Evaluation des BioRad Variant II im Rahmen von Hämoglobinopathieabklärungen

Jasmin Uhlmann, BMA 21-24

Biomedizinische Analytik HF

Kantonsspital Aarau AG, Institut für Labormedizin IfLM, Hämatologie

1. Zusammenfassung

Hämoglobinopathien stellen weltweit eine bedeutende gesundheitliche Herausforderung dar. Auch in der Schweiz werden wir immer mehr mit der Thematik konfrontiert, da die Prävalenz migrationsbedingt steigend ist.

Da das bisher verwendete HPLC-Gerät des Labors für Erythrozytenfunktionsdiagnostik am Kantonsspital Aarau eine veraltete Software hat und dadurch einige Schwachstellen aufweist, wurde es Zeit, das Gerät durch eine neuere Version dessen zu ersetzen. In dieser Diplomarbeit wird daher der neue BioRad Variant II in einer umfassenden Evaluation getestet, um seine Zuverlässigkeit im Vergleich zum alten Gerät zu bewerten. Für die Evaluation konnten hervorragende Ergebnisse erzielt werden, so wurde bei drei von vier untersuchten Hämoglobinfraktionen ein Korrelationskoeffizient nach Pearson von 1.0 erreicht. Das neue Gerät ist heute in der Routine bereits integriert und hat das Vorgängermodell vollständig abgelöst.

2. Einleitung

Bei Hämoglobinopathien handelt es sich um genetisch bedingte Störungen der Hämoglobinstruktur oder -synthese. Diese Mutationen weisen eine grosse Heterogenität auf – dementsprechend unterschiedlich fallen auch die Konsequenzen für die Patienten und Patientinnen aus. Diese reichen von Inapperenz bis hin zur transfusionsbedürftigen Anämie oder gar zu wiederholten Aborten. Ausserdem können milde Formen manchmal nur schwer von einer Eisenmangelanämie abzugrenzen sein. [1] Umso wichtiger ist die Laboranalytik für die Diagnose und Monitoring betroffener Personen. Ein Teil dieser integrativen Diagnostik besteht darin, die einzelnen Hämoglobin-Fraktionen zu bestimmen. Physiologisch kommen beim Menschen drei verschiedene Fraktionen vor: Das HbA, HbA_2 und HbF. Je nach Mutation ist das Verhältnis dieser Fraktionen gestört, und/oder weitere Fraktionen können auftreten. [2] Seit Jahren wird am Kantonsspital Aarau AG deshalb diese Auftrennung mittels der bewährten Technologie der high-performance liquid chromatography (HPLC) auf dem BioRad Variant II durchgeführt.

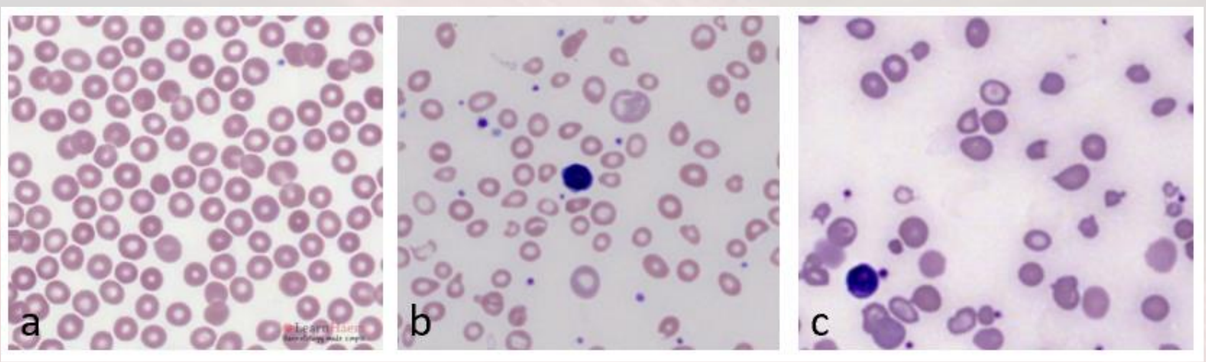


Abb. 1 Mikroskopische Blutbilder im Vergleich: normales Blutbild, Vergrösserung unbekannt (a); Eisenmangelanämie, 40x vergrössert (b) und Beta-Thalassaemia major, 40x vergrössert (c) (LearnHaem - Haematology made simple, 2024) - adaptiert

3. Ziele und Fragestellungen

Durch den Vergleich der Messungen des neuen mit dem alten BioRad Variant II soll mittels Evaluation die Genauigkeit der Messungen überprüft werden und ein nahtloser Ersatz des Gerätes für die Hämoglobinauftrennung und -quantifizierung sichergestellt werden. Der Erfolg der Evaluation wird an folgenden Fragestellungen beurteilt:

I. Korrelieren die Vergleichsmessungen zwischen dem alten und neuen Variant II miteinander?

II. Konnten alle getesteten Hämoglobinopathien mit dem neuen Gerät detektiert werden?

III. Wurden die internen Präzisionskriterien eingehalten?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Insgesamt wurden für die Evaluation 106 EDTA-Patientenproben aus der jeweiligen Tagesroutine sowie die internen Qualitätskontrollen (QC) verwendet. Korrelation: Die Patientenproben wurden parallel auf dem alten und auf dem neuen BioRad Variant II gemessen. Aus den ermittelten Werten wurden für HbA, HbA_2, HbF sowie HbS Passing Bablok Grafiken erstellt und der Korrelationskoeffizient nach Pearson (r) berechnet. Dieser sollte 0.9 oder besser betragen. Wiederfindung: Um herauszufinden, ob das neue Gerät vorliegende Varianten detektiert (sofern technisch möglich) oder einen Hinweis darauf liefert, wurden Patientenproben gemessen. Das tatsächliche Vorliegen der Variante wurde mit einer zweiten Bestimmungsmethode bestätigt. Die Wiederfindung wird mit Ja oder Nein beantwortet. Präzision: Von den internen QC, welche aus zwei Levels bestehen, wurden während fünf aufeinanderfolgenden Tagen Doppelmessungen gemacht. Die Variationskoeffizienten (VK) durften nicht mehr als 3% für das Level low bzw. nicht mehr als 2% für das Level high betragen.

5. Ergebnisse/ Resultate

Tabelle 1 Resultate Korrelation und Präzision

Hämoglobin	r	QC high (VK%)	QC low (VK%)
HbA	1.0	0.22	0.26
HbA_2	0.997	1.25	1.94
HbF	1.0	0.75	0
HbS	1.0	0.65	*nicht vorhanden*

Tabelle 2 Resultate Wiederfindung

	Altes Gerät		Neues Gerät	
Hb-Varianten	Erkannt	%	Erkannt	%
HbC/β⁺	JA	58.80	JA	60.30
HbC	JA	37.20	JA	37.60
HbC	JA	35.40	JA	36.90
Hb-CS	JA	0.3/0.2/0.3	JA	0.3/0.4/0.1
HbD*	JA	33.30	JA	33.30
HbE	JA	97.90	JA	95.10
HbE	JA	29.50	JA	29.00
HbH	JA	9.00	JA	9.10

6. Diskussion

Die Evaluation ist auf Anhieb geglückt und zeigt durchs Band hervorragende Ergebnisse. Drei von vier Hb-Fraktionen haben r = 1.0 erzielt, aber auch HbA_2 mit r = 0.997 zeigt wunderbar die lineare Korrelation zwischen beiden Geräten auf. Da es sich bei der HPLC um eine sehr zuverlässige Methode handelt, wurden auch keine signifikanten Abweichungen erwartet. Auch hinsichtlich Präzision konnten die zuvor definierten Kriterien allesamt eingehalten werden. Passend zu den sehr guten Korrelations- und Präzisionswerten konnten alle Varianten wiedergefunden werden. Abschliessend formuliert können alle drei Fragestellungen ganz klar mit Ja beantwortet werden, das Gerät wurde in die Laborroutine implementiert und konnte seinen Vorgänger ablösen.

Referenzen

[1] Bain, B. J., Wild, B. J., Stephens, A. D., & Phelan, L. (2010). Variant Hemoglobins, A Guide to Identification. West Sussex (UK): Wiley-Blackwell Publishing.

[2] Fuchs, R., Staib, P., Guggenberger, D., Herwartz, R., Lehnert, K., & Winzenried, S. (2023). Manual Hämatologie. In R. Fuchs, & P. Staib. Nora-Verlag GmbH.

Abbildungen

Abb. 1 LearnHaem - Haematology made simple. (2024). www.learnhem.com. Abgerufen am 29. Mai 2024 von https://www.learnhaem.com/courses/frcpath-morph/

Tabellen

Tabelle 1 Uhlmann, J. (2024). *Resultate Korrelation und Präzision*. medi.

Tabelle 2 Valore, L. (2024). Resultate Wiederfindung. Aarau: Institut für Labormedizin. - adaptiert