



M-komponent analyser ved myelomatose

Version 1.0

GODKENDT

Faglig godkendelse

20. december 2018 (DMSG)

Administrativ godkendelse

4. december 2019 (Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet)

REVISION

Planlagt: 31. december 2022

INDEKSERING

M-komponent, frie lette kæder, diagnostik, plasmacelle neoplasi, udredning, myelomatose

Indholdsfortegnelse

Om denne kliniske retningslinje.....	2
1. Anbefalinger (Quick guide).....	3
Undersøgelser ved mistanke om M-komponentsygdom/myelomatose ("screeningsprøver", "første-gangsprøver").....	3
Undersøgelser ved bestyrket mistanke om myelomatose eller patienter med kendt sygdom ("monitorering", "behandlingsprøver").....	3
Typning af M-komponent og diagnostik.....	3
Kvantificering af M-komponent og vurdering af respons.....	3
Frie lette kæder i serum.....	4
Urin M-komponent.....	4
Interferens fra behandling med monoklonale antistoffer ved måling af M-komponent i serum.....	4
2. Introduktion.....	5
3. Grundlag.....	6
Undersøgelser ved mistanke om M-komponentsygdom/myelomatose ("screeningsprøver", "første-gangsprøver").....	6
Undersøgelser ved bestyrket mistanke om myelomatose eller patienter med kendt sygdom ("monitorering", "behandlingsprøver").....	8
Typning af M-komponent og diagnostik.....	10
Kvantificering af M-komponent og vurdering af respons.....	11
Svarafgivelse.....	14
Frie lette kæder i serum.....	15
Urin M-komponent.....	18
Interferens fra behandling med monoklonale antistoffer ved måling af M-komponent i serum.....	19
4. Referencer.....	22
5. Metode.....	25
7. Bilag.....	27

Om denne kliniske retningslinje

Denne kliniske retningslinje er udarbejdet i et samarbejde mellem Danske Multidisciplinære Cancer Grupper (DMCG.dk) og Regionernes Kliniske Kvalitetsudviklingsprogram (RKKP). Indsatsen med retningslinjer er forstærket i forbindelse med Kræftplan IV og har til formål at understøtte en evidensbaseret kræftindsats af høj og ensartet kvalitet i Danmark. Det faglige indhold er udformet og godkendt af den for sygdommen relevante DMCG. Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet har foretaget en administrativ godkendelse af indholdet. Yderligere information om kliniske retningslinjer på kræftområdet kan findes på:

www.dmcg.dk/kliniske-retningslinjer

Retningslinjen er målrettet klinisk arbejdende sundhedsprofessionelle i det danske sundhedsvæsen og indeholder systematisk udarbejdede udsagn, der kan bruges som beslutningsstøtte af fagpersoner og patienter, når de skal træffe beslutning om passende og korrekt sundhedsfaglig ydelse i specifikke kliniske situationer.

De kliniske retningslinjer på kræftområdet har karakter af faglig rådgivning. Retningslinjerne er ikke juridisk bindende, og det vil altid være det faglige skøn i den konkrete kliniske situation, der er afgørende for beslutningen om passende og korrekt sundhedsfaglig ydelse. Der er ingen garanti for et succesfuldt behandlingsresultat, selvom sundhedspersoner følger anbefalingerne. I visse tilfælde kan en behandlingsmetode med lavere evidensstyrke være at foretrække, fordi den passer bedre til patientens situation.

Retningslinjen indeholder, udover de centrale anbefalinger (kapitel 1), en beskrivelse af grundlaget for anbefalingerne – herunder den tilgrundliggende evidens (kapitel 3+4). Anbefalinger mærket A er stærkest, anbefalinger mærket D er svagest. Yderligere information om styrke- og evidensvurderingen, der er udarbejdet efter "Oxford Centre for Evidence-Based Medicine Levels of Evidence and Grades of Recommendations", findes her: http://www.dmcg.dk/siteassets/kliniske-retningslinjer--skabeloner-og-vejledninger/oxford-levels-of-evidence-2009_dansk.pdf

Generelle oplysninger om bl.a. patientpopulationen (kapitel 2) og retningslinjens tilblivelse (kapitel 5) er også beskrevet i retningslinjen. Se indholdsfortegnelsen for sidehenvvisning til de ønskede kapitler.

For information om Sundhedsstyrelsens kræftpakker – beskrivelse af hele standardpatientforløbet med angivelse af krav til tidspunkter og indhold – se for det relevante sygdomsområde: <https://www.sst.dk>

Denne retningslinje er udarbejdet med økonomisk støtte fra Sundhedsstyrelsen (Kræftplan IV) og RKKP.

1. Anbefalinger (Quick guide)

Undersøgelser ved mistanke om M-komponentsygdom/myelomatose ("screeningsprøver", "førstegangsprøver")

1. Primær udredning på mistanke om myelomatose, bør udløse undersøgelse for M-komponent og frie lette kæder i serum (C)
2. Ved klinisk mistanke om AL amyloidose eller anden monoklonal sygdom med lav sekretion, bør der suppleres med immunfiksation af serum og urin, hvis serum-elektroforese og serum frie lette kæder er normale (A)

Undersøgelser ved bestyrket mistanke om myelomatose eller patienter med kendt sygdom ("monitorering", "behandlingsprøver")

3. Patienten monitoreres med den analyse, der bedst afspejler sygdomsaktiviteten (D)
4. Ved komplet remission (CR) skal der udføres immunfiksation (A)

Typning af M-komponent og diagnostik

5. Typning af M-komponent foregår ved immunsubtraktion og/eller immunfiksation (A)

Kvantificering af M-komponent og vurdering af respons

6. M-komponentens koncentration bestemmes ved kapillærelektroforese (A)
7. β -mercaptoethanol/dithiothreitol-behandling af prøven skal foretages ved misforhold mellem manglende påvist M-komponent og stærk klinisk mistanke eller forhøjet total IgM (A)
8. Signifikant stigning regnes som ændring i M-komponenten på $> 25\%$ og $> 5\text{ g/L}$ (A)

Frie lette kæder i serum

9. Serum frie lette kæder analysen kan anvendes til monitorering af patienter med letkæde sygdom, til diagnostik af lavsekretorisk myelomatose og diagnostik af AL-amyloidose (D)
10. Reference intervallet er afhængig af metode og den anvendte analyse-plattform og varierer fra laboratorium til laboratorium (A)

Urin M-komponent

11. Der anvendes morgenurin eller anden koncentreret spoturin til analysering af urin M-komponent. Der bør udføres elektroforese og ved positivt fund immunfiksation/immunsubtraktion (A)
12. Hos patienter, der bedst følges med urin M-komponent, er døgnurinundersøgelse indiceret til påvisning af CR (A)
13. Hos patienter, der monitoreres med urin M-komponent er døgnurinanalyse indiceret for kvantificering (A)

Interferens fra behandling med monoklonale antistoffer ved måling af M-komponent i serum

14. Monoklonale antistoffer anvendt i terapeutisk øjemed kan medføre detektion af nyopstået M-komponent. Dette er kendt fra behandling med bl.a Daratumumab og Elotuzumab, der begge er monoklonale antistoffer af typen IgG kappa. Interferens ved ko-migration af Daratumumab og den maligne M-komponent kan håndteres med assayet Hydrashift 2/4 (A)

2. Introduktion

I 2012 udgav Danske Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) og Danske Myelomatose Studie Gruppe (DMSG) den første danske retningslinje for M-komponent analyser. Retningslinjen var et vigtigt skridt på vejen mod den harmonisering af analyserne som skal sikre optimal diagnostik, ensartet monitorering og ensartede kliniske protokoller.

Siden 2012 er der, drevet af kliniske studier og nye behandlingsmuligheder, sket en udvikling af både diagnostiske kriterier og krav til monitorering af patienter med M-komponent sygdomme, fx. Monitorering af minimal residual disease (MRD). Der sker i disse år en udvikling af nye analyser, men specielt udviklingen inden for anvendelse af frie lette kæder gjorde det nødvendigt at nedsætte en arbejdsgruppe, der nu har revideret nærværende retningslinje.

M-komponent analysering foretages i dag på regionalt eller højt-specialiseret niveau på Rigshospitalet, i Herlev, Roskilde, Næstved, Odense, Vejle, Esbjerg, Århus og Aalborg, mens Holstebro udfører analyser i et formaliseret samarbejde (1).

Formål

Det overordnede formål med retningslinjen er at understøtte en evidensbaseret kræftindsats af høj og ensartet kvalitet på tværs af Danmark.

Patientgruppe

Patienter, der er mistænkt for at have, eller allerede er diagnosticeret med en monoklonal gammopati, typisk myelomatose, men også mere sjældne sygdomme som amyloidose, POEMS, plasmacytom mfl.

Målgruppe for brug af retningslinjen

Denne retningslinje skal primært understøtte det kliniske arbejde og udviklingen af den kliniske kvalitet, hvorfor den primære målgruppe er klinisk arbejdende sundhedsprofessionelle i det danske sundhedsvæsen.

3. Grundlag

Undersøgelser ved mistanke om M-komponentsygdom/myelomatose ("screeningsprøver", "førstegangsprøver")

1. **Primær udredning på mistanke om myelomatose, bør udløse undersøgelse for M-komponent og frie lette kæder i serum (C)**
2. **Ved klinisk mistanke om AL amyloidose eller anden monoklonal sygdom med lav sekretion, skal der suppleres med immunfiksation af serum og urin, hvis serum-elektroforese og serum frie lette kæder er normale (A)**

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012.

Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Anbefaling 1; der arbejdes aktuelt på at vurdere omfanget af denne anbefaling. Herunder undersøges eventuel merudgift, ekstra ressourcer i forhold til udredning, ambulatoriebelastning og patienthensyn.

Se nedenstående tekst, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

1.1.

M-komponent undersøgelse bør udføres på patienter, hvor der er klinisk mistanke om myelomatose dvs.

- ved uforklaret anæmi, nyresvigt, hyperkalkæmi, hypersedimentatio
 - ved påviste knoglemetastaser, patologisk fraktur eller knoglesmerter
 - ved påvist hypogammaglobulinæmi
 - ved isoleret øgning af en immunoglobulinklasse i serum
- som ikke forklares af andre tilstande eller sygdomme (2)

Undersøgelse for M-komponent udføres desuden i dag i en række kliniske situationer med henblik på at udelukke monoklonal gammopati:

- udredning for osteoporose
- udredning af polyneuropati
- udredning af amyloidose
- udredning af malignt lymfom
- udredning mhp sjældne monoklonale gammopatii fx isoleret plasmacytom, POEMS syndrom, kuldeagglutinin syndrom mv.
- udredning af patienter via Sundhedsstyrelsens diagnostiske pakkeforløb for patienter med symptomer på alvorlig sygdom, der kunne være kræft.

1.2.

Der indsendes en serum-prøve og der rekvireres P-M-Komponent (NPU17675) samt frie kappa kæder, frie lambda kæder og den beregnede kappa/lambda ratio (NPU19606, NPU19607 og NPU19608). Der bør samtidig (fx ved reflex-testning på laboratoriet) rekvireres immunologisk bestemt total IgG, IgA og IgM (NPU19814, NPU19795 og NPU19825). Måling af immunglobuliner kan ikke erstatte M-komponent undersøgelse, men de er hensigtsmæssige i forhold til både den laboratoriemæssige og den kliniske tolkning af serum M-komponent.

1.3.

M-komponent undersøgelse i serum bør suppleres med analysering af frie lette kæder i serum idet letkæde-sygdom sjældent kan ses på serum-elektroforese.

Analysering af frie lette kæder i serum erstatter screeningsmæssigt analysering af U-M-Komponent i den forrige retningslinje. Der er i dag tilstrækkelig evidens for anvendelsen af frie lette kæder til screening for letkæde-sygdom, og det store compliance problem ved U-M-Komponent undgås (se appendix 4). Letkæde sygdom, sandsynliggjort ved analysering af frie lette kæder, bør som led i udredningen af disse patienter suppleres med urin-undersøgelse (NPU17676).

1.4

M-Komponent-analysen i serum udføres ved hjælp af protein-elektroforese, enten i traditionel agarose-gel (hvor proteinerne farves med fx amidoblack eller acid violet) eller med kapillærelektroforese (hvor der skannes ved ca. 214 nm). En eventuel M-komponent vil fremstå som et skarpt afgrænset ekstra bånd/top i gamma- eller beta-zonen eller i sjældne tilfælde i alfa-zonen.

1.5

Serum frie lette kæder er en turbidimetrisk eller nefelometrisk bestemmelse af koncentrationen af frie (dvs. ikke bundet til tung Ig-kæde) lette kappa-og lambdakæder og kan bestemmes med særlige antistoffer. Antistofferne binder til et antigen på den lette kæde, der er maskeret når den lette kæde er bundet til en tung kæde.

1.6.

Ved mistanke om M-komponent på baggrund af en serum-elektroforese vil prøven blive yderligere undersøgt med immuntypning. Se nedenfor "typning af M-komponent". Ved ukarakteristisk serumelektroforese (fx ujævn gammazone eller små toppe (<1 g/L)) hvor M-komponent er usandsynlig,

men ikke sikkert kan udelukkes, bør laboratoriet rekvirere frie lette kæder i serum. Derudover kan det enkelte laboratorium vælge at anvende resultaterne af de øvrige analysesvar, der findes på patienten, til at understøtte afgørelsen om evt. immuntypning (Fx skæve værdier af frie lette kæder eller forhøjede værdier af totale immunglobuliner, calcium, sedimentationsreaktion eller kreatinin). Hvis der ikke udføres immuntypning kan laboratoriet også vælge at svare: "Svag M-komponent kan ikke sikkert udelukkes. Ny prøve udbedes om 3-6 måneder hvis klinisk relevant" jvf. punkt 5.1.

1.7

Mistanke om M-komponent skal også opstå ved serum-elektroforese hvor gamma-fraktion er supprimeret og/eller betazonen er forhøjet (fx at betazonen er mere end 2,5 X gammazonen, eller at beta-2 er større end beta-1). Mistanken kan understøttes ved hjælp af frie lette kæder og total immunglobulinundersøgelsen (fx selektiv forhøjelse af én af Immunglobulin-klasserne).

1.8

M-komponent undersøgelse i serum i kombination med analysering af frie lette kæder vil påvise almindelige M-komponenter af en vis størrelse.

Mindre M-komponenter (< ca. 1 g/l) kan i visse tilfælde overses. Disse kan være klinisk betydningsfulde, og fornyet prøve bør indsendes ved persisterende uforklarede symptomer.

1.9

Ved klinisk mistanke om AL amyloidose eller anden monoklonal sygdom med lav sekretion, bør der suppleres med immunfiksation af serum og urin, hvis serum-elektroforese og serum frie lette kæder er normale (3,4). Ved urinundersøgelse bør der indsendes morgenurin eller anden koncentreret urin og rekvireres NPU17676. Immunfiksation rekvireres selvstændigt (NPU28875 for serum og NPU28906 for urin).

1.10

På urinprøver (rekvireret ved screening som alternativ eller supplement til frie lette kæder i serum) udføres elektroforese i agarose gel, som farves, eller der udføres kapillærelektroforese. Som tommelfingerregel skal metoden have en sådan følsomhed, at der kan ses et albuminbånd i prøven. Ved fund af andre bånd end albumin udføres immuntypning, som rapporteres. Der udføres normalt ikke kvantificering af urin M-komponenten ved screeningsundersøgelse. Et positivt fund kan følges op med døgn-urin til koncentrationsbestemmelse af M-komponenten med henblik på at have et udgangspunkt for følgende monitorering af patienten, se afsnit 2.

Undersøgelser ved bestyrket mistanke om myelomatose eller patienter med kendt sygdom ("monitorering", "behandlingsprøver")

3. Patienten monitoreres med den analyse, der bedst afspejler sygdomsaktiviteten (D)

4. Ved komplet remission (CR) skal der udføres immunfiksation (A)

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående tekst, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

2.1.

Laboratoriet skal have et system, der muliggør historisk tilbageblik på tidligere prøver fra samme patient. På alle prøver laves samlet vurdering i forhold til tidligere prøver på samme patient.

2.2.

Patienten monitoreres med den analyse, der bedst afspejler sygdomsaktiviteten; serumelektroforese, frie lette kæder eller evt. døgn-urin elektroforese. Fx kan patienter uden kvantificerbar serum-M-komponent af let kæde type ofte følges med frie lette kæder. De stigende krav til diagnostik og monitorering (fx af minimal residual disease) har drevet udviklingen af nye analyser på dette område. De nye analyser anvender forskellige analysemetoder fx flowcytometri, qPCR, NGS og LCMS. Ingen af analyserne er imidlertid endnu etablerede i klinisk praksis og omtales derfor ikke yderligere her. Dog beskrives Hevylite-assayet i appendix 7.

2.3.

Hos patienter med tidligere påvist M-komponent i serum udføres serum-protein-elektroforese med kvantificering af M-komponenten (totale immunglobuliner måles også jvf. punkt 1.2.).

2.4.

Ved spørgsmål om komplet remission skal der udføres immunfiksation (dog kun hvis M-komponenten ikke længere er synlig ved vanlig elektroforese eller immunsutraktion). Immunfiksation af serum og urin skal kunne rekvireres særskilt (NPU28875 og NPU28906) se punkt 4.9 og 5.5.

2.5.

Når en M-komponent er blevet typebestemt tidligere, behøver den ikke types ved efterfølgende undersøgelser af patienten med mindre:

- toppen har ændret beliggenhed,
- ikke længere kan ses
- eller der er fremkomst af ny top (se også afsnit 8 vedrørende behandling med monoklonale antistoffer).

2.6.

Patienter med let-kæde sygdom monitoreres med frie lette kæder eller døgn-urin elektroforese. Totale immunglobuliner måles også. Lavsekretorisk myelomatose følges almindeligvis med frie lette kæder. I protokollerede undersøgelser monitoreres ofte med døgn-urin.

Typning af M-komponent og diagnostik

5. Typning af M-komponent skal foregå ved immunsubtraktion og/eller immunfiksation (A)

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående tekst, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

3.1.

Typning af M-komponent foregår ved immunsubtraktion og/eller immunfiksation. Der undersøges for bånd af typerne IgG, IgM, IgA, Kappa og Lambda (GAMKL).

3.2.

Ved fund af isoleret Kappa eller Lambda monoklonalt bånd suppleres med immunfiksation for IgD og IgE og evt. immunfiksation for frie lette kæder.

3.3.

På kvantificerbare M-komponenter er der fuld overensstemmelse i typning mellem laboratorier i Danmark (5).

3.4.

Både immunsubtraktion og immunfiksation kan anvendes til almindelige typninger. I visse situationer er det nødvendigt at udføre konfirmatorisk immunfiksation:

- Når en kendt top ikke længere kan ses ved elektroforese eller immunsubtraktion
- ved ønske om påvisning af komplet response (CR)
- hvis der er tvivl om resultatet af immunsabtraktion

- påvisning af IgD og E kræver immunfiksation
- påvisning af frie lette kæder i serum vil kræve immunfiksation.

3.5.

Biklonal M-komponent defineres operationelt som påvisning af to monoklonale komponenter. To eller flere bånd af samme type ses ofte pga. fx polymerisering og er sjældent udtryk for biklonalitet. Hvorvidt flere toppe skyldes biklonalitet eller polymerisering afgøres med β -mercaptoethanol- eller dithiotreitolbehandling i forbindelse med typning, se punkt 4.5 og appendix 1.

3.6.

Oligoklonale bånd defineres operationelt ved, at der med immunfiksation (eller immunsubtraktion) ses MERE end to M-komponenter (oftest både Kappa og Lambda type), OG ingen af dem har kvantificerbar størrelse (<1 g/l).

3.7.

"M-komponent på oligoklonal baggrund" defineres operationelt som én kvantificérbar Mkomponent, hvor der samtidig kan påvises to eller flere ikke kvantificérbare M-komponenter. Man skal være opmærksom på at frie lette kæder vanskeligt ses i elektroforese.

Kvantificering af M-komponent og vurdering af respons

- 6. M-komponentens koncentration skal bestemmes ved kapillærelektroforese (A)**
- 7. β -mercaptoethanol/dithiothreitol-behandling af prøven skal foretages ved misforhold mellem manglende påvist M-komponent og stærk klinisk mistanke eller forhøjet total IgM (A)**
- 8. Signifikant stigning regnes som ændring i M-komponenten på > 25 % og > 5 g/L (A)**

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

4.1.

M-komponentens koncentration i g/L bestemmes ved scanning af gel eller densitometri af kapillærelektroforese (intensitet i det ekstra bånd relativt til summen af intensitet i alle bånd og multipliceret med serum totalprotein). Interlaboratoriel variation på totalprotein vurderes at være 3-4 % CV (relativ standardafvigelse) (5)

4.2.

Det er af stor betydning at fratække polyklonalt Immunglobulin og andre proteiner beliggende i samme område som M-komponenten. Dette gøres i gamma-fraktionen ved at hæve bundlinjen (daldal), såkaldt "tangent skimming" (6).

4.3.

For M-komponenter beliggende i alfa- eller betafractionen er det særlig vanskeligt at udmåle M-komponenten korrekt. Den totale fraktion ("perpendicular drop") overvurderer M-komponentens størrelse (især for små M-komponenter) (6) mens den hævede bundlinie ("tangent skimming") ofte undervurderer små M-komponenters størrelse på grund af interfererende toppe fra normale proteiner i betafractionen.

Bedste resultat fås sandsynligvis ved hver gang at foretage immunsubtraktion på kapillærelektroforese og visuelt vurdere M-komponentens størrelse i forhold til de øvrige betaproteiner sammenholdt med hele betafractionens størrelse. Konklusivt er det afgørende at anvende samme metode ved opfølgende prøver på samme patient. Det er relevant samtidigt at følge patienten med total immunglobulin måling.

4.4.

I meget sjældne tilfælde kan M-komponenter af IgM-type ikke påvises og dermed ikke kvantificeres i kromatogrammet pga. cryoglobulin eller udfældning i forbindelse med elektroforese (7-9). Dette kan ofte elimineres ved behandling af prøven med β -merkapt ethanol/dithiothreitol eller ved at holde prøven varm (min. 37 grader) fra prøvetagning til endt analysering. I sidst nævnte tilfælde tilføjes svaret denne notetekst: "Tages som kryoglobulin"(10). β -merkapt ethanol/dithiothreitol-behandling skal foretages ved misforhold mellem manglende påvist M-komponent og stærk klinisk mistanke eller forhøjet total IgM.

4.5.

Af og til ses flere toppe af samme M-komponent. Første gang fænomenet observeres hos en patient behandles prøven med β -merkapt ethanol/dithiothreitol (reduceres) med henblik på at afgøre om der tale om biklonalitet eller polymerisering af samme M-komponent. Behandling med β -merkapt ethanol/dithiothreitol vil ofte samle toppene til én (polymerisering). Det afgøres, om prøver fra pågældende patient fremover skal reduceres hver gang i forbindelse med kvantificering.

4.6.

For biklonale M-komponenter udmåles størrelsen af de to komponenter hver for sig. Hvis dette ikke

er muligt, angives en samlet koncentration.

4.7.

Det er vigtigt at patienten monitoreres med samme metode fra gang til gang. Der anvendes den metode, hvor der enten kan påvises kvantificérbar M-komponent eller abnorm let-kæde-ratio. I elektroforesen er det vigtigt at anvende samme kvantificerings-metode fra gang til gang.

4.8.

Det er klinisk vigtigt med præcis kvantificering af M-komponenter omkring 30 g/L (indgår som diagnostisk kriterium). Den interlaboratorielle variation er < 10 % i dette niveau (5).

4.9.

Det er klinisk vigtigt at kunne påvise komplet respons (CR), hvilket definatorisk er fravær af M-komponent ved immunfiksation. Immunfiksation af serum og urin (NPU28875, NPU28906) skal kunne rekvireres særskilt af hæmatologiske afdelinger, og det skal af analyse-svaret fremgå, at der er foretaget immunfiksation, se punkt 5.5 og svareksempler i appendix 2.

4.10.

Signifikant stigning regnes som ændring i M-komponenten på >25 % og > 5 g/l. Det er klinisk vigtigt at kunne påvise relative ændringer på 25 %, 50 % og 90 %.

4.11.

Påvisning og kvantificering af serum M-komponent indgår kombineret med andre parakliniske undersøgelser i vurdering af behandlingsrespons ved myelomatose. Der skelnes mellem Stringent Complete Response (sCR), Complete Response (CR), Very Good Partial Response (VGPR), Partial Response (PR), Stable Disease (SD) og Progressive Disease (PD) (11,12).

4.12. Koncentrationen af serum M-komponenten anvendes desuden ved follow-up af patienter med MGUS, asymptomatisk myelomatose og isoleret plasmacytom. Måling af M-komponenten er også et vigtigt element ved follow-up og vurdering af behandlingseffekt ved Mb.Waldenström, og monitorering af patienter med "småklon" sygdomme, der præges af M-komponentens skadelige effekt (13).

4.13.

For M-komponenter beliggende i gamma fraktionen vurderes den interlaboratorielle præcision at være < 10 % for M komponenter (> 10 g/L) og < 20 % for M komponenter 2-10 g/l. (3) For M-komponenter i betafraktionen vurderes præcisionen at være dårligere for små M-komponenter på 2-10 g/L. (5). Den intralaboratorielle variation vil ofte være mindre.

Kvantificeringsgrænsen forstås som det niveau hvor M-komponenten kan bestemmes kvantitativt med acceptabel (intralaboratoriel) præcision (CV 20 %). Denne grænse afhænger blandt andet af M-komponentens beliggenhed i kromatogrammet. Kvantificeringsgrænsen fastsættes af det enkelte laboratorium, men bør aldrig være højere end 1 g/L. Resultater under kvantificeringsgrænsen

svares som "<X g/L", hvis de kan afskæres i kromatogrammet. Kan M-komponenten udelukkende påvises ved immunfiksation, afgives der ikke et kvantitativt svar, se punkt 5.3. Ved anvendelse af de principper for fastlæggelse af antallet af betydende cifre, som Videnskabelige Udvalg for Kvalitet under DSKB har rekommanderet, vil de fleste laboratorier kunne aflevere svar med 2 betydende cifre (14).

Svarafgivelse

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant.

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser
Se eksempler i appendix 2.

5.1.

NPU17675 anvendes til at angive at M-komponent er til stede. Der er følgende svarmuligheder:

PÅVIST

IKKE PÅVIST

TVIVL (+ notetekst: "Svag M-komponent kan ikke sikkert udelukkes. Ny prøve udbedes om 3-6 måneder hvis klinisk relevant".)

OLIGO (+ notetekst: "Oligoklonalt mønster, ingen sikker M-komponent")

5.2.

Såfremt M-komponent er PÅVIST anvendes den relevante Immunglobulin-typespecifikke NPU-kode, fx NPU28638, og koncentrationen angives i g/L. Se svareksempler i appendix 2. Laboratoriet kan vælge at udløse listen NPU19846 ved påvist M-komponent. Der svares ikke på dette nummer, men herfra udløses det Immunglobulin-type-specifikke NPU-kode.

5.3.

Ved M-komponenter der ved afskæring i kromatogrammet er under kvantificeringsgrænsen svares NPU17675 "PÅVIST" og den immunglobulin-typespecifikke NPU-kode "<X g/L".

Såfremt en M-komponent kun kan ses ved immunfiksation, og altså ikke kan detekteres ved kapilærelektroforese svares NPU17675 "PÅVIST" og den Immunglobulin-type specifikke NPU-kode

svares "Kan ikke kvantificeres. Kun detekterbar ved immunfiksation".

5.4.

Ved biklonalitet angives de to M-komponenters koncentration hver for sig med hver sin immunglobulin-typespecifikke NPU-kode. Ved flere bånd af samme type skrives den samlede størrelse. Såfremt det sikkert drejer sig om to forskellige kloner af samme type, kan dette oplyses i notetekst: "Sandsynligvis to kloner af samme type" (se også punkt 4.5. vedrørende reduktion af prøver med β -mercaptoethanol).

5.5.

NPU28875 og NPU28906 anvendes til at informere klinikerne om at der er foretaget immunfiksation (men anvendes ikke, hvis der kun er foretaget immunsubtraktion). Der svares "UDFØRT" uanset om analysen er foretaget på baggrund af klinisk- eller laboratorie-rekvisition.

5.6.

Såfremt M-komponenten er helt eller delvist beliggende i betafraktionen skrives i note: "Beliggende i beta-protein-fraktionen" (Se svareksempel i appendix 2).

5.7.

Såfremt der ud over en målbar M-komponent findes oligoklonale bånd skrives note: "M-komponent på oligoklonal baggrund".

5.8.

Frie lette kæder besvares med NPU19606, NPU19607 og NPU19608.

5.9.

Urin analyser svares som beskrevet i punkt 7.2 – 7.4

Frie lette kæder i serum

9. **Serum frie lette kæder analysen kan anvendes til monitorering af patienter med letkæde sygdom, til diagnostik af lavsekretorisk myelomatose og diagnostik af AL-amyloidose (D)**
10. **Reference intervallet er afhængig af metode og den anvendte analyse-platform og varierer fra laboratorium til laboratorium (A)**

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

6.1.

Der er kits fra flere leverandører på markedet. Klinisk erfaring baserer sig p.t. hovedsageligt på resultater med kits fra "The Binding Site" (Freelite®), men et kit fra Siemens anvendes i stigende grad og yderligere kits er på vej. Kits fra The Binding Site er baseret på polyklonale antistoffer. Kits fra Siemens er baseret på en blanding af få monoklonale antistoffer.

6.2.

De kliniske kriterier, hvori frie lette kæder indgår, er baseret på Freelite®. Ud fra disse kriterier er det vigtigt at kunne påvise ændringer på 25 % hhv. 50 % samt have en god nøjagtighed i området omkring 100 mg/L. For Kappa/Lambda-ratio er det vigtigt at kunne skelne mellem værdier inden for og uden for referenceintervallet, samt at have en god nøjagtighed i området omkring 100 hhv. 0,01 (15,12,16).

Krav til intermediær præcision (CV) beregnet ud fra de kliniske kriterier er 7,0 % for Kappa, 8,0 % for Lambda og heraf 10,6 % for Kappa/Lambda-ratio. I forbindelse med en rundsending i 2016 har danske laboratorier oplyst en intermediær præcision på mellem 2 og 8 %, og hovedparten af laboratorierne vil kunne opfylde de beregnede krav.

Ved anvendelse af de principper for fastlæggelse af antallet af betydende cifre, som Videnskabeligt Udvalg for Kvalitet under DSKB har rekommanderet, vil de fleste laboratorier kunne aflevere svar på Kappa, Lambda og Kappa/Lambda-ratio med to betydende cifre (14). For yderligere vedrørende krav til analysekvalitet se appendix 5.

6.3.

Isoleret forhøjelse af én let-kædetype i serum ses hos næsten alle med let-kæde sygdom og hos mere end 80 % af myelomatosepatienter og endvidere hos de fleste patienter med lav-sekretorisk myelomatose og AL amyloidose.

6.4.

Analysen kan anvendes til monitorering af patienter med let-kæde sygdom, til diagnostik af lavsekretorisk myelomatose og diagnostik af AL-amyloidose (16). Normale frie lette kæder er afgørende for definition af Stringent Complete Response (sCR).

6.5.

Analysen har meget lav detektionsgrænse (ned til få mg/L). Grundet den meget store biologiske

spredning (fra få mg til flere gram pr liter) er det meget vigtigt at sikre mod antigen-excessproblemer. Hvis ikke apparaturet kontrollerer for dette, bør prøver analyseres i to forskellige fortyndinger.

6.6.

Der er tidligere set stor lot-lot variation og den interlaboratorielle variation i eksterne kontrolsystemer er stor (op til 100 % CV). For at sikre opmærksomhed på niveauskift ved lot-skifte, anbefales det løbende at medtage egen kontrolprøve.

6.7.

Hos enkelte patienter finder analysen meget høje og biologisk urealistiske koncentrationer (op til 100 g/L), mens der ofte hos samme patient ikke er særligt påfaldende protein-elektroforese. Fundet skyldes sandsynligvis forstærket signal fra polymeriserede lette kæder.

6.8.

Det er vist at referenceintervaller er afhængige af metode og den anvendte analyse-platform og varierer fra laboratorium til laboratorium. Følgende referenceintervaller anbefales anvendt som udgangspunkt, men bør verificeres lokalt (20,21).

The Binding Site (22):

Kappa: 3,3-19 mg/L

Lambda: 5,7-26 mg/L

Kappa/Lambda-ratio: 0,26-1,7*

Siemens (23)

Kappa: 6,7-22 mg/L

Lambda: 8,3-27 mg/L

Kappa/Lambda-ratio: 0,31-1,6*

*) Intervallet for Kappa/Lambda-ratio er reelt ikke et 95 % referenceinterval, men et 'diagnostisk interval' (100 % referenceinterval)

6.9.

Ved infektiøse og autoimmune tilstande ses ofte en (polyklonal) stigning i begge typer af let kæde, men bevaret normal Kappa/Lambda-ratio. Ved aftagende nyrefunktion ses tilsvarende en stigning i begge kædetyper, men pga. udligning i forskellen i clearance for de to kædetyper øges Kappa/Lambda-ratio.

Denne ændring i Kappa/Lambda-ratio ses ved anvendelse af kittet fra The Binding Site, og det er foreslået at ændre Kappa/Lambda referenceområdet for patienter med nyresygdom til 0,37-3,10 (24) ved anvendelse af dette kit. Ved anvendelse af kittet fra Siemens ses der ikke den forventede ændring af Kappa/Lambda-ratio ved nedsat nyrefunktion (25,26). Se yderligere i appendix 6.

6.10

Ved anvendelse af analysen fra The Binding Site har det vist sig, at anvendelsen af referenceintervallet for Kappa/Lambda-ratio som cut-off hos patienter med mistanke om myelomatose medfører et stort antal falsk positive resultater (27). Samme undersøgelse har fastlagt et interval (2,5 - 97,5 percentiler) baseret på patienter i almen praksis mistænkt for myelomatose, men som viser sig ikke at have M-komponentgivende sygdom på 0,42-4,32. Anvendelsen af dette interval på undersøgelsens population af patienter med M-komponentgivende sygdom førte ikke til lavere sensitivitet. Det anbefales derfor, at den øvre grænse i dette interval anvendes sammen med den nedre grænse af referenceintervallet som cut-off for patienter i almen praksis mistænkt for myelomatose (1. gangsprøver).

Interval til vurdering af 1. gangsprøver ved analyse med The Binding Site

Kappa/Lambda-ratio: 0,26-4,32

Urin M-komponent

- 11. Der anvendes morgenurin eller anden koncentreret spoturin til analysering af urin M-komponent. Der bør udføres elektroforese og ved positivt fund immunfiksation/immunsubtraktion (A)**
- 12. Hos patienter, der bedst følges med urin M-komponent, er døgnurinundersøgelse indiceret til påvisning af CR (A)**
- 13. Hos patienter, der monitoreres med urin M-komponent er døgnurinanalyse indiceret for kvantificering (A)**

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

7.1.

Undersøgelse udført af DSKB og DMSG har vist at påvisning og typning af Urin-M-komponent (agarosegelelektroforese med farvning og immunfiksation) giver ensartede resultater nationalt (5). Der er derimod meget stor variation i koncentrationsbestemmelse af M-komponent i urin. Dette ses

også i eksterne kontrolsystemer hvor der er op til 300 % CV inter-laboratorielt.

7.2.

Indikationer for urinundersøgelse ved førstegangundersøgelse, se punkt 1.3 og 1.9. Der anvendes NPU17676. Der anvendes morgenurin eller anden koncentreret spoturin. Der udføres elektroforese i agarosegel/kapillærelektroforese og ved positivt fund immunfiksation/immunsubtraktion. Spoturin svares med NPU29236-37 og NPU29297-311, se eksempel i appendix 2.

7.3.

Urinundersøgelse på morgenurin eller koncentreret spoturin er også indiceret til påvisning af komplet respons (CR). NPU28906 anvendes til klinisk rekvisition og til at informere klinikerne om at der er foretaget immunfiksation. Der svares "UDFØRT" uanset om analysen er foretaget på baggrund af klinisk- eller laboratorie-rekvisition.

7.4.

Visse patienter skal monitoreres med kvantificering af U-M-komponent og analysen indgår i flere kliniske protokoller. Analysen skal laves på døgnurin og udføres af laboratoriet kun på urinportion med angivet døgn-diurese. Døgnurin svares med NPU28855-66 og NPU29118-23, se eksempel i appendix 2.

7.5.

Kvantificering foretages ved scanning af farvet agarosegel/densitometri af kapillærelektroforese. Hvis M-komponenten består alene af frie lette kæder (Bence Jones-protein), beregnes koncentrationen ved scanning af båndet med total-protein som reference. Hvis M-komponenten både indeholder et bånd af frie lette kæder og et bånd af komplet Immunglobulin, kvantificeres begge komponenter og udgives hver for sig. Polyklont let-kæde/Immunglobulin (diffuse bånd som fx ses ved nyresygdom) medregnes ikke.

Interferens fra behandling med monoklonale antistoffer ved måling af M-komponent i serum

14. Monoklonale antistoffer anvendt i terapeutisk øjemed kan medføre detektion af nyopstået M-komponent. Interferens ved ko-migration af Daratumumab og den maligne M-komponent kan håndteres med assayet Hydrashift 2/4 (A)

Litteratur og evidensgennemgang

Der foreligger en relevant retningslinje for M-komponent analyser fra DSKB og DMSG fra 2012. Herudover bygger retningslinjen på internationalt anerkendte guidelines, kliniske studier og "real world data".

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

Rationale

Ikke relevant

Bemærkninger og overvejelser

Se nedenstående, herudover er der ingen særlige bemærkninger eller overvejelser.

8.1

Monoklonale antistoffer anvendt i terapeutisk øjemed kan medføre detektion af en lille nyopstået M-komponent i serum (oftest <1 g/L). Den nye M-komponent er det antistof, der behandles med og stammer ikke fra de maligne plasmaceller. En sådan falsk M-komponent ved myelomatose kan ved behandling af plasmacelle-sygdomme fejltolkes som en nyopstået klon, og i forbindelse med responsvurdering kan en persisterende M-komponent (ved ko-migration) fejltolkes som manglende evne til at bringe patienten i komplet remission (CR).

8.2

Til behandling af myelomatose er der for nuværende flest erfaringer med præparaterne Daratumumab (27) og Elotuzumab (28,29), der begge er monoklonale antistoffer af typen IgG kappa. Ved anvendelse af ét af disse præparater kan man hos nogle patienter observere en ny M-komponent (< 1 g/L) af typen IgG-kappa i løbet af behandlingsperioden og eventuelt også få måneder efter endt behandling. Den mulige interferens fra disse præparater er særlig relevant ved patienter med maligne M-komponenter af typen IgG kappa. Hos disse patienter er der ved serumelektroforese risiko for ko-migration af det terapeutiske antistof og M-komponenten fra sygdommen, hvilket besværliggør korrekt kvantificering af den maligne M-komponent. Den gennemsnitlige halveringstid er opgivet til hhv. 4,6 dage for Elotuzumab (29) og 9,0 dage for Daratumumab (27) målt efter første dosis. Hos patienter med ko-migration anbefales det derfor at måling af serum M-komponent udføres umiddelbart inden opstart af en ny behandlingscyklus for at mindske risikoen for interferens fra det terapeutiske antistof.

8.3

Interferens ved ko-migration af Daratumumab og den maligne M-komponent kan håndteres med assayet Hydrashift 2/4 Daratumumab, der bygger på erfaringerne fra et "Daratumumab-specific immunofixation electrophoresis reflex assay" (DIRA) anvendt i kliniske studier (30-32). Her anvendes et antistof rettet mod Daratumumab, der ved kompleks-dannelse fører til ændret migration af Daratumumab ved elektroforese. Dermed kan evt. tilbageværende malign Mkomponent af typen IgG-kappa detekteres og kvantificeres. De øvrige producenter af monoklonale antistoffer til behandling af myelomatose arbejder på lignende løsninger til korrekt bestemmelse af M-komponenten.

Der er desuden andre metoder under udvikling til håndtering af interferens fra monoklonale antistoffer, herunder metoder baseret på liquid chromatography mass spectrometry (LCMS), der vil kunne anvendes uanset hvilket monoklonalt antistof, der behandles med.

8.4

Patienter med myelomatose i behandling med et monoklonalt antistof bør ved mistanke om interferens have udført en af analyserne beskrevet under punkt. 8.3 for at sikre korrekt vurdering af responset (very good partial response (VGPR) eller complete response (CR)).

8.5

Hvis der ved kendt behandling med monoklonalt antistof ses en nyttilkommet top/bånd adskilt fra den oprindelige M-komponent (og af samme type som behandlings-antistoffet), afgives svaret som vanligt uden hensyntagen til "lægemiddel-toppen". Dog tilføjes kommentaren: "Desuden ses en mindre komponent, der kan skyldes biologisk behandling. Ej medregnet i M-komponent koncentrationen".

8.6

Hvis der rekvireres analyse til detektion af interferens fra lægemiddel, svares denne analyse med oplysning om evt. ko-migration. I tilfælde af ko-migration bør fremtidige svar på M-komponentanalysen tilføjes kommentaren: "Koncentration med forbehold pga. evt. medbestemmelse af interfererende medicin."

4. Referencer

1. <https://www.sst.dk/da/planlaegning/specialeplanlaegning/gældende-specialeplan/klinisk-biokemi> (august 2017)
2. Bird J, Behrens J, Westin J, Turesson I, Drayson M, Beetham R, D'Sa S, Soutar R, Waage A, Gulbrandsen N, Gregersen H, Low E; Haemato-oncology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology, UK Myeloma Forum and Nordic Myeloma Study Group. UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol*. 2009 Oct;147(1):22-42
3. Palladini G, Russo P, Bosoni T, Verga L, Sarais G, Lavatelli F, Nuvolone M, Obici L, Casarini S, Donadei S, Albertini R, Righetti G, Marini M, Graziani MS, Melzi D'Eril GV, Moratti R, Merlini G. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin Chem*. 2009 Mar;55(3):499-504.
4. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, Larson DR, Snyder MR, Lust JA, Rajkumar V, Dispenzieri A. Screening Panels for Detection of Monoclonal Gammopathies. *Clinical Chemistry* 2009; 55:1517–1522.
5. Pedersen L, Lund ED. DSKB prøveudsendelse 2011.
6. Schild C, Wermuth B, Trapp-Chiappini D, Egger F, Nuoffer JM; Reliability of M protein quantification: comparison of two peak integration methods on Capillars 2. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(6):876-7
7. Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. *Clin Chem*. 2000 Aug;46(8 Pt 2):1230-8.
8. Schild C, Egger F, Kaelin-Lang A, Nuoffer JM. Monoclonal gammopathy missed by capillary zone electrophoresis. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Jul;49(7):1217-9.
9. Keren DF, Gulbranson R, Carey JL, Krauss JC. 2-Mercaptoethanol treatment improves measurement of an IgMkappa M-protein by capillary electrophoresis. *Clin Chem*. 2001;47(7):1326-7.
10. Grome M. Cryoglobulin og blodprøvetagning – ”Hvor svært kan det være”. DBIO, maj 2004
11. Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B, Anderson KC, Dimopoulos M, Kyle R, Blade J, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood*. 2011 May 5;117(18):4691-5.
12. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006 Sep;20(9):1467-73.
13. Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B-cell clones. *Blood*. 2006 Oct 15;108(8):2520-30.
14. <http://www.dskb.dk/cms/?&pageid=18757> (august 2017)

15. Rajkumar SV, Dimeopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos M-V, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538–48.
16. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*. 2009 Feb;23(2):215-24.
17. Braga F, Infusino I, Dolci A, Panteghini M. Biological variation of free light chains in serum. *Clin Chim Acta* 2013;415:10-1.
18. Hansen CT, Münster A-M, Nielsen L, Pedersen P, Abildgaard N. Clinical and preclinical validation of the serum free light chain assay: identification of the critical difference for optimized clinical use. *Eur J Haematol* 2012;89(6):458-68.
19. DMSG/DSKB rundsending af prøver til sammenligning af frie lette kæder i Danmark, 2016.
20. 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 Nov;44(Pt 6):516-22.
21. Pattenden RJ, Rogers SY, Wenham PR. Serum free light chains; the need to establish local reference intervals. *Ann Clin Biochem*. 2007 Nov;44(Pt 6):512-5.
22. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, Kyle RA. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem*. 2002 Sep;48(9):1437-44.
23. te Velthuis H, Knop I, Stam P, van den Broek M, Bos HK, Hol S, Teunissen E, Fishedick KS, Althaus H, Schmidt B, Wagner C, Melsert R. N Latex FLC - new monoclonal high-performance assays for the determination of free light chain kappa and lambda. *Clin Chem Lab Med* 2011 Aug;49(8):1323-32:
24. Hutchison CA, Harding S, Hewins P, Mead GP, Townsend J, Bradwell AR, Cockwell P. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Nov;3(6):1684-90.
25. Jacobs JF, Hoedemakers RM, Teunissen E, Te Velthuis H. N Latex FLC serum free light-chain assays in patients with renal impairment. *Clin Chem Lab Med*. 2014 Jun;52(6):853-9; Kennard A et al. 2016
26. Kennard A, Hawley C, Tate J, Klingberg S, Pretorius C, Hutchison C, Mollee P. Comparison of Freelite™ and N Latex serum free light chain assays in subjects with end stage kidney disease on haemodialysis. *Clin Chem Lab Med*. 2016 Jun 1;54(6):1045-52
27. Lokhorst HM, Plesner T, Laubach JP, Nahi H, Gimsing P, Hansson M, Minnema MC, Lassen U, Krejcik J, Palumbo A, van de Donk NW, Ahmadi T, Khan I, Uhlar CM, Wang J, Sasser AK, Losic N, Lisby S, Basse L, Brun N, Richardson PG. Targeting CD38 with Daratumumab Monotherapy

- in Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2015 Sep 24;373(13):1207-19
28. Lonial S, Dimopoulos M, Palumbo A, White D, Grosicki S, Spicka I, Walter-Croneck A, Moreau P, Mateos MV, Magen H, Belch A, Reece D, Beksac M, Spencer A, Oakervee H, Orlowski RZ, Taniwaki M, Röllig C, Einsele H, Wu KL, Singhal A, San-Miguel J, Matsumoto M, Katz J, Bleickardt E, Poulart V, Anderson KC, Richardson P; ELOQUENT-2 Investigators. Elotuzumab Therapy for Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2015;373:621-31.
 29. Zonder JA, Mohrbacher AF, Singhal S, van Rhee F, Bensinger WI, Ding H, Fry J, Afar DE, Singhal AK. A phase 1, multicenter, open-label, dose escalation study of elotuzumab in patients with advanced multiple myeloma. *Blood* 2012;120:552-559
 30. van de Donk NW, Otten HG, El Haddad O, Axel A, Sasser AK, Croockewit S, Jacobs JF. Interference of daratumumab in monitoring multiple myeloma patients using serum immunofixation electrophoresis can be abrogated using the daratumumab IFE reflex assay (DIRA). *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1105-9
 31. McCudden C, Axel AE, Slaets D, Dejoie T, Clemens PL, Frans S, Bald J, Plesner T, Jacobs JF, van de Donk NW, Moreau P, Schechter JM, Ahmadi T, Sasser AK. Monitoring multiple myeloma patients treated with daratumumab: teasing out monoclonal antibody interference. *Clin Chem Lab Med* 2016;54(6):1095-1104
 32. Caillon H, Irimia A, Simon JS, Axel A, Sasser K, Scullion MJ, Ligneel T, Nouadje G, Moreau P, Dejoie T. Overcoming the Interference of Daratumumab with Immunofixation Electrophoresis(IFE) Using an Industry-Developed Dira Test: Hydrashift 2/4 Daratumumab. *ASH 2016, Abstract 206*

5. Metode

Litteratursøgning

Retningslinjen er udarbejdet på baggrund af den tidligere retningslinje ”Retningslinje for M-komponent analyser” udarbejdet af DSKB og DMSG 2012.

Desuden er denne suppleret med en litteratursøgning i PubMed.

Evidensen er vurderet i relation til http://www.dmcg.dk/siteassets/kliniske-retningslinjer---skabeloner-og-vejledninger/oxford-levels-of-evidence-2009_dansk.pdf

Litteraturgennemgang

Retningslinjen er fremsendt til og godkendt af Dansk Selskab for Klinisk Biokemi og Dansk Myelomatose Studiegruppe i 2017. Der har ikke været andre end læger fra DSKB og DMSG ind over udarbejdelsen af denne retningslinje.

Formulering af anbefalinger

Anbefalingerne er formuleret af forfatterne i fællesskab.

Interessentinvolvering

Ikke relevant

Høring og godkendelse

Retningslinje har været sendt i høring til alle medlemmer af de 2 involverede selskaber, Dansk Selskab for Klinisk Biokemi og Dansk Myelomatose Studiegruppe. Retningslinjen er efterfølgende godkendt af:

DMSG

- Niels Frost Andersen, Hæmatolog, Overlæge, Hæmatologisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital.
- Robert Schou Pedersen, Hæmatolog, Overlæge, Medicinsk Afdeling, Holstebro.
- Niels Abildgaard, Hæmatolog, Professor, Overlæge, Hæmatologisk Afdeling, Odense Universitetshospital.
- Thomas Granum Aagaard, Hæmatolog, Afdelingslæge, Hæmatologisk Afdeling Herlev og Gentofte Hospital.
- Anne Kærsgaard Mylin, Hæmatolog, Afdelingslæge, Hæmatologisk Afdeling, Rigshospitalet.

DSKB

- Sara Arntkløv, Bioanalytiker, Klinisk Biokemisk Afdeling, Herlev og Gentofte Hospital.
- Jørgen Brodersen Gram, Klinisk biokemiker, Overlæge, Klinisk Biokemisk Afdeling, Sydvestjysk Sygehus, Esbjerg.
- Marianne Benn, Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet.

- Jesper Farup Revsholm, Klinisk biokemiker, Afdelingslæge, Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi, Odense Universitetshospital.

Anbefalinger, der udløser betydelig merudgift

Ingen anbefalinger vurderes at udløse betydelig merudgift. Der henvises i øvrigt til Bemærkninger og særlige overvejelser under anbefaling 1.

Behov for yderligere forskning

Der er ikke lavet anbefaling på dette område.

Forfattere

DMSG

- Henrik Gregersen, Hæmatolog, Overlæge, Hæmatologisk Afdeling, Ålborg Universitetshospital, ingen interessekonflikter.
- Charlotte Toftmann Hansen, Hæmatolog, Afdelingslæge, Hæmatologisk Afdeling, Odense Universitetshospital, ingen interessekonflikter.
- Kristian Thidemann Andersen, Hæmatologisk uddannelsesstilling, 1.Reservelæge, Hæmatologisk afdeling, Odense Universitetshospital, ingen interessekonflikter.

DSKB

- Mie Hessellund Samson, Klinisk biokemiker, Overlæge, Klinisk Biokemisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital (formand), ingen interessekonflikter.
- Holger J. Møller, Klinisk biokemiker, Professor, Overlæge, Klinisk Biokemisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital, ingen interessekonflikter.
- Erik Dalsgaard Lund, Biokemiker, Klinisk Biokemisk Afdeling, Sygehus Lillebælt Vejle, ingen interessekonflikter.
- Malene Bjerregaard Pass, Biokemiker, Klinisk Biokemisk Afdeling, Sjællands Universitetshospital, Roskilde, ingen interessekonflikter.
- Mikala Klok Jørgensen, Biokemiker, Klinisk Biokemisk Afdeling, Slagelse, Næstved, Nykøbing F sygehuse, ingen interessekonflikter.
- Tove Rask Søndergaard, Biokemiker, Klinisk Biokemisk Afdeling, Hospitalsenheden Vest, ingen interessekonflikter.
- Axel Brock, Adjungeret professor, Klinisk Biokemisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital, ingen interessekonflikter.

7. Bilag

Bilag 1 – Søgestrategi

Der foreligger aktuelt ingen ekstakt søgestrategi.

Bilag 2 - Eksempel på behandling af prøver med β -mercaptoethanol

Reducerende opløsning:

Fremstil reducerende 1 % β -merkaptoethanol i Fluidil (Sebia PN4587, 1 rør á 5 ml).

100 μ l reducerende opløsning tilsættes til 300 μ l ufordyndet serum. Bland og analyser prøven inden for 15 minutter. Nogle prøver kan kræve længere tids behandling

Bilag 3 - Eksempler på rekvisition og svar

Eksempel 1: Negativ prøve

NPU17675	M-komponent;P	IKKE PÅVIST
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

Eksempel 2: Negativ men tvivlsom forstegangsprøve

NPU17675	M-komponent;P	TVIVL*
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

*Svag M-komponent kan ikke sikkert udelukkes. Ny prøve udbedes om 3 -6 måneder hvis k linisk relevant.

Eksempel 3: Oligokloni, dvs. mange små bånd/toppe

NPU17675	M-komponent;P	OLIGO*
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

*Oligoklonalt monster, ingen sikker M-komponent

Eksempel 4: Serum M-komponent påvist med immunfiksation

NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST
NPU19846	M-komponent gruppe; P	
NPU28638	IgG (kappa; monoklonalt);P	12 g/L
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P	UDFØRT

Eksempel 5: Serum M-komponent påvist, immunfiksation er ikke udført

NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST
NPU19846	M-komponent gruppe; P	
NPU28638	IgG (kappa; monoklonalt);P	12 g/L

Eksempel 6: Som eks. 4 + negativ urinundersøgelse

NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST
NPU19846	M-komponent gruppe; P	
NPU28638	IgG (kappa; monoklonalt);P	12 g/L
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P	UDFØRT
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

Eksempel 7: Biklonalitet, dvs. to M-komponenter påvist

NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST
NPU19846	M-komponent gruppe; P	
NPU28638	IgG (kappa;monoklonalt);P	12 g/L
NPU28634	IgA (kappa;monoklonalt);P	3 g/L
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

I noten: Biklonal

Eksempel 8: M-komponent på oligoklonal baggrund

NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST*
NPU19846	M-komponent gruppe; P	
NPU28638	IgG (kappa;monoklonalt);P	12 g/L
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P	UDFØRT
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

*M-komponent på oligoklonal baggrund

Eksempel 9: M-komponent beliggende i beta-fraktionen

NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST*
NPU19846	M-komponent gruppe; P	
NPU28634	IgA (kappa;monoklonalt);P	3 g/L
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P	UDFØRT
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST

*Beliggende i beta-proteinfraaktionen

Eksempel 10: Negativ prøve. Både for serum- og urin-immunfiksation er udført

NPU17675	M-komponent;P	IKKE PÅVIST
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P	UDFØRT
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST
NPU28906	M-komponent (immunfiksation);U	UDFØRT

Eksempel 11: Monitorering af patient

		06-06-2011	05-11-2011	15-01-2012§	02-02-2013§	04-03-2013§	30-03-2013
NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST	PÅVIST	PÅVIST	PÅVIST	OLIGO**	IKKE PÅVIST
NPU19846	M-komponent gruppe;P						
NPU28638	IgG (Kappa; monoklonalt);P	12 g/L	4 g/L	<1 g/L	PÅVIST*	IKKE PÅVIST	
NPU28634	IgA (kappa;monoklonalt);P			<1 g/L	PÅVIST*	IKKE PÅVIST	
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P			UDFØRT	UDFØRT	UDFØRT	UDFØRT
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST					

*Kan ikke kvantificeres. Kun detekterbar ved immunfiksation

**Oligoklonalt mønster, ingen sikker M-komponent

§:

15/01/2012:

M-komponenterne kan påvises ved screening eller ved immuntypning på kapillærelektroforese, men er mht. koncentration under kvantifikationsgrænsen.

02/02/2013:

M-komponenterne kan IKKE påvises ved screening eller immuntypning ved kapillær-elektroforese. Kan kun påvises ved immunfiksation.

04/03/2013: Oprindelig M-komponent kan IKKE påvises som en del af det oligoklonale mønster.

Svar-eksempel

12: Urin M-komponent påvist i spoturin

NPU17675	M-komponent;P	IKKE PÅVIST
NPU17676	M-komponent;U	PÅVIST
NPU57522	M-komponent (semikvant) gruppe	IKKE PÅVIST
NPU29236	Kappa-kæde (frit;monoklonalt);U	PÅVIST

Svar-eksempel

13: Urin M-komponent påvist og kvantificeret i døgnurin

NPU17675	M-komponent;P	IKKE PÅVIST
NPU17676	M-komponent;U	PÅVIST
NPU29119	M-komponent gruppe;Pt(U)	
NPU28865	Kappa-kæde(frit;monoklonalt);Pt(U)	0,74 g/d
NPU28855	IgA (kappa;monoklonalt);Pt(U)	0,15 g/d

Bilag 4 - Anbefalede NPU koder til rekvisition og svarafgivelse

Rekvisition:

Rekvisition af serum og urin M-komponent samt immunfiksation

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU17675	P-M-komponent;arb.k.(proc.)=?	M-komponent;P
NPU17676	U-M-komponent;arb.k.(proc.)=?	M-komponent;U
NPU28875	P-M-komponent;arb.k.(proc.;IFE)=?	M-komponent (immunfiksation);P
NPU28906	U-M-komponent;arb.k.(proc.;IFE)=?	M-komponent (immunfiksation);U

Svarafgivelse:

Grupper: Kan i visse systemer anvendes som overskrift ved svarafgivelse

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU29119	Pt(U)—Immunglobulin(monoklonalt); massehast.(liste)	M-komponent gruppe;Pt(U)
NPU19846	P—M-komponent; massek.(liste)	M-komponent gruppe;P
NPU57552	U—M-komponent; arb.k.(liste; proc.)	M-Komponent (semikvant) gruppe; U

Serum: Typespecifikke koder til angivelse af pavist M-komponent type og koncentration

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU28634	P—Immunglobulin A(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgA (kappa;monoklonalt);P
NPU28635	P—Immunglobulin A(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgA (lambda;monoklonalt);P
NPU28636	P—Immunglobulin D(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgD (kappa;monoklonalt);P
NPU28637	P—Immunglobulin D(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgD (lambda;monoklonalt);P
NPU28638	P—Immunglobulin G(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgG (kappa;monoklonalt);P
NPU28639	P—Immunglobulin G(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgG (lambda;monoklonalt);P
NPU28640	P—Immunglobulin M(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgM (kappa;monoklonalt);P
NPU28641	P—Immunglobulin M(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgM (lambda;monoklonalt);P
NPU28642	P—Immunglobulin E(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgE (kappa;monoklonalt);P

NPU28643	P—Immunglobulin E(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgE (lambda;monoklonalt);P
NPU28644	P—Kappa-kade(Ig)(frit; monoklonalt); massek. = ? g/L	Kappa-kade(frit;monoklonalt);P
NPU28645	P—Lambda-kade(Ig)(frit; monoklonalt); massek. = ? g/L	Lambda-kade(frit;monoklonalt);P
NPU28923	P—Immunglobulin A(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgA (monoklonalt);P
NPU28924	P—Immunglobulin D(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgD (monoklonalt);P
NPU28925	P—Immunglobulin G(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgG (monoklonalt);P
NPU28926	P—Immunglobulin M(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgM (monoklonalt);P
NPU28927	P—Immunglobulin E(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgE (monoklonalt);P

Spot-urin: Typespecifikke koder til angivelse af pavist M-komponent type

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU29236	U—Kappa-kade(Ig)(frit; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	Kappa-kade(frit;monoklonalt);U
NPU29237	U—Lambda-kade(Ig)(frit; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	Lambda-kade(frit;monoklonalt);U
NPU29297	U—Immunglobulin A(kappa; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgA (kappa;monoklonalt);U
NPU29298	U—Immunglobulin A(lambda; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgA (lambda;monoklonalt);U
NPU29299	U—Immunglobulin A(monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgA (monoklonalt);U
NPU29300	U—Immunglobulin D(kappa; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgD (kappa;monoklonalt);U
NPU29301	U—Immunglobulin D(lambda; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgD (lambda;monoklonalt);U
NPU29302	U—Immunglobulin D(monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgD (monoklonalt);U
NPU29303	U—Immunglobulin E(kappa; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgE (kappa;monoklonalt);U
NPU29304	U—Immunglobulin E(lambda; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgE (lambda;monoklonalt);U
NPU29305	U—Immunglobulin E(monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgE (monoklonalt);U
NPU29306	U—Immunglobulin G(kappa; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgG (kappa;monoklonalt);U
NPU29307	U—Immunglobulin G(lambda; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgG (lambda;monoklonalt);U
NPU29308	U—Immunglobulin G(monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgG (monoklonalt);U
NPU29309	U—Immunglobulin M(kappa; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgM (kappa;monoklonalt);U
NPU29310	U—Immunglobulin M(lambda; monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgM (lambda;monoklonalt);U
NPU29311	U—Immunglobulin M(monoklonalt); arb.k.(0 1) = ?	IgM (monoklonalt);U

Døgn-urin: Typespecifikke koder til angivelse af påvist M-komponent type og døgnudskillelse

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU28855	Pt(U)—Immunglobulin A(kappa; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgA (kappa;monoklonalt);Pt(U)
NPU28856	Pt(U)—Immunglobulin A(lambda; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgA (lambda;monoklonalt);Pt(U)
NPU28857	Pt(U)—Immunglobulin D(kappa; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgD (kappa;monoklonalt);Pt(U)
NPU28858	Pt(U)—Immunglobulin D(lambda; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgD (lambda;monoklonalt);Pt(U)
NPU28859	Pt(U)—Immunglobulin E(kappa; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgE (kappa;monoklonalt);Pt(U)
NPU28860	Pt(U)—Immunglobulin E(lambda; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgE (lambda;monoklonalt);Pt(U)
NPU28861	Pt(U)—Immunglobulin G(kappa; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgG (kappa;monoklonalt);Pt(U)
NPU28862	Pt(U)—Immunglobulin G(lambda; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgG (lambda;monoklonalt);Pt(U)
NPU28863	Pt(U)—Immunglobulin M(kappa; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgM (kappa;monoklonalt);Pt(U)
NPU28864	Pt(U)—Immunglobulin M(lambda; monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgM (lambda;monoklonalt);Pt(U)
NPU28865	Pt(U)—Kappa-kæde(Ig)(frit; monoklonalt); massehast. = ? g/d	Kappakæde(frit;monoklonalt);Pt(U)
NPU28866	Pt(U)—Lambda-kæde(Ig)(frit; monoklonalt); massehast. = ? g/d	Lambdakæde(frit;monoklonalt);Pt(U)
NPU29118	Pt(U)—Immunglobulin A(monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgA (monoklonalt);Pt(U)
NPU29120	Pt(U)—Immunglobulin D(monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgD (monoklonalt);Pt(U)
NPU29121	Pt(U)—Immunglobulin E(monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgE (monoklonalt);Pt(U)
NPU29122	Pt(U)—Immunglobulin G(monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgG (monoklonalt);Pt(U)
NPU29123	Pt(U)—Immunglobulin M(monoklonalt); massehast. = ? g/d	IgM (monoklonalt);Pt(U)

Døgn-urin: Typespecifikke koder til angivelse af påvist M-komponent koncentration*

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU28843	U—Immunglobulin A(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgA (kappa;monoklonalt);U
NPU28844	U—Immunglobulin A(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgA (lambda;monoklonalt);U
NPU28845	U—Immunglobulin D(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgD (kappa;monoklonalt);U
NPU28846	U—Immunglobulin D(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgD (lambda;monoklonalt);U
NPU28847	U—Immunglobulin E(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgE (kappa;monoklonalt);U
NPU28848	U—Immunglobulin E(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgE (lambda;monoklonalt);U
NPU28849	U—Immunglobulin G(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgG (kappa;monoklonalt);U
NPU28850	U—Immunglobulin G(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgG (lambda;monoklonalt);U

NPU28851	U—Immunglobulin M(kappa; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgM (kappa;monoklonalt);U
NPU28852	U—Immunglobulin M(lambda; monoklonalt); massek. = ? g/L	IgM (lambda;monoklonalt);U
NPU28853	U—Kappa-kæde(Ig)(frit; monoklonalt); massek. = ? g/L	Kappa-kæde(frit;monoklonalt);U
NPU28854	U—Lambda-kæde(Ig)(frit; monoklonalt); massek. = ? g/L	Lambdakæde(frit;monoklonalt);U
NPU29124	U—Immunglobulin A(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgA (monoklonalt);U
NPU29125	U—Immunglobulin D(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgD (monoklonalt);U
NPU29126	U—Immunglobulin E(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgE (monoklonalt);U
NPU29127	U—Immunglobulin G(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgG (monoklonalt);U
NPU29128	U—Immunglobulin M(monoklonalt); massek. = ? g/L	IgM (monoklonalt);U
NPU19847	U—M-komponent; massek.(liste)	M-komponent gruppe;U

*) Disse NPU-koder anvendes ifm. beregning af døgngudskillelsen ved multiplikation med diuresen. Det anbefales ikke, at disse koder anvendes i det for rekvirenterne synlige svar.

Serum: Typespecifikke koder til angivelse af koncentration og ratio af frie lette kader*

NPU id	Kort definition	NKN kortnavn
NPU19606	P—Kappa-kæde(Ig)(frit); massek. = ? mg/L	Kappa-kæde(Ig) frit;P
NPU19607	P—Lambda-kæde(Ig)(frit); massek. = ? mg/L	Lambda-kæde(Ig) frit;P
NPU19608	P—Kappa-kæde(Ig)(frit)/Lambda-kæde(Ig)(frit); masseratio = ?	Kappa/Lambda-kæde(Ig) frit;P

*Koderne kan anvendes til både rekvision og svar. Alternativt kan der anvendes lokalkode som gruppe

Bilag 5 - Baggrund for anvendelsen af FLC ved 1.gangsprøver

Meget lav compliance for døgnurin-opsamling

En dansk opgørelse viste, at der kun blev indsendt urinprøver i under 10 % af tilfældene af primær udredning. Det lave sammenfald af blod- og urinprøver er i overensstemmelse med udenlandske undersøgelser, hvor der er rapporteret indsendelse af begge prøver i 17 % til 40 % af tilfældene (1-4).

Højere sensitivitet

Bestemmelse af serum frie lette kæder har højere sensitivitet end urin elektroforese. Baggrunden er, at de frie lette kæder først optræder i urinen, når nyrenes kapacitet for reabsorption af frie lette kæder overskrides. I et studie optrådte Bence Jones proteinuri ved mediane koncentrationer af serum kappa og lambda lette kæder på henholdsvis 113 mg/l and 278 mg/l, altså højere end detektionsgrænsen for serum frit letkæde assays (5). Katzman et al. sammenlignede sensitiviteten af forskellige kombinationer af serum elektroforese, serum immunfixation, frie lette kæder, urin protein elektroforese og urin immunfixation hos 1877 patienter med forskellige typer af nydiagnostiseret monoklonale gammopati (6). Kombinationen af serum elektroforese og bestemmelse af serum frie lette kæder påviste forandringer hos 1770 af patienterne (94,3 %). Kombinationen identificerede alle patienter med myelomatose og Mb.Waldenstrøm, mens sensitiviteten for andre monoklonale gammopatier var lavere f.eks. 465 af 524 MGUS patienter (88,7 %). Serum M-komponent eller skæv kappa/lambda ratio blev fundet hos 559 af 581 (96,2 %) af patienter med AL amyloidose

En række studier har vurderet sensitiviteten af kombinationen af serum elektroforese og bestemmelse af frie lette kæder på prøver indsendt på mistanke om monoklonal gammopati. Studiepopulationerne er meget forskellige. Sensitiviteten af kombinationen af serum protein elektroforese og serum frie lette kæder er rapporteret i et niveau 82,3 – 100 % (2,6- 9). Tilsvarende er specificiteten i disse undersøgelser vurderet til 96,8 – 99 %

Hurtigere automatiserede svar

Automatiserede assays for serum frie lette kæder giver mulighed for hurtigere svar end døgnurin elektroforese. Desuden udelades den subjektive bedømmelse, der indgår i vurdering af urin elektroforeserne.

Ulemper

Argumenter mod overgang til bestemmelse af serum frie lette kæder er den højere pris pga. et forventet højere antal prøver sammenlignet med de ikke indsendte urinundersøgelser. Flere studier har rapporteret falsk positive kappa/lambda ratioer med stor variation, der sandsynligvis afspejler de undersøgte patienter. Der er rapporteret falsk positive kappa/lambda ratioer på 0 – 36,4 % (1,7,9,10). Der er ingen tilgængelig viden om antallet af falsk positive test, når serum fri letkæde analyse anvendes som screening i større grupper f.eks. i forbindelse med udredning af osteoporose eller polyneuropati.

Referencer:

1. Hill PG, Forsyth JM, Rai B, Mayne S. Serum Free Light Chains: An Alternative to the Urine Bence Jones Proteins Screening Test for Monoclonal Gammopathies. *Clinical Chemistry* 2006; 52: 1743 – 1748.
2. McTaggart MP, Lindsay J, Kearney EM. Replacing Urine Protein Electrophoresis With Serum Free Light Chain Analysis as a First-Line Test for Detecting Plasma Cell Disorders Offers

- Increased Diagnostic Accuracy and Potential Health Benefit to Patients. *Am J Clin Pathol* 2013; 140: 890 - 897.
3. Holding S, Spradbery D, Hoole R, Wilmot R, Shields ML, Levoguer AM, Dore PC. Use of serum free light chain analysis and urine protein electrophoresis for detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 83 – 88.
 4. Hutchison CA, Plant T, Drayson M, Cockwell P, Kountouri M, Basnayake K, Harding S, Bradwell AR, Mead G. Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC Nephrology* 2008; 9:11.
 5. Nowrousian MR, Brandhorst D, Sammet C, Kellert M, Daniels R, Schuett P, Poser M, Mueller S, Ebeling P, Welt A, Bradwell AR, Buttkeireit U, Opalka B, Flasshove M, Moritz T Seeber S. Serum Free Light Chain Analysis and Urine Immunofixation Electrophoresis in Patients with Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8706 – 8714.
 6. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, Larson DR, Snyder MR, Lust JA, Rajkumar V, Dispenzieri A. Screening Panels for Detection of Monoclonal Gammopathies. *Clinical Chemistry* 2009; 55: 1517–1522.
 7. Abadie JM, Bankson DD. Assessment of Serum Free Light Chain Assays for Plasma Cell Disorder Screening in a Veterans Affairs Population. *Ann Clin Lab Sci* 2006; 36: 157 - 162.
 8. Vermeersch P, Hoovels LV, Delforge M, Marie G, Bossuyt X. Diagnostic performance of serum free light chain measurement in patients suspected of a monoclonal B-cell disorder. *Br J Haematol* 2008; 143: 496 – 502.
 9. Katzmann JA, Abraham RS, Dispenzieri A, Lust JA, Kyle RA. Diagnostic Performance of Quantitative kappa and lambda Free Light Chain Assays in Clinical Practice. *Clin Chem* 2005; 51:878 – 881.
 10. Singh G, Serum Free Light Chain Assay and kappa/lambda Ratio Performance in Patients Without Monoclonal Gammopathies. *Am J Clin Pathol* 2016; 146: 207 – 214.

Bilag 6 - Uddybning af krav til analysekvalitet for frie lette kæder

Opstilling af krav til analysekvalitet for kvantitative analysemetoder

Der er international konsensus om fastlæggelse af mål for analysemetoders performance (1,2) ud fra:

Model 1 - clinical outcome (direkte eller indirekte)

Model 2 - biological variation

Model 3 - state of the art

Ved anvendelse af model 2 findes nu en tjekliste fra Biological Variation Working Group under EFLM (3,4), som kan anvendes ved vurdering af studierne bag de tilgængelige data for biologisk variation.

Krav til analysekvalitet for sFLC ud fra biologisk variation

Om fastlæggelse af mål ud fra biologisk variation, model 2, se Mini Review fra 2016 (5).

Der findes tre studier over **biologisk variation**, se sammenligning i tabel 1:

Studie	I. Clin Chim Acta 2013(6)	II. Eur J Haematol 2012(7)	III: Clin Chem 2011(8)
Analysemetode	FreeLite SPAplus turbidimetri	FreeLite BNII nefelometri	FreeLite BNII nefelometri
Design	2 måneder 21 raske 5 res.per person	5 dage 7 raske, 6 MM, 5 MGUS 5 (8) res.per person	Retrospektiv 5 år 158 ptt i stabil fase 5,2 res.per person
CV_i for κ	8,1 %	4,3 %	FLCi 27,8 % (>100 mg/L)
CV_g for κ	14,1 %	21 %	-
CV_i for λ	7,0 %	7,0 %	FLCi 27,8 % (>100mg/L)
CV_g for λ	27,5 %	30 %	-
CV_i for κ/ λ-ratio	4,5 %	-	-
CV_g for κ/ λ-ratio	15,3 %	-	-

Tabel 1. CV_i: intra-individuel biologisk variation. CV_g: inter-individuel biologisk variation. FLC_i: involved FLC.

Langtidsstudiet III viser forventeligt højere variation end studie I og II. Ud fra studierne kan opstilles mål for intermedier præcision (CV), målekorrekthed (bias) og total error (TE). Desuden kan den intraindividuelle biologiske variation CV_i anvendes ved estimering af den kritiske difference, RCV (reference change value): $RCV = Z * \sqrt{2} * \sqrt{CV_i^2 + CV_p^2 + CV_a^2}$.

CV_p er det præanalytiske bidrag, CV_a den lokale analytiske variation og Z en konstant, der afhænger af sandsynligheden og oftest sættes til 1,96 (95 %); det kan vælges at se bort fra CV_p (9).

Tabel 2 viser idealmål for det såkaldt **ønskelige** niveau for CV, bias og TE (10) samt kritisk differens "RCV", ud fra studie I-II-III, samt et [muligt forslag] til acceptable niveauer:

Enhed: %	Mål for CV	Mål for bias	Mål for TE	RCV
Kappa	4,0 – 2,2 – 13,9/ [4,0]	4,1 – 5,3 – (/) [5,0]	10,7 – 8,9 – (/) [11,6]	22,6 – 24 – 79
Lambda	3,5 – 3,5 – 13,9/ [3,5]	7,1 – 7,6 – (/) [7,5]	12,9 – 13,4 – (/) [13,3]	19,6 – 23 – 79
sFLC-ratio	2,3 – () – (/) [3,0]	4,0 – () – (/) [5,0]	7,7 – () – (/) [10,0]	13,4 – () – ()

Tabel 2. Total error: TE_a = Bias + 1,65 * CV_a. Kritisk difference: RCV = 1,96 * $\sqrt{2} * \sqrt{CV_i^2 + CV_a^2}$; afhængig af lokal CV_a.

Er disse mål for skrappe kan beregnes idealmål for det såkaldt **minimale** niveau (10):

CV(minimal)=CV(ønskelig) * 3/2 og bias(minimal)=bias(ønskelig) * 3/2

Kan mål for **intermediær præcision (CV)** ud fra biologisk variation anvendes som krav? Eksempler på oplyst præcision er angivet i tabel 3:

	Kappa CV	Lambda CV	iFLC CV	κ/λ-ratio CV
Braga F, <i>et al</i> 2013 (6) FreeLite; SPAPlus turbidimetri	1,2 % (dobbelbest.)	0,9 % (dobbelbest.)		1,7 % (dobbelbest.)
Hansen CT, <i>et al</i> 2012 (7) FeeLite; BNII	7,3 % (intermediær pr.)	4,5 % (intermediær pr.)		
Katzmann JA, <i>et al</i> 2011 (8) FreeLite; BNII			5,8 % (valideringsdata)	
Flere studier med flere lot reagens, se i Hansen CT, <i>et al.</i> 2012 (7)	5,1 – 7,7 % 6 – 12 % hhv 19 %	3,4 – 8,9 % 6 – 12 % hhv 20 %		
Danske kliniske biokemiske laboratorier 2016*	2,0 – 12 % Poolet ca. 6,5 %	2,5 – 12 % Poolet ca. 6,5 %		
Forslag til idealmål fra tabel 1, \emptyset Ideal mål, minimalt niveau, m	\emptyset 4,0 % m 6,0 %	\emptyset 3,5 % m 5,3 %	-	\emptyset 3,0 % m 4,5 %

Tabel 3. iFLC: involved FLC. \emptyset : ønskeligt niveau; m: minimalt niveau (10). *) Oplyst CV, Dansk rundsending FLC 2016 (11).

I forbindelse med den danske rundsending af 15 prøver til FLC i efteråret 2016 oplyste laboratorierne data for deres præcision. De oplyste data viser, at for Kappa kan 3 af 10 danske laboratorier overholde det ønskelige mål 4,0 %, og 5 af 10 kan overholde det minimale mål 6,0 %.

For Lambda er antallet 3 af 10 for det ønskelige mål 3,5 %, og 5 af 10 for det minimale mål 5,3 % (11).

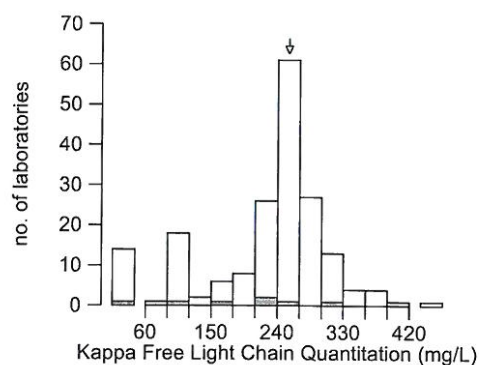
Den danske rundsending viste følgende interlaboratorielle CV'er:

Kappa	Lambda	κ/λ-ratio
Prøve nr. 12 (38,7 mg/L): 53 %	< 5 mg/L: 80 – 91 %	< 0,26: 18 – 53 %
Prøve nr. 14 (4,1 mg/L): 51 %	Øvrige: 9 – 36 %	0,26 – 10: 18 – 35 %
Øvrige: 12- 28 %		> 10: 27 – 73 %

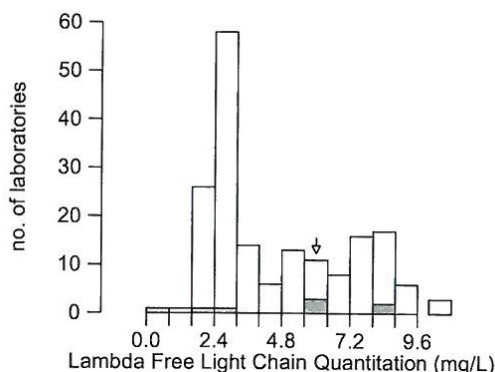
Tabel 4. Dansk rundsending FLC 2016 (11).

Kan mål for **bias og total error** ud fra biologisk variation anvendes som krav?

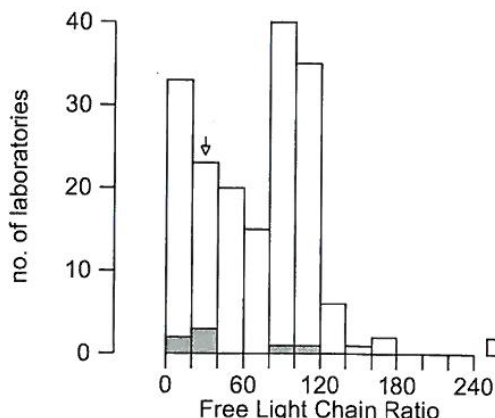
Variationen på tværs af udstyr og metoder kan ses af histogrammer over resultater fra den internationale udsendelse af kontrolmaterialer fra UK NEQAS. Fordeling af laboratoriernes resultater fra en enkelt udsendelse ses her for Kappa (figur 1a), Lambda (figur 1b) og κ/λ -ratio (figur 1c-d); pilen angiver resultatet fra eget laboratorium:



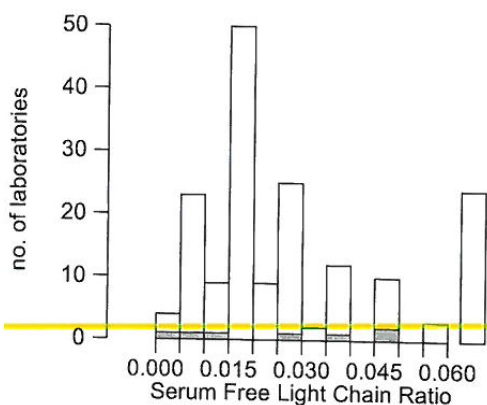
Figur 1a. TE 11,6 %: 240 mg/L +/- 28 mg/L



Figur 1b. TE 13,3 %: 4,5 mg/L +/- 0,6 mg/L



Figur 1c. TE 10,0 %: 66,0 +/- 6,6



Figur 1d. TE 10,0 %: 0,030 +/- 0,003

Krav til analysekvalitet for sFLC ud fra kliniske kriterier

De forskellige analysemetoders performance i relation til referenceinterval og kliniske beslutningsgrænser er gennemgået i et Opinion paper fra 2016 (12).

Kliniske kriterier, hvor sFLC indgår, er baseret på Freelite. Et resumé af disse kriterier:

	κ/λ -ratio	iFLC	dFLC
IMWG 2014, tabel 1.(13) Diagnostiske kriterie LC MGUS	1 <0,26 eller > 1,65	Forhøjet værdi	
IMWG 2014, tabel 1.(13) Diagnostiske kriterier systemisk AL amyloidose	1 < 0,26 eller > 1,65		
IMWG 014.(13) Definition af MM	2 >100 eller > 0,01 (iFLC/uFLC > 100)		
Durie <i>et al</i> 2006, tabel 4.(14) Målelig sygdom		3 ≥ 100 mg/L	
Durie <i>et al</i> 2006, tabel 4-6.(14) IMWG 2009, tabel 5.(15) Samlet for respons- /progressions-kriterier	1 Normal/unormal	4 50 % fald 5 50 % stigning (til > 100 mg/L)	4 50 % fald 5 25 % stigning (absolut stigning skal være på > 100 mg/L)

Tabel 4. iFLC: involved FLC. uFLC: uninvolved FLC. dFLC: difference mellem 'involved' og 'uninvolved' FLC.

Ud fra disse kriterier er det vigtigt at kunne påvise ændringer på 25 % hhv. 50 % samt have en god præcision i området omkring 100 mg/L. For κ/λ -ratio er det vigtigt at kunne skelne mellem værdier inden for og uden for referenceintervallet,* samt at have en god præcision i området omkring 100 hhv. 0,01.

*) Intervallet 0,26-1,65 for κ/λ -ratio er reelt ikke et 95 % referenceinterval, men et "diagnostisk interval" (100 % referenceinterval) (16).

Oversigt over muligheder for opstilling af krav til analysekvalitet for sFLC

Baggrund	Model	Kappa		Lambda		Kappa/lambda-ratio	
		Bias	CV _a	Bias	CV _a	Bias	CV _a
Biologisk variation, table 2	International anvendt (opsummering i (5))	5,0%(ø) 7,5%(m)	4,0%(ø) 6,0%(m)	7,5%(ø) 11,3%(m)	3,5%(ø) 5,3%(m)	2,3%(ø) 3,5%(m)	4,0%(ø) 6,0%(m)
Ratio ud fra krav til kappa og lambda; biol.var.	$\sqrt{\kappa^2 + \lambda^2}$						5,3%(ø) 8,0%(m)
Kriterie 1	Brug af samme ref.int.					4,0%(ø) 6,0%(m)	
Kriterie 2 med brug af krav ud fra kriterie 1	Total error TE Klinisk situation					4,0%(ø) 6,0%(m)	
Kriterie 3 med brug af krav ud fra kriterie 6 Se kommentar*	Total error TE Klinisk situation	330 %		250 %			
Kriterie 4 og 5	Kritisk forskel RCV Z=1,96		16,1 %		16,6 %		
Kriterie 6, envejs-situation	Kritisk forskel RCV Z=1,96		7,0 %		8,0 %		
Kriterie 6, tovejs-situation Se kommentar**	Kritisk forskel RCV Z=1,96		3,9 %		5,5 %		
Ratio ud fra krav til kappa og lambda; kriterie 6	$\sqrt{\kappa^2 + \lambda^2}$						10,6 %
Kriterie 2 med brug af CV _a 10,6% beregnet ud fra krav til kappa hhv. lambda						77 %	
Kriterie 2 med brug af CV _a 9,2% beregnet ud fra opnåelig for kappa hhv. lambda						79 %	
Opnåelig hos danske lab. Ratio ud fra krav til kappa og lambda; opnåelige CV _a	Oplyste værdier af CV _a $\sqrt{\kappa^2 + \lambda^2}$		6 %		7 %		9,2 %

Tabel 5. 1 – 6 henviser til kriterierne i tabel 4.

Total error, klinisk situation, inkl. præanalytisk og intraindividuel variation:

Kommentarer:

*) Beregningen af krav til bias afhænger af 'udgangspunktet' for patienterne, hvor de viste tal har udgangspunktet "normal" FLC.

**) Ved opfyldelse af krav for CV_a på 7,0 % for Kappa og 8,0 % for Lambda vil en ændring på 25 % ikke kunne ses, men derimod 30 %.

Krav til *præcision* (CV %) ud fra kriterie 6, envejs-situation, kan beregnes til 7,0 % for Kappa, 8,0 % for Lambda og heraf 10,6 % for κ/λ -ratio; disse krav vil kunne opfyldes af langt de fleste danske laboratorier. Hvis der i forbindelse med kriterie 6 i stedet er tale om tovejs-situation, vil en ændring på 25 % ikke sikkert kunne ses, derimod vil en ændring på 30 % kunne ses, forudsat at de nævnte krav til præcision er opfyldt for Kappa hhv. Lambda.

Krav til *bias* for Kappa hhv. Lambda ud fra kriterie 3 er lempelige (330 % hhv. 250 %, forudsat opfyldelse af kravene til præcision ud fra kriterie 6; ifølge beregninger er kravene til bias også lempelige, såfremt patientens udgangspunkt er en Kappa- eller Lambda-værdi på fx 50 mg/L (krav på 82 % for Kappa hhv. Lambda). Krav til bias for κ/λ -ratio ud fra kriterie 2 er lempeligt (77 %), mens det ud fra kriterie 1 er 4,0 % eller evt. 6,0 %.

Opstilling af krav til målekorrekthed (bias) giver bedst mening, hvis der kan "defineres en sandhed".

På grund af heterogenitet af de monoklonale Kappa- og Lambda-molekyler er international standardisering og etablering af referencemateriale vanskeligt. Desuden ses variationer på tværs af forskellige udstyr, selv med samme assay. Krav til bias hhv. total error (TE) kan derfor indtil videre ikke forventes at fungere på tværs af udstyr og metoder.

Det enkelte laboratorium kan selv opstille krav/mål for bias og TE til den løbende kvalitetssikring af egen analysemetode for Kappa, Lambda og κ/λ -ratio.

Referencer

1. Kaplan LA. Determination and application of desirable analytical performance goals: the ISO/TC 212 approach. *Scan J Clin Lab Invest* 1999; 59: 479-82.
2. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus statement from the 1st strategic conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:833-5.
3. Carobene A. Reliability of biological variation data available in an online database: need for improvement. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:871-7.
4. Bartlett WA, Braga F, Carobene A, Coskun A, Prusa R, Fernancez-Calle P, et al. A checklist for critical appraisal of studies of biological variation. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:879-85.
5. Hansen CT. Performance goals for immunoglobulins and serum free light chain measurements in plasma cell dyscrasias can be based on biological variation. *Clin Chem Lab Med* 2016;54(6):1031-3. *Mini review*
6. Braga F, Infusino I, Dolci A, Panteghini M. Biological variation of free light chains in serum. *Clin Chim Acta* 2013;415:10-1.
7. Hansen CT, Münster A-M, Nielsen L, Pedersen P, Abildgaard N. Clinical and preclinical validation of the serum free light chain assay: identification of the critical difference for optimized clinical use. *Eur J Haematol* 2012;89(6):458-68.
8. Katzmann JA, Snyder MR, Rajkumar V, Kyle RA, Therneau TM, Benson JT, Dispenzieri A. Long-term biological variation of serum protein electrophoresis M-spike, urine M-spike, and monoclonal serum Free Light Chain quantification: Implications for monitoring monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2011;57/12:1687-92.
9. Fraser CG, Petersen PH, Larsen ML. Setting analytical goals for random analytical error in specific clinical monitoring situations. *Clin Chem* 1990;36(9):1625-8.
10. Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Libeer J-C, Ricos C. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 8-12.
11. DMSG/DSKB rundsending af prøver til sammenligning af frie lette kæder i Danmark, 2016
12. Jacobs JFM, Tate JR, Merlini G. Is accuracy of serum free light chain measurement achievable? *Clin Chem Lab Med* 2016;54(6):1021-30. *Opinion paper*

13. Rajkumar SV, Dimeopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos M-V, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538–48.
14. Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467-73.
15. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215-24.
16. Katzmann JA, Clark RJ, Abrahams RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, Kyle RA. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free κ and free λ immunoglobulin light chains; relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002;48(9):1437-44.

Bilag 7 - Frie lette kæder og nyrefunktion

Kappa optræder normalt som monomer, mens Lambda hyppigt forekommer som dimer, og derfor udskilles den løbende producerede mængde Kappa hurtigere i nyrerne. Raske personer har således lavere koncentration af Kappa end Lambda i serum, selvom der produceres ca. dobbelt så mange Kappa- som Lambda-kæder. Det internationalt mest anvendte interval for K/L-ratio i serum, som gælder Freelite fra The Binding Site (med nefelometri), har en median på 0,59 (0,26-1,65); dette interval er et såkaldt diagnostisk interval ("100 % referenceinterval"), med et tilsvarende 95 % referenceinterval på 0,3-1,2 (1).

Ved nedsat nyrefunktion reduceres forskellen i renal clearance, hvorved K/L-ratio øges. Denne ændring i K/L-ratio ses ved anvendelse af Freelite, og det er foreslået at ændre intervallet for K/L-ratio ved nedsat nyrefunktion til 0,37-3,10 med medianen 1,12 ved anvendelse af Freelite (2).

Studier af Hutchison et al. har vist, at specificiteten mht. diagnosticering af myelomatose øges med brug af det ændrede interval for K/L-ratio hos nyrepatienter, uden tab af sensitivitet (2,3). Et studie af Palladini et al. har vist, at for patienter med AL-amyloidose forbedres den diagnostiske sensitivitet for Lambda-kloner med det ændrede interval, mens sensitiviteten for Kappa-kloner nedsættes (4).

Ved anvendelse af N Latex FLC fra Siemens ses der ikke den forventede ændring af K/L-ratio ved nedsat nyrefunktion (5,6), og som Carr-Smith et al. formulerer det: "Currently there is no explanation for this" (7).

Referencer

1. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, Kyle RA. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free κ and free λ immunoglobulin light chains; relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002;48(9):1437-44.
2. Hutchison CA, Harding S, Hewins P, Mead GP, Townsend J, Bradwell AR, Cockwell P. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1684-90.
3. Hutchison CA, Plant T, Drayson M, Cockwell P, Kountouri M, Basnayake K, Harding S, Bradwell AR, Mead G. Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC Nephrology* 2008;9:11-18.
4. Palladini G, Milani P, Foli A, Basset M, Russo F, Bosoni T, Pirolini L et al. The impact of renal function on the clinical performance of FLC measurement in AL amyloidosis. *Clin Chem Lab Med* 2016;54(6):939-45.
5. Jacobs JF, Hoedemakers RM, Teunissen E, Te Velthuis H. N Latex FLC serum free light chain assays in patients with renal impairment. *Clin Chem Lab Med* 2014;52(6):853-9.
6. Kennard A, Hawley C, Tate J, Klingberg S, Pretorius C, Hutchison C, Mollee P. Comparison of Freelite™ and N Latex serum free light chain assays in subjects with end stage kidney disease on haemodialysis. *Clin Chem Lab Med* 2016;54(6):1045-52.
7. Carr-Smith HD, Jenner EL, Evans JA, Harding SJ. Analytical issues of serum free light chain assays and the relative performance of polyclonal and monoclonal based reagents. *Clin Chem Lab Med* 2016;54(6):997-1003.

Bilag 8 - Hevylite-assayet

Hevylite (Binding Site, Birmingham, UK) er et assay, der kan kvantificere de individuelle let-kædetyper af hver immunglobulin-klasse separat. Undertyperne bestemmes ved hjælp af specifikke polyklonale antistoffer rettet mod bindingen mellem den tunge- og den lette Ig-kæde. Bestemmelse af de to let-kæde typer giver muligheden for at udregne ratioen mellem disse (fx. IgAK/IgAL), hvilket formentligt kan give diagnostisk information om en monoklonal produktion. Ratioen har også været foreslået som redskab til monitorering af sygdom og som en prognostisk markør.

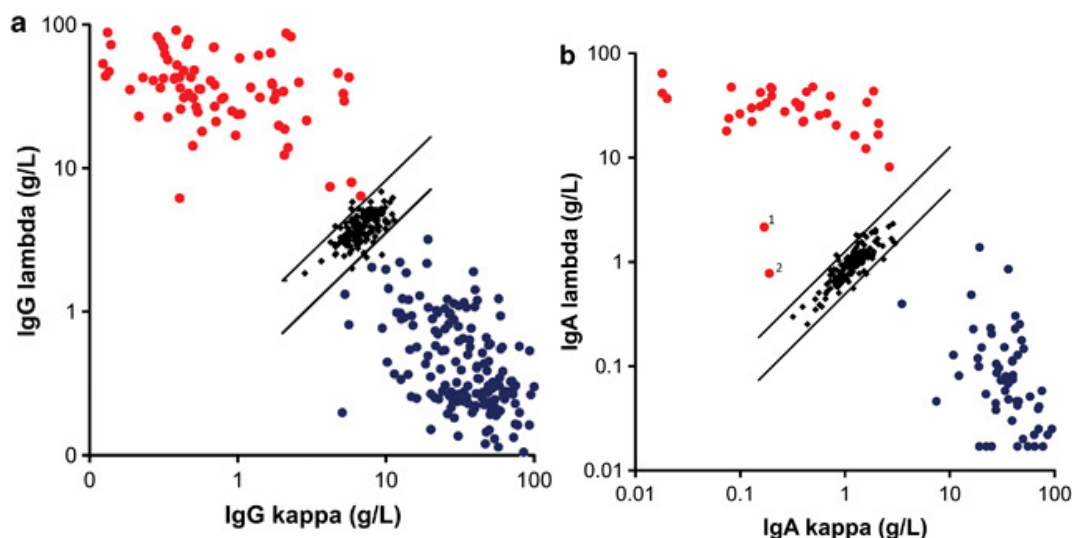
Referenceinterval

Flere studier har undersøgt heavy/light chain (HLC) ratioer for de enkelte immunglobuliner på normale bloddonorer og fundet referenceintervaller, som benyttes i artiklerne (1,2,9). Binding Site selv opgiver nogle anbefalede referenceintervaller på deres hjemmeside, som bliver benyttet i andre studier (3,7,8). Dermed varierer de anvendte referenceintervaller fra studie til studie.

Diagnostisk sensitivitet

I et studie på 999 MGUS patienter blev serum HLC ratioen retrospektivt bestemt med henblik på at undersøge den diagnostiske sensitivitet af assay'et (1). En abnorm ratio blev fundet i 66 % af patienterne, men andelen var afhængig af isotypen: en abnorm ratio blev fundet i 56 % af patienterne med IgG-protein, i 97 % af patienterne med IgA og i 90 % af patienterne med IgM. I dette studie blev en abnorm ratio også fundet at være en uafhængig risikofaktor for sygdomsprogression til myelomatose (MM).

I et andet studie blev HLC koncentrationen målt i 339 ny-diagnosticerede MM patienter, hvoraf 245 havde IgG isotype (a, figur nedenfor) og 94 havde IgA isotype (b) (2). Deres koncentration blev holdt op i mod henholdsvis 129 og 138 raske bloddonorer (sorte dots). Alle MM patienterne havde HLC ratioer udenfor 95 % CI for bloddonorenes range.



Serum HLC concentrations in patients with multiple myeloma. (a) 166 IgGk (blue circles) and 79 IgGλ (red circles). (b) 60 IgAk (blue circles) and 34 IgAλ (red circles).

Individual results from blood donor samples and 95% confidence limits (diagonal lines) are shown. Concentrations of lambda FLCs in samples 1 and 2 in Figure 2b were 103 000 and 8500 mg/l, respectively.

I et studie med 156 ny-diagnosticerede MM patienter kunne HLC ratioen kvantificeres i alle

patienter, mens en kvantificering af immunglobulin niveauet ikke kunne foretages på elektroforeseen hos 46 % (26/56) med IgA og hos 4 % (4/100) med IgG, eftersom fraktionen var sløret af andre overliggende proteiner (3).

Boyle et al. (4) undersøgte diagnostiske prøver fra 157 IgA MM patienter. I 16 af 65 patienter med beta-migration kunne M-komponenten ikke kvantificeres på elektroforese. Fjorten af disse 16 patienter havde forhøjet total IgA, mens de to resterende patienter havde normal total IgA. HLC ratioen blev fundet abnorm i alle patienter. I 13/76 patienter med gamma-migration kunne Mkomponenten ikke udmåles med elektroforese og i 12 af disse patienter fandtes et abnorm total IgA. HLC ratioen var abnorm i alle 13 patienter.

Detektion af tilbagefald/residual sygdom

Casestudier har vist, at en abnorm HLC ratio kan detektere tilbagefald af sygdom, før det kunne opdages med elektroforese og/eller immunfiksation (IF).

I en case story af Donato et al. (5) beskrives en 71 årig kvinde kendt med IgAk MM migrerende i gamma-fraktionen. Hun behandles med autolog stamcelle transplantation med god effekt, men får dog tilbagefald efter 2 år og starter behandling med dexamethason ugentligt. Herpå bedres sygdommen. Der ses faldende total IgA og M-komponenten forsvinder på elektroforesen. Patienten opstarter vedligeholdelsesbehandling med pamidronate månedligt og revlimid dagligt.

Elektroforesen og IF normaliseres under denne behandling, men total IgA er stigende. Klinikkerne kan ikke vurdere, om der er tale om en monoklonal eller polyklonal produktion. Patienten får dog tiltagende knoglesmerter og progression af sygdom erkendes med MR skanning.

Retrospektiv undersøgelse af patientens HLC ratio viser, at hun ikke har haft normalisering af denne på noget tidspunkt igennem hendes sygdomsforløb. Ratioen er stigende i den sidst beskrevne progression af hendes sygdom, hvor altså kun total IgA er abnorm. HLC ratioen ville altså have kunnet give en mistanke om en monoklonal IgA produktion.

I en artikel af Lakomy et al. (6) blev 16 IgA MM patienter undersøgt (alle med migration i gammafraktionen).

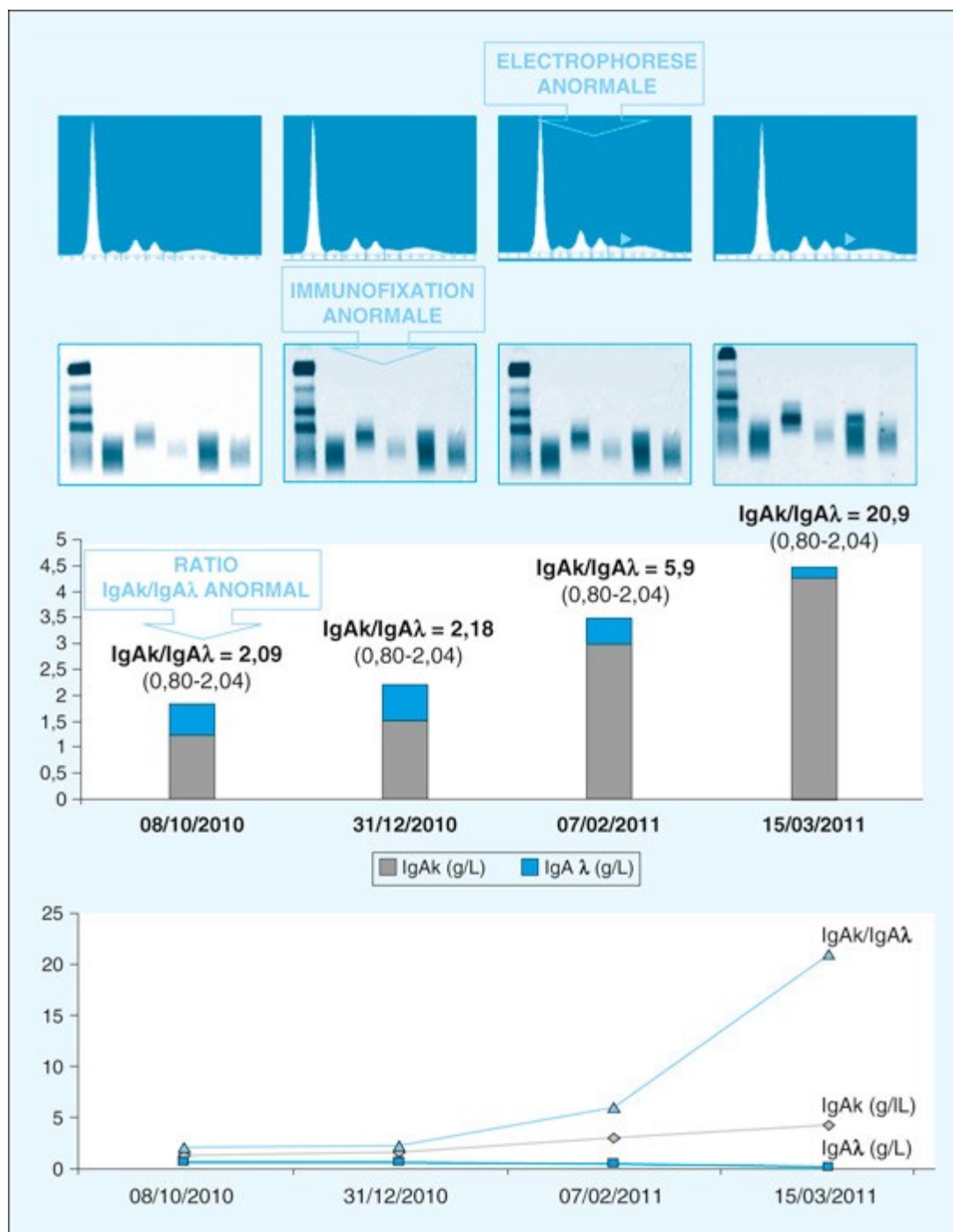
I prøver fra patienter med totale IgA niveau under 10 g/L blev Hevylite assay'en udført.

Der blev fundet en god overensstemmelse mellem det totale IgA niveau og summen af de to IgA letkæde typer kvantificeret af Hevylite assay'et. En follow-up prøve fra hver patient blev analyseret med assay'et og sammenlignet med resultater fra elektroforesen og IF (desværre fransk tabel):

Nombre de patients	Électrophorèse des protéines sériques	Immunofixation sérique	Ratio HevyLite IgAk/IgAλ
7	Pic monoclonal	Positive	Anormal
4	Pas d'anomalie monoclonale détectable	Négative	Normal
4	Pas d'anomalie monoclonale détectable	Positive	Anormal
1	Pas d'anomalie monoclonale détectable	Négative	Anormal

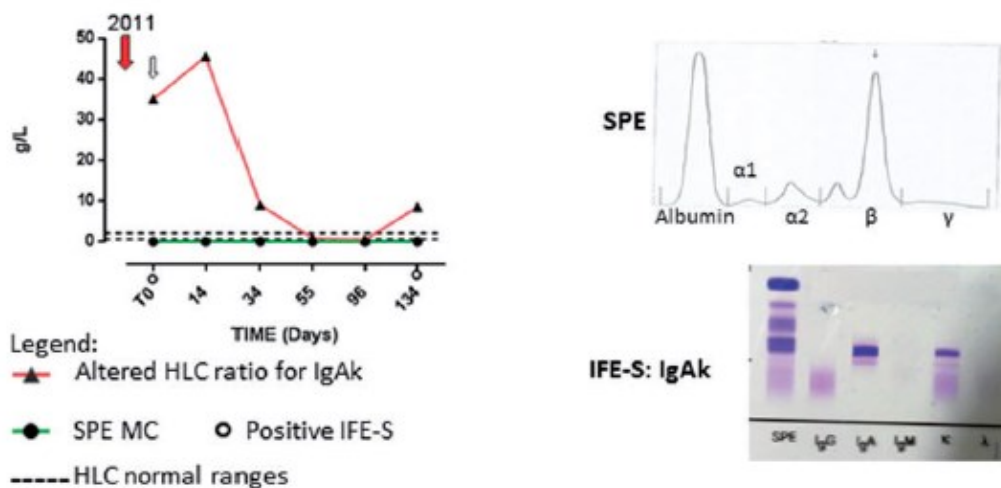
Den nederste patient i skemaet er en patient som på baggrund af den normale elektroforese og IF blev bedømt i komplet remission. HLC ratioen målt med Hevylite assay'et var dog abnorm.

Efterfølgende blodprøver blev testet med alle tre metoder, som vist i nedenstående figur. I artiklen angives, at HLC ratioen kunne opdage tilbagefaldet af sygdom 2,5 måned før det blev synligt på IF (dog kan man diskutere om IF'en ikke også allerede er positiv d. 08/10/2010):



Beaumont-Epinette et al. (7) undersøgte diagnostiske og follow-up blodprøver på 15 MM patienter (7 IgG og 5 IgA patienter) med elektroforese, total IG'er og HLC ratioer. Der blev fundet en god overensstemmelse mellem de tre metoder i både de diagnostiske og follow-up prøver. Dette var også tilfældet for to patienter, som havde migration i beta-fraktionen. Kun en enkelt patient havde en enkelt HLC ratio måling, som var afvigende fra de andre målte værdier. Fire patienter havde tilbagefald af sygdom og i 3 (2 IgA og 1 IgG) af disse 4 patienter kunne HLC ratioen detektere tilbagefaldet tidligere end ændringer kunne detekteres med elektroforese (henholdsvis 1, 1 og 2 måneder før). Der blev dog ikke udført IF på disse patienter. Konklusionen fra forfatterne selv var, at Hevylite assay'et ikke tilførte noget, som de andre metoder ikke kunne.

Paolini et al. (8) undersøgte serielle blodprøver på 28 MM patienter (IgG og IgA). Elektroforetisk kvantificering var problematisk i 11/28 patienterne; i 5 patienter grundet migration i beta-fraktionen (4 IgA patienter). I alle patienter kunne en HLC ratio udregnes. I én patient kunne tilbagefaldet erkendes med en abnorm HLC ratio før det kunne detekteres med andre metoder. De forskellige undersøgelser på denne patient er vist i figuren nedenfor. Der ses en konstant abnorm HLC ratio igennem hele forløbet (6. kolonne i skemaet):



	FLCκ mg/L (3.3 - 19.4)	FLCλ mg/L (5.71 - 26.3)	FLCκ/λ (0.26 - 1.65)	IgAk g/L (0.57 - 2.08)	IgAλ g/L (0.44 - 2.04)	IgAk/IgAλ (0.78 - 1.94)	IgATot g/L (0.85-4.1)
T0	14.5	<0.01	NQ	35.129	0.19	184.8895	27.1
T14	13.96	<0.01	NQ	45.59	0.18	253.2778	27.52
T34	8.19	5.01	1.63	9.045	0.185	48.89	5.11
T55	8.47	4.8	1.76	0.855	0.359	2.38	0.89
T96	7.5	<0.01	NQ	0.421	0.206	2.04	0.43
T134	10.99	4.76	2.31	8.546	0.349	24.49	5

Katzmann et al. [9] undersøgte diagnostiske- og efter-behandlingsprøver i 32 IgG og 30 IgA MM patienter med elektroforese, IF og HLC ratioer. Alle IgA'er var beta-migrerende. Overensstemmelse mellem de forskellige metoder er vist her for henholdsvis IgM og IgA patienter:

Table 2. IgG MM: SPEP and HLC-pair ratios in diagnostic and posttreatment sera.^a

Sample	n	Abnormal SPEP ^b	Abnormal HLC-pair ratio
Diagnostic serum samples	32	31 (97)	30 (94)
Posttreatment serum samples	123	104 (85)	106 (86)
All samples	155	135 (87)	136 (88)

^a Data are n (%).
^b M-spike or small, fuzzy band.

Table 3. IgA MM: abnormal HLC-pair ratios, SPEP M-spike, positive IFE, and increased total IgA by nephelometry results in diagnostic and monitoring samples.^a

Sample	n	SPEP M-spike quantified	Abnormal HLC-pair ratio	Positive IFE	Total IgA above RI ^b
Diagnostic serum samples	30	23 (78)	29 (97)	30 (100)	26/30 (87)
Posttreatment serum samples	119	18 (15)	54 (45)	56 (50) ^c	48 (40)
All serum samples	149	41 (28)	83 (56)	86 (61) ^d	74 (50)

^a Data are n (%).
^b >356 mg/dL.
^c n = 111.
^d n = 141.

Der ses, at HLC ratioen er mere sensitiv end elektroforesen i de beta-migrerende IgA MM patienter og på linje med sensitiviteten af IF. For IgM patienterne bidrager HLC ratioen dog ikke med mere information end elektroforesen.

Prognostisk og prædiktiv markør

Patienter, som præsenterer sig med en abnorm HLC ratio, har i flere studier vist sig at have en dårligere overlevelse end patienter med en normal ratio. Ludwig et al. (3) (N=156) fandt en signifikant lavere 5-års overlevelse på 33 % i patienter med abnorm ratio i forhold til 59 % i patienter med normal ratio. Den prognostiske værdi var uafhængig af beta-2M niveauet. Ydermere fandt de en signifikant kortere overlevelse hos de patienter (N=50), hvor ratioen forblev abnorm igennem behandlingen i forhold til patienter, hvor ratioen normaliserede sig under behandlingen (N=19). I et andet nyere studie blev den prognostiske værdi af HLC ratioen undersøgt i 490 patienter, som var inkluderet i et randomiseret fase III multicenter studie, hvori værdien af tandem autolog eller allogene transplantation efter en upfront autolog stamcelle transplantation blev undersøgt (10). Man fandt her en fuldstændig overensstemmelse mellem resultatet af HLC ratioen og elektroforesen med en 100 % sensitivitet og 100 % negativ prædiktiv værdi af HLC remission for identifikation af komplet/ ikke-komplet remission på elektroforese. Ydermere så man, at HLC remission var en prædikator for længere PFS og OS uafhængig af studie-arm, elektroforetisk respons og stadie af sygdom.

Bradwell et al. (2) undersøgte 339 patienter med IgG og IgA MM behandlet med bortezomid og dexamethason eller VAD som induktionsterapi og fandt, at HLC ratioen delt ved median værdien var signifikant korreleret til PFS uafhængigt af diverse andre potentielle prædiktive markører.

Konklusion

På baggrund af litteraturen ser Hevylite metoden sammenfattende ud til at kunne være brugbar som diagnostisk redskab hos patienter, hvis M-komponenter er problematiske at kvantificere på elektroforesen pga. overliggende proteiner som fx. hos patienter med IgA gammopatii beliggende i beta-regionen. Dog har ingen studier vurderet værdien af Hevylite assay'et i forhold til værdien af kapillærelektroforese med immun-subtraktion. Immunsutraktion kan identificere selv små Mkomponenter i beta-regionen og anvendes bredt i Danmark til at kvantificere de beta-migrerende Mkomponenter. Hvorvidt Hevylite assay'et tilfører yderligere værdi i forhold til immunsutraktion er således uvist. Data på HLC ratioens værdi som metode til monitorering og detektion af tilbagefald af sygdom er på case niveau. Værdien af assay'et synes igen at være størst for patienter med beta-migrerende Mkomponenter, hvor sensitiviteten er næsten lige så stor som med IF. Studier har vist, at tilbagefald af sygdom i enkelte patienter kan detekteres førend det kan detekteres på IF og elektroforese, men dog kun 1-2 måneder før. Sammenfattende synes værdien af HLC ratioen derfor at være lille og forbeholdt en meget lille gruppe af patienter. På baggrund af den foreliggende litteratur vurderes der derfor ikke at være belæg for brug af Hevylite assay'et til monitorering af patienter. HLC ratioens værdi som prognostisk/prædiktiv markør kunne også være interessant, men flere studier synes nødvendige før værdien heraf kan endeligt vurderes. Sammenfattende er der på nuværende tidspunkt ikke god evidens for anvendelsen af metoden i klinisk praksis.

Referencer

1. Krazmann et al., Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS, *Leukemia*, 2013
2. Bradwell et al., Prognostic utility of intact immunoglobulin Ig'k/Ig'l ratios in multiple myeloma patients, *Leukemia*, 2012
3. Ludwig et al., Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiplemyeloma patients, *Leukemia*, 2013
4. Boyle et al., IgA Kappa/IgA Lambda Heavy/Light Chain Assessment in the Management of Patients With IgA Myeloma, *Cancer*, 2014
5. Donato et al., A 71-year-old woman with multiple myeloma status after stem cell transplantation, *Clin Chemistry*, 2011
6. Lakomy et al., Evaluation of the new Hevylite™ IgA assay for the diagnosis and follow-up of monoclonal gammopathies, *Ann Biol Clin*, 2013
7. Beaumont-Epinette et al., Heavy/light chain specific immunoglobulin ratios provides no additional information than serum proteins electrophoresis and immunofixation for the diagnosis and the follow-up of intact immunoglobulin multiple myeloma patients, *Pathologie Biologie*, 2015
8. Paolini et al., Comparison of Hevylite™ IgA and IgG assay with conventional techniques for the diagnosis and follow-up of plasma cell dyscrasia, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2015
9. Katzmann et al, Monitoring IgA multiple myeloma: immunoglobulin heavy/light chain assays. *Clin Chemistry*, 2015
10. D'Souza et al., Heavy/light chain ratio normalization prior to transplant is of independent prognostic significance in multiple myeloma: a BMT CTN 0102 correlative study, *Bjh correspondence*, 2016