

Whitepaper

FREELITE Assays

Interpretation der Ergebnisse und Risiko
einer Patientenfehlklassifizierung

siemens-healthineers.de/plasma-protein



Dr. Lenard Müller
Dr. John Mitsios

Einleitung

Seit ihrer Einführung im Jahr 2002 sind Tests auf freie Leichtketten (Free Light Chains, FLC) zu einem wesentlichen Laborparameter für die Diagnose und Behandlung monoklonaler Gammopathien geworden. [1] Die meisten von der International Myeloma Working Group (IMWG) und anderen Gesellschaften publizierten Empfehlungen für die Diagnose und Behandlung monoklonaler Gammopathien beziehen sich auf die freien Leichtketten im Serum (Serum Free Light Chains, sFLC) – und dabei hauptsächlich auf das Verhältnis zwischen involvierten und nicht involvierten FLC – als Indikator und Unterscheidungsmerkmal für die verschiedenen Stadien monoklonaler Gammopathien. [2–6]

Derzeit sind mehrere Assays zur Bestimmung von sFLC im Handel erhältlich, wovon einige mit polyklonalen Antikörpern und andere mit monoklonalen Antikörpern arbeiten. [7] Darüber hinaus sind zwei Nachweismethoden – nephelometrisch und turbidimetrisch – verfügbar, die mit verschiedenen sFLC-Assays verwendet werden können.

Diese zwei Methoden nutzen unterschiedliche Nachweis- und Quantifizierungsprinzipien zur Messung von Veränderungen der Trübe einer Probe, die auf eine Aggregation von Antikörper und Antigen zurückzuführen sind. Bei der Nephelometrie wird die durch die Partikel in der Lösung verursachte Lichtstreuung gemessen, welche mit zunehmendem Trübungsgrad ansteigt, während die Turbidimetrie die durch die Partikel in der Lösung blockierte Lichttransmission bestimmt, welche mit zunehmender Trübe abnimmt. Die Nephelometrie hat bekanntermaßen einen Sensitivitätsvorteil gegenüber der Turbidimetrie, wodurch niedrigere Bestimmungsgrenzen (Limits of Quantitation, LoQ) möglich sind als mit der Turbidimetrie (Abbildung 1).

Der FREELITE Assay, ein polyklonaler Assay von The Binding Site, kann wahlweise mit nephelometrischen Systemen (z. B. BN II System von Siemens Healthineers oder Beckman Coulter IMMAGE 800 System) oder turbidimetrischen Systemen (The Binding Site SPA PLUS und OPTILITE Systeme, Roche COBAS c und COBAS Integra Systeme, Hitachi 911/912/917/Modular P Systeme, ADVIA Chemistry Systeme von Siemens Healthineers) verwendet werden. Die erste Empfehlung zum Testen auf freie Leichtketten bei Patient*innen mit multiplen Myelom wurde 2009 publiziert und verweist auf das nephelometrische BN II System von Siemens Healthineers sowie die FREELITE Kappa- und Lambda-Assays [7], die zum damaligen Zeitpunkt die einzigen im Handel erhältlichen Assays für freie Leichtketten als Referenz für die Etablierung der empfohlenen diagnostischen Cutoff-Werte waren. [8] In allen darauffolgenden Aktualisierungen dieser Richtlinie [2] und in anderen Richtlinien, in denen Tests der freien Leichtketten bei Patient*innen mit multiplen Myelom erwähnt werden [3–6], wird jedoch auf die Erwähnung oder Empfehlung spezifischer Assays oder Systeme verzichtet. Gleichwohl wird in den 2014 veröffentlichten aktualisierten Kriterien für die Diagnose des multiplen Myeloms [2] sowie den ESMO Clinical Practice Guidelines für Diagnose, Behandlung und Nachkontrolle [3] eindeutig die automatisierte Nephelometrie als Technologie der Wahl für die Messung freier Leichtketten in Serum empfohlen. Das derzeitige Fehlen eines internationalen Standardmaterials macht es jedoch unmöglich, einen „wahren“ sFLC-Wert für eine Probe (Kappa, Lambda oder Ratio) zu definieren. Aus diesem Grund muss die Interpretation der Ergebnisse jedes FLC-Assays im Zusammenhang mit dem klinischen Erscheinungsbild und anderen Laborbefunden der Patient*innen erfolgen.

Freie Leichtketten – untere messbare Konzentration

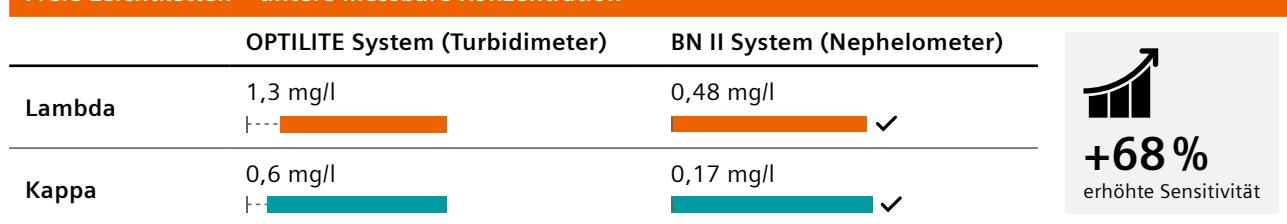


Abbildung 1: Bestimmungsgrenze der FREELITE Assays auf einem Turbidimeter (OPTILITE System von The Binding Site) und des N Latex FLC Assays auf einem Nephelometer (BN II System von Siemens Healthineers). Quelle: Gebrauchsanweisung der Hersteller.

FREELITE Assays: Ergebnisinterpretation und Risiko

Poly- oder monoklonale Antikörper: Macht es einen Unterschied?

Für die Quantifizierung freier Leichtketten sind mehrere Assays erhältlich. [7] Einige davon nutzen polyklonale Antikörper, andere monoklonale Antikörper zur Bestimmung der freien Leichtketten in den Probentypen Serum, Urin und Liquor (Cerebrospinalflüssigkeit, CSF). Dabei muss betont werden, dass die Wahl polyklonaler oder monoklonaler Antikörper für den Nachweis von sFLC Auswirkungen auf die Assayergebnisse haben kann. Caponi et al. zeigten 2018 [9], dass der Polymerisierungsstatus der freien Leichtketten das Ausmaß bestimmt, in dem freie Leichtketten durch die verschiedenen Assays nachgewiesen werden. So weisen polyklonale FREELITE Assays und monoklonale N Latex FLC Assays FLC-Kappa-Monomere und -Dimere mit unterschiedlichen Sensitivitäten nach. FREELITE Assays weisen hauptsächlich FLC-Lambda-Dimere nach, N Latex FLC Assays hingegen hauptsächlich FLC-Lambda-Monomere. Die Signifikanz dieser Unterschiede kann in Vergleichsstudien zwischen den Assays beobachtet werden, welche zu dem Ergebnis kommen, dass die Assays nicht austauschbar eingesetzt werden können, da sie unterschiedliche Ergebnisse liefern. [10–15] Diese Unterschiede erklären möglicherweise auch andere signifikante Unterschiede zwischen den polyklonalen FREELITE Assays und den monoklonalen N Latex FLC Assays. Trotzdem sind die Referenzbereiche gut vergleichbar.

Die numerischen Ergebnisse können, insbesondere bei pathologischen Proben, unterschiedlich sein, aber die klinische Konkordanz ist für eine korrekte Ergebnisinterpretation und Überwachung von besonderer Wichtigkeit. Während die FREELITE Assays als erste Methode klinisch validiert wurden, ist für die meisten der jüngst eingeführten sFLC-Assays inzwischen die Konkordanz mit den FREELITE Assays bestätigt worden, womit eine Umstellung auf eine neue Methode als Ersatz für FREELITE nach einem „Baselining“ möglich ist. [16] Es ist wichtig zu beachten, dass ein Baselining auch beim Wechsel des Analysesystem-Typs erforderlich ist, selbst wenn der verwendete Assay der gleiche bleibt.

Einfluss des Analysesystems auf die Ergebnisse von FLC-Tests

Zwar wurden die Unterschiede zwischen den FLC-Assays, insbesondere die Nichtaustauschbarkeit von FREELITE und N Latex FLC Assays, in zahlreichen Publikationen berichtet, aber der Einfluss des Systems und der Nachweismethode (Nephelometrie oder Turbidimetrie), die für einen Assay gewählt wurden, und deren Auswirkungen auf die klinische Entscheidungsfindung wurden bislang deutlich unterschätzt. Darüber hinaus könnte auch das polyklonale Testprinzip der FREELITE Assays zu der beobachteten starken Variabilität beitragen. [17]

Die Referenzbereiche der FREELITE Assays, ursprünglich etabliert auf einem nephelometrischen BN II System im Jahr 2002 [9], wurden für andere Plattformen unverändert übernommen, wie in der Gebrauchsanweisung des Herstellers beschrieben.

Vergleichsstudien der FREELITE Assays auf verschiedenen Systemen zeigen jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen. Beim Vergleich der FREELITE Assays auf einem BN II System (Nephelometer) gegenüber einem OPTILITE System (Turbidimeter) wurde eine Abweichung von +10,9 % für den FREELITE Kappa-Assay und von +17,7 % für den FREELITE Lambda-Assay zwischen den zwei Systemen berichtet. [18] Diese Ergebnisse sind von besonderem Interesse, wenn man bedenkt, dass klinische Entscheidungsfindungspunkte wie die Obergrenze des Referenzbereichs oder die „Regel 100“ für die Risikostratifizierung des multiplen Myeloms [2] unter Verwendung von FREELITE Assays auf dem BN II System etabliert wurden. Aktuell werden die FREELITE Assays häufig mit dem OPTILITE Turbidimeter gemessen. Werden die Systemabweichungen berücksichtigt, ist es möglich, dass Patient*innen mit Ergebnissen nahe an klinischen Entscheidungspunkten falsch klassifiziert werden, wenn FREELITE Assays in Kombination mit dem OPTILITE System verwendet werden. [22–25]

Ein Vergleich der FREELITE Assays auf einem nicht definierten System von The Binding Site (Turbidimeter) mit den FREELITE Assays auf einem Beckman Coulter IMMAGE 800 System (Nephelometer) ergab ebenfalls eine Abweichung von –21,4 % für FLC-Kappa (κ FLC), –10,9 % für FLC-Lambda (λ FLC) und –10,5 % für den FLC-Quotienten sowie Passing-Bablok-Steigungen von 0,802 für κ FLC, 0,888 für λ FLC und 0,781 für den FLC-Quotienten. [19] Die Autoren dieser Studie sind der Ansicht, dass diese Ergebnisse eine „sehr gute Konkordanz“ anzeigen, obwohl solche Abweichungen in einer Passing-Bablok-Analyse im allgemeinen Verständnis als erheblich angesehen würden; insbesondere basierend auf der Annahme, dass identische Refrenzbereiche in den jeweiligen Packungsbeilagen angegeben sind.

Die unterschiedliche Wertelage der FREELITE Assays auf verschiedenen Analysesystemen kann auch recht einfach in Ringversuchen (External Quality Assessment, EQA) nachverfolgt werden, bei denen für jede System-/Assay-Kombination eine separate Referenzgruppe ausgewiesen wird, um das Problem numerischer Diskrepanzen in einzelnen Proben zu umgehen. Eine andere Quelle ist das FDA-510(k)-Memorandum für FREELITE Assays auf dem OPTILITE System, in dem es heißt: „Vor dem Wechsel von Assay oder System MUSS das Labor die Baseline-Werte für Patienten, die seriell überwacht werden, bestätigen“. (accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/k150658.pdf).

N Latex FLC Assays werden auf dem BN II System, dem BN ProSpec System und dessen Nachfolger, dem Atellica NEPH 630 System (allesamt Nephelometer von Siemens Healthineers) sowie dem Atellica CH 930 Analyzer, einem turbidimetrischen Analysesystem von Siemens Healthineers, eingesetzt. Anders als bei den mit verschiedenen Analysesystemen erzielten Ergebnissen des FREELITE Assays (wie oben beschrieben), konnte für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse des N Latex FLC Assays auf verschiedenen Systemen von Siemens Healthineers in internen Methodenvergleichsstudien eine hohe Einheitlichkeit gezeigt werden (Passing-Bablok-Regressionssteigung von 0,914 bis 1,01, Achsenabschnitt von –0,07 bis +0,12 mg/l und Pearson-Korrelationskoeffizienten [r] von 0,970 bis 0,999

in Vergleichen zwischen BN II System und BN ProSpec System sowie BN ProSpec System und Atellica CH 930 Analyzer). Um diskordante Ergebnisse zu vermeiden, dürfen N Latex FLC Assays nicht mit Analysesystemen von Drittanbietern verwendet werden.

Die Auswirkungen von Assay- und Systemkombinationen auf Behandlung und klinische Entscheidungsfindung

Eine kürzliche erfolgte Auswertung von 27 Ringversuchen (EQA) zwischen 2015 und 2020 in 11–16 Krankenhauslaboren in Schweden berichtete Ergebnisse für verschiedene Assay-/Plattform-Kombinationen (FREELITE Assays/Beckman System, FREELITE Assays/Roche System, FREELITE Assays/Siemens Healthineers Systeme und N Latex FLC Assays/Siemens Healthineers Systeme). Diese Auswertung ergab, dass die für κ FLC verwendeten Kombinationen aus Reagenzien und Geräteplattformen eine akzeptable Korrelation zwischen 0,81 und 1,2 aufwiesen; für λ FLC hingegen konnte keine klare Konkordanz zwischen den verschiedenen Assay-/Plattform-Kombinationen beobachtet werden. [20] Diese Ergebnisse zeigen eindeutige kombinationspezifische Unterschiede für FLC-Messungen auf, welche aktuell bei der Anwendung der etablierten klinischen Entscheidungspunkte für FLC bei Verwendung von FREELITE Assays nicht berücksichtigt werden. Die Autoren dieser Studie schlussfolgerten, dass Ärztinnen und Ärzte auf diese Implikationen aufmerksam gemacht werden sollten, insbesondere darauf, dass die Wahl der Reagenz-/System-Kombinationen Auswirkungen auf die Behandlung der Patient*innen und klinische Entscheidungen haben kann. In einer Studie zum Vergleich von N Latex FLC und FREELITE Assays auf einem Nephelometer sowie von FREELITE Assays auf einem Turbidimeter (Roche COBAS 6000 System) schlossen die Autoren ebenfalls, dass die „Überwachung des Krankheitsverlaufs die Durchführung der FLC-Analyse auf der gleichen Plattform mit den gleichen Reagenzien erfordert“, da basierend auf der verwendeten Assay-/System-Kombination beträchtliche Diskrepanzen bei der Klassifizierung der Patient*innen beobachtet wurden. [17]

Nutzen der FREELITE-Assay-Referenzbereiche

Das Ausmaß, in dem die Referenzbereiche für κ FLC, λ FLC und den FLC- κ/λ -Quotienten durch den verwendeten Assay und das verwendete System beeinflusst werden, wurde anhand der FREELITE Assays in einer von Cotton et al. im Jahr 2018 publizierten Studie gut illustriert. [16] Die Autoren betonten die ausgeprägten Unterschiede der Verteilung für alle drei FLC-Parameter, wie in Abbildung 2 dargestellt, und hoben die potenziellen Auswirkungen auf die resultierende Klassifizierung der Patient*innen hervor.

Die vier untersuchten Plattformen – The Binding Site SPAPLUS, The Binding Site OPTILITE, Roche COBAS 6000 c601 und Beckman Coulter IMMAGE 800 Systeme – zeigten keine zufriedenstellende Übereinstimmung des κ FLC-Referenzbereichs, wie durch den Hersteller des FREELITE Assays beschrieben, was zu einer Fehlklassifizierung von bis zu 23 % der Patient*innen führe (mit dem Roche COBAS 6000 System). Da λ FLC-Werte nicht so stark durch die Plattform beeinflusst wurden, ergab sich für den FLC-Quotienten eine Fehlklassifizierungsrate von bis zu 8,7 % (mit dem OPTILITE System). Nur das Nephelometer (Beckman Coulter IMMAGE 800 System) gab die Referenzbereiche der FREELITE Assays zufriedenstellend wieder und führte damit zu keinen Fehlklassifizierungen.

In einem kürzlich erschienenen Leserbrief wurden auch die große Variabilität der FREELITE-Assay-Referenzbereiche für den FLC-Quotienten in Abhängigkeit vom verwendeten System und das Risiko für Fehlklassifizierungen angesprochen (Abbildung 3). [21]

Nahezu alle Assay-/System-Kombinationen weisen in dieser Studie Referenzbereiche auf, deren Median über der vom Hersteller angegebenen einheitlichen Obergrenze des Normalbereichs für den Referenzbereich (1,65) liegt, was bedeutet, dass mehr als 50 % der Ergebnisse falsch positiv bewertet werden könnten. Die Medianwerte veranschaulichen auch die markanten Unterschiede zwischen den gezeigten Referenzbereichen sowie deren mangelnde Übereinstimmung. Folglich

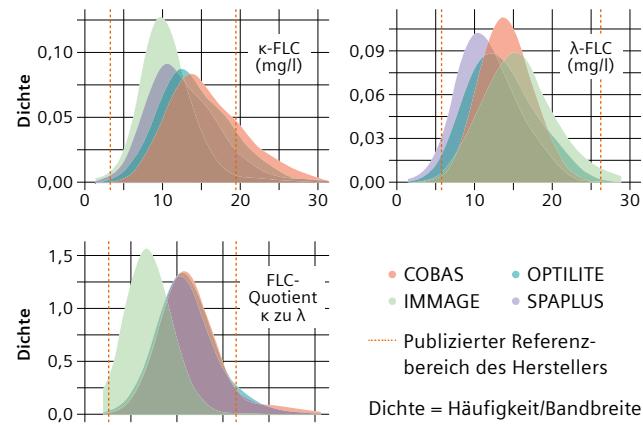


Abbildung 2: Verteilung der Ergebnisse für κ FLC, λ FLC und FLC-Quotienten in Referenzseren. Die Ergebnisse für Serum- κ FLC, λ FLC und -FLC-Quotienten ($n = 126$) in Referenzseren wurde mit den Systemen COBAS, IMMAGE, OPTILITE und SPAPLUS bestimmt und als Funktion der Dichte der Ergebnisse (Dichte = Häufigkeit/Bandbreite) aufgetragen. Aufgeführt sind mit einem von zwei OPTILITE Geräten ermittelte repräsentative Ergebnisse. Die vertikalen gestrichelten Linien geben die vom Hersteller angegebenen unteren und oberen FLC-Referenzgrenzwerte an. Nach Cotten et al., 2018. [16]

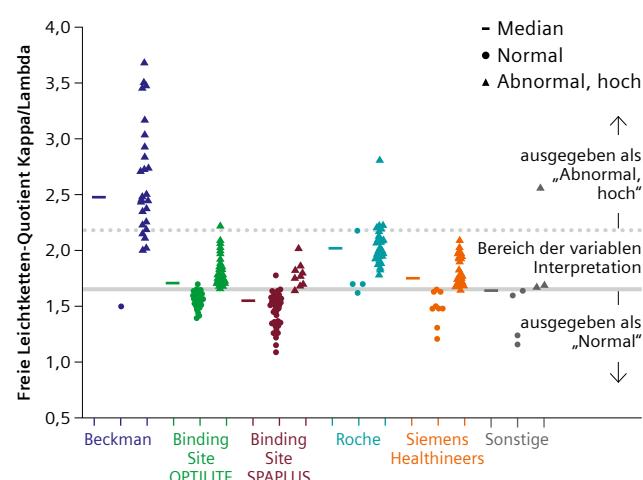


Abbildung 3: Verteilung von FLC-Kappa/Lambda-Quotienten (FLCr) im Serum aus Ringversuchen verschiedener Teilnehmer*innen mit unterschiedlichen Plattformen. Die Nichtübereinstimmung für FLCr lag teilweise an der breiten Verteilung der für diese Probe ausgegebenen Werte, welche zwischen 1,09 und 3,70 lagen. Nach Fink et al., 2023. [21]

geben die Autoren an, „dass in künftigen klinischen Richtlinien auf die Angabe eines assay- oder gerätespezifischen FLCr-RI verzichtet werden sollte und dass Labore die Etablierung des FLCr-RI mit lokalen Patient*innenpopulationen in Zusammenarbeit mit klinischen Teams in Erwägung ziehen sollten“. [21]

Die Feststellung, dass die Referenzbereiche für die FREELITE Assays mehr als 20 Jahre alt und damit möglicherweise nicht mehr klinisch zutreffend sind, wurde bereits 2016 gemacht, als bei 36,4 % der Patient*innen ein abnormaler FLC- κ/λ -Quotient ohne Nachweis einer monoklonalen Gammopathie beobachtet wurde. [22]

Die Bedeutung von Referenzbereichen bei der Klassifizierung von Patient*innen

Eine jüngere Untersuchung der Referenzbereiche der FREELITE Assays für κ FLC, λ FLC und FLC-Quotienten mit dem OPTILITE System kam zu dem Schluss, dass „diese Bereiche sich von den vom Hersteller angegebenen und den in den meisten Studien in der Literatur genutzten unterscheiden, was zu einer Patientenfehlklassifizierung führen kann“. [23]

Darüber hinaus wurde in zwei Studien für FREELITE Assays eine Verschiebung hin zu einem höheren FLC- κ/λ -Quotienten beobachtet (Abbildung 4), was zusätzliche Bedenken hinsichtlich einer Fehlklassifizierung von Patient*innen bei Verwendung des vom Hersteller angegebenen Referenzbereichs von 2002 für den FREELITE Assay nach sich zog. [24, 25]

Minnema et al. [26] merkten dementsprechend in ihrem Kommentar zu den neuen Nieren-Referenzbereichen aus der iStopMM Studie [27] an, dass der Hersteller der FREELITE Assays „eine plattformweite Rekalibrierung durchführen sollte, um die Referenzbereiche für den FLC-Quotienten zurück auf den Stand von 2002 zu bringen“, oder „neue FREELITE Referenzbereiche einführen sollte, nicht nur für Patientinnen und Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion, sondern auch für gesunde Kontrollen“.

Schroeder et al. [28] kamen in ihrer aktuellen retrospektiven Analyse von FREELITE Referenzbereichen mit signifikanter Diskrepanz zwischen angegebenen und tatsächlichen Referenzbereichen zu einem ähnlichen Schluss: „Diese Ergebnisse bekräftigen jüngere Referenzbereichsstudien und die Empfehlungen für eine unabhängige Neubewertung der Intervalle durch Institutionen sowie eine Aktualisierung der internationalen Richtlinien.“

All diese Nachweise deuten klar darauf hin, dass die Verwendung der aktuellen Referenzbereiche vom Hersteller der FREELITE Assays sowie die IMWG-Richtwerte für multiples Myelom [2] auf anderen Plattformen als dem BN II System zu einer Fehlklassifizierung von Patient*innen und möglicherweise falschen Behandlung führen könnte.

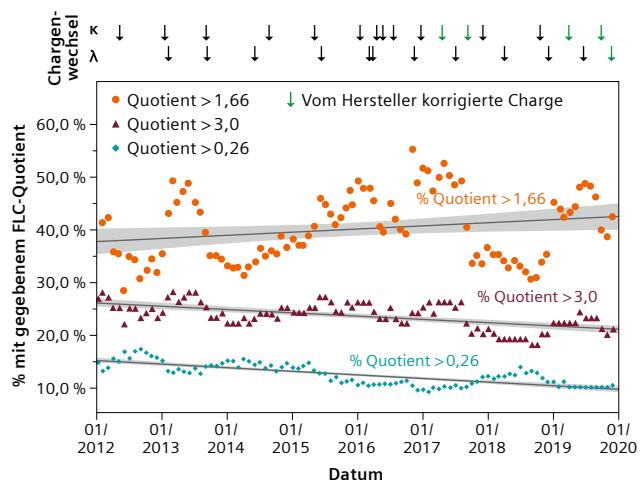


Abbildung 4: Die Meldehäufigkeit des Quotienten der freien Leichtketten im zeitlichen Verlauf zeigt einen zunehmenden Trend hin zu erhöhten abnormalen Quotienten primär im Bereich $>1,66$ bis 3 zwischen 1/2012 und 1/2020. Die obere x-Achse zeigt Chargenänderungen an, einschließlich jener, die durch den Hersteller korrigiert wurden (grüner Pfeil). Die Ausgleichsgerade ist mit ihrem 95 % Konfidenzintervall dargestellt und zeigt signifikante Tendenzen nach unten und oben ($P < 0,0001$). Bei der Häufigkeit der abnormal niedrigen Quotienten ($<0,26$) und der Quotienten oberhalb des Nieren-Referenzbereichs ($>3,0$) zeigt sich jeweils ein Abwärtstrend, während für den Prozentsatz oberhalb des normalen Referenzbereichs ($>1,66$) ein zunehmender Trend erkennbar ist. Nach Murray et al., 2020. [25]

Einfluss der Nierenfunktion auf die FLC-Ergebnisse

Nierenfunktionsstörungen sind unter Patient*innen mit monoklonaler Gammopathie weit verbreitet. Da die Clearance der freien Leichtketten hauptsächlich über die Nieren erfolgt, zieht eine verminderte Nierenfunktion eine zunehmende Anreicherung der freien Leichtketten im Blut nach sich, was große Auswirkungen auf die sFLC-Messwerte hat.

Eine beeinträchtigte Nierenfunktion beeinflusst die Ergebnisse für freie Leichtketten im Serum der polyklonalen FREELITE Assays, insbesondere die für FLC-Lambda, was je nach Nierenstatus der Patient*innen die Anwendung von mindestens zwei verschiedenen Referenzbereichen für den FLC-Quotienten [15, 28, 29] oder komplexe mathematische Prozesse erforderlich macht. [30]

Noch bemerkenswerter ist die Analyse der sFLC-Ergebnisse des FREELITE Assays, die von 6.561 Patient*innen gewonnen wurden, die an der großen iStopMM-Studie teilnahmen, die weder Nierenersatztherapie erhielten, noch einen Nachweis für eine Monoklonalität bei einer eGFR von <60 ml/min hatten. Die Auswertung resultierte in der Anregung, neue Nieren-Referenzbereiche für FLC-Quotienten für FREELITE Assays einzuführen, die abhängig vom Nierenstatus des*der Patient*in sind. Je nach Gruppe mit einer eGFR von 45–59, 30–44 und <30 ml/min/1,73 m² ergäben sich Referenzbereiche von 0,46–2,62, 0,48–3,38 und 0,54–3,30. [29]

Die Autoren schließen daraus, dass die aktuellen Referenzbereiche für FLC und FLC-Quotienten (des FREELITE Assays) bei CKD-Patient*innen ungeeignet sind und schlagen die Verwendung neuer eGFR-basierter Referenzbereiche vor. Diese neuen Referenzbereiche wurden jedoch noch nicht implementiert.

Der Hersteller der FREELITE Assays empfiehlt derzeit nur die Verwendung eines separaten Referenzbereichs auf Basis einer Studie von 2008 [31], wenn die glomeruläre Filtrationsrate unter 60 ml/min/1,73 m² liegt (0,37–3,1 statt 0,26–1,65). Es wäre wichtig, dass diese abweichenden

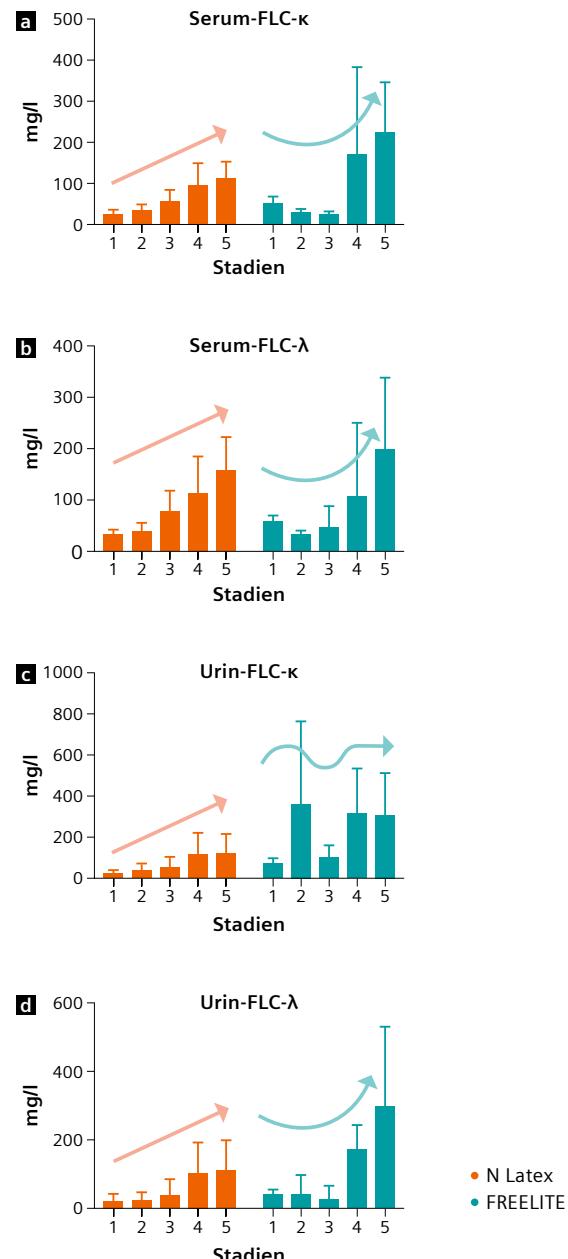


Abbildung 5: FLC-Werte in Serum und Urin, nachgewiesen mit zwei Methoden bei verschiedenen Nierenfunktionen: (a) Serum-κFLC; (b) Serum-λFLC; (c) Urin-κFLC; (d) Urin-λFLC. FLC: freie Leichtkette. Nierenstatus gemäß KDIGO-Richtlinien. Nach Xu et al., 2022. [34]

Referenzbereiche allen Laboren bekannt sind und dass überprüft wird, ob die Nierenfunktion der Patient*innen korrekt berechnet wurde, um den Referenzbereich anzupassen. In jedem Fall muss der Nierenfunktionsstatus der betroffenen Patient*innen bekannt sein, um den vom Hersteller empfohlenen Referenzbereich anwenden zu können. Die FREELITE-Referenzbereiche sollten in Frage gestellt werden, selbst wenn die Ergebnisse der iStopMM-Studie noch nicht berücksichtigt werden können. [19–29]

Im Gegensatz dazu sind die Referenzbereiche für den mit dem monoklonalen N Latex FLC Assay ermittelten Quotienten stabil und können unabhängig vom Nierenfunktionsstatus verwendet werden. [31–33] Xu et al. zeigten 2022 [34] die enge lineare Beziehung zwischen den mit den N Latex FLC Assays erzielten sFLC-Ergebnissen und Nierenfunktionsstörungen im Vergleich mit einer „schlechten“ Korrelation, die mit den FREELITE Assays beobachtet wurde (Abbildung 5).

Die Autoren der Studie folgerten: „Der mit der N-Latex-Methode bestimmte Quotient von $\text{FLC-}\kappa/\lambda$ wird nicht durch die Nierenfunktion beeinflusst und blieb innerhalb des empfohlenen Bereichs stabil.“ [34]

Damit können N Latex FLC Assays selbst dann, wenn der Nierenstatus der Patient*innen unbekannt ist, zuverlässig für den Nachweis einer monoklonalen Gammapathie eingesetzt werden.

Ist sichergestellt, dass die IMWG-Empfehlungen eingehalten werden, wenn die FREELITE-Assays verwendet werden?

Die einfache Antwort: Es kommt darauf an.

Unterschiede bei den Ergebnissen der FREELITE Assays sind vom Analysesystem abhängig. Außerdem haben geringfügige, aber signifikante Drifts im Assay nicht nur Auswirkungen auf den Referenzbereich, sondern auch auf die Klassifizierungsregeln für multiples Myelom („Regel 100“ [2]). Um den Aspekt noch einmal zu betonen: Diese Regeln wurden unter Einsatz der FREELITE Assays auf einem BN II System vor mehr als zwei Jahrzehnten anhand eines diagnostischen Bereichs [28] aufgestellt und seitdem nicht aktualisiert. Aktuelle wissenschaftliche Studien deuten stark darauf hin, dass die „Regel 100“, die für die FREELITE Assays auf dem BN II System proklamiert wurde, für die FREELITE Assays auf dem OPTILITE Analysesystem oder anderen turbidimetrischen Systemen möglicherweise nicht gültig ist.

Trotz der mangelnden klinischen Revalidierung dieser wichtigen klinischen Entscheidungspunkte gehen viele Anwender*innen noch immer davon aus, dass sie in Übereinstimmung mit den IMWG-Empfehlungen von 2009 [7] und 2014 [2] arbeiten, wenn sie die FREELITE Assays anwenden. Die zuvor aufgeführten wissenschaftlichen Studien legen jedoch nahe, dass diese Annahme nicht korrekt ist.

Zusammenfassung

Die Geschichte: Die Referenzbereiche für FREELITE Assays wurden 2002 auf dem BN II System etabliert und unverändert für alle Plattformen, auf denen die Assays ausgeführt werden, übernommen.

Weiteres aus der Geschichte: Die klinischen Cutoff-Werte (z. B. „Regel 100“) für sFLC in den aktualisierten IMWG-Empfehlungen für die Diagnose des multiplen Myeloms 2 wurden ebenfalls mit den FREELITE Assays auf dem BN II System etabliert.

Die Realität: Die Referenzbereiche der FREELITE Assays unterscheiden sich signifikant von den ursprünglichen Referenzbereichen und auch voneinander. Zudem sind die Referenzbereiche des Herstellers für das OPTILITE System sowie für Patient*innen mit Nierenfunktionsstörung nicht zutreffend.

Weiteres aus der Realität: In Anbetracht der signifikanten Unterschiede bei den Ergebnissen der FREELITE Assays auf verschiedenen Systemen sollten die klinischen Cutoff-Werte der IMWG von 2014 ausschließlich für FREELITE Assays gültig sein, die auf dem BN II System ausgeführt werden.

Klinische Konkordanz: Obwohl die Ergebnisse nicht austauschbar sind, wurde für die meisten kommerziell erhältlichen Assays eine klinische Übereinstimmung mit den FREELITE Assays nachgewiesen, sodass ihr Einsatz als zuverlässig angesehen werden kann.

FDA-Empfehlung: Die FDA fordert ein Baselining bei Wechsel des Systems oder der sFLC-Assays.

Wählen Sie N Latex FLC Assays:

- Ein Referenzbereich für alle Patient*innenpopulationen und Systeme, unabhängig von Nierenfunktionsstörungen
- Stabile Ergebnisse (reduzierte Varianz von Charge zu Charge) dank monoklonalem Assayprinzip unter Einsatz von Nephelometrie
- Umfassende klinischen Claims für sFLC-Tests, einschließlich Zulassung von N Latex FLC Assays zur „Diagnose und Überwachung von MGUS“ unter IVDR im Juli 2023, was für andere Assays zu dem Zeitpunkt nicht der Fall war.

Literatur

- [1] Milani P, Palladini G, Merlini G. Serum-free light-chain analysis in diagnosis and management of multiple myeloma and related conditions. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2016;245:S113-8.
- [2] Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538-48.
- [3] Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P, Mateos MV, Zamagni E, Avet-Loiseau H, Hajek R, Dimopoulos MA, Ludwig H, Einsele H, Zweegman S, Facon T, Cavo M, Terpos E, Goldschmidt H, Attal M, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017;28(suppl 4):iv52-iv61.
- [4] Mateos MV, Kumar S, Dimopoulos MA, González-Calle V, Kastritis E, Hajek R, De Larrea CF, Morgan GJ, Merlini G, Goldschmidt H, Geraldès C, Gozzetti A, Kyriakou C, Garderet L, Hansson M, Zamagni E, Fanti D, Leleu X, Kim BS, Esteves G, Ludwig H, Usmani S, Min CK, Qi M, Ukpore J, Weiss BM, Rajkumar SV, Durie BGM, San-Miguel J. International Myeloma Working Group risk stratification model for smoldering multiple myeloma (SMM). *Blood Cancer J.* 2020 Oct 16;10(10):102.
- [5] Kumar SK, Callander NS, Alsina M, Atanackovic D, Biermann JS, Chandler JC, Costello C, Fairman M, Fung HC, Gasparetto C, Godby K, Hofmeister C, Holmberg L, Holstein S, Huff CA, Kassim A, Liedtke M, Martin T, Omel J, Raje N, Reu FJ, Singhal S, Somlo G, Stockerl-Goldstein K, Treon SP, Weber D, Yahalom J, Shead DA, Kumar R. Multiple myeloma, version 3.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(2):230-69.
- [6] Bird JM, Owen RG, D'Sa S, Snowden JA, Pratt G, Ashcroft J, Yong K, Cook G, Feyler S, Davies F, Morgan G, Cavenagh J, Low E, Behrens J; Haemato-oncology Task Force of British Committee for Standards in Haematology (BCSH) and UK Myeloma Forum. Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2011. *Br J Haematol.* 2011;154(1):32-75.
- [7] Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, 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.
- [8] 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.
- [9] Caponi L, Koni E, Romiti N, Paolicchi A, Franzini M. Different immunoreactivity of monomers and dimers makes automated free light chains assays not equivalent. *Clin Chem Lab Med.* 2018;57(2):221-229.
- [10] Caponi L, Romiti N, Koni E, Fiore AD, Paolicchi A, Franzini M. Inter-assay variability in automated serum free light chain assays and their use in the clinical laboratory. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020.
- [11] White-Al Habeeb NMA, Earle T, Spencer M, Blasutig IM. Evaluation of the N-latex serum free light chain assay on the Siemens BNII analyzer and agreement with The Binding Site FreeLite assay on the SPAPlus. *Clin Biochem.* 2018;51:90-6.
- [12] Fleming CKA, Swarttouw T, de Kat Angelino CM, Jacobs JFM, Russcher H. Method comparison of four clinically available assays for serum free light chain analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2019 Dec 18;58(1):85-94.
- [13] Palladini G, Jaccard A, Milani P, Lavergne D, Foli A, Bender S, Lavatelli F, Bosoni T, Valentini V, Pirolini L, Ferraro G, Bassett M, Russo F, Nuvolone M, Albertini R, Cogne M, Merlini G. Circulating free light chain measurement in the diagnosis, prognostic assessment and evaluation of response of AL amyloidosis: comparison of FREELITE and N latex FLC assays. *Clin Chem Lab Med.* 2017 Oct 26;55(11):1734-43.
- [14] Mahmood S, Wassef NL, Salter SJ, Sachchithanantham S, Lane T, Foard D, Whelan CJ, Lachmann HJ, Gillmore JD, Hawkins PN, Wechalekar AD. Comparison of free light chain assays: FREELITE and N Latex in diagnosis, monitoring, and predicting survival in light chain amyloidosis. *Am J Clin Pathol.* 2016 Jul;146(1):78-85.
- [15] 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.
- [16] Cotten SW, Shajani-Yi Z, Cervinski MA, Voorhees T, Tuchman SA, Korpi-Steiner N. Reference intervals and diagnostic ranges for serum free κ and free λ immunoglobulin light chains vary by instrument platform: implications for classification of patient results in a multi-center study. *Clin Biochem.* 2018 Aug;58:100-7.
- [17] Messiaen AS, De Sloovere MMW, Claus PE, Vercammen M, Van Hoovels L, Heylen O, Debrabandere J, Vanpoucke H, De Smet D. Performance evaluation of serum free light chain analysis: nephelometry vs turbidimetry, monoclonal vs polyclonal reagents. *Am J Clin Pathol.* 2017 Jun 1;147(6):611-22.
- [18] Ghillani P, Dufat L, Sterlin D, Musset L. Analytical performances of OPTILITE turbidimeter (The Binding Site): a new dedicated analyser for specific proteins determination. *Ann Biol Clin (Paris).* 2017 Feb 1;75(1):29-37.
- [19] Zhu G, Fu X, Ren Y, Wang Y, Wang S, An G. Comparative analysis of three serum-free light-chain detection systems in the diagnosis of multiple myeloma. *Int J Lab Hematol.* 2022;44(3):576-81.
- [20] Rollborn N, Jakobsson J, Campbell A, Nordin G, Karlsson M, Larsson A, Kultima K. Accuracy of determination of free light chains (κappa and λ) in plasma and serum by Swedish laboratories as monitored by external quality assessment. *Clin Biochem.* 2023;111:47-53.

- [21] Fink SL, Wener MH, Rudolf JW, Nwosu A, Tacker DH, Kadkhoda K, Tebo AE, Wilrich MAV. A universal reference interval for serum immunoglobulins free light chains may be outdated. *Clin Chem Lab Med.* 2023 May 25.
- [22] Singh G. Serum free light chain assay and kappa/lambda ratio performance in patients without monoclonal gammopathies: high false-positive rate. *Am J Clin Pathol.* 2016;146:207-14.
- [23] Morales-García LJ, Pacheco-Delgado MS. Serum free light chain reference intervals in an Optilite and their influence on clinical guidelines. *Clin Biochem.* 2021;92:54-60.
- [24] Rindlisbacher B, Schild C, Egger F, Bacher VU, Pabst T, Leichtle A, et al. Serum free light chain assay: shift toward a higher kappa/lambda ratio. *J Appl Lab Med.* 2020;5:114-25.
- [25] Murray D, Dispenzieri A, Kumar S, Gill H, Vachon C, Snyder M, et al. Free light chain assay drift: potential for misdiagnosis? *J Appl Lab Med.* 2020;5:1411-13.
- [26] Minnema MC, Jacobs JFM. In response to: Defining new reference intervals for serum free light chains in individuals with chronic kidney disease: results of the iStopMM study. *Blood Cancer J.* 2022 Nov 14;12(11):152.
- [27] Abadie JM, van Hoeven KH, Wells JM. Are renal reference intervals required when screening for plasma cell disorders with serum free light chains and serum protein electrophoresis? *Am J Clin Pathol.* 2009;131:166-71.
- [28] Schroeder LF, Manthei DM, Keren DF. Retrospective analysis of serum free light chain reference intervals and risk for monoclonal gammopathy suggests different limits than those in international guidelines. *Clin Biochem.* 2023 Jun 30;118:110604.
- [29] Long TE, Indridason OS, Palsson R, Rognvaldsson S, Love TJ, Thorsteinsdottir S, Sverrisdottir IS, Vidarsson B, Onundarson PT, Agnarsson BA, Sigurdardottir M, Thorsteinsdottir I, Olafsson I, Thordardottir AR, Eythorsson E, Jonsson A, Gislason G, Olafsson A, Steingrimsdottir H, Hultcrantz M, Durie BGM, Harding S, Landgren O, Kristinsson SY. Defining new reference intervals for serum free light chains in individuals with chronic kidney disease: results of the iStopMM study. *Blood Cancer J.* 2022 Sep 14;12(9):133.
- [30] Azimi V, Slade M, Fiala M, Fortier JM, Stockerl-Goldstein K, Frater JL, Brestoff JR, Jackups R, Zayzman MA. A single reference interval for interpreting serum free light chains across patients with varying renal function. *Clin Chem.* 2023;6:hvad043.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] Palladini G, Milani P, Foli A, Bassetti M, Russo F, Bosoni T, Pirolini L, Valentini V, Ferraro G, Lavatelli F, Barassi A, Albertini R, Merlini G. The impact of renal function on the clinical performance of FLC measurement in AL amyloidosis. *Clin Chem Lab Med.* 2016 Jun 1;54(6):939-45.
- [34] Xu L, Zhao B, Sun Y, Wang S, Chen X, Mao Y. Using two detection methods to observe the changes and significance of free light chain in serum and urine in patients with renal insufficiency. *Biomed Res Int.* 2022 Mar 29;2022:5536199.

Bei Siemens Healthineers leisten wir Pionierarbeit im Gesundheitswesen. Für jeden Menschen. Überall. Nachhaltig. Als eines der führenden Medizintechnikunternehmen setzen wir uns ein für eine Welt, in der bahnbrechende Entwicklungen im Gesundheitswesen neue Möglichkeiten schaffen – mit den geringstmöglichen Auswirkungen auf unseren Planeten. Indem wir kontinuierlich Neuerungen auf den Markt bringen, unterstützen wir medizinisches Fachpersonal mit Innovationen für eine personalisierte Versorgung, Konzepte zur Steigerung von Qualität und Produktivität und bei der Neugestaltung der Gesundheitsversorgung.

Unser Portfolio, das von der In-vitro- und In-vivo-Diagnostik über die bildgestützte Therapie bis hin zur Krebsversorgung reicht, ist ausschlaggebend für die klinische Entscheidungsfindung und Gestaltung von Behandlungspfaden. Durch die einzigartige Verbindung unserer Stärken in den Bereichen digitale Zwillinge von Patient*innen¹, Präzisionstherapie und Digitalisierung, Daten und Künstliche Intelligenz (KI) sind wir hervorragend aufgestellt, die wichtigsten Trends im Gesundheitswesen aktiv zu gestalten. Auf diesen Stärken werden wir weiter aufbauen, um die bedrohlichen Krankheiten der Welt zu bekämpfen, die Qualität klinischer Ergebnisse sowie den Zugang zu Gesundheitsversorgung zu erleichtern.

Wir sind ein Team aus 73.000 hoch engagierten Healthineers in über 70 Ländern. Mit Leidenschaft verschieben wir die Grenzen des Möglichen im Gesundheitswesen, um das Leben von Menschen auf der ganzen Welt zu verbessern.

BN und alle damit verbundenen Produktbezeichnungen sind eingetragene Marken der Siemens Healthcare Diagnostics Inc. oder deren verbundener Unternehmen. Alle anderen Marken sind eingetragene Marken ihrer jeweiligen Inhaber.

Die in diesem Dokument beschriebenen Produkte/Funktionen sind eventuell nicht in allen Ländern kommerziell erhältlich. Die Produktverfügbarkeit kann von Land zu Land variieren und unterliegt den jeweiligen regulatorischen Anforderungen.

Siemens Healthineers behält sich das Recht vor, Konstruktion, Verpackung, Spezifikationen und Optionen ohne vorherige Bekanntgabe zu ändern.

Aufgrund lokaler Einschränkungen von Vertriebsrechten und Serviceverfügbarkeit können wir nicht gewährleisten, dass alle in dieser Broschüre aufgeführten Leistungen weltweit gleichermaßen durch Siemens Healthineers vertrieben werden können.

Hinweis: Die Angaben zu technischen Daten in diesem Dokument können innerhalb definierter Toleranzen variieren. Bilder verlieren bei der Reproduktion ein gewisses Maß an Detailtreue. Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an Ihre lokale Organisation von Siemens Healthineers oder besuchen Sie unsere Homepage: siemens-healthineers.de

¹ Personalisierung von Diagnose, Therapieauswahl und -überwachung, Nachsorge und Gesundheitsmanagement

Siemens Healthineers Headquarters
Siemens Healthineers AG
Siemensstr. 3
91301 Forchheim, Germany
Phone: +49 9191 18-0
siemens-healthineers.com

Lokale Kontaktinformation
Siemens Healthineers AG
Frankfurter Str. 110
65760 Eschborn, Deutschland
Tel.: +49 6196 7713-1111
siemens-healthineers.de