

# Valutazione Multicentrica di Metodi commerciali di routine per la ricerca delle Proteine di Bence Jones in urine

Presenta: Walter Tizzanini – Laboratorio analisi – Azienda Policlinico – Modena

## *Commissione di studio InterRegionale "Forlì" su "Proteine di Bence Jones e Catene Leggere Libere"*

Segreteria Scientifica: **Gualtiero Pallotti** – Ospedale Pierantoni – Forlì

Partecipanti al lavoro della riunione del 18 giugno 1999

Ospedale Civile	Asola	Scipiotti C.
Ospedale di Bentivoglio	Bentivoglio (BO)	Milanesi M.G., Turra F.
Ospedale Bellaria	Bologna	Martelli M., Zannini R.
Ospedale Maggiore	Bologna	Cucci A.
Spedali Civili – Lab. Immunologia	Brescia	Quinzanini M.
Ospedale di Faenza	Faenza	Gollini C.
Ospedale Santa Croce	Fano	Sadori R.
Arcispedale Sant'Anna	Ferrara	Candi L.
Ospedale Civile	Fiorenzuola (PC)	Pantano E.
Ospedale Careggi	Firenze	Piazza E.
Ospedale Pierantoni	Forlì	Mambelli C., Pezzi L.
Ospedale Civile	Fossombrone (PS)	Del Prete E.
Ospedale Policlinico	Modena	Tizzanini W., Guidetti F.
Ospedale Destra Secchia	Pieve di Coriano (MN)	Tirelli F., Zanni R.
Ospedale San Salvatore	Pesaro	Acetoso M.
Ospedale Civile	Piacenza	Croci E.
Ospedale del Ceppo	Pistoia	Valenti D., Lucherini M.
Ospedale Santa aria degli Angeli	Pordenone	Ferrai MG.
Ospedale Santa Maria delle Croci	Ravenna	Gardini G.
Ospedale Infermi	Rimini	Argento A., Conti C.

## *Commissione congiunta SIBioC – AIPAC – SIMEL, Sezioni Liguri, su "Proteine di Bence Jones e Catene Leggere Libere"*

Segreteria Scientifica: **Liliana Burlando** – già Ospedale Galliera – Genova

**Giovanna Zaninetta** – Ospedale S. Martino - Genova

Partecipanti al lavoro della riunione del 1 luglio 1999

Ospedale S. Martino	Genova	Zaninetta G., Milone S.
Ospedale Galliera	Genova	Campanella A., Romano R.
Ospedale Evangelico	Genova	Baiardi C., Intra E.
Ospedale Sampierdarena	Genova	Nicorelli GF., Canepa D.
Ospedale di Nervi	Genova Nervi	Tagliazucchi A.
Ist.to Giannina Gaslini	Genova	Famularo L., Rossi G.
Ospedale S. Carlo	Genova Voltri	Barbaro GB., Patrone C.
Ospedale Civile	Imperia	Bovina L., Patelli L.,
Ospedale S. Andrea	La Spezia	Lanza GC.
Ospedale Civile	Lavagna	Venturini M., Albalustri G., Marrè V., Musso M.
Ospedale Santa Corona	Pietra Ligure	Scafidi E.M., Stalla A.
Ospedale di San Remo	San Remo	Questa F.
Ospedale San Paolo	Savona	Minetti F., Parodi EF.

### **Organizzazione e coordinamento:**

Leonardo Massaro, Rita Scaringi

New Scientific Company S.r.l. – Via Dante, 35 – I 20032 Cormano (MI)

## Introduzione

Attualmente l'indagine sulle Catene Leggere Libere (CLL) è rivolta alla ricerca delle Proteine di Bence Jones (BJP), cioè di Catene Leggere Libere Monoclonali in urine, mentre le Catene Leggere Libere Policlonali (CLLP) sono considerate un rilievo accessorio, a meno che non si intenda ricercarle specificamente, come indice di proteinuria tubulare, e in questo caso parrebbe metodo d'elezione la determinazione quantitativa diretta con l'ImmunoPrecipitazione in fase Liquida (IPL), turbidimetria o nefelometria, realizzata con Reagenti specifici per le CLL.

All'importanza della ricerca intorno alle BJP (e alle CLL), non sembra, allo stato, corrispondere una adeguata standardizzazione di metodi, protocolli, riferimenti, controlli e della comunicazione refertuale, tutte esigenze fortemente e giustamente sentite dagli operatori.

## Presentazione dei Gruppi di Studio

L'esigenza di standardizzazione nella ricerca delle BJP è fortemente sentita dagli operatori del settore così come la possibilità del confronto di esperienze concrete.

La New Scientific Company (NSC) raccolse queste esigenze curando la parte organizzativa del gruppo di studio che si costituì spontaneamente nella riunione di Forlì del 28 maggio 1993.

Da allora la Commissione Forlì ha avuto nove riunioni, l'ultima il 18 giugno 1999.

Nel 1996 su iniziativa della Sezione SIBioC Ligure si tenne una prima riunione con le Sezioni Liguri di AIPAC e SIMEL e si decise di intraprendere congiuntamente un'analogha iniziativa sempre coordinata organizzativamente dalla NSC.

Da allora la Commissione Liguria ha avuto due riunioni, l'ultima l'1 luglio 1999.

## Metodo di Lavoro

I gruppi di studio realizzano periodicamente "riunioni di coordinamento", tavola rotonda a libero dibattito.

Nella riunione si esaminano e si discutono i risultati del lavoro precedentemente svolto e si definisce il lavoro da svolgere per la riunione successiva.

## Obiettivi e Strategie Generali

Obiettivo dei gruppi di studio è la verifica della possibilità di uniformare la valutazione, l'interpretazione e la comunicazione refertuale delle Proteine di Bence Jones (BJP) e, più in generale, delle Catene Leggere Libere (CLL) in urine.

**Sarebbe auspicabile che un campione risultasse almeno**

**"BJP-positivo" o "BJP-negativo"**

**in tutti i Laboratori**

**a prescindere dal metodo o dal protocollo, cioè dall'insieme di metodi di screening e di approfondimento, utilizzato.**

La strategia adottata è quella del confronto delle esperienze operative della routine quotidiana di realtà dimensionali, strutturali e organizzative diversificate e molteplici partendo dalla verifica delle "caratteristiche reali" dei metodi percorribili nella pratica.

A tal fine è necessario valutare la "sensibilità" e la "precisione" dei singoli metodi per poi collocarli nella strategia di ricerca delle BJP.

La valutazione della "precisione" non solo è preliminare alla possibilità di una eventuale determinazione quantitativa ma è indispensabile per la corretta valutazione della "sensibilità".

Per una prima verifica abbiamo utilizzato il modello elementare, ma lineare, costituito da diluizioni scalari di campioni con una importante BJP e solo tracce di altre proteine; ciò consente di valutare e confrontare "sensibilità e precisione" dei metodi nel rilevare la "anormalità del campione" a prescindere da qualsiasi considerazione sulla concentrazione assoluta della BJP.

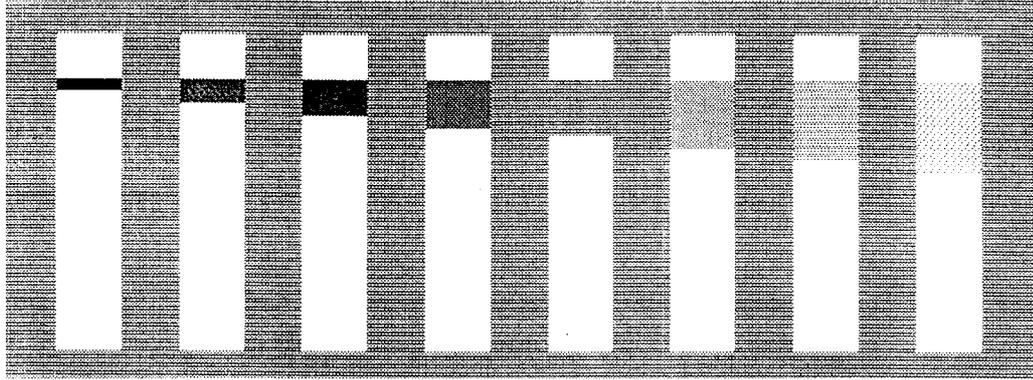
Questo approccio è sembrato l'indispensabile punto di partenza pur non essendo esaustivo causa l'eterogeneità delle BJP e delle CLL:

- Le BJP sono tra loro antigenicamente diverse pur nell'ambito dello stesso tipo e questo può determinare variazioni di risposta nelle tecniche di ImmunoPrecipitazione in fase Liquida (IPL) (Nefelometria, Turbidimetria) e nella ImmunoFissazione (IFE) mentre non influenza l'ElettroForesi (EF).
- Le Catene Leggere Libere Policlonali (CLLP) saranno evidenziate con minore sensibilità dalla EF e dalla IFE rispetto ad una pari quantità di BJP poiché, per la distribuzione su una superficie più ampia rispetto alla banda ristretta tipica della BJP, le CLLP avranno una concentrazione per unità di superficie più bassa; Figura: 1 ( 1 ).

### Figura: 1 Da Monoclonale a policlonale - Simulazione con Elaboratore Elettronico

Effetto della stessa quantità di colore distribuita su una certa superficie assimilabile alla banda omogenea della BJP e scalarmente fino ad una superficie 8 volte maggiore assimilabile a CLL policlonali.

Si dimostra che, per la stessa concentrazione di proteine, la sensibilità della EF e della IFE decresce proporzionalmente all'aumento della superficie su cui le proteine si distribuiscono; nel caso delle CLL, dalla banda monoclonale delle BJP all'aspetto diffuso delle CLL policlonali



## Dettaglio degli Argomenti all'ordine del giorno

Le commissioni hanno ritenuto la valutazione dei metodi preliminare ad una discussione più ampia i cui argomenti sono riportati sotto:

### Standardizzazione Analitica

L'obiettivo della standardizzazione dovrebbe essere la paragonabilità dei risultati e del referto:

- nel paziente e tra pazienti
- per la prima ricorrenza e per i controlli successivi
- nello stesso laboratorio e tra laboratori

Per questo obiettivo è necessario uniformare gli elementi riportati di seguito:

### *Qualità dei metodi*

E' il lavoro fino ad ora prevalentemente svolto dalle Commissioni, ed è il primo fondamentale passo per la standardizzazione di questa indagine, ma è ancora necessario definire gli altri punti esposti sotto.

Si dovrebbe raggiungere e mantenere l'uniformità dei risultati per ogni metodo e tra i metodi utilizzati nella ricerca delle Proteine di Bence Jones (e delle Catene Leggere Libere in generale) e a tal fine:

- insistere nel metodo delle verifiche multicentriche e delle riunioni periodiche per la comune verifica e discussione dei risultati.
- definire un set di controlli da utilizzare costantemente

### *Limiti di sensibilità dei metodi o limiti utilizzati nella strategia operativa*

- Limite di screening
- Limite di conferma
- Si esplicita nel referto ?

### *Tipo di campione*

- Si utilizza: **urina**: 24 ore - 1<sup>a</sup> mattino - 2<sup>a</sup> mattino - estemporanea
- Si utilizza: **conservante** per la raccolta e/o stoccaggio del campione ?
- Si esplicita nel referto ?

### *Diuresi - Creatinina urine*

- Si valuta: *diuresi - creatinina urine - niente*
- Si esplicita nel referto ?

## *Strategia di refertazione: provvisoria e definitiva, e della comunicazione relativa*

Esigenza di:

- referto provvisorio
- referto definitivo

e, per ciascuno:

- informazioni sul campione
- unità di misura anche in relazione al campione e alla eventuale valutazione di diuresi o creatinina urine
- informazioni sui limiti assoluti e relativi ai punti precedenti
- tipo di comunicazione positiva e negativa
- solo descrittiva, solo quantitativa, entrambe
- immagini e schemi
- Annotazioni, conclusioni, suggerimenti per controlli e altro.

### Standardizzazione della tariffazione

E' emerso nell'ultima riunione che vi è una notevole variabilità.

### Altri elementi operativi

- Referto specifico separato per campioni positivi
- Invito a esibire i referti precedenti
- Conservazione delle informazioni

### Proponibilità di documenti

- Documento informativo per il medico richiedente
- Documento informativo per l'istituzione
- Documento propositivo per la categoria

### Indagine epidemiologica Multicentrica

L'indagine avrebbe diverse valenze che si influenzano vicendevolmente:

- caratteristiche complessive analitiche e preanalitiche della ricerca delle BJP
- caratteristiche della popolazione del territorio
- caratteristiche della popolazione afferente al Laboratorio

## Caratteristiche auspicabili per metodi e protocolli

Per le BJP e le CLL il metodo o il protocollo "**perfettamente efficace**" dovrebbe essere caratterizzato da:

### a) nessun "falso negativo" – **Sensibilità e Precisione**

E' la caratteristica principale e irrinunciabile e di conseguenza per essa si richiede la massima riproducibilità intra ed inter-laboratorio: si dovrebbe definire la "sensibilità" e la "precisione" di ciascun metodo.

### b) *nessun "falso positivo"* – *Specificità del Segnale di Positività*

L'efficacia diminuisce man mano che aumenta il numero di "falsi positivi".

### c) buona informazione quantitativa

Si dovrebbe valutare oltre alla "precisione" anche la "accuratezza".

La valenza di questo elemento dipende da quanto è sentita l'esigenza della determinazione quantitativa assoluta.

## Elementi di discussione dell'ultima riunione

Gli argomenti discussi nell'ultima riunione a Forlì e a Genova cui si accennerà in questa presentazione sono stati:

- valutazione dei risultati ottenuti dalla valutazione multicentrica multimetodologica di diluizioni scalari di quattro campioni di urina: due con BJP lambda e due con BJP kappa
- definizione di un set di controlli
- scelta del tipo di campione su cui eseguire la ricerca delle BJP
- scelta del parametro di valutazione della diuresi

## Obiettivi della sperimentazione multicentrica

Questa sperimentazione intende verificare l'efficacia dei metodi in uso nei Laboratori partecipanti in termini di "sensibilità" e "precisione".

La valutazione della "specificità" e della "accuratezza" sarà oggetto di future sperimentazioni.

## Campioni

I Campioni sono stati ottenuti diluendo le urine originarie prescelte per la sperimentazione così da avere le concentrazioni approssimative di BJP concordate dai partecipanti.

La New Scientific Company ha curato la preparazione dei campioni e la distribuzione ai partecipanti.

Le diluizioni sono state eseguite in PBS e distribuite in flaconi da 5 ml etichettate in esplicito con il nome convenzionale del campione, il tipo di BJP presente e la diluizione.

Insieme ai campioni identificati sono state distribuite le schede per l'annotazione dei risultati.

La tabella sottostante (Tabella I) riporta i campioni e le diluizioni esaminate da entrambi i gruppi di lavoro.

Tabella I - Campioni

Campione	$\lambda$ A Bellaria		$\lambda$ B Lavagna		$\kappa$ A Forlì		$\kappa$ B Lavagna	
	$\lambda$ A 1	$\lambda$ A 2	$\lambda$ B 1	$\lambda$ B 2	$\kappa$ A 1	$\kappa$ A 2	$\kappa$ B 1	$\kappa$ B 2
Diluizione	1:100	1:200	1:100	1:200	1:30	1:60	1:200	1:400
Concentrazione orientativa mg/dl	1.1	0.6	2.5	1.25	3	1.5	2.5	1.25

### Nota bene

La concentrazione orientativa viene qui riportata per chiarezza; essa è stata ottenuta a posteriori ed è la media delle misurazioni ottenute con i metodi quantitativi.

## Quesito

**Se gli otto campioni fossero arrivati ai laboratori partecipanti con la richiesta di “Ricerca della Proteina di Bence Jones” quale sarebbe stata la risposta ?**

## Procedura Operativa

Tutte le diluizioni sono state analizzate dai Laboratori partecipanti con i metodi sia di screening sia di approfondimento in uso nella routine per la ricerca delle BJP.

Alcuni Laboratori hanno eseguito due determinazioni in due diverse sedute analitiche.

## Stabilità delle Diluizioni Distribuite

L'intervallo tra la preparazione delle diluizioni distribuite e l'esecuzione dei test nei Laboratori è stato molto variabile.

La stabilità delle diluizioni distribuite è stata perciò controllata determinando le CLL con metodo immunoturbidimetrico manuale con reagente specifico anti CLL.

Si è rilevato che la diluizione 1:60 del campione  $\kappa$ -Forlì ha avuto un rapido degrado per poi stabilizzarsi, mentre tutte le altre diluizioni preconfezionate non hanno mostrato variazioni apprezzabili nel periodo di osservazione: giugno 98 - giugno 99.

La stabilità è stata inoltre confermata “sul campo” dalla riproducibilità interlaboratorio delle determinazioni nefelometriche e turbidimetriche.

## Risultato Positivo

E' stato considerato “risultato positivo” il “segnale di anormalità” tipico di ciascun metodo.

## Risultato atteso

**Tutti i Campioni avrebbero dovuto dare risultato positivo per il tipo di BJP indicato sulla etichetta di identificazione del flacone.**

## Risultati di precedenti lavori

In un precedente lavoro del gruppo "Forlì" (1) furono presentati i risultati ottenuti dalla valutazione multicentrica multimetodologica di diluizioni scalari di un campione di urina con BJP lambda.

Da quel lavoro e dalle successive valutazioni multicentriche condotte in questi anni sia dal gruppo "Forlì" sia dal gruppo "Liguria" è emerso che, per la ricerca delle BJP, sono poco affidabili e pertanto **attualmente** non dovrebbero essere utilizzati:

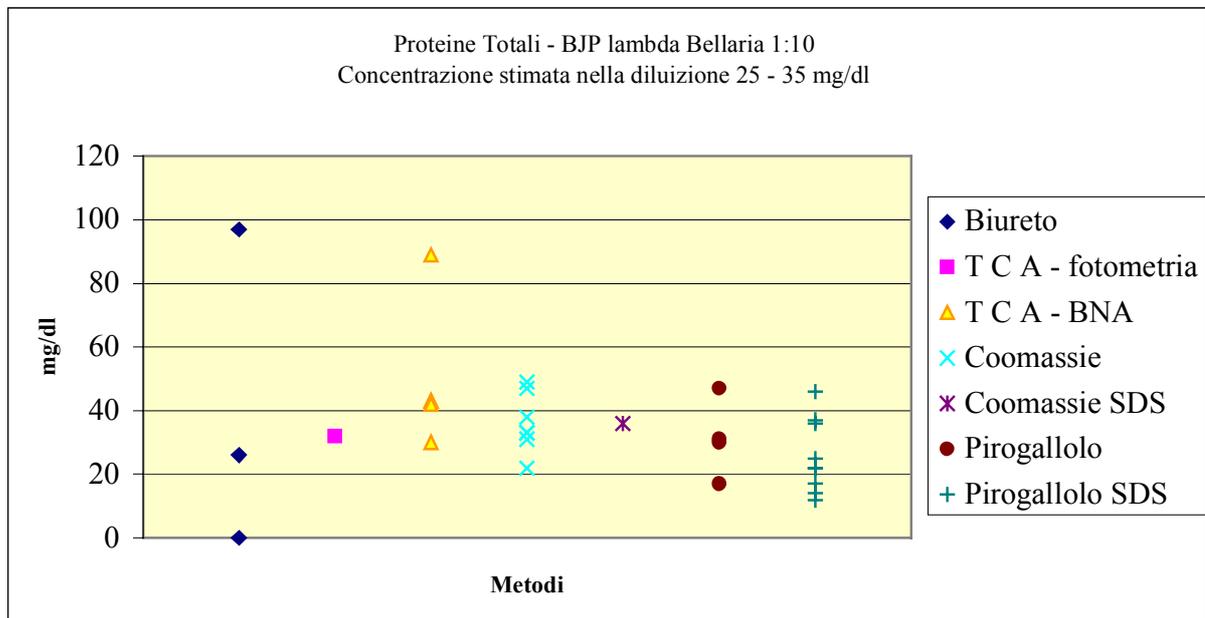
- il dosaggio delle Proteine Totali in urine
- lo stick per dosaggio delle Proteine Totali in urine

Tralasciando lo stick il cui uso per lo screening delle BJP è ormai desueto, vale la pena accennare al dosaggio delle Proteine Totali in urine il cui uso è invece più diffuso.

A titolo di esempio il Grafico di Figura 2 riporta i risultati ottenuti dalla determinazione delle PT sulla diluizione 1:10 del Campione BJP-lambda Bellaria; la concentrazione di BJP-lambda in questa diluizione fu stimata tra 25 e 35 mg/dl. Si vede come nessuno dei metodi utilizzati dovrebbe essere considerato affidabile.

Sempre riguardo la determinazione delle Proteine Totali in urine è stata eseguita una sperimentazione multicentrica su diluizioni scalari di una urina con proteinuria glomerulare ed è risultato che i metodi utilizzati dovrebbero essere considerati inaffidabili per concentrazioni inferiori a 20 mg/dl.

Figura 2



## Risultati attuali e Discussione

Gli otto Campioni sono stati esaminati da **23 Laboratori** ospedalieri, più il laboratorio della Beckman, che hanno complessivamente eseguito **769 determinazioni**.

Il confronto dei risultati ottenuti raggruppati nei cinque tipi di tecniche utilizzate è illustrato sinteticamente nel grafico di Figura 3.

### *Elettroforesi (EF)*

I risultati sono riportati sinteticamente nel grafico di Figura 4 e più analiticamente in Tabella 2.

Hanno eseguito l'EF **8 Laboratori** per un totale di **96 test** con **17 risultati negativi (17,7 %)**.

La sensibilità dell'Elettroforesi con i kit e i metodi per "urine non concentrate" e su campione non concentrato è risultata potenzialmente discreta ma affetta da eccessiva variabilità intra ed interlaboratorio anche a parità di metodo.

*ImmunoFissazione (IFE) con antisieri anti Catene Leggere Totali (libere&legate) (CLT)*

I risultati sono riportati sinteticamente nel grafico di Figura 5 e più analiticamente in Tabella 3.

I metodi utilizzati sono abbastanza affidabili; **12 Laboratori** hanno eseguito **127 test** con **3 risultati negativi** pari al **2.4 %**.

*ImmunoFissazione (IFE) con antisieri anti Catene Leggere Libere (CLL)*

I risultati sono riportati sinteticamente nel grafico di Figura 6 e più analiticamente in Tabella 4.

La tecnica è stata eseguita da **12 Laboratori**, uno ha eseguito due metodi, per un totale di **146 test** con **59 risultati negativi** pari al **40.4 %**.

La sensibilità della IFE con gli antisieri specifici anti CLL è risultata potenzialmente buona ma anch'essa è affetta, come la EF, da eccessiva variabilità interlaboratorio in parte dovuta alla variabilità già riscontrata per l'elettroforesi in parte da attribuire alla diversa qualità degli antisieri utilizzati. Gli antisieri NSC hanno dato risultato corretto su tre supporti differenti.

*Nefelometria/Turbidimetria con Reagenti anti Catene Leggere Totali (CLT)*

I risultati sono riportati sinteticamente nel grafico di Figura 7 e più analiticamente in Tabella 5.

La tecnica è stata eseguita da **6 Laboratori**, per un totale di **80 test** con **14 risultati negativi** pari al **17,5 %**.

La turbidimetria ha dato 2 risultati negativi su 8 test eseguiti.

Gli altri 12 risultati negativi sono stati ottenuti sul nefelometro APS, sono tutti relativi ai test eseguiti sui Campioni BJ-lambda e sono dovuti al limite di sensibilità fissato dal produttore per le CLT-lambda.

Sia la sensibilità sia la precisione (nella serie, tra serie e tra Laboratori) sono buoni fermo restando che il limite di sensibilità delle metodiche dovrebbe essere migliore di 0.5 mg/dl.

La Tabella 7 riporta le medie delle concentrazioni ottenute con i diversi metodi e i relativi coefficienti di variazione.

*Nefelometria/Turbidimetria con Reagenti anti Catene Leggere Libere (CLL)*

I risultati sono riportati sinteticamente nel grafico di Figura 8 e più analiticamente in Tabella 6.

La tecnica è stata eseguita da **23 Laboratori** più quello della **Beckman**, per un totale di **320 test** con **1 risultato negativo** pari al **0,3 %**.

Poiché l'unico risultato negativo riguarda un Campione che nella ripetizione eseguita nello stesso Laboratorio ha dato risultato chiaramente positivo si potrebbe concludere che si è trattato di **errore operativo**.

Sia la sensibilità sia la precisione (nella serie, tra serie e tra Laboratori) sono molto buoni.

La Tabella 8 riporta le medie delle concentrazioni ottenute con i diversi metodi e i relativi coefficienti di variazione.

Con il nefelometro Immage i coefficienti di variazione complessivi appaiono più alti rispetto a quelli del BNA/BNII. La causa presumibile è da ricercare nelle inevitabili differenze interlaboratorio nella preparazione manuale delle diluizioni per la costruzione della curva di calibrazione; infatti l'Image, a differenza del BNA/BNII, non prepara automaticamente le diluizioni su cui eseguire la calibrazione delle metodiche non Beckman. Questa ipotesi trae origine ed è confermata dal fatto che i coefficienti di variazione tra le serie intralaboratorio, su 24 doppiette, sono risultati più che soddisfacenti: media dei CV pari a 1.8% con solo due valori superiori al 5%.

Per il nefelometro APS non sono stati calcolati i coefficienti di variazione complessivi poiché solo 2 Laboratori con 3 determinazioni su ciascun campione hanno espresso i risultati in concentrazione mentre gli altri hanno espresso il risultato in segnale. L'APS non costruisce la curva di calibrazione e quindi non calcola il valore in concentrazione, ma l'interpolazione del segnale sulla curva va fatta all'esterno. Generalmente il Laboratorio non è interessato ad avere il valore in concentrazione ma solo a distinguere tra "positivo" e "negativo" sulla base del segnale dato dalla reazione a confronto con un cut off.

## Conclusioni relative alla multicentrica

### Azioni da intraprendere

Si dovrebbe procedere, anche con la collaborazione di produttori, ad una migliore standardizzazione delle metodiche di Elettroforesi e Immunofissazione.

Il limite di sensibilità delle metodiche sia qualitative sia quantitative dovrebbe essere migliore di 0.5 mg/dl.

### Campioni di riferimento

La valutazione multicentrica ha consentito di definire quali "campioni di riferimento" almeno in termini di "positivo/negativo" due diluizioni del campione BJP-kappa Lavagna e due del campione BJP-lambda Bellaria. Per entrambi i campioni la concentrazione di BJP nelle due diluizioni è stata stimata in circa 1 mg/dl e 0.5 mg/dl.

I "campioni di riferimento" sopra definiti sono disponibili presso la New Scientific Company.

## Altre conclusioni

### Tipo di Campione

I gruppi di studio hanno concordato di adottare quale "tipo di campione" per la ricerca delle BJP un qualsiasi campione di urina da minzione estemporanea: "urina estemporanea".

La ricerca sarà condotta preferibilmente sul campione fresco

### Creatinina urine

I partecipanti hanno concordato che sarebbe utile eseguire, insieme alla ricerca delle BJP, la determinazione della concentrazione urinaria della creatinina. L'informazione sarà inizialmente esclusivamente ad uso interno; i risultati verranno discussi nelle prossime riunioni.

### Schema di referto

La Commissione Liguria ha proposto la bozza di schema di referto riportata di seguito:

Nome del Test: Ricerca della Proteina di Bence Jones

Campione: urina estemporanea

#### Test di screening:

Metodo ..... sensibilità ..... mg/dl)

Risultato  Negativo

Necessità di test di conferma

#### Test di conferma:

Metodo ..... sensibilità ..... mg/dl)

Tempo di attesa per risultato definitivo: .....

Risultato: .....

## Obiettivi futuri

Obiettivo futuro del gruppo di studio sarà:

- la verifica dei "campioni di controllo" adottati
- il tentativo di meglio uniformare i diversi aspetti della "comunicazione refertuale".

## Bibliografia

1) Pallotti G. et al.

**Valutazione multicentrica di metodi e protocolli per le Catene Leggere Libere e Proteine di Bence Jones in urine – Primi risultati**

Biochimica Clinica, 19, 1995, pp 410-425

Tabella 2

Elettroforesi							Campioni								
Metodo	Camp. concen.	Colorante tipo	Numero Labor.	Numero test	Risultati totale		λ A		λ B		κ A		κ B		
							λ A 1	λ A 2	λ B 1	λ B 2	κ A 1	κ A 2	κ B 1	κ B 2	
Protur HISI	N.C.	Violetto		1	8	pos	5	1	0	1	1	1	0	1	0
						neg	-3	0	1	0	0	1	0	1	
Protur Plus	N.C.	Blu		1	8	pos	8	1	1	1	1	1	1	1	1
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paragon SPE	N.C.	Blu		1	8	pos	8	1	1	1	1	1	1	1	1
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hydragel 30	N.C.	Violetto		3	48	pos	36	4	2	6	6	6	4	6	2
						neg	-12	2	4	0	0	0	2	0	4
Hydragel 15	N.C.	Violetto		1	8	pos	7	1	1	1	1	1	1	1	0
						neg	-1	0	0	0	0	0	0	0	1
Acetato Cell.	N.C.	Oro Helena		1	16	pos	15	2	2	2	2	2	2	2	1
						neg	-1	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Totali</b>				8	96	pos	79	10	7	12	12	12	9	12	5
						neg	-17	2	5	0	0	0	3	0	7

Tabella 3

ImmunoFissazione - Antisieri CLT							Campioni								
Metodo	Camp. concen.	Colorante tipo	Fornitore Antisieri	Numero Labor.	Numero test	Risultati totale		λ A		λ B		κ A		κ B	
								λ A 1	λ A 2	λ B 1	λ B 2	κ A 1	κ A 2	κ B 1	κ B 2
Protur Plus	N.C.	del kit	Beckman	7	80	pos	78	10	8	10	10	10	10	10	10
						neg	-2	0	2	0	0	0	0	0	0
Hydragel 4IF	N.C.	del kit	Sebia	5	47	pos	46	6	5	7	6	7	5	6	4
						neg	-1	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Totale</b>				12	127	pos	124	16	13	17	16	17	15	16	14
						neg	-3	0	2	0	0	0	0	0	1

Tabella 4

ImmunoFissazione - Antisieri CLL							Campioni								
Metodo	Camp. concen.	Colorante tipo	Fornitore Antisieri	Numero Labor.	Numero test	Risultati totale		λ A		λ B		κ A		κ B	
								λ A 1	λ A 2	λ B 1	λ B 2	κ A 1	κ A 2	κ B 1	κ B 2
AutoIFE	N.C.	del kit	Helena	1	8	pos	8	1	1	1	1	1	1	1	1
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ImmunFix	N.C.	del kit	Helena	1	16	pos	5	0	0	2	0	1	0	2	0
						neg	-11	2	2	0	2	1	2	0	2
AutoIFE	N.C.	del kit	NSC	1	8	pos	8	1	1	1	1	1	1	1	1
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Protur Plus	N.C.	del kit	NSC	1	16	pos	16	2	2	2	2	2	2	2	2
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hydragel 4IF	N.C.	del kit	NSC	1	16	pos	16	2	2	2	2	2	2	2	2
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hydragel 2IF	C x 10	del kit	Sebia	1	8	pos	8	1	1	1	1	1	1	1	1
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hydragel 4IF	C x 25	del kit	Sebia	1	16	pos	4	1	0	2	1	0	0	0	0
						neg	-12	1	2	0	1	2	2	2	2
Hydragel 4IF	N.C.	del kit	Sebia	6	58	pos	22	5	0	7	3	4	0	2	1
						neg	-36	2	7	1	4	4	7	5	6
<b>Totale</b>				12	146	pos	87	13	7	18	11	12	7	11	8
						neg	-59	5	11	1	7	7	11	7	10

Nota Bene: Un laboratorio ha utilizzato due metodi, pertanto il Totale Laboratori non corrisponde alla somma della relativa colonna

Tabella 5

Nefelometria/Turbidimetria CL Totali							Campioni								
Analizzatore			Fornitore Reagenti	Numero		Risultati totale	λ A		λ B		κ A		κ B		
				Labor.	test		λ A 1	λ A 2	λ B 1	λ B 2	κ A 1	κ A 2	κ B 1	κ B 2	
BNA/BNII			Behring	3	48	pos	48	6	6	6	6	6	6	6	6
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
APS			Bechman	2	24	pos	12	0	0	0	0	3	3	3	3
						neg	-12	3	3	3	3	0	0	0	0
Cobas			Dako	1	8	pos	6	1	1	1	1	1	0	1	0
						neg	-2	0	0	0	0	0	1	0	1
<b>Totale</b>				6	80	pos	66	7	7	7	7	10	9	10	9
						neg	-14	3	3	3	3	0	1	0	1

Tabella 6

Nefelometria/Turbidimetria CL Libere							Campioni								
Analizzatore			Fornitore Reagenti	Numero		Risultati totale	λ A		λ B		κ A		κ B		
				Labor.	test		λ A 1	λ A 2	λ B 1	λ B 2	κ A 1	κ A 2	κ B 1	κ B 2	
BNA/BNII			NSC	15	200	pos	199	25	24	25	25	25	25	25	25
						neg	-1	0	1	0	0	0	0	0	0
Immagine			NSC	4	56	pos	56	7	7	7	7	7	7	7	
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
APS			NSC	5	56	pos	56	7	7	7	7	7	7	7	
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cobas			NSC	1	8	pos	8	1	1	1	1	1	1	1	
						neg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Totale</b>				24	320	pos	319	40	39	40	40	40	40	40	
						neg	-1	0	1	0	0	0	0	0	0

Nota Bene: Un laboratorio ha utilizzato due metodi, pertanto il Totale Laboratori non corrisponde alla somma della relativa colonna

Tabella 7

Nefelometria/Turbidimetria Catene Leggere Totali - Medie interlaboratorio e CV																			
Analizzatore	Fornitore Reagenti	Numero		λ A 1		λ A 2		λ B 1		λ B 2		κ A 1		κ A 2		κ B 1		κ B 2	
		Lab.	Test	Media mg/dl	CV														
BNA/BNII	Behring	3	+48 -0	1,68	12%	0,97	18%	2,83	10%	1,64	13%	4,29	6%	1,40	12%	3,00	10%	1,30	13%
APS	Beckman	2	+12 -12	neg	n.c.	neg	n.c.	neg	n.c.	neg	n.c.	4,36	18%	1,39	16%	3,42	2%	1,50	9,0%
Cobas	Dako	1	+6 -2	5,82	n.c.	1,54	n.c.	6,31	n.c.	3,73	n.c.	4,94	n.c.	neg	n.c.	4,94	n.c.	neg	n.c.

Legenda n.c. = non calcolabile; + e - rispettivamente = risultato positivo e negativo

Tabella 8

Nefelometria/Turbidimetria Catene Leggere Libere - Medie interlaboratorio e CV																			
Analizzatore	Fornitore Reagenti	Numero		λ A 1		λ A 2		λ B 1		λ B 2		κ A 1		κ A 2		κ B 1		κ B 2	
		Lab.	Test	Media mg/dl	CV														
BNA/BNII	NSC	15	+199 -1	1,04	10%	0,54	10%	2,26	8%	1,12	10%	2,94	18%	0,79	27%	2,29	13%	1,15	12%
Immagine	NSC	4	+56 -0	1,19	20%	0,66	30%	2,14	15%	1,11	22%	2,64	23%	0,91	71%	2,81	23%	1,26	23%
APS	NSC	5	+56 -0	0,74	n.c.	0,34	n.c.	1,65	21%	0,75	9%	2,75	28%	0,45	n.c.	1,88	17%	0,85	9%
Cobas	NSC	1	+8 -0	0,97	n.c.	0,50	n.c.	2,20	n.c.	1,06	n.c.	3,21	n.c.	1,52	n.c.	2,87	n.c.	2,12	n.c.

Legenda n.c. = non calcolabile; + e - rispettivamente = risultato positivo e negativo