



MIKS IMMUUNANALÜÜSI TULEMUS ON VAHEL MITTEOOTUSPÄRANE, KUIGI ANALÜSAATOR TÖÖTAB LAIMATULT?

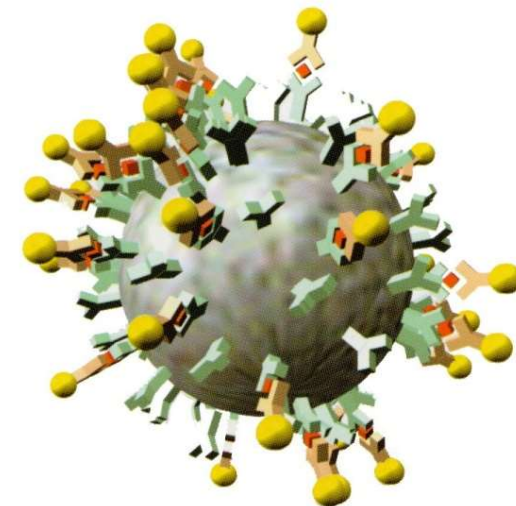
Kaidi Hunt

Millest juttu tuleb?

- Hormoonide, kasvajamarkerite ja teiste immuunanalüüsi meetodil määratavate analüüside tulemusi mõjutavad faktorid, mille tagajärjel võib juhtuda, et tulemus ei ole see mida ootasime
- Hormoonide ööpäevane rütm ja bioloogiline variatsioon
- B7 vitamiini (biotiin) mõju analüüsi tulemustele
- Heterofiilsete antikehade segav mõju hormoonide määramisel

Kemoluminestsents immuunanalüüsimeetod

- **Kemoluminestsents** on keemiline reaktsioon, mille tagajärjel eraldub valgus
- **Immuunanalüüsi** tehnoloogiaga koos kasutades näitab reaktsioonil tekkinud valgus analüüdi hulka proovimaterjalis
- Immuunanalüüsi tehnoloogia on kasutusel juba üle 40 aasta



Immuunanalüüsimeetod

- Analüüsitav aine ühineb spetsiifilise antikehaga mingi tahke faasi või magnetpartikli pinnal reaktiivi sees

Kasutatakse erineva mehhanismiga immuunreaktsioone:

Immunomeetriline

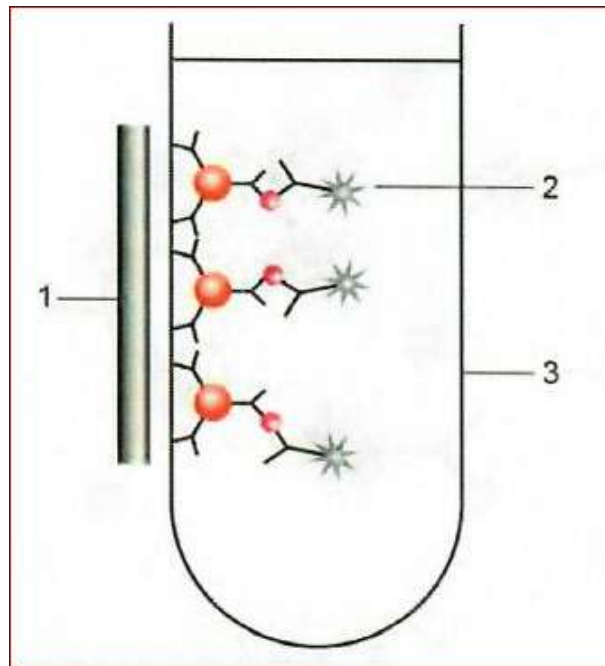
Seerumile lisatakse reaktiivi, kus on märgistatud ainega (helendav) teine antikeha. Moodustub antikeha-antigeen-antikeha nn “*sandwich*”-kompleks

Konkureeriv

Uuritav aine konkureerib testi reaktiivis sisalduva märgistatud analoogse ainega piiratud arvule seostumiskohtadele antikehadel (tahke faasi või magnetpartikli pinnal)

„Sandwich“ tüüpi ehk immunomeetriline immuunanalüüs

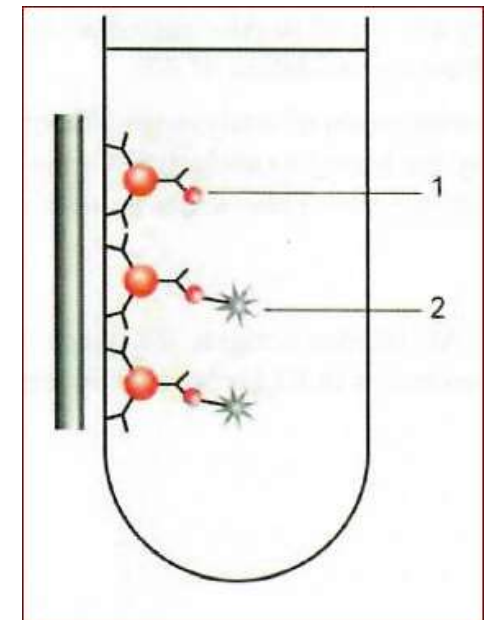
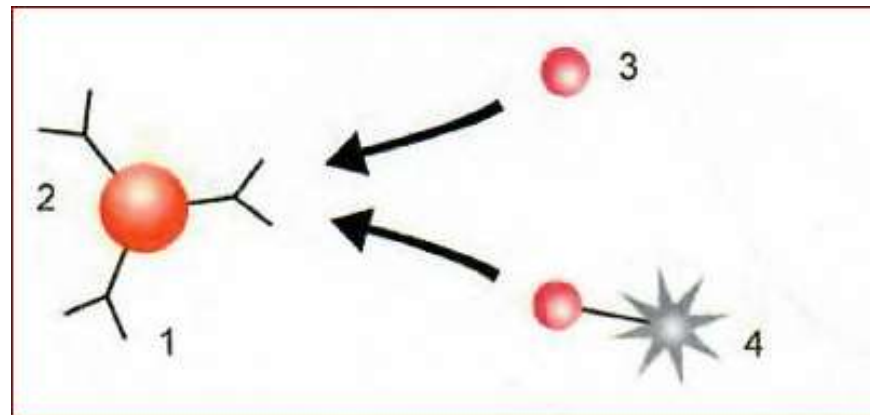
- Märgistatud kompleks hakkab ensüümi lisamisel helendama ja helenduse tugevus on proportsioonilis aine hulgaga seerumis



- Magnet (1)
- Ak/ Ag/ Ak märgistatud kompleks (2)
- Küvett (3)

„Konkureerivat“ tüüpi immuunanalüüs

Märgistatud kompleks hakkab ensüümi lisamisel helendama ja helenduse tugevus on pöördvõrdeline otsitava aine hulgaga seerumis



- Seerumist otsitav aine kinnitub reaktiivis oleva vastava antikeha (1) külge
- Otsitav aine (3)
- Märgistatud antigeen (sama aine) reaktiivis (4)

Täisautomaatne immuunanalüsaator

CentaurXP



LIAISON® XL



Immulate 2000XPi

Põhilised hormoonitulemust mõjutavad tegurid

- Ööpäevane rütm, eritumise pulsatiivsus (rütmilisus)
- Aastaaeg – D-vitamiin; TSH külmadel kuudel veidi kõrgem
- Eelnev füüsiline koormus / patsiendi asend – püsti või pikali
- Uni – (nt GH ja Prolaktiini hulk veres magamise ajal kõrgem)
- Paast, eelnev dieet – eriti reniin-angiotensiin-aldosteroon-süsteemi hormoonid (RAAS).
Reniiini eritumist vähendavad rohke soola tarvitamine, lamav asend, veremahu suurenemine
- Vanus ja sugu
- Menstruaaltsükkel, rasedus (kandurvalgud, platsenta poolt toodetud hormoonid)
- Ravimid, eriti S-Prol ja RAAS süsteemi hormoonide puhul

Proovivõttust tingitud mõjud

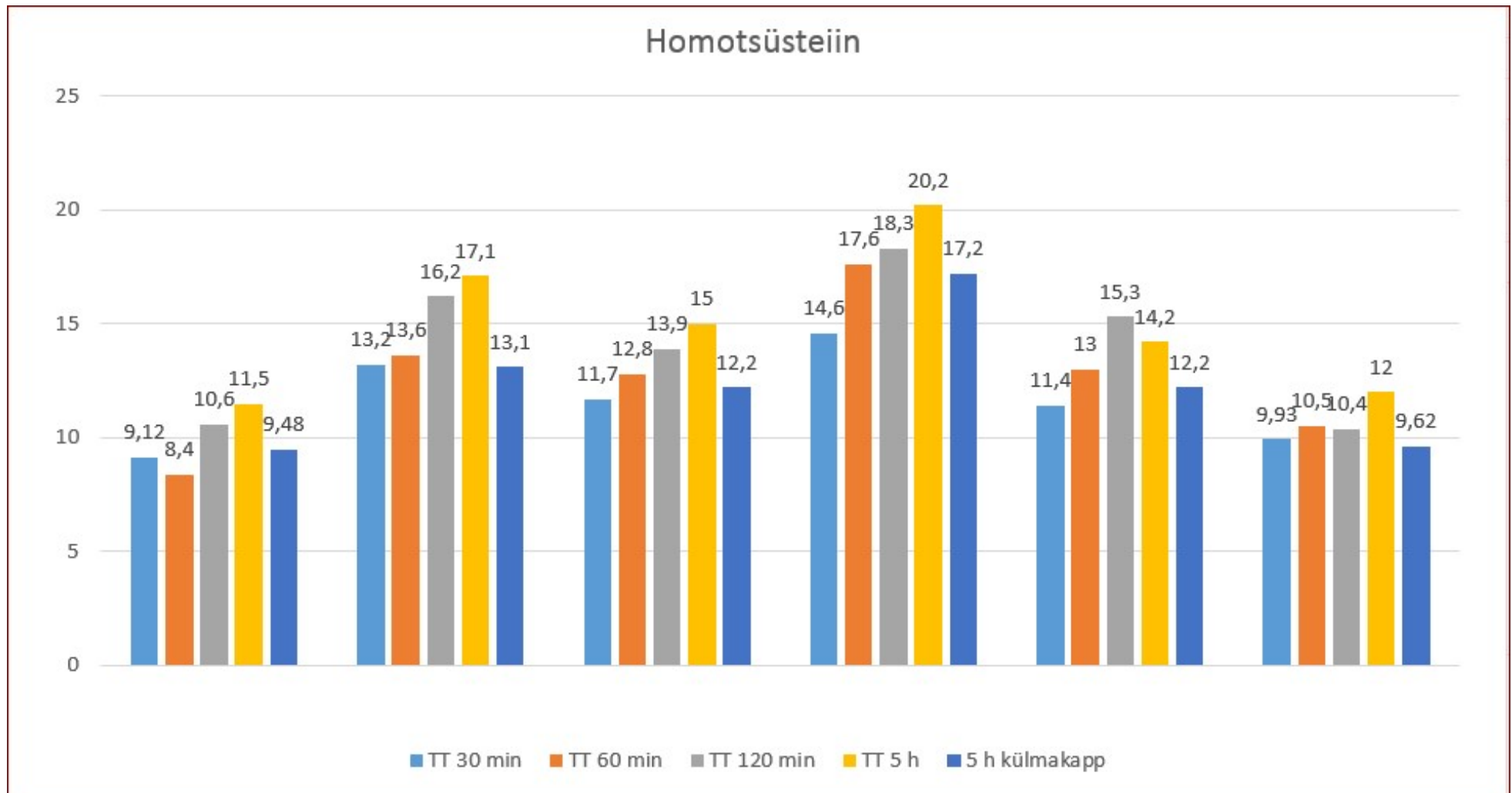
- Patsiendi asend proovivõtul (nt Reniin ja Aldosteroon)

Soovitav on proov võtta hommikul vähemalt 2 tundi peale patsiendi ärkamist (patsient on olnud püsti).

Enne proovivõttu peab patsient 5-15 minutit istuma

- Kapillaarveri vs veeniveri. Kapillaarvere tulemused võivad olla kuni poole madalamad
- Määratava aine labiilsus
 - Seerum vs plasma (ACTH, BNP, Reniin seerumis ei säili)
 - Vererakkudest eraldamise kiirus **homotsüsteiin (30 min)**
- HIL probleemid: hemolüüs, ikterus, lipeemia mõjutavad immuunanalüüse vähem

Plasma homotsüsteiini säilivuse katse



ACTH ja Kortisool

Mõlema hormooni maksimaalne väärtus on hommikul kell 6-8, minimaalne öhtul kell 20-22 vaatamata magamisharjumustele. Öhtune väärtus on pool hommikusest!

ACTH ja Kortisooli kontsentratsiooni korrektseks määramiseks on vajalik võtta mõlemad analüüsid nendel aegadel

- **ACTH** on hüpofüüsi eessagaras toodetav hormoon, mille funktsiooniks on reguleerida kortisooli sekretsiooni neerupealse koorest
- **Kortisool** on neerupealiste koore fastsikulaarkihis sünteesitav steroidhormoon. Sekretsiooni reguleerib ACTH ööpäevase rütmi järgi. Füsioloogiliselt on kortisool organismis vajalik põletikuvastases reaktsioonis, vererõhu stabiliseerimisel, glükoneogeneesis, soolhappe ja pepsiini sekretsioonil maos.

Näidustus:

- Neerupealiste koore puudulikkuse diagnostika
- Cushingi sündroomi diagnostika ja diferentsiaaldiagnostika

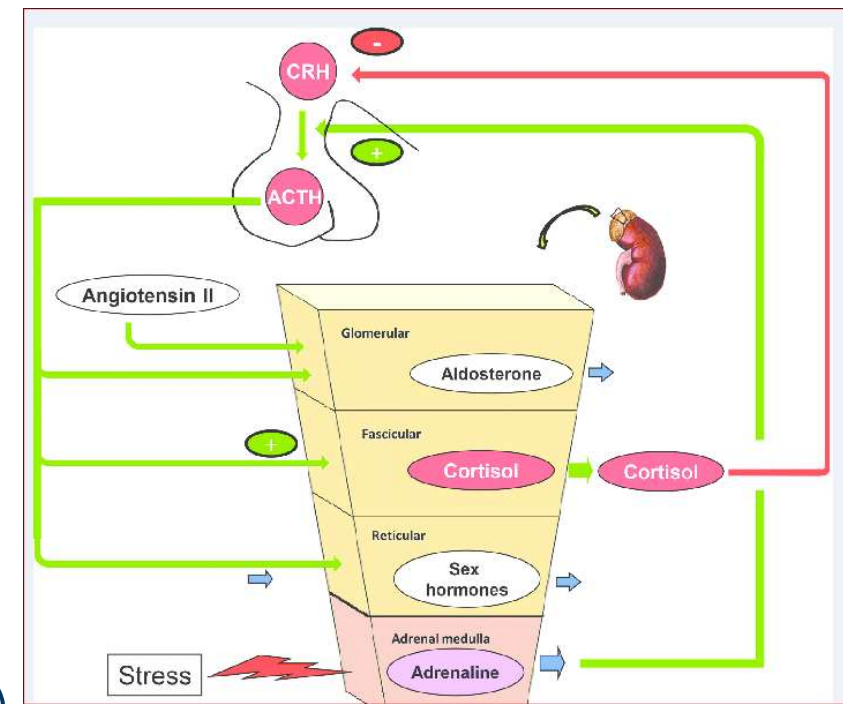
ACTH ja Kortisool

Väga suur ööpäevane kõikumine, mida kasutatakse ära ka diagnostikas. Nt. Cushingi sdr puhul õhtune tugev langus jääb olemata. Hea sõeltest!

- Päevadevaheline kõikumine samuti suur (COR puhul 40%)
- Rasedus, anoreksia, alkoholism, füüsiline koormus, rasvumine, depressioon ja stress ↑ kortisooli hulka veres ("stresshormoon")
- Ravimite mõju kortisoolile:
 - ↑ glükokortikoidid, östrogeeni sisaldavad ravimid (kortikoidesiduva valguga sisalduse suurenemine) ja eriti kortisooli asenduravi.
 - ↓ androgeenid, levo-dopa, barbituraadid, fenütoiin, okasepaam, morfiin, liitium

ACTH puhul vastupidi

Kortisooli määramine süljest on vähem mõjutatud eelpoolmainitud faktoritest



Reniini-angiotensiini-aldosterooni süsteem (RAAS) vee ja elektrolüütide homöostaas ning vererõhu regulatsioon

➤ **Reniin on väga labiilne – krüoaktiivne** (2-8 °C reniini sisaldus tõuseb)

Tsentrifuugida toatemperatuuril. **Plasma** eraldada koheselt ning külmutada alla -20°C.

Plasmat võib lühiajaliselt hoida toatemperatuuril aga ei tohi hoida 2-8 °C juures. Säilitamine ja transport külmutatuna

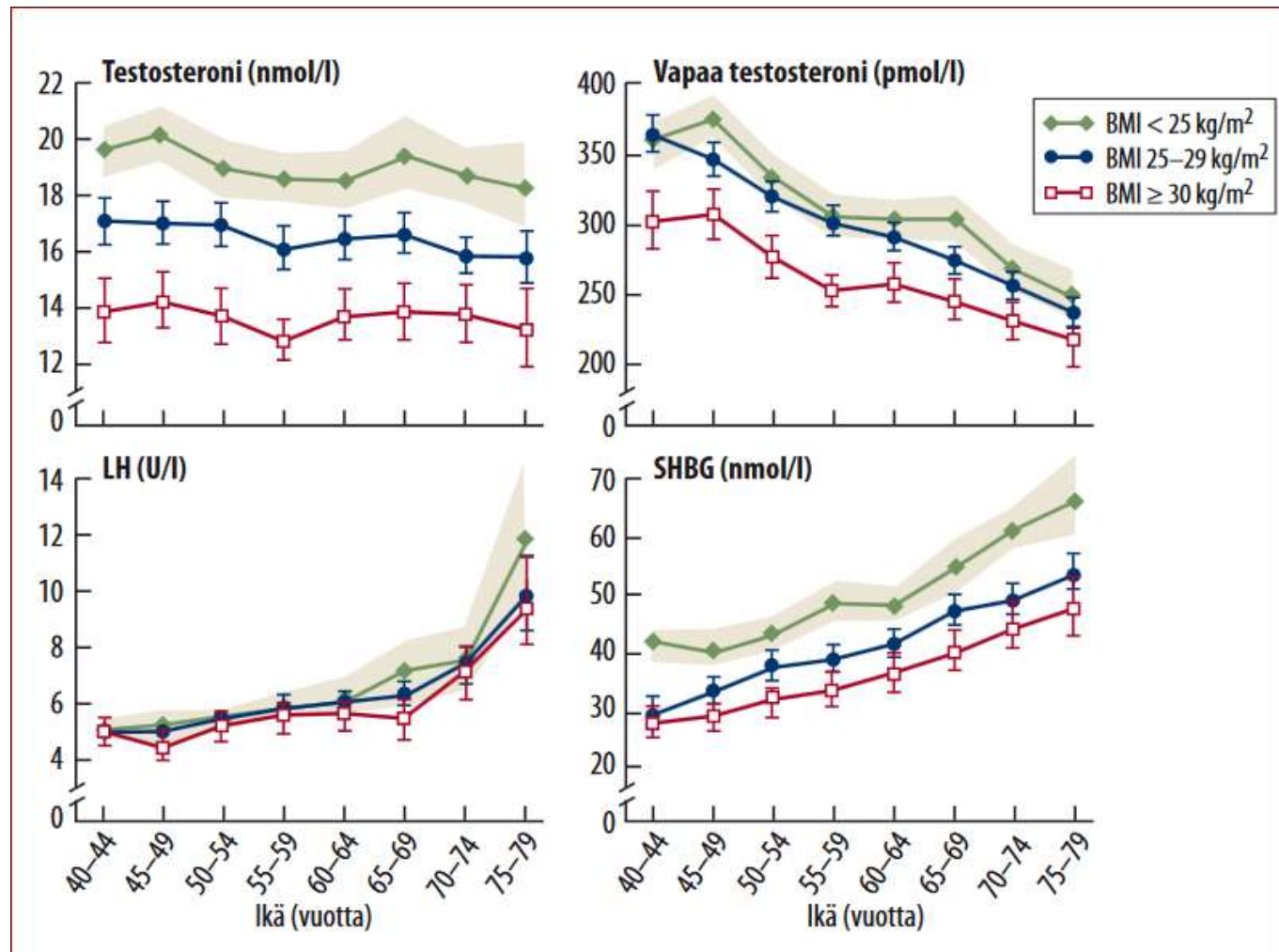
- Kehasend: lamaval patsiendil on süntees 2-3 korda madalam kui püstiasendis
- Uute soovitude kohaselt võetakse proovid reniini määramiseks ainult püstiasendist
- Dieet: Reniini eritumist vähendab rohke soola tarvitamine ja vastupidi
- Ravimid: Reniini ↑ põhjustavad ka diureetikumid, ACE-inhibiitorid ja angiotensiini retseptori blokaatorid (ARB). Reniini ↓ β-blokaatorid, α2-agonistid, NSAIDid, sünteetilised östrogeeni preparaadid

Testosteroon ja SHBG

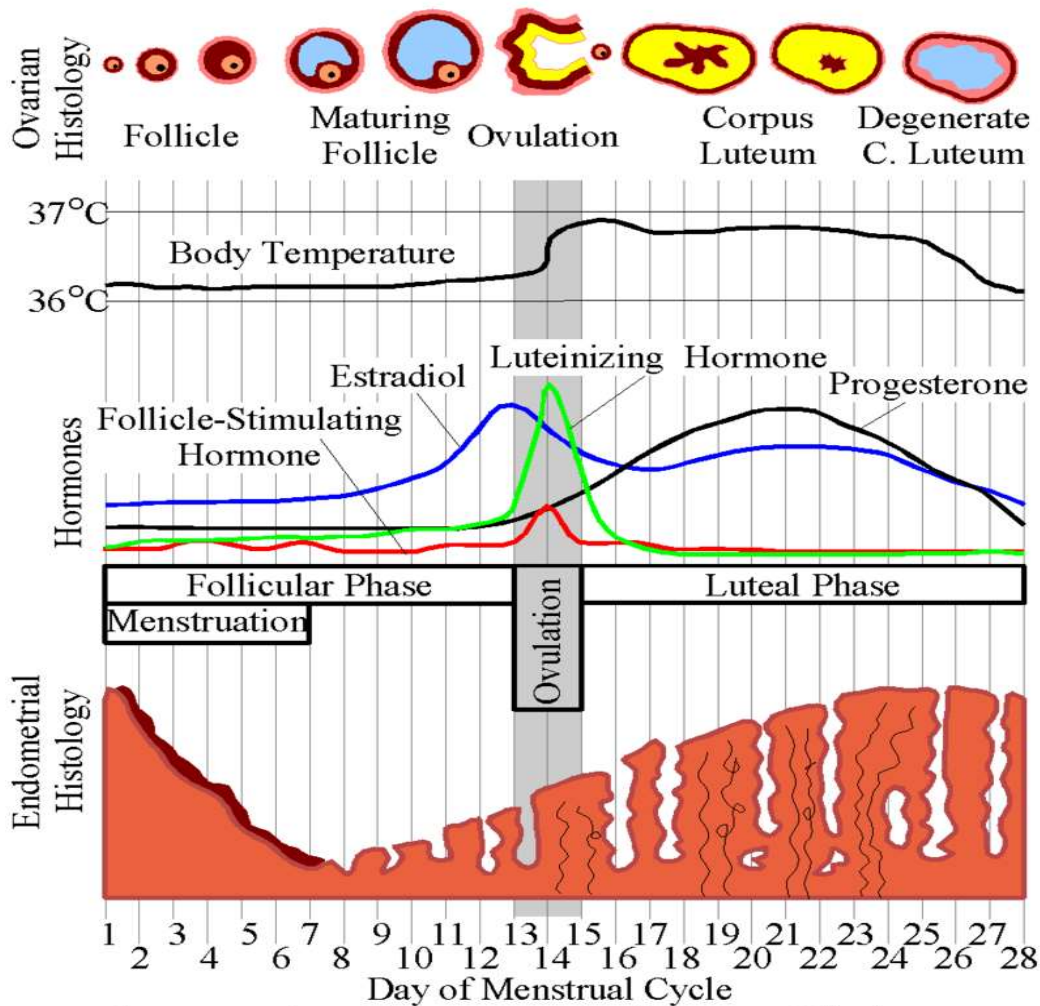
- Ööpäevane rütm – referentsväärtused on antud **hommikupoolseks ajaks nagu enamusel laborianalüüsidel**
- Ööpäevane rütm kaob vanusega: 30-40 aastastel meestel võib hommiku ja õhtu tulemus erineda 25-35% aga 70-80 aastastel 10%
- **Testosterooni päevadevaheline (bioloogiline) variatsioon on suur**
- Naistel menstruatsioonitsükli variatsioon vähene; samuti rasedus ↑ TESTO
- Füüsiline pingutus (sport) ↑ TESTO – koormuskatsed
- SHBG hulk mõjutab vabaTesto hulka; SHBG↓ ülekaalulistel (rasvunud) eriti naistel ja ↑raseduse ajal

Kehamassiindeksi (KMI), vanuse ja hormoonide suhe 40-79-aastastel 3220 mehel (Wu et al. 2008)

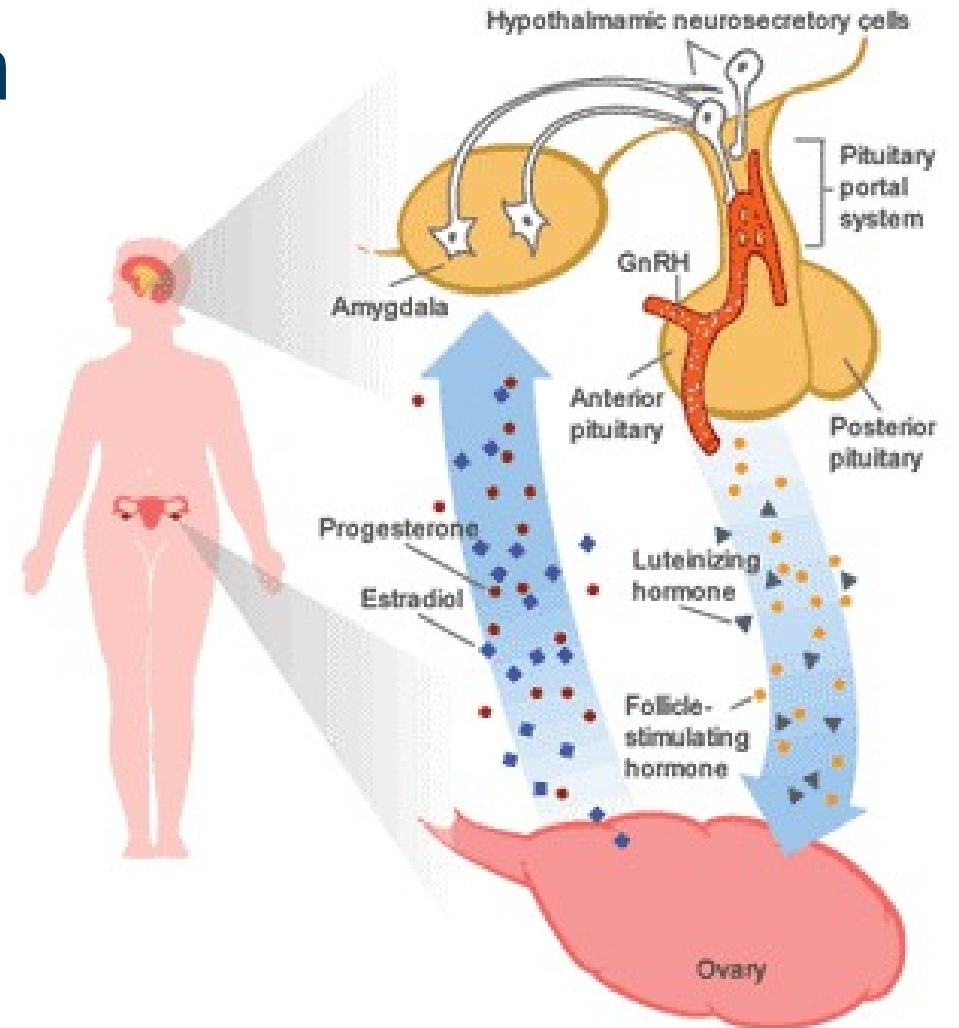
Varjutatud ala ja vertikaalsed jooned tähistavad keskmist väärtust ja standardhälvet kummalegi poole



Naissuguhormoode regulatsioon



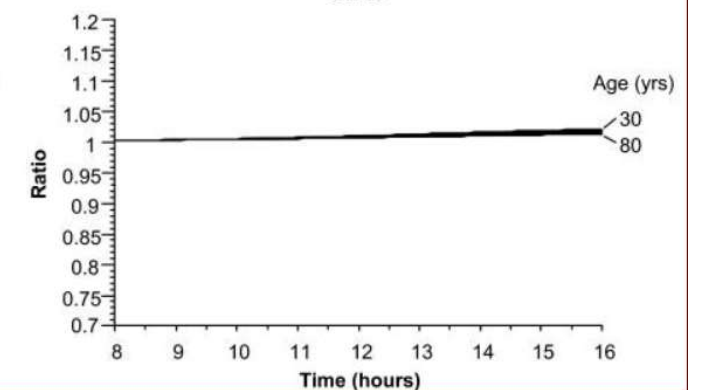
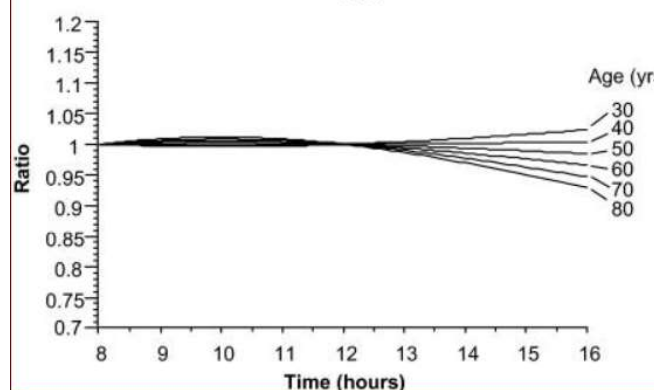
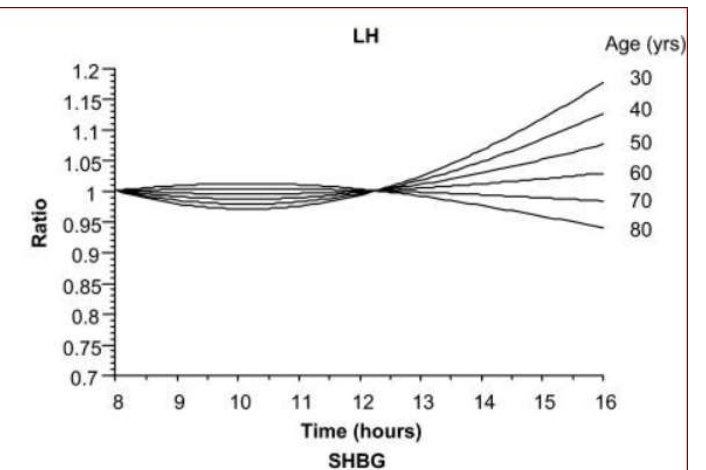
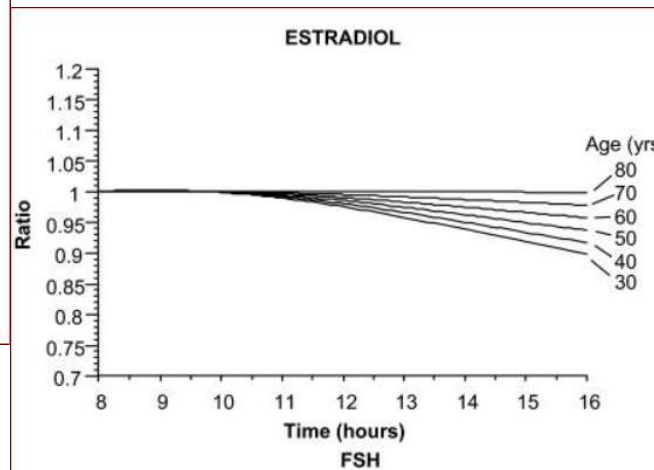
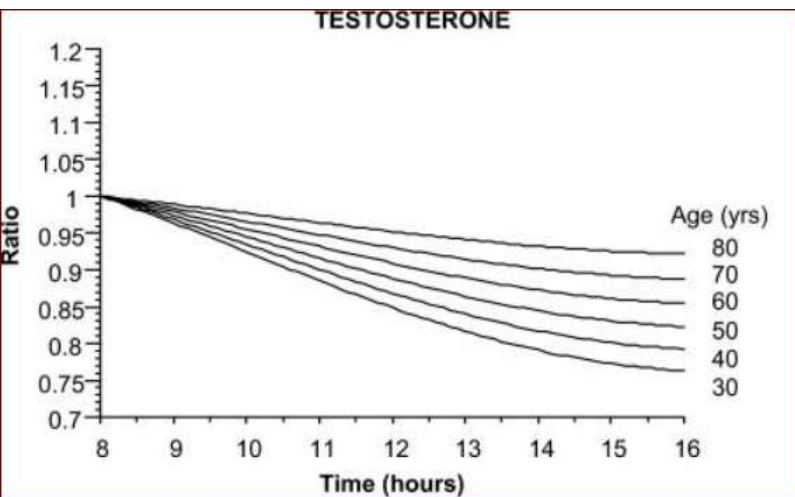
(Average values. Durations and values may differ between different females or different cycles.)



FSH, LH, E2 (östradiool) ja progesteroon

- Lapse- ja puberteediiga: väga suured muutused (eraldi ref väärtused)
 - Naised:
 - FSH, LH, E2 ja Progesteroon fluktrueeruvad kogu fertiilse ea vältel (menstruatsioonitsükkel)
 - Proovivõtt tuleb ajastada õigesti. Kindlatel tsüklipäevadel
- Progestrooni** puhul: täpsemaks kollaskeha funktsiooni hindamiseks soovitatakse analüüsi määrata 4-10 päeva enne uue menstruaaltsükli algust kolm korda kolmepäevase intervalliga.
- Menopausi ja postmenopausi ajal hoopis teised referentsvahemikud
- ✓ Mehed:
 - FSH ja LH fluktrueeruvad samamoodi kui naistel
 - Östradiooli ööpäevane variatsioon sama kui testosteroonil, ealine muutus väike
 - LH ↑ tõuseb vanusega. Füüsiline kurnatus LH ↓

Kl.16:00 ja kl.8:00 mõõdetud hormoonitulemuste suhe ja selle muutumine vastavalt eale (30-80 aastased mehed n=99)



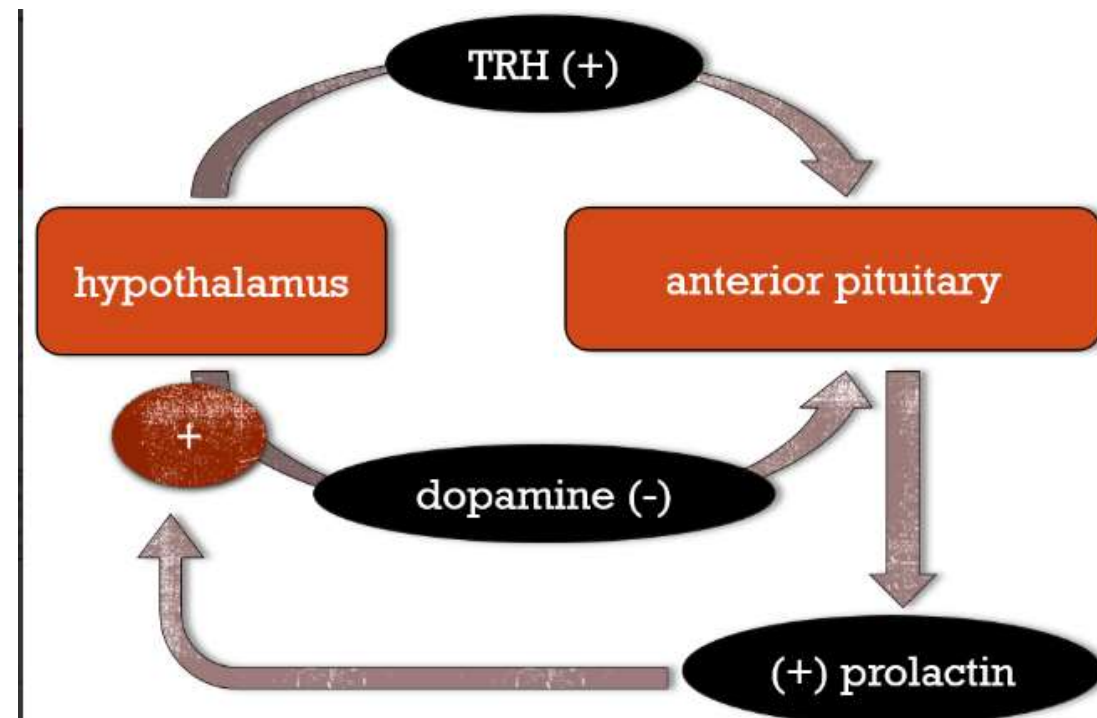
[J Clin Endocrinol Metab. 2009 Mar; 94\(3\): 907-913.](#)

Prolaktiin

Pulsatiivne eritumine hüpofüüsi eessagarast

Näidustus naistel:

- Amenorröa, oligomenorröa, anovulatoorne tsükkel, corpus luteum'i puudulikkus, galaktorröa, virilismi põhjuste selgitamine
- Prolaktiini sekreteerivate tuumorite diagnostika ja ravi efektiivsuse jälgimine
- Hüpotalamuse haigused



Prolaktiin

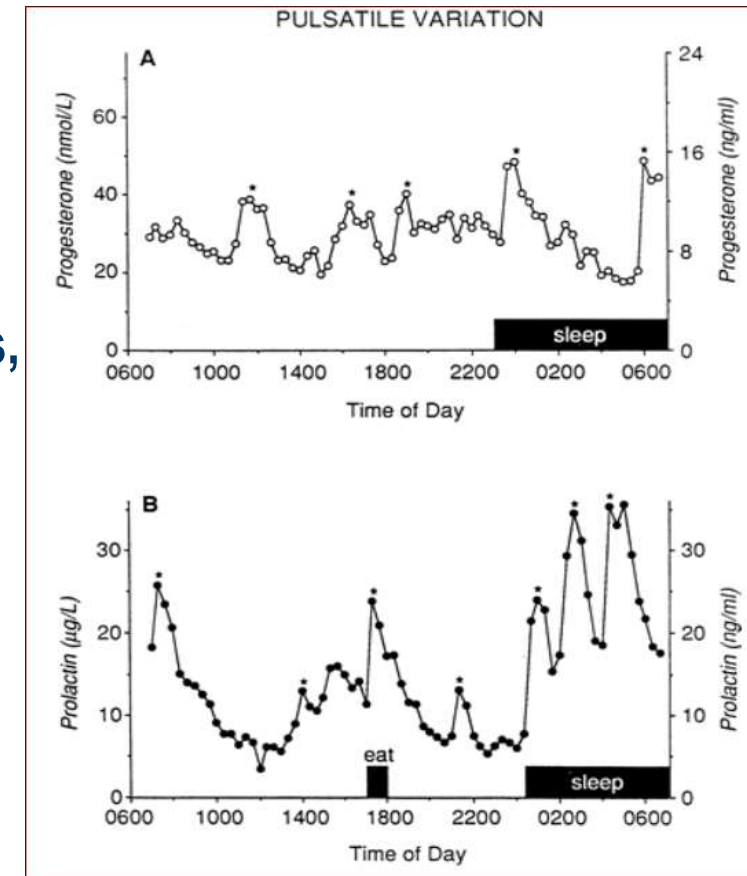
Prolaktiini taset tõstavad uni, rasedus ja laktatsioon, rinnanibu stimulatsioon, suguuhe, vaimne ja füüsiline ülepingutus, hüpoglükeemia

➤ Parim aeg verevõtuks kl. **9.00-12.00 vahel, samal ajal peab pt. olema olnud 2-3 tundi ärkvel**

Menstruatsioonitsükliga seoses muutub S-Prol hulk vähe

Paljud ravimid mõjutavad prolaktiini tulemust:

- Prol ↑ antidepressandid neuroleptikumid, dopamiini antagonistid, dopamiini metabolismi pidurdajad (opiaadid), hormoonid (türeotropiini vabastav hormoon, östrogeenid), peroraalsed kontratseptiivid, antiadrenergilised ravimid (metüüldopa, reserpiin), H₂-retseptori antagonistid (tsimetidiin), serotoniinergilise süsteemi stimulaatorid (amfetamiin), isoniasiid.
- Prol ↓ dopamiini agonistid, levodopa, apomorfiin, klonidiin.



Kasvuhormoon (GH)

Vabaneb episoodiliselt hüpofüüsi eessagarast

- Une ajal kõrgem, põhiline kogus produtseeritakse uneaja esimese 1,5 tunni jooksul
- Kasvuhormooni puuduse või liia kindlakstegemiseks

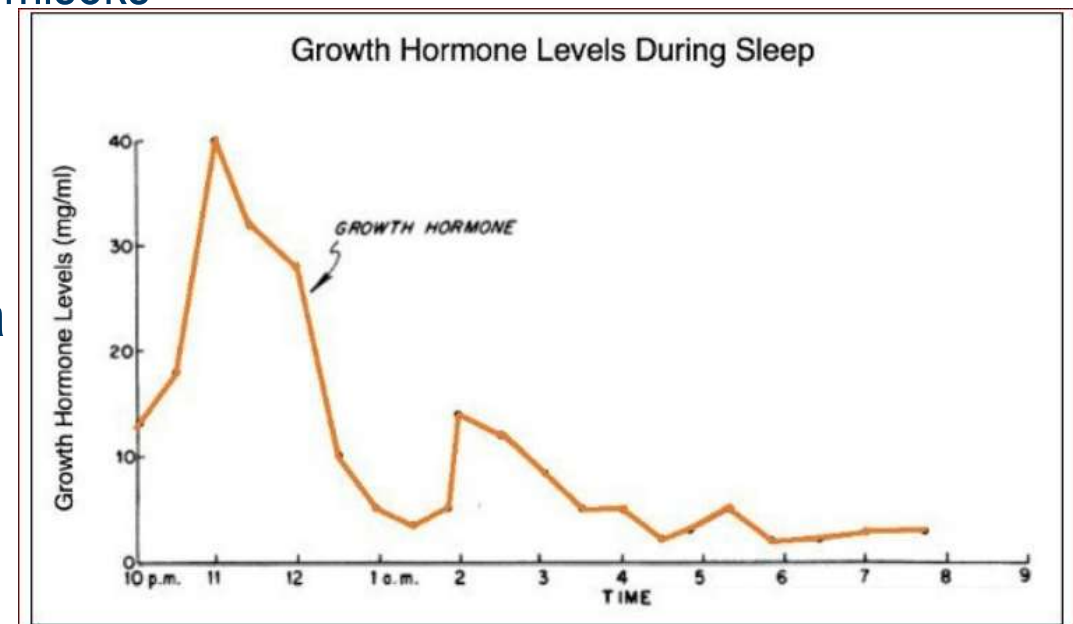
ühekordne GH analüüs ei ole informatiivne

GH stimulatsiooni- ja koormustestid kas füüsilise koormuse või glükoosi manustamisega

IGF1 ehk Insuliinisarnane kasvufaktor-1

Kasvuprobleemide puhul parim analüüs

IGF-1 hulk on stabiilne ning seda pole vaja korduvalt määrata



Kilpnäärme hormoonid

TSH – eritumisel hüpofüüsisist ööpäevane rütm

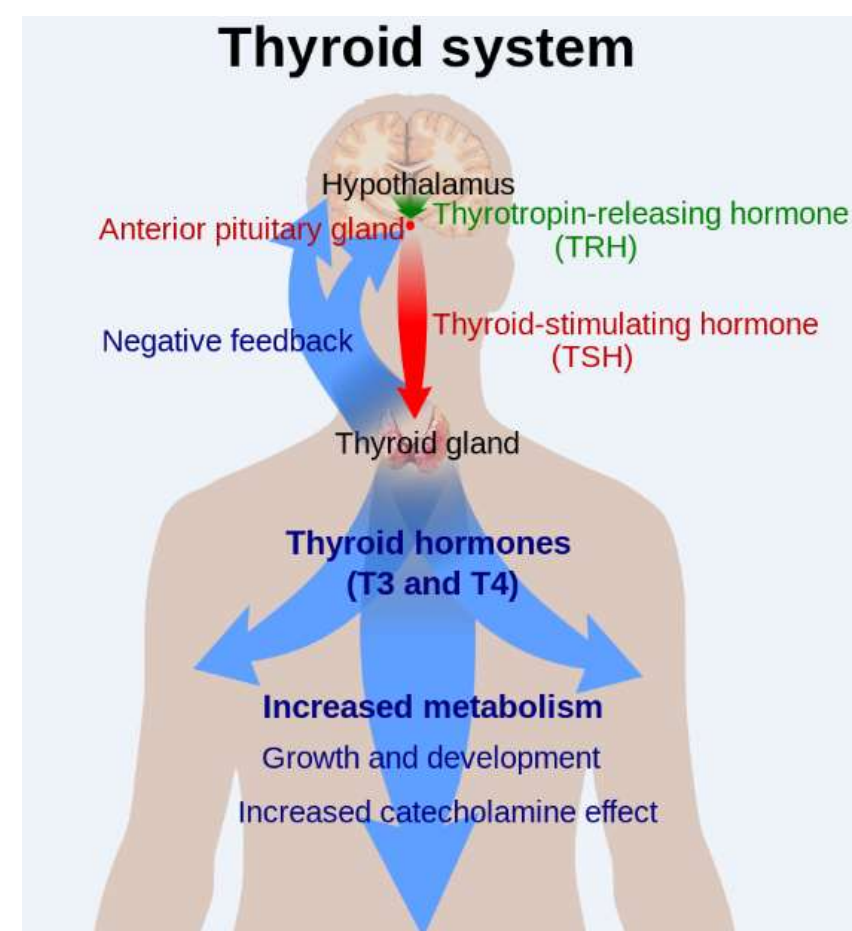
- Öhtupoole TSH sisaldus veres tõuseb, olles kõrgeim öösel ja langeb tagasi kella 9-10 paiku hommikul

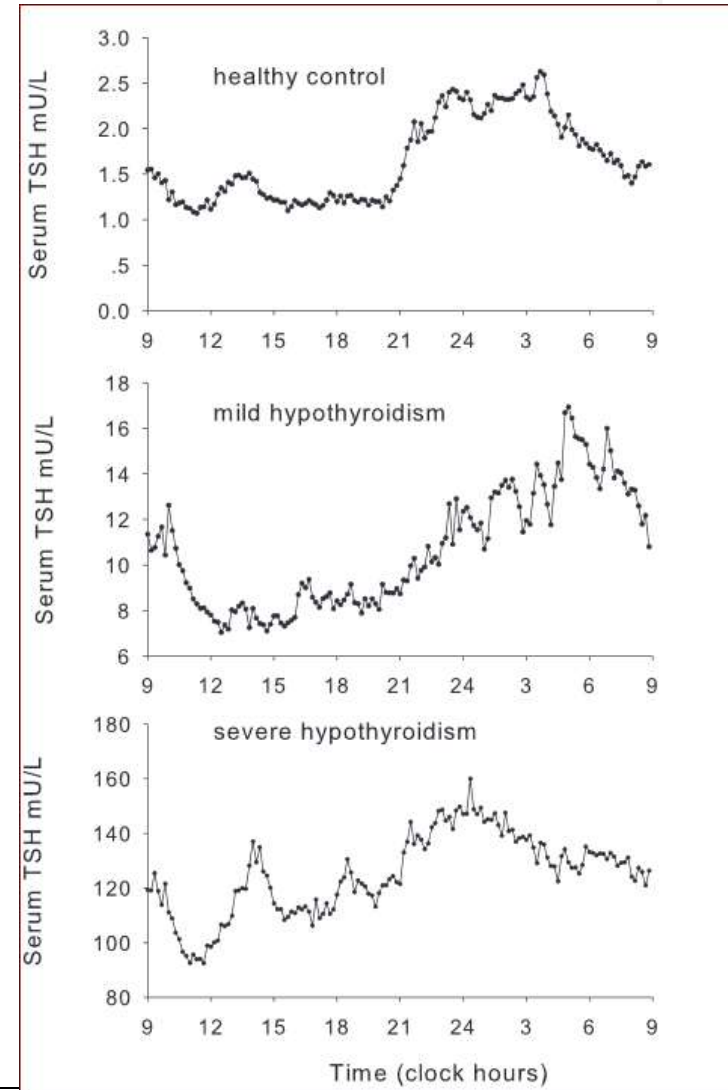
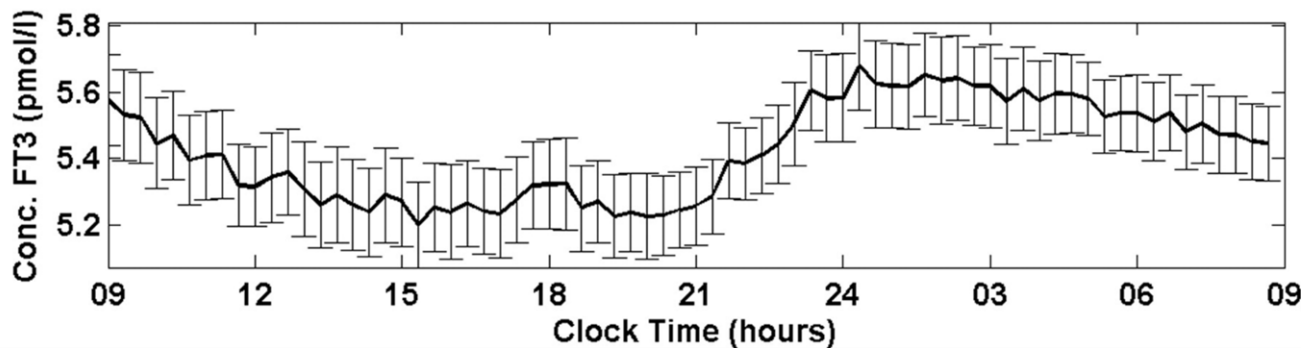
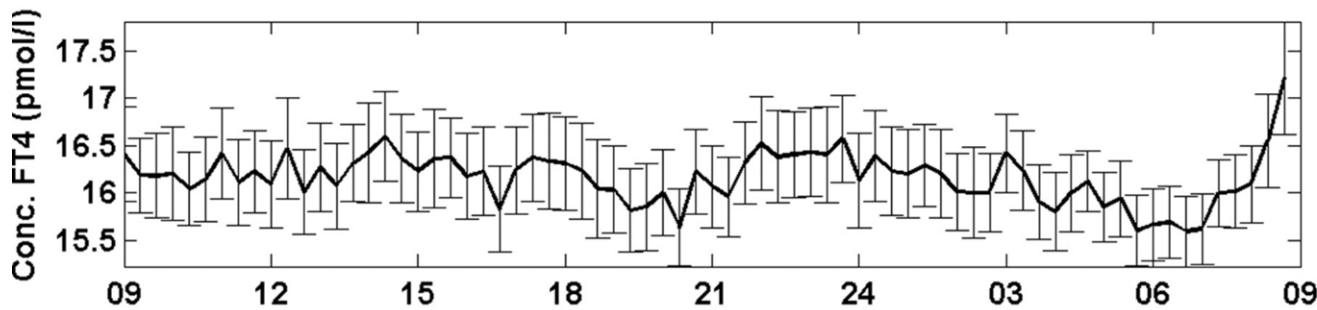
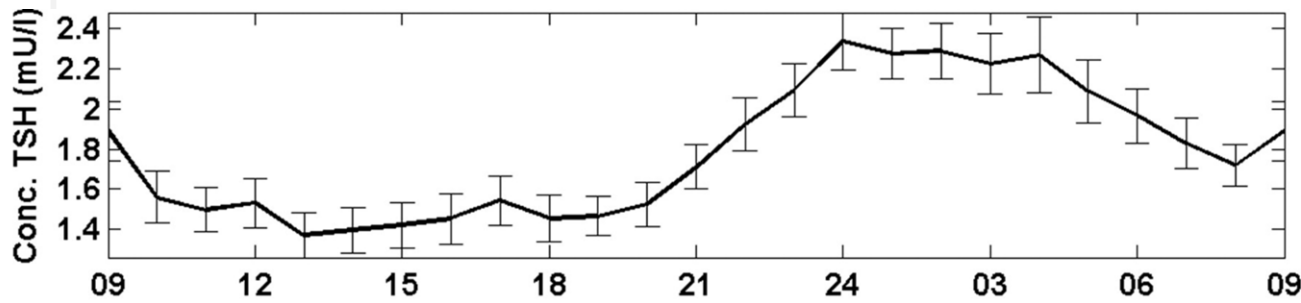
Seetõttu võib kontsentratsioonide erinevus olla isegi kolmekordne

- TSH analüüsi on soovitatav anda hommikupoole kell 9-12

FT4 – ööpäevane rütm puudub

FT3 – muutub sarnaselt TSH-ga aga ööpäevane muutus on hilisem (90min) ja amplituud väiksem





From: Free Triiodothyronine Has a Distinct Circadian Rhythm That Is Delayed but
Parallels Thyrotropin Levels

J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(6):2300-2306. doi:10.1210/jc.2007-2674

J Clin Endocrinol Metab | Copyright © 2008 by The Endocrine Society

Mida peab silmas pidama enne kilpnäärme analüüside jaoks vere andmist

https://synlab.ee/wp-content/uploads/2017/01/SYNLAB_TSH_info_A4_ET.pdf

Ravimid - kilpnäärme ravimite tarvitamise puhul on oluline, et tableti võtmise ja vere andmise vahele jääks vähemalt 4 tundi. Kui verd soovitakse anda hommikul, siis ei tohiks enne vereandmist ravimit võtta (vastasel juhul FT4 ↑ ja TSH ↓). Verd võib anda ka õhtupoole

Ravimi võtmise aeg - ravimite imendumise aeg sõltub sellest, kas seda võetakse enne sööki tühja kõhuga või koos toiduga. Toiduga koos võib ravimi imendumine väheneda ja aeglustuda. Oluline on võtta ravimit iga päev ühtemoodi. Parima imendumise huvides tuleks ravimit võtta hommikul 1 tund enne söömist. Kui te muudate oma ravimi võtmise harjumust, tuleks TSH uuesti määrata, et tulevikus saaks dünaamikat jälgida

Toit - kiudaineterikkale dieedile üleminek mõjutab ravimite imendumist ja automaatselt ka TSH hulka veres, kuna muutub toidu seedimise kiirus maos. Kui muuta dieeti, siis tuleks planeerida vereandmist 6-8 nädala jooksul veendumaks, et ravimi annus on sobiv

Mida peab silmas pidama enne kilpnäärme analüüside jaoks vere andmist

Hormoonid ja rasedus - östrogeenid tõstavad teatud valgu hulka, mis seob omakorda türoksiini, muutes türoksiini osalt inaktiivseks

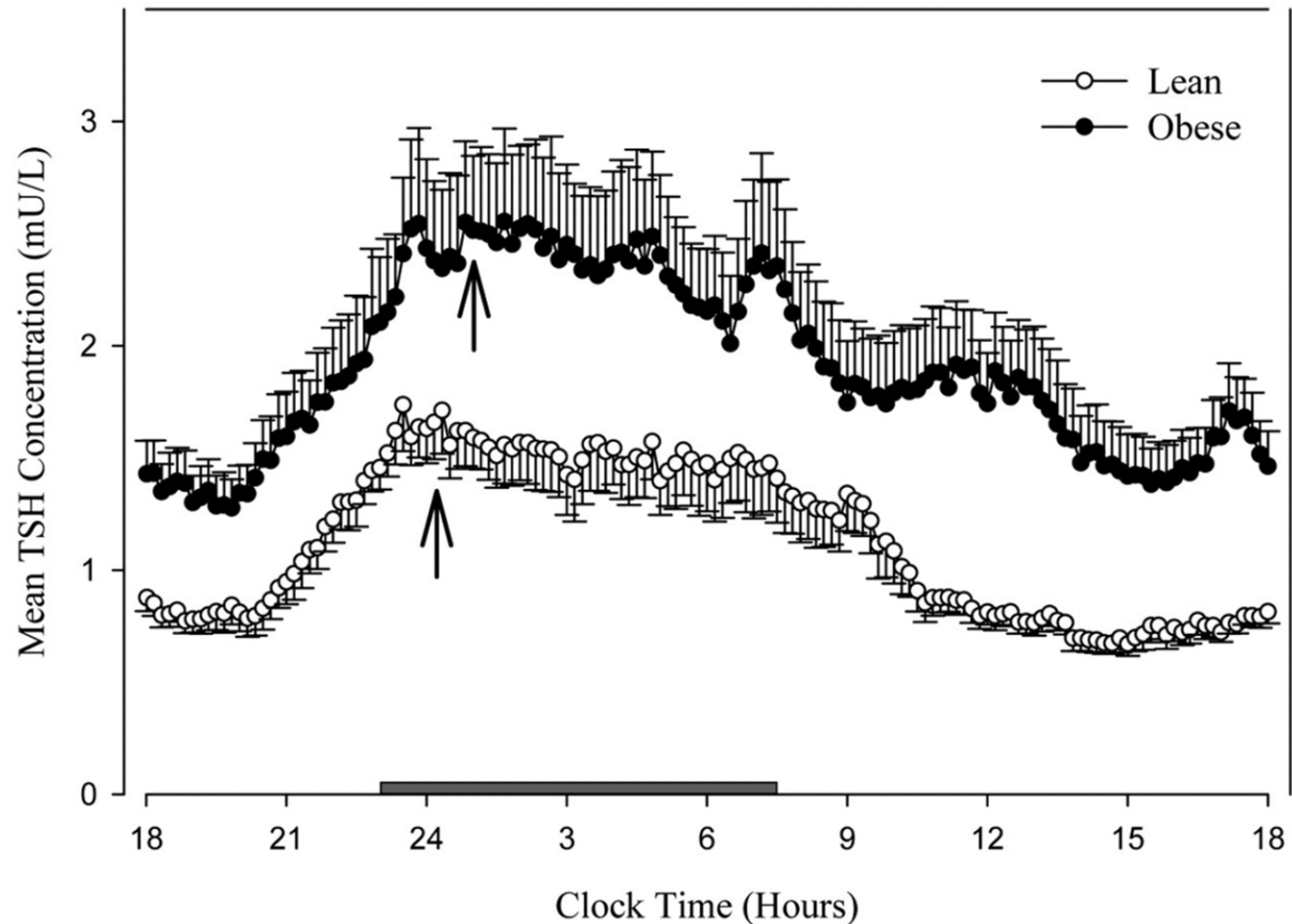
- Hormoonasendusravi ja rasedusvastaste tablettide manustamine mõjutab TSH tulemust ↑ Ravil saavad pt võivad vajada suuremaid türoksiini annuseid
- Raseduse alguses tõuseb TSH hulk suure östrogeenide hulga tõttu naise organismis. Pärast sünnitust TSH langeb

Stress ja haigused - endokriinne süsteem on väga tundlik organismi emotsionaalse ja füüsilise stressi suhtes

- Raske süsteemse haiguse ja paastumise korral TSH ↓
- Psühhiaatriliste haiguste ja kroonilise hepatiidi korral võib täheldada kergest TSH tõusu
- Raske kroonilise või akuutse haiguse korral ei peegelda üksik TSH väärtus endokriinsüsteemi funktsioneerimist õigesti

TSH ja rasvumine

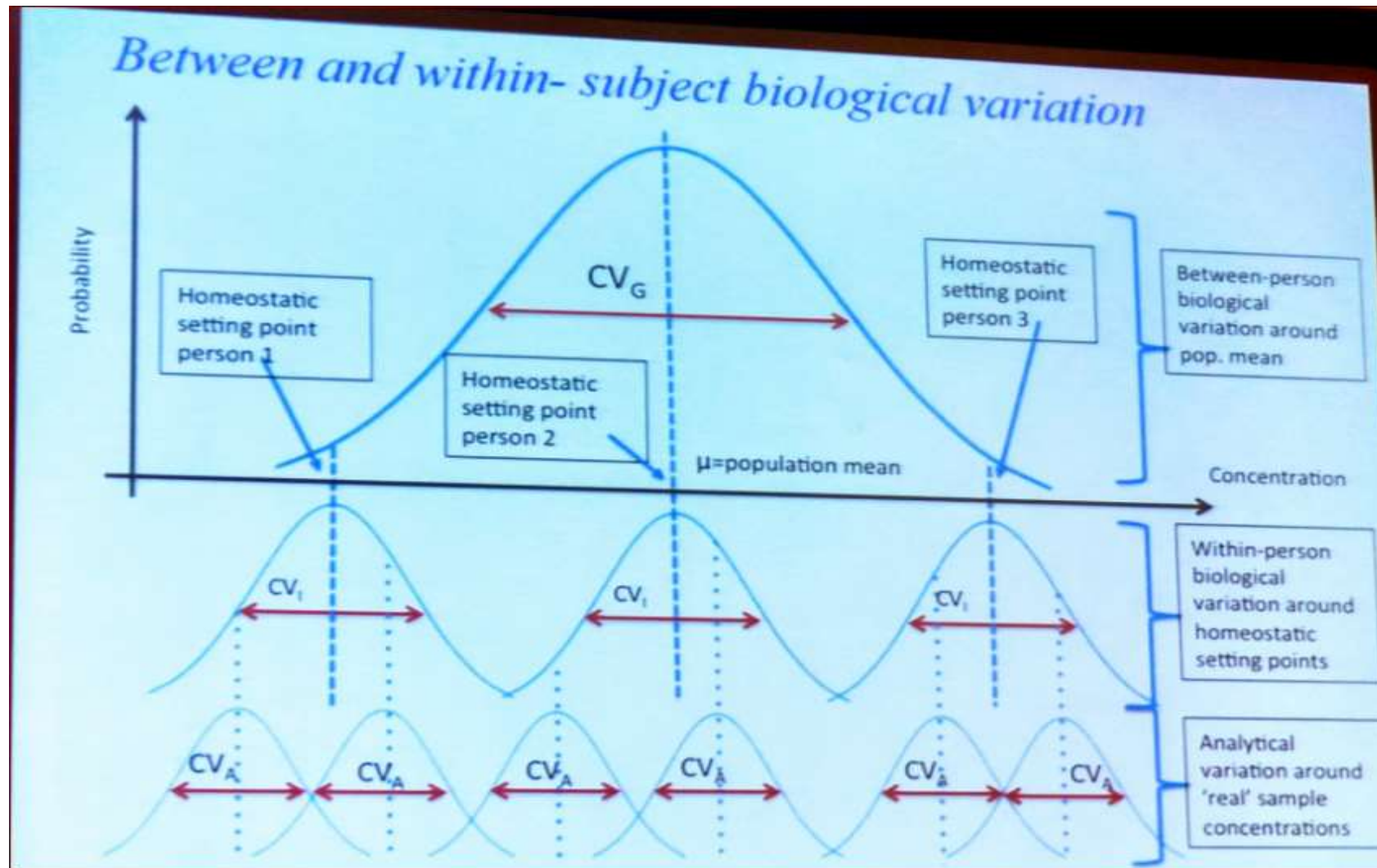
Rasvunud naistel TSH kõrgem ja korreleerub leptiini hulgaga veres



From: Spontaneous Diurnal Thyrotropin Secretion Is Enhanced in Proportion to Circulating Leptin in Obese Premenopausal Women

J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(11):6185-6191. doi:10.1210/jc.2005-0003

Analüüdi bioloogiline ja analüütiline variatsioon



Analüüdi bioloogiline variatsioon

Bioloogiline variatsioon – tähistatakse CVi või CVw

James Westgard

<https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

Kliiniliselt oluline muutus – reference change value (RCV)

$$\mathbf{RCV = \sqrt{2} * Zscore * \sqrt{(CVa^2 + CVi^2)}}$$

CVi – individuaalne bioloogiline variatsioon

CVa – analüütiline variatsioon

Z olulisuse faktor

Z = 2,56 - 99% tõenäosuse muutus ehk väga oluline muutus

Z = 1,96 - 95% tõenäosuse muutus ehk oluline muutus

Levinumate hormoonide kliiniliselt oluline muutus %

Analüüt	CVi %	CVa %	RCV %
S-FSH	11	4,97	33
S-LH	23	6	65
S-E2	22,5	5,28	63
S-Prol	23	4,2	64
S-Testo	9,3	6	30
S-TSH	19,3	3,7	54
S-FT4	5,7	6	23
S-FT3	7,9	3,45	24
S-Fer	14,2	6	42
S-Cor	15,2	5,48	45
fS-PTH	25,3	5,74	71

Biotiini segav mõju immuunanalüüsi tulemusele

- FDA hoiatab 28.nov 2017, et biotiin patsiendi seerumis võib märgatavalt muuta mõõdetava immuunanalüüsi tulemust
- FDA poolt registreeritakse aina rohkem juhtumeid, kus labori tulemus on biotiinist mõjutatud
- Sealhulgas üks surmajuhtum, kus infarktiga pt- i Troponiini tulemus oli „valemadal“
- **Kõikide firmade reaktiivid ei ole mõjutatud ühtviisi**

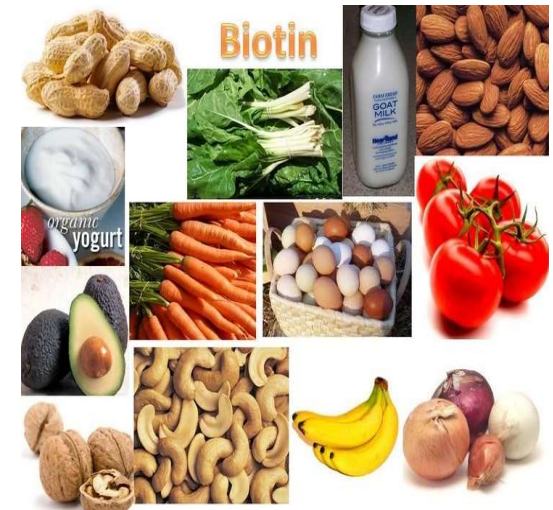
ADVIA Centaur® XPT
ADVIA Centaur® CP

Customer Bulletin

January 2018

Biotin Interference in Certain Immunoassays

11314506, Rev. A



Biotiin ehk vitamiin H ehk vitamiin B7

...on vesilahustuv vitamiin

Vitamiin H-d nimetatakse ka antiseborroiliseks vitamiiniks. Tegemist on vitamiiniga, mis on stabiilne nii kuumusele kui ka päikesevalgusele

Funktsioonid

- Biotiin on koensüüm, mis on oluline rasvhapete sünteesis ja süsivesikute resünteesis – glükoneogeneesis
- Vajatakse ka aminohapete lagundamisel ja foolhappe, pantoteenhappe ning B12 vitamiini ainevahetuses
- Biotiini toodavad nii soolebakterid kui sisaldavad toiduained: maks, täisteraleib, pärm, muna, keedetud sojaoad, tomat

Vajadus: 30-70 µg/päevas tervel täiskasvanul

- Biotiini varud on maksas, neerudes ja ajus 2-7 nädalaks

Biotiin

Defitsiidist tulenevad probleemid

- Isutus, lihaste valulikkus, kuiv nahk, unetus, seborroiline nahk
- Langenud hemoglobiini tase

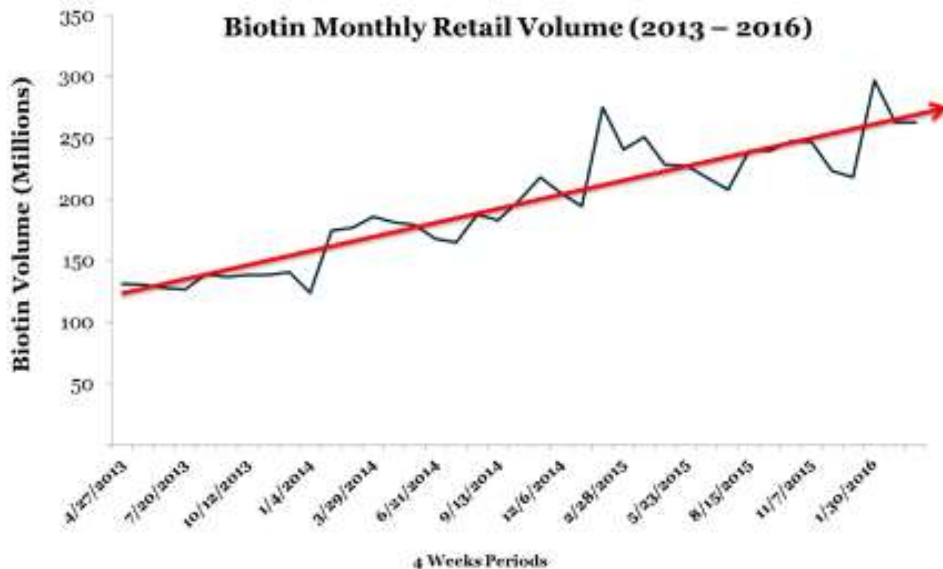
Vitamiinpreparaatide tarvitamine

- Võib kasutada ravi lisakomponendina alkoholismi, depressiooni, diabeedi, dermatiidide, ekseemide ja lihasvalude korral
- Uuringud on näidanud biotiini genoomi stabiliseerivat funktsiooni, mis vähendab vähiriski. Näiteks on raseduse I trimestril näidatud väikest biotiini defitsiiti, mis võib olla loote geene kahjustav, **seetõttu võiks rase võtta iga päev 600 µg biotiini**
- Biotiini peaks kasutama koos tiamiini, foolhappe, pantoteenhappe, C vitamiini, püridoksiini, niatsiini, E vitamiini, B12 vitamiiniga

Biotiini tarbimise kasvav trend

Amazon.com andmetel

kõige enam ostetud toidulisand



Biotin 10,000mcg

- 10,000mcg Maximum Strength -



HEALTHY HAIR
STRONG NAILS

100
TABLETS

100% VEGETARIAN

- Küunte ja juuste toidulisandis on biotiini kogus võrdne 300X päeva normiga
- Biotiin on lülitatud multivitamiinide koostisse (30-40 µg)

Biotiini annused

- Biotiini vajadus on eest sõltuv
- Tervel täiskasvanul on see 30-70 µg päevas
- See annab biotiini kontsentratsiooni veres 0,12-0,54 ng/ml (ref väärtus)
- Rasedatel soovitatakse võtta 600 µg, samuti dialüüsi patsientidel vältimaks jalakrampe
- Juuste, naha ja küünte jaoks mõeldud toidulisandid sisaldavad 3000-10000 µg
- *Sclerosis multiplexi* puhul on annus 300 mg (300 000 µg) päevas, mis annab veres biotiini kontsentratsiooniks 1160 ng/ml

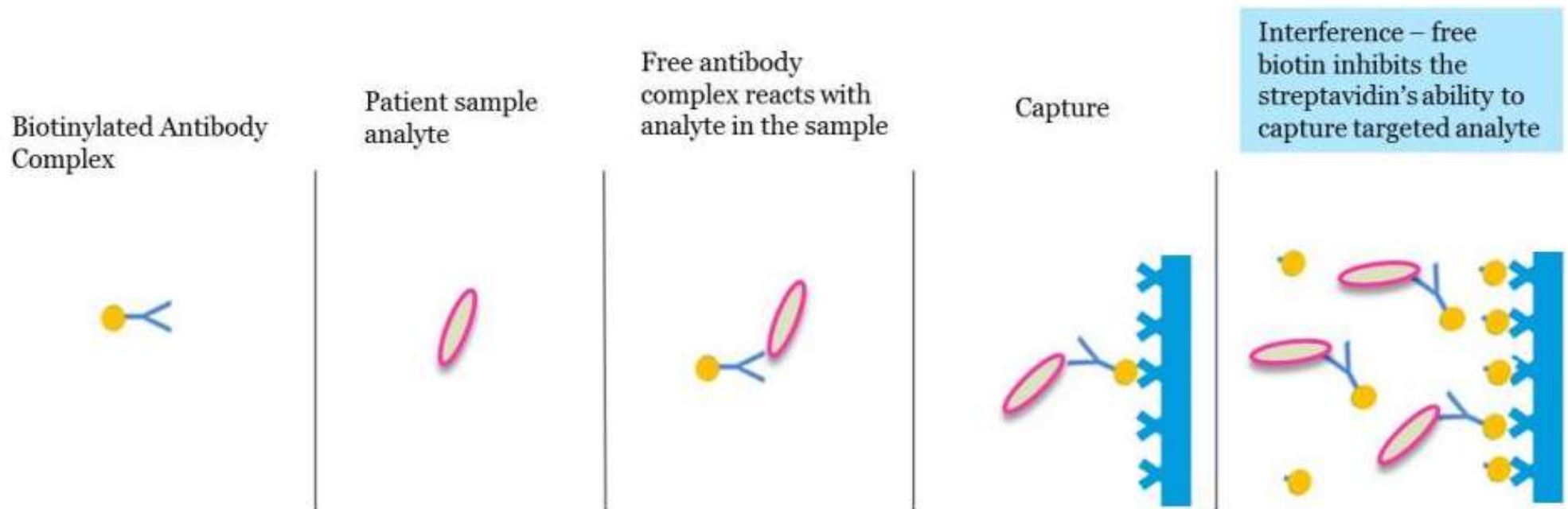
Poolväärtusajad:

- 600 µg – 2 tundi
- 100-300 mg – 8-19 tundi

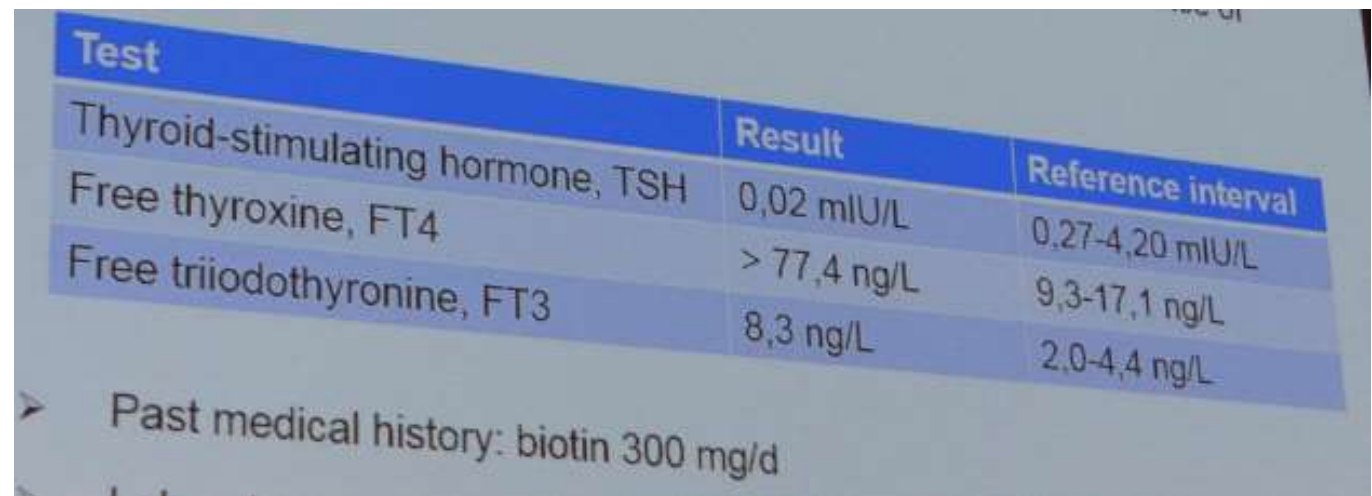
Juba vere biotiini sisaldus 50 ng/ml seerumis võib muuta mingi teise analüüsi tulemust

Biotiin mõjutab kõiki IA, kus analüüsimetoodikas on reaktsioonis kasutatud streptavidiin-biotiin kompleksi

See probleem ei puuduta kõikide firmade reaktiive ühtemoodi!



- Väiksed molekulid (steroidhormoonid) – *competitive IA*
 - FT3, FT4, testosteroon, östradiool, kortisool ↑↑↑ – valepositiivne
- Suured molekulid (hormoonid, valgud) – *Sandwich IA*
 - TSH, türeoglobuliin, FSH, LH, insuliin, PSA, IGF1, PTH ↓↓↓ – valenegatiivne
 - Biotiin võib kilpnäärme tulemusi muuta nii, et patsiendi tulemustes peegeldub korralik hüpertüreootiline seisund



Test	Result	Reference interval
Thyroid-stimulating hormone, TSH	0,02 mIU/L	0,27-4,20 mIU/L
Free thyroxine, FT4	> 77,4 ng/L	9,3-17,1 ng/L
Free triiodothyronine, FT3	8,3 ng/L	2,0-4,4 ng/L

➤ Past medical history: biotin 300 mg/d

Biotiin 100-1500 ng/ml mõjutab analüüsi tulemust >10%

Analüüs	Analüüdi kontsentratsioon	100	250	500	1200	1500
P-BNP	382 ng/l	-8%	-10%	-11%	-10%	-12%
S-Testo	2,87 nmol/l	23%	86%	382%	4169%	7021%
S-Fol	13,5 nmol/l	36%	294%	383%	434%	457%
S-NTproBNP	1466 ng/l	-7 %	-20 %	-53 %	-90 %	-92 %
S-SHBG	37 nmol/l	-4 %	-6 %	-12 %	-19 %	-25 %

Biotiin 20-1500 ng/ml võib muuta analüüsi tulemust >10%

Analüüt	Analüüsi konts	25 ng/ml	50 ng/ml	100 ng/ml	250 ng/ml	500 ng/ml	1500 ng/ml
S-DHEAS	13,7 umol/l	10%	15%	37%	124%	377%	4040%

Soovitused

Biotiini annus:

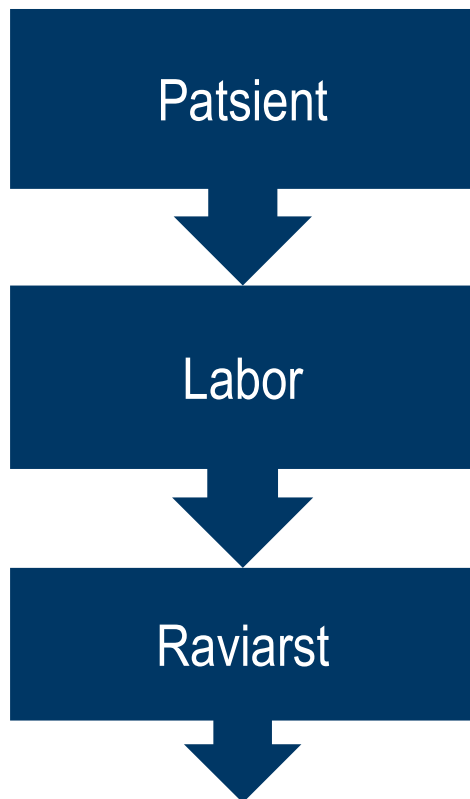
<5 mg/päevas ei mõjuta analüüsitulemusi

>5 mg/päevas – 8 tundi enne vere andmist lõpeta biotiini võtmine

Megadoosid (100-300mg) – 24h enne vere andmist lõpeta biotiini võtmine

Int J Pharmacokinetics 2017;2:247-56

Patsient, labor ja raviarst ei tea biotiini olemasolust proovis



Patsient ei teadvusta (5%) või ei teavita (1%),
et võtab biotiini

Labor ei tea, et vereproov sisaldab biotiini

Arst teeb järelduse ebakorrektsel laborianalüüsi
tulemuse põhjal

**Teadlikkuse tõstmine nii patsientide kui ka arstide/õdede seas võiks
vähendada biotiinist mõjutatud analüüstitulemusi**

Heterofiilsed antikehad (HAK) – immuunanalüüsi karid

- Antikehad, mida toodab inimese immuunsüsteem ja mis reageerivad teiste liikide (HIIR, LEHM, KITS, JÄNES) poolt toodetud antikehadega (Ak/Ag kompleks)
- Ei ole väga spetsiifilised, spekter on lai
- HAK päritolu inimseerumis on tihtipeale teadmata, kuid rohkem on neid inimestel, kellel on tihedam kontakt loomadega (lehmad, hiired, kitsed küülikud)
- HAK hulk inimese seerumis on kasvanud peale monoklonaalsete hiire Ak-de kliinilist rakendamist pilt- ja isotoopdiagnostikas markerina ning immuunoteraapias
- Tihti kasutatakse nimetust HAMA – ***human anti mouse antibody***
- HAK levik on lai – esineb 40% elanikkonnast kuid enamasti siiski probleeme ei põhjusta

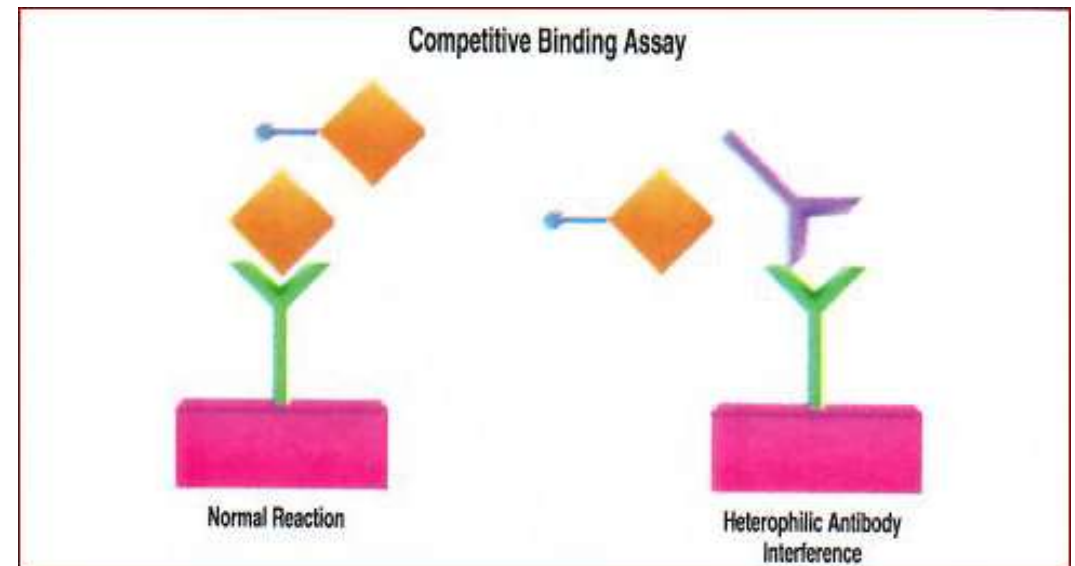
Heterofiilsed antikehad (HAK) – immuunanalüüsi karid

- HAK on võimelised põhjustavama interferentsi ja analüütilist viga enamuse immuunanalüüside puhul
- Nad seostuvad reagensis oleva AK külge. See võib põhjustada valekõrgeid tulemusi, harvem valemadalaid. Mõjutab rohkem immunomeetrilist immuunanalüüsi meetodit.
- **RF ehk reuma faktor** (POS 5-10%) käitub analoogselt, et seostub (reageerib) looma IgG-ga, mida kasutatakse igas immuunanalüüsi reaktiivis
- Uuringud on näidanud, et HAK põhjustatud interferentsi esinemissagedus võib olla 0,01-30%

Variatsioon on suur – see pole üllatav, sest erinevatel IA testmeetodi ülesehitus on veidi erinev: ak erinevate loomade päritolu; mõned tootjad on lisanud analüüsi puhvrissi HAK blokkereid, mis on erineva efektiivsusega

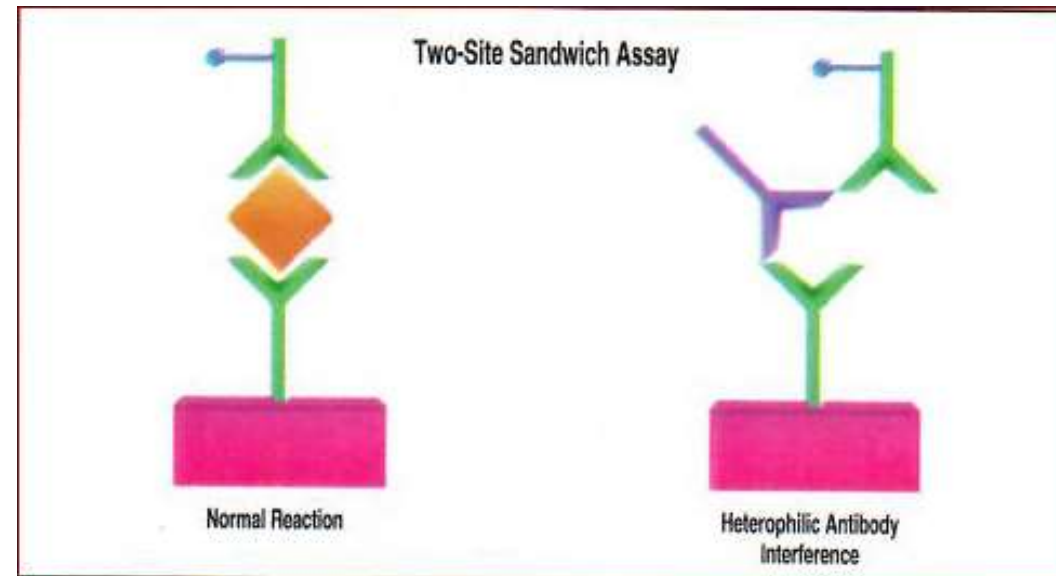
Heterofiilse Ak käitumine „konkureeriva“ immuunanalüüsi puhul

- Märgistatud antigeen (aine) ja seerumist otsitava sama aine molekulid konkureerivad antikehade seostuskohtade pärast
- Heterofiilne antikeha kinnitub ise reaktiivis oleva antikeha külge ja blokeerib sellega võimaluse otsitava ainel sinna kinnituda
- Tulemus: vale madal otsiva aine hulk



Heterofiilse Ak käitumine „sandwich“ immuunanalüüsi puhul

- Seerumist otsitav aine kinnitub reaktiivis oleva vastava antikeha külge ja teiselt poolt kinnitub otsitava aine molekuli külge teine samasugune kuid märgistatud antikeha
- Heterofiilne antikeha kinnitub ise reaktiivis olevate antikehade külge ja imiteerib otsitavat ainet.
Tulemus: vale kõrge otsiva aine hulk



Millal kahtlustada? Kuidas aru saada HAK olemasolust?

- Kui labori vastus ei lähe kokku kliinilise pildiga
- Patsientidel, kellel varem on immuunanalüüsi puhul saadud laborist vale tulemus on suurem tõenäosus saada mõne teise immuunanalüüsi puhul samuti vale tulemus
- Patsiendid, kellel on diagnoositud reumatoidartriit (70%-l on RF pos)
Neil pt-del tehakse ka keskmisest rohkem teisi laborianalüüse, mille suhtes nad peaks olema rohkem tähelepanelikumad
- Analüüsid, mille tulemusel on väga tugev ennustusjõud ja mõju edaspidiseks raviks; millel puudub kinnitav test
Nt. tuumormarekrid (eriti HCG), Tnl, seroloogia test, hormoonid

Mida saab ette võtta?

- Probleemi teadvustamine
- Ära püstita diagnoosi ainult ühe analüüsitulemuse põhjal (nt. TnI)
- Klinitisisti „talupojatarkus“ ehk meditsiinile kaine mõistus on alati abiks
- Nt. HCG üle mõõtmine uriinist, kus HAK puuduvad

Reaktiivi tootjad lisavad analüüsi puhvrissi HAK blokeerivaid antikehasid. Väga levinud praktika. Vähendab oluliselt HAK mõju kuid ei elimineeri 100%-lt

Tootja hoiatus: Diagnoosi püstitamisel peab analüüsi tulemusi interpreteerima alati koos teiste kliiniliste uuringute ja haiguslooga

Labori lahendused, kui on kahtlus HAK-le

- Korduv mõõtmine samast materjalis – HAK olemasolul reeglina on mõõtmise kordustäpsus halb (suur variatsioon). Samas suure variatsiooni puudumine ei välista HAK olemasolu
 - Üle mõõtmine teise analüsaatoriga – pole alati võimalik
 - Proovi lahjendamine ja uus mõõtmine – enamasti alati võimalik
 - PEG sadestamine – üsna ebatäpne
 - Ultrafiltratsioon – filtreerib välja ak-d (enamasti suuremad molekulid kui mõõdetav aine). Vajab lisavarustust laboris
- **Ükski variant ei anna 100% garantiid HAK tuvastamisel**

Analüüsi tulemuse usaldusvääruse parandamiseks peavad verevõtu tingimused olema võimalikult standardsed ja järgima kõiki soovitusi

- Verevõtt hommikupoole (enne kl. 12)
- Vanusespetsiifilised referentsväärtused kus võimalik
- Füüsilise koormusest tingitud vigade vältimiseks peab enne verevõttu istuma rahulikult vähemalt 15 min
- Analüüside bioloogilisest variatsioonist tulenevate kõikumiste teadvustamine
- Konkreetse ravimi mõjust analüüsitulemusele küsi laborilt
- Uuri pt kasutatavate toidulisandite ja ravimite kohta – biotiin!!
- Diagnoosi püstitamisel interpreteeri analüüsi tulemusi alati koos teiste kliiniliste uuringute ja haiguslooga

Täna tähelepanu eest

