

บทคัดย่อ

172405

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ : การพัฒนาปรับปรุงและประยุกต์เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ซีรัม
โททอล ไตรไอโอโดthyronine (โททอล T_3) โดยวิธีอินเฮสท์
โสลิด-เฟส อาร์ไอเอ

ชื่อผู้เขียน : นายสายัณ พุทธลา

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา : ฟิสิกส์

ปีการศึกษา : 2547

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ :

1. รศ.ดร. ละออทิพย์ ชนะชัย ประธานกรรมการ
2. รศ.ฉวีวรรณ พัฒนจักร

การหาระดับโททอล T_3 ในซีรัมโดยวิธีโสลิด – เฟส อาร์ไอเอ เป็นวิธีที่สามารถแยกส่วนของเบวอนด์(Bound) ออกจากส่วนของแอนติเจนอิสระ ได้ง่ายและรวดเร็ว โดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์เครื่องปั่นแยก (Centrifuge) ซึ่งมีราคาแพง ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาและปรับปรุงวิธีการทางอาร์ไอเอ แบบโสลิด – เฟส ซึ่งได้ดัดแปลงมาจากวิธีของคิม(Kim)⁽²¹⁾ โดยการนำ แอนติ T_3 แอนติซีรัม จากกระด้ายที่ผลิตได้เองในห้องปฏิบัติการเคมีนิวเคลียร์ มาเคลือบหลอดพลาสติกชนิดโพลีสไตรีน โดยทำให้ผิวที่กั้นหลอดเกิด Self - polymerization กับ 2.5 % Glutaraldehyde ก่อนการเคลือบด้วยแอนติบอดีและ Activate แอนติบอดีที่กั้นหลอด นี้ด้วย 0.2 % Ethanolamine พบว่าเวลาที่เหมาะสม (Optimum) ในการทำ Self – polymerization และ Activation ที่อุณหภูมิ 20 – 24 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 3 และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับ แอนติซีรัมที่ใช้ในการเคลือบหลอดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าหลอดที่มีแอนติซีรัมที่เจือจางในอัตราส่วน 1 : 100 เป็นหลอดที่สามารถเบวอนด์ กับ $^{125}\text{I} - \text{TT}_3$ (25,000 cpm) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ได้สูงสุด 32.03% (Bo) ในขณะที่หลอด Non specific binding (NSB) มีค่าเปอร์เซ็นต์เบวอนด์เท่ากับ 2.03 %

การตรวจสอบคุณภาพของอินเฮาส์คิท พบว่าความจำเพาะเจาะจงของแอนติบอดี, ความไว, ความแม่นยำ, ความถูกต้อง, Precision profile และ Drift effect ให้ผลการทดลองเป็นที่ยอมรับทางสถิติ การศึกษาเปรียบเทียบระดับโททอล ที่, ระหว่างวิธีอินเฮาส์โซลิด – เฟส อาร์ไอเอ และวิธีดีพีซี (DPC) พบว่าทั้ง 2 วิธี มีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.983, $Y = 1.010X - 3.67$, $p < 0.01$, $n = 180$ นอกจากนี้ระดับโททอล ที่, ที่แอสเสย์โดยวิธีอินเฮาส์ไม่มีความแตกต่างจากวิธี Gold standard ($P = 0.103$, $n = 180$) การประยุกต์ใช้ในกลุ่มผู้ป่วยและคนปกติ พบว่าสามารถแยกภาวะต่อมธัยรอยด์ปกติออกจากผู้ป่วยธัยโปธัยรอยด์ ($P = 0.000$, $n = 60$) และธัยเปอร์ธัยรอยด์ ($P = 0.000$, $n = 60$) ได้ชัดเจนดีมาก

อินเฮาส์โซลิด – เฟส อาร์ไอเอ เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง (Accuracy), แม่นยำ (Precision) และมีราคาถูกลงกว่า ดีพีซี ถึง 2.5 เท่า จึงนับว่าเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัยโรคทางคลินิก และการประเมินภาวะการทำหน้าที่ทางสรีระวิทยาของต่อมธัยรอยด์ได้เป็นอย่างดี

ABSTRACT

172405

Thesis Title : Optimisation and Application of Serum Total
Triiodothyronine (TT_3) by using In House Solid -
Phase RIA Technique

Student's Name : Mr. Sayan Puttala

Degree Sought : Master of Science

Major : Physics

Academic Year : 2004

Advisory Committee :

1. Assoc. Prof. Dr. Laorthip Chanachai Chairperson
2. Assoc. Prof. Chaveevan Pattanachak

To separate the bound antigen – antibody complex from the free fraction without centrifugation, solid – phase RIA method has been shown to be simple, cheap and rapid. So that the purpose of this study was to develop and optimize the method for measurement of serum total T_3 by using modified Kim's technique⁽²¹⁾. Inhouse rabbit anti – T_3 antibody produced by Nuclear Chemistry Laboratory was immobilized to the inner wall at the bottom of polystyrene tubes. The optimal time for self – polymerization of 2.5 % Glutaraldehyde to the tubes (pre – coated) and antibody coated tubes activation with 0.2 % Ethanolamine at room temperature were 3 and 1 hrs respectively. It was found that optimal antiserum dilution ratio for coating was 1 : 100. The maximum binding (% B/T) of the coated tubes assayed by using blocking agents in 25,000

cpm of $^{125}\text{I} - \text{T}_3$ at 37°C with shaking for 48 hrs was 32.03% , which was optimum . The Non Specific Binding (% NSB) was 2.03 %

In order to monitor validation of the inhouse assay technique , QC profile in details such as specificity of inhouse antiserum , sensitivity , precision , accuracy , precision profile and drift effect were assessed and satisfactory results were obtained . Correlation coefficient (r) between the results of inhouse and DPC method were excellent with high significance ($r = 0.983$, $Y = 1.010X - 3.67$, $P < 0.01$, $n = 180$). There was non – significant difference between the two method ($P = 0.103$, $n = 180$). Very good discrimination between euthyroids and patients with hypothyroidism ($P = 0.000$, $n = 60$) and hyperthyroidism ($P = 0.000$, $n = 60$) were obtained.

The inhouse TT_3 solid – phase RIA is accurate , precise and 2.5 times more cheaper than DPC ' s kits. It should be a useful technique for both clinical diagnosis and physiological evaluation of thyroid function.