

Comisión conjunta SiBioC – AIPAC – SIMEL, Secciones Ligures, sobre "Proteínas de Bence Jones y Cadenas Ligeras Libres"

Genova, 22 Junio 2000

Redacción a cargo de Liliana Burlando

La experiencia ya trienal del multicéntrico BJP seguida conjuntamente con la comisión Forlì permite a día de hoy subrayar como asimilados algunos elementos.

Es preciso señalar que se trata, creemos, del único intento, precedentemente iniciado por la Comisión Forlì, de evaluación de las métodos comerciales en uso para el estudio de las Proteínas de Bence Jones mediante el envío de un mismo conjunto de muestras a varios laboratorios.

Nuestro objetivo inicial fué verificar la SENSIBILIDAD y REPRODUCIBILIDAD de los métodos de SCREENING y de CONFIRMACION en uso en Liguria como paso previo de una posible y deseable uniformización de la respuesta y del informe.

Al respecto, en síntesis, hemos constatado lo siguiente:

A. TEST DE SCREENING

A.1 NEFELOMETRIA – TURBIDIMETRIA (sobre BNA-BNII Behring, APS e IMAGE Beckman, Cobas Roche)

A.1.a Con antisueros anti cadenas ligeras totales:

- Reproducibilidad muy buena para todos
- Sensibilidad muy buena para los sistemas Behring (hasta 0.7 mg/dl para kappa y 0.4 mg/dl para lambda, menos buena para los sistemas Beckman a causa del límite puesto por la misma casa productora a 0.55 mg/dl para la kappa y 1.5 mg/dl para la lambda.
- Expresión del resultado: Behring y Beckman difieren en un factor de 3.33.

Es absolutamente necesario uniformizarla.

A.1.b Con antisueros anti cadenas ligeras libres NSC:

- Buena reproducibilidad y buena sensibilidad (mejor de 0.5 mg/dl tanto para kappa como para lambda) con todos los instrumentos.

A.2 OTROS METODOS INMUNOMETRICOS (Turbidimetría manual CLT Medic y CLL Chemical Diagnostic, RID CLL Bioline)

- Sensibilidad insuficiente
- Reproducibilidad no verificada dado el escaso número de determinaciones.

A.3 SISTEMAS ELECTROFORETICOS

Describir los resultados de una manera sintética es en este caso más complejo y se aconseja consultar las tablas relativas de los tres estudios multicéntricos para tener una visión más detallada.

ES NECESARIO de cualquier manera REMARCAR que:

A.3.a Los sistemas que han empleado la coloración con Rojo Ponceau deben ser descartados por su insuficiente sensibilidad.

A.3.b En el ámbito de las propuestas denominadas Beckman PROTUR PLUS–AZUL y PARAGON SPE-AZUL parecen tener una sensibilidad mejor respecto al PROTUR HISI-VIOLETA.

A.3.c En el ámbito de los sistemas con coloración con oro coloidal los de HELENA y de GELMAN – DASIT parecen tener una mejor sensibilidad.

A.3.d En general la sensibilidad ha resultado discreta PERO AFECTADA POR UNA EXCESIVA VARIABILIDAD intra e inter laboratorio incluso a paridad de método/sistema. Esto se ha observado sobretodo para el Kit Hydragel 15-30 violeta de CIAMPOLINI, que, por otra parte, ha mostrado poder alcanzar una buena sensibilidad.

B. TEST DE CONFIRMACION

B.1 INMUNOFIJACION

También aquí, especialmente más allá de un cierto límite, se ha evidenciado una cierta variabilidad (ver tablas resumen) tanto debido a la variabilidad electroforética precedentemente ilustrada como en relación al tipo y a la calidad de los antisueros empleados.

Recomendaciones principales derivadas de la experimentación

Dando por sentado que:

- A. Parecería oportuno, para uniformizar las prestaciones de los Laboratorios Ligure, que los protocolos no fuesen muy distintos entre ellos en términos de sensibilidad.
- B. Se acuerda, eso sí, que el Laboratorio debe poder llegar a una sensibilidad de como mínimo 1 mg/dl para permitir la individualización de patologías muy graves relacionadas con excreciones incluso muy modestas de BJP.
- C. Por otra parte, para establecer el límite de sensibilidad del test de Screening, hay que tener presente la frecuente presencia en pequeñas cantidades de CLL policlonales que no se relacionan con patologías en estudio sino con el alto número de solicitudes previas a la contrastografía.
- D. En estos casos algunos de nosotros consideramos más oportuno tomar para el Screening un límite menor de sensibilidad asumiendo la responsabilidad con la adopción del tipo de informe abajo relacionado que explicita claramente esta elección.
- E. LA POSITIVIDAD A UN TEST DE SCREENING NO DEBE ENTENDERSE NUNCA AUTOMATICAMENTE COMO POSITIVIDAD DE BJP SI NO SE CONFIRMA CON LA INMUNOFIJACION.

de los resultados obtenidos se pueden deducir las siguientes recomendaciones:

1. Quien haga uso para el Screening de técnicas electroforéticas, y por lo tanto todos para la Inmunofijación, que debe ser considerada técnica de confirmación, deberá CONTROLAR, implicando incluso en ello a los Fabricantes, que los parámetros y los programas de los instrumentos, además de la calidad de los antisueros, sean suficientes para garantizar los mejores resultados posibles en términos de sensibilidad. Como ejemplo, sería útil verificar “en casa” los parámetros para HYDRASYS enviados por Pordenone que ha obtenido resultados muy buenos.
2. Son siempre aconsejables controles periódicos que podrán ser efectuados con las muestras de los Multicéntricos.
3. SE RECOMIENDA EL CONTROL PARA LA SELECCION EN LOS CONCURSOS.
4. Como ya se ha acordado, debería usarse el siguiente esquema de informe:

Esquema de informe

Nombre del Test: Estudio de las Proteínas de Bence Jones

Test de Screening:

Muestra: orina extemporanea (u otra)

Método sensibilidad mg/dl)

Resultado Negativo

Necesidad de test de confirmación

Test de confirmación:

Muestra: orina extemporanea (u otra)

Método sensibilidad mg/dl)

Tiempo de espera para el resultado definitivo:

Resultado:

5. Propuesta operativa

Una propuesta podría ser la siguiente:

- Adoptar siempre un método de Screening de alta sensibilidad pero, frente a modestas señales de positividad, comportarse como sigue:
- Proseguir el estudio con la Inmunofijación para todos los pacientes clínicamente sospechosos, con CM en el suero, o totalmente desconocidos y de los cuales no sea posible obtener información clínica.
- Por otra parte, dado el hecho de que la sensibilidad del Screening se ha mostrado superior a la del test de confirmación sería aconsejable, EN CASO DE IMPORTANTE SOSPECHA CLINICA, repetir el test de confirmación sobre la muestra oportunamente concentrada antes de dar una respuesta negativa.
- En el caso de pacientes conocidos y clínicamente no sospechosos, expresar los resultados refiriéndose a límites menores de sensibilidad, por ejemplo: 2 ó 4 mg/dl, lo cual debe ser indicado en el informe y sugerir la repetición del examen pasados un par de meses.

Elementos para evaluaciones futuras

Premisas

Si, como evaluación de la sensibilidad hemos alcanzado el objetivo prefijado, creo que queda por verificar ulteriormente la eficacia de los distintos protocolos de Screening empleados (es decir la verificación del número de falsos positivos) tanto en términos de costes materiales como organizativos.

Pero, aparte de esto, creo que es el momento de ponerse este segundo objetivo fundamental: Evaluación de los sistemas de CUANTIFICACION de las BJP en términos de FIABILIDAD y REPRODUCIBILIDAD.

La valoración cuantitativa de las BJP se debería efectuar tanto en el caso de enfermedad manifiesta y su tratamiento, como en el caso de BJP y/o CM en el suero no asociada a enfermedad con el fin de evidenciar las variaciones de nivel (se recuerda con referencia a esto el alto número de MGUS evidenciados en la población con el aumento de los niveles de la pirámide de edades).

Para establecer la periodicidad de los controles y el significado de las variaciones cuantitativas de las BJP se debería siempre tener en cuenta la hemivida brevísima de las Cadenas Ligeras Libres.

El *College of American Pathologists* como ejemplo propone (línea guía n. 6) intervallos entre 1 y 2 meses para pacientes afectados por Mieloma Múltiple, Macroglobulinemia de Waldenström o AL y cada año para MGUS con CM de bajo nivel.

El mismo CAP (línea guía n. 5) propone, en el tema de la valoración cuantitativa de las BJP, la determinación de la Proteinuria de 24 horas seguida por densitometría e inmunofijación de las muestras concentradas 100 veces.

En Italia las indicaciones efectuadas por la *Commissione Proteine SIBioC* han sido igualmente Proteinuria y densitometría, pero sobre muestra sin concentración.

En nuestros Estudios Multicéntricos la determinación de la Proteinuria con métodos comerciales de rutina ha resultado poco fiable por falta de exactitud, incluso en una misma serie, a partir de valores de alrededor de 20 mg/dl empeorando para valores inferiores (tal imprecisión no es una característica particular de las orinas con BJP sino que el Grupo de Forlì la ha evidenciado incluso en una muestra con una simple Proteinuria Glomerular) mientras que, dada la selección para el Multicéntrico de muestras con BJP prácticamente pura, no se han efectuado lecturas densitométricas.

Teniendo en cuenta estas primeras experiencias, considerando las indicaciones y teniendo bien presentes las notables dificultades para la medida de las BJP (ver también documento de conclusiones de la reunión del 14/11/97), consideramos que el camino a seguir es el de la experimentación, tal y como se ha hecho para la valoración de la sensibilidad y la precisión.

Propuestas

- a) En la práctica para el 2000-2001 proponemos un multicéntrico dedicado a la cuantificación de 5-6 muestras con BJP a valorar tal cual no diluidas y diluidas en un factor que posibilite su distribución a los participantes. Lo ideal sería que algunas de tales muestras tuviesen además de las BJP también otras proteínas y que hubiesen muestras del mismo paciente tomadas en momentos distintos respecto a la terapia. Las muestras serán suministradas a los Laboratorios participantes NO DILUIDAS (o diluidas el mínimo necesario para su estabilización y distribución) y la intención es intentar extender lo más posible la experimentación incluso a través de una eventual colaboración con la *Commissione Proteine SIBioc*.

Para estas muestras se solicitará:

- Determinación de la Proteinuria
- Lectura densitométrica con envío del trazado (cuando sea posible para el Laboratorio)
- Determinación por método inmunométrico de: albuminuria (dado que se considera la albúmina como proteína de referencia), Transferrina e IgG.
- Determinación de las Cadenas Ligeras Totales y/o Libres según los métodos inmunométricos en uso en los distintos Laboratorios.

EL ANALISIS DE LOS RESULTADOS SERA LA BASE PARA FORMULAR INDICACIONES EN MATERIA DE VALORACION CUANTITATIVA.

- b) Para el 2000-2001 nos proponemos también la individualización y envío a los participantes de una muestra de orina con CM constituida por Inmunoglobulina entera y CM constituida por Cadenas Ligeras Libres superpuestas. Para esta muestra solicitaremos la ejecución de la electroforesis e inmunofijación en uso en el Laboratorio
- c) Nos parece también oportuna la verificación, mediante un cuestionario a enviar también a los servicios de Medicina Interna y Hematología, de las solicitudes de valoración cuantitativa de las BJP que se efectúan (o que podrían efectuarse).

Otras cuestiones tratadas (síntesis)

- Propuesta de dilución de las muestras para una mejor valoración cuantitativa del CM.
- Línea Guía, aunque sea mínima, para uniformizar los Laboratorios de la Liguria.
- Cuestión de la especificidad de los antisueros anti Cadenas Ligeras Libres.
- ¿ Toxicidad de las CLL ?
- Propuesta, para las contrastografías de pacientes con CLL y/o BJP, de hidratación o de uso de fármacos oportunos.