

Saostus vs. dialyysi T4-autovasta- aineiden poistamisessa

Yleensä immunokemiallisia määryksiä häiritsevät tekijät ovat elimistön tuottamia vasta-aineita. Ne voivat olla autovasta-aineita, jotka kohdistuvat tutkittavaan analytyttiin (esim. T4-autovasta-aineet) tai niin sanottuja heterofilisiä vasta-aineita, jotka tunnistavat reagenssin tuottamiseen käytetyn eläimen antigeenin. Tyroksiinin määrää mitattaessa heterofiliset vasta-aineet sitoutuvat siis T4-molekyylin tunnistavaan vasta-aineeseen.

Hankalaksi immunokemiallisten menetelmien häiriötekijöiden tunnistamisen ja hallitsemisen tekevät muun muassa seuraavat syyt:

- Ne voivat vaikuttaa tulokseen eri tavalla käytettävästä mittaustekniikasta riippuen
- Niiden vaikutus voi näyttää mittauksen teknisessä suorituksessa tapahuneelta virheeltä (esim. tulos 0 tai häviävän pieni)
- Niiden aiheuttama muutos voi vaihdella pienestä äärimmäisen suureen
- Eri vasta-aineet voivat käyttäytyä eri tavalla, jolloin valmistajan 1 menetelmä ei häiriidy tai häiriytyy vähän, kun taas valmistajan 2 menetelmä antaa huomattavan väärän tuloksen
- Analyytin tunnistuksessa käytettävän vasta-aineen häiriintymiseen voi vaikuttaa myös näytteen koostumus, eli ns. matriisi-efekti

Kun häiritsevien tekijöiden vaikutusta epäillään

Mikäli uusinta-ajo antaa vastaavan tuloksen ja laboratorion sisäinen ja ulkoinen laadunvarmistus näyttävät mittausmenetelmän toimivan normaalilla tavalla, on häiritsevät tekijät mahdollisuuksien mukaan poistettava näytteistä. Fotometrisissa määryksissä käytettävät menetelmät eivät yleensä toimi, koska häiriö ei johdu näytteen fysikaalisista ominaisuuksista (sameus, häiritsevä väri jne). Koska valtaosassa tapauksista häiriön aiheuttaa vasta-aine, pyritään häiriöitä vähentämään vasta-aineet poistamalla.



Vasta-aineiden poistaminen näytteistä

Perinteisesti häiritseviä vasta-aineita on poistettu tasapainodialyysillä (Equilibrium Dialysis; ED) ennen vapaan T4:n määrittämistä immunokemiallisesti. Se olikin pitkään ainoa rutiinisti käytetty menetelmä, koska se toimi tunnetuista menetelmistä parhaiten. Toimivuutensa puolesta se puolustaa yhä edelleen paikkaansa, mutta ongelmana on sen vaatima erillinen laitteisto sekä prosessiin kuuluva useiden tuntien aika (usein vuorokausi).

1970- ja 80-luvuilla kehitettiin useita menetelmiä, jotka perustuivat lähinnä immunoglobuliinien saostamiseen näytteestä tai niiden spesifiseen sitomiseen ja erotteluun esimerkiksi elektroforeettisesti tai kromatografisesti. Laaja tutkimus eri proteiinityyppien saostamisesta niiden häiritsevän vaikutuksen poistamiseksi julkaistiin vuonna 1981. Sen perusteella kehitettiin erilaisia tapoja häiritsevien immunoglobuliinien poistamiseen seerumi- ja plasmanäytteistä. Saostus onkin viime vuosina nopeutensa ja yksinkertaisuutensa vuoksi vallannut sijaa dialyysimenetelmältä. Se on nopea, eikä vaadi kalliita erillislaitteistoja. Lisäksi saostusreagenssi on suhteellisen edullista ja hyvin säilyvää.

Esimerkiksi Suomen yliopistosairaaloissa sekä suurissa yksityislaboratorioissa käytetään molempia menetelmiä. Mielenkiintoista on, että eläinlääketieteellinen kirjallisuus ei näytä tuntevan saostusta menetelmänä, vaan tutkimuksissa on lähes poikkeuksetta käytetty dialyysiä häiritsevien vasta-aineiden poistamiseen. Saostusta on käytetty vain yksittäisessä tutkimuksessa, mutta siinäkin saostuksen jälkeen kilpirauhashormonien tunnistus on tehty kromatografisesti (HPLC) (Piechotta ym. 2010). Tätä selittää osaltaan se, ettei aiheesta ole juurikaan tehty tutkimusta saostusmenetelmän vakiinnuttua humanikäyttöön.

Kilpirauhashormonien rutiinidiagnostiikassa käytettävät määritysmenetelmät ja reagenssit ovat kuitenkin identtisiä eläin- ja humanipuolella. Lisäksi poistettavat vasta-aineet (pääosin IgG) ovat fysikaalis-kemiallisilta ominaisuuksiltaan samanlaisia lajien välillä. Täten ihmispuolelle kehitetyt ja validoidut saostusmenetelmät ovat toimivia myös koirien näytteille.

Movetilla häiritsevien vasta-aineiden poistaminen tapahtuu saostukseen perustuvalla menetelmällä, jolloin dialyysimenetelmää vastaa tutkimusvalikoimassa tutkimus "T4-v autovasta-aineet poistettu, koira (S/P)". Tutkimusta suositellaan etenkin roduille, joilla tunnetusti tavataan autovasta-aineita useammin kuin muilla roduilla: englanninsetteri, pointteri, skyenterrieri, karkeakarvainen saksanseisoja, vanhaenglanninlammaskoira, bokseri, maltankoina, kuvasz and petit basset griffon vendéen.

Lähteet

Piechotta M, Arndt M, Hoppen HO. Autoantibodies against thyroid hormones and their influence on thyroxine determination with chemiluminescence immunoassay in dogs. J Vet Sci. 2010 Sep;11(3):191-6.

