

Vyšetřování proteinových markerů monoklonálních onemocnění na analyzátoru OPTILITE

P. Lochman

Laboratorní vyšetření k diagnostice a monitorování mnohočetného myelomu a dalších onemocnění ze skupiny monoklonálních gamapatií mají ve FN Olomouc dlouhou historii, sahající do 60. let 20. století. Základem byla a dosud zůstává gelová elektroforéza a imunofixační elektroforéza. Dále jsou stanovovány celkové imunoglobuliny ve třídách IgG, IgA a IgM, beta-2-mikroglobulin, volné lehké řetězce imunoglobulinů kappa a lambda a kryoglobuliny. Pilotně byla testována vyšetření Hevylite TM firmy The Binding Site, představující stanovení intaktních imunoglobulinů tříd IgG, IgA a IgM zvlášť pro jednotlivé typy lehkých řetězců v molekule, tzn. soubor stanovení IgG kappa + IgG lambda, IgA kappa + IgA lambda a IgM kappa + IgM lambda. Vyšetření volných lehkých řetězců imunoglobulinů kappa a lambda, zavedené po roce 2000, bylo v laboratorní diagnostice monoklonálních gamapatií průlomovým počinem, který posunul tuto diagnostiku významně dopředu jak z hlediska procentuálního zachytu jednotlivých typů této skupiny onemocnění, tak efektivity včasného monitorování terapie a následného vývoje onemocnění.

Vyšetření imunoglobulinů a jejich volných lehkých řetězců jsou založena na principech imunoturbidimetrie nebo imunonefelometrie, kdy jsou používána specifická antiséra proti jednotlivým molekulám imunoglobulinů nebo jejich řetězcům. Tato vyšetření byla postupně aplikována na dostupných analyzátoch umožňujících zákalovou reakci specifické protilátky s antigenem a následnou turbidimetrickou nebo nefelometrickou detekci.

Na našem oddělení byla stanovení imunoglobulinů a volných lehkých řetězců kappa a lambda postupně prováděna na automatických analyzátoch řady Hitachi/Modular (Roche), nefelometrech BN100 (Dade Behring), Delta (Radim) a Immage 800 (Beckman Coulter) až po imunoturbidimetrický analyzátor SPA Plus (The Binding Site), který byl v provozu od roku 2011 do roku 2018.

Na začátku roku 2018 vyvstala potřeba náhrady analyzátoru SPA Plus a byl vybrán analyzátor Optilite firmy The Binding Site, který nabízí systémové a návazné pokračování vyšetření prováděných na analyzátoru SPA Plus téže firmy.

Metoda

Analyzátor Optilite představuje systém nové platformy, nabízející řadu technických a analytických standardů v souladu se současnými požadavky laboratorních oborů.

Jedná se o imunoturbidimetrický systém pracující se 12 vlnovými délkami, kde je zdrojem světla xenonová lampa. Přístroj používá jednorázové kyvety, které zvyšují kvalitu a reprodukovatelnost optické detekce. Přístroj disponuje širokými automatickými rozsahy ředění, kdy je ruční ředění vzorků potřebné pouze ve vzácných případech v oblasti extrémně vysokých koncentrací u volných lehkých řetězců kappa a lambda. Výrobcem hardwaru je renomovaná firma Thermo Fisher Scientific.

Denní zásoba deionizované vody je v analyzátoru obsažena v samostatné nádobě, denně doplňované obsluhou a nevyžaduje přímé napojení na zdroj vody, stejně jako odpadní nádoba v analyzátoru umožňuje provoz přístroje bez nutnosti napojení na odpadní síť.

Uspořádání jednotlivých pracovních sekcí sestává ze tří oddělených sektorů pro vzorky, reakční/měřicí kyvety a reagentie. Pro vyšetřované vzorky lze použít běžně používané zkumavky i kepy o velikosti 0,5 ml pro menší množství materiálu.

Reagentie i vzorky jsou dávkovány do reakčních kyvet oddělenými pipetory s vlastními mycími jednotkami, což minimalizuje riziko nežádoucího přenosu.

Instalace analyzátoru OPTILITE a zavedení metod z analyzátoru SPA Plus

Instalace analyzátoru OPTILITE započala v prosinci 2017 a bezprostředně byly převedeny následující vyšetřovací metody z analyzátoru SPA Plus: volné lehké řetězce imunoglobulinů kappa a lambda v séru a likvoru (soupravy Freelite kappa a lambda, FLC kappa a lambda); celkové imunoglobuliny tříd IgG, IgA a IgM v séru; beta-2-mikroglobulin v séru, moči a likvoru.

Systém Optilite nabízí kromě řady dalších vyšetření rovněž stanovení intaktních imunoglobulinů jednotlivých tříd v párech podle typu lehkého řetězce soupravami Hevylite TM, které bylo na našem pracovišti rozsáhle využíváno v rámci výzkumných projektů na analyzátoru SPA Plus v letech 2010 až 2015.

Provádění vyšetření byla v souladu s požadavky ISO 15189 verifikována pro nový analytický systém a návaznost na dosavadní techniku byla ověřena porovnáním výsledků měření analyzátorů na reálných vzorcích

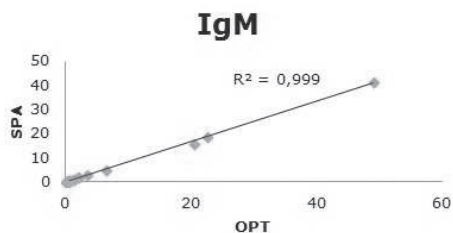
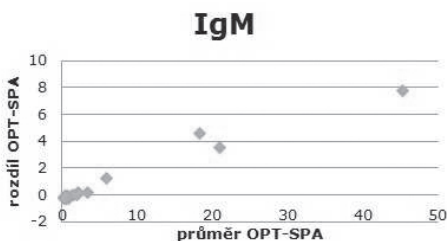
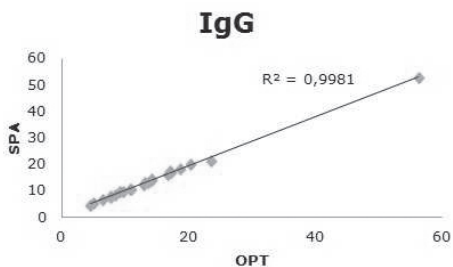
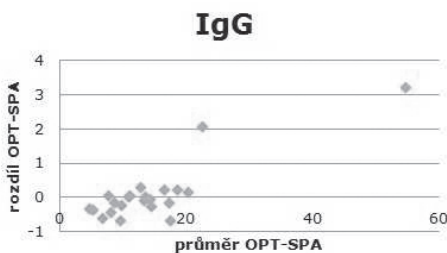
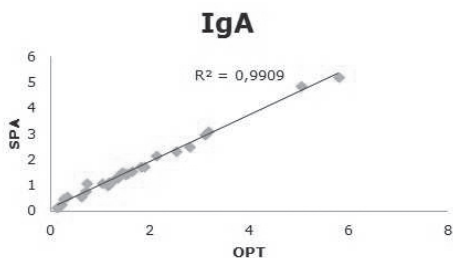
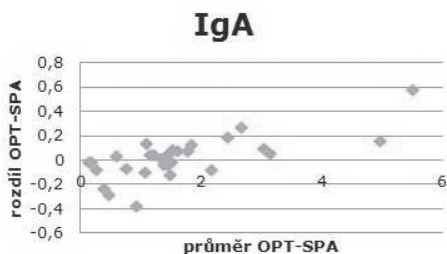
Verifikace prováděných analytických metod byla provedena podle standardizovaného protokolu pro validaci a verifikaci analytické metody, zahrnující

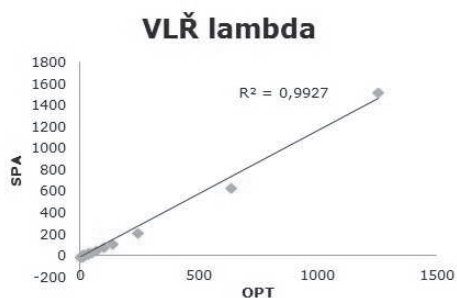
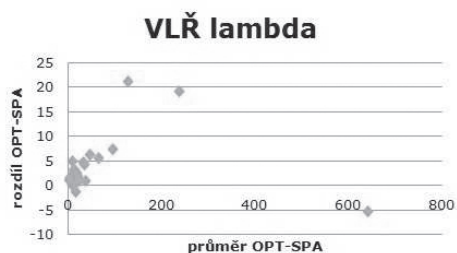
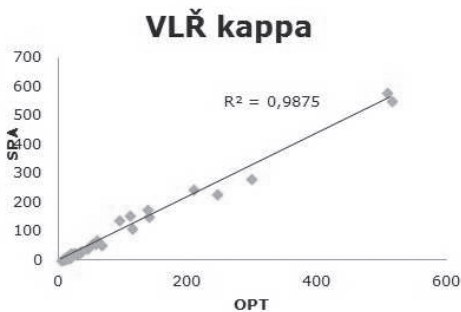
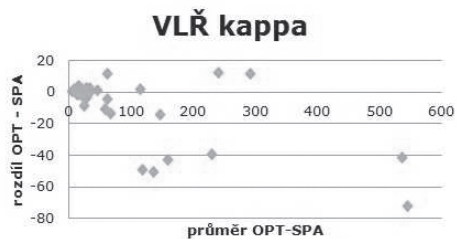
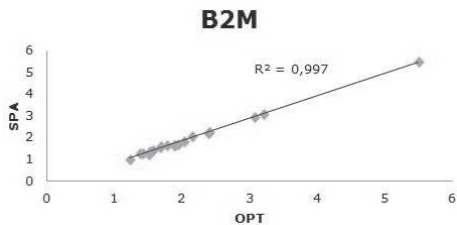
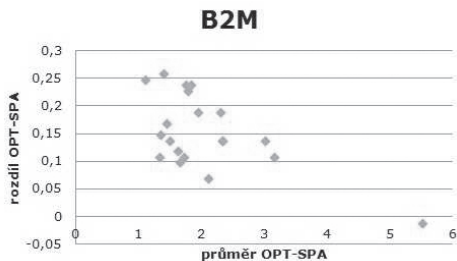
vyhodnocení korelace dosavadní a nové metody pomocí grafického zobrazení lineární regrese a grafu typu Bland Altman na reálných vzorcích, variace stanovení v sérii (opakovatelnost) a mezidenně (mezilehlá preciznost) s vyčleněním těchto parametrů na kontrolních a validovaných materiálech a vyhodnocení pravdivosti (BIAS) na validovaných materiálech.

Výsledky

Tabulka 1

Analyt	Mezilehlá preciznost (CV %)		Opakovatelnost (CV %)		Pravdivost (%)	
	naměřená	deklarovaná výrobcem	naměřená	deklarovaná výrobcem	konc. 1	konc. 2
FLC kappa	3,9-5,5	2,7-6,6	1,17-1,35	1,7-5,2	-	-
FLC lambda	3,26-4,65	2,1-7,2	1,99-2,58	1,4-3,4	-	-
IgG	1,61-3,67	2,7-3,6	1,4-1,61	1,2-1,8	-1,46	2,24
IgA	3,99-4,32	2-4,9	1,46-1,88	1-2,7	2,55	3,89
IgM	2,31-2,71	1,4-5,5	0,8-1,19	1,2-2,5	-1,7	-3,72
B2M	4,88-5,3	2,7-5	2,63-3,47	2,1-4,1	-1,75	-1,98





Závěr

Na základě provedených měření lze systém Optilite použít pro měření uvedených analytů jako validní a návaznou náhradu analyzátoru SPA Plus včetně zachování dosavadních referenčních intervalů.

Obsluha byla zvládnuta za krátkou dobu, ovládací software je přehledný a rychlý. Udržení vyšetření pro myelomová onemocnění na jednotné platfor-

mě v jedné laboratoři přináší řadu výhod jako je pružnější komunikace s klinickými lékaři, rychlejší reakce na specifické případy a hospodárnější využití vzorků pacientů.