

Multikapilární elektroforetické systémy Paragon 2000 a Capillarys 2 v rutinní praxi

Vávrová J., Tichý M., Friedecký B.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

SOUHRN

Kapilární elektroforéza (CZE) je alternativní metodou separace a semikvantitativního hodnocení sérových proteinů. Krátké sdělení se zabývá rutinním použitím multikapilárních systémů pro elektroforézu sérových bílkovin a dopadem výměny přístroje Paragon 2000 (Beckman-Coulter) za Capillarys 2 (Sebia) provázené změnou referenčních mezí. Dlouhodobé sledování cyklů externího hodnocení kvality dokládá plynulý přechod a srovnatelnost od elektroforézy na agarózovém nosiči k multikapilárním systémům.

Výsledky jsou mezilaboratorně dobře srovnatelné, lze rovněž vyvodit závěr, že změny analytického systému pro rutinní elektroforézu sérových bílkovin v časovém intervalu dvou let nepřinesly komplikace ani v oblasti kvantitativního hodnocení gamapatií.

Klíčová slova: elektroforéza sérových bílkovin, multikapilární elektroforéza, EHK.

SUMMARY

Vávrová J., Tichý M., Friedecký B.: Multicapillary electrophoretic systems Paragon 2000 and Capillarys 2 in routine practice

Capillary zone electrophoresis (CZE) is an alternative method for the separation and quantitative evaluation of serum proteins. CZE is very effective, quick and namely a precise method. Two specific automated multichannel (multicapillary) instruments are available, the Paragon 2000 (Beckman-Coulter) and the Capillarys 2 (Sebia), characterized by different number of assessed protein fractions are mentioned and newly tested reference intervals. Long-term observation of the cycles of external quality assurance (EQA) programs exemplifies smooth transition from agarose electrophoresis to multichannel capillary systems and comparability of analysis. The interlaboratory comparisons indicated good comparability of the results and conclusion may therefore be drawn that the changes in analytical systems for routine electrophoresis of serum proteins within the time interval of two years have not complicated the situation in the area of quantitative evaluation of gammopathies as well.

Key words: CZE electrophoresis, multichannel capillary electrophoresis, EQA.

Úvod

Multikapilární elektroforetické systémy se v současné době stávají významným nástrojem rychlého, rutinního, vysokokapacitního a zcela automatizovaného měření základních proteinových frakcí krevního séra. Vysoká pracovní kapacita multikapilárních zařízení pro kapilární zónovou elektroforézu (CZE) komunikujících s laboratorním informačním systémem představuje možnost zvýšení efektivity měření v režimu průběžného zpracování vzorků z primárních zkumavek identifikovaných čárovými kódy. Matematický algoritmus pro analýzu elektroforeogramu umožňuje při CZE kromě semikvantitativního vyhodnocení jednotlivých frakcí bílkovin identifikovat také 99 % vzorků s paraproteinem a matematicky definovat kritéria pro oligoklonalitu. Plná automatizace snižuje objem manuální práce na minimum, jsou eliminovány možné chyby způsobené postupem barvení a denzitometrickým hodnocením. Současné možnosti instrumentace pro kapilární elektroforézu vedou k rychlé a účinné separaci s vysokým rozlišením, jehož důsledkem je pravděpodobně i vyšší záchyt paraproteinů v základním vyšetření elektroforézy sérových proteinů [1].

Materiál a metody

Práce se zabývá provozní změnou dvou multikapilárních systémů a dopadem této změny na hodnoty referenčních intervalů a na dlouhodobé sledování výsledků v externím hodnocení kvality (EHK). Přístroj CZE Paragon 2000 (Beckman) pracující se sedmi paralelními kalipárami používal k detekci vyhodnocení signálu měření absorbance při vlnové délce 214 nm. Nově byl uveden do provozu 8kapilární systém firmy Sebia Capillarys 2 s detekcí absorbance při 200 nm. Výrobce nově zavedené instrumentace dodává kontrolní materiál pro vnitřní kontrolu kvality s možností průběžného hodnocení všech stanovovaných frakcí sérových proteinů (Sebia Normal control serum). Kontrolní cykly EHK dlouhodobě sledují dvě veličiny elektroforetických separovaných sérových bílkovin – albumin a frakci gamaglobulinu. Série čerstvě odebraných vzorků sér pacientů, u nichž bylo ošetřujícími lékaři požadováno vyšetření elektroforetických frakcí proteinů v séru, byla paralelně měřena na obou systémech a na základě statistického vyhodnocení byly navrženy změny v referenčních intervalech.

Výsledky

Metoda CZE na obou systémech Paragon 2000 i Capillarys 2 stanovuje frakce proteinů v séru velmi rychle a s vysokou přesností. To svědčí pro velmi dobrou úroveň ředění a dávkování vzorků na jednotlivé kapiláry. Výsledky měření nejsou významně ovlivněny ani pozicí vzorku v analyzátoru, neboť nejsou závislé na tom, na které z kapilár jsou separace a kvantifikace provedeny. Zásadním rozdílem mezi oběma systémy je změna v počtu hodnocených frakcí, systém Capillarys 2 umožňuje rozdělení frakce betaglobulinů na beta-1 a beta-2 frakce. S touto změnou pochopitelně souvisí i změna v údajích referenčních intervalů. Tabulka 1 porovnává posun referenčních mezí, pro systém Capillarys byly údaje získány statistickým hodnocením souboru sta vzorků dárců krve. Tabulka 2 uvádí základní statistická data série měření kontrolního materiálu Sebia Normal control serum.

Table 1. Reference intervals for serum protein fractions determined by Paragon CZE 2000 and Capillarys 2

[%]		Paragon	Capillarys
Albumin		55.0-70.0	55.8-66.9
A1G		3.7-8.8	2.8-4.8
A2G		5.5-11.7	6.3-10.7
BG	B1G	8.5-13.8	5.2-7.9
	B2G		3.1-6.2
GG		8.0-19.0	10.9-19.9

Table 2. Internal quality control (Capillarys)

n = 20	ALB	A1G	A2G	B1G	B2G	GG
mean	0.625	0.042	0.090	0.063	0.039	0.141
SD	0.11	0.003	0.007	0.006	0.005	0.005
CV [%]	1.81	7.92	7.24	9.95	12.28	3.32
Bias [%]	3.85	5.41	6.30	0.62	16.20	4.46
TE [%]	7.46	21.25	20.78	20.52	40.75	11.11

$$TE \% = 2 * CV \% + bias \%$$

Diskuse

Lze konstatovat, že úspěšnost parametrů sledovaných elektroforetických frakcí albuminu a gamaglobulinu v rámci externího hodnocení kvality v období změn analytických systémů elektroforézy sérových bílkovin, tedy v období přechodu od elektroforézy na agarózovém gelu k multikapilárním systémům Paragon 2000 a posléze Capillarys 2, byla bezproblémová. Jednalo se o časové období od počátku roku 2004 do února 2007. V letech 2004 a 2005 bylo kritériem dlouhodobého srovnání výsledků EHK z-skóre. V případě albuminu se hodnota pohybovala v rozsahu -0,7 do -2,2 pro vzorek A, respektive od -0,8 do -2,3 u vzorku B; pro

gamaglobulin od 0,3 do -0,8 (vzorek A) a od 0,2 do -0,7 (vzorek B). Toto období odráží plynulý přechod od elektroforézy na agarózovém gelu k multikapilárnímu systému Paragon 2000 (Beckman), přesnost a porovnatelnost měření byly předmětem naší dřívější publikace [2]. Od počátku roku 2006 jsou dlouhodobé trendy jednotlivých analytů v EHK zobrazovány formou P-skóre, tedy poměru vlastní relativní chyby měření a tolerančního rozpětí. V obou sledovaných analytech svědčí hodnoty P-skóre pro spolehlivé a dlouhodobě kvalitně prováděné analýzy bez výkyvu hodnot v období výměny analytického multikapilárního systému Paragon 2000 za systém Capillarys 2 (Sebia). Z dlouhodobých výsledků EHK lze rovněž vyvodit závěr, že dvě změny analytického systému pro rutinní elektroforézu sérových bílkovin v časovém intervalu dvou let nepřinesly komplikace ani v oblasti kvantitativního hodnocení gamapatií, všechny čtyři hodnocené kontrolní cykly vykazují 100% úspěšnost.

Závěr

V souladu se závěry autorů porovnávajícími detekci monoklonálních proteinů prostřednictvím obou multikapilárních automatických systémů [3] se domníváme, že metoda CZE – zejména v kombinaci s imunofixací – reprezentuje v současnosti vysokou úroveň hodnocení proteinových frakcí krevního séra využitelnou především ve velkých zdravotnických zařízeních. Výsledky jsou i mezilaboratorně dobře srovnatelné, jak potvrzuje dlouhodobé sledování cyklů EHK i zařazení dvou pracovišť používajících multikapilární systém do studie sledování standardizace laboratorních parametrů u mnohočetného myelomu [4].

Literatura

1. Gay-Bellile, C. et al. Automated Multicapillary Electrophoresis for Analysis of Human Serum Proteins. *Clinical Chemistry*, 2003, 49, 11, p. 1909–1915.
2. Friedecký, B., Vávrová, J. Přesnost a porovnatelnost automatizovaného měření elektroforetických frakcí proteinů v séru systémem Paragon CZE 2000 Beckman. *Klin. Biochem. Metab.*, 2005, 13 (34), 1, s. 14–17.
3. Bossuyt, X., Godelieve, M. Detection of Monoclonal Proteins by Capillary Zone Electrophoresis: Comparison of 2 Multichannel Automated Systems. *Clinical Chemistry*, 2007, 53, p. 152–153.
4. Tichý, M., Friedecký, B., Vávrová, J. et al. Standardizace biochemických laboratorních vyšetření u mnohočetného myelomu. *Klin. Biochem. Metab.*, 2006, 14 (35), 1, s. 8–13.

Do redakce došlo 23. 3. 2007.

Adresa pro korespondenci:
Ing. Jaroslava Vávrová, Ph.D.
ÚKBD LF UK a FN
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: vavrovaj@lfhk.cuni.cz