

Abstract

Lymfomer udgør en kompleks gruppe af cancer, hvor prognose og behandling afhænger af den specifikke undertype, hvorfor det er essentielt at patienter diagnosticeres korrekt. Waldenströms Makroglobulinæmi er et Non-Hodgkin lymfom, hvoraf >90% af patienterne har varianten MYD88L265P, hvorfor MYD88 mutationsanalysen anvendes differentialdiagnostisk.

Bachelorprojektet er udarbejdet på Molekylærpatologi på Aarhus Universitetshospital, hvor de på nuværende tidspunkt udfører MYD88 mutationsanalysen som en semikvantitativ real-time polymerase chain reaction (qPCR) med PlentiPlex™ Ready-to-Use på StrateGene® fra Agilent Technologies. Agilent Technologies yder ikke længere service på StrateGene®, hvorfor afdelingen er nødsaget til at finde et alternativ.

Bachelorprojektets formål er derfor at undersøge, hvilken effekt det vil have på validiteten af MYD88 mutationsanalysen, hvis analysen overgår til qPCR med PlentiPlex™ MYD88 Waldenström Lymphoma qPCR Assay Dispense Ready (PlentiPlex™ DR) fra PentaBase på QuantStudio™3 fra Thermo Fisher Scientific.

Til at besvare dette har vi udført en række forsøg, der undersøger den Optimal DNA-koncentration, Detektionsgrænse, Metodesammenligning og Reproducerbarhed. Metodesammenligning er udført med 30 formalinfikseret paraffinindstøbt (FFPE) væv og med Next Generation Sequencing med lymfompanel på Ion Torrent™, som referencemetode. Overensstemmelsen mellem de to metoder er 100% [CI95%: 82,8;100], og PlentiPlex™ DR er derved i stand til at give korrekte analyseresultater.

Reproducerbarhed er udført på 5 FFPE-væv, hvor der er benyttet svar fra Metodesammenligning og Reproducerbarhed Dag 1 og Dag 2. Forsøget viser at analyseresultatet ikke afhænger af de intermediære variationer, der er inkluderet i forsøgene. Vores undersøgelser viser at et skift til PlentiPlex™ DR på QuantStudio™3 ikke vil have nogen betydelig effekt på validiteten.

Motivation

Validering af bioanalyser er i øjeblikket fremherskende, da dette er en forudsætning for at opnå det kvalitetsstempel, som en DANAK-akkreditering repræsenterer, og som flere danske hospitalsafdelinger ønsker at opnå. Patologi AUH, er akkrediteret inden for lunge- og mammae og har påbegyndt akkrediteringsprocessen på andre områder, herunder MYD88 mutationsanalysen, der skal overgå til et nyt apparatur (Quantstudio™3).

I den komplekse valideringsproces er bioanalytikerens kompetencer yderst væsentlige. Med kvalitetsbevidsthed og selvstændighed har Anika, Celia, Mathias og Sandra udført et stort arbejde i valideringen af MYD88 mutationsanalysen på Quantstudio™3 for Molekylærpatologisk laboratorium ved Patologi, AUH.

I deres projekt har de udført en omfattende metodesammenligning samt gransket detektionsgrænse og reproducerbarhed for at dokumentere, hvorvidt kravene til analysen er opfyldt, og om analyseresultaterne kan anses for valide. MYD88 analysen anvendes differentialdiagnostisk til klassificering af Lymfoplasmacytært lymfom (en undertype af Non-Hodgkin lymfom), som er særligt vanskelig at klassificere. En valid klassificering af lymfom undertypen er essentiel, således at patienten modtager den rette behandling.