

Methodenvergleich zwischen SPA_{PLUS}[®] und Cobas[®] 8000-Analyzer c502 zur Bestimmung von IgG-Subklassen

Mai Dien, BMA 17-20A

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

MCL Medizinische Laboratorien AG Niederwangen, Spezial Chemie

1. Zusammenfassung

Immunglobuline übernehmen eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr. Dabei machen Immunglobuline der Gruppe G den Hauptteil. Bisher wurden die IgG-Subklassenbestimmungen im MCL in Niederwangen in der Spezial Chemie auf dem SPA_{PLUS}[®] durchgeführt. Zudem wird auf dem Cobas[®] 8000-Analyzer das Gesamt-IgG gemessen.

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es, die IgG-Subklassenbestimmung auf dem Cobas[®] 8000-Analyzer c502 zu verifizieren und die Basis für eine mögliche Implementierung in die Routine zu schaffen, da der SPA_{PLUS}[®] von der Firma Binding Site ab nächstem Jahr nicht mehr unterstützt wird. Insgesamt wurden 42 Proben für den Methodenvergleich zwischen dem SPA_{PLUS}[®] und dem Cobas[®] 8000-Analyzer c502 gemessen. Die Resultate wurden anhand statistischer Methoden, mit den Verfahren nach Bland-Altman und Passing-Bablok ausgewertet. Der Methodenvergleich zeigte eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden.

Da beim Cobas[®] 8000-Analyzer c502 nicht auf High-Dose-Hook-Effekte hingewiesen wird, hat sich das Labor entschieden, laborintern nicht auf den Cobas[®] 8000-Analyzer c502 umzustellen.

Für die Zukunft ist geplant, den Optilite, ein Turbidimeter von der Binding Site, welcher der Nachfolger des SPA_{PLUS}[®] ist, für die IgG-Subklassenbestimmung zu evaluieren.

2. Einleitung

Beim Immunglobulin G (IgG) handelt es sich um einen wichtigen Bestandteil des spezifischen Immunsystems, welcher von antigenspezifisch aktivierten B-Lymphozyten und Plasmazellen produziert und ins Blut abgegeben wird. Es ist sinnvoll, nebst dem Gesamt-IgG die IgG-Subklassen zu messen, da es sein kann, dass das Gesamt-IgG im Normalbereich, jedoch eine IgG-Subklasse vermindert oder erhöht ist.

Die Immunglobuline G werden nach ihrer Struktur (siehe Abbildung 2.1) und den funktionellen Eigenschaften in vier Subklassen unterteilt: IgG1, IgG2, IgG3 und IgG4. Die Konzentration der IgG-Subklassen nimmt in der Reihenfolge IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 ab, jedoch können individuelle Abweichungen vorliegen.

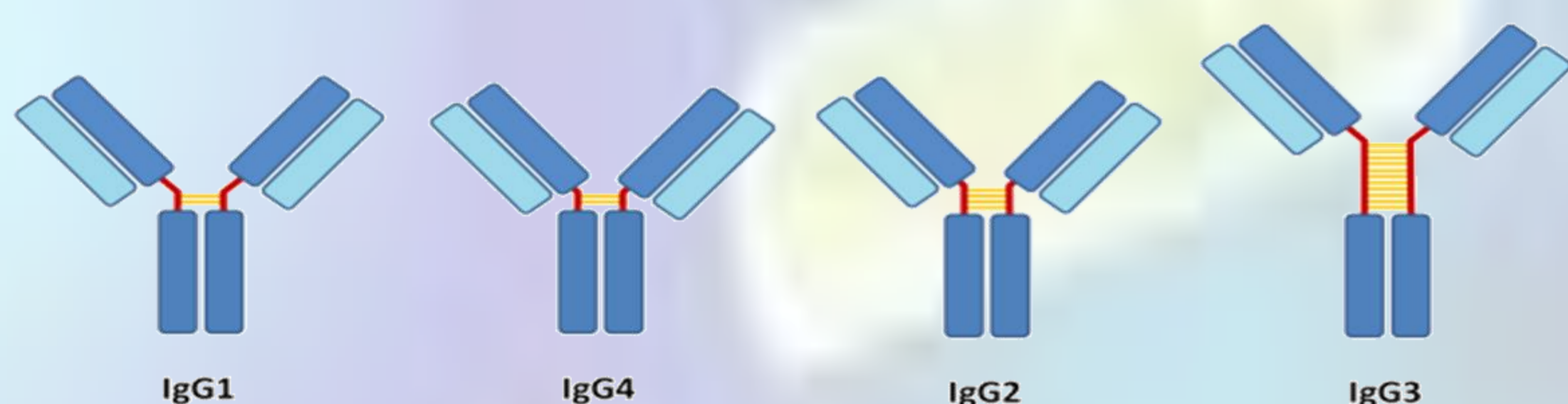


Abb. 2.1 Struktur der Immunglobuline 1,2,3,4 mit den Unterschieden in der Gelenkregion (rot) und der Disulfidbrücken (gelb). Die schweren Ketten (dunkelblau) und die leichten Ketten (hellblau) werden in unterschiedlicher Farbe dargestellt.

3. Ziele und Fragestellungen

Zielsetzung:

- Methodenvergleich der IgG-Subklassenbestimmung auf dem Cobas[®] 8000-Analyzer c502 und der zurzeit angewendeten Methode auf dem SPA_{PLUS}[®]

Folglich sind die Kriterien angegeben, welche eingehalten werden sollen, um den Methodenvergleich und die Evaluation zu akzeptieren:

- Intra- und Inter-Assay-Präzision Variationskoeffizienten von <6 %, Bias der Inter-Assay-Präzision +/- 5%
- Intercept: IgG1/IgG2 = -0.5 ± +0.5 | IgG3/IgG4 = -0.1 ± +0.1 | Slope: 0.9 ± 1.1

Fragestellung:

- Können der Methodenvergleich und die Evaluation so akzeptiert werden, dass laborintern auf den Cobas[®] 8000-Analyzer c502 umgestellt werden kann?

Diese Fragestellung wurde für das Poster ausgewählt, da sie den Hauptteil der Diplomarbeit darstellt.

Referenzen:

[1] Packungsbeilage Roche. (2017). IgG Subklassen (Human) Kit zur Verwendung auf den Roche cobas[®] 6000

Abbildungen

Hintergrundbild: 123rf. (2020). Ig. <https://www.123rf.com/clipart-vector/antibodies.html?sti=massoap93ehyc9dwd2&mediapopup=110068852>

Abb. 2.1. Hübl, W. (2019). Struktur der Immunglobuline 1,2,3,4. Abgerufen von

https://www.med4you.at/laborbefunde/lbef3/lbef_Immunglobulin_G_IgG_Subklassen_IgG1_IgG2_IgG3_IgG4_assozierte_Erkrankung.htm

Abb. 4.1. Binding Site. (2016). SPA_{PLUS}[®]. Abgerufen von <https://www.binding-site.com/de-de/news-and-events/news/2016/06/new-assay-for-spaplus-analysers-c-reactive-protein>

Abb. 4.2 Roche. (2020). Cobas[®] 8000-Analyzer Modul c502. Abgerufen von https://diagnostics.roche.com/ch/de/products/systems/cobas_-8000-modular-analyzer-series.html#productInfo

4. Material, Methodik, Vorgehen

Die Serumproben, welche für die Evaluation verwendet wurden, stammen von Patientinnen und Patienten aus Spitälern und Laboratorien. Es konnten von den 79 Proben, die anfangs gesammelt wurden, 42 aufgrund beschränkter Anzahl an Tests, die zur Verfügung standen, gemessen werden.

Das Bestimmungsverfahren der vier IgG-Subklassen auf dem Cobas[®] 8000 Analyser c502-Modul (siehe Abbildung 4.1) und auf dem SPA_{PLUS}[®] (siehe Abbildung 4.2), beruht auf dem turbidimetrischen Messprinzip.



Abb. 4.1 und Abb. 4.2 SPA_{PLUS}[®] (links) Cobas[®] 8000 Analyser c502-Modul (rechts)

Für die Auswertung der Daten wurden auf dem Cobas[®] 8000 Analyser c502-Modul für die Intra-Assay-Präzision fünfmal hintereinander am gleichen Tag die internen Qualitätskontrollen auf Low und High Level der vier IgG-Subklassen kontrolliert. Nach der Intra-Assay-Präzision wurde die Inter-Assay-Präzision bestimmt, bei der einmal täglich an fünf aufeinander folgenden Tagen die Kontrollen durchgeführt wurden. Dabei wurde bei jeder Bestimmung der Intra- und Inter-Assay-Präzision der Variationskoeffizient berechnet. Bei der Inter-Assay-Präzision wurde unter anderem der Bias berechnet.

Mit den Verfahren nach Bland-Altman und Passing-Bablok wurden die quantitativen Messergebnisse für den Methodenvergleich graphisch dargestellt.

5. Ergebnisse/ Resultate

Bei der Intra- und Inter-Assay-Präzision war der Variationskoeffizient bei allen Messserien <6 %.

Der Bias war bei der Inter-Assay-Präzision bei allen Messserien nicht grösser als +/- 5%.

Das 95% Konfidenzintervall für das Intercept (Y-Achsenabschnitt) umfasste bei allen Plots den Wert Null. Ausserdem war bei allen Plots der Wert eins im 95% Konfidenzintervall der Slope (Steigung) enthalten.

Bei einem IgG4-Wert vom Cobas[®] 8000 Analyser c502 konnte erkannt werden, dass er nicht mit demjenigen vom SPA_{PLUS}[®] übereinstimmte. Bei der Messung auf dem SPA_{PLUS}[®] wurde ein hohes IgG4 beobachtet mit einem Wert von 6,67 g/L. Bei der Messung auf dem Cobas[®] 8000 Analyser c502 lag das IgG4 dieser Probe mit einem Wert vom 0,835 g/L im Messbereich. Um zu überprüfen, ob es sich um einen High-Dose-Hook-Effekt handeln könnte, wurde die Probe manuell 1:20 verdünnt und nochmals auf dem Cobas[®] 8000 Analyser c502 gestartet. Das Resultat lag nach der Verdünnung bei 7,4 g/L.

6. Diskussion

Die Korrelation zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen dem SPA_{PLUS}[®] und dem Cobas[®] 8000-Analyser c502. Jedoch wurde beim Cobas[®] 8000-Analyser c502 festgestellt, dass beim Auftreten des High-Dose-Hook-Effekts keine Fehlermeldung erscheint, was beim SPA_{PLUS}[®] hingegen der Fall ist. Die Unzuverlässigkeit des IgG4-Tests auf dem Cobas[®] 8000-Analyser c502 stellt jedoch ein grosses Problem dar. Als Lösung, die hohe IgG4 nicht zu verpassen, wurde von der Firma Binding Site vorgeschlagen, alle Proben vorzuverdünnen, damit der High-Dose-Hook-Effekt ausgeschlossen werden kann. Dies ist jedoch keine Lösung, welche im Laboralltag umsetzbar ist, da dieses Vorgehen sehr viel Zeit beansprucht und fehleranfällig ist. Zudem würden hohe Kosten für die Reagenzien anfallen.

Wegen all dieser Gründe wurde im Labor MCL in Niederwangen entschieden, die IgG-Subklassenbestimmung laborintern nicht auf den Cobas[®] 8000-Analyser c502 umzustellen.