les nodules thyroïdiens chez les sujets de moins de 21 ans sont plus souvent malins (33 % chez les enfants versus 5 %, chez les adultes) (442-445). Les méthodes actuellement utilisées pour évaluer des nodules thyroïdiens sont l'aspiration par aiguille fine (fine needle aspiration ou FNA), la scintigraphie et l'échographie thyroïdiennes. Les recommandations de "bonnes pratiques" suggèrent que la FNA en première intention est plus performante et d'un meilleur rapport coût/bénéfice que les autres méthodes d'investigation (446). Malgré de telles recommandations, une étude réalisée aux États-Unis en 1996 a montré que la FNA n'était pratiquée, en tant que procédure initiale de diagnostic des nodules thyroïdiens, que dans seulement 53 % des cas (447). Bien que les nodules froids à la scintigraphie soient considérés comme étant à risque de malignité, la plupart des nodules froids sont en réalité des nodules bénins (kystes, nodules colloïdes, adénomes folliculaires, nodules hyper-plasiques et nodules de thyroïdite de Hashimoto). De plus, les nodules "chauds" ou nodules iso-fixants associés à une TSH non complètement freinée, donc à un tissu thyroïdien adjacent normalement fonctionnel et non freiné, peuvent être malins. Le matériel cytologique analysable augmente proportionnellement avec la dimension du nodule (448). Bien que l'échographie puisse être utilisée pour la détection des nodules non palpables, elle ne peut pas différencier les lésions bénignes des lésions malignes. En général, l'échographie est typiquement utilisée pour évaluer les masses kystiques hétérogènes et nodules difficiles à palper (449). Elle est aussi utilisée pour déterminer la dimension des nodules et surveiller leur évolution, vérifier la présence de nodules non palpables qui ont été détectés incidemment par d'autres procédés d'imagerie. Une FNA échoguidée devrait être utilisée pour les nodules hypo-échogènes et quand la cytologie par FNA ne fournit pas de matériel cellulaire analysable (450,451).

1. Indications de la FNA

Tous les nodules solitaires ou prédominants de taille supérieure ou égale à 1 cm de diamètre devraient être évalués par FNA. La FNA est préférée à la scintigraphie ou à l'échographie dans l'évaluation diagnostique de première intention des nodules thyroïdiens (452). Depuis les années 70, où la FNA est couramment pratiquée, le nombre d'interventions chirurgicales thyroïdiennes a diminué de 50 % alors que le pourcentage de cancers a augmenté de 10-15 % à 20-50 % chez les malades opérés pour nodules thyroïdiens (453). La fréquence des faux négatifs de la FNA (cancer non diagnostiqué) est en rapport avec la compétence de l'opérateur et l'expérience du cytopathologiste (454). Les taux de faux négatifs paraissent être inférieurs à 2 % (455).

Recommandation 56. Utilisation de la Cytologie à l'Aiguille Fine (FNA) de la Thyroïde

- La FNA est recommandée pour tous les nodules palpables solitaires ou prédominants, indépendamment de la dimension.

- La FNA est préférée à la scintigraphie et à l'échographie thyroïdiennes comme méthode initiale diagnostique des nodules thyroïdiens. Cependant, une échographie préalable peut aider le médecin qui exécute la FNA.
- Quand la TSH est freinée ou s'il y a une hyperthyroïdie, une scintigraphie peut être indiquée avant la FNA. Cependant, le résultat de la scintigraphie ne devrait pas exclure la nécessité de la FNA.
- Les nodules "chauds" détectés par scintigraphie sont moins enclins à être malins que les nodules "froids".

2. Eléments évoquant un risque élevé de cancer de la thyroïde

Plusieurs facteurs sont associés à un risque accru de carcinome thyroïdien (456-458). Ce sont:

- un âge < 20 ou > 40 ans,
- une taille du nodule > 2cm de diamètre,
- une adénopathie satellite,
- la présence de métastases à distance,
- l'irradiation antérieure de la tête ou du cou,
- une lésion croissant rapidement,
- une dysphonie, dysphagie progressive, ou dyspnée,
- un antécédent familial de cancer thyroïdien papillaire,
- un antécédent familial de cancer thyroïdien médullaire ou MEN Type 2.

Quelques-uns de ces facteurs de risque sont inclus dans les évaluations de l'estimation du risque tumoral. La classification TNM (dimension de la tumeur, présence d'adénopathies, métastases à distance) et l'âge permettent une estimation globale du risque. Plusieurs classifications spécifiques des stades des cancers thyroïdiens ont été élaborées (12). Ces classifications sont utilisées pour fournir les renseignements objectifs nécessaires à l'établissement d'un projet thérapeutique approprié. Bien que la classification TNM soit généralement utilisée, elle peut être prise en défaut dans le cas des tumeurs thyroïdiennes. En particulier, pour les cancers autres que les cancers thyroïdiens, la présence d'adénopathies métastatiques est un facteur de très mauvais pronostic pour la mortalité. Par contraste, les cancers thyroïdiens différenciés surviennent souvent chez les jeunes malades chez qui la présence d'adénopathies métastatiques augmente le risque de récurrences, mais n'a pas obligatoirement une incidence sur la mortalité.

Recommandation 57. Pour les cliniciens

- Il est important que les endocrinologues, chirurgiens, médecins de médecine nucléaire et cytopathologistes agissent de concert pour intégrer les classifications dans le protocole thérapeutique et la surveillance à long terme.

- De préférence, les cliniciens responsables de la prise en charge à long terme du malade devraient être associés au cytopathologiste pour interpréter avec lui les résultats et établir les meilleures stratégies thérapeutiques.

3. Eléments évoquant un risque faible de cancer de la thyroïde

La FNA peut être différée chez les malades à faible risque, en fonction des caractéristiques suivantes:

- des nodules autonomes “ chauds ” (TSH < 0,1 mIU/L).
- des nodules < 1 centimètre, détectés par échographie.
- des malades enceintes qui présentent un nodule isolé. La FNA de nodules détectés pendant la grossesse peut être pratiquée après l'accouchement sans augmenter le risque de morbidité des cancers différenciés de la thyroïde (459). S'il est nécessaire de faire un acte chirurgical pour un nodule pendant la grossesse, cet acte effectué au cours du deuxième trimestre minimise le risque pour le fœtus.
- des goîtres multi-nodulaires avec des nodules < 1 centimètre.
- des nodules rénitents ou de consistance molle.
- une thyroïdite de Hashimoto : thyroïde ferme, de consistance “caoutchouteuse” à la palpation, sans nodules prédominants, en présence d'anticorps anti-TPO.

4. Suivi des malades lorsque la FNA est différée

La fréquence du suivi (c.-à-d. chaque 6 à 24 mois) devrait être adaptée au degré de certitude du diagnostic de bénignité du nodule. L'efficacité du traitement freinateur de la TSH par L-T4 peut être variable. Le but du suivi est d'identifier les malades dont le diagnostic de malignité n'a pas pu être fait, et de reconnaître spécifiquement toute augmentation progressive du volume, pouvant entraîner un retentissement local, essentiellement par la surveillance échographique de la dimension du nodule, ou, si l'échographie n'est pas accessible, par l'examen clinique minutieux. Cela peut être fait en :

- plaçant un calque sur le nodule et en dessinant les contours avec un stylo, et en conservant ce calque dans le dossier du malade,
- mesurant au moyen d'une règle le diamètre du nodule dans deux dimensions
- recherchant par la palpation les adénopathies satellites,
- diagnostiquant toute dysfonction thyroïdienne clinique associée, clinique ou infra clinique, par les dosages répétés de la TSH et des anticorps anti-TPO,
- recherchant des signes de malignité tels que :
 - l'augmentation de volume du nodule ou du goitre,
 - l'augmentation du niveau de la Tg sérique,
 - des signes de compression ou d'envahissement locaux (c.-à-d. dysphagie, dyspnée, toux, douleur, dysphonie),
 - une déviation trachéale,
 - des adénopathies régionales.

5. Recommandations concernant ceux qui doivent réaliser les FNA

L'expérience de la pratique de la FNA est essentielle. Si ce sont le cytologiste ou l'échographiste qui font la FNA, il doit y avoir un échange de renseignements avec le clinicien (460). Si ce sont les cliniciens qui font la FNA, ils devraient être capables de relire les lames avec le cytopathologiste et d'en comprendre les résultats pour recommander le traitement approprié, basé sur le diagnostic cytologique. Idéalement, le clinicien qui fait la FNA devrait être le médecin responsable de la prise en charge à long terme du malade pour assurer la continuité des soins.

Recommandation 58. Sélection des cliniciens qui pratiquent la FNA

Les aspirations à l'aiguille fine appliquées à la glande thyroïde doivent être pratiquées par des cliniciens qui :

- Maîtrisent la technique et font fréquemment des aspirations thyroïdiennes à l'aiguille fine.
- Comprennent l'interprétation des résultats de la cytologie.
- Sont capables d'indiquer le traitement approprié en fonction des résultats de l'aspiration.

6. FNA : Aspects techniques

Pour faire une FNA, il est recommandé d'interrompre la prise d'aspirine ou autres agents qui affectent la coagulation plusieurs jours avant. La FNA est faite au moyen d'aiguilles de calibre 22 à 25 G et de seringues de 10 ou 20 mL qui peuvent ou non être fixées à une "poignée" ou "pistolet". L'aspiration doit aussi peu traumatisante que possible. Quelques médecins préconisent l'utilisation d'un anesthésique local (lidocaïne 1%), d'autres non. Il est recommandé qu'un minimum de deux "passages" soit fait dans plusieurs portions du nodule pour diminuer l'erreur d'échantillonnage. Les lames sont en général¹ fixées dans le réactif de Papanicolaou et colorées. Il est impératif de les fixer immédiatement pour éviter le séchage, et les artéfacts qu'il provoque, et pour préserver les détails nucléaires. Il est aussi utile d'utiliser un colorant rapide, tel que Diff-Quik et d'examiner les lames au moment de l'aspiration pour s'assurer de la validité de l'échantillon pour l'examen cytologique. D'autres lames peuvent être séchées à l'air pour fixation par alcool et coloration (excellent pour détecter la colloïde). Du matériel complémentaire peut être utilisé à partir du culot de centrifugation obtenu après rinçage de l'aiguille, puis inclus dans de l'agar. Les blocs cellulaires peuvent fournir des renseignements histologiques et être utilisés pour des colorations spéciales. Il est important de protéger les lames de manière adéquate pour le transport au laboratoire. Elles doivent être adressées au cytopathologiste avec les renseignements cliniques et les caractéristiques du nodule : dimension localisation, consistance.

Les nodules fermes sont habituellement suspects d'être des carcinomes alors que les nodules rénitents ou de consistance molle suggèrent un processus bénin. Quand le liquide du kyste est aspiré, le volume, la couleur et la présence de sang doivent être signalés, en mentionnant l'existence ou non d'une masse résiduelle après l'aspiration. Si après l'aspiration du kyste, il y

Note du traducteur : beaucoup de cytologistes, en particulier en Europe, préfèrent les lames séchées à l'air et colorées par le May-Grunwald-Giemsa (MGG)¹

a une masse résiduelle, elle doit être à nouveau aspirée. Un liquide d'aspiration clair et incolore, suggère un kyste parathyroïdien, alors qu'un liquide jaune est plus typique d'un kyste thyroïdien d'origine folliculaire. Après aspiration, une pression locale doit être faite au niveau de la zone de ponction pendant 10-15 minutes pour minimiser la probabilité de survenue d'une tuméfaction. Un petit pansement peut être mis sur la zone d'aspiration, en prévenant le patient d'appliquer de la glace en cas d'inconfort ultérieur.

Les renseignements cytologiques fournis par la FNA peuvent être améliorés en appliquant au matériel les techniques de cytométrie de flux et d'immuno-marquage [3.H8]. Tout tissu thyroïdien présent dans un ganglion lymphatique cervical démontre l'existence d'un cancer thyroïdien (dans 99 % des cas) jusqu'à preuve du contraire !

7. L'Évaluation cytologique

S'il n'y a pas localement de cytopathologiste expérimenté en thyroïdologie, il peut être primordial d'adresser les lames pour relecture à un expert à distance. Dans le futur, le développement des techniques de « télé-anatomopathologie » rendra de plus en plus accessible la relecture après transmission électronique d'images des échantillons cytologiques.

Recommandation 59. Sélection du cytopathologiste

- Les cytopathologistes doivent être spécialisés et avoir l'expérience de la cytologie thyroïdienne. Si un cytopathologiste expérimenté n'est pas disponible localement, les lames doivent être envoyées à un autre cytopathologiste, compétent en thyroïdologie.
- Les cytopathologistes devraient être disposés à examiner les lames avec le médecin du malade sur demande.

8. Les colorations spéciales

Des colorations spéciales peuvent être utiles dans les situations suivantes :

-quand le caractère malin ou l'origine thyroïdienne des cellules ne sont pas avérés, utiliser les marquages spécifiques par les anticorps anti-Tg, TPO (MAb 47), galectine-3 et antigène carcino-embryonnaire (ACE) (461-466).

-en cas de suspicion de lymphome, utiliser les immuno-typages des cellules B

-en cas de cancers indifférenciés ou anaplasiques, utiliser les marquages de la vimentine, la P53, la kératine.

-en cas de suspicion de cancer médullaire de la thyroïde, utiliser les marquages de la calcitonine, la neuron-specific-enolase (NSE), la chromogranine et/ou la somatostatine.

9. Les Catégories de diagnostic

Pour classer correctement une lésion thyroïdienne comme étant bénigne, certains cytopathologistes pensent que l'analyse doit porter sur au moins six placards de cellules

folliculaires de 10 à 20 cellules chacun sur deux lames différentes (466-468). Un diagnostic cytologique de malignité peut être fait à partir de moins de cellules, à condition que les caractéristiques cytologiques spécifiques de malignité soient présentes.

Recommandation 60. Les Caractéristiques cytopathologiques

L'interprétation de la cytologie thyroïdienne peut être difficile et être sujette à débat. La quantité de matériel présent sur les lames peut dépendre de la méthode d'aspiration (écho-guidée ou non).

L'évaluation doit prendre en compte :

- La présence ou l'absence de follicules (micro-follicules ou follicules de tailles variables)
- La dimension cellulaire (uniforme ou variable)
- Les caractéristiques de coloration des cellules
- La polarité des cellules (sur bloc cellulaire seulement)
- La présence d'incisures nucléaires, de noyaux clairs
- La présence de nucléoles
- La présence et le type de colloïde (fluide et transparente ou épaisse et visqueuse)
- Une population uniforme de cellules folliculaires ou de cellules de Hürthle
- La présence de lymphocytes

(a) Lésions bénignes (~ 70 % de cas).

Les signes cliniques qui suggèrent une lésion bénigne (mais n'excluent pas nécessairement l'opportunité d'une FNA) sont :

- Une douleur ou une gêne survenant brutalement qui suggère une hémorragie au sein d'un adénome ou d'un kyste, ou une thyroïdite granulomateuse sub-aiguë (cependant, une hémorragie au sein d'un cancer peut également se présenter avec une douleur soudaine),
- des symptômes qui suggèrent une hyperthyroïdie ou une thyroïdite auto-immune (Hashimoto),
- un passé familial de goitres nodulaires bénins, de thyroïdite de Hashimoto ou autre maladie auto-immune,
- un nodule souple, mobile, régulier,
- un goitre multi-nodulaire sans nodule prédominant,
- un nodule médian, au niveau de l'os hyoïde, mobile de haut en bas lors de la protrusion de la langue, évoque un kyste du tractus thyrogllosse.

Les analyses cytologiques et/ou biologiques évoquant une lésion bénigne sont :

- la présence abondante de colloïde fluide,
- des macrophages spumeux,
- un kyste ou une évolution kystique d'un nodule solide,
- un nodule hyperplasique,
- une TSH sérique anormale,
- la présence de lymphocytes et/ou d'un taux élevé d'anticorps anti-TPO (suggèrent une thyroïdite de Hashimoto ou plus rarement un lymphome)

Recommandation 61. Pour les laboratoires & cliniciens

- En plus de la cytologie habituelle, le laboratoire doit pouvoir effectuer les techniques d'immuno-marquage pour CT, Tg, TPO ou Galectin-3 dans les cas difficiles (envoyer à un laboratoire différent si nécessaire).
- Les laboratoires doivent archiver convenablement toutes les lames et les blocs de tissus des malades et les mettre à disposition pour un deuxième avis.
- Les laboratoires de cytopathologie doivent utiliser un compte rendu de FNA standardisé. Le plus simple est d'utiliser quatre catégories de diagnostics : (1) bénin, (2) malin, (3) indéterminé/suspect, et (4) prélèvement non-analysable ou inadéquat. Cela devrait permettre des comparaisons des résultats entre les divers laboratoires.
- Les laboratoires de cytopathologie devraient confronter leurs résultats de FNA avec les cliniciens en citant leurs taux de vrais et faux positifs ou négatifs.

Recommandation 62. Suivi des malades ayant une lésion bénigne

- Certains préconisent de refaire une deuxième FNA plusieurs mois après pour confirmation.
- D'autres ne la recommandent pas, si la première FNA était significative, si le nodule était inférieur à 2 centimètres et si son volume est resté stable sur un suivi d'un an. Dans ce cas, la surveillance par un examen clinique annuel et mesure de la dimension du nodule, de préférence par échographie, est recommandée. Si l'échographie n'est pas disponible, les variations des dimensions du nodule peuvent être faites à partir des calques ou des mesures à la règle.
- Il est recommandé de refaire une FNA si les lésions augmentent de volume ou si le nodule devient cliniquement suspect.

Les lésions bénignes sont essentiellement les suivantes (liste non limitative) :

- un goitre simple,
- un goitre multi-nodulaire,
- un nodule colloïde*,
- un kyste colloïde*,
- un kyste simple*,
- un nodule colloïde remanié,
- une thyroïdite de Hashimoto,
- un nodule hyperplasique.

**Souvent, le matériel cytologique est inadéquat par manque de cellules folliculaires analysables*

(b) Lésions malignes (~ 5-10 % des cas)

Les opinions divergent quant à la nature du geste chirurgical idéal à faire pour les cancers thyroïdiens. Dans la plupart des centres aux États-Unis, la thyroïdectomie quasi-totale ou totale, faite par un chirurgien expérimenté, est l'attitude la plus répandue. En Europe, d'autres opinions existent (469). Le risque de complications est moindre quand l'intervention est faite par un chirurgien qui pratique fréquemment ce type de chirurgie.

(i) Carcinome papillaire (~ 80 % des cancers thyroïdiens). Cette catégorie inclut les tumeurs d'architecture mixte papillaire et vésiculaires ainsi que les variantes des carcinomes papillaires telles que le carcinome à cellules hautes et le carcinome sclérosant diffus (diagnostic histologique).

Deux ou plusieurs des caractères cytologiques ci-dessous suggèrent un cancer papillaire :

- des inclusions nucléaires, des noyaux clairs, en “verre dépoli”, ou de type “œil d'orpheline Annie”,
- des incisures nucléaires (pas seulement quelques-unes),
- des noyaux chevauchants,
- des psammomes (rares),
- des projections papillaires avec axe fibro-vasculaire,
- une colloïde fragmentée.

(ii) Carcinomes Vésiculaires et Tumeurs à cellules de Hürthle (~20 % des cancers thyroïdiens). Les lésions de ce type présentent des caractères cytologiques qui peuvent être compatibles avec le diagnostic de malignité sans en être spécifiques (457,470). Les facteurs qui suggèrent la malignité incluent le sexe masculin, la dimension du nodule ≥ 3 centimètres et un âge > 40 ans (470). Le diagnostic définitif exige la démonstration par l'examen histologique du nodule de la présence d'une invasion capsulaire ou vasculaire. Une nouvelle FNA est habituellement déconseillée car elle fournit rarement des renseignements utiles. Il n'y a actuellement aucun test génétique, histologique ou biochimique capable de différencier les lésions bénignes des lésions malignes dans ce type de tumeurs. La capacité de marqueurs spécifiques de différencier les lésions bénignes et malignes sur les prélèvements cytologiques reste à prouver par des études multicentriques. Plusieurs études suggèrent que l'expression de TPO, mesurée par l'anticorps monoclonal MAb 47 sur les FNA, améliore la spécificité du diagnostic cytologique des lésions histologiquement bénignes par rapport à la cytologie seule (83 % pour l'immuno-marquage par l'anticorps anti-TPO versus 55 % pour la cytologie seule) (461,462). Plus récemment, il a été établi que la Galectin-3, une protéine liant les β -galactosides, est fortement exprimée dans toutes les cellules thyroïdiennes malignes d'origine

folliculaire (carcinomes papillaires, folliculaires, à cellules de Hürthle et anaplasiques) et peu exprimée dans les lésions bénignes (463-466,471). La plupart des chirurgiens pensent qu'un examen extemporané sur coupes congelées a peu d'intérêt pour différencier des lésions malignes et bénignes lorsqu'il s'agit de tumeurs folliculaires ou à cellules de Hürthle (472). Parfois une lobectomie est pratiquée, complétée par une thyroïdectomie 4 à 12 semaines après si une invasion capsulaire ou vasculaire observée sur la pièce opératoire est en faveur d'une lésion maligne. Une étude récente a montré que le pronostic des carcinomes à cellules de Hürthle peut être établi sur des caractéristiques histo-morphologiques précises (473).

Les critères cytologiques/histologiques qui suggèrent un cancer folliculaire ou à cellules de Hürthle incluent :

- des quantités minimales de colloïde libre,
- une forte densité de cellules folliculaires ou de Hürthle,
- des micro-follicules.

D'après la Cytologie. La conclusion devant ces lésions peut être :

- une " tumeur à cellules de Hürthle ",
- une " suspicion de tumeur folliculaire",
- une " tumeur/lésion folliculaire ",
- une " lésion indéterminée " ou " sans diagnostic possible ".

(iii) Carcinome médullaire (1-5 % des cancers thyroïdiens). Ce type de cancer thyroïdien doit être suspecté lorsqu'il existe des antécédents familiaux de cancer médullaire de la thyroïde ou de néoplasie endocrinienne multiple (NEM) de Type 2 [3.F].

Les critères cytologiques/histologiques qui suggèrent ce type de cancer incluent :

- des cellules fusiformes à noyau excentrés,
- un marquage positif de la calcitonine,
- la présence de substance amyloïde,
- des inclusions intra-nucléaires (non spécifiques).

(iv) Carcinome anaplasique (< 1 % des cancers thyroïdiens). Ce type de cancer de la thyroïde, caractérisé par une tumeur thyroïdienne à croissance rapide, ne survient habituellement que chez les sujets âgés. Ces malades ont pu avoir, au préalable, un goitre indolore depuis de nombreuses années. Il est nécessaire de différencier les carcinomes anaplasiques pour lesquels y a peu de possibilités thérapeutiques, des lymphomes de la thyroïde pour lesquels existent des traitements.

Les critères cytologiques/histologiques qui suggèrent ce type de cancer incluent :

- un pléiomorphisme cellulaire extrême,
- des cellules multi-nuclées,
- des cellules géantes.

(v) Lymphome thyroïdien (rare). Il est suggéré par une augmentation rapide d'un goitre chez un malade âgé, souvent porteur d'une thyroïdite de Hashimoto.

Les critères cytologiques/histologiques qui suggèrent ce type de cancer incluent :

- des cellules lymphoïdes monomorphes,
- un immuno-typage des cellules B.

10. FNA inadéquate sans diagnostic possible (~ 5 à 15 %)

Un diagnostic cytologique ne peut pas être établi en cas de ponction de richesse insuffisante ou de mauvaise qualité, ou en cas de mauvaise conservation ou préparation de l'échantillon. Les principales causes d'un manque de cellules analysables sur la FNA sont l'inexpérience du clinicien qui ponctionne, un nombre insuffisant de passages lors de la ponction, la taille de la tumeur, ou la présence d'une lésion kystique. Par définition les cytoponctions adéquates contiennent au moins six placards de cellules folliculaires de 10 à 20 cellules chacun sur deux lames différentes (467). Quand un petit nodule est suspect, il faut répéter la FNA en s'aidant d'un écho-guidage. L'écho-guidage fait passer la proportion de prélèvements inadéquats de 15-20 % à 3-4 % chez ces malades (215,450,451,474,475). La FNA écho-guidée est aussi indiquée pour les nodules < 1,5 centimètre, les nodules kystiques (ou mixtes) pour assurer un prélèvement dans la partie charnue du kyste, les nodules postérieurs ou situés en arrière du manubrium sternal ou tout nodule difficile à palper, surtout chez les patients obèses, musclés ou trapus (215,450,451). La FNA doit être écho-guidée sur les nodules prédominants des goîtres multi-nodulaires afin d'orienter le prélèvement sur le(s) nodule(s) le(s) plus suspect(s) cliniquement.

Recommandation 63. Malades ayant une FNA inadéquate ou sans diagnostic possible

- Répéter la FNA sur les petits nodules permet souvent d'obtenir suffisamment de matériel pour permettre un diagnostic. La deuxième FNA doit de préférence être écho-guidée. L'écho-guidage de la FNA réduit la proportion de prélèvements inadéquats de 15-20 % à 3-4 %.
- La FNA écho-guidée est aussi indiquée pour les nodules < 1,5 centimètre, les nodules kystiques (et mixtes), pour assurer un prélèvement dans la partie charnue, les nodules postérieurs ou situés en arrière du manubrium sternal ou tout nodule supra-centimétrique difficile à palper, surtout chez les patients obèses, musclés ou trapus. Le(s) nodule(s) prédominant(s) au sein d'un goître multi-nodulaire doivent faire l'objet d'un prélèvement écho-guidé.

3. I. Dépistage de l'hypothyroïdie congénitale

La prévalence de l'hypothyroïdie congénitale primaire (HC) (environ 1 sur 3500 naissances) est plus importante que celle des formes secondaires d'origine hypothalamo-hypophysaire (environ 1 pour 100000 naissances). La prévalence est plus élevée au sein de quelques groupes ethniques et accrue dans les régions du monde touchées par la carence iodée (476,477). Ces 25 dernières années, le dépistage d'HC a été pratiqué sur des taches de sang total recueilli sur

du papier buvard, en dosant en premier lieu soit la T4T, soit la TSH. Ce dépistage est pratiqué en routine dans le monde développé en même temps que celui d'autres maladies génétiques. Pour en optimiser l'efficacité, les programmes de dépistage sont fréquemment nationaux ou régionalisés et sont mis en œuvre suivant des recommandations et de strictes exigences contractuelles. Les recommandations pour le dépistage d'HC ont été publiées par l'Académie Américaine de Pédiatrie en 1993, par la Société Européenne d'Endocrinologie Pédiatrique en 1993, et mises à jour en 1999 (478-480).

Les laboratoires d'analyses participant au programme de dépistage peuvent être du secteur public comme du secteur privé mais ils doivent avoir mis en place un programme acceptable d'assurance qualité et participer régulièrement à des contrôles de qualité.

La dysgénésie thyroïdienne qui résulte soit d'une agénésie, d'une hypoplasie de la thyroïde soit d'une thyroïde ectopique est la cause la plus habituelle d'hypothyroïdie congénitale, représentant approximativement 85 % des cas (12). Des mutations inactivantes du récepteur de TSH, ont été rapportées par plusieurs centres de dépistage, mais la prévalence en est encore inconnue. Le phénotype associé à la résistance à la TSH est variable, il apparaît sous deux types : partiel ou sévère. Ceux qui ont une élévation de la TSH due à une résistance partielle à la TSH sont euthyroïdiens, ils ont une T4T normale et ne nécessitent pas de traitement de remplacement par la L-T4. On connaît quelques cas de sécrétion d'isoformes de TSH avec une bio-activité potentialisée dans les syndromes de résistance à l'hormone thyroïdienne [3.C4(g)ii] (244). Une autre cause rare d'HC (six malades connus) est une mutation de l'un de gènes codant pour le facteur de transcription thyroïdienne, TTF-1, TTF-2 et le gène PAX 8. Ces facteurs jouent un rôle clé dans le contrôle de la morphogenèse de la thyroïde, de la différenciation et du développement normal de la thyroïde chez le fœtus. Ils lient la Tg et les promoteurs de la TPO pour réguler la production d'hormones thyroïdiennes.

Recommandation 64. Laboratoires réalisant des dépistages d'hypothyroïdie congénitale chez les nouveau-nés

- Seuls les laboratoires ayant l'expérience des tests immunologiques automatisés, des technologies de l'information, disposant de l'informatisation et d'un personnel convenablement formé peuvent entreprendre les importants volumes d'activité que représente le dépistage de l'hypothyroïdie congénitale.

L'interprétation adéquate de la fonction thyroïdienne de nouveau-nés exige une compréhension de l'interaction entre mère et fœtus. L'iode, l'hormone de libération de la thyrotropine (thyrotropin releasing hormone ou TRH), les médicaments anti-thyroïdiens et les anticorps IgG traversent aisément le placenta. Il n'y a aucun passage trans-placentaire notable de la TSH ou de la tri-iodothyronine. Par opposition, il est maintenant reconnu que, contrairement à une opinion antérieure, la thyroxine traverse le placenta dans des quantités suffisantes pour protéger le fœtus hypothyroïdien des conséquences de la carence en thyroxine, jusqu'à la détection par les programmes de dépistage pratiqués après la naissance

(481). Immédiatement après l'accouchement se produit chez le nouveau-né, une élévation de la TSH pendant les premières 24 heures, probablement en réponse à l'exposition au froid. Chez le nouveau-né à terme, la thyroxine circulante augmente de 2 à 3 fois plus que les concentrations adultes pendant les premières 48 heures, puis se stabilise et revient au niveau des valeurs observées dans le cordon en 5-6 jours. La réponse chez l'enfant prématuré est moins marquée et en rapport inverse avec la prématurité. Les concentrations de T4 et de TSH circulantes restent au-dessus des niveaux des adultes pendant la petite-enfance puis diminuent pendant l'enfance pour arriver à des concentrations d'adultes après la puberté (Tableau 3) (42).

1. Les critères nécessaires aux laboratoires de dépistage de CH

Seuls les laboratoires ayant l'expérience requise dans les procédures automatisées de dosages immunologiques, les technologies de l'information, disposant de moyens informatiques et ayant des personnels convenablement formés devraient entreprendre le dépistage d'HC. Les programmes de dépistage chez les nouveau-nés se basent sur un grand nombre d'échantillons provenant d'une région relativement vaste. La logistique du transport de l'échantillon, c.-à-d. le temps d'acheminement postal, les délais d'enregistrement dans les maternités et ceux nécessaires à ce que l'on réagisse après la sortie du résultat, sont des limitations beaucoup plus significatives du facteur temps pour reconnaître des nourrissons à risque pour CH que la rapidité des dosages eux-mêmes. Les séries de dosages du dépistage devraient être quotidiennes afin que les résultats puissent être disponibles immédiatement et conduisent de suite à une action. Le traitement devrait commencer dès que possible, de préférence pendant les deux premières semaines de vie.

Le nombre minimum de tests de dépistage de nouveau-nés par an qu'un laboratoire devrait traiter peut faire l'objet de débats et se fonde sur le fait que la capacité analytique est idéalement atteinte quand un nombre raisonnable de cas positifs est rencontré et qu'une réduction des coûts est assurée par un volume de dosages plus important. Le programme de dépistage devrait s'assurer que les dosages de confirmation ultérieurs sont bien faits chez les nourrissons ayant un résultat de dépistage positif et qu'un accès à des compétences diagnostiques d'un expert soit disponible. Les laboratoires devraient suivre et contrôler avec soin les taux de résultats faux négatifs comme ceux des faux positifs. Un spécialiste en endocrinologie pédiatrique référant devrait être disponible pour assurer les examens du suivi après le dépistage afin de garantir qu'un diagnostic correct soit établi et que le traitement adapté soit administré.

2. Les stratégies de dépistage

Les méthodes de dépistage devraient être peu onéreuses et faciles à exécuter, et le coût doit en être bas. La plupart des programmes de dépistage de l'hypothyroïdie congénitale sont fondés sur des dosages qui éluent le sang, à partir de taches sur papier buvard, qui sont collectées de nourrissons par piqure du talon. Les réactifs analytiques pour doser les hormones thyroïdiennes dans les éluats sur papier buvard exigent habituellement quelques modifications pour passer sur les différentes plates-formes automatisées de dosages immunologiques utilisées pour cette mesure. Deux approches différentes pour dépister les hormones thyroïdiennes dans les spécimens de taches du sang se sont développées en mesurant les taux

de T4T ou de TSH. Dans tous les cas les résultats devraient être interprétés en utilisant les normes de référence ajustées à l'âge (Tableau 3 et Recommandation 3).

Recommandation 65. Pour laboratoires pratiquant des dosages thyroïdiens pour nouveau-nés et enfants

- Les résultats des dosages thyroïdiens de nouveau-nés doivent être rapportés à des normes de référence spécifiques prenant en compte respectivement la durée de la gestation et l'âge de l'enfant.
- Chaque laboratoire devrait établir ses propres normes en fonction de la méthode utilisée.

(a) Mesure de la T4T dans un premier temps, suivie d'une mesure secondaire éventuelle de la TSH. La plupart des programmes de dépistage nord-américains utilisent une mesure initiale de la T4T, avec un dosage secondaire de la TSH sur les spécimens ayant des niveaux de T4T bas (habituellement inférieurs au 10^{ème} percentile). Historiquement, cette approche a été adoptée parce que le temps de réalisation des premiers dosages de T4T était beaucoup plus court que ceux qui étaient mis au point pour la TSH. Les kits de dosage pour T4T étaient plus fiables si le dépistage était pratiqué plus tôt chez le nouveau-né (habituellement dans les 1-2 premiers jours de vie) et le coût du dosage de T4T était moindre que celui de la TSH. Bien que la mesure de la T4L sérique soit aisément disponible, les méthodes par la T4L ne sont habituellement pas employées pour le dépistage du fait des limitations de la sensibilité dues aux prélèvements réduits pris sur la tache de sang du papier buvard et la haute dilution qui résulte de l'élution du prélèvement (482). L'approche du dépistage par dosage initial de la T4T présente quelques avantages, en particulier dans les programmes où les échantillons ont besoin d'être prélevés plus tôt dans la période de vie du nouveau-né. La T4T est aussi moins influencée par l'afflux de TSH qui suit la coupure du cordon ombilical et qui dure les premières 24 heures. Ces deux facteurs suggèrent que le dépistage par la T4T entraînerait moins de faux positifs quand il est nécessaire de l'effectuer tôt (< 24 heures). En outre, l'approche par le dosage de T4T en premier peut détecter les rares cas d'hypothyroïdie centrale qui ne seraient pas dépistés avec dosage de TSH seul.

Les inconvénients du dépistage de la T4T en premier lieu sont liés aux difficultés de fixer la valeur-limite de T4T suffisamment basse pour minimiser le nombre des faux positifs, mais suffisamment haute pour détecter l'HC chez les nourrissons ayant une thyroïde ectopique qui peuvent avoir des concentrations de T4T au-dessus du 10^{ème} percentile. De plus, l'association d'une T4T basse et d'une TSH normale peut se rencontrer dans plusieurs autres situations : (a) hypothyroïdie d'origine hypothalamo-hypophysaire (b) déficience en thyroxin binding globulin (TBG) (c) prématurité (d) maladie ou (e) une montée différée de la TSH. Dans les programmes conçus pour reconnaître une hypothyroïdie secondaire ou tertiaire, où le suivi de nourrissons a été effectué, seulement 8 cas sur 19 ont été détectés par dépistage par la T4T,

sept ont été diagnostiqués cliniquement avant le résultat du dépistage et quatre, bien qu'ayant des concentrations de T4T basses lors du dépistage, n'ont pas été reconnus (483-485). La carence en TBG n'a aucune conséquence clinique si bien que le traitement de cette entité biologique n'est pas indiqué. Le dépistage par la T4T peut être aussi utile chez les nourrissons ayant un poids de naissance très faible (< 1500 g) chez lesquels la TSH est normale au moment habituel du dépistage, et commence seulement d'augmenter plusieurs semaines plus tard. Cependant, des valeurs de T4T considérablement inférieures sont habituellement constatées chez des nourrissons prématurés par rapport à ceux qui sont nés à terme. (482).

(b) Mesure de la TSH seule. L'Europe et l'essentiel du reste du monde ont adopté la TSH comme dosage de dépistage pour l'HC primaire. Le dépistage par la TSH seule présente des avantages sur celui par la T4T dans des régions présentant une carence iodée, car les nouveau-nés sont plus sensibles aux effets de la carence en iode que les adultes et ces nourrissons ont une fréquence supérieure de niveaux de TSH élevés dans les taches de sang. Le dépistage par la TSH rend possible le contrôle de la supplémentation en iode dans la population de nouveau-nés ce qui est d'un intérêt particulier puisque beaucoup de pays européens présentent encore des carences en iode (486). En outre, il y a maintenant peu de différence de coût entre les réactifs pour la TSH et pour la T4T.

Le seuil limite de TSH utilisé pour le rappel varie selon les programmes. Dans un programme, une approche en deux paliers a été proposée (487). Si l'enfant est âgé de plus de 48 heures et que le résultat initial de TSH de la tache du sang est < 10 mUI/L (unités sur sang total), aucun suivi supplémentaire n'est effectué de manière spécifique. Si la TSH est entre 10 et 20 mUI/L (unités de sang total), une deuxième tache de sang est collectée chez le nourrisson. La TSH est normale dans la plupart de ces prélèvements complémentaires. Cependant, si la TSH est > 20 mUI/L (unités de sang total), l'enfant est rappelé pour être examiné par un pédiatre référent et d'autres dosages de la fonction thyroïdienne sont pratiqués sur un prélèvement sérique. Pour les échantillons prélevés avant l'âge de 48 heures, des valeurs seuils appropriées devraient être utilisées (482). Cette approche assure que les formes les plus légères d'hypothyroïdie caractérisées par seulement une très faible augmentation de la TSH sont bien reconnues, bien que cela produise un nombre de faux positifs plus élevé qui doit être pris en compte par le système. Alors que la plupart des résultats au-dessus de 20 mUI/L sont dus à une HC, il est important d'écarter l'hypothèse d'une ingestion maternelle de médicaments anti-thyroïdiens ou l'usage de solutions antiseptiques iodées lors de l'accouchement comme cause d'élévation transitoire de la TSH.

Recommandation 66. Prématurité et sortie précoce des nouveau-nés

L'afflux de TSH qui suit la coupure du cordon ombilical et qui dure les 24 premières heures peut être différé chez des prématurés et peut conduire à des résultats faux positifs pour la TSH plus nombreux quand les nourrissons sont testés dans les 24 heures suivant la naissance.

- En utilisant la TSH pour le dépistage de nourrissons prématurés, la collecte d'un deuxième prélèvement 2 à 4 semaines après la naissance est recommandée, car dans quelques cas il y a une montée différée de la TSH, peut-être due à l'immaturation du mécanisme de rétro-contrôle hypophyso-thyroïdien.
- L'approche primaire par la T4T peut offrir des avantages pour les nourrissons au poids de naissance très bas ou quand le dépistage ne peut être exécuté que dans les 24 heures suivant la naissance.

3 Dosage de la TSH sur la tache de sang. Les dosages de TSH effectués sur des prélèvements prélevés sur des taches de sang sont indiqués, soit en unités sériques en reliant les calibreurs du sang total aux valeurs sériques comme dans les programmes nord-américains, soit en unités de sang total, comme dans les programmes européens. Les valeurs absolues de TSH sont considérablement inférieures avec la dernière approche, parce qu'une partie du volume de la tache est occupée par les hématies. Cette différence dans la manière de donner les résultats a été source de confusion dans le passé et n'est toujours pas résolue. Il est nécessaire d'augmenter les unités de sang total de 30-50 % pour se rapprocher des unités sériques.

Recommandation 67. Pays présentant une carence en iode

- Le dosage de la TSH seule est recommandé de préférence à celui de T4T avec évaluation secondaire de la TSH pour les pays ayant une carence faible ou modérée en iode.

Les dosages de dépistage pour l'HC exigent la mesure de la TSH sur des taches de sang de 3-4 mm de diamètre seulement. Les nouveaux TSH IMAs de troisième génération ayant des sensibilités fonctionnelles allant jusqu'à 0,02 mUI/L sont bien adaptés pour cela [2.C]. Cependant, tous les fabricants n'ont pas développé de dosage de TSH sur tache du sang car le dépistage est considéré comme un marché trop limité et spécialisé. Les dosages en micro-plaques utilisant des signaux non-isotopiques, tels que la fluorescence, sont bien adaptés pour les prélèvements de taches de sang et ont un usage très répandu. Un avantage de ces systèmes est que comme l'élution de la tache de sang est effectuée dans la cupule de la micro-plaque, toute la TSH du prélèvement est disponible pour une liaison à l'anticorps monoclonal sur les parois de la cupule de la micro-plaque.

Les autres systèmes automatisés qui n'utilisent pas le format de la micro-plaque, peuvent cependant être utilisés avec succès pour les dosages de TSH sur taches de sang. Ceux-ci exigent habituellement une élution autonome de la TSH de la tache de sang et un échantillonnage de l'éluat par l'analyseur automatisé de dosage immunologique. Quelques-uns de ces systèmes ont l'avantage de pouvoir fournir des résultats en 20 minutes et ont un débit maximum de 180 résultats de dosages par heure. En outre, ces systèmes incorporent l'identification positive du prélèvement, en rendant l'identification correcte d'un résultat élevé sur la tache du sang du malade, plus sûre. Un marquage automatisé du papier buvard qui

contient la tache de sang a été mis au point afin que les étiquettes à code-barres ayant un numéro unique, placées sur les tubes de l'élution ou la micro-plaque, soient lues avant marquage. Le même numéro d'identification est alors imprimé sur le papier buvard du patient. L'analyseur automatisé de dosage immunologique lit la même étiquette à code-barre sur les tubes de l'élution et les résultats sont imprimés ou téléchargés sur le serveur du laboratoire en face du numéro d'identification unique du patient et des données démographiques si celles-ci ont été entrées précédemment. Pour les laboratoires sans automatisation, les dosages de TSH utilisant des tubes enduits d'anticorps sont toujours appropriés, mais ne sont pas qualifiés pour une automatisation à haut débit.

Recommandation 68. Critères d'efficacité pour le dépistage par mesure de la TSH sur taches de sang chez les nouveau-nés

- La sensibilité fonctionnelle du dosage de la TSH devrait être au moins de 1,0 mUI/L.
- Le coefficient de variation entre passages devrait être idéalement < 10 % et non supérieur à 20 %.
- Les prélèvements internes du contrôle de qualité devraient couvrir toutes les plages possibles de dosages et doivent être inclus à chaque passage.
- Au moins un des matériels utilisés pour le contrôle de qualité devrait être fourni par un fabricant différent de celui du réactif de la TSH.
- Les niveaux devraient être établis pour le sang total, c.-à-d. être identiques aux prélèvements testés.
- Utiliser le même papier buvard pour les prélèvements, les normes et les contrôles.
- La participation à des programmes externes nationaux et/ou internationaux de contrôle de qualité est indispensable (Appendice B.).

4. Collecte des prélèvements de sang

La technique pour collecter les prélèvements de sang par micro-lancette au talon sur papier buvard est d'une importance extrême. Seulement un papier buvard qui satisfait aux normes NCCLS devrait être utilisé [*Blood on Filter Paper For Neonatal Screening Programs Approved Standard - Third Edition. LA4-A3, Vol 17 N° 16, October 1997. National Committee for Clinical Laboratory Standards*] (488). Cette technique exige un programme de

formation continue, des protocoles bien écrits (avec précision) et l'établissement de critères de qualité pour la collecte des prélèvements.

Recommandation 69. Valeurs seuils de TSH pour le dépistage de nouveau-nés de plus de 48 heures d'âge

Les valeurs rapportées devraient être fournies soit en unités de sang total soit de sérum. Il est nécessaire d'augmenter les unités de sang entier de 30-50 % pour se rapprocher des unités sériques.

La TSH de la tache du sang initiale :

- < 10 mUI/L unités de sang total - aucune action supplémentaire
- entre 10 et 20 mUI/L unités de sang total - répétition du dosage sur une nouvelle tache de sang.
- > 20 mUI/L unités de sang total – rappel de l'enfant pour être examiné par un pédiatre endocrinologue.

La décision du moment du prélèvement est déterminée par les exigences d'autres protocoles de dépistage du nouveau-né et si le prélèvement a lieu à l'hôpital ou à la maison. En Europe, les prélèvements sont généralement obtenus entre 48 heures et 8 jours après la naissance, en fonction de la pratique locale. Dans beaucoup des programmes de dépistage aux Etats-Unis, les pressions économiques qui conduisent à une sortie de maternité plus rapide qu'en Europe ce qui impose que les prélèvements soient faits avant 48 heures de vie. La date de la collecte du prélèvement a une répercussion sur la stratégie de dépistage par la TSH, plus que sur celle de la T4T parce qu'une sécrétion de TSH se produit au moment où le cordon ombilical est coupé. Chez la majorité des nourrissons, l'augmentation de la TSH revient à la normale dans les 24 heures, mais chez quelques-uns, la TSH peut rester élevée jusqu'à 3 jours. Pour les prématurés, un deuxième prélèvement, fait à 2 à 4 semaines après le premier, est recommandé car dans quelques cas il y a une montée différée de la TSH, peut-être due à l'immaturité du mécanisme du retro-contrôle hypophyso-thyroïdien (489).

5. Les examens de confirmation

Les mesures effectuées sur des éluats sur papier buvard ne constituent pas un test de diagnostic mais ont uniquement une valeur de dépistage car les résultats anormaux doivent être confirmés par les méthodes quantitatives habituelles! Les prélèvements de sang pour confirmation devront être effectués par ponction veineuse. Dans certains pays, un prélèvement

du sang est en même temps fait chez la mère pour vérifier sa fonction thyroïdienne. De manière spécifique, les anticorps bloquant les récepteurs de TSH (TBAb/TSBAb) présents chez des mères qui ont été l'objet d'un diagnostic d'hypothyroïdie (en même temps recevant un traitement adapté de remplacement par L-T4) peuvent entraîner une hypothyroïdie transitoire chez le nourrisson (chez 1 sur 180000 nouveau-nés) (301, 490).

Recommandation 70. Les mesures d'éluats sur papier buvard

- Les résultats obtenus sur éluats sur papier buvard n'ont pas de valeur diagnostique. Les valeurs sont au mieux semi-quantitatives et aident à l'identification des individus potentiellement affectés d'une hypothyroïdie congénitale. Tout résultat anormal chez un nouveau-né doit être confirmé avec des dosages thyroïdiens sériques quantitatifs.

Quelques programmes européens préconisent des dosages de suivi par la T4L, TSH et TPOAb sériques chez la mère ainsi que chez le nourrisson. Il est important de noter que les taux de T4L "limites" chez des nourrissons ayant une hypothyroïdie légère sont à comparer aux normes de référence établies par rapport à l'âge pour chaque dosage thyroïdien particulier utilisé (Tableau 3).

Le but des programmes de dépistage d'HC est bien de détecter l'HC et de mettre en œuvre le traitement substitutif par L-T4 dès que possible (avant 2 semaines). Cependant, d'autres tests (supplémentaires) doivent être réalisés pour déterminer l'étiologie de l'HC afin de savoir si la pathologie peut être transitoire, permanente ou due à des causes génétiques (pour un conseil génétique éventuel) (Tableau 11). Quelques-uns de ces tests doivent être pratiqués avant la mise en place du traitement substitutif par L-T4; alors que d'autres peuvent être pratiqués sous traitement. Dans le cas d'une hypothyroïdie transitoire due à un passage trans-placentaire de TBAb/TSBAb, de la mère au nouveau-né, le traitement par L-T4 est indiqué car la présence d'anticorps bloquants chez le nouveau-né inhibe l'action de la TSH, il en résulte une concentration de T4L plus faible (301,491). Une fois les taux des anticorps diminués après une période de trois à six mois, selon l'importance des anticorps présents initialement, la thérapie par L-T4 peut alors être arrêtée progressivement. L'état des anticorps antithyroïdiens de la mère devrait être suivi dans toutes grossesses ultérieures car les anticorps antithyroïdiens peuvent subsister pendant de nombreuses années (492).

Dans beaucoup de cas, au moment du diagnostic d'HC, il est impossible de déterminer si l'hypothyroïdie est permanente ou transitoire. Les indices qui s'associent aux situations transitoires incluent un niveau de TSH > 100 mUI/L, le sexe masculin, une pseudo-hypoparathyroïdie, la prématurité, l'exposition à l'iode ou l'administration de dopamine (484). Dans de tels exemples, il est mieux de gérer le malade comme s'il avait une hypothyroïdie permanente (493). Si le diagnostic n'est pas toujours pas tranché à l'âge de 2 ans, la thérapie par L-T4 devrait être interrompue pendant un mois et le nourrisson surveillé avec des dosages répétés de T4L et de TSH.

Recommandation 71. Dosages de confirmation pour dépistages anormaux (T4T ou TSH)

- Les prélèvements de sang de “ confirmation ” du nouveau-né devront être obtenus par ponction veineuse.
- Quelques programmes européens préconisent des dosages de surveillance seulement chez le nourrisson ; dans certains cas l'état thyroïdien de la mère est également vérifié avec des dosages de T4L, TSH et TPOAb sériques.
- Vérifier chez la mère la présence d'anticorps bloquants les récepteurs de la TSH.
- Utiliser des normes de référence spécifiques pour l'âge et pour la méthode de dosage de T4T et de TSH pour nouveau-nés.

6. Recherche de l'étiologie de l'hypothyroïdie congénitale

Les tests qui peuvent être utilisés pour établir le diagnostic de HC et préciser son étiologie sont indiqués dans le Tableau 11. L'établissement de ce programme d'épreuves à pratiquer est habituellement de la responsabilité d'un pédiatre endocrinologue et non pas du programme de dépistage. La scintigraphie thyroïdienne est utile pour déterminer la présence de tout tissu thyroïdien et son emplacement. Les dosages de thyroglobuline sérique sont plus sensibles que la scintigraphie pour détecter le fonctionnement de tissu thyroïdien résiduel et ils peuvent être normaux dans des cas où la scintigraphie ne montre aucune fixation. La présence d'une glande thyroïde est le mieux déterminée par échographie qui peut être pratiquée même après le début du traitement car la scintigraphie à l'Iode 123 n'est pas possible partout. Beaucoup de cas ne révèlent aucune fixation par la scintigraphie, alors que du tissu thyroïdien est présent en échographie. Dans ce cas, les dosages devraient être orientés vers la détermination d'une erreur innée de la synthèse de la T4 (environ 10 % de cas) ou une cause transitoire telle l'acquisition par passage trans-placentaire d'anticorps maternels bloquant les récepteurs de la TSH (301,491).

Une décroissance > 15 % lors de l'épreuve de chasse de l'iode 123 par le perchlorate suggère une erreur innée de l'organification de l'iode. Des centres spécialisés proposent des examens qui incluent la mesure de l'iode urinaire, des recherches d'une mutation spécifique du gène du co-transporteur sodium/iode, de la TPO ou de la thyroglobuline (494). Les plus communes sont constituées par les défauts de l'oxydation et l'organification de l'iode, et les défauts de couplage qui résultent d'une mutation dans le gène de la TPO. Les mutations dans le gène de la thyroglobuline engendrent une synthèse anormale de la thyroglobuline qui peut entraîner une protéolyse défectueuse et sécrétion diminuée de T4. Enfin les mutations des gènes de la désiodase expliquent les défauts de désiodation.

Tableau 11. Tests diagnostiques pour l'évaluation de l'hypothyroïdie congénitale (HC).**Etablissement du diagnostic de HC****Nouveau né :** TSH, T4L**Mère :** TSH, T4L, TPOAb**Recherche de l'étiologie de l'HC****Nouveau né :**

- Exploration morphologique : déterminer la taille et l'emplacement de la thyroïde par échographie ou scintigraphie
- Explorations biologiques
 - captation de l'iode 123
 - Tg sérique
 - captation de l'iode 123 et test de décharge au perchlorate en cas de suspicion d'un défaut de synthèse des hormones thyroïdiennes
 - dosage de l'iode urinaire en cas de suspicion de carence ou d'excès d'iode

Mère :

En cas de maladie auto-immune, dosage des anticorps anti-récepteur de la TSH (TRAb) ; si positif, dosage aussi chez l'enfant.

Recommandation 72. Détection de l'hypothyroïdie congénitale transitoire (HC)

Comme l'HC peut être transitoire par suite du passage trans-placentaire d'anticorps bloquant les récepteurs de TSH, il est recommandé que le diagnostic soit réévalué dans tous les cas à l'âge de 2 ans.

- À l'âge de 2 ans, un échantillon du sang devrait être obtenu pour un dosage basal de T4L/TSH sériques. Interrompre le traitement par L-T4 et re-doser les T4L/TSH sériques après 2 semaines et une autre fois après 3 semaines. Presque 100 % des enfants ayant une vraie HC ont des taux de TSH élevés après une interruption de 2 semaines du traitement.

7. Surveillance à long terme de malades atteints d'hypothyroïdie congénitale

La plupart des nourrissons et enfants atteints d'HC ont un retro-contrôle hypophyso-thyroïdien négatif normal bien que les seuils de T4 et de TSH soient plus élevés (Tableau 3) (43). Les nourrissons et les enfants diagnostiqués porteurs d'une hypothyroïdie congénitale devraient être surveillés fréquemment pendant les deux premières années de vie utilisant la TSH sérique comme paramètre primaire de suivi avec la T4L comme paramètre secondaire en employant des normes de référence appropriés pour l'âge (Tableau 3) (40). Aux États-Unis, la dose de substitution de L-T4 est ajustée pour amener la TSH en dessous de 20 mUI/L et entraîner un taux de T4 circulante dans la moitié supérieure de la norme de référence ($> 10 \mu\text{g/dl}$ ou 129 nmol/L dans les deux premières semaines de traitement. Les nourrissons sont habituellement maintenus à une dose de LT4 de $10\text{-}15 \mu\text{g/kg/j}$ de poids du corps avec un suivi de la TSH et de la T4 tous les 1-2 mois. En Europe, une dose standard de L-T4 de $50 \mu\text{g/jour}$ est utilisée avec les dosages de la T4 et de la TSH faits au bout de 2 semaines et mensuellement par la suite si possible. L'expérience a montré qu'avec cette dose, le traitement n'a pas besoin d'ajustement pendant les deux premières années. Les changements fréquents de la dose conçus pour garder une dose maximale par kg peuvent mener à un traitement excessif (493).

Une minorité de nourrissons traitée pour une HC révèlent une résistance variable du retro-contrôle hypophyso-thyroïdien, avec des taux de TSH sérique relativement élevés pour la concentration de T4 libre sérique correspondante. Cette résistance apparaît s'améliorer avec l'âge (43). Dans de rares cas, les hypothyroïdies transitoires peuvent résulter du passage trans-placentaire d'anticorps bloquant les récepteurs de la TSH (282,301). Il est recommandé que le diagnostic d'HC soit réévalué dans tous les cas à 2 ans de vie. Spécifiquement, après qu'une évaluation basale de T4L/TSH ait été faite, le traitement par L-T4 est interrompu et T4L/TSH sont re-dosées après 2 semaines et à nouveau après 3 semaines. Presque 100 % des enfants ayant une vraie HC ont une TSH clairement élevée après 2 semaines d'arrêt de traitement.

8. Les cas non diagnostiqués

Aucune épreuve biochimique n'est sûre à 100 % et techniquement exacte. Une étude dans laquelle des contrôles du dépistage ont été faits à l'âge deux semaines a révélé que 7 % des cas d'HC n'ont pas été détectés lorsqu'on a utilisé la stratégie de T4T en premier lieu, et 3 % avec l'approche par la TSH seule. Des recommandations sont nécessaires pour déterminer les implications cliniques, financières et légales des dosages ayant entraîné des faux négatifs dans le dépistage et si un nouveau contrôle systématique fait après 2 semaines, comme cela est pratiqué dans quelques programmes, est souhaitable.

Recommandation 73. Traitement et suivi de nourrissons ayant une hypothyroïdie congénitale

- En Europe, une dose standard de L-T4 de 50 µg/jour est utilisée pour minimiser le risque de sur-traitement en comparaison avec les changements de dose plus fréquents.
- Aux USA, le traitement est généralement commencé avec du L-T4 à une dose de 10-15 µg/kg/jour. Le but est d'élever la T4 circulante au-dessus de 10 µg/dL à la fin de la première semaine.
- Pendant la première année de vie, la T4T est habituellement maintenue dans la moitié supérieure des normes pour l'âge (cible thérapeutique 10-16 µg/dL ou 127-203 nmol/L) ou si la FT4 est utilisée, la cible thérapeutique est entre 1,4 et 2,3 ng/dL (18 et 30 pmol/L) (Tableau 3).
- Les nourrissons et les enfants ayant une hypothyroïdie congénitale diagnostiquée devraient être très fréquemment suivis pendant les deux premières années de vie en utilisant la TSH sérique comme paramètre de surveillance primaire et avec la T4L comme paramètre secondaire, en référence à des normes appropriés pour l'âge.
- La surveillance devrait avoir lieu chaque 1-2 mois pendant la première année de vie, chaque 1-3 mois pendant les seconde et troisième années et chaque 3-6 mois jusqu'à la fin de la croissance.
- Si les niveaux de T4 circulante restent constamment bas et ceux de TSH restent hauts en dépit d'une dose de traitement par L-T4 progressivement augmentée, il est important d'éliminer la possibilité d'une compliance faible en premier lieu.
- La raison la plus fréquente de l'échec de réponse au traitement de remplacement a été l'interférence avec l'adsorption d'aliments à base de soja. La L-T4 ne devrait pas être administrée en combinaison avec toutes substances à base de soja ou avec des médicaments qui contiennent du fer.

9. L'Assurance de Qualité

Tous les programmes de dépistage devraient avoir un système d'audit continu et publier un rapport annuel du résultat de l'audit. De cette manière, une évaluation de chaque aspect de la procédure de dépistage peut être réalisée par rapport aux niveaux de qualité reconnus au niveau national. Bien que les laboratoires se conforment aux normes de qualité en participant régulièrement à des programmes d'assurance de qualité, les phases pré- et post-analytiques du dépistage reçoivent typiquement moins d'attention. Les programmes d'assurance de qualité devraient s'adresser à chacune des phases suivantes :

(a) Phase pré-analytique :

-formation du personnel qui procède au prélèvement de l'échantillon,

- stockage et transport opportun des papiers buvard au laboratoire ,
- relier l'identification de l'échantillon du papier buvard au résultat de l'analyse.

(b) Phase analytique :

- maintenance du matériel,
- contrôle de qualité interne des résultats des papiers buvard,
- participation nationale et internationale externe au contrôle de qualité.

(c) Phase post-analytique :

- coordination du suivi à la suite de dosages anormaux,
- tests de confirmation quand ils sont applicables,
- stockage et archivage approprié des échantillons pour d'autres tests.

10. Rapport annuel

Il devrait inclure les points identifiés par l'audit et être un rapport complet du dépistage de l'HC pour les douze mois antérieurs. Le rapport devrait superviser la distribution des augmentations des concentrations de TSH dans les taches de sang, et il devrait y avoir un organisme où rapporter tous les cas d'HC vraie et un enregistrement des cas d'élévations transitoires de la TSH. L'organisme pourrait également fournir des renseignements sur les cas non-détectés. Un programme de dépistage effectif dépend d'une collaboration étroite entre le laboratoire de dépistage, les pédiatres, les endocrinologues et toutes les personnes impliquées dans le processus de dépistage.

Recommandation 74. Pour les cliniciens

- Répéter les épreuves quand le tableau clinique est en conflit avec les résultats biologiques!
- Les pièges potentiels dans le dépistage sont omniprésents et aucun laboratoire n'est à l'abri d'une erreur !
- Maintenir un haut degré de vigilance. En dépit de toutes les sauvegardes et automatisations des systèmes, les programmes de dépistage manqueront parfois des nourrissons ayant une hypothyroïdie congénitale. Rester vigilant si un résultat de laboratoire indique des valeurs normales de la fonction thyroïdienne.

4. Importance de la collaboration entre le clinicien et le biologiste

Les cliniciens ont besoin de l'aide d'un laboratoire de qualité pour un diagnostic exact et une prise en charge efficace des malades présentant des troubles thyroïdiens. Les laboratoires doivent offrir des méthodes analytiques qui soient diagnostiquement exactes et d'un bon rapport coût-efficacité, ce qui est quelquefois source de conflit. Un bon rapport coût-efficacité

et des soins de qualité exigent que les services du laboratoire ne couvrent pas seulement les besoins de la majorité, mais satisfassent aussi les besoins d'une minorité de malades présentant des troubles thyroïdiens très rares qui défient l'exactitude diagnostique des différents dosages thyroïdiens disponibles. La plupart des études sur le rapport coût-efficacité ne prennent pas en considération les coûts humains et financiers qui résultent d'une prise en charge inappropriée: dosages répétés et/ou inutiles chez des malades présentant un trouble thyroïdien exceptionnel qui défie l'exactitude diagnostique des méthodes de dosages thyroïdiens classiquement utilisées. Ces présentations atypiques entraînent une dépense disproportionnellement élevée des ressources du laboratoire pour poser un diagnostic correct (191). Quelques-unes de ces présentations exceptionnelles sont: les anomalies de la protéine de transport qui perturbent le dosage de la T4L ; la présence d'auto-anticorps anti-Tg (TgAb) qui perturbent la mesure de la Tg sérique ; des médicaments qui interfèrent avec le métabolisme *in vivo* et *in vitro* des hormones thyroïdiennes et les formes sévères de maladies non thyroïdiennes (NTI) qui ont une myriade d'effets sur les résultats des dosages thyroïdiens.

Recommandation 75. Pour les laboratoires et les cliniciens

- Il est essentiel que les biologistes développent une collaboration étroite avec les cliniciens qui utilisent leurs services de laboratoire afin de sélectionner les dosages thyroïdiens présentant les caractéristiques les plus appropriées pour servir la population de patients ciblée.
- Une collaboration active entre le laboratoire et le clinicien garantit des dosages de haute qualité, avec un bon rapport coût-efficacité, utilisés suivant une séquence logique, pour évaluer les présentations anormales de maladies thyroïdiennes et examiner les résultats de dosages thyroïdiens discordants.

Il est primordial que les biologistes collaborent étroitement avec les cliniciens afin d'optimiser les dosages thyroïdiens en fonction des patients concernés. Par exemple, l'effet de maladies non-thyroïdiennes (NTI) sur les résultats du dosage de la T4L n'est pas d'une importance majeure si le laboratoire sert principalement une population ambulatoire.

Par contre, il est très important pour un laboratoire hospitalier d'exclure un dysfonctionnement thyroïdien chez les malades hospitalisés présentant des concentrations anormales d'hormones thyroïdiennes. En général, les médicaments (et d'autres interférences) peuvent perturber l'interprétation de plus de 10 % des résultats de laboratoire, et les dosages thyroïdiens ne sont pas une exception (67,68,98). Il en résulte que des résultats thyroïdiens discordants sont souvent rencontrés en pratique clinique et ils ont besoin d'être interprétés avec un soin considérable via une collaboration entre le biologiste clinique qui produit le résultat du dosage thyroïdien et le clinicien qui prend en charge le malade avec une maladie thyroïdienne suspectée ou avérée.

A. Ce que les cliniciens devraient attendre de leur biologiste

Les médecins dépendent du laboratoire pour leur fournir des résultats de dosages exacts et les aider à interpréter des résultats discordants, que les dosages soient exécutés localement ou par un laboratoire de référence. Il est particulièrement important que le laboratoire fournisse des données aisément disponibles sur les interactions médicamenteuses, les intervalles de référence, les sensibilités, les limites de détection et les interférences qui affectent les méthodes de dosages utilisées. Le laboratoire devrait éviter des changements fréquents ou non-annoncés de méthodes de dosages et agir en collaboration étroite avec les cliniciens avant la mise en œuvre d'un tel changement. Le laboratoire devrait également être prêt à collaborer avec les cliniciens pour développer les données de validation clinique lors de la mise en œuvre de toute nouvelle méthode, fournir les données démontrant la supériorité de la nouvelle méthode de dosage par rapport à l'ancienne, et donner un facteur de conversion, si nécessaire. La valeur diagnostique et les économies financières des stratégies de "dosages réflexes" (par exemple, dosage systématique de la T3L quand la T4L est élevée, ou de la T4L quand la TSH est anormale) sont habituellement spécifiques au site (495). Aux États-Unis, la loi impose aux laboratoires de consulter les cliniciens avant de mettre en œuvre des "dosages réflexes". Les cliniciens devraient attendre de leur laboratoire qu'il soit en contact avec un laboratoire de référence et/ou un autre laboratoire local qui exécute les dosages thyroïdiens par les méthodes d'un fabricant différent. Le contrôle des dosages de l'échantillon par une méthode alternative est essentiel pour savoir si un résultat discordant est dû à un problème technique, une substance interférente dans l'échantillon ou une situation clinique rare (Recommandation 7 et Tableau 1).

Recommandation 76. Les "droits" du malade

- Les médecins devraient avoir le droit d'envoyer des échantillons à des laboratoires non contractuels quand ils peuvent prouver que les résultats des dosages thyroïdiens du laboratoire contractuel ne sont pas diagnostiquement valables ou pertinents.
- Les médecins devraient avoir le droit de demander à leur laboratoire d'envoyer un échantillon à un autre laboratoire pour être mesuré par la méthode d'un fabricant différent si les résultats du dosage sont en désaccord avec la présentation clinique.

Le laboratoire devrait établir et maintenir une collaboration étroite avec des laboratoires de référence spécialisés pour assurer l'accès à des dosages thyroïdiens spécialisés de qualité. Ces dosages spécialisés comprennent des tests pour la Tg, les TPOAb et les TRAb. De plus, un laboratoire de référence offrant des mesures de la T4L par une technique de séparation physique, telle que la dialyse à l'équilibre, devrait être disponible. La dialyse en équilibre peut être nécessaire pour mesurer la T4L dans des circonstances particulières, par exemple chez des patients avec des anomalies de la protéine de transport des hormones thyroïdiennes, pathologies qui perturbent l'exactitude diagnostique des dosages automatisés de la T4L, exécutés dans la plupart des laboratoires cliniques. Dans de rares cas, il peut être nécessaire de collaborer avec un laboratoire de diagnostic moléculaire capable d'identifier les mutations

génétiques de la résistance aux hormones thyroïdiennes ou d'une hyperplasie ou cancer médullaire de la thyroïde.

Comme indiqué dans le Tableau 1 et la Fig. 11, plusieurs situations cliniques, médicaments et interférences dans l'échantillon peuvent entraîner un résultat inexact. Ceci peut entraîner un excès de dosages, un traitement inapproprié, ou dans le cas d'une hypothyroïdie centrale, masquer le besoin d'un traitement. Quelques-unes des erreurs d'interprétation qui peuvent mener à des erreurs sérieuses sont indiquées dans la recommandation 79.

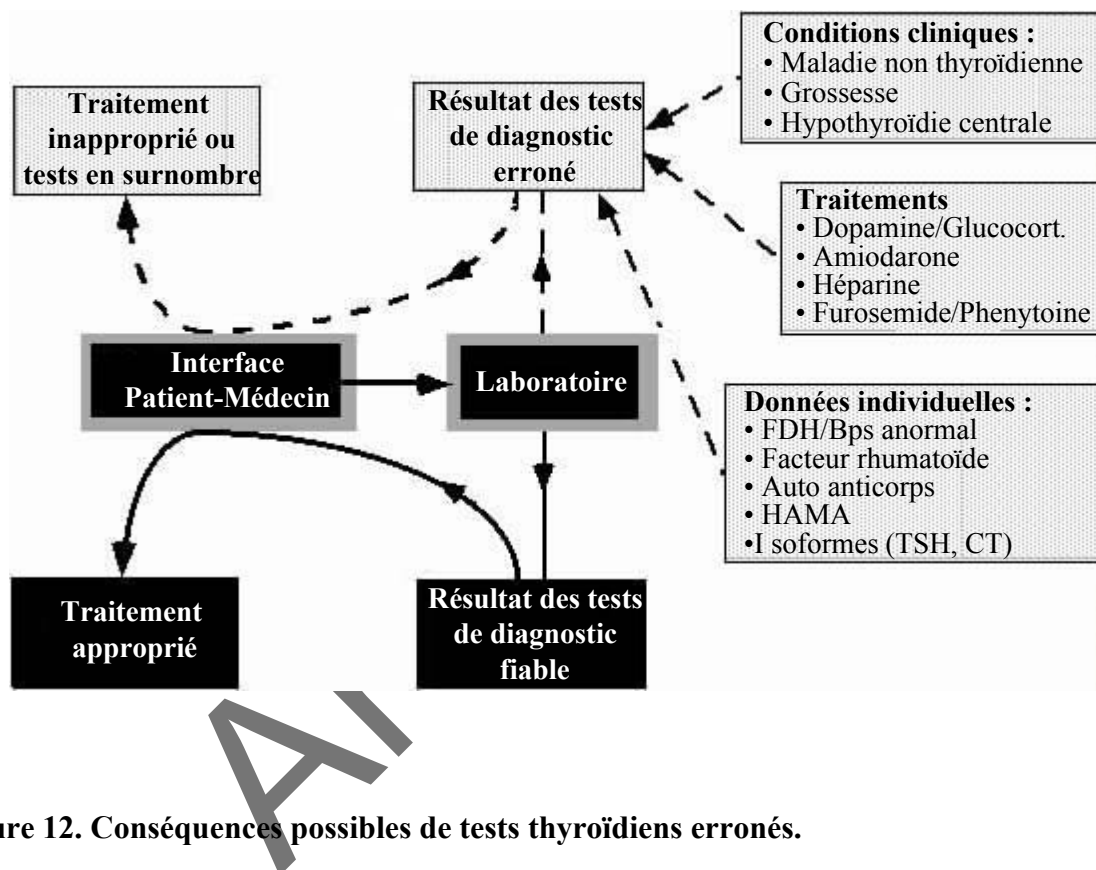


Figure 12. Conséquences possibles de tests thyroïdiens erronés.

Recommandation 77. Pour les fabricants

Les fabricants devraient coopérer étroitement avec les laboratoires qui utilisent leurs produits.

- Les fabricants devraient informer immédiatement tous les utilisateurs de problèmes concernant les réactifs ou des interférences méthodologiques, et faire des recommandations sur la façon de minimiser leurs impacts cliniques.

- Sans en informer préalablement les clients, ils devraient s'abstenir de changer la composition des kits de dosages, même si le but est de minimiser les interférences. Si la procédure devait être changée, ceci devrait être indiqué sur l'étiquette du kit (c.-à-d. par un numéro de version).

B. Ce que les biologistes devraient attendre des cliniciens.

Les biologistes devraient idéalement recevoir avec l'échantillon des médecins des renseignements cliniques valables. Les médecins doivent avoir une compréhension réaliste des limites des dosages thyroïdiens. Par exemple, le médecin devrait savoir que l'activité immunologique et biologique de la TSH peut être modifiée dans certaines situations, par exemple chez des malades présentant une hypothyroïdie centrale. Cela peut résulter de dysfonctionnements hypophysaires dans lesquels la forme immuno-réactive de la TSH a une bio-activité diminuée (197,238).

Recommandation 78. Pour les laboratoires

- Chaque laboratoire clinique devrait collaborer avec un autre laboratoire qui utilise la méthode d'un fabricant différent. Le contrôle des dosages avec résultats discordants par une méthode alternative est essentiel pour déterminer si un résultat discordant est causé par une substance interférente présente dans l'échantillon ou suite à une “ vraie ” maladie (Tableau 1).
- Les laboratoires devraient être en mesure de fournir aux cliniciens les détails sur les principes fondamentaux de la méthode de dosage thyroïdien utilisée avec la sensibilité, la précision inter-séries, les interférences et tout biais relatif à leur méthode ou à d'autres méthodes, et si les dosages sont exécutés localement ou sont envoyés à un laboratoire de référence.

Le clinicien devrait savoir que des résultats de dosages thyroïdiens anormaux peuvent se produire en laboratoire avec certains médicaments et que l'exactitude diagnostique des dosages thyroïdiens utilisés pour les malades avec une NTI est dépendante de la méthode. Sans information clinique, il n'est pas possible pour le laboratoire d'évaluer les conséquences d'une erreur diagnostique (191). Les erreurs d'interprétation de résultats de dosages, comme un déséquilibre transitoire entre la TSH sérique et la T4L secondaire à un traitement récent pour hypo- ou hyperthyroïdie, peuvent avoir des conséquences importantes.

Recommandation 79. Erreurs d'interprétation qui peuvent mener à de graves erreurs

Quand les cliniciens ou les biologistes ne sont pas informés des limites des méthodes de dosages, des erreurs médicales graves peuvent survenir :

- Une thyroïdectomie injustifiée sur la base d'un taux élevé d'hormones thyroïdiennes lié à FDH, à la présence d'auto-anticorps anti-hormones thyroïdiennes ou à une résistance aux hormones thyroïdiennes.
- Un diagnostic manqué de "T3-toxicose" chez un malade âgé fragile avec une NTI.
- Un traitement inapproprié pour hypo- ou hyperthyroïdie chez un malade hospitalisé, suite à des dosages thyroïdiens anormaux provoqués par une NTI ou une interférence médicamenteuse.
- Un diagnostic d'hypothyroïdie centrale manqué, parce que le taux de TSH immuno-réactif a été rapporté comme normal dû à la mesure d'isoformes de TSH biologiquement inactives.
- Un diagnostic manqué de récurrence ou de métastase chez un patient avec un cancer thyroïdien parce que la Tg sérique était inopportunément basse ou indétectable dû à une interférence des TgAb ou à un effet de “ crochet ” avec une mesure IMA.
- Un traitement inapproprié pour cancer différencié de la thyroïde en raison d'une Tg sérique anormalement élevée due à des interférences des TgAb avec une méthode Tg RIA.
- Un diagnostic manqué de thyrotoxicose néonatale, dû au passage trans-placentaire de médicaments anti-thyroïdiens donnés à la mère pour une maladie de Basedow.
- Les cliniciens devraient prendre en compte que des anomalies dans les résultats de test thyroïdiens de laboratoire peuvent provenir de certains traitements et que l'exactitude diagnostique des test thyroïdiens utilisés pour les patients avec une NTI dépend de la méthode utilisée. Sans recul clinique, il est impossible à un laboratoire de connaître les conséquences d'une erreur diagnostique (191). Une mauvaise interprétation de résultats de tests, suite à un déséquilibre transitoire entre la TSH et T4L après une thérapie récente pour hypo- ou hyper thyroïdisme, peut avoir des conséquences non négligeables.

Sans une collaboration étroite entre biologistes et cliniciens, la qualité de l'aide apportée par le laboratoire sera indubitablement imparfaite. C'est particulièrement vrai dans des pays comme les États-Unis, où les laboratoires reçoivent rarement avec l'échantillon des renseignements cliniques et médicamenteux pertinents concernant le patient. L'incapacité du laboratoire à tester la compatibilité du résultat rapporté avec la clinique (c.-à-d. mettre le résultat en rapport

avec le passé clinique et médicamenteux du malade) peut mener à des erreurs, surtout quand les cliniciens connaissent mal les limites techniques et les interférences qui affectent les dosages.

Archived

5. Références bibliographiques

1. Nohr SB, Laurberg P, Borlum KG, Pedersen KM, Johannesen PL, Damm P. Iodine deficiency in pregnancy in Denmark. Regional variations and frequency of individual iodine supplementation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993;72:350-3.
2. Glinioer D. Pregnancy and iodine. *Thyroid* 2001;11:471-81.
3. Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, Flanders DW, Gunter EW, Maberly GF et al. Iodine nutrition in the United States. Trends and public health implications: iodine excretion data from National Health and Nutrition Examination Surveys I and III (1971-1974 and 1988-1994). *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3398-400.
4. Wartofsky L, Glinioer D, Solomon D, Nagataki S, Lagasse R, Nagayama Y et al. Differences and similarities in the diagnosis and treatment of Graves disease in Europe, Japan and the United States. *Thyroid* 1990;1:129-35.
5. Singer PA, Cooper DS, Levy EG, Ladenson PW, Braverman LE, Daniels G et al. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. *JAMA* 1995;273:808-12.
6. Singer PA, Cooper DS, Daniels GH, Ladenson PW, Greenspan FS, Levy EG et al. Treatment Guidelines for Patients with Thyroid Nodules and Well-differentiated Thyroid Cancer. *Arch Intern Med* 1996;156:2165-72.
7. Vanderpump MPJ, Ahlquist JAO, Franklyn JA and Clayton RN. Consensus statement for good practice and audit measures in the management of hypothyroidism and hyperthyroidism. *Br Med J* 1996;313:539-44.
8. Laurberg P, Nygaard B, Glinioer D, Grussendorf M and Orgiazzi J. Guidelines for TSH-receptor antibody measurements in pregnancy: results of an evidence-based symposium organized by the European Thyroid Association. *Eur J Endocrinol* 1998;139:584-6.
9. Cobin RH, Gharib H, Bergman DA, Clark OH, Cooper DS, Daniels GH et al. AAACE/AAES Medical/Surgical Guidelines for Clinical Practice: Management of Thyroid Carcinoma. *Endocrine Pract* 2001;7:203-20.

10. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, Bagchi N, Bigos ST, Levy EG et al. American Thyroid Association Guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Arch Intern Med* 2000;160:1573-5.
11. Brandi ML, Gagel RJ, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C et al. Consensus Guidelines for Diagnosis and Therapy of MEN Type 1 and Type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5658-71.
12. Werner and Ingbar's "The Thyroid". A Fundamental and Clinical Text. Lippincott-Raven, Philadelphia 2000. Braverman LE and Utiger RD eds.
13. DeGroot LJ, Larsen PR, Hennemann G, eds. The Thyroid and Its Diseases. (www.thyroidmanager.org) 2000.
14. Piketty ML, D'Herbomez M, Le Guillouzie D, Lebtahi R, Cosson E, Dumont A et al. Clinical comparison of three labeled-antibody immunoassays of free triiodothyronine. *Clin Chem* 1996;42:933-41.
15. Sapin R, Schlienger JL, Goichot B, Gasser F and Grucker D. Evaluation of the Elecsys free triiodothyronine assay; relevance of age-related reference ranges. *Clin Biochem* 1998;31:399-404.
16. Robbins J. Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding. In "Hormones in Blood". Academic Press, London 1996. Gray CH, James VHT, eds. pp 96-110.
17. Demers LM. Thyroid function testing and automation. *J Clin Ligand Assay* 1999;22:38-41.
18. Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, Flanders WD, Gunter EW, Spencer CA et al. Serum thyrotropin, thyroxine and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:489-99.
19. Wardle CA, Fraser WD and Squire CR. Pitfalls in the use of thyrotropin concentration as a first-line thyroid-function test. *Lancet* 2001;357:1013-4.
20. Spencer CA, LoPresti JS, Patel A, Guttler RB, Eigen A, Shen D et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:453-60.

21. Meikle, A. W., J. D. Stringham, M. G. Woodward and J. C. Nelson. Hereditary and environmental influences on the variation of thyroid hormones in normal male twins. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:588-92.
22. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH and Laurberg P. Narrow individual variations in serum T4 and T3 in normal subjects: a clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1068-72.
23. Cooper, D. S., R. Halpern, L. C. Wood, A. A. Levin and E. V. Ridgway. L-thyroxine therapy in subclinical hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1984;101:18-24.
24. Biondi B, Fazio E, Palmieri EA, Carella C, Panza N, Cittadini A et al. Left ventricular diastolic dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;2064-7.
25. Hak AE, Pols HAP, Visser TJ, Drexhage HA, Hofman A and Witteman JCM. Subclinical Hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med* 2000;132:270-8.
26. Michalopoulou G, Alevizaki M, Piperigos G, Mitsibounas D, Mantzos E, Adamopoulos P et al. High serum cholesterol levels in persons with 'high-normal' TSH levels: should one extend the definition of subclinical hypothyroidism? *Eur J Endocrinol* 1998;138:141-5.
27. Beck-Peccoz P, Brucker-Davis F, Persani L, Smallridge RC and Weintraub BD. Thyrotropin-secreting pituitary tumors. *Endocrine Rev* 1996;17:610-38.
28. Brucker-Davis F, Oldfield EH, Skarulis MC, Doppman JL and Weintraub BD. Thyrotropin-secreting pituitary tumors: diagnostic criteria, thyroid hormone sensitivity and treatment outcome in 25 patients followed at the National Institutes of Health. *J Clin Endocrinol Metab* 76 1999;:1089-94.
29. Oliveira JH, Persani L, Beck-Peccoz P and Abucham J. Investigating the paradox of hypothyroidism and increased serum thyrotropin (TSH) levels in Sheehan's syndrome: characterization of TSH carbohydrate content and bioactivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1694-9.
30. Uy H, Reasner CA and Samuels MH. Pattern of recovery of the hypothalamic-pituitary thyroid axis following radioactive iodine therapy in patients with Graves' disease. *Amer J Med* 1995;99:173-9.

31. Hershman JM, Pekary AE, Berg L, Solomon DH and Sawin CT. Serum thyrotropin and thyroid hormone levels in elderly and middle-aged euthyroid persons. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:823-8.
32. Fraser CG. Age-related changes in laboratory test results. Clinical applications. *Drugs Aging* 1993;3:246-57.
33. Fraser CG. 2001. Biological Variation: from principles to practice. AACC Press, Washington DC.
34. Drinka PJ, Siebers M and Voeks SK. Poor positive predictive value of low sensitive thyrotropin assay levels for hyperthyroidism in nursing home residents. *South Med J* 1993;86:1004-7.
35. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM, Appleton D, Bates D, Rodgers H et al. The incidence of thyroid disorders in the community; a twenty year follow up of the Whickham survey. *Clin Endocrinol* 1995;43:55-68.
36. Sawin CT, Geller A, Kaplan MM, Bacharach P, Wilson PW, Hershman JM et al. Low serum thyrotropin (thyroid stimulating hormone) in older persons without hyperthyroidism. *Arch Intern Med* 1991;151:165-8.
37. Parle JV, Maisonneuve P, Sheppard MC, Boyle P and Franklyn JA. Prediction of all-cause and cardiovascular mortality in elderly people from one low serum thyrotropin result: a 10-year study. *Lancet* 2001;358:861-5.
38. Nelson JC, Clark SJ, Borut DL, Tomei RT and Carlton EI. Age-related changes in serum free thyroxine during childhood and adolescence. *J Pediatr* 1993;123:899-905.
39. Adams LM, Emery JR, Clark SJ, Carlton EI and Nelson JC. Reference ranges for newer thyroid function tests in premature infants. *J Pediatr* 1995;126:122-7.
40. Lu FL, Yau KI, Tsai KS, Tang JR, Tsao PN and Tsai WY. Longitudinal study of serum free thyroxine and thyrotropin levels by chemiluminescent immunoassay during infancy. *Taiwan Erh K'o i Hseh Hui Tsa Chih* 1999;40:255-7.
41. Zurakowski D, Di Canzio J and Majzoub JA. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin and free thyroxine. *Clin Chem* 1999;45:1087-91.
42. Fisher DA, Nelson JC, Carlton Ei and Wilcox RB. Maturation of human hypothalamic-pituitary-thyroid function and control. *Thyroid* 2000;10:229-34.

43. Fisher DA, Schoen EJ, La Franchi S, Mandel SH, Nelson JC, Carlton EI and Goshi JH. The hypothalamic-pituitary-thyroid negative feedback control axis in children with treated congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2722-7.
44. Penny R, Spencer CA, Frasier SD and Nicoloff JT. Thyroid stimulating hormone (TSH) and thyroglobulin (Tg) levels decrease with chronological age in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:177-80.
45. Verheecke P. Free triiodothyronine concentration in serum of 1050 euthyroid children is inversely related to their age. *Clin Chem* 1997;43:963-7.
46. Glinier D, De Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steirteghem A et al. Regulation of maternal thyroid function during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:276-87.
47. Glinier D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocrinol Rev* 1997;18:404-33.
48. Weeke J, Dybkjaer L, Granlie K, Eskjaer Jensen S, Kjaerulff E, Laurberg P et al. A longitudinal study of serum TSH and total and free iodothyronines during normal pregnancy. *Acta Endocrinol* 1982;101:531-7.
49. Pedersen KM, Laurberg P, Iversen E, Knudsen PR, Gregersen HE, Rasmussen OS et al. Amelioration of some pregnancy associated variation in thyroid function by iodine supplementation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1078-83.
50. Nohr SB, Jorgensen A, Pedersen KM and Laurberg P. Postpartum thyroid dysfunction in pregnant thyroid peroxidase antibody-positive women living in an area with mild to moderate iodine deficiency: Is iodine supplementation safe? *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3191-8.
51. Panesar NS, Li CY and Rogers MS. Reference intervals for thyroid hormones in pregnant Chinese women. *Ann Clin Biochem* 2001;38:329-32.
52. Nissim M, Giorda G, Ballabio M, D'Alborton A, Boichichio D, Orefice R et al. Maternal thyroid function in early and late pregnancy. *Horm Res* 1991;36:196-202.
53. Talbot JA, Lambert A, Anobile CJ, McLoughlin JD, Price A, Weetman AP et al. The nature of human chorionic gonadotropin glycoforms in gestational thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol* 2001;55:33-9.

54. Jordan V, Grebe SK, Cooke RR, Ford HC, Larsen PD, Stone PR et al. Acidic isoforms of chorionic gonadotrophin in European and Samoan women are associated with hyperemesis gravidarum and may be thyrotrophic. *Clin Endocrinol* 1999;50:619-27.
55. Goodwin TM, Montoro M, Mestman JH, Pekary AE and Hershman JM. The role of chorionic gonadotropin in transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1333-7.
56. Hershman JM. Human chorionic gonadotropin and the thyroid: hyperemesis gravidarum and trophoblastic tumors. *Thyroid* 1999;9:653-7.
57. McElduff A. Measurement of free thyroxine (T4) in pregnancy. *Aust NZ J Obst Gynecol* 1999;39:158-61.
58. Christofides, N., Wilkinson E, Stoddart M, Ray DC and Beckett GJ. Assessment of serum thyroxine binding capacity-dependent biases in free thyroxine assays. *Clin Chem* 1999;45:520-5.
59. Roti E, Gardini E, Minelli R, Bianconi L, Flisi M. Thyroid function evaluation by different commercially available free thyroid hormone measurement kits in term pregnant women and their newborns. *J Endocrinol Invest* 1991;14:1-9.
60. Stockigt JR. Free thyroid hormone measurement: a critical appraisal. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2001;30:265-89.
61. Mandel SJ, Larsen PR, Seely EW and Brent GA. Increased need for thyroxine during pregnancy in women with primary hypothyroidism. *NEJM* 1990;323:91-6.
62. Burrow GN, Fisher DA and Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. *N Engl J Med* 1994;331:1072-8.
63. Pop VJ, De Vries E, Van Baar AL, Waelkens JJ, De Rooy HA, Horsten M et al. Maternal thyroid peroxidase antibodies during pregnancy: a marker of impaired child development? *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3561-6.
64. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, K. G. Williams JR, Gagnon J, O'Heir CE et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *NEJM* 1999;341:549-55.
65. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol* 1999;50:147-8.

66. Radetti G, Gentili L, Paganini C, Oberhofer R, Deluggi I and Delucca A. Psychomotor and audiological assessment of infants born to mothers with subclinical thyroid dysfunction in early pregnancy. *Minerva Pediatr* 2000;52:691-8.
67. Surks MI and Sievert R. Drugs and thyroid function. *NEJM* 1995;333:1688-94.
68. Kailajarvi M, Takala T, Gronroos P, Tryding N, Viikari J, Irjala K et al. Reminders of drug effects on laboratory test results. *Clin Chem* 2000;46:1395-1400.
69. Brabant A, Brabant G, Schuermeyer T, Ranft U, Schmidt FW, Hesch RD et al. The role of glucocorticoids in the regulation of thyrotropin. *Acta Endocrinol* 1989;121:95-100.
70. Samuels MH and McDaniel PA. Thyrotropin levels during hydrocortisone infusions that mimic fasting-induced cortisol elevations: a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3700-4.
71. Kaptein EM, Spencer CA, Kamiel MB and Nicoloff JT. Prolonged dopamine administration and thyroid hormone economy in normal and critically ill subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51:387-93.
72. Geffner DL and Hershman JM. Beta-adrenergic blockade for the treatment of hyperthyroidism. *Am J Med* 1992;93:61-8.
73. Meurisse M, Gollogly MM, Degauque C, Fumal I, Defechereux T and Hamoir E. Iatrogenic thyrotoxicosis: causal circumstances, pathophysiology and principles of treatment- review of the literature. *World J Surg* 2000;24:1377-85.
74. Martino E, Aghini-Lombardi F, Mariotti S, Bartelena L, Braverman LE and Pinchera A. Amiodarone: a common source of iodine-induced thyrotoxicosis. *Horm Res* 1987;26:158-71.
75. Martino E, Bartelena L, Bogazzi F and Braverman LE. The effects of amiodarone on the Thyroid. *Endoc Rev* 2001;22:240-54.
76. Daniels GH. Amiodarone-induced thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3-8.
77. Harjai KJ and Licata AA. Effects of amiodarone on thyroid function. *Ann Intern Med* 1997;126:63-73.
78. Caron P. Effect of amiodarone on thyroid function. *Press Med* 1995;24:1747-51.
79. Bartelena L, Grasso L, Brogioni S, Aghini-Lombardi F, Braverman LE and Martino E. Serum interleukin-6 in amiodarone-induced thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:423-7.

80. Eaton SE, Euinton HA, Newman CM, Weetman AP and Bennet WM. Clinical experience of amiodarone-induced thyrotoxicosis over a 3-year period: role of colour-flow Doppler sonography. *Clin Endocrinol* 2002;56:33-8.
81. Lazarus JH. The effects of lithium therapy on thyroid and thyrotropin-releasing hormone. *Thyroid* 1998;8:909-13.
82. Kusalic M and Engelsmann F. Effect of lithium maintenance therapy on thyroid and parathyroid function. *J Psych Neurosci* 1999;24:227-33.
83. Oakley PW, Dawson AH and Whyte IM. Lithium: thyroid effects and altered renal handling. *Clin Toxicol* 2000;38:333-7.
84. Mendel CM, Frost PH, Kunitake ST and Cavalieri RR. Mechanism of the heparin-induced increase in the concentration of free thyroxine in plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:1259-64.
85. Iitaka M, Kawasaki S, Sakurai S, Hara Y, Kuriyama R, Yamanaka K et al. Serum substances that interfere with thyroid hormone assays in patients with chronic renal failure. *Clin Endocrinol* 1998;48:739-46.
86. Bowie LJ, Kirkpatrick PB and Dohnal JC. Thyroid function testing with the TDx: Interference from endogenous fluorophore. *Clin Chem* 1987;33:1467.
87. DeGroot LJ and Mayor G. Admission screening by thyroid function tests in an acute general care teaching hospital. *Amer J Med* 1992;93:558-64.
88. Kaptein EM. Thyroid hormone metabolism and thyroid diseases in chronic renal failure. *Endocrinol Rev* 1996;17:45-63.
89. Van den Berghe G, De Zegher F and Bouillon R. Acute and prolonged critical illness as different neuroendocrine paradigms. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1827-34.
90. Van den Berhe G. Novel insights into the neuroendocrinology of critical illness. *Eur J Endocrinol* 2000;143:1-13.
91. Wartofsky L and Burman KD. Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the "euthyroid sick syndrome". *Endocrinol Rev* 1982;3:164-217.
92. Spencer CA, Eigen A, Duda M, Shen D, Qualls S, Weiss S et al. Sensitive TSH tests - specificity limitations for screening for thyroid disease in hospitalized patients. *Clin Chem* 1987;33:1391-1396.

93. Stockigt JR. Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness. *Clin Chem* 1996;42:188-92.
94. Nelson JC and Weiss RM. The effects of serum dilution on free thyroxine (T4) concentration in the low T4 syndrome of nonthyroidal illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;61:239-46.
95. Chopra IJ, Huang TS, Beredo A, Solomon DH, Chua Teco GN. Serum thyroid hormone binding inhibitor in non thyroidal illnesses. *Metabolism* 1986;35:152-9.
96. Wang R, Nelson JC and Wilcox RB. Salsalate administration - a potential pharmacological model of the sick euthyroid syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3095-9.
97. Sapin R, Schliener JL, Kaltenbach G, Gasser F, Christoffides N, Roul G et al. Determination of free triiodothyronine by six different methods in patients with non-thyroidal illness and in patients treated with amiodarone. *Ann Clin Biochem* 1995;32:314-24.
98. Docter R, van Toor H, Krenning EP, de Jong M and Hennemann G. Free thyroxine assessed with three assays in sera of patients with nonthyroidal illness and of subjects with abnormal concentrations of thyroxine-binding proteins. *Clin Chem* 1993;39:1668-74.
99. Wilcox RB, Nelson JC and Tomei RT. Heterogeneity in affinities of serum proteins for thyroxine among patients with non-thyroidal illness as indicated by the serum free thyroxine response to serum dilution. *Eur J Endocrinol* 1994;131:9-13.
100. Liewendahl K, Tikanoja S, Mahonen H, Helenius T, Valimaki M and Tallgren LG. Concentrations of iodothyronines in serum of patients with chronic renal failure and other nonthyroidal illnesses: role of free fatty acids. *Clin Chem* 1987;33:1382-6.
101. Sapin R, Schlienger JL, Gasser F, Noel E, Lioure B, Grunenberger F. Intermethod discordant free thyroxine measurements in bone marrow-transplanted patients. *Clin Chem* 2000;46:418-22.
102. Chopra IJ. Simultaneous measurement of free thyroxine and free 3,5,3'-triiodothyronine in undiluted serum by direct equilibrium dialysis/radioimmunoassay: evidence that free triiodothyronine and free thyroxine are normal in many patients with the low triiodothyronine syndrome. *Thyroid* 1998;8:249-57.

103. Hamblin PS, Dyer SA, Mohr VS, Le Grand BA, Lim C-F, Tuxen DB, Topliss DJ and Stockigt JR. Relationship between thyrotropin and thyroxine changes during recovery from severe hypothyroxinemia of critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:717-22.
104. Brent GA and Hershman JM. Thyroxine therapy in patients with severe nonthyroidal illnesses and low serum thyroxine concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63:1-8.
105. De Groot LJ. Dangerous dogmas in medicine: the nonthyroidal illness syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:151-64.
106. Burman KD and Wartofsky L. Thyroid function in the intensive care unit setting. *Crit Care Clin* 2001;17:43-57.
107. Behrend EN, Kempainen RJ and Young DW. Effect of storage conditions on cortisol, total thyroxine and free thyroxine concentrations in serum and plasma of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1998;212:1564-8.
108. Oddie TH, Klein AH, Foley TP and Fisher DA. Variation in values for iodothyronine hormones, thyrotropin and thyroxine binding globulin in normal umbilical-cord serum with season and duration of storage. *Clin Chem* 1979;25:1251-3.
109. Koliakos G, Gaitatzi M and Grammaticos P. Stability of serum TSH concentration after non refrigerated storage. *Minerva Endocrinol* 1999;24:113-5.
110. Waite KV, Maberly GF and Eastman CJ. Storage conditions and stability of thyrotropin and thyroid hormones on filter paper. *Clin Chem* 1987;33:853-5.
111. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
112. Norden AGM, Jackson RA, Norden LE, Griffin AJ, Barnes MA and Little JA. Misleading results for immunoassays of serum free thyroxine in the presence of rheumatoid factor. *Clin Chem* 1997;43:957-62.
113. Covinsky M, Laterza O, Pfeifer JD, Farkas-Szallasi T and Scott MG. Lambda antibody to *Escherichia coli* produces false-positive results in multiple immunometric assays. *Clin Chem* 2000;46:1157-61.
114. Martel J, Despres N, Ahnadi CE, Lachance JF, Monticello JE, Fink G, Ardemagni A, Banfi G, Tovey J, Dykes P, John R, Jeffery J and Grant AM. Comparative multicentre

- study of a panel of thyroid tests using different automated immunoassay platforms and specimens at high risk of antibody interference. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:785-93.
115. Howanitz PJ, Howanitz JH, Lamberson HV and Ennis KM. Incidence and mechanism of spurious increases in serum Thyrotropin. *Clin Chem* 1982;28:427-31.
 116. Boscato, L. M. and M. C. Stuart. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.
 117. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-56.
 118. Sapin R and Simon C. False hyperprolactinemia corrected by the use of heterophilic antibody-blocking agent. *Clin Chem* 2001;47:2184-5.
 119. Feldt-Rasmussen U, Petersen PH, Blaabjerg O and Horder M. Long-term variability in serum thyroglobulin and thyroid related hormones in healthy subjects. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1980;95:328-34.
 120. Browning MCK, Ford RP, Callaghan SJ and Fraser CG. Intra-and interindividual biological variation of five analytes used in assessing thyroid function: implications for necessary standards of performance and the interpretation of results. *Clin Chem* 1986;32:962-6.
 121. Lum SM and Nicoloff JT. Peripheral tissue mechanism for maintenance of serum triiodothyronine values in a thyroxine-deficient state in man. *J Clin Invest* 1984;73:570-5.
 122. Spencer CA and Wang CC. Thyroglobulin measurement:- Techniques, clinical benefits and pitfalls. *Endocrinol Metab Clin N Amer* 1995;24:841-63.
 123. Weeke J and Gundersen HJ. Circadian and 30 minute variations in serum TSH and thyroid hormones in normal subjects. *Acta Endocrinol* 1978;89:659-72.
 124. Brabant G, Prank K, Hoang-Vu C and von zur Muhlen A. Hypothalamic regulation of pulsatile thyrotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:145-50.
 125. Fraser CG, Petersen PH, Ricos C and Haeckel R. Proposed quality specifications for the imprecision and inaccuracy of analytical systems for clinical chemistry. *Eur J Clin Chem Biochem* 1992;30:311-7.
 126. Rodbard, D. Statistical estimation of the minimal detectable concentration ("sensitivity") for radioligand assays. *Anal Biochem* 1978;90:1-12.
 127. Ekins R and Edwards P. On the meaning of "sensitivity". *Clin Chem* 1997;43:1824-31.

128. Fuentes-Arderiu X and Fraser CG. Analytical goals for interference. *Ann Clin Biochem* 1991;28:393-5.
129. Petersen PH, Fraser CG, Westgard JO and Larsen ML. Analytical goal-setting for monitoring patients when two analytical methods are used. *Clin Chem* 1992;38:2256-60.
130. Fraser CG and Petersen PH. Desirable standards for laboratory tests if they are to fulfill medical needs. *Clin Chem* 1993;39:1453-5.
131. Stockl D, Baadenhuijsen H, Fraser CG, Libeer JC, Petersen PH and Ricos C. Desirable routine analytical goals for quantities assayed in serum. Discussion paper from the members of the external quality assessment (EQA) Working Group A on analytical goals in laboratory medicine. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:157-69.
132. Plebani M, Giacomini A, Beghi L, de Paoli M, Roveroni G, Galeotti F, Corsini A and Fraser CG. Serum tumor markers in monitoring patients: interpretation of results using analytical and biological variation. *Anticancer Res* 1996;16:2249-52.
133. Browning MC, Bennet WM, Kirkaldy AJ and Jung RT. Intra-individual variation of thyroxine, triiodothyronine and thyrotropin in treated hypothyroid patients: implications for monitoring replacement therapy. *Clin Chem* 1988;34:696-9.
134. Harris EK. Statistical principles underlying analytic goal-setting in clinical chemistry. *Am J Clin Pathol* 1979;72:374-82.
135. Nelson JC and Wilcox RB. Analytical performance of free and total thyroxine assays. *Clin Chem* 1996;42:146-54.
136. Evans SE, Burr WA and Hogan TC. A reassessment of 8-anilino-1-naphthalene sulphonic acid as a thyroxine binding inhibitor in the radioimmunoassay of thyroxine. *Ann Clin Biochem* 1977;14:330-4.
137. Karapitta CD, Sotiroudis TG, Papadimitriou A and Xenakis A. Homogeneous enzyme immunoassay for triiodothyronine in serum. *Clin Chem* 2001;47:569-74.
138. De Brabandere VI, Hou P, Stockl D, Theinpont LM and De Leenheer AP. Isotope dilution-liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry for the determination of serum thyroxine as a potential reference method. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1998;12:1099-103.

139. Tai SSC, Sniegowski LT and Welch MJ. Candidate reference method for total thyroxine in human serum: Use of isotope-dilution liquid chromatography-mass spectrometry with electrospray ionization. *Clin Chem* 2002;48:637-42.
140. Thienpont LM, Fierens C, De Leenheer AP and Przywara L. Isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/electro-spray ionization-tandem mass spectrometry for the determination of triiodo-L-thyronine in serum. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1999;13:1924-31.
141. Sarne DH, Refetoff S, Nelson JC and Linarelli LG. A new inherited abnormality of thyroxine-binding globulin (TBG-San Diego) with decreased affinity for thyroxine and triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:114-9.
142. Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid* 2000;10:141-9.
143. Beck-Peccoz P, Romelli PB, Cattaneo MG, Faglia G, White EL, Barlow JW et al. Evaluation of free T4 methods in the presence of iodothyronine autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:736-9.
144. Sakata S, Nakamura S and Miura K. Autoantibodies against thyroid hormones or iodothyronine. *Ann Intern Med* 1985;103:579-89.
145. Despres N and Grant AM. Antibody interference in thyroid assays: a potential for clinical misinformation. *Clin Chem* 1998;44:440-54.
146. Hay ID, Bayer MF, Kaplan MM, Klee GG, Larsen PR and Spencer CA. American Thyroid Association Assessment of Current Free Thyroid Hormone and Thyrotropin Measurements and Guidelines for Future Clinical Assays. *Clin Chem* 1991;37:2002 - 2008.
147. Ekins R. The science of free hormone measurement. *Proc UK NEQAS Meeting* 1998;3:35-59.
148. Wang R, Nelson JC, Weiss RM and Wilcox RB. Accuracy of free thyroxine measurements across natural ranges of thyroxine binding to serum proteins. *Thyroid* 2000;10:31-9.
149. Nelson JC, Wilcox BR and Pandian MR. Dependence of free thyroxine estimates obtained with equilibrium tracer dialysis on the concentration of thyroxine-binding globulin. *Clin Chem* 1992;38:1294-1300.

150. Ekins R. The free hormone hypothesis and measurement of free hormones. *Clin Chem* 1992;38:1289-93.
151. Ekins RP. Ligand assays: from electrophoresis to miniaturized microarrays. *Clin Chem* 1998;44:2015-30.
152. Ekins R. Analytic measurements of free thyroxine. *Clin Lab Med* 1993;13:599-630.
153. Nusynowitz, M. L. Free-thyroxine index. *JAMA* 1975;232:1050.
154. Larsen PR, Alexander NM, Chopra IJ, Hay ID, Hershman JM, Kaplan MM et al. Revised nomenclature for tests of thyroid hormones and thyroid-related proteins in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1089-94.
155. Burr WA, Evans SE, Lee J, Prince HP, Ramsden DB. The ratio of thyroxine to thyroxine-binding globulin measurement in the evaluation of thyroid function. *Clin Endocrinol* 1979;11:333-42.
156. Attwood EC and Atkin GE. The T4: TBG ratio: a re-evaluation with particular reference to low and high serum TBG levels. *Ann Clin Biochem* 1982;19:101-3.
157. Szpunar WE, Stoffer SS and DiGiulio W. Clinical evaluation of a thyroxine binding globulin assay in calculating a free thyroxine index in normal, thyroid disease and sick euthyroid patients. *J Nucl Med* 1987;28:1341-3.
158. Nelson JC and Tomei RT. Dependence of the thyroxin/thyroxin-binding globulin (TBG) ratio and the free thyroxin index on TBG concentrations. *Clin Chem* 1989;35:541-4.
159. Sterling K and Brenner MA. Free thyroxine in human serum: Simplified measurement with the aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* 1966;45:153-60.
160. Schulssler GC and Plager JE. Effect of preliminary purification of ¹³¹-Thyroxine on the determination of free thyroxine in serum. *J Clin Endocrinol* 1967;27:242-50.
161. Nelson JC and Tomei RT. A direct equilibrium dialysis/radioimmunoassay method for the measurement of free thyroxin in undiluted serum. *Clin Chem* 1988;34:1737-44.
162. Tikanoja SH. Ultrafiltration devices tested for use in a free thyroxine assay validated by comparison with equilibrium dialysis. *Scand J Clin Lab Invest* 1990;50:663-9.
163. Ellis SM and Ekins R. Direct measurement by radioimmunoassay of the free thyroid hormone concentrations in serum. *Acta Endocrinol (Suppl)* 1973;177:106-110.
164. Weeke J and Orskov H. Ultrasensitive radioimmunoassay for direct determination of free triiodothyronine concentration in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1975;35:237-44.

165. Surks MI, Hupart KH, Chao P and Shapiro LE. Normal free thyroxine in critical nonthyroidal illnesses measured by ultrafiltration of undiluted serum and equilibrium dialysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:1031-9.
166. Holm SS andreasen L, Hansen SH, Faber J and Staun-Olsen P. Influence of adsorption and deproteinization on potential free thyroxine reference methods. *Clin Chem* 2002;48:108-114.
167. Jaume JC, Mendel CM, Frost PH, Greenspan FS, Laughton CW. Extremely low doses of heparin release lipase activity into the plasma and can thereby cause artifactual elevations in the serum-free thyroxine concentrations as measured by equilibrium dialysis. *Thyroid* 1996;6:79-83.
168. Stevenson HP, Archbold GP, Johnston P, Young IS, Sheridan B. Misleading serum free thyroxine results during low molecular weight heparin treatment. *Clin Chem* 1998;44:1002-7.
169. Laji K, Rhidha B, John R, Lazarus J and Davies JS. Artifactual elevations in serum free thyroxine and triiodothyronine concentrations during heparin therapy. *QJM* 2001;94:471-3.
170. Lim CF, Bai Y, Topliss DJ, Barlow JW and Stockigt JR. Drug and fatty acid effects on serum thyroid hormone binding. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:682-8.
171. Czako, G., M. H. Zweig, C. Benson and M. Ruddel. On the albumin-dependence of measurements of free thyroxin. II Patients with non-thyroidal illness. *Clin Chem* 1987;33:87-92.
172. Csako G, Zweig MH, Glickman J, Ruddel M and K. J. Direct and indirect techniques for free thyroxin compared in patients with nonthyroidal illness. II. Effect of prealbumin, albumin and thyroxin-binding globulin. *Clin Chem* 1989;35:1655-62.
173. Csako G, Zweig MH, Glickman J, Kestner J and Ruddel M. Direct and indirect techniques for free thyroxin compared in patients with nonthyroidal illness. I. Effect of free fatty acids. *Clin Chem* 1989;35:102-9.
174. Ross HA and Benraad TJ. Is free thyroxine accurately measurable at room temperature? *Clin Chem* 1992;38:880-6.

175. Van der Sluijs Veer G, Vermes I, Bonte HA and Hoorn RKJ. Temperature effects on Free Thyroxine Measurement: Analytical and Clinical Consequences. *Clin Chem* 1992;38:1327-31.
176. Fisher DA. The hypothyroxinemia of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1701-3.
177. Stockigt JR, Stevens V, White EL and Barlow JW. Unbound analog radioimmunoassays for free thyroxin measure the albumin-bound hormone fraction. *Clin Chem* 1983;29:1408-10.
178. Aravelo G. Prevalence of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in serum samples received for thyroid testing. *Clin Chem* 1991;37:1430-1.
179. Sapin R and Gasser F. Anti-solid phase antibodies interfering in labeled-antibody assays for free thyroid hormones. *Clin Chem* 1995;45:1790-1.
180. Inada M and Sterling K. Thyroxine transport in thyrotoxicosis and hypothyroidism. *J Clin Invest* 1967;46:1442-50.
181. Lueprasitsakul W, Alex S, Fang SL, Pino S, Irmischer K, Kohrle J et al. Flavonoid administration immediately displaces thyroxine (T4) from serum transthyretin, increases serum free T4 and decreases serum thyrotropin in the rat. *Endocrinol* 1990;126:2890-5.
182. Stockigt JR, Lim CF, Barlow J, Stevens V, Topliss DJ, Wynne KN. High concentrations of furosemide inhibit plasma binding of thyroxine. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59:62-6.
183. Hawkins RC. Furosemide interference in newer free thyroxine assays. *Clin Chem* 1998;44:2550-1.
184. Wang R, Nelson JC and Wilcox RB. Salsalate and salicylate binding to and their displacement of thyroxine from thyroxine-binding globulin, transthyrin and albumin. *Thyroid* 1999;9:359-64.
185. Munro SL, Lim C-F, Hall JG, Barlow JW, Craik DJ, Topliss DJ and Stockigt JR. Drug competition for thyroxine binding to transthyretin (prealbumin): comparison with effects on thyroxine-binding globulin. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:1141-7.
186. Stockigt JR, Lim C-F, Barlow JW and Topliss DJ. 1997. *Thyroid hormone transport*. Springer Verlag, Heidelberg. 119 pp.

187. Surks MI and Defesi CR. Normal free thyroxine concentrations in patients treated with phenytoin or carbamazepine: a paradox resolved. *JAMA* 1996;275:1495-8.
188. Ross HA. A dialysis method for the measurement of free iodothyronine and steroid hormones in blood. *Experientia* 1978;34:538-9.
189. Sapin R. Serum thyroxine binding capacity-dependent bias in five free thyroxine immunoassays: assessment with serum dilution experiments and impact on diagnostic performance. *Clin Biochem* 2001;34:367-71.
190. Law LK, Cheung CK and Swaminathan R. Falsely high thyroxine results by fluorescence polarization in sera with high background fluorescence. *Clin Chem* 1988;34:1918.
191. Kricka LJ. Interferences in Immunoassay - still a threat. *Clin Chem* 2000;46:1037-8.
192. McBride JH, Rodgerson DO and Allin RE. Choriogonadotrophin interference in a sensitive assay for Thyrotropin. *Clin Chem* 1987;33:1303-4.
193. Ritter D, Stott R, Grant N and Nahm MH. Endogenous antibodies that interfere with Thyroxine fluorescence polarization assay but not with radioimmunoassay or EMIT. *Clin Chem* 1993;39:508-11.
194. DeGroot LJ, Larsen PR, Refetoff S and Stanbury JB. *The Thyroid and its Diseases*. Fifth Edition, 1984; John Wiley & Sons, Inc., New York:266-7.
195. Beck-Peccoz P, Amr S, Menezes-Ferreira NM, Faglia G and Weintraub BD. Decreased receptor binding of biologically inactive thyrotropin in central hypothyroidism: effect of treatment with thyrotropin-releasing hormone. *N Engl J Med* 1985;312:1085-90.
196. Beck-Peccoz P and Persani L. Variable biological activity of thyroid-stimulating hormone. *Eur J Endocrinol* 1994;131:331-40.
197. Persani L, Ferretti E, Borgato S, Faglia G and Beck-Peccoz P. Circulating thyrotropin bioactivity in sporadic central hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3631-5.
198. Rafferty B and Gaines Das R. Comparison of pituitary and recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in a multicenter collaborative study: establishment of the first World Health Organization reference reagent for rhTSH. *Clin Chem* 1999;45:2207-15.
199. Persani L, Borgato S, Romoli R, Asteria C, Pizzocaro A and Beck-Peccoz P. Changes in the degree of sialylation of carbohydrate chains modify the biological properties of

- circulating thyrotropin isoforms in various physiological and pathological states. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2486-92.
200. Gershengorn MC and Weintraub BD. Thyrotropin-induced hyperthyroidism caused by selective pituitary resistance to thyroid hormone. A new syndrome of "inappropriate secretion of TSH". *J Clin Invest* 1975;56:633-42.
 201. Faglia G, Beck-Peccoz P, Piscitelli G and Medri G. Inappropriate secretion of thyrotropin by the pituitary. *Horm Res* 1987;26:79-99.
 202. Spencer CA, Takeuchi M and Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. *Clinical Chemistry* 1996;42:141-145.
 203. Laurberg P. Persistent problems with the specificity of immunometric TSH assays. *Thyroid* 1993;3:279-83.
 204. Spencer CA, Schwarzbein D, Guttler RB, LoPresti JS and Nicoloff JT. TRH stimulation test responses employing third and fourth generation TSH assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:494-498.
 205. Vogeser M, Weigand M, Fraunberger P, Fischer H and Cremer P. Evaluation of the ADVIA Centaur TSH-3 assay. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:331-4.
 206. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyn M, MacKenzie F, Beckett GJ and Wilkinson E. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays for thyrotropin (TSH): impact on reliability of measurement of subnormal concentration. *Clin Chem* 1995;41:367-74.
 207. Tunbridge WM, Evered DC, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, Evans JG, Young E, Bird T and Smith PA. The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. *Clin Endocrinol* 1977;7:481-93.
 208. Rago T, Chiovato L, Grasso L, Pinchera A and Vitti P. Thyroid ultrasonography as a tool for detecting thyroid autoimmune diseases and predicting thyroid dysfunction in apparently healthy subjects. *J Endocrinol Invest* 2001;24:763-9.
 209. Hershman JM and Pittman JA. Utility of the radioimmunoassay of serum thyrotropin in man. *Ann Intern Med* 1971;74:481-90.
 210. Becker DV, Bigos ST, Gaitan E, Morris JC, Rallison ML, Spencer CA, Sugawara M, Middlesworth LV and Wartofsky L. Optimal use of blood tests for assessment of thyroid function. *JAMA* 1993;269:2736.

211. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G and Ridgway EC. The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study. *Arch Intern Med* 2000;160:19-27.
212. Skamene A and Patel YC. Infusion of graded concentrations of somatostatin in man: pharmacokinetic and differential inhibitory effects on pituitary and islet hormones. *Clin Endocrinol* 1984;20:555-64.
213. Berghout A, Wiersinga WM, Smits NJ and Touber JL. Interrelationships between age, thyroid volume, thyroid nodularity and thyroid function in patients with sporadic nontoxic goiter. *Am J Med* 1990;89:602-8.
214. Parle JV, Franklyn JA, Cross KW, Jones SC and Sheppard MC. Prevalence and follow-up of abnormal thyrotropin (TSH) concentrations in the elderly in the United Kingdom. *Clin Endocrinol* 1991;34:77-83.
215. Danese D, Sciacchitano S, Farsetti A, Andreoli M and Pontecorvi A. Diagnostic accuracy of conventional versus sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. *Thyroid* 1998;8:15-21.
216. McDermott MT and Ridgway EC. Subclinical hypothyroidism is mild thyroid failure and should be treated. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4585-90.
217. Chu JW and Crapo LM. The treatment of subclinical hypothyroidism is seldom necessary. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4591-9.
218. Lewis GF, Alessi CA, Imperial JG and Refetoff S. Low serum free thyroxine index in ambulating elderly is due to a resetting of the threshold of thyrotropin feedback suppression. *JCEM* 1991;73:843-9.
219. Pearce CJ and Himsworth RL. Total and free thyroid hormone concentrations in patients receiving maintenance replacement treatment with thyroxine. *Br Med J* 1984;288:693-5.
220. Fish LH, Schwarz HL, Cavanaugh MD, Steffes MW, Bantle JP, Oppenheimer JH. Replacement dose, metabolism and bioavailability of levothyroxine in the treatment of hypothyroidism. *N Engl J Med* 1987;316:764-70.
221. Sawin CT, Herman T, Molitch ME, London MH and Kramer SM. Aging and the thyroid. Decreased requirement for thyroid hormone in older hypothyroid patients. *Amer J Med* 1983;75:206-9.

222. Davis FB, LaMantia RS, Spaulding SW, Wemann RE and Davis PJ. Estimation of a physiologic replacement dose of levothyroxine in elderly patients with hypothyroidism. *Arch Intern Med* 1984;144.
223. Arafah BM. Estrogen therapy may necessitate an increase in thyroxine dose for hypothyroidism. *NEJM* 2001;344:1743-9.
224. Scheithauer BW, Kovacs K, Randall RV and Ryan N. Pituitary gland in hypothyroidism. Histologic and immunocytologic study. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:499-504.
225. Ain KB, Pucino F, Shiver T and Banks SM. Thyroid hormone levels affected by time of blood sampling in thyroxine-treated patients. *Thyroid* 1993;3:81-5.
226. Chorazy PA, Himelhoch S, Hopwood NJ, Greger NG and Postellon DC. Persistent hypothyroidism in an infant receiving a soy formula: case report and review of the literature. *Pediatrics* 1995;96:148-50.
227. Dulgeroff AJ and Hershman JM. Medical therapy for differentiated thyroid carcinoma. *Endocrinol Rev* 1994;15:500-15.
228. Pujol P, Daures JP, Nsakala N, Baldet L, Bringer J and Jaffiol C. Degree of thyrotropin suppression as a prognostic determinant in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4318-23.
229. Cooper DS, Specker B, Ho M, Sperling M, Ladenson PW, Ross DS, Ain KB, Bigos ST, Brierley JD, Haugen BR, Klein I, Robbins J, Sherman SI, Taylor T and Maxon HR 3rd. Thyrotropin suppression and disease progression in patients with differentiated thyroid cancer: results from the National thyroid Cancer Treatment Cooperative Registry. *Thyroid* 1999;8:737-44.
230. Hurley DL and Gharib H. Evaluation and management of multinodular goiter. *Otolaryngol Clin North Am* 1996;29:527-40.
231. Bayer MF, Macoviak JA and McDougall IR. Diagnostic performance of sensitive measurements of serum thyrotropin during severe nonthyroidal illness: Their role in the diagnosis of hyperthyroidism. *Clin Chem* 1987;33:2178-84.
232. Lum SM, Kaptein EM and Nicoloff JT. Influence of nonthyroidal illnesses on serum thyroid hormone indices in hyperthyroidism. *West J Med* 1983;138:670-5.
233. Faglia G, Bitensky L, Pinchera A, Ferrari C, Paracchi A, Beck-Peccoz P, Ambrosi B and Spada A. Thyrotropin secretion in patient with central hypothyroidism: Evidence for

- reduced biological activity of immunoreactive thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;48:989-98.
234. Faglia G, Beck-Peccoz P, Ballabio M and Nava C. Excess of beta-subunit of thyrotropin (TSH) in patients with idiopathic central hypothyroidism due to the secretion of TSH with reduced biological activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:908-14.
 235. Faglia G. The clinical impact of the thyrotropin-releasing hormone test. *Thyroid* 1998;8:903-8.
 236. Trejbal D, Sulla I, Trejbalova L, Lazurova I, Schwartz P and Machanova Y. Central hypothyroidism - various types of TSH responses to TRH stimulation. *Endocr Regul* 1994;28:35-40.
 237. Faglia G, Ferrari C, Paracchi A, Spada A and Beck-Peccoz P. Triiodothyronine response to thyrotropin releasing hormone in patients with hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol* 1975;4:585-90.
 238. Horimoto M, Nishikawa M, Ishihara T, Yoshikawa N, Yoshimura M and Inada M. Bioactivity of thyrotropin (TSH) in patients with central hypothyroidism: comparison between in vivo 3,5,3'-triiodothyronine response to TSH and in vitro bioactivity of TSH. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1124-8.
 239. Refetoff S, Weiss RE and Usala SJ. The syndromes of resistance to thyroid hormone. *Endocr Rev* 1993;14:348-99.
 240. Weiss RE, Hayashi Y, Nagaya T, Petty KJ, Murata Y, Tunca H, Seo H and Refetoff S. Dominant inheritance of resistance to thyroid hormone not linked to defects in the thyroid hormone receptors alpha or beta genes may be due to a defective co-factor. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4196-203.
 241. Snyder D, Sesser D, Skeels M et al. Thyroid disorders in newborn infants with elevated screening T4. *Thyroid* 1997;7 (Suppl 1):S1-29 (abst).
 242. Refetoff S. 2000. Resistance to Thyroid Hormone. *In* The Thyroid. Braverman LE and Utiger RD, editor. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 1028-43.
 243. Beck-Peccoz P and Chatterjee VKK. The variable clinical phenotype in thyroid hormone resistance syndrome. *Thyroid* 1994;4:225-32.

244. Persani L, Asteria C, Tonacchera M, Vitti P, Krishna V, Chatterjee K and Beck-Peccoz P. Evidence for the secretion of thyrotropin with enhanced bioactivity in syndromes of thyroid hormone resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:1034-9.
245. Sarne DH, Sobieszczyk S, Ain KB and Refetoff S. Serum thyrotropin and prolactin in the syndrome of generalized resistance to thyroid hormone: responses to thyrotrophin-releasing hormone stimulation and triiodothyronine suppression. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1305-11.
246. Ercan-Fang S, Schwartz HL, Mariash CN and Oppenheimer JH. Quantitative assessment of pituitary resistance to thyroid hormone from plots of the logarithm of thyrotropin versus serum free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2299-303.
247. Safer JD, Colan SD, Fraser LM and Wondisford FE. A pituitary tumor in a patient with thyroid hormone resistance: a diagnostic dilemma. *Thyroid* 2001;11:281-91.
248. Marcocci C and Chiovato L. 2000. Thyroid -directed antibodies. *In* *Thyroid*. B. L. a. U. RD, editor. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 414-31.
249. Chiovato L, Bassi P, Santini F, Mammoli C, Lapi P, Carayon P and Pinchera A. Antibodies producing complement-mediated thyroid cytotoxicity in patients with atrophic or goitrous autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1700-5.
250. Guo J, Jaume JC, Rapoport B and McLachlan SM. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG1, but not IgG4, autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:925-31.
251. Doullay F, Ruf J, Codaccioni JL and Carayon P. Prevalence of autoantibodies to thyroperoxidase in patients with various thyroid and autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991;9:237-44.
252. Radetti G, Persani L, Moroder , Cortelazzi D, Gentili L, Beck-Peccoz P. Transplacental passage of anti-thyroid autoantibodies in a pregnant woman with auto-immune thyroid disease. *Prenatal Diagnosis* 1999;19:468-71.
253. Heithorn R, Hauffa BP and Reinwein D. Thyroid antibodies in children of mothers with autoimmune thyroid disorders. *Eur J Pediatr* 1999;158:24-8.
254. Feldt-Rasmussen. Anti-thyroid peroxidase antibodies in thyroid disorders and non thyroid autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991;9:245-51.

255. Mariotti S, Chiovato L, Franceschi C and Pinchera A. Thyroid autoimmunity and aging. *Exp Gerontol* 1999;33:535-41.
256. Ericsson UB, Christensen SB and Thorell JI. A high prevalence of thyroglobulin autoantibodies in adults with and without thyroid disease as measured with a sensitive solid-phase immunosorbent radioassay. *Clin Immunol Immunopathol* 1985;37:154-62.
257. Feldt-Rasmussen U, Hoier-Madsen M, Rasmussen NG, Hegedus L and Hornnes P. Anti-thyroid peroxidase antibodies during pregnancy and postpartum. Relation to postpartum thyroiditis. *Autoimmunity* 1990;6:211-4.
258. Premawardhana LD, Parkes AB, AMMARI F, John R, Darke C, Adams H and Lazarus JH. Postpartum thyroiditis and long-term thyroid status: prognostic influence of Thyroid Peroxidase Antibodies and ultrasound echogenicity. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:71-5.
259. Johnston AM and Eagles JM. Lithium-associated clinical hypothyroidism. Prevalence and risk factors. *Br. J Psychiatry* 1999;175:336-9.
260. Bell TM, Bansal AS, Shorthouse C, Sandford N and Powell EE. Low titre autoantibodies predict autoimmune disease during interferon alpha treatment of chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:419-22.
261. Ward DL and Bing-You RG. Autoimmune thyroid dysfunction induced by interferon-alpha treatment for chronic hepatitis C: screening and monitoring recommendations. *Endoc Pract* 2001;7:52-8.
262. Carella C, Mazziotti G, Morisco F, Manganella G, Rotondi M, Tuccillo C, Sorvillo F, Caporaso N and Amato G. Long-term outcome of interferon-alpha-induced thyroid autoimmunity and prognostic influence of thyroid autoantibody pattern at the end of treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1925-9.
263. Feldt-Rasmussen U, Schleusener H and Carayon P. Meta-analysis evaluation of the impact of thyrotropin receptor antibodies on long term remission after medical therapy of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:98-103.
264. Estienne V, Duthoit C, Di Costanzo, Lejeune PJ, Rotondi M, Kornfeld S et al. Multicenter study on TGPO autoantibodies prevalence in various thyroid and non-thyroid diseases: relationships with thyroglobulin and thyroperoxidase autoantibody parameters. *Eur J Endocrinol* 1999;141:563-9.

265. Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. *FEBS Lett* 1985;190:147-52.
266. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G and Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:661-9.
267. Rubello D, Pozzan GB, Casara D, Girelli ME, Boccato s, Rigon F, Baccichetti C, Piccolo M, Betterle C and Busnardo B. Natural course of subclinical hypothyroidism in Down's syndrome: prospective study results and therapeutic considerations. *J Endocrinol Invest* 1995;18:35-40.
268. Karlsson B, Gustafsson J, Hedov G, Ivarsson SA and Anneren G. Thyroid dysfunction in Down's syndrome: relation to age and thyroid autoimmunity. *Arch Dis Child* 1998;79:242-5.
269. Bussen S, Steck T and Dietl J. Increased prevalence of thyroid antibodies in euthyroid women with a history of recurrent in-vitro fertilization failure. *Hum Reprod* 2000;15:545-8.
270. Phan GQ, Attia P, Steinberg SM, White DE and Rosenberg SA. Factors associated with response to high-dose interleukin-2 in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2001;19:3477-82.
271. Durelli L, Ferrero B, Oggero A, Verdun E, Ghezzi A, Montanari E and Zaffaroni M. Thyroid function and autoimmunity during interferon-Beta-1b Treatment: a Multicenter Prospective Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3525-32.
272. Roti E, Minelli R, Giuberti T, Marchelli C, Schianchi C, Gardini E, Salvi M, Fiaccadori F, Ugolotti G, Neri TM and Braverman LE. Multiple changes in thyroid function in patients with chronic active HCV hepatitis treated with recombinant interferon-alpha. *Am J Med* 1996;101:482-7.
273. Ruf J, Carayon P and Lissitzky S. Various expression of a unique anti-human thyroglobulin antibody repertoire in normal state and autoimmune disease. *Eur J Immunol* 1985;15:268-72.
274. Ruf J, Toubert ME, Czarnocka B, Durand-Gorde JM, Ferrand M, Carayon P. Relationship between immunological structure and biochemical properties of human thyroid peroxidase. *Endocrinol* 1989;125:1211-8.

275. Feldt-Rasmussen U and Rasmussen A K. Serum thyroglobulin (Tg) in presence of thyroglobulin autoantibodies (TgAb). Clinical and methodological relevance of the interaction between Tg and TgAb in vivo and in vitro. *J Endocrinol Invest* 1985;8:571-6.
276. Spencer CA, Wang C, Fatemi S, Guttler RB, Takeuchi M and Kazarosyan M. Serum Thyroglobulin Autoantibodies: Prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1121-7.
277. Pacini F, Mariotti S, Formica N and Elisei R. Thyroid autoantibodies in thyroid cancer: Incidence and relationship with tumor outcome. *Acta Endocrinol* 1988;119:373-80.
278. Rubello D, Casara D, Girelli ME, Piccolo M and Busnardo B. Clinical meaning of circulating antithyroglobulin antibodies in differentiated thyroid cancer: a prospective study. *J Nucl Med* 1992;33:1478-80.
279. Nordyke RA, Gilbert FI, Miyamoto LA and Fleury KA. The superiority of antimicrosomal over antithyroglobulin antibodies for detecting Hashimoto's thyroiditis. *Arch Intern Med* 1993;153:862-5.
280. Di Cerbo A, Di Paola R, Menzaghi C, De Filippis V, Tahara K, Corda D et al. Graves' immunoglobulins activate phospholipase A2 by recognizing specific epitopes on the thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3283-92.
281. Kung AWC, Lau KS and Kohn LD. Epitope mapping of TSH Receptor-blocking antibodies in Graves' disease that appear during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3647-53.
282. Ueta Y, Fukui H, Murakami M, Yamanouchi Y, Yamamoto R, Murao A et al. Development of primary hypothyroidism with the appearance of blocking-type antibody to thyrotropin receptor in Graves' disease in late pregnancy. *Thyroid* 1999;9:179-82.
283. Gupta MK. Thyrotropin-receptor antibodies in thyroid diseases: advances in detection techniques and clinical application. *Clin Chem Acta* 2000;293:1-29.
284. Kung AW, Lau KS and Kohn LD. Characterization of thyroid-stimulating blocking antibodies that appeared during transient hypothyroidism after radioactive iodine therapy. *Thyroid* 2000;10:909-17.

285. Filetti S, Foti D, Costante G and Rapoport B. Recombinant human thyrotropin (TSH) receptor in a radioreceptor assay for the measurement of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:1096-101.
286. Adams DD and Purves HD. Abnormal responses in the assay of thyrotropin. *Proc Univ Otago Med Sch* 1956;34:11-12.
287. Morgenthaler NG. New assay systems for thyrotropin receptor antibodies. *Current Opinion Endocrinol Diabetes* 1998;6:251-60.
288. Kamijo K, Nagata A and Sato Y. Clinical significance of a sensitive assay for thyroid-stimulating antibodies in Graves' disease using polyethylene glycol at high concentration and porcine thyroid cells. *Endocrinol J* 1999;46:397-403.
289. Takasu N, Yamashiro K, Ochi Y, Sato Y, Nagata A, Komiya I et al. TSBAb (TSH-Stimulation Blocking Antibody) and TSAb (Thyroid Stimulating Antibody) in TSBAb-positive patients with hypothyroidism and Graves' patients with hyperthyroidism. *Horm Metab Res* 2001;33:232-7.
290. Costagliola S, Swillens S, Niccoli P, Dumont JE, Vassart G and Ludgate M. Binding assay for thyrotropin receptor autoantibodies using the recombinant receptor protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1540-44.
291. Morgenthaler NG, Hodak K, Seissler J, Steinbrenner H, Pampel I, Gupta M et al. Direct binding of thyrotropin receptor autoantibody to in vitro translated thyrotropin receptor: a comparison to radioreceptor assay and thyroid stimulating bioassay. *Thyroid* 1999;9:466-75.
292. Akamizu T, Inoue D, Kosugi S, Kohn LD and Mori T. Further studies of amino acids (268-304) in thyrotropin (TSH)-lutropin/chorionic gonadotropin (LH/CG) receptor chimeras: Cysteine-301 is important in TSH binding and receptor tertiary structure. *Thyroid* 1994;4:43-8.
293. Grasso YZ, Kim MR, Faiman C, Kohn LD, Tahara K and Gupta MK. Epitope heterogeneity of thyrotropin-blocking antibodies in Graves' patients as detected with wild-type versus chimeric thyrotropin receptors. *Thyroid* 1999;9:521-37.
294. Kim WB, Chung HK, Lee HK, Kohn LD, Tahara K and Cho BY. Changes in epitopes for thyroid stimulation antibodies in Graves' disease sera during treatment of hyperthyroidism: Therapeutic implications. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1953-9.

295. Shewring G and Smith BR. An improved radioreceptor assay for TSH receptor. *Methods Enzymol* 1982;17:409-17.
296. Costagliola S, Morgenthaler NG, Hoermann R, Badenhoop K, Struck J, Freitag D, Poertl S, Weglohner W, Hollidt JM, Quadbeck B, Dumont JE, Schumm-Draeger PM, Bergmann A, Mann K, Vassart G and Usadel KH. Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:90-7.
297. Schott M, Feldkamp J, Bathan C, Fritzen R, Scherbaum WA and Seissler J. Detecting TSH-Receptor antibodies with the recombinant TBII assay: Technical and Clinical evaluation. *32* 2000;:429-35.
298. Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996;42:160-3.
299. Giovannella L, Ceriani L and Garancini S. Clinical applications of the 2nd. generation assay for anti-TSH receptor antibodies in Graves' disease. Evaluation in patients with negative 1st. generation test. *Clin Chem Lab med* 2001;39:25-8.
300. Momotani N, Noh JY, Ishikawa N and Ito K. Effects of propylthiouracil and methimazole on fetal thyroid status in mothers with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3633-6.
301. Brown RS, Bellisario RL, Botero D, Fournier L, Abrams CA, Cower ML et al. Incidence of transient congenital hypothyroidism due to maternal thyrotropin receptor-blocking antibodies in over one million babies. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1147-51.
302. Gerding MN, van der Meer Jolanda WC, Broenink M, Bakker O, W. WM and Prummel MF. Association of thyrotropin receptor antibodies with the clinical features of Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol* 2000;52:267-71.
303. Bartelena L, Marcocci C, Bogazzi F, Manetti L, Tanda ML, Dell'Unto E et al. Relation between therapy for hyperthyroidism and the course of Graves' disease. *N Engl J Med* 1998;338:73-8.
304. Bech K. Immunological aspects of Graves' disease and importance of thyroid stimulating immunoglobulins. *Acta Endocrinol (Copenh) Suppl* 1983;103:5-38.
305. Feldt-Rasmussen U. Serum thyroglobulin and thyroglobulin autoantibodies in thyroid diseases et al. *lergy* 1983;38:369-87.

306. Nygaard B, Metcalfe RA, Phipps J, Weetman AP and Hegedus L. Graves' disease and thyroid-associated ophthalmopathy triggered by ¹³¹I treatment of non-toxic goitre. *J Endocrinol Invest* 1999;22:481-5.
307. Ericsson UB, Tegler L, Lennquist S, Christensen SB, Stahl E and Thorell JI. Serum thyroglobulin in differentiated thyroid carcinoma. *Acta Chir Scand* 1984;150:367-75.
308. Haugen BR, Pacini F, Reiners C, Schlumberger M, Ladenson PW, Sherman SI, Cooper DS, Graham KE, Braverman LE, Skarulis MC, Davies TF, DeGroot LJ, Mazzaferri EL, Daniels GH, Ross DS, Luster M, Samuels MH, Becker DV, Maxon HR, Cavalieri RR, Spencer CA, McEllin K, Weintraub BD and Ridgway EC. A comparison of recombinant human thyrotropin and thyroid hormone withdrawal for the detection of thyroid remnant or cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3877-85.
309. Spencer CA, LoPresti JS, Fatemi S and Nicoloff JT. Detection of residual and recurrent differentiated thyroid carcinoma by serum Thyroglobulin measurement. *Thyroid* 1999;9:435-41.
310. Schlumberger M, C. P., Fragu P, Lumbroso J, Parmentier C and Tubiana M,. Circulating thyrotropin and thyroid hormones in patients with metastases of differentiated thyroid carcinoma: relationship to serum thyrotropin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51:513-9.
311. Pacini F, Fugazzola L, Lippi F, Ceccarelli C, Centoni R, Miccoli P, Elisei R and Pinchera A. Detection of thyroglobulin in fine needle aspirates of nonthyroidal neck masses: a clue to the diagnosis of metastatic differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1401-4.
312. Spencer CA, Takeuchi M and Kazarosyan M. Current Status and Performance Goals for Serum Thyroglobulin Assays. *Clin Chem* 1996;42:164-73.
313. Feldt-Rasmussen U and Schlumberger M. European interlaboratory comparison of serum thyroglobulin measurement. *J Endocrinol Invest* 1988;11:175-81.
314. Feldt-Rasmussen U, Profilis C, Colinet E, Black E, Bornet H, Bourdoux P et al. Human thyroglobulin reference material (CRM 457) 2nd part: Physicochemical characterization and certification. *Ann Biol Clin* 1996;54:343-348.
315. Schlumberger M J. Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *NEJM* 1998;338:297-306.

316. Hjiyiannakis P, Mundy J and Harmer C. Thyroglobulin antibodies in differentiated thyroid cancer. *Clin Oncol* 1999;11:240-4.
317. Spencer CA. Recoveries cannot be used to authenticate thyroglobulin (Tg) measurements when sera contain Tg autoantibodies. *Clin Chem* 1996;42:661-3.
318. Massart C and Maugendre D. Importance of the detection method for thyroglobulin antibodies for the validity of thyroglobulin measurements in sera from patients with Graves' disease. *Clin Chem* 2002;48:102-7.
319. Mariotti S, Barbesino G, Caturegli P, Marino M, Manetti L, Pacini F, Centoni R and Pinchera A. Assay of thyroglobulin in serum with thyroglobulin autoantibodies: an unobtainable goal? *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:468-72.
320. Black EG and Hoffenberg R. Should one measure serum thyroglobulin in the presence of anti-thyroglobulin antibodies? *Clin Endocrinol* 1983;19:597-601.
321. Schneider AB and Pervos R. Radioimmunoassay of human thyroglobulin: effect of antithyroglobulin autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1978;47:126-37.
322. Spencer CA, Platler BW and Nicoloff JT. The effect of 125-I thyroglobulin tracer heterogeneity on serum Tg RIA measurement. *Clin Chem Acta* 1985;153:105-115.
323. Bugalho MJ, Domingues RS, Pinto AC, Garrao A, Catarino AL, Ferreira T, Limbert E and Sobrinho L. Detection of thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of individuals with and without thyroid glands: evidence for thyroglobulin expression by blood cells. *Eur J Endocrinol* 2001;145:409-13.
324. Bellantone R, Lombardi CP, Bossola M, Ferrante A, Princi P, Boscherini M et al. Validity of thyroglobulin mRNA assay in peripheral blood of postoperative thyroid carcinoma patients in predicting tumor recurrence varies according to the histologic type: results of a prospective study. *Cancer* 2001;92:2273-9.
325. Bojunga J, Roddiger S, Stanisch M, Kusterer K, Kurek R, Renneberg H, Adams S, Lindhorst E, Usadel KH and Schumm-Draeger PM. Molecular detection of thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of patients with thyroid disease by RT-PCR. *Br J Cancer* 2000;82:1650-5.
326. Smith B, Selby P, Southgate J, Pittman K, Bradley C and Blair GE. Detection of melanoma cells in peripheral blood by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction. *Lancet* 1991;338:1227-9.

327. Luppi M, Morselli M, Bandieri E, Federico M, Marasca R, Barozzi P, Ferrari MG, Savarino M, Frassoldati A and Torelli G. Sensitive detection of circulating breast cancer cells by reverse-transcriptase polymerase chain reaction of maspin gene. *Ann Oncol* 1996;7:619-24.
328. Ghossein RA and Bhattacharya S. Molecular detection and characterisation of circulating tumour cells and micrometastases in solid tumours. *Eur J Cancer* 2000;36:1681-94.
329. Ditkoff BA, Marvin MR, Yemul S, Shi YJ, Chabot J, Feind C et al. Detection of circulating thyroid cells in peripheral blood. *Surgery* 1996;120:959-65.
330. Arturi F, Russo D, Giuffrida D et al. Early diagnosis by genetic analysis of differentiated thyroid cancer metastases in small lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1638-41.
331. Ringel MD, Balducci-Silano PL, Anderson JS, Spencer CA, Silverman J, Sparling YH, Francis GL, Burman KD, Wartofsky L, Ladenson PW, Levine MA and Tuttle RM. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction of circulating thyroglobulin messenger ribonucleic acid for monitoring patients with thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;84:4037-42.
332. Biscolla RP, Cerutti JM and Maciel RM. Detection of recurrent thyroid cancer by sensitive nested reverse transcription-polymerase chain reaction of thyroglobulin and sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid transcripts in peripheral blood. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3623-7.
333. Takano T, Miyauchi A, Yoshida H, Hasegawa Y, Kuma K and Amino N. Quantitative measurement of thyroglobulin mRNA in peripheral blood of patients after total thyroidectomy. *Br J Cancer* 2001;85:102-6.
334. Chelly J, Concordet JP, Kaplan JC and Kahn A. Illegitimate transcription: transcription of any gene in any cell type. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:2617-21.
335. Premawardhana LDKE, Phillips DW, Prentice LM and Smith BR. Variability of serum thyroglobulin levels is determined by a major gene. *Clin Endocrinol* 1994;41:725-9.
336. Bertelsen JB and Hegedus L. Cigarette smoking and the thyroid. *Thyroid* 1994;4:327-31.
337. Knudsen N, Bulow I, Jorgensen T, Perrild H, Oversen L and Laurberg P. Serum Tg - a sensitive marker of thyroid abnormalities and iodine deficiency in epidemiological studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3599-603.

338. Van den Briel T, West CE, Hautvast JG, Vulsma T, de Vijlder JJ and Ategbo EA. Serum thyroglobulin and urinary iodine concentration are the most appropriate indicators of iodine status and thyroid function under conditions of increasing iodine supply in schoolchildren in Benin. *J Nutr* 2001;131:2701-6.
339. Gardner DF, Rothman J and Utiger RD. Serum thyroglobulin in normal subjects and patients with hyperthyroidism due to Graves' disease: effects of T₃, iodide, ¹³¹I and antithyroid drugs. *Clin Endocrinol* 1979;11:585-94.
340. Feldt-Rasmussen U, Petersen PH, Date J and Madsen CM. Serum thyroglobulin in patients undergoing subtotal thyroidectomy for toxic and nontoxic goiter. *J Endocrinol Invest* 1982;5:161-4.
341. Hocevar M, Auersperg M and Stanovnik L. The dynamics of serum thyroglobulin elimination from the body after thyroid surgery. 1997;23:208-10.
342. Cohen JH, Ingbar SH and Braverman LE. Thyrotoxicosis due to ingestion of excess thyroid hormone. *Endocrine Rev* 1989;10:113-24.
343. Mitchell ML and Hermos RJ. Measurement of thyroglobulin in newborn screening specimens from normal and hypothyroid infants. *Clin Endocrinol* 1995;42:523-7.
344. Smallridge RC, De Keyser FM, Van Herle AJ, Butkus NE and Wartofsky L. Thyroid iodine content and serum thyroglobulin: clues to the natural history of destruction-induced thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:1213-9.
345. Pacini F, Molinaro E, Lippi F, Castagna MG, Agate L, Ceccarelli C, Taddei D, Elisei R, Capezzone M and Pinchera A. Prediction of disease status by recombinant human TSH-stimulated serum Tg in the postsurgical follow-up of differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5686-90.
346. Cobin RH. 1992. Medullary carcinoma of the thyroid. *In* Malignant tumors of the thyroid: clinical concepts and controversies. S. D. Cobin RH, editor. Springer-Verlag,, New York. 112-41.
347. Dunn JT. When is a thyroid nodule a sporadic medullary carcinoma? *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:824-5.
348. Pacini F, Fontanelli M, Fugazzola L and et. al. Routine measurement of serum calcitonin in nodular thyroid diseases allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:826-9.

349. Mulligan LM, Kwok JB, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E et al. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature* 1993;363:458-60.
350. Hofstra RM, Landvaster RM, Ceccherini I et al. A mutation in the RET proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma. *Nature* 1994;367:375-6.
351. Heyningen van V. One gene-four syndromes. *Nature* 1994;367:319-20.
352. Becker KL, Nylen ES, Cohen R and Snider RH. Calcitonin: structure, molecular biology and actions. In: J.P. Belezianian, L.E. Raisz, G.A.Rodan eds. *Principle of bone biology*, Academic Press, San Diego 1996;:471-4.
353. Motte P, Vauzelle P, Gardet P, Ghillani P, Caillou B, Parmentier C et al. Construction and clinical validation of a sensitive and specific assay for mature calcitonin using monoclonal anti-peptide antibodies. *Clin Chim Acta* 1988;174:35-54.
354. Zink A, Blind E and Raue F. Determination of serum calcitonin by immunometric two-site assays in normal subjects and patients with medullary thyroid carcinoma. *Eur J Clin Chem Biochem* 1992;30:831-5.
355. Engelbach M, Gorges R, Forst T, Pfutzner A, Dawood R, Heerdt S, Kunt T, Bockisch A and Beyer J. Improved diagnostic methods in the follow-up of medullary thyroid carcinoma by highly specific calcitonin measurements. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1890-4.
356. Milhaud G, Tubiana M, Parmentier C and Coutiris G. Epithelioma de la thyroide secretant de la thyrocalcitonine. *C.R. Acad. Sci (serie D)*, Paris 1968;266:608-10.
357. Guilloteau D, Perdrisot D, Calmettes C and et. al. Diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid by calcitonin assay using monoclonal antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1064-7.
358. Niccoli P, Wion-Barbot N, Caron P and et.al. Interest of routine measurement of serum calcitonin (CT): study in a large series of thyroidectomized patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:338-41.
359. Wells SA, Baylin SB, Linehan W, Farrell RE, Cox EB, Cooper CW. Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* 1978;188:139-41.

360. Gagel RF. The abnormal pentagastrin test. *Clin Endocrinol* 1996;44:221-2.
361. Wion-Barbot N, Schuffenecker I, Niccoli P et al. Results of the calcitonin stimulation test in normal volunteers compared with genetically unaffected members of MEN 2A and familial medullary thyroid carcinoma families. *Ann Endocrinol* 1997;58:302-8.
362. Barbot N, Calmettes C, Schuffenecker I et al. Pentagastrin stimulation test and early diagnosis of medullary carcinoma using an immunoradiometric assay of calcitonin: comparison with genetic screening in hereditary medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:114-20.
363. Erdogan MF, Gullu S, Baskal N, Uysal AR, Kamel N, Erdogan G. Omeprazole: calcitonin stimulation test for the diagnosis follow-up and family screening in medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* 1997;188:139-41.
364. Vieira AEF, Mello MP, Elias LLK et al. Molecular and biochemical screening for the diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia Type 2A. *Horm Metab Res* 2002;34:202-6.
365. Wells SA, Chi DD, Toshima K, Dehner LP, Coffin CM, Dowton SB, Ivanovich JL, DeBenedetti MK, Dilley WG and Moley JF. Predictive DNA testing and prophylactic thyroidectomy in patients at risk for multiple endocrine neoplasia type 2A. *Ann Surg* 1994;220:237-50.
366. Telander RL and Moir CR. Medullary thyroid carcinoma in children. *Semin Pediatr Surg* 1994;3:188-93.
367. Niccoli-Sire P, Murat A, Baudin E, Henry JF, Proye C, Bigorgne JC et al. Early or prophylactic thyroidectomy in MEN2/FMTC gene carriers: results in 71 thyroidectomized patients. *Eur J Endocrinol* 1999;141:468-74.
368. Niccoli-Sire P, Murat A, Rohmer V, Franc S, Chabrier G, Baldet L, Maes B, Savagner F, Giraud S, Bezieau S, Kottler ML, Morange S and Conte-Devolx B. Familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) with non-cysteine RET mutations: phenotype-genotype relationship in large series of patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3756-53.
369. Body JJ, Chanoine JP, Dumon JC and Delange F. Circulating calcitonin levels in healthy children and subjects with congenital hypothyroidism from birth to adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:565-7.

370. Gharib H, Kao PC and Heath H. Determination of silica-purified plasma calcitonin for the detection and management of medullary thyroid carcinoma: comparison of two provocative tests. *Mayo Clin Proc* 1987;62:373-8.
371. Telander R, Zimmerman D, Sizemore GW, van Heerden JA and Grant CS. Medullary carcinoma in children. Results of early detection and surgery. *Arch Surg* 1989;124:841-3.
372. Calmettes C, Ponder BA, Fisher JA and Raue F. Early diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 2 syndrome: consensus statement. European community concerted action: medullary thyroid carcinoma. *Eur J Clin Invest* 1992;22:755-60.
373. Modigliani E, Cohen R, Campos JM, Conte-Devolx B, Maes B, Boneu A et al. Prognostic factors for survival and biochemical cure in medullary thyroid carcinoma: results in 899 patients. *Clin Endocrinol* 1998;48:265-73.
374. Machens A, Gimm O, Ukkat J et al. Improved prediction of calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma patients by quantitative lymph node analysis. *Cancer* 2000;88:1909-15.
375. Fugazzola L, Pinchera A, Lucchetti F et al. Disappearance rate of serum calcitonin after total thyroidectomy for medullary thyroid carcinoma. *Internat J Biolog Markers* 1994;9:21-4.
376. Vierhapper H, Raber W, Bieglmayer C and et.al. Routine measurement of plasma calcitonin in nodular thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1589-93.
377. Ferreira-Valbuena H, Fernandez de Arguello E, Campos G, Ryder E and Avellaneda A. Serum concentration of calcium and calcitonin in hyperthyroidism caused by Graves' disease. *Invest Clin* 1991;32:109-14.
378. Lips CJM, Hoppener JWM and Thijssen JHH. Medullary thyroid carcinoma: role of genetic testing and calcitonin measurement. *Ann Clin Biochem* 2001;38:168-79.
379. Niccoli P, Brunet Ph, Roubicek C, Roux F, Baudin E, Lejeune PJ et al. Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. *Eur J Endocrinol* 1995;132:75-81.
380. Snider RH, Nylen ES and Becker KL. Procalcitonin and its component peptides in systemic inflammation: immunochemical characterization. *J Invest Med* 1997;47:552-60.
381. Russwurn S, Wiederhold M, Oberhoffer M et al. Molecular aspects and natural source of Procalcitonin. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:789-97.

382. Niccoli P, Conte-Devolx B, Lejeune PJ, Carayon P, Henry JF, Roux F et al. Hypercalcitoninemia in conditions other than medullary cancers of the thyroid. *Ann Endocrinol* 1996;57:15-21.
383. Baudin E, Bidart JM, Rougier P et al. Screening for multiple endocrine neoplasia type 1 and hormonal production in apparently sporadic neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:114-20.
384. DeLellis RA. C-Cell hyperplasia. In: Rosai J., Carangiu M.L., DeLellis R.A. eds: *Atlas of Tumor Pathology*, 3rd. series, Fasc 5: tumors of the thyroid gland. Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology. 1992;:247-58.
385. Guyetant S, Wion-Barbot N and Rousselet MC. C-cell hyperplasia associated with chronic lymphocytic thyroiditis: a retrospective study of 112 cases. *Hum Pathol* 1994;25:514-21.
386. Albores-Saavedra J, Monforte H, Nadji M and Morales AR. C-Cell hyperplasia in thyroid tissue adjacent to follicular cell tumor. *Hum Pathol* 1988;19:795-9.
387. Mulligan LM, Marsh DJ, Robinson BG, Schuffenecker I, Zedenius J, Lips CJ et al. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2: report of the international RET mutation consortium. *J Intern Med* 1995;238:243-6.
388. Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF et al. The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis. *JAMA* 1996;276:1575-9.
389. Ito S, Iwashita T, Asai N, Murakami H, Iwata Y, Sobue G et al. Biological properties of RET with cysteine mutations correlate with multiple endocrine neoplasia type 2A, familial medullary thyroid carcinoma and Hirschsprung's disease phenotype. *Cancer Res* 1997;57:2870-2.
390. Heshmati HM, Gharib H, Khosla S et al. Genetic testing in medullary thyroid carcinoma syndromes: mutation types and clinical significance. *Mayo Clin Proc* 1997;72:430-6.
391. Berndt I, Reuter M, Saller B et al. A new hot spot for mutations in the RET proto-oncogene causing familial medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2A. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:770-4.

392. Komminoth P, Roth J, Muletta-Feurer S, Saremaslani P, Seelentag WKF and Heitz PU. RET proto-oncogene point mutations in sporadic neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2041-6.
393. Conte-Devolx B, Schuffenecker I, Niccoli P, Maes B, Boneu A, Barbot N et al. Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: Management of patients and subjects at risk. *Horm Res* 1997;47:221-6.
394. Smith DP, Houghton C and Ponder BA. Germline mutation of RET codon 883 in two cases of de novo MEN2B. *Oncogene* 1997;15:1213-7.
395. Carlson KM, Bracamontes J, Jackson CE, Clark R, Lacroix A, Wells SA Jr et al. Parent-of-origin effects in multiple endocrine neoplasia type 2B. *J Hum Genet* 1994;55:1076-82.
396. Moers AMJ, Landsvater RM, Schaap C, van Veen JM, de Valk IAJ, Blijham GH et al. Familial medullary thyroid carcinoma: not a distinct entity/ Genotype-phenotype correlation in a large family: familial medullary thyroid carcinoma revisited. *Am J Med* 1996;101:634-41.
397. Dunn JT. Iodine deficiency - the next target for elimination. *N Engl J Med* 1992;326:267-8.
398. Delange F. Correction of iodine deficiency: benefits and possible side effects. *Eur J Endocrinol* 1995;132:542-3.
399. Dunn JT. Whats happening to our iodine. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3398-3400.
400. Knudsen N, Christiansen E, Brandt-Christensen M, Nygaard B and Perrild H. Age- and sex-adjusted iodine/creatinine ratio. A new standard in epidemiological surveys? Evaluation of three different estimates of iodine excretion based on casual urine samples and comparison to 24 h values. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:361-3.
401. Aumont G and Tressol JC. Improved routine method for the determination of total iodine in urine and milk. *Analyst* 1986;111:841-3.
402. Unak P, Darcan S, Yurt F, Biber Z and Coker M. Determination of iodine amounts in urine and water by isotope dilution analysis. *Biol Trace Elem Res* Winter 1999;71-2:463-70.
403. Kilbane MT, Ajja RA, Weetman AP, Dwyer R, McDermott EWM, O'Higfins NJ and Smyth PPA. Tissue Iodine content and serum mediated ¹²⁵I uptake blocking activity in breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1245-50.

404. Liberman CS, Pino SC, Fang SL, Braverman LE and Emerson CH. Circulating iodine concentrations during and after pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3545-9.
405. Vought RL, London WT, Lutwak L and Dublin TD. Reliability of estimates of serum inorganic iodine and daily faecal and urinary iodine excretion from single casual specimens. *J Clin Endocrinol Metab* 1963;23:1218-28.
406. Smyth PPA, Darke C, Parkes AB, Smith DF, Hetherington AM and Lazarus JH. Assessment of goitre in an area of endemic iodine deficiency. *Thyroid* 1999;9:895-901.
407. Thomson CD, Smith TE, Butler KA and Packer MA. An evaluation of urinary measures of iodine and selenium status. *J Trace Elem Med and Biol* 1996;10:214-22.
408. Als C, Helbling A, Peter K, Haldimann M, Zimmerli B and Gerber H. Urinary iodine concentration follows a circadian rhythm: A study with 3023 spot urine samples in adults and children. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1367-9.
409. Lightowler H and Davis JG. Iodine intake and iodine deficiency in vegans as assessed by the duplicate-portion technique and urinary iodine excretion. *Br. J Nutr* 1999;80:529-35.
410. Utiger RD. Maternal hypothyroidism and fetal development. *N Engl J Med* 1999;341:601-2.
411. Aboul-Khair S, Crooks J, Turnbull AC and Hytten FE. The physiological changes in thyroid function during pregnancy. *Clin Sci* 1964;27:195-207.
412. Smyth PPA, Smith DF, Radcliff M and O'Herlihy C. Maternal iodine status and thyroid volume during pregnancy: correlation with neonatal intake. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2840-3.
413. Gunton JE, Hams GH, Fiegert M and McElduff A. Iodine deficiency in ambulatory participants at a Sydney teaching hospital: Is Australia truly iodine replete? *Med J Aust* 1999;171:467-70.
414. Smyth PPA. Variation in iodine handling during normal pregnancy. *Thyroid* 1999;9:637-42.
415. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. National Academic Press 2001

416. Koutras DA, Papadoupoulos SN, Sfontouris JG and Rigopoulos GA. Comparison of methods for measuring the plasma inorganic iodine and the absolute iodine uptake by the thyroid gland. *J Clin Endocrinol Metab* 1968;28:757-60.
417. Mizukami Y, Michigishi T, Nonomura A, Hashimoto T, Tonami N, Matsubara F et al. Iodine-induced hypothyroidism: a clinical and histological study of 28 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:466-71.
418. Heymann WR. Potassium iodide and the Wolff-Chaikhoff effect: relevance for the dermatologist. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:490-2.s
419. Stanbury JB, Ermans AE, Bourdoux P, Todd C, Oken E, Tonglet R, Bidor G, Braverman LE and Medeiros-Neto G. Iodine-induced hyperthyroidism: occurrence and epidemiology. *Thyroid* 1998;8:83-100.
420. Roti E and Uberti ED. Iodine excess and hyperthyroidism. *Thyroid* 2001;5:493-500.
421. Baltisberger BL, Minder CE and Burgi H. Decrease of incidence of toxic nodular goitre in a region of Switzerland after full correction of mild iodine deficiency. *Eur J Endocrinol* 1995;132:546-9.
422. Bacher-Stier RG, Totsch M, Kemmler G, Oberaigner W and Moncayo R. Incidence and clinical characteristics of thyroid carcinoma after iodine prophylaxis in an endemic goiter country. *Thyroid* 1997;7:733-41.
423. Barakat MCD, Hetherton AM, Smyth PPA and Leslie H. Hypothyroidism secondary to topical iodine treatment in infants with spina bifida. *Acta Paediat* 1994;83:741-3.
424. Martino E, Safran M, Aghino-Lombardi F, Rajatanavin R, Lenziardi M, Fay M et al. Environmental iodine intake and thyroid dysfunction during chronic amiodarone therapy. *Ann Intern Med* 1984;101:28-34.
425. Rose NR, Rasooly L, Saboori AM and Burek CL. Linking iodine with autoimmune thyroiditis. *Environmental Health Perspectives* 1999;107:749-52.
426. Premawardhana LDKEPA, Smyth PPA, Wijeyaratne C, Jayasinghe A, De Silva H and Lazarus JH. Increased prevalence of thyroglobulin antibodies in Sri Lankan schoolgirls - is iodine the cause? *Eur J Endocrinol* 2000;143:185-8.
427. Costa A, Testori OB, Cenderelli C, Giribone G and Migliardi M. Iodine content of human tissues after administration of iodine containing drugs or contrast media. *J Endocrinol Invest* 1978;1:221-5.

428. May W, Wu D, Eastman C, Bourdoux P and Maberly G. Evaluation of automated urinary iodine methods: problems of interfering substances identified. *Clin Chem* 1990;35:865-9.
429. Lauber K. Iodine determination in biological material. Kinetic measurement of the catalytic activity of iodine. *Analyt Chem* 1975;47:769-71.
430. Mantel M. Improved method for the determination of iodine in urine. *Clin Chim Acta* 1971;33:39-44.
431. Dunn JT, Crutchfield HE, Gutenkunst R and Dunn AD. Two simple methods for measuring iodine in urine. *Thyroid* 1993;3:119-23.
432. May SL, May WA, Bourdoux PP, Pino S, Sullivan KM and Maberly GF. Validation of a simple, manual urinary iodine method for estimating the prevalence of iodine-deficiency disorders and interlaboratory comparison with other methods. *J Clin Nutr* 1997;65:1441-5.
433. Ohashi T, Yamaki M, Pandav SC, Karmarkar GM and Irie M. Simple microplate method for determination of urinary iodine. *Clin Chem* 2000;46:529-36.
434. Rendl J, Seybold S and Borner W. Urinary iodine determined by paired-ion reverse-phase HPLC with electrochemical detection. *Clin Chem* 1994;40:908-13.
435. Tsuda K, Namba H, Nomura T, Yokoyama N, Yamashita S, Izumi M and Nagataki S. Automated Measurement of urinary iodine with use of ultraviolet radiation. *Clin Chem* 1995;41:581-5.
436. Haldimann M, Zimmerli B, Als C and Gerber H. Direct determination of urinary iodine by inductively coupled plasma mass spectrometry using isotope dilution with iodine-129. *Clin Chem* 1998;44:817-24.
437. Mura P, Piriou A, Guillard O, Sudre Y and Reiss D. Dosage des iodures urinaires par electrode specifique: son interet au cours des dysthyroides. *Ann Biol Clin* 1985;44:123-6.
438. Allain P, Berre S, Krari N, Laine-Cessac P, Le Bouil A, Barbot N, Rohmer V and Bigorgne JC. Use of plasma iodine assays for diagnosing thyroid disorders. *J Clin Pathol* 1993;46:453-5.
439. Vander JB, Gaston EA and Dawber TR. The significance of nontoxic thyroid nodules: Final report of a 15-year study of the incidence of thyroid malignancy. *Ann Intern Med* 1968;69:537-40.

440. Rojeski MT and Gharib H. Nodular thyroid disease: Evaluation and management. *N Engl J Med* 1985;313:428-36.
441. Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med* 1993;328:553-9.
442. Kirkland RT and Kirkland JL. Solitary thyroid nodules in 30 children and report of a child with thyroid abscess. *Pediatrics* 1973;51:85-90.
443. Rallison ML, Dobyns EM, Keating FR, Rall J and Tyler E. Thyroid nodularity in children. *JAMA* 1975;233:1069-72.
444. Khurana KK, Labrador E, Izquierdo R, Mesonero CE and Pisharodi LR. The role of fine-needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules in children, adolescents and young adults: A multi-institutional study. *Thyroid* 1999;4:383-6.
445. Aghini-Lombardi F, Antonangeli L, Martino E, Vitti P, Maccherini D, Leoli F, Rago T, Grasso L, Valeriano R, Balestrieri A and Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescopanano Survey. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:561-6.
446. Hamburger JI, Husain M, Nishiyama R, Nunez C and Solomon D. Increasing the accuracy of fine-needle biopsy for thyroid nodules. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:1035-41.
447. Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP, Mazzaferri E, McKee RF, Rosai J, Shah JP, Fremgen AM, Stewart AK and Holzer S. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the United States during 1996. *Cancer (Cytopathol)* 2000;89:202-17.
448. Leenhardt L, Hejblum G, Franc B, Du Pasqueir Fediaevsky L, Delbot T, De Guillouzie D, Menegaux F, Guillausseau C, Hoang C, Turpin G and Aurengo A. Indications and limits of ultrasound-guided cytology in the management of nonpalpable thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:24-8.
449. Braga M, Cavalcanti TC, Collaco LM and Graf H. Efficacy of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of complex thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4089-91.
450. Cochand-Priollet B, Guillausseau P, Chagnon S, Hoang C, Guillausseau-Scholer C, Chanson P, Dahan H, Warnet A, Tran Ba Huy PT and Valleur P. The diagnostic value of fine-needle aspiration biopsy under ultrasonography in nonfunctional thyroid nodules: a

- prospective study comparing cytologic and histologic findings. *Am J Med* 1994;97:152-7.
451. Takashima S, Fukuda H and Kobayashi T. Thyroid nodules: Clinical effect of ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy. *J Clin Ultrasound* 1994;22:535-42.
 452. Gharib H. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules: Advantages, limitations and effect. *Mayo Clin Proc* 1994;69:44-9.
 453. Hamberger B, Gharib H, Melton LF III, Goellner JR and zinsmeister AR. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. Impact on thyroid practice and cost of care. *Am J Med* 1982;73:381-4.
 454. Grant CS, Hay ID, Gough IR, McCarthy PM and Goelliner JR. Long-term follow-up of patients with benign thyroid fine-needle aspiration cytologic diagnoses. *Surgery* 1989;106:980-6.
 455. Liel Y and Barchana M. Long-term follow-up of patients with initially benign fine-needle aspirations. *Thyroid* 2001;11:775-8.
 456. Belfiore A, La Rosa G, La Porta GA, Giuffrida D, Milazzo G, Lupo L, Regalbuto C and V. R. Cancer Risk in patients with cold thyroid nodules: Relevance of iodine intake, sex, age and multinodularity. *J Amer Med* 1992;93:363-9.
 457. Tuttle RM, Lemar H and Burch HB. Clinical features associated with an increased risk of thyroid malignancy in patients with follicular neoplasia by fine-needle aspiration. *Thyroid* 1998;8:377-83.
 458. Kumar H, Daykin J, Holder R, Watkinson JC, Sheppard M and Franklyn JA. Gender, clinical findings and serum thyrotropin measurements in the prediction of thyroid neoplasia in 1005 patients presenting with thyroid enlargement and investigated by fine-needle aspiration cytology. *Thyroid* 1999;11:1105-9.
 459. Moosa M and Mazzaferri EL. Outcome of differentiated thyroid cancer diagnosed in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2862-6.
 460. Oertel YC. A pathologist trying to help endocrinologists to interpret cytology reports from thyroid aspirates. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1459-61.
 461. De Micco, Zoro P, Garcia S, Skoog L, Tani EM, C. PK and Henry JF. Thyroid peroxidase immunodetection as a tool to assist diagnosis of thyroid nodules on fine-needle aspiration biopsy. *Eur J Endocrinol* 1994;131:474-9.

462. Faroux MJ, Theobald S, Pluot M, Patey M and Menzies D. Evaluation of the monoclonal antithyroperoxidase MoAb47 in the diagnostic decision of cold thyroid nodules by fine-needle aspiration. *Pathol Res Pract* 1997;193:705-12.
463. Inohara H, Honjo Y, Yoshii T, Akahani S, Yoshida J, Hattori K, Okamoto S, Sawada T, Raz A and Kubo T. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer* 1999;85:2475-84.
464. Medeiros-Neto G, Nascimento MC, Bisi H, Alves VA, Longatto-Filho A and Kanamura CT. Differential reactivity for Galectin-3 in Hurthle Cell Adenomas and Carcinomas. *Endocr Pathol* 2001;12:275-9.
465. Saggiorato E, Cappia S, De Guili P, Mussa A, Pancani G, Caraci P, Angeli A and Orlandi F. Galectin -3 as a presurgical immunocyodiagnostic marker of minimally invasive follicular carcinoma. *J Clin Endocrinol Metabl* 2001;86:5152-8.
466. Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, Inohara H, Marandino F, Orkandi F, Nardi F, Vacchione A, Tecce R and Larsson O. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet* 2001;357:1644-50.
467. Goellner JR. Problems and pitfalls in thyroid cytology. *Monogr Pathol* 1997;39:75-93.
468. Oertel YC, O. J. Diagnosis of benign thyroid lesions: fine-needle aspiration and histopathologic correlation. *Ann Diagn Pathol* 1998;2:250-63.
469. Baldet L, Manderscheid JC, Glinioer D, Jaffiol C, Coste-Seignovert B and Percheron C. The management of differentiated thyroid cancer in Europe in 1988. Results of an international survey. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1989;120:547-58.
470. Baloch ZW, Fleisher S, LiVolsi VA and Gupta PK. Diagnosis of "follicular neoplasm": a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol* 2002;26:41-4.
471. Herrmann ME, LiVolsi VA, Pasha TL, Roberts SA, Wojcik EM and Baloch ZW. Immunohistochemical expression of Galectin-3 in benign and malignant thyroid lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:710-13.
472. Leteurtre E, Leroy Z, Pattou F, Wacrenier A, Carnaille B, Proye C and Lecomte-Houcke M. Why do frozen sections have limited value in encapsulated or minimally invasive follicular carcinoma of the thyroid? *Amer J Clin Path* 2001;115:370-4.

473. Stojadinovic A, Ghossein RA, Hoos A, Urist MJ, Spiro RH, Shah JP, Brennan MF, Shaha AR and Singh B. Hurthle cell carcinoma: a critical histopathologic appraisal. *J Clin Oncol* 2001;19:2616-25.
474. Carmeci C, Jeffrey RB, McDougall IR, Nowels KW and Weigel RJ. Ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid masses. *Thyroid* 1998;8:283-9.
475. Yang GCH, Liebeskind D and Messina AV. Ultrasound-guided fine-needle aspiration of the thyroid assessed by ultrafast papanicolaou stain: Data from 1135 biopsies with a two- six-year follow-up. *Thyroid* 2001;6:581-9.
476. Fisher DA, Dussault JH, Foley TP, Klein AH, LaFranchi S, Larsen PR, Mitchell NL, Murphey WH and Walfish PG. Screening for congenital hypothyroidism: results of screening one million North American infants. *J Pediatr* 1979;94:700.
477. Brown AL, Fernhoff PM, Milner J, McEwen C and Elsas LS. Racial differences in the incidence of congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 1981;99:934-.
478. LaFranchi SH, Dussault JH, Fisher DA, Foley TP and Mitchell ML. Newborn screening for congenital hypothyroidism: Recommended guidelines. *Pediatrics* 1993;91:1203-9.
479. Gruters A, Delange F, Giovannelli G, Klett M, Richiccioli P, Torresani T et al. Guidelines for neonatal screening programmes for congenital hypothyroidism. *Pediatr* 1993;152:974-5.
480. Toublane JE. Guidelines for neonatal screening programs for congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr* 1999;88 Suppl 432:13-4.
481. Vulsma T, Gons MH and de Vijlder JJ. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med* 1989;321:13-6.
482. Gruneiro-Papendieck L, Prieto L, Chiesa A, Bengolea S, Bossi G and Bergada C. Usefulness of thyroxine and free thyroxine filter paper measurements in neonatal screening for congenital hypothyroidism of preterm babies. *J Med Screen* 2000;7:78-81.
483. Hanna DE, Krainz PL, Skeels MR, Miyahira RS, Sesser DE and LaFranchi SH. Detection of congenital hypopituitary hypothyroidism: Ten year experience in the Northwest Regional Screening Program. *J Pediatr* 1986;109:959-64.
484. Fisher DA. Hypothyroxinemia in premature infants: is thyroxine treatment necessary? *Thyroid* 1999;9:715-20.

485. Wang ST, Pizzalato S and Demshar HP. Diagnostic effectiveness of TSH screening and of T4 with secondary TSH screening for newborn congenital hypothyroidism. *Clin Chim Acta* 1998;274:151-8.
486. Delange F. Screening for congenital hypothyroidism used as an indicator of the degree of IDD and its control. *Thyroid* 1998;8:1185-92.
487. Law WY, Bradley DM, Lazarus JH, John R and Gregory JW. Congenital hypothyroidism in Wales (1982-93): demographic features, clinical presentation and effects on early neurodevelopment. *Clin Endocrinol* 1998;48:201-7.
488. Mei JV, Alexander JR, Adam BW and Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. *J Nutr* 2001;131:1631S-6S.
489. LaFranchi SH, Hanna CE, Krainz PL, Skeels MR, Miyahira RS and Sesser DE. Screening for congenital hypothyroidism with specimen collection at two time periods: Results of the Northwest Regional Screening Program. *J Pediatr* 1985;76:734-40.
490. Zakarija M, McKenzie JM and Eidson MS. Transient neonatal hypothyroidism: Characterization of maternal antibodies to the Thyrotropin Receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1239-46.
491. Matsuura N, Yamada Y, Nohara Y, Konishi J, Kasagi K, Endo K, Kojima H and Wataya K. Familial neonatal transient hypothyroidism due to maternal TSH-binding inhibitor immunoglobulins. *N Engl J Med* 1980;303:738-41.
492. McKenzie JM and Zakaria M. Fetal and neonatal hyperthyroidism and hypothyroidism due to maternal TSH receptor antibodies. *Thyroid* 1992;2:155-9.
493. Vogiatzi MG and Kirkland JL. Frequency and necessity of thyroid function tests in neonates and infants with congenital hypothyroidism. *Pediatr* 1997;100.
494. Pohlenz J, Rosenthal IM, Weiss RE, Jhiang SM, Burant C and Refetoff S. Congenital hypothyroidism due to mutations in the sodium/iodide symporter. Identification of a nonsense mutation producing a downstream cryptic 3' splice site. *J Clin Invest* 1998;101:1028-35.
495. Nordyke RA, Reppun TS, Mandanay LD, Wood JC, Goldstein AP and Miyamoto LA. Alternative sequences of thyrotropin and free thyroxine assays for routine thyroid function testing. Quality and cost. *Arch Intern Med* 1998;158:266-72.

6. Annexe

6.A. Liste des personnes ayant contribué au document

Robert Adler, M.D.

Medical College of Virginia, VA, USA

Gisah Amaral de Carvalho, M.D., Ph.D.

Hospital de Clinicas, Universidade Federal do Parana, Brazil

Nobuyuki Amino, M.D.

Osaka University Graduate School of Medicine, Japan

Claudio Aranda, M.D.

Hospital Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina

Jack H. Baskin M.D., F.A.C.E

Florida Thyroid & Endocrine Clinic, Orlando, FL, USA

Graham Beastall, Ph.D.

Edinburgh Royal Infirmary NHS Trust, Scotland, UK

Geoff Beckett Ph.D., F.R.C.Path.

Edinburgh Royal Infirmary NHS Trust, Scotland, UK

Liliana Bergoglio, B.Sc.,

Cordoba, Argentina

Roger Bertholf, Ph.D., D.A.B.C.C., F.A.C.B.

University of Florida Health Science Center, Jacksonville, FL, USA

Thomas Bigos, M.D., Ph.D.

Maine Medical Center, USA

Manfred Blum, M.D.

New York University Medical Center, New York, NY, USA

Gustavo Borrajo, M.D.

Detección de Errores Congénitos, Fundación Bioquímica Argentina, La Plata, Argentina

Irv Bromberg, M.D., C.M.

Mount Sinai Hospital, Toronto, Ontario, Canada

Rosalind Brown, M.D.

University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA, USA

Gisah Amaral de Carvalho, M.D., Ph.D.

Universidade Federal do Parana - Brazil

Bo Youn Cho

Asan Medical Center, Seoul, Korea

Nic Christofides, Ph.D.

Ortho-Clinical Diagnostics, Cardiff CF14 7YT, Wales, UK.

Orlo Clark, M.D.

UCSF/ Mount Zion Medical Center, San Francisco, CA, USA

Rhonda Cobin, M.D.

Midland Park, NJ, USA

David Cooper, M.D.

Sinai Hospital of Baltimore, Baltimore, MD, USA

Gilbert Cote, M.D.

UT MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

Marek Czarkowski, M.D.

Warsaw, Poland

Gilbert Daniels, M.D.

Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA

Catherine De Micco, M.D., D.Sc.

University of the Mediterranean Medical School, Marseille, France

D.Robert.Dufour, M.D.

VA Medical Center, Washington DC, USA

John Dunn, M.D.

University of Virginia Health Sciences Center, Charlottesville, VA, USA

Joel Ehrenkranz, M.D.

Aspen, CO, USA

David Endres, Ph.D.

University of Southern California, Los Angeles, USA

Carol Evans, B.Sc., M.Sc., Ph.D., M.R.C.Path.

University Hospital of Wales, UK

Shireen Fatemi, M.D.

Kaiser Permanente of Southern California, Panorama City, CA, USA

J. Douglas Ferry, Ph.D.

Beaumont Hospital, Southfield, MI, USA

Jayne Franklyn, M.D. Ph.D. F.R.C.P.

Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, UK

Jeffery Garber M.D.

Harvard Vanguard Medical Associates, Boston, MA, USA

Daniel Glinoe, M.D.

University Hospital St.Pierre, Bruxelles, Belgium

Timothy Greaves, M.D., F.A.C.P.

LAC-USC Medical Center, Los Angeles, CA, USA

B.J. Green

Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA

Ian Hanning, B.Sc., M.Sc., M.R.C.Path.

Hull Royal Infirmary, Hull, UK

Charles D. Hawker, Ph.D., M.B.A.

Salt Lake City, Utah, USA

Georg Hennemann, M.D.

Erasmus University, Rotterdam, The Netherlands

Tien-Shang Huang, M.D.

College of Medicine, National Taiwan University, Taiwan

James Hurley, M.D.

New York Presbyterian Hospital, New York, NY, USA

William L Isley, M.D.

University of Missouri, Kansas City, MO, USA

Lois Jovanovic, M.D.

Sansum Medical Research Institute, Santa Barbara, CA, USA

George Kahaly M.D.

Gutenberg University Hospital, Mainz, Germany

Laurence Kaplan, Ph.D.

Bellevue Hospital, New York, USA

Elaine Kaptein, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, USA

J. H. Keffer, M.D.

Melbourne Beach, FL, USA

Pat Kendall-Taylor, M.D.

Newcastle on Tyne, England, UK

Leonard Kohn, M.D.

Ohio University College of Osteopathic Medicine Athens, Ohio, USA

Annie Kung, M.D.

The University of Hong Kong, Hong Kong

Paul Ladenson, M.D.

Johns Hopkins Hospital, Baltimore, MD, USA

Peter Laurberg, M.D.

University of Aalborg, Aalborg, Denmark

P. Reed Larsen, M.D., F.A.C.P., F.R.C.P.

Harvard Medical School, Boston, MA, USA

John Lazarus, M.A., M.D., F.R.C.P.

University of Wales College of Medicine, Cardiff, Wales, UK

Charles Lewis, Jr., Ph.D.

Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA

Jon LoPresti, M.D., Ph.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Gustavo Maccallini, Ph.D.

Hospital Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina

Rui Maciel, M.D., Ph.D.

Department of Medicine, Federal University of San Paulo, Sao Paulo, Brasil

Susan J. Mandel, M.D., M.P.H.

Hospital of the University of Pennsylvania, Pennsylvania, USA

Geraldo Medeiros-Neto, M.D.

Hospital das Clinicas, San Paulo, Brazil

Jorge Mestman, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Greg Miller M.D.

Virginia Commonwealth University, Richmond, VA, USA

James J. Miller, Ph.D., D.A.B.C.C., F.A.C.B.

University of Louisville, Kentucky, USA

Marvin Mitchell, M.D.

University Massachusetts Medical Center, Jamaica Plain, MA, USA

John Morris, M.D.

Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Jerald C. Nelson, M.D.

Loma Linda University, California, USA

John T. Nicoloff, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Hugo Niepomniszcze, M.D.

Hospital de Clinicas, University Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Ernst Nystrom, M.D.

University of Goteborg, Sweden

Richard Pikner, M.D.

Charles University, Plzen, Czech Republic

Frank Quinn, Ph.D.

Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA

Peter Raggatt, M.D.

Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK

Robert Rude, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Jean Ruf, D.Sc.

Department of Biochemistry & Molecular Biology, Marseille, France

Remy Sapin, Ph.D.

Institut de Physique Biologique, Strasbourg, France

Gerardo Sartorio, M.D.

Hospital J.M. Ramos Mejia, Buenos Aires, Argentina

Steven I. Sherman, M.D.

MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

Peter A. Singer, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Stephen Spalding, M.D.

VA Medical Center, Buffalo, NY, USA

Martin I. Surks, M.D.

Montefiore Medical Center, Bronx, NY, USA

Brad Therrell, Ph.D.

National Newborn Screening and Genetics Resource Center, Austin, TX, USA

Anthony D. Toft, M.D.

Edinburgh Royal Infirmary NHS Trust, Scotland, UK

Toni Torresani M.D.

University Children's Hospital, Zürich, Switzerland

R. Michael Tuttle, M.D.

Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA

Hidemasa Uchimura, M.D.

Department of Clinical Pathology, Kyorin University, Japan

Greet Van den Berghe M.D., Ph.D.

Department of Intensive Care Medicine, University of Leuven, Leuven, Belgium

Lester Van Middlesworth, M.D., Ph.D.

University of Tennessee, Memphis, TN, USA

Paul Verheecke, M.D.

Centraal Laboratorium, Hasselt, Belgium

Paul Walfish, C.M., M.D.

University of Toronto, Ontario, Canada

John P. Walsh, F.R.A.C.P. Ph.D.

Sir Charles Gairdner Hospital, Nedlands, WA, Australia

Barry Allen Warner, D.O.

University of South Alabama College of Medicine, Mobile, AL, USA

Joseph Watine, Pharm.D.

Laboratoire de biologie polyvalente, Hôpital Général, Rodez, France

Anthony P. Weetman, M.D.

Northern General Hospital, Sheffield, UK

Thomas Williams, M.D.

Methodist Hospital, Omaha, NE, USA

Ken Woeber, M.D.

UCSF, Mount Zion Medical Center, San Francisco, CA, USA

Nelson G. Wohllk, M.D.

Hospital del Salvador, Santiago

Archived

6.B. Programmes de contrôle de qualité du dépistage biologique de l'hypothyroïdie congénitale

- ☐ Australasia - Australasian Quality Assurance Program, National Testing Center 2nd Floor, National Women's Hospital, Claude Road, Epsom, Auckland, New Zealand.
- ☐ Europe - Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie eV, Im Muhlenbach 52a, D-53127 Bonn, Germany.
- ☐ Latin America – Programa de Evaluación Externa de Calidad para Pesquisa Neonatal (PEEC). Fundación Bioquímica Argentina. Calle 6 # 1344. (1900) La Plata, Argentina
- ☐ United Kingdom National External Quality Assurance Scheme, Wolfson EQA laboratory, PO Box 3909, Birmingham, B15 2UE, UK.
- ☐ USA- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 4770 Buford Highway NE, Atlanta, GA 30341-3724, USA.

(Le programme UK NEQUAS réclame une participation financière; ceci n'est pas le cas des autres programme de contrôle de qualité)

6.C. Glossaire d'abréviations

Dans les textes, les abréviations ont été inégalement traduites en français ce qui reflète l'usage. De ce fait nous avons mentionné les abréviations utilisées dans les deux langues chaque fois que cela était possible. En effet, certaines abréviations restent, en français, basées sur le terme anglais ; RIA ou TRAb en sont d'excellents exemples.

AIH =	Hyperthyroïdie induite par l'Amiodarone (HIA)
AITD =	Maladie thyroïdienne auto-immune (MAIT)
ANS =	Acide 8-Anilino-1-Naphtalène-Sulfonique (ANS)
ATD =	Anti-thyroïdiens de synthèse (ATS)
CT =	Calcitonine (CT)
CV =	Coefficient de variation (CV)
DTC =	Carcinome différencié de la thyroïde (CDT)
FDH =	Hyperthyroïxémie dysalbuminémique familiale (HDF)
FFA =	Acides gras libres (AGL)
FMTC =	Carcinomes thyroïdiens médullaires familiaux (CTMF)
FNA =	Aspiration par aiguille fine
FT3 =	T3 libre (T3L)
FT4 =	T4 libre (T4L)
HCC =	Hyperplasie cellulaire C (HCC)
HCG =	Gonadotrophine chorionique humaine (hCG)
IMA =	Dosage immuno-métrique
L-T4 =	Levothyroxine (L-T4)
MEN =	Néoplasie endocrine multiple (NEM)
MTC =	Carcinome médullaire de la thyroïde (CMT)
NTI =	Maladie non thyroïdienne
PBI =	Iode lié aux protéines
Pg =	Pentagastrine (PG)
RT3 =	T3 inverse (T3R ou T3I)
RET =	Proto-oncogène RET (RET)

RIA =	Dosage radio-immunologique (RIA)
T4 =	Tétra-iodothyronine ou Thyroxine (T4)
T3 =	Tri-iodothyronine (T3)
TBG =	Thyroxin Binding Globulin (TBG)
TBPA =	Thyroxin Binding Prealbumin ou Transthyréline (TBPA/TTR)
TT4 =	Thyroxine totale (T4T)
TT3 =	Tri-iodothyronine totale (T3T)
TTR =	Transthyréline (TTR/TBPA)
Tg =	Thyroglobuline (Tg)
TgAb =	Auto-anticorps anti-Thyroglobuline (TgAb)
TPO =	Thyropéroxydase (TPO)
TPOAb =	Auto-anticorps anti-TPO (TPOAb)
TBAb/TSAb =	Anticorps bloquant ou stimulant le récepteur de TSH (TBAb et TSAb)
TBII =	Immunoglobulines inhibant la liaison de la TSH (TBII)
TRAb =	Anticorps anti-récepteur de TSH (TRAb)
TSAb =	Anticorps stimulant la thyroïde (TSAb)
TSH =	Hormone stimulant la thyroïde ou thyrotropine (TSH)
WHO =	Organisation Mondiale de la Santé (OMS)