

**Whitepaper**

# Mehr Konsistenz für Tests auf monoklonale Gammopathien

N Latex FLC Kappa- und N Latex FLC Lambda-Tests

[siemens-healthineers.de/plasma-protein](https://siemens-healthineers.de/plasma-protein)



**Dr. Carola Wagner,**  
**Wolfgang Gentzer**  
Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH,  
35001 Marburg, Deutschland

**Henk te Velthuis, PhD**  
Sanguin Blood Supply,  
1066CX Amsterdam, Niederlande

# Mehr Konsistenz für Tests auf monoklonale Gammopathien

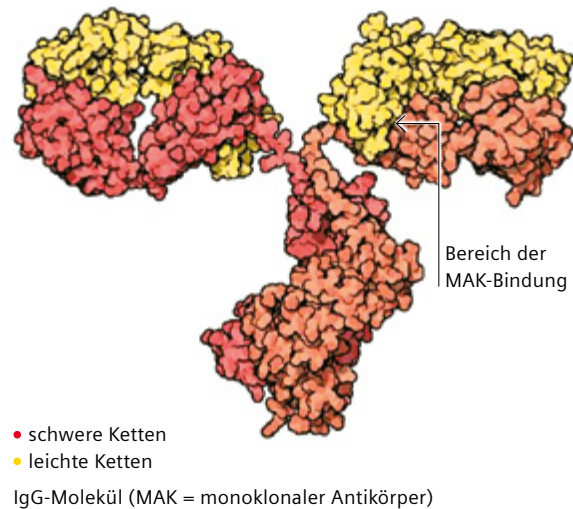
## N Latex FLC Kappa- und N Latex FLC Lambda-Tests

### Monoklonale Gammopathien – ein breites Spektrum an Erkrankungen

Monoklonale Gammopathien reichen von asymptomatischen, prämaligen monoklonalen Gammopathien unklarer Signifikanz (MGUS) bis hin zu lebensbedrohlichen Manifestationen wie der Leichtketten-Amyloidose oder dem schnell voranschreitenden multiplen Myelom, die eine aggressive Therapie verlangen.

Bis vor kurzem basierte die Diagnose monoklonaler Gammopathien auf dem Nachweis einer erhöhten Konzentration vollständiger Immunglobuline. Bei zahlreichen monoklonalen Gammopathien ist jedoch keine erhöhte Expression intakter Immunglobuline zu beobachten; stattdessen wird eine erhöhte Anzahl freier Leichtketten (FLC) vom Typ Kappa oder Typ Lambda gemessen, was sich in einem außergewöhnlich niedrigen oder hohen FLC Kappa/Lambda-Quotienten ausdrückt.

Die meisten Leichtketten sind Bestandteile der vollständigen Immunglobuline und somit in diesen gebunden; geringe Mengen zirkulieren jedoch in freier Form, da die Anzahl synthetisierter Leichtketten die der produzierten schweren Ketten in geringem Maß übertrifft. Während einerseits ungefähr doppelt so viele Leichtketten vom Typ Kappa wie vom Typ Lambda produziert werden, werden andererseits die kleineren, als Monomer vorliegenden FLC vom Typ Kappa (25 kDa) schneller durch glomeruläre Filtration aus dem Blutkreislauf entfernt als die größeren, dimeren FLC Lambda-Moleküle (50 kDa).<sup>1</sup> Deshalb ist die Konzentration beider Leichtkettentypen bei Gesunden im Serum nahezu identisch, was sich in einem mittleren FLC Kappa/Lambda-Quotienten von 0,8 ausdrückt.



## Klinische Anwendung von FLC-Tests

Heute ist die Bestimmung der FLC Kappa- und FLC Lambda- Konzentration Bestandteil diverser Richtlinien über multiple Myelome und ähnliche Erkrankungen. Die International Myeloma Working Group hat 2009 eine Richtlinie über die Anwendung von FLC-Tests veröffentlicht, in der die Bestimmung der freien Leichtketten vom Typ Kappa und Typ Lambda im Rahmen des Screenings, der Prognose sowie der Verlaufskontrolle monoklonaler Gammopathien empfohlen wird.<sup>2,3</sup> Im Jahr 2006 wurden FLC-Tests in die einheitlichen Kriterien zur Evaluation des Therapieansprechens aufgenommen.<sup>3,4</sup> Ein normalisierter FLC-Quotient definiert die neu eingeführte Kategorie der stringenten Komplettremission (stringent complete response – sCR) – das bestmögliche Therapieergebnis. Darüber hinaus wurde 2008 eine Empfehlung zur prognostischen Stadieneinteilung auf Basis des FLC-Quotienten, des Albumins sowie des  $\beta$ 2-Microglobulins im Serum publiziert.<sup>3,5</sup>

### Anwendung von FLC-Tests im klinischen Alltag<sup>2</sup>

- Screening monoklonaler Gammopathien, in Kombination mit Serumprotein-Elektrophorese und Immunfixation (IFE)
- Prognosestellung
- Überwachung der hämatologischen Krankheitsaktivität und des Therapieansprechens

### Monoklonale proliferative Erkrankungen:

- Multiples Myelom
- Schwelendes multiples Myelom (Smoldering Myeloma, SMM)
- Plasmozytom (Morbus Kahler)
- AL-Amyloidose
- Monoklonale Gammopathien unklarer Signifikanz (MGUS)

## Diagnose monoklonaler Gammopathien

Für die Diagnose monoklonaler Gammopathien müssen mehrere Tests durchgeführt werden, da kein Test allein die optimale Sensitivität aufweist. Diese Tests konzentrieren sich auf die Analyse myeloider Zellen im Knochenmark des\*der Patient\*in sowie die Serum- und Urinproteinanalyse. In Bezug auf die Serumanalyse empfiehlt die International Myeloma Working Group für das Screening pathologischer, monoklonaler, proliferativer Erkrankungen eine Kombination aus Proteinelektrophorese, Immunfixationselektrophorese (IFE) sowie FLC Kappa- und FLC Lambda-Tests, jeweils im Serum. Für die Diagnose einer Leichtketten-(AL-)Amyloidose muss zusätzlich zu allen Serumtests eine IFE im 24-Stunden-Urin durchgeführt werden. Wenn das Ergebnis eines Serumtests auf eine monoklonale Gammopathie schließen lässt, ist eine zusätzliche Bestätigung der Diagnose durch eine IFE und Proteinelektrophorese im 24-Stunden-Urin notwendig; eine Bestimmung der FLC-Konzentration im Urin ist der Richtlinie zufolge nicht sinnvoll.<sup>2</sup>

Die häufigste Form einer monoklonalen Gammopathie ist die prä maligne, asymptomatische MGUS, die sich zu einem schwelenden multiplen Myelom (Smoldering MM) oder einem symptomatischen Myelom in Verbindung mit einem erhöhten Serumkalziumspiegel, einer Nierenerkrankung, einer Anämie und/oder Knochenläsionen weiterentwickeln kann. Bei etwa 21 % der multiplen Myelome werden ausschließlich Leichtketten exprimiert, ohne dass ein Anstieg eines vollständigen Immunglobulintyps zu beobachten ist.

### Empfohlene Screeningtests<sup>2</sup>

#### Im Serum:

- FLC Kappa und FLC Lambda
- Proteinelektrophorese
- Immunfixation (IFE)

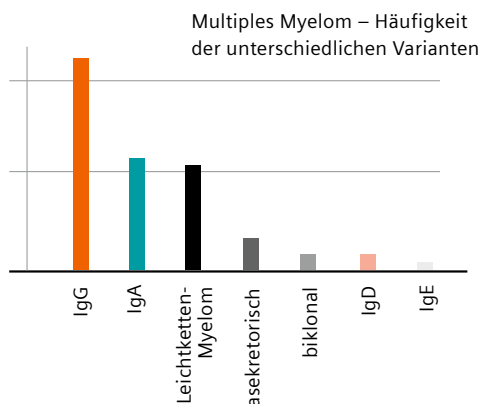
#### Im 24-Stunden-Urin:

IFE, nur beim Screening auf AL-Amyloidose

### Zusätzliche Tests im Fall anormaler Screening-ergebnisse

#### Im 24-Stunden-Urin:

Proteinelektrophorese und IFE



Morbus Waldenström (Waldenströms Makroglobulinämie) wird mit einem Anstieg der Konzentration von monoklonalem IgM in Verbindung gebracht und geht mit unterschiedlichen klinischen Symptomen einher; die Erkrankung ist weniger aggressiv als ein multiples Myelom und gilt daher als eigenes Krankheitsbild.

Monoklonale Leichtketten können Präzipitate in Form von Amyloid bilden, das sich in verschiedenen Organen abgelagert. AL-Amyloidose ist eine Proteinefehlfaltungserkrankung, bei der sich die Leichtketten in erster Linie im Herz, in den Nieren, in der Leber sowie im peripheren Nervensystem als Amyloid abgelagern und zu einer Beeinträchtigung dieser Organe führen.

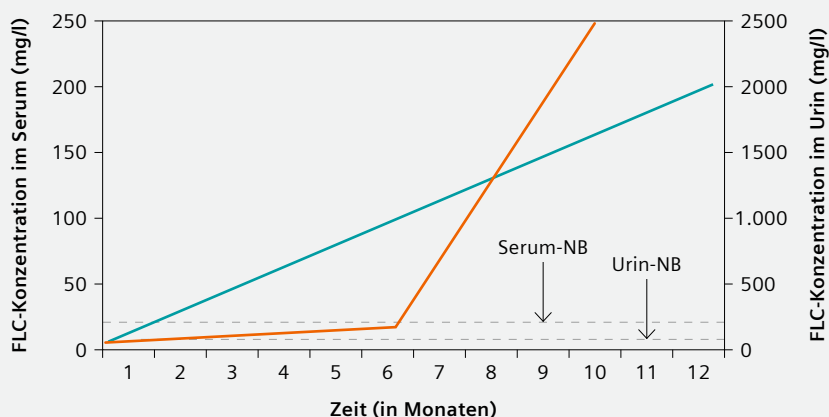
## Leichtkettenausscheidung im Urin

Im fortgeschrittenen Krankheitsstadium kann die FLC-Konzentration im Urin erhöht sein. Traditionell erfolgte der Nachweis von Leichtketten (Bence-Jones-Protein) im Urin; durch die Verwendung von Antisera gegen Leichtketten aller Typen (freie + gebundene) weist diese Methode eine höhere Sensitivität auf. Die FLC-Konzentration im Serum muss um ein Vielfaches ansteigen, bis die tubulären Resorptionsmechanismen versagen und ein Anstieg des FLC-Spiegels im Urin festzustellen ist. Bei einer uneingeschränkten Nierenfunktion können täglich bis zu 10–30 g FLC über die proximalen Tubuli in den Nieren resorbiert werden.<sup>6</sup> Aktuelle Daten belegen, dass eine erhöhte Konzentration monoklonaler FLC – insbesondere in aggregierter Form – hoch nierentoxisch sein kann und möglicherweise eine Nierenfunktionsstörung induziert. Die Umkehr einer solchen FLC-induzierten Niereninsuffizienz kann durch die Entfernung freier Leichtketten aus dem Blutkreislauf mittels Hämodialyse erreicht werden.<sup>7</sup>

Mit Fortschreiten der monoklonalen Erkrankung und zunehmender Nierenfunktionsstörung steigt die Anzahl der ausgeschiedenen FLC im Urin. Mehrere Studien belegen, dass die FLC-Bestimmung im Serum – insbesondere bei der Verlaufskontrolle einer Resterkrankung – eine höhere Sensitivität im Vergleich zur FLC-Messung im Urin erkennen lässt, so dass die Notwendigkeit einer Harnanalyse bei den meisten Patient\*innen entfällt.<sup>1,2,6,8</sup>

Veränderung der FLC-Konzentration  
im Serum ———  
im Urin ———

NB = Normalbereich



Veränderung der FLC-Konzentration im Serum und im Urin mit zunehmender Tumormasse

Quelle: [www.specialtylabs.com](http://www.specialtylabs.com), multiple myeloma 12/05

## Analytische Voraussetzungen für FLC-Tests

Wie bei allen Tumormarkern ist die analytische Leistungsfähigkeit von FLC-Tests eng an bestimmte Voraussetzungen gebunden. FLC-Tests sollten folgende Eigenschaften aufweisen:

<b>Spezifität</b>	<p><b>Hohe Selektivität der verwendeten Antikörper</b> Da im Vergleich zur gebundenen Form in Immunglobulinen lediglich eine geringe Anzahl von Leichtketten frei zirkuliert, ist die hohe Selektivität der verwendeten Antikörper ausschließlich gegenüber diesen in freier Form vorliegenden Leichtketten unabdingbar.</p> <hr/> <p><b>Hohe klinische Spezifität</b> Die Spezifität (richtig-negativ) ist von entscheidender Bedeutung, um Fehldiagnosen maligner Erkrankungen bei Gesunden zu verhindern. Der FLC Kappa/Lambda-Quotient sollte eine Differenzierung zwischen einer erhöhten Anzahl monoklonaler Proteine und einer erhöhten Anzahl polyklonaler Proteine, die im Fall einer Nierenerkrankung oder Immunstimulation zu beobachten ist, ermöglichen.</p>
<b>Zuverlässigkeit</b>	<p><b>Hohe Präzision</b> Eine hohe Reproduzierbarkeit über den gesamten Messbereich ist eine Voraussetzung für die zuverlässige Überwachung von Patient*innen; eine hohe Präzision im Bereich äußerst niedriger Konzentrationen ist dann unabdingbar, wenn der FLC-Quotient zur Überwachung herangezogen wird, weil die nicht betroffene Leichtkette auf ein Niveau unterhalb des Normalbereichs supprimiert werden kann.</p> <hr/> <p><b>Ausschluss eines Antigenüberschuss-Effektes</b> Der Bereich des FLC-Serumspiegels im Krankheitsfall erstreckt sich über 4 Logarithmus-Stufen, wobei sehr hohe Konzentrationen bei homogenen Immunoassays einen Hook-Effekt auslösen und so ohne ausreichende Berücksichtigung zu falsch-niedrigen Testergebnissen führen können.</p>
<b>Sensitivität</b>	<p><b>Hohe analytische Sensitivität</b> Im Rahmen der Tests, die in Verbindung mit dem Screening monoklonaler Gammopathien durchgeführt werden, können mithilfe von FLC-Tests auch Konzentrationen unterhalb des FLC-Normalbereichs bis zu &lt; 1 mg/l nachgewiesen werden.</p> <hr/> <p><b>Hohe klinische Sensitivität</b> Die Sensitivität (richtig-positiv) ist für die korrekte Diagnose maligner Erkrankungen bei betroffenen Patient*innen von großer Bedeutung. Bei Patient*innen mit einem erhöhten FLC-Spiegel stellen FLC-Tests ein quantitatives, präzises Hilfsmittel für die Überwachung dar. Doch einige Myelom-Patient*innen, die z.B. unter einer seltenen sekretorischen Form der Erkrankung leiden, ebenso wie einige Patient*innen mit einer Sekretion vollständiger Immunglobuline, scheiden nur eine geringe oder nicht nachweisbare Anzahl von Leichtketten aus, was sich in einem normalen oder nur leicht anormalen FLC Kappa/Lambda-Quotienten ausdrückt.</p>
<b>Konsistenz</b>	<p><b>Hohe chargenübergreifende Konsistenz</b> Patient*innen mit multiplem Myelom und anderen monoklonalen Gammopathien müssen regelmäßig und langfristig, möglicherweise jahrelang überwacht werden. Zur Bestimmung der Remission bzw. Progression der Erkrankung anhand von Veränderungen des FLC-Spiegels oder FLC Kappa/Lambda-Quotienten sowie für eine entsprechende Therapieanpassung oder -einleitung ist eine hohe chargenübergreifende Konsistenz unabdingbar.</p>

Die bisher verfügbaren FLC-Tests waren mit Einschränkungen verbunden, wie deutlich schwankenden Ergebnissen zwischen verschiedenen Chargen, Gefahr von Messfehlern durch einen Antigenüberschuss sowie eine

starke Überbewertung bestimmter Proben mit polymerisierten FLC.<sup>1,9–13</sup> Diese Einschränkungen können nun durch hochleistungsfähige Tests auf Basis spezieller monoklonaler Antikörper überwunden werden.

## N Latex FLC Kappa und N Latex FLC Lambda: Innovative FLC-Tests auf Basis monoklonaler Antikörper

### Spezifität

Für alle Laboruntersuchungen, die bei der Diagnostik und Therapie von Patient\*innen eine wichtige Rolle spielen, insbesondere für alle Tumormarker, ist Zuverlässigkeit die wichtigste Voraussetzung.

### Zuverlässigkeit

### Sensitivität

### Konsistenz

Um die Anforderungen in diesem Punkt zu erfüllen, müssen Tests eine geringe Fehleranfälligkeit sowie eine hohe Spezifität, Sensitivität und Konsistenz aufweisen.

### Spezifität

### Zuverlässigkeit

### Sensitivität

### Konsistenz

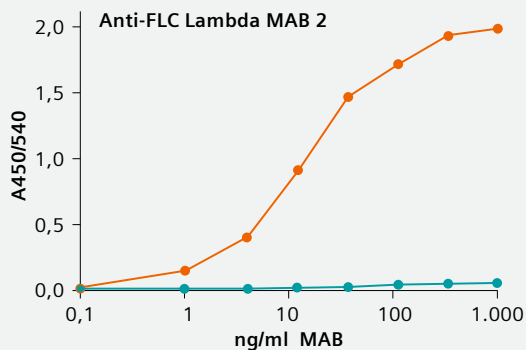
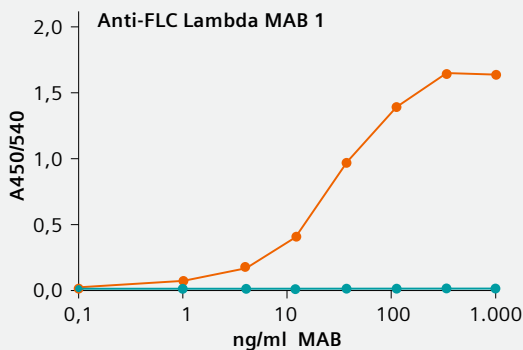
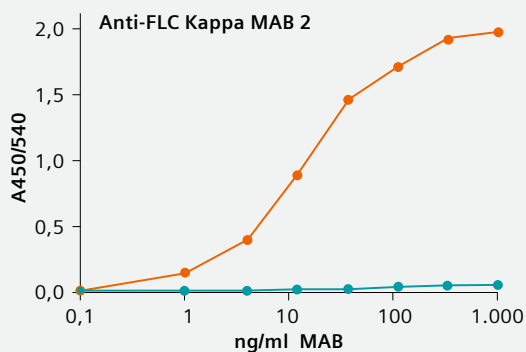
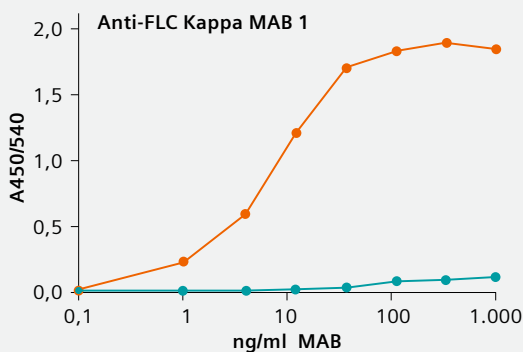
### Spezifität der verwendeten monoklonalen Antikörper

Aus einer Gruppe von mehr als 150 monoklonalen Antikörpern (MAB), die gegen FLC vom Typ Kappa und vom Typ Lambda gerichtet sind, wurden für jeden Test zwei hochselektive Antikörper gegen freie, ungebundene Leichtketten ausgewählt.

In den nachfolgenden Abbildungen ist die Reaktivität der Kappa-Antikörper (obere Reihe) in Bezug auf FLC vom Typ

Kappa (orange Kurve) oder Immunglobulin-G- (IgG-) Kappa (petrol Kurve) sowie die Reaktivität der Lambda-Antikörper (untere Reihe) in Bezug auf FLC vom Typ Lambda (orange Kurve) oder Immunglobulin-G- (IgG-) Lambda (petrol Kurve) dargestellt.

Die äußerst niedrige Reaktivität in Bezug auf vollständiges Immunglobulin belegt die hohe Spezifität der für den Test ausgewählten monoklonalen Antikörper.



• Bence Jones Kappa oder Lambda    • IgG-Kappa oder IgG-Lambda

Quelle: Te Velthuis H. Clin Chem Lab Med. 2011<sup>14</sup>

## Klinische Spezifität

Die klinische Spezifität wird als Anteil richtig-negativer Testergebnisse in Bezug auf den FLC Kappa/Lambda-Quotienten bei Patient\*innen/Personen ohne monoklonale Erkrankung definiert. Zur Bestimmung der klinischen Spezifität wurde eine Gruppe von

366 Patient\*innen ohne Anzeichen einer monoklonalen Erkrankung untersucht. Diese Gruppe schloss auch Patient\*innen mit einer Nierenerkrankung und Stimulation des Immunsystems (wie etwa bei Autoimmunerkrankungen oder chronischen Infektionen) ein.

	<b>Klinische Spezifität</b>	
	<b>FLC-Quotient N Latex</b>	<b>FLC-Quotient Vergleichsverfahren</b>
Patient*innen ohne Nierenerkrankung oder polyklonale Stimulation zum Zeitpunkt des Screenings	99,4 % (164/165)	97,6 % (161/165)
Patient*innen mit einer Nierenerkrankung	98,6 % (143/145)	96,6 % (140/145)
Patient*innen mit polyklonaler Stimulation	98,2 % (55/56)	98,2 % (55/56)
Alle untersuchten Patient*innen (N = 366)	98,9 % (362/366)	97,3 % (356/366)

Ein weiterer Beleg für die hohe Spezifität des N Latex FLC Kappa-Tests und des N Latex FLC Lambda-Tests ist ihr engerer Referenzbereich, insbesondere in Bezug auf den Kappa/Lambda-Quotienten. Dieser wurde anhand der

Untersuchung von 369 gesunden Proband\*innen ermittelt und ist mit dem Referenzbereich der Freelite-Tests\* vergleichbar:

	<b>Referenzbereich</b>
N Latex FLC Kappa (2,5.–97,5. Perzentile)	6,7–22,4 mg/l
N Latex FLC Lambda (2,5.–97,5. Perzentile)	8,3–27,0 mg/l
N Latex FLC-Quotient (Minimum–Maximum)	0,31–1,56

\* Freelite ist ein eingetragenes Warenzeichen von The Binding Site Group Ltd.

Spezifität

Zuverlässigkeit

Sensitivität

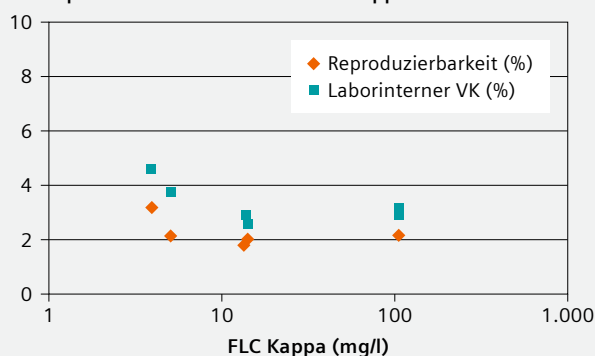
Konsistenz

## Hohe Präzision

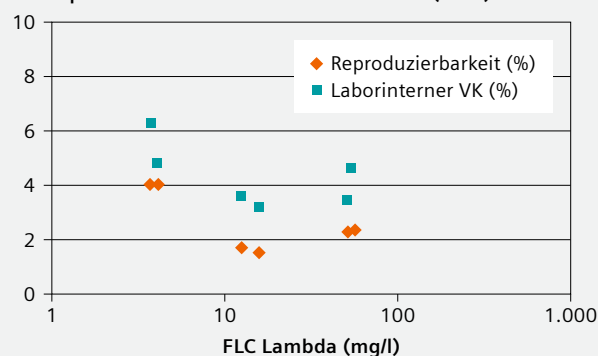
Für die zuverlässige Überwachung von Patient\*innen mit einer monoklonalen Erkrankung sind präzise Messergebnisse nicht nur in Bezug auf die erhöhte involvierte Leichtkette, sondern auch hinsichtlich der nicht involvierten Leichtkette von Bedeutung, die auf ein Niveau unterhalb des Normalbereichs supprimiert werden kann. Eine hohe Impräzision im Bereich äußerst niedriger

Konzentrationen wirkt sich unmittelbar auf die Reproduzierbarkeit des FLC Kappa/Lambda-Quotienten aus, woraufhin möglicherweise klinische Maßnahmen eingeleitet werden. Im Rahmen der Untersuchung von Serumproben sowie gepoolten EDTA-Plasmaproben zweimal täglich in Doppelbestimmung über einen Zeitraum von 20 Tagen wurden Gesamt-Variationskoeffizienten im Bereich von 2–6 % ermittelt.<sup>14</sup>

Reproduzierbarkeit N Latex FLC Kappa



Reproduzierbarkeit N Latex FLC Lambda (BN II)

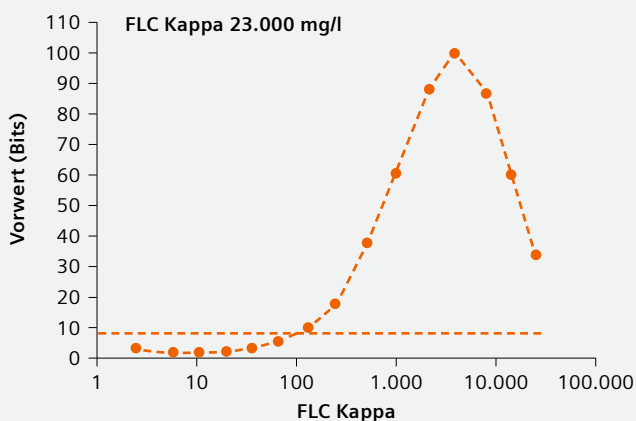


## Hohe Antigenüberschuss-Sicherheit

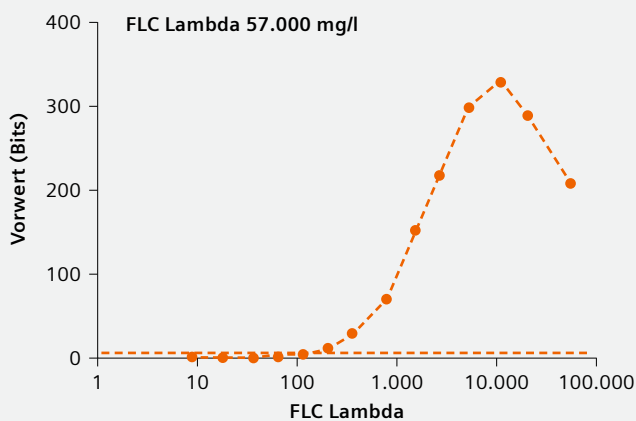
Der sichere Ausschluss von Messfehlern durch einen Antigenüberschuss ist von größter Bedeutung, da die FLC-Konzentration um das bis zu 10.000-fache schwanken kann. Zum Nachweis von Antigenüberschüssen werden integrierte Vorreaktionsprotokolle verwendet. In der Vorreaktionsphase wird eine geringe Menge der verdünnten Probe über einen Zeitraum von 2 Minuten mit dem Reagenz inkubiert; anschließend wird das nephelometrische Signal ermittelt. Wenn das Signal unterhalb eines im Rahmen der Kalibrierung vordefinierten Schwellenwertes liegt, wird der Rest der Probe hinzugefügt und die Analyse zu Ende geführt. Ein Signal oberhalb des Schwellenwertes am Ende der Vorreaktionsphase weist

auf einen Antigenüberschuss hin. In diesem Fall gibt das Analysesystem kein Testergebnis aus und fährt automatisch mit der nächsthöheren Probenverdünnung fort. In dem nachfolgenden Beispiel wurden zwei Proben mit monoklonalen FLC in einer sehr hohen Konzentration (Kappa 23.000 mg/l, Lambda 57.000 mg/l) seriell verdünnt. Diese Verdünnungen und die native Probe wurden mit der ersten Verdünnungsstufe (Kappa 1:100, Lambda 1:20) analysiert. Der vorgegebene Schwellenwert für die Vorreaktion ist durch die horizontale gepunktete Linie dargestellt. Auch bei sehr hohen FLC-Konzentrationen wurde der Antigenüberschuss sicher durch die Vorreaktion nachgewiesen und eine weitere Probenverdünnung durch das Analysesystem ausgelöst.<sup>14</sup>

FLC Kappa 23.000 mg/l



FLC Lambda 57.000 mg/l



--- Vorreaktionsgrenzwert = Antigenüberschuss-Nachweisgrenze



Spezifität

Zuverlässigkeit

Sensitivität

Konsistenz

## Analytische Sensitivität

Es existiert keine Referenzmethode zur Bestimmung der FLC-Konzentration. Die Immunfixation (IFE) wird häufig als Referenzmethode betrachtet, obwohl die Nachweisgrenze des nephelometrischen Tests deutlich niedriger als die der IFE ist. Proben, die im Rahmen der IFE als positiv identifiziert werden, könnten auch unter Verwendung anderer Testverfahren erkannt werden.

In einer Vergleichsstudie wurden 60 mittels IFE als Kappa-positiv und 59 mittels IFE als Lambda-positiv identifizierte Proben untersucht. Alle 60 IFE-Kappa-positiven Proben sowie 58 von 59 IFE-Lambda-positiven Proben führten nach der Analyse mit N Latex FLC Kappa und N Latex FLC Lambda jeweils zu einem anormal hohen Testergebnis, wohingegen bei Verwendung der Freelite-Tests eine Kappa-positive Probe und drei Lambda-positive Proben nicht erkannt wurden.

### Sensitivität im Vergleich zur Immunfixation (IFE)

IFE-Kappa-positiv	N Latex FLC Kappa	Freelite Kappa
N = 60	60 (100 %)	59 (98,3 %)
IFE-Lambda-positiv	N Latex FLC Lambda	Freelite Lambda
N = 59	58 (98,3 %)	56 (94,4 %)

Für N Latex FLC wurden folgende Bestimmungsgrenzen (BG) berechnet:

- 0,174 mg/l für N Latex FLC Kappa
- 0,47 mg/l für N Latex FLC Lambda

## Klinische Sensitivität

Die klinische Sensitivität wird als Anteil richtig-positiver Testergebnisse in Bezug auf den FLC Kappa/Lambda-Quotienten bei Patient\*innen mit monoklonaler Gammopathie definiert. Zur Bestimmung der klinischen Sensitivität wurde eine Gruppe von Patient\*innen mit einer bereits diagnostizierten monoklonalen Erkrankung untersucht, darunter Patient\*innen mit multiplen Myelom, Morbus Waldenström, AL-Amyloidose und MGUS. Die Sensitivität innerhalb dieser Gruppe von 163 Patient\*innen mit bereits diagnostizierter monoklonaler Gammopathie belief sich bei dem N Latex FLC-Test auf 61,3 % und bei dem Vergleichsverfahren auf 60,1 %.<sup>15</sup>

Die relativ niedrige Sensitivität beider Tests ist darauf zurückzuführen, dass auch behandelte Patient\*innen (das Therapieziel ist die Rückführung des FLC-Quotienten in den Normalbereich) sowie MGUS-Patient\*innen (lediglich bei 30–40 % der MGUS-Patient\*innen ist ein anormaler FLC-Quotient zu beobachten) eingeschlossen wurden, ebenso wie auf die Tatsache, dass nicht alle Patient\*innen neben einem intakten Immunglobulin eine erhöhte Anzahl freier Leichtketten ausscheiden.

### Sensitivität

	FLC-Quotient N Latex	FLC-Quotient Vergleichsverfahren
Alle Patient*innen mit einer monoklonalen Erkrankung beliebiger Form (N = 163)	61,3 %	60,1%

Spezifität

Zuverlässigkeit

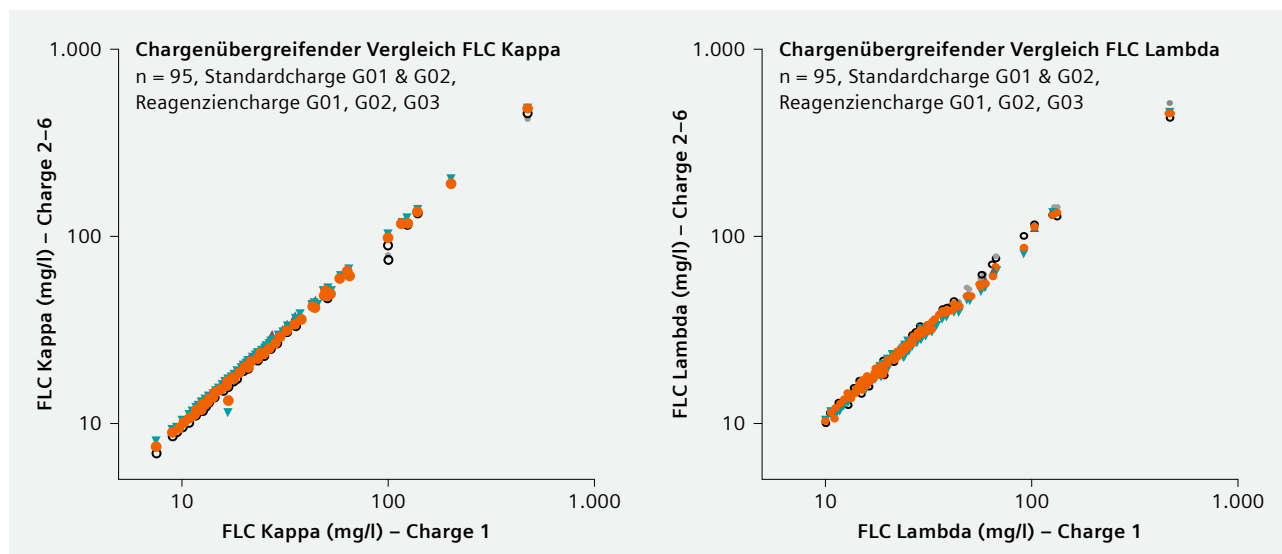
Sensitivität

Konsistenz

## Hohe chargenübergreifende Konsistenz

Konsistente Testergebnisse bei der Verwendung verschiedener Reagenzienchargen im Laufe der langfristigen Nachkontrolle von Patient\*innen sind für die Evaluation der Krankheitsprogression sowie des Therapieansprechens unabdingbar. In den nachfolgenden Abbildungen sind die Ergebnisse dargestellt, die mittels Kombination

von drei Reagenzienchargen mit zwei Kalibratorchargen in Form von insgesamt sechs Varianten berechnet wurden. Die Abweichungen lagen unter 7,5 %, bei einem Korrelationskoeffizienten von mehr als 0,99, was auf eine hervorragende chargenübergreifende Konsistenz in Bezug auf N Latex FLC Kappa und Lambda schließen lässt.<sup>14</sup>



## Methodenvergleich zwischen der Bestimmung von monoklonalen und polyklonalen FLC im Serum: Was ist zu erwarten, was zu berücksichtigen?

Jede monoklonale Komponente ist einzigartig. Aus diesem Grund weisen die Patient\*innen leicht verschiedene, spezifische Immunglobuline/Leichtketten auf und das Zielantigen für FLC-Tests (d.h. die monoklonale Leichtkette) sieht von Patient\*in zu Patient\*in unterschiedlich aus. Zusätzlich zu den Unterschieden bei den Leichtkettenmolekülen können posttranslationale Modifikationen wie eine Aggregation oder Komplexbildung mit anderen Plasmaproteinen auftreten. Infolge dieser Diversität sind die Korrelationen zwischen verschiedenen Analysesystemen niedriger als bei anderen Analyten, die sich durch eine höhere Konsistenz auszeichnen.

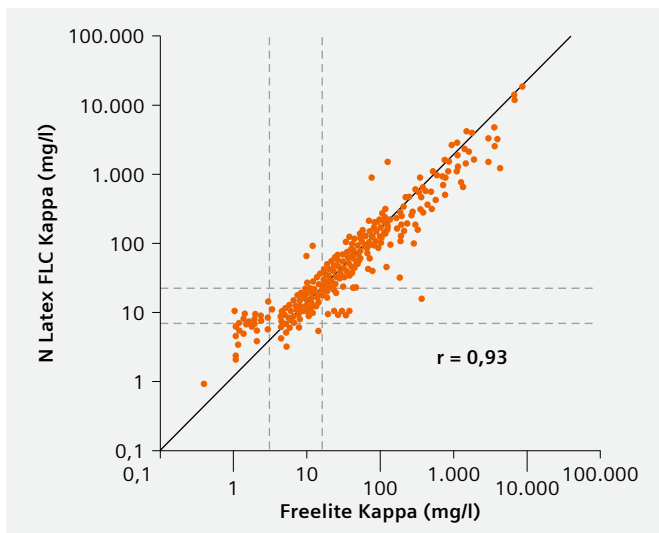
Die Abweichungen von FLC-Testergebnissen sind patientenspezifisch und blieben offenbar während der Nachkontrolle unverändert. Individuelle, Leichtkettenproduzierende Plasmazellklone können bewirken, dass die Reaktivität eines Tests die eines anderen Testformates um das 5- bis 10-fache übersteigt. Die Nachweisunterschiede zwischen den Methoden sind möglicherweise auf die unterschiedliche Epitoperkennung monoklonaler Antikörper im Vergleich zu den polyklonalen Antikörpern der Freelite-

Tests oder auf die physikalischen Eigenschaften der Leichtkettenmoleküle zurückzuführen. Monoklonale Leichtketten können Aggregate bilden oder umgekehrt durch aktivierte Enzyme gespalten werden, was mit einer Über- oder Unterbewertung der Analyten verbunden sein kann.

### Korrelationsanalyse

Der Konzentrationsbereich der FLC Kappa- und FLC Lambda-Tests erstreckt sich über mehrere Potenzen; die Konzentration kann niedriger als 1 mg/l oder höher als 10 g/l sein. Für die Darstellung der Korrelation des gesamten Bereiches ist eine logarithmische Skala am besten geeignet. Neben der Korrelationsanalyse ist ein qualitativer Vergleich der Ergebnisse von Interesse, um die Übereinstimmungsrate zu bestimmen, bei der mit beiden Testverfahren dieselbe Einstufung ermittelt wird (anormal niedrig, normal, anormal hoch). Zur Quantifizierung der Übereinstimmungsrate wird der Kappa-Koeffizient nach Cohen berechnet, der sich zwischen -1 und +1 bewegt. Ein Kappa-Koeffizient von mehr als 0,6 steht für eine „wesentliche Übereinstimmung“, ein Wert über 0,8 lässt auf eine „beinahe vollständige Übereinstimmung“ schließen.

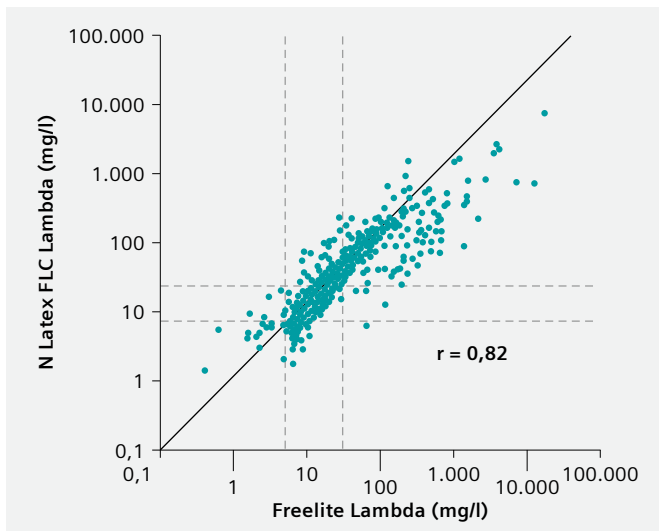
## Zusammenfassende Analyse der im Rahmen von drei unterschiedlichen Studien erfassten Daten zum Methodenvergleich:



Methodenvergleich FLC Kappa

Kappa		Freelite →			
		<3,3	<3,3–19,4	>19,4	
N Latex FLC ↓	6,7	16	12	0	28
	6,7–22,4	19	480	43	542
	>22,4	0	41	507	548
		35	533	550	
Abweichungen:		115		10,3 %	
Übereinstimmungen:		1.003		89,7 %	
Summe:		1.118			

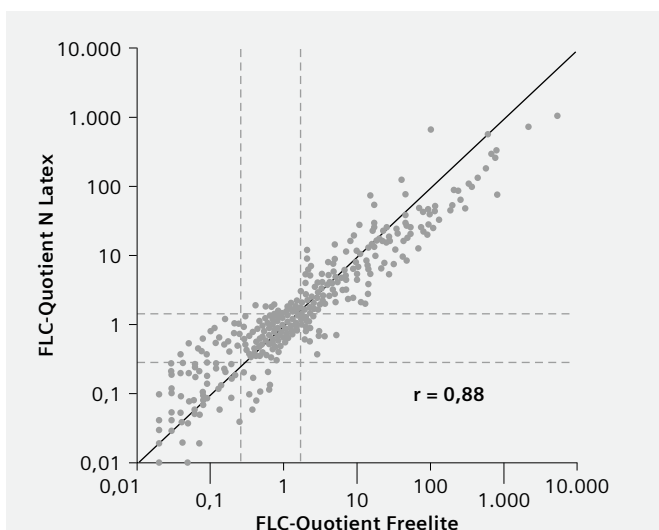
Kappa-Koeffizient nach Cohen: 0,80



Methodenvergleich FLC Lambda

Lambda		Freelite →			
		<5,7	5,7–26,3	>26,3	
N Latex FLC ↓	<83	18	58	1	77
	8,3–27,0	8	521	20	549
	>27,0	0	110	382	492
		26	689	403	
Abweichungen:		197		17,6 %	
Übereinstimmungen:		921		82,4 %	
Summe:		1.118			

Kappa-Koeffizient nach Cohen: 0,67



Methodenvergleich FLC-Quotient

Quotient		Freelite →			
		<0,26	0,26–1,65	>1,65	
N Latex FLC ↓	<0,31	92	11	0	103
	0,31–1,56	21	729	37	787
	>1,56	0	23	205	228
		113	763	242	
Abweichungen:		92		8,2 %	
Übereinstimmungen:		1026		91,8 %	
Summe:		1.118			

Kappa-Koeffizient nach Cohen: 0,82

Im Allgemeinen ist bei den FLC Kappa-Tests im Vergleich zu den FLC Lambda-Tests eine höhere Korrelation zwischen den beiden Analysesystemen zu beobachten, was sich in einer engeren Korrelation höherer FLC Kappa/Lambda-Quotienten (d.h. monoklonale Kappa-Proteine) und einer breiteren Streuung niedrigerer FLC Kappa/Lambda-Quotienten (monoklonale Lambda-Proteine) ausdrückt.

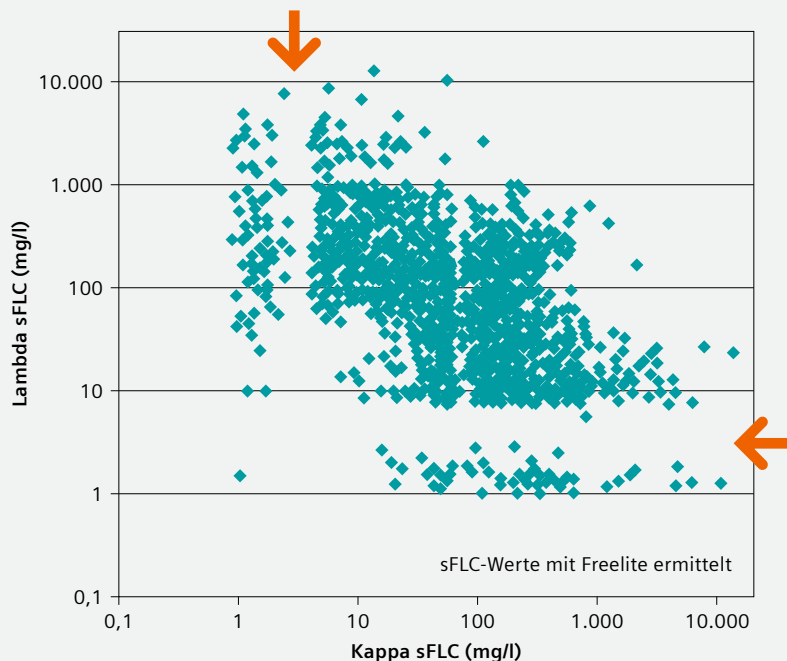
Im Gegensatz zu FLC vom Typ Kappa (die normalerweise als Monomer zirkulieren) bilden FLC vom Typ Lambda typischerweise Dimere im Blutkreislauf, können jedoch auch höhermolekulare Aggregate bilden (dieses Phänomen ist scheinbar patientenspezifisch). Diese Heterogenität freier Leichtketten vom Typ Lambda wird mit einer variablen Reaktivität verschiedener Testverfahren in Verbindung gebracht.

Darüber hinaus kann die Korrelation des FLC Kappa/Lambda-Quotienten erheblich durch die mit Freelite-Tests ermittelten Werte für die nicht involvierte FLC, die auf ein Niveau unterhalb des Normalbereichs supprimiert werden kann, beeinträchtigt werden. Im unteren Bereich

der Freelite-Referenzkurven werden in der Tat keine Proben erfasst! Dieses Phänomen wurde bereits von TBS auf [www.wikilite.com](http://www.wikilite.com) ausführlich beschrieben (vgl. Abbildung unten).

In dieser Abbildung sind 4.000 anormale Proben dargestellt, die eine diskontinuierliche Verteilung erkennen lassen – ein Zeichen dafür, dass im unteren Bereich der Referenzkurve keine Testergebnisse erfasst wurden. Das Phänomen ist chargenabhängig und ist sowohl in Bezug auf FLC vom Typ Kappa als auch in Verbindung mit FLC vom Typ Lambda zu beobachten. Bei Proben mit einer FLC-Konzentration im „nicht nachweisbaren“ Bereich oder „Lückenbereich“ können in einer geringeren Verdünnung Testergebnisse ermittelt werden. Die geringe Leistungsfähigkeit der Freelite-Tests bei der Analyse von Proben in unterschiedlichen Verdünnungsstufen ist hinreichend dokumentiert.<sup>13</sup> Die Freelite-Tests ermitteln Konzentrationen, die im unteren Bereich möglicherweise um das 5- bis 10-fache niedriger ausfallen als die unter Verwendung von N Latex FLC-Tests berechneten Werte, was mit erheblichen Auswirkungen auf den FLC Kappa/Lambda-Quotienten verbunden sein kann.

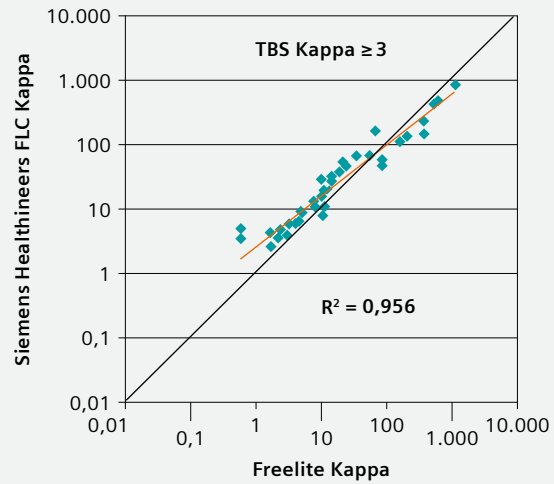
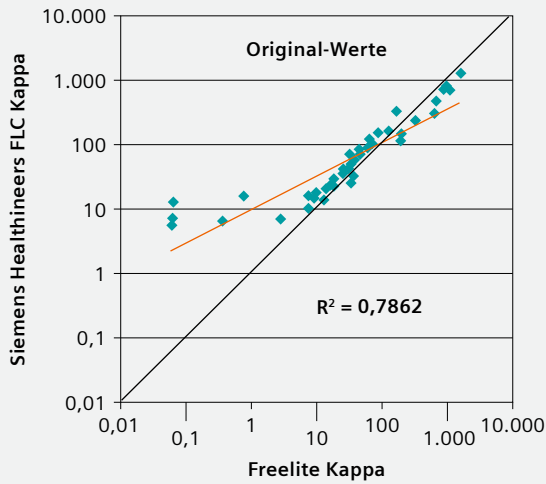
#### Nachweislücken von Freelite-Tests



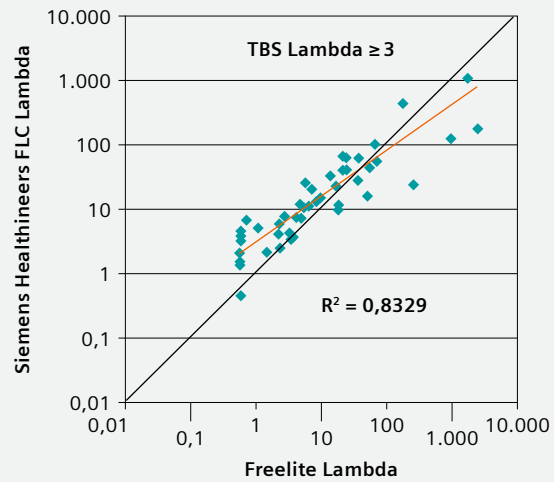
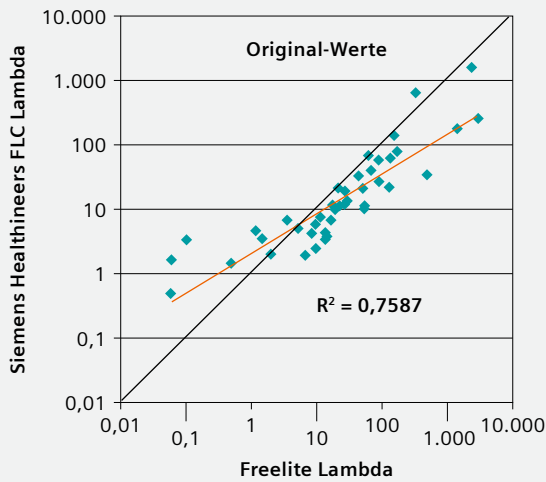
Der Kappa/Lambda-Log-Plot von ca. 4.000 anormalen sFLC-Proben lässt „Lücken“ im Bereich der unteren und oberen Messbereichsgrenze des Analysesystems erkennen.

## FLC Methodenkorrelation in Abhängigkeit von der unteren Messwertgrenze bei TBS Freelite

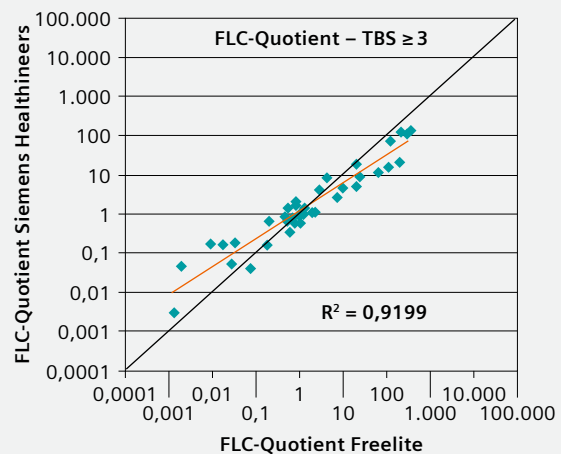
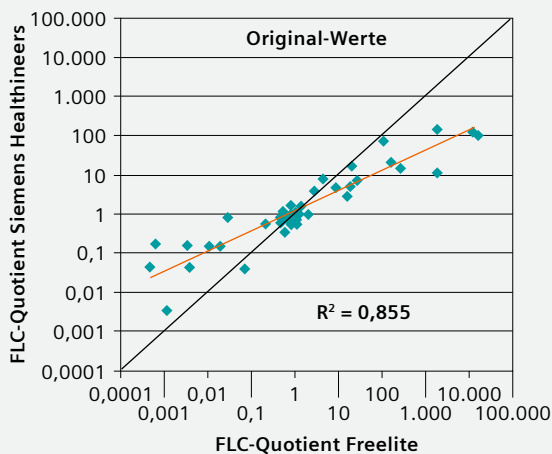
### Methodenvergleich: FLC Kappa



### Methodenvergleich: FLC Lambda



### Methodenvergleich: FLC Kappa/Lambda-Quotient



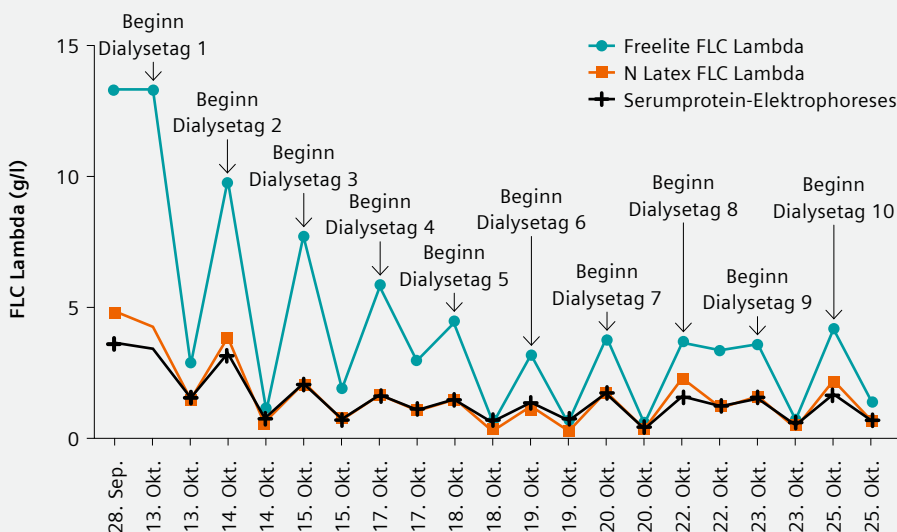
**Abbildungen links:** Original-Werte einschließlich der Ergebnisse für 1:5 verdünnte sowie unverdünnte Proben bei Verwendung von Freelite-Tests.

**Abbildungen rechts:** Für alle Ergebnisse  $< 3$  mg/l wurde der Wert auf 3 mg/l gesetzt.

Infolge des fehlenden Vorreaktionsprotokolls ermitteln Freelite-Tests regelmäßig falsch-normale Testergebnisse in pathologischen Proben mit einer hohen FLC-Konzentration. Andererseits ist die Überbewertung durch Freelite-Tests ein ausführlich dokumentiertes Problem<sup>9-13, 16</sup>, insbesondere in Verbindung mit Proben, in denen FLC in Form höherer Aggregate vorliegen oder wenn diese mit anderen Proteinen Komplexe gebildet haben. Im Rahmen von Studien zum Methodenvergleich von N Latex FLC- und Freelite-Tests konnten bei bestimmten Proben mit sehr hohen FLC-Konzentrationen im Serum Abweichungen zwischen den Methoden nachgewiesen werden. Die größten Abweichungen waren in Verbindung mit FLC vom Typ Lambda zu beobachten, wobei die TBS-Testergebnisse bei 10 g/l und darüber lagen. In den meisten Fällen fielen die Ergebnisse einer Analyse mit N Latex FLC Lambda deutlich niedriger aus, wobei Wiederholungs-läufe mit Proben derselben Person den gleichen Effekt erkennen ließen.

In dem unten abgebildeten Fallbericht (Quelle: W. Gentzer, Poster beim Jahrestreffen der AACC 2011) ist ein Patient mit multiplem Lambda-Leichtkettenmyelom dargestellt, der einer Hämodialyse mit einem Campro™-Filter unterzogen wird, um die freien Leichtketten vom Typ Lambda aus dem Serum zu entfernen. Vor jeder Dialysebehandlung sowie im Anschluss daran wurde eine Serumanalyse mit N Latex FLC Lambda und Freelite Lambda sowie eine quantitative Serumprotein-Elektrophorese durchgeführt. Die drei Methoden belegten übereinstimmend die erfolgreiche Entfernung freier Leichtketten mithilfe der durchgeführten Dialysebehandlung und die anschließende, bei der nächsten Dialysesitzung nachgewiesene erneute Umverteilung von FLC Lambda aus dem Interstitium. Die unter Verwendung von Freelite-Tests gemessenen Konzentrationen waren deutlich höher als die mittels der Methode von Siemens Healthineers ermittelten Werte; bei den Ergebnissen des N Latex FLC Lambda-Tests konnte eine gute Übereinstimmung mit der Quantifizierung durch Serumprotein-Elektrophorese beobachtet werden.

**Patient mit Lambda-Leichtkettenmyelom, der einer Dialysebehandlung mit Campro-Filtern unterzogen wurde**



## Literatur:

1. Pratt G. The evolving use of serum free light chain assays in haematology. Br J Haematol. 2008; 141: 413–22.
2. 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; 23: 215–24.
3. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. Leukemia. 2009; 23: 3–9.
4. Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia. 2006; 20: 1467–73.
5. Snozek CLH, Katzmann JA, Kyle RA, et al. Prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed incorporation into the international staging system. Leukemia. 2008; 22: 1933–7.
6. Davids MS, Murali MR, Kuter D. Serum free light chain analysis. Am J Hematol. 2010;85:787-90.
7. Hutchison CA, Cockwell P, Stringer S, et al. Early reduction of serum-free light chains associates with renal recovery in myeloma kidney. J Am Soc Nephrol. 2011; 22: 1129–36.
8. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. Clin Chem. 2009; 55: 1517–22.
9. Tate J, Bazeley S, Sykes S, Mollee P. Quantitative serum free light chain assay – analytical issues. Clin Biochem Rev. 2009; 30: 131–40.
10. de Kat Angelino CM, Raymakers R, Teunesen MA, et al. Overestimation of serum free light chain concentration by immunonephelometry. Clin Chem. 2010; 56: 1188–90.
11. Bosmann M, Köbler J, Stolz H, et al. Detection of serum free light chains: the problem with antigen excess. Clin Chem Lab Med. 2010; 48: 1419–22.
12. Tate JR, Mollee P, Dimeski G, et al. Analytical performance of serum free light-chain assay during monitoring of patients with monoclonal light-chain diseases. Clin Chim Acta. 2007; 376: 30–6.
13. Vercammen M, Meirlaen P, Broodtaerts L, et al. Effect of sample dilution on serum free light chain concentration by immunonephelometric assay. Clin Chim Acta. 2011; 412: 1798–804.
14. te Velthuis H, Knop I, Stam P, et al. N Latex FLC – new monoclonal high-performance assays for the determination of free light chain kappa and lambda. Clin Chem Lab Med. 2011; 49: 1323–32.
15. Hoedemakers RMJ, Pruijt JFM, Hol S, et al. Clinical comparison of new monoclonal antibody-based nephelometric assays for free light chain kappa and lambda to polyclonal antibody-based assays and immunofixation electrophoresis. Clin Chem Lab Med. 2012; 50.
16. Briand PY, Decaux O, Caillon H, et al. Analytical performance of the serum free light chain assay. Clin Chem Lab Med. 2010; 48: 73–9.

### Bestellinformationen

Katalog-Nr.	Produktbezeichnung	Anzahl Tests
OPJA03	N Latex FLC Kappa	3 × 37 Tests
OPJB03	N Latex FLC Lambda	3 × 37 Tests
OPJC03	N FLC Zusatzreagenz	3 × 0,5 ml Zusatz A, 3 × 2 ml Zusatz B
OPJD03	N FLC Standard SL	3 × 1 ml
OPJE03	N FLC Kontrolle SL1	3 × 1 ml
OPJF03	N FLC Kontrolle SL2	3 × 1 ml



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, Konzepten 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\*innen<sup>1</sup>, Präzisionstherapie und Digitalisierung, Daten und Künstliche Intelligenz (KI) sind wir bestens aufgestellt, die wichtigsten Trends im Gesundheitswesen aktiv zu gestalten. Auf diesen Stärken werden wir weiter aufbauen, um die bedrohlichsten Krankheiten der Welt zu bekämpfen, die Qualität klinischer Ergebnisse sowie den Zugang zu Gesundheitsversorgung zu verbessern.

Wir sind ein Team aus mehr als 71.000 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 regulativen 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 können nicht immer detailgetreu dargestellt werden. Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an den\*die für Sie zuständige\*n Siemens Healthineers Mitarbeiter\*in oder besuchen Sie unsere Homepage: [siemens-healthineers.de](https://www.siemens-healthineers.de)

<sup>1</sup> Personalisierung von Diagnose, Therapieauswahl und -überwachung, Nachsorge und Gesundheitsmanagement.

---

#### **Siemens Healthineers Headquarters**

Siemens Healthineers AG  
Siemensstr. 3  
91301 Forchheim, Deutschland  
Tel.: +49 9191 18-0  
[siemens-healthineers.com](https://www.siemens-healthineers.com)

#### **Lokaler Kontakt**

Siemens Healthineers AG  
Frankfurter Str. 110  
65760 Eschborn, Deutschland  
Tel.: +49 6196 7713-1111  
[siemens-healthineers.de](https://www.siemens-healthineers.de)