

Short Communications

Screening op M-proteïne: vergelijking tussen eiwitspectrum en vrije lichte ketens

A.J. BAKKER, A. BIERMA-RAM, C. ELDERMAN-van der WERF, M.L. STRIJDHAFtig en J.J. van ZANDEN

Inleiding

Conform de CBO-richtlijn (1) is het onderzoek naar aan- of afwezigheid van een M-proteïne tijdrovend door een combinatie van de aard van de analyse-methode en de opeenvolging van de uitvoering van eiwitspectrum en immunofixatie, met name als de verwerking seriematig geschiedt. Met de ontwikkeling van een turbidimetrische en nefelometrische bepaling voor vrije lichte ketens komt dagelijkse verwerking via een chemieautomaat binnen bereik (2). Overmatige productie van één type vrije lichte keten treedt op bij M-proteïnemie, zeker als het daarbij gaat om een lichteketen-M-proteïne, maar vaak ook als het gaat om een M-proteïne bestaande uit intact immuunglobuline (3, 4). Vooral voor het aantonen van een vrijelichte-keten-M-proteïnemie, maar ook voor het aantonen van niet-secernerende myelomen en amyloïdose is de vrijelichte-ketenbepaling veel gevoeliger dan de combinatie van eiwitspectrum en immunofixatie (3, 5, 6). Omdat in één recente studie van Abadie et al. (7) werd gesuggereerd dat de vrije lichte keten bepaling zou kunnen worden gebruikt als screening op M-proteïnemie, is in deze studie onderzocht of de vrijelichte-ketenbepaling geschikt is als een screeningsmethode om M-proteïnemie op te sporen.

Methoden

553 opeenvolgende patiënten, waarvoor screenend onderzoek naar aan-/afwezigheid van een M-proteïne was aangevraagd, werden geïnccludeerd. Patiënten die bekend waren met een M-proteïne werden uitgesloten. In de serummonsters van deze patiënten werd, naast het eiwitspectrum gevolgd door een immunofixatie (conform de CBO richtlijn), tevens de concentratie van de vrije lichte ketens gemeten met de Modular P (Roche Diagnostics, Almere).

Eiwitelektroforese werd uitgevoerd met de SAS-3-SP-60 SB-kit (Helena, art. no.: 300200) op de SPIFE 2000 (Helena Biosciences, Goffin-Meyvis, Etten-Leur). Immunofixatie werd uitgevoerd met de SAS-3 urine analysis kit (Helena, art. no.: 300400 en 321300) voor de pentavalente immunofixatie en, indien daar aanleiding voor was, met de SAS-IFE-9 kit (Helena, art. no.: 300300 en 300301) voor de specifieke immunofixaties. De immunofixaties werden eveneens uitgevoerd met

de SPIFE 2000. De vrije lichte ketens werden via de Modular P (Roche) geanalyseerd met de Freelite kappa en lambda-kits van The Binding Site (BMD, art. no.: LK016.H en LK018.H). Alle analyses werden uitgevoerd conform de instructies van de leveranciers.

In het kader van dit onderzoek werd op basis van het eiwitspectrum bij verdenking op een M-proteïne, bij hypogammaglobulinemie (γ -gebied <6 g/l op basis van het eiwitspectrum) en bij afwijkingen in het patroon van de beide β -banden, de uitkomst als positief beschouwd en werd een specifieke immunofixatie nodig geacht. Bij een normaal dan wel een acutefasepatroon, bij hypergammaglobulinemie en bij β - γ -bridging werd de uitkomst als negatief aangemerkt en werd een immunofixatie als onnodig beschouwd. Indien de resultaten van de bepaling van de vrije lichte ketens en de κ/λ -ratio binnen het referentiegebied bleven, werd geen immunofixatie en eiwitspectrum nodig geacht. Als 'gouden standaard' werd de procedure conform de CBO-richtlijn gebruikt, waarbij een positieve pentavalente immunofixatie gevolgd werd door een immunofixatie met de specifieke antisera, enerzijds voor het bewijzen van monoklonaliteit en anderzijds voor het typeren van het immuunglobuline.

Referentiewaarden werden vastgesteld op basis van 'gezonde' patiënten, dat wil zeggen dat hiervoor de resultaten werden gebruikt van patiënten, waarvan het serum geen aanwijzingen toonde voor de aanwezigheid van een M-proteïne (geen bandjes met de pentavalente screening). Sera van patiënten met een gestoorde nierfunctie (eGFR < 60 ml/min), een polyklonale hypergammaglobulinemie of een acutefasepatroon werden uitgesloten, omdat in deze gevallen een toename van lichte ketens door een toename van de productie dan wel een afname van de secretie niet kan worden uitgesloten. Voor de referentiewaarden werden op basis van deze normale patiënten de 95%-grenzen vastgesteld.

Resultaten

Referentiewaarden voor de concentratie van vrije lichte kappa- en lambdaketens en de κ/λ -ratio werden vastgesteld op basis van de 'gezonde' patiënten via de 95%-grenzen ($n=254$): vrije kappa: 8,2-30,5 mg/l, vrije lambda: 8,1-27,6 mg/l en kappa/lambda ratio: 0,73-1,68. De resultaten van de beide procedures voor screening op M-proteïne staan in tabel 1 vermeld, waarbij ook onderscheid gemaakt is bij de vrije lichte ketens tussen alleen de concentratie en de combinatie van de concentratie en de ratio.

St. Klinisch Chemisch Laboratorium, Leeuwarden

E-mail: a.j.bakker@kcl.znb.nl

Voor de evaluatie van de aanwezigheid van een M-proteïne gaf het eiwitspectrum een negatief- respectievelijk positief-voorspellende waarde (NPV/PPV) van 98,6% en 49,1%. Met de bepaling van alleen de vrijelichteketenconcentraties werd een NPV van 94,1% en PPV van 23,7% gevonden. Inclusie hierbij van de kappa-lambda-ratio gaf een NPV van 94,6% en PPV van 22,6% te zien. Met het eiwitspectrum werden slechts 2 monsters met een significant M-proteïne gemist, terwijl dit met de vrije lichte ketens 13 (concentratie) respectievelijk 10 (concentratie + ratio) waren. Combinatie van het eiwitspectrum en de vrijelichteketenanalyse gaf een NPV van 99,1% en een PPV van 25,3%. Het aantal fout-positieve resultaten, dat mogelijk gerelateerd is aan een slechte nierfunctie (eGFR <60 ml/min), is bij de vrijelichteketenconcentratie 51 (32%), bij de combinatie van concentratie en ratio 56 (31%) en bij de combinatie van eiwitspectrum en vrije lichte ketens 60 (26%), terwijl dit bij het eiwitspectrum slechts 15 (15%) is.

Conclusies

In verband met de grote gevoeligheid en de mogelijkheid tot verwerking via een chemieautomaat, zou bij de screening op M-proteïnemie de bepaling van vrije lichte ketens een alternatief kunnen zijn voor de tijdrovende en arbeidsintensieve combinatie van eiwitspectrum en immunofixatie. Voor een adequate beoordeling is het noodzakelijk gebleken om voor het gebruikte platform zelf referentiewaarden vast te stellen (8, 9). Dit is in ons lab niet gedaan op basis van gezonde proefpersonen, maar bij patiënten waarvoor wel een eiwitspectrum was gevraagd, maar waarbij geen

M-proteïne werd vastgesteld. Omdat een gestoorde nierfunctie en een stimulatie van het immuunsysteem tot een toename van de concentratie van vrije lichte ketens kan leiden, werden patiënten met aanwijzingen voor een gestoorde nierfunctie (eGFR < 60 ml/min) dan wel een stimulatie van het immuunsysteem op basis van een polyklonale hypergammaglobulinemie of een acutefasepatroon uitgesloten voor de vaststelling van de referentiewaarden. De door ons gevonden referentiewaarden zijn weliswaar wat hoger dan die van de leverancier, maar zijn niet wezenlijk verschillend van eerder gepubliceerde waarden voor gezonden (9). Ten aanzien van de screening op M-proteïnemie moet helaas worden geconcludeerd dat de vrijelichteketenbepaling geen alternatief vormt voor het eiwitspectrum. Het aantal patiënten met een duidelijk M-proteïne dat gemist wordt met de vrijelichteketenbepaling (n=10) is ten opzichte van alleen het eiwitspectrum (n=2) veel groter. Bij het eiwitspectrum werden alleen een IgA, verscholen onder een β -band, en een lichteketen-M-proteïne, ten gevolge van de lage concentratie, gemist. Bij de vrijelichteketenbepaling werden 10 IgA-, IgG- of IgM-M-proteïnes gemist; de meeste met een concentratie <5 g/l, maar ook een concentratie van 11 g/l werd gemist. In onze handen is de effectiviteit van de screening via het eiwitspectrum dan ook duidelijk beter dan de procedure met de vrijelichteketenbepaling. Dit resultaat is duidelijk in tegenspraak met de bevindingen van Abadie et al. (7).

Samenvattend kan bij een eerste screening gericht op uitsluiten van M-proteïnemie niet worden volstaan met uitsluitend het doen van de bepaling van de vrije lichte ketens inclusief de berekening van de ratio.

Tabel 1. De resultaten van de beide procedures voor screening op M-proteïne

Procedure	Aantal (percentage)	Aantal (percentage)
Eiwitspectrum	Neg: 442 (80%)	Pos: 111 (20%)
Eindconclusie	Neg: 436 (79%) Pos: 6 (1,1%) Vaag: 4 Duidelijk: 2	Neg: 56 (10%) Pos: 55 (9,9%) Vaag: 19 Duidelijk: 36
Vrije lichte ketens (concentratie)	Neg.: 394 (71%)	Pos.: 159 (29%)
Eindconclusie	Neg: 371 (67%) Pos: 23 (4,2%) Vaag: 10 Duidelijk: 13	Neg: 121 (22%) Pos: 38 (6,9%) Vaag: 13 Duidelijk: 25
Vrije lichte ketens (concentratie+ratio)	Neg: 371 (67%)	Pos: 182 (33%)
Eindconclusie	Neg: 351 (63%) Pos: 20 (3,6%) Vaag: 10 Duidelijk: 10	Neg: 141 (25%) Pos: 41 (7,4%) Vaag: 13 Duidelijk: 28
Eiwitspectrum + vrije lichte ketens (concentratie + ratio)	Neg.: 324 (59%)	Pos.: 229 (41%)
Eindconclusie	Neg: 321 (59%) Pos: 3 (0,5%) Vaag: 3 Duidelijk: 0	Neg: 171 (31%) Pos: 58 (10,5%) Vaag: 20 Duidelijk: 38

Referenties

1. Kwaliteitsinstituut voor de gezondheidszorg CBO. Monoklonale gammopathie (paraproteïnemie). Utrecht: CBO; 2001.
2. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, et al. Highly sensitive automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001; 47: 673-680.
3. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma/ *Lancet* 2003; 361: 489-491.
4. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA, Bradwell AR. Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Br J Haematol* 2004; 126: 348-354.
5. Drayson MT, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith HD, Bradwell AR. Serum free light chain measurement for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001; 97: 2900-2902.
6. Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ, Bradwell AR, Kyle RA, Gertz MA. Quantitative analysis of serum free light chains: a new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 274-278.
7. Abadie JM, Bankson DD. Assessment of serum free light chain assay for plasma cell disorder screening in a veterans affairs population. *Ann Clin Lab Sci* 2006; 36: 157-162.
8. Beetham R, Wassell J, Wallage MJ, Whiteway AJ, James JA. Can serum free light chains replace urine electrophoresis in the detection of monoclonal gammopathies? *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 516-522.
9. Pattenden RJ, Rogers SY, Wenham PR. Serum free light chains; the need to establish local reference intervals. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 512-515.