

Comparison of fully automated and manual systems for protein immunofixation electrophoresis

Aphinyaphiwat Suriyo, Chavachol Setthaudom, Rakruthai Thongchai
and Supornchai Onpun*

*Clinical Immunology Laboratory, Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi
Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

Abstract

Serum immunofixation electrophoresis is a laboratory test used for the diagnosis, prognosis, and follow-up of multiple myeloma. Monoclonal immunoglobulins can be detected even at low doses. This may help discover the early stages of myelomatosis and report results quickly. There are many different methods of immunofixation electrophoresis. Currently, the laboratory uses a manual system. This study aimed to compare the efficiency of the QuickGel® CHAMBER (manual) and the Interlab G26 Easy Fix automatic machine (fully automated) in immunofixation electrophoresis. That could be an alternative to the laboratories. In samples from 55 participants, the protein strip readings of the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix were consistent with 98.18% Cohen's kappa coefficient was 0.978, indicating near perfect agreement. In conclusion, immunofixation electrophoresis with the Interlab G26 Easy Fix can be used in laboratories as well the QuickGel® CHAMBER, depending on the suitability of each laboratory. However, there should be a study on the quantitative factor of immunoglobulin with high volume and the appropriate ratio further to dilute the serum of the Interlab G26 Easy Fix automatic machine to get the most accurate, precise and efficient test results.

Keywords: Interlab G26 Easy Fix, Immunofixation electrophoresis, Multiple myeloma, QuickGel® CHAMBER.

*Corresponding author E-mail address: pukysero04@yahoo.com

Received: 23 December 2022

Revised: 4 March 2023

Accepted: 21 April 2023

การศึกษาความสอดคล้องของการตรวจ immunofixation electrophoresis ในซีรัมด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ Interlab G26 Easy Fix (fully automated) และ QuickGel® CHAMBER (manual)

อภิญญาภิวรรณ สุริโย ชวชล เศรษฐอุดม รักฤทัย ทองไชย และ สุพรชัย อ่อนพันธ์*

ห้องปฏิบัติการหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

การตรวจ immunofixation electrophoresis ในซีรัมทางห้องปฏิบัติการเป็นการตรวจเพื่อช่วยในการวินิจฉัย การพยากรณ์ และการติดตามผลการรักษาโรค multiple myeloma โดยสามารถตรวจพบ monoclonal immunoglobulins ได้แม้มีปริมาณต่ำ ซึ่งอาจช่วยในการค้นพบระยะเริ่มต้นของ myelomatosis และยังสามารถรายงานผลได้อย่างรวดเร็ว การตรวจ immunofixation electrophoresis มีหลายวิธี ซึ่งปัจจุบันห้องปฏิบัติการมีการตรวจวิเคราะห์โดยใช้ระบบการทดสอบที่มีขั้นตอนซับซ้อน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสอดคล้องของการตรวจวิเคราะห์ immunofixation electrophoresis โดยการวิเคราะห์ผลการทดสอบ immunofixation electrophoresis ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ QuickGel® CHAMBER (manual) และ Interlab G26 Easy Fix (fully automated) ที่อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของห้องปฏิบัติการได้ จากกลุ่มตัวอย่าง 55 ราย พบว่า ผลการอ่านแถบโปรตีนระหว่างเครื่อง QuickGel® CHAMBER และเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix มีผลรวมความสอดคล้องอยู่ที่ร้อยละ 98.18 ซึ่งมีค่าความสอดคล้องของทั้งสองเครื่องอยู่ในระดับดีมาก (Cohen's kappa = 0.978) แสดงถึงความสอดคล้องของผลการทดสอบที่ดีมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จึงสรุปได้ว่าการทำการทดสอบ immunofixation electrophoresis ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix สามารถใช้ในห้องปฏิบัติการได้ไม่แตกต่างจากการใช้เครื่อง QuickGel® CHAMBER ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของแต่ละห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยด้านปริมาณของ immunoglobulin ที่มีค่าสูง และอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเจือจางซีรัมของเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix เพิ่มเติมเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง แม่นยำ และมีประสิทธิภาพมากที่สุด

คำสำคัญ: Interlab G26 Easy Fix, Immunofixation electrophoresis, Multiple myeloma, QuickGel® CHAMBER

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: pukysero04@yahoo.com

รับบทความ: 23 ธันวาคม 2565

แก้ไขบทความ: 4 มีนาคม 2566

รับตีพิมพ์บทความ: 21 เมษายน 2566

บทนำ

โรค multiple myeloma (MM) เป็นโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาแบบหนึ่ง เกิดจากความผิดปกติในการแบ่งตัวของเซลล์พลาสมาที่มีต้นกำเนิดจากไขกระดูก โดยปกติเซลล์พลาสมาทำหน้าที่สร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกายแต่สำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรค multiple myeloma เซลล์พลาสมาจะถูกเปลี่ยนให้เป็นเซลล์มะเร็งและไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้ตามปกติ ซึ่งส่งผลให้มีการสร้างโปรตีนที่ผิดปกติในเลือด โดยมีการสร้าง monoclonal protein ร่วมกับมีความผิดปกติในการหลั่งสาร cytokine ต่าง ๆ สามารถตรวจพบได้ในซีรัม อีกทั้งมีการขับ light chain ออกมาทางปัสสาวะ เรียกว่า Bence-Jones protein โรคนี้พบมากในวัยผู้สูงอายุ และมักทำให้เกิดความผิดปกติในร่างกายได้หลายระบบ เช่น ไต กระดูก ผิวหนัง หัวใจ ระบบประสาท และเมแทบอลิซึมอื่นๆ⁽¹⁻⁴⁾

การตรวจ immunofixation electrophoresis ในซีรัมทางห้องปฏิบัติการ เป็นการตรวจเพื่อช่วยในการวินิจฉัย การพยากรณ์ และการติดตามผลการรักษาโรค multiple myeloma ซึ่งการทดสอบ immunofixation electrophoresis สามารถแยกชนิดของ monoclonal protein ในซีรัมได้โดยใช้หลักการของ protein electrophoresis เพื่อแยกส่วนประกอบของโปรตีนออกมาในรูปแบบของ heavy chain และ light chain จากนั้นนำ anti-serum ของโปรตีนแต่ละชนิด ได้แก่ IgG, IgA, IgM, kappa light chain และ lambda light chain มาทำปฏิกิริยาตกตะกอนบนแผ่น agarose gel⁽⁵⁻⁷⁾ โดยปัจจุบันทางห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา โรงพยาบาลรามาริบัติ มีปริมาณการส่งตรวจ immunofixation electrophoresis จำนวนมาก ซึ่งเดิมทางห้องปฏิบัติการได้มีการใช้เครื่อง HELENA LABORATORIES: QuickGel® CHAMBER ที่เป็นระบบ manual ซึ่งมีขั้นตอนการทำงานที่ซับซ้อน ส่งผลให้ระยะเวลารายงานผลล่าช้า

การใช้เครื่องอัตโนมัติ INTERLAB a sebia company: Interlab G26 Easy Fix ที่มีขั้นตอนการทำงานซับซ้อนน้อยกว่าจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของห้องปฏิบัติการได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสอดคล้องของการตรวจวิเคราะห์ immunofixation electrophoresis โดยการวิเคราะห์ผลการทดสอบ immunofixation electrophoresis ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ Interlab G26 Easy Fix (fully automated) และ QuickGel® CHAMBER (manual) ทั้งนี้ในการศึกษาวิจัยนี้ปราศจากการได้รับผลประโยชน์ใดๆ จากบริษัทผู้ผลิตชุดการทดสอบทั้งสิ้น

วัสดุและวิธีการ

การเลือกตัวอย่างและวิธีการทดสอบ

ในการศึกษานี้ได้ใช้ตัวอย่างซีรัมจากผู้ป่วยที่แพทย์ส่งตรวจ immunofixation electrophoresis ที่โรงพยาบาลรามาริบัติจำนวน 60 ราย โดยเก็บซีรัมแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียสและมิเอนท์การคัดเข้าคือ มีปริมาณของซีรัมเหลือมากกว่า 500 ไมโครลิตร ไม่มีการ hemolysis, icteric และ lipemic ซึ่งจะนำซีรัมที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้ามาระบุ study no. โดยมีซีรัมที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าจำนวน 55 ราย จากนั้นนำซีรัมดังกล่าวมาทำการทดสอบ immunofixation electrophoresis ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER (ระบบ manual) และเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix (ระบบ fully automated) ในวันและเวลาเดียวกัน โดยในการอ่านผลการทดสอบดังกล่าว จะทำการอ่านผลการทดสอบโดยนักเทคนิคการแพทย์จำนวน 2 คน ซึ่งจะต้องอ่านผลการทดสอบได้ตรงกันในทุกตัวอย่าง ทั้งนี้นักเทคนิคการแพทย์ทั้งสองคนดังกล่าวต้องทำ competency test ได้อย่างถูกต้อง และผ่านเกณฑ์ที่กำหนดไว้ โดยได้กำหนดเกณฑ์การยอมรับได้อยู่ที่ร้อยละ 100 เพื่อเป็นมาตรการในการควบคุมการเกิด human error ที่จะส่งผลต่อผลการ

วิจัย การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของโรงพยาบาลรามาริบัติเลขที่ใบรับรอง (COA) MURA2018/1042

การตรวจวิเคราะห์ immunofixation electrophoresis

นำตัวอย่างซีรัมที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าจำนวน 55 ราย มาทำการทดสอบ immunofixation electrophoresis ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER จากนั้นนำไปทำการทดสอบ immunofixation electrophoresis ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix ซึ่งเครื่อง QuickGel® CHAMBER เป็นเครื่องที่ใช้ในการทำ electrophoresis ในซีรัมด้วย Quickgel agarose gel การทำงานของเครื่องนี้คือการนำ agarose gel วางลงใน electrophoresis chamber จากนั้นใส่ซีรัมลงบน Quickgel agarose gel ตามด้วยการใช้กระแสไฟฟ้าจากแหล่งจ่ายภายนอกที่มีแรงดันไฟฟ้าและช่วงเวลาตามคำแนะนำ (350 โวลต์ 8 นาที) ซีรัมจะเคลื่อนตัวไปบน agarose gel ซึ่งแยกโปรตีนออกมาเป็นสัดส่วนตามขนาด รูปร่าง และประจุของโปรตีน ใส่ fixative และ antisera ต่อ human IgG, IgA, IgM, K และ λ light chain เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาคตกตะกอน จากนั้นทำให้ agarose gel แห้ง และนำไปย้อมสีเพื่ออ่านผลการทดสอบ สำหรับเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix เป็นเครื่องที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์โดยใช้กระแสไฟฟ้าตรวจหาโปรตีนในซีรัม โปรตีนในปัสสาวะ ซีโมโกลบิน โลโปโปรตีน ไอโซเอนไซม์ การทำงานของเครื่องนี้คือใช้การแยกโปรตีนต่างๆ ออกมาโดยอาศัยหลักการ electrophoresis โปรตีนแยกออกจากกันด้วยอัตราความเร็วที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของประจุไฟฟ้า ขนาดและรูปร่างโมเลกุลเมื่ออยู่ภายใต้สนามไฟฟ้า การเคลื่อนย้ายโมเลกุลจะต้องทำในขณะ

อุณหภูมิคงที่โดยอาศัยการเปลี่ยนรูปไฟฟ้าไปสู่การเปลี่ยนแปลงของความร้อนหรือระดับอุณหภูมิบนแผ่น agarose gel ที่ประกอบด้วย Tris-Barbital ซึ่ง agarose gel ทำหน้าที่เป็นตัวรองรับและกรองโมเลกุลที่ต่างกันให้สามารถแยกออกจากกันได้ โดยอาศัยการนำของประจุไฟฟ้า เมื่อสิ้นสุดขั้นตอน electrophoresis เรียบร้อยแล้ว ใส่ fixative และ antisera ต่อ human IgG, IgA, IgM, kappa และ lamda light chain เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาคตกตะกอน หลังจากนั้น agarose gel จะถูกทำให้แห้งด้วยอุณหภูมิที่กำหนดและนำไปย้อมสี เพื่ออ่านผลการทดสอบ โดยรายละเอียดคุณสมบัติของเครื่องตรวจวิเคราะห์และขั้นตอนการทำการทดสอบดังกล่าวจะแสดงใน Table 1 และ Table 2 ตามลำดับ^(8,9) จากนั้นนำผลการทดสอบที่ได้จากทั้งสองเครื่องมาวิเคราะห์เพื่อศึกษาความสอดคล้องของผลการทดสอบดังกล่าว

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความสอดคล้องของผลการทดสอบ immunofixation electrophoresis ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ Interlab G26 Easy Fix และ QuickGel® CHAMBER โดยใช้สถิติ Cohen's kappa coefficient (Table 3) ในการวิเคราะห์ความสอดคล้องของผลการทดสอบ⁽¹⁰⁾ ด้วยโปรแกรม Statistics Package for the Social Sciences (SPSS) v 18.0 โดยกำหนดความเชื่อมั่นที่ระดับนัยสำคัญร้อยละ 95 ($p < 0.05$) และวิเคราะห์ผลการทดสอบ immunofixation electrophoresis ระหว่างเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix กับเครื่อง QuickGel® CHAMBER เพื่อหาผลความสอดคล้องโดยรวม ความสอดคล้องผลบวก และความสอดคล้องผลลบ

Table 1 Performance specifications of the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix for immunofixation electrophoresis.

Performance indicator	QuickGel® CHAMBER	Interlab G26 Easy Fix
Assay procedure	- Sample volume: 100 µL - Dilution: 1:5 with 0.85% saline for serum protein lanes - Dilution: 1:10 with 0.85% saline for immunofix lanes	- Sample volume: 110 µL - Dilution: 1:3 with bromophenol blue in Tris-HCl solution for serum protein lanes - Dilution: 1:7 for IgG, 1:4 for IgA, IgM, κ and λ with bromophenol blue in Tris-HCl solution
Sample type	Serum	Serum
Assay time	62 min	45 min
Power supply	100-240 V a.c. 47-65 Hz	85-265 V a.c. 50-60 Hz
Electrophoresis	350 volts	420 volts
Agarose gel	Each plate contains agarose in Tris-Barbital/MOPs buffer added preservative and stabilizer.	Each plate contains agarose in Tris-Barbital buffer added preservative and stabilizer.
Washing solution	Tris base with Tris HCl and sodium chloride	PBS Buffer
Stain solution	Acid violet	Acid violet
Destain	Citric acid	Citric acid
Fixative	4.0% sulfosalicylic acid, 6.7% trichloro acetic acid, 0.002% glutaraldehyde and 1.7% quinine HCl	Acid solution and additives
Antisera to human IgG, IgA, IgM, κ and λ	Monospecific anti-sera to human immunoglobulin heavy chains, IgG, IgA, IgM and to the human light chain. The antisera have been prepared in goat.	All antisera are anti-human total immunoglobulins. Purified-immunoglobulin fractions from rabbit, sheep, and goat antiserum.

Table 2 Procedure for immunofixation electrophoresis of the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix.

Procedure	QuickGel® CHAMBER	Interlab G26 Easy Fix
Sample preparation	- Dilution: 1:5 (50 µL serum with 200 µL 0.85% saline) for serum protein lanes - Dilution: 1:10 (50 µL with 450 µL 0.85% saline for immunofix lanes)	Automated
Chamber preparation	- Plugged into a power supply. - Set a timer for 8 minutes.	Automated
Gel preparation	- Dispense approximately 1 mL of REP. - Prep onto the left side of the electrophoresis chamber. - Place agarose gel in the electrophoresis chamber.	Insert the gel plate gently into the holder.
Sample application	Apply serum diluted 3 µL.	Automated
Electrophoresis	Turn on the power supply.	Automated
Dry	- Place the dryer lid on the electrophoresis chamber. - Turn on the power supply.	Automated
Wash	- Dissolve the powder in 8L of deionized water. - Place the gel in TBS and shake gently on a rotator.	- Dilute 25 ml of concentrated solution to a final volume of 1000 ml with distilled water for washing by automated.
Stain	- Dissolve the dry stain in 1 liter of 10% acetic acid. - Place the gel into the Staining Dish containing the prepared stain.	Ready to use (automated)
Destain	- Pour 11 L of deionized water into the Destain vat. - Destain the gel in two consecutive washes of Destain solution.	- Dilute 1 ml of destain solution up to 1000 mL with distilled water for destaining by automated.

Table 3 Interpretation of Cohen's kappa coefficient.

Cohen's kappa	Interpretation
<0.00	Agreement equivalent to the chance
0.00-0.20	Slight agreement
0.21-0.40	Fair agreement
0.41-0.60	Moderate agreement
0.61-0.80	Substantial agreement
0.81- <1.00	Near perfect agreement
1.00	Perfect agreement

ผลการทดลอง

การตรวจวิเคราะห์ immunofixation electrophoresis ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER และเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix

ผลการทดสอบ Immunofixation electrophoresis ในซีรัมตัวอย่างทั้งหมด 55 ราย พบว่าผลการทดสอบด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER มีผลการอ่านแถบโปรตีนที่ตรวจพบ ได้แก่ IgG kappa 12 ราย, IgG lambda 10 ราย, IgA kappa 4 ราย, IgA lambda 6 ราย, IgM kappa 2 ราย, IgM lambda 1 ราย, kappa light chain 3 ราย, lambda light chain 5 ราย และ no paraprotein 12 ราย ในส่วนของการทดสอบด้วยเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix มีผลการอ่านแถบโปรตีนที่ตรวจพบ ได้แก่ IgG kappa 12 ราย, IgG lambda 10 ราย, IgA kappa 4 ราย, IgA lambda 6 ราย, IgM kappa 2 ราย, IgM lambda 1 ราย, kappa light chain 3 ราย, lambda light chain 4 ราย และ no paraprotein 13 ราย ทั้งนี้พบว่ามีความตรงกัน โดยตรวจพบแถบโปรตีน lambda light chain ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER แต่ให้ผล no paraprotein

ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix ดังแสดงใน Table 4 และ Fig. 1-9

การศึกษาความสอดคล้องในการตรวจวิเคราะห์ immunofixation electrophoresis ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER และเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix

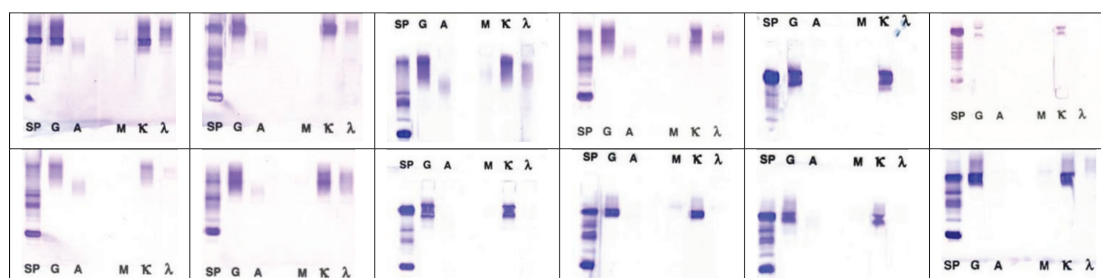
ผลการทดสอบมีผลรวมความสอดคล้องอยู่ที่ร้อยละ 98.18 (54/55) โดยผลบวก (ตรวจพบแถบโปรตีนชนิดต่าง ๆ) มีความสอดคล้องร้อยละ 97.67 (42/43) ซึ่งมีผลบวกตรงกัน 42 ราย ผลลบ (ตรวจไม่พบแถบโปรตีนใด ๆ) มีความสอดคล้องร้อยละ 100 (12/12) ซึ่งมีผลลบตรงกัน 12 ราย ดังแสดงใน Table 5 และเมื่อนำผลการทดสอบจากทั้งสองเครื่องมือวิเคราะห์หาความสอดคล้องด้วยสถิติ Cohen's kappa coefficient พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.978

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

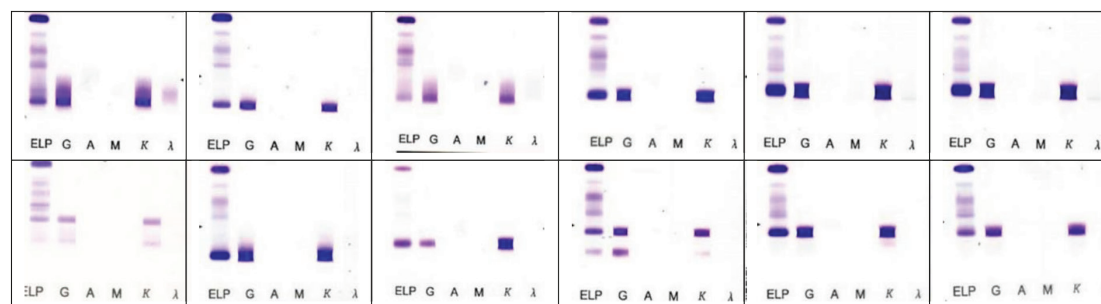
งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลการทดสอบ immunofixation electrophoresis โดยการศึกษาวิเคราะห์ผลการทดสอบด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER และเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26

Table 4 Results of immunofixation electrophoresis between the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix

Type of protein	QuickGel® CHAMBER		Interlab G26 Easy Fix	
	Results by Researcher 1	Results by Researcher 2	Results by Researcher 1	Results by Researcher 2
IgG kappa	12	12	12	12
IgG lambda	10	10	10	10
IgA kappa	4	4	4	4
IgA lambda	6	6	6	6
IgM kappa	2	2	2	2
IgM lambda	1	1	1	1
Kappa light chain	3	3	3	3
Lambda light chain	5	5	4	4
No paraprotein	12	12	13	13
Total	55	55	55	55

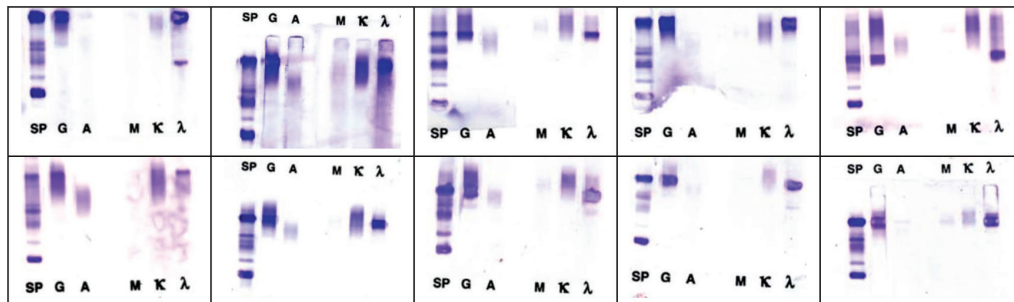


(A) QuickGel® CHAMBER: IgG Kappa

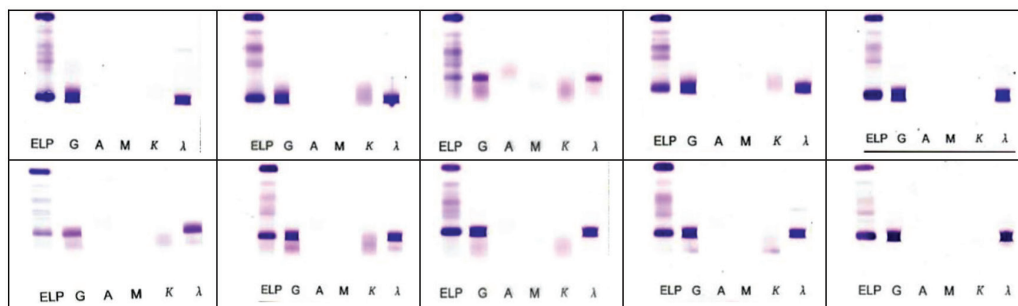


(B) Interlab G26 Easy Fix: IgG Kappa

Fig. 1 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed an IgG kappa monoclonal protein for samples no. 1 to 12 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

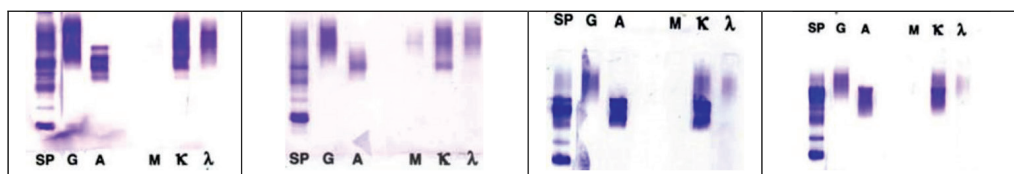


(A) QuickGel® CHAMBER: IgG Lambda

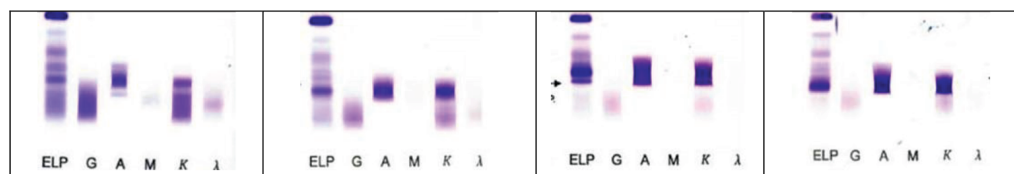


(B) Interlab G26 Easy Fix: IgG Lambda

Fig. 2 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed an IgG Lambda monoclonal protein for samples no. 13 to 22 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

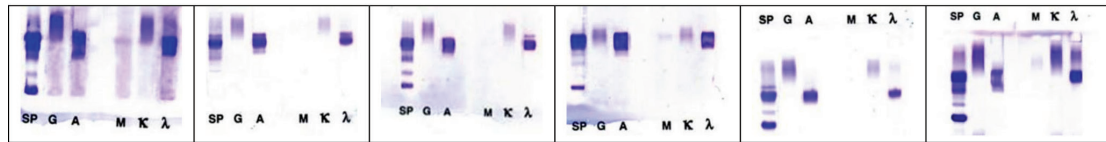


(A) QuickGel® CHAMBER: IgA Kappa

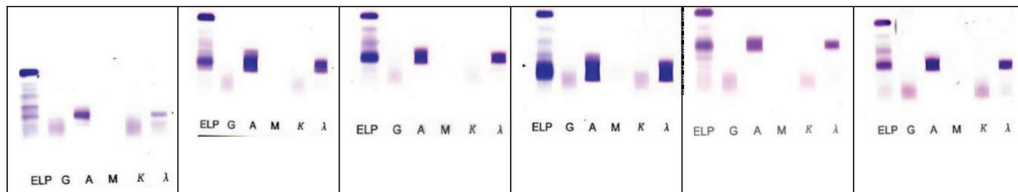


(B) Interlab G26 Easy Fix: IgA Kappa

Fig. 3 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed an IgA Kappa monoclonal protein for samples no. 23 to 26 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

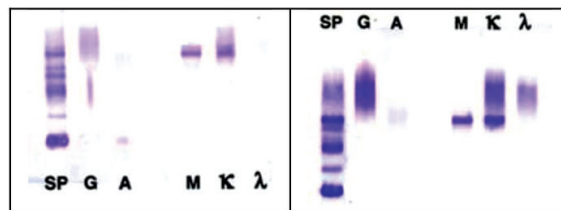


(A) QuickGel® CHAMBER: IgA Lambda

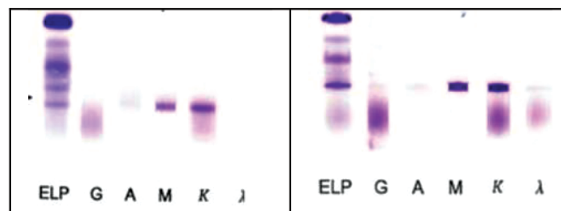


(B) Interlab G26 Easy Fix: IgA Lambda

Fig. 4 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed an IgA Lambda monoclonal protein for samples no. 27 to 32 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

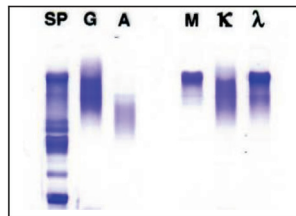


(A) QuickGel® CHAMBER: IgM Kappa

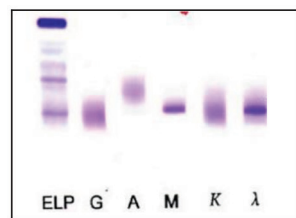


(B) Interlab G26 Easy Fix: IgM Kappa

Fig. 5 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed an IgM Kappa monoclonal protein for samples no. 33 and 34 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

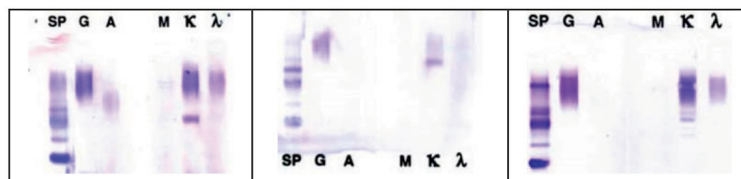


(A) QuickGel® CHAMBER: IgM Lambda

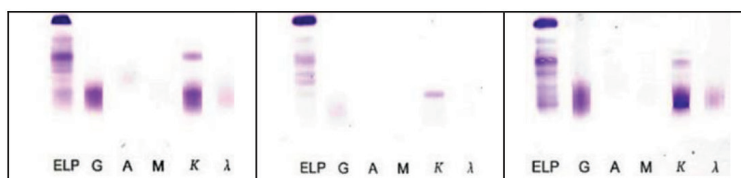


(B) Interlab G26 Easy Fix: IgM Lambda

Fig. 6 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed an IgM Lambda monoclonal protein for sample no. 35 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

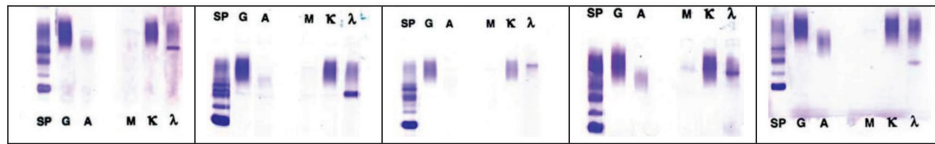


(A) QuickGel® CHAMBER: Kappa Light Chain

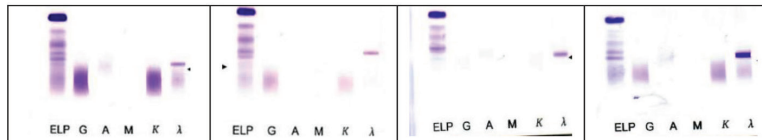


(B) Interlab G26 Easy Fix: Kappa Light Chain

Fig. 7 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed a Kappa Light Chain monoclonal protein for samples no. 36 to 38 by the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix. (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

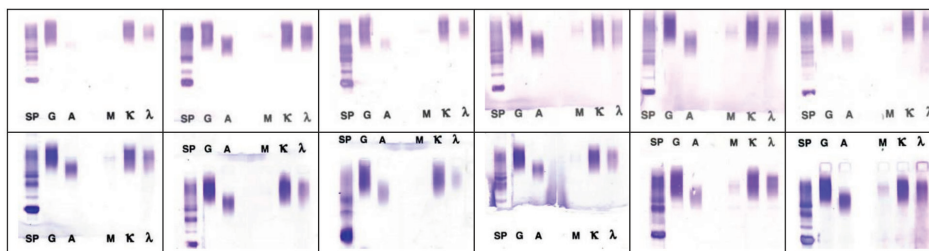


(A) QuickGel® CHAMBER: Lambda Light Chain

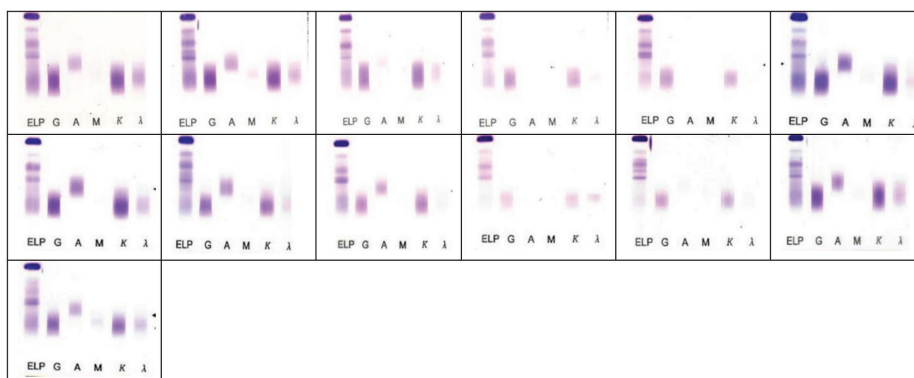


(B) Interlab G26 Easy Fix: Lambda Light Chain

Fig. 8 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed a lambda light chain monoclonal protein for samples no. 39 to 43 by the QuickGel® CHAMBER (A) and samples no. 39 to 42 by the Interlab G26 Easy Fix (B). (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.



(A) QuickGel® CHAMBER: Noparaprotein



(B) Interlab G26 Easy Fix: Noparaprotein

Fig. 9 In the comparison study, immunofixation electrophoresis revealed a noparaprotein result for samples no. 44 to 55 by the QuickGel® CHAMBER (A) and samples no. 43 to 55 by the Interlab G26 Easy Fix (B). (A) Immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER. (B) Immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix.

Table 5 Qualitative comparison of the QuickGel® CHAMBER and the Interlab G26 Easy Fix.

QuickGel® CHAMBER	No. of samples	Interlab G26 Easy Fix	
		Positive	Negative
Positive	43	42	1
Negative	12	0	12
Total	55	42	13

Easy Fix ผลการศึกษาจากตัวอย่างซีรัมจำนวน 55 ราย พบว่าผลการทดสอบมีความสอดคล้องกันอยู่ในระดับดีมาก (Near perfect agreement) โดยมีค่า Cohen's kappa coefficient เท่ากับ 0.978 แสดงให้เห็นถึงผลการทดสอบ immunofixation electrophoresis ที่ได้จากทั้งสองเครื่องมีความสอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน และมีผลรวมความสอดคล้องอยู่ที่ร้อยละ 98.18 สำหรับตัวอย่างซีรัมที่ให้ผลการทดสอบไม่ตรงกันจำนวน 1 ราย พบว่าตรวจพบแถบโปรตีน lambda light chain ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER แต่ให้ผล no paraprotein ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix เมื่อพิจารณาร่วมกับผลการทดสอบอื่นๆ ที่ได้ส่งตรวจที่โรงพยาบาลรามาลิบัติ ได้แก่ การทดสอบ free light chain (FLC) kappa/lambda ในซีรัมด้วยวิธี turbidimetry พบว่าในตัวอย่างรายนี้มี lambda level สูงกว่าปกติ (lambda level เท่ากับ 1,250.00 มิลลิกรัมต่อลิตร, ค่าอ้างอิง: 5.71-26.30 มิลลิกรัมต่อลิตร) ประกอบกับการมีประวัติได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นโรค multiple myeloma จึงสามารถมีค่าโปรตีนชนิดใด ๆ สูงได้ ทั้งนี้ในการเกิดปฏิกิริยาในการทดสอบ immunofixation electrophoresis ปริมาณของ antigen กับ antibody จะต้องมีความเหมาะสมกันจึงจะทำให้ปฏิกิริยาและเกิดการตกตะกอนให้เห็นได้ หากในซีรัมมี immunoglobulin ในปริมาณมากๆ อาจทำให้ไม่สามารถตรวจพบความผิดปกติได้ เนื่องจากปริมาณ

antigen ที่มีมากเกินไปจะทำให้ antigen-antibody complex ถูกล้างออกในระหว่างกระบวนการได้ ดังนั้นในกรณีที่ตัวอย่างซีรัมมีปริมาณของ immunoglobulin สูงมาก ควรมีการเจือจางซีรัมเพิ่มขึ้นเพื่อลดความผิดพลาดดังกล่าว ซึ่งผลการทดสอบที่ไม่ตรงกันของตัวอย่างรายดังกล่าวอาจเกิดจากการมีปริมาณของ lambda light chain ที่มากเกินไปจึงส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยากับ antisera ทำให้เกิดการตกตะกอนน้อยลงหรือไม่มีตะกอนใหญ่เกิดขึ้น จึงอาจทำให้ผลการอ่านแถบโปรตีนเป็น no paraprotein ได้ รวมถึงเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix มีการเจือจางซีรัมในอัตราส่วน 1:4 เท่านั้น ซึ่งอาจเป็นอัตราส่วนที่ยังไม่เพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ได้ นอกจากนี้ในการทดสอบ immunofixation electrophoresis ยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ อีกด้วย เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง (pH) ของสารละลาย และความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์⁽¹¹⁾ ทั้งนี้ในการศึกษาพบว่า แผ่น agarose gel ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix มีแถบโปรตีนที่เข้มและคมชัดกว่า รวมถึงมี background ของ agarose gel น้อยกว่าแผ่น agarose gel ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER (Fig. 10) จึงทำให้สามารถอ่านผลการทดสอบได้ง่าย และอาจช่วยลดความผิดพลาดในการแปลผลการทดสอบ นอกจากนี้ควรพิจารณาผลการทดสอบจากวิธีการทดสอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น หลักการทดสอบที่สามารถตรวจพบ

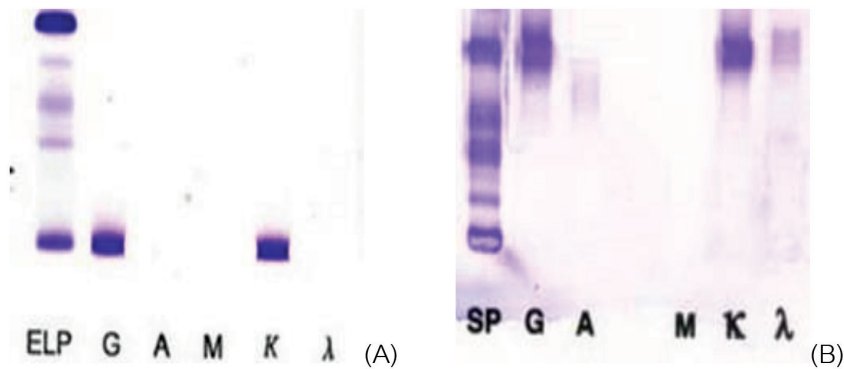


Fig. 10 In the comparison study, example results of immunofixation gels obtained from the Interlab G26 Easy Fix (A) and immunofixation gels obtained from the QuickGel® CHAMBER (B).

และหาปริมาณของ free light chain (FLC) kappa/lambda ในซีรัม⁽¹²⁾ รวมถึงอาการทางคลินิกของผู้ป่วยเพื่อการวินิจฉัยเกี่ยวกับโรค multiple myeloma (MM) ร่วมด้วย

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าเครื่อง QuickGel® CHAMBER (manual) และเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix (fully automated) ซึ่งเป็นเครื่องที่ใช้ทำการศึกษาวินิจฉัยภายในโรงพยาบาลรามาธิบดี มีค่าความสอดคล้องของผลการทดสอบที่ดีมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จึงสามารถใช้ทำการตรวจวิเคราะห์ immunofixation electrophoresis ทดแทนกันได้ โดยเมื่อพิจารณาพร้อมกับปัจจัยด้านอื่นๆ เช่น ขั้นตอนและระยะเวลาที่ใช้ในการทำการทดสอบ พบว่าการทำการทดสอบด้วยเครื่อง QuickGel® CHAMBER มีขั้นตอนและใช้ระยะเวลามากกว่า ประกอบด้วยผู้ปฏิบัติงานจะต้องมีความชำนาญในการทำการทดสอบ การอ่านผล และการแปลผลการทดสอบ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อห้องปฏิบัติการที่มีปริมาณงานจำนวนมาก ทำให้เกิดความล่าช้าในการรายงานผล จึงทำให้เครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix มีข้อได้เปรียบมากกว่าในการช่วยลดระยะ

เวลาในการทำงานและการรายงานผล อีกทั้งยังช่วยลดภาระงานของผู้ปฏิบัติงานได้ แต่อาจมีข้อด้อยกว่าในเรื่องของการเจือจางซีรัมที่ใช้ในการทดสอบ ทั้งนี้ในการพิจารณาเลือกใช้เครื่องมือการทดสอบ immunofixation electrophoresis จึงขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของแต่ละห้องปฏิบัติการนั้นๆ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยในด้านของปริมาณของ immunoglobulin ที่มีปริมาณสูง และอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเจือจางซีรัมของเครื่องอัตโนมัติ Interlab G26 Easy Fix เพิ่มเติมเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง แม่นยำ และมีประสิทธิภาพมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Durie. BGM. Concise review of the disease and treatment options of multiple myeloma 12650 Riverside Drive, Suite 206 North Hollywood, CA 91607 USA 2018.
2. Anna Porwit JM, Wendy N. Erber. Blood and bone marrow PATHOLOGY. 2nd, editor. Churchill Livingstone 2011.

3. Femand JP, Bridoux F, Dispenzieri A, *et al.* Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications. *Blood* 2018; 132: 1478-85.
4. Watanaboonyongcharoen P, Na Nakorn T, Rojnuckarin P. Serum free light chain. *Thai J Hematol Transfus Med* 2008; 18: 227-33 (in Thai)
5. Napodano C, Pocino K, Gulli F, *et al.* Comparison of fully automated and semi-automated systems for protein immunofixation electrophoresis. *J Clin Lab Anal* 2017; 31: e22027.
6. Gerecke C, Fuhrmann S, Strifler S, Schmidt-Hieber M, Einsele H, Knop S. The diagnosis and treatment of multiple myeloma. *Dtsch Arztebl Int* 2016; 113: 470-6.
7. Paiva B, Martinez-Lopez J, Vidriales MB, *et al.* Comparison of immunofixation, serum free light chain, and immunophenotyping for response evaluation and prognostication in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1627-33.
8. HELENA LABORATORIES. QuickGel[®] Immuno-FIX package insert. USA; 2009
9. INTERLAB a sebia company. Interlab G26 Easy Fix. Italy; 2014.
10. Tang W, Hu J, Zhang H, Wu P, He H. Kappa coefficient: a popular measure of rater agreement. *Shanghai Arch Psychiatry* 2015; 27: 62-7.
11. INTERLAB a sebia company. Acid violet immunofixation procedure for serum and concentrated urines for EasyFix G26 package insert. Italy; 2014.
12. Jaskowski TD, Litwin CM, Hill HR. Detection of kappa and lambda light chain monoclonal proteins in human serum: automated immunoassay versus immunofixation electrophoresis. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13: 277-80.