

Les chaînes légères libres dans les pathologies rénales

Phn Biol Anne Tamigniau



C.H.U. *de Charleroi*



Plan de la présentation

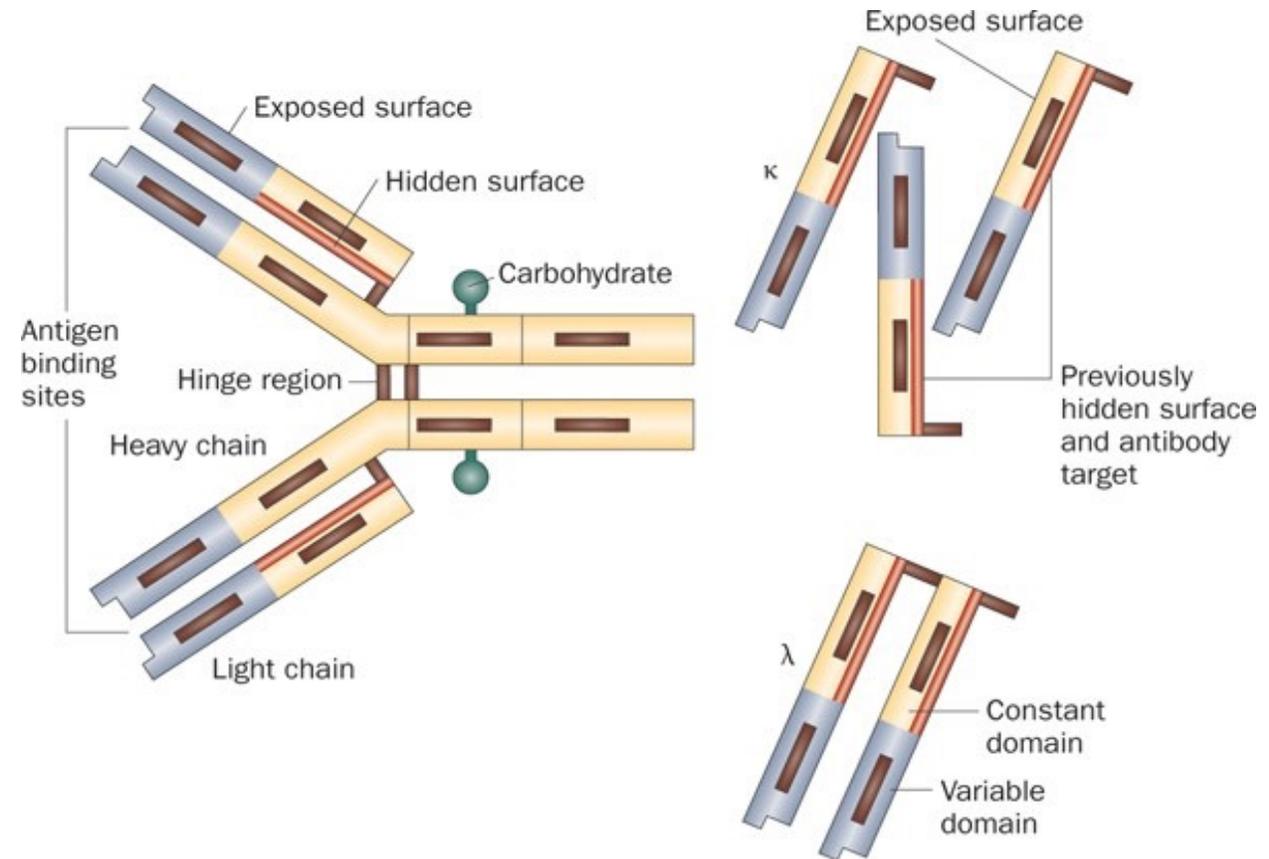
- Préambule
 - ✓ Rappels généraux
- Overview des différents dosages disponibles sur le marché
 - ✓ Principes et limites de chaque méthode
 - ✓ Ecueils méthodologiques
 - ✓ Corrélation entre méthodes
 - Cas particuliers des patients insuffisants rénaux
 - Aperçu d'un EEQ
- Impact du choix de la méthode sur les critères d'interprétation
 - ✓ Revue des critères
 - ✓ Expérience pratique : changement du réactif des CLL au CHU de Charleroi
- Evolution du remboursement INAMI

Préambule

- Rappels généraux

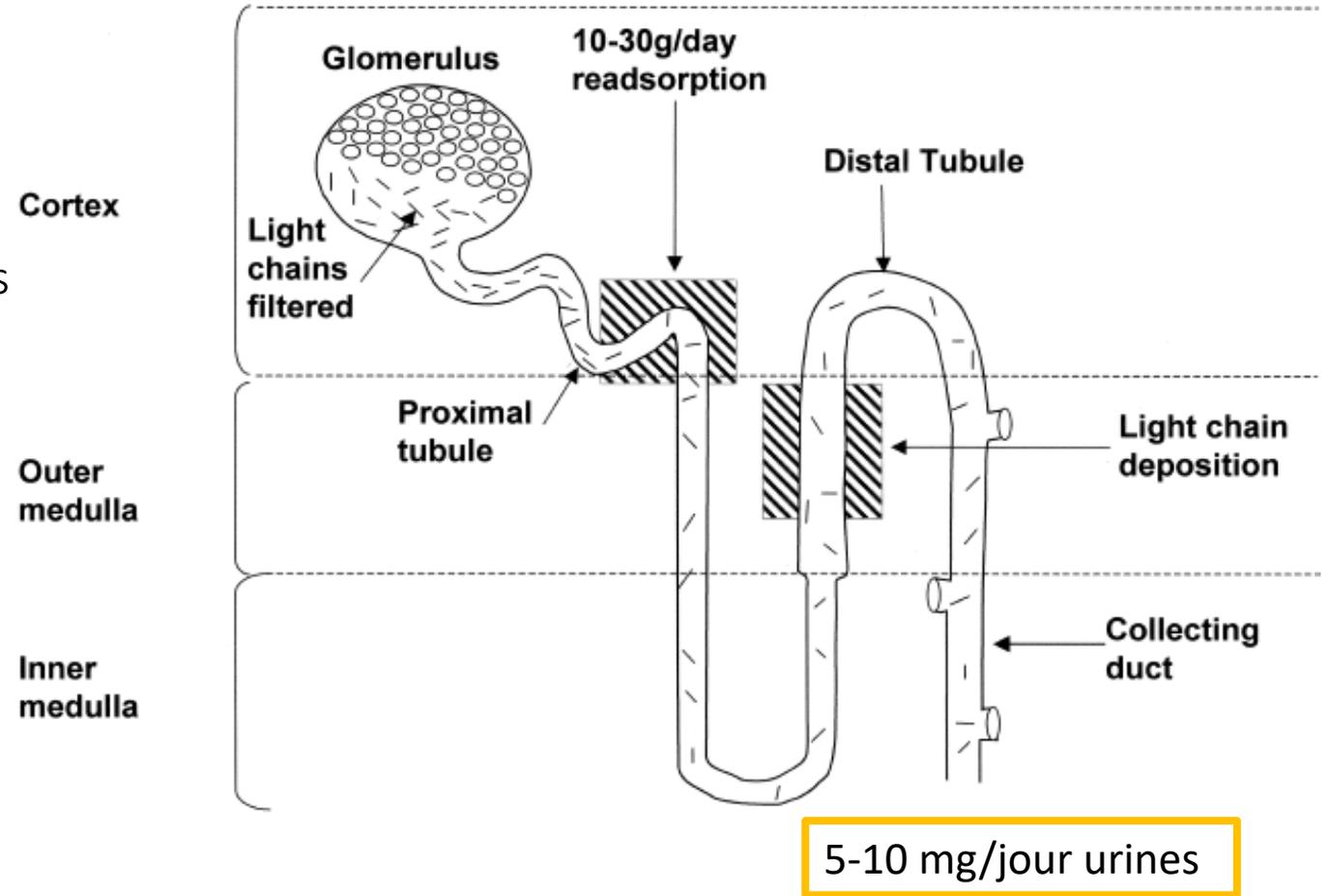
- ✓ Excès de production des chaînes légères par rapport aux chaînes lourdes
- ✓ CLL circulantes : production \pm 500 mg/jour
- ✓ CLL κ - monomères
 - PM : 22,5 kDa
 - $t_{1/2}$ vie* : 2-4 heures
- ✓ CLL λ – dimères
 - PM : 45 kDa
 - $t_{1/2}$ vie* : 3-6 heures

* Sujet avec un DFG normal



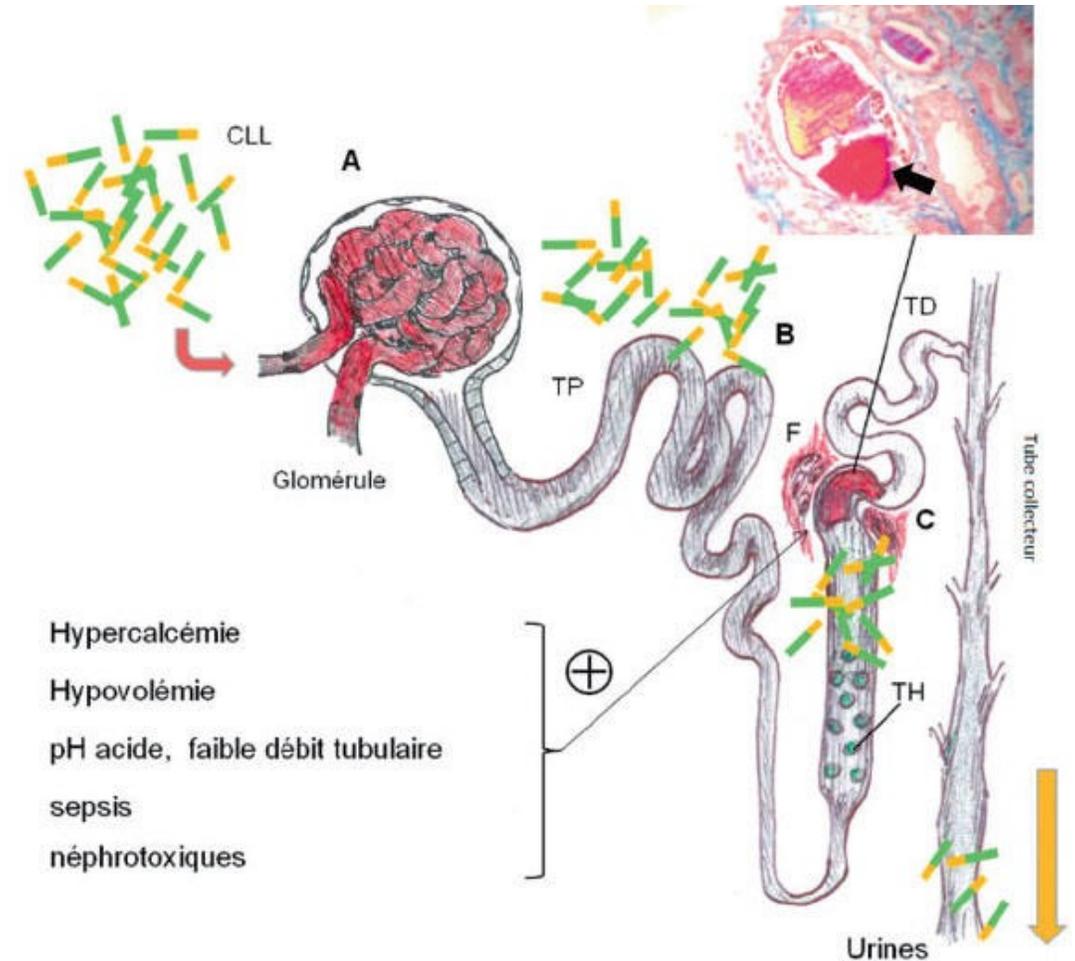
Préambule

- Chez un patient sain
 - ✓ Filtration glomérulaire (< 60 kDa)
 - ✓ Réabsorption au niveau du tubule proximal (10-30 g/jour)
 - ✓ Catabolisme rénal par les lysosomes
 - ✓ Sécrétion dans le tube contourné distal
 - ✓ Elimination urinaire
 - 5-10 mg/jour dans les urines



Préambule

- En cas d'excès de chaînes légères libres
 - ✓ Capacité de réabsorption dépassée
 - ✓ CLL dans les segments distaux
 - Précipitation de cristaux de CLL
 - Fixation sur la protéine de Tamm-Horsfall avec formation de cylindres dans les tubules distaux
 - Inflammation interstitielle et obstruction tubulaire
 - Si pas de réduction de la concentration en CLL → atteinte fibrotique irréversible
 - ✓ Excrétion urinaire augmentée des CLL dans l'urine (> 10mg/jour)



Préambule

- Facteurs de risque de précipitation des CLL

- ✓ Diminution du GFR et du flux tubulaire : \searrow flux \nearrow augmentation des interactions entre les 2 protéines

- Déshydratation, peu importe son origine (fièvre, diurétiques, diarrhée, vomissements...)
- Hypercalcémie
- Médicamenteux (néphrotoxiques ou modifiant l'hémodynamique rénale) : AINS, produits de contrastes, diurétiques, aminosides, IECA, ...

- ✓ Importance du pH urinaire

- Point isoélectrique de la protéine de Tam Horsfall = 3,5
- Point isoélectrique des CLL = 4,7-7,4

Diurèse abondante
Alcalinisation des urines (pH > 7)

- ✓ Importance de la concentration en électrolytes

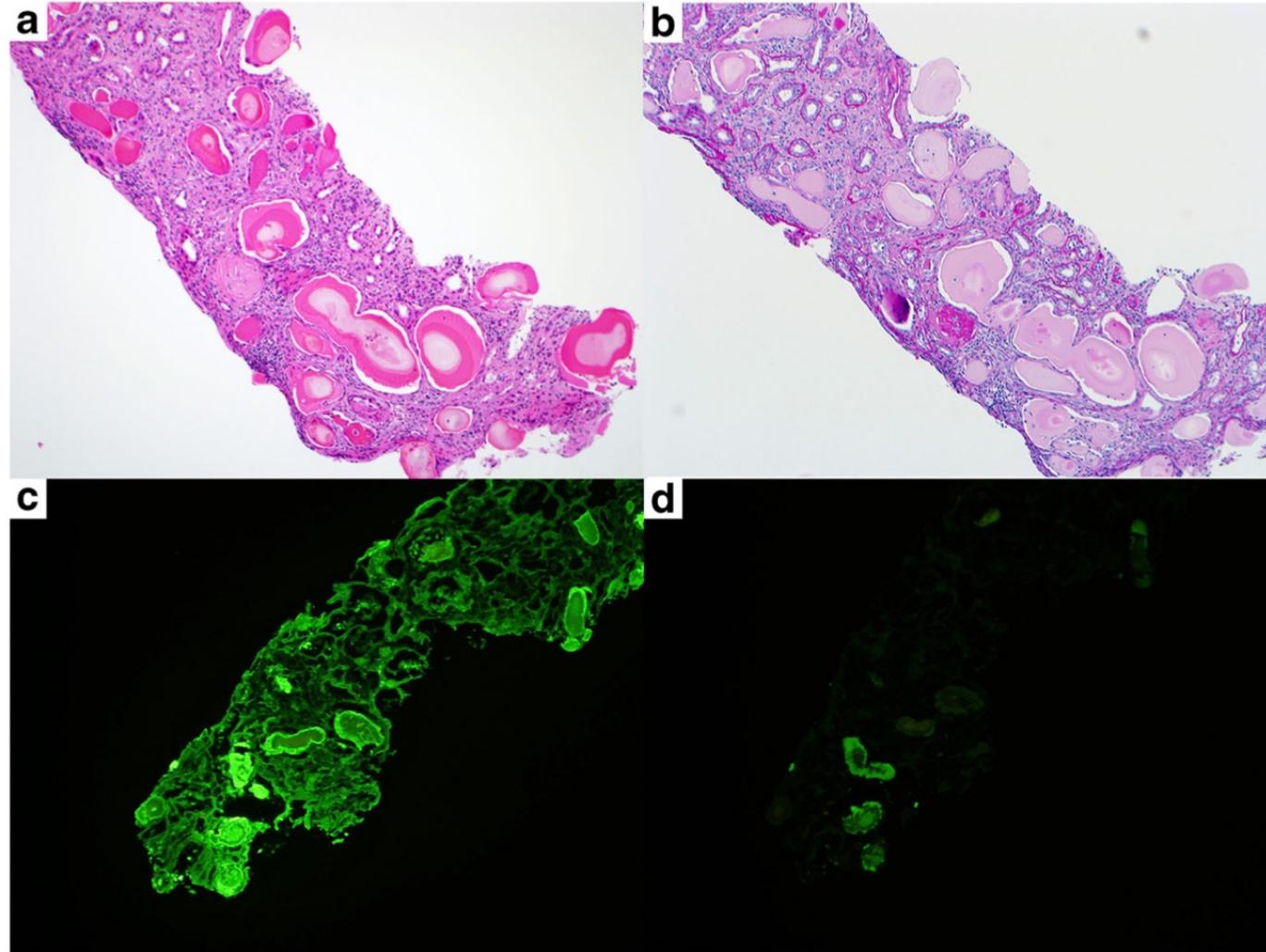
- Au plus elle est importante, au plus elle favorise la formation des cylindres

- ✓ Importance de l'atteinte rénale

- Plus elle est sévère, plus le $t_{1/2}$ vie des CLL \nearrow

Préambule

Fig. 1 Renal biopsy findings in a patient with kappa-type myeloma cast nephropathy: Numerous atypical large hyper eosinophilic casts distending and occluding distal tubular lumina are seen (**a**, hematoxylin and eosin, $\times 100$). The atypical casts stain negative with the periodic acid Schiff stain (**b**, $\times 100$). On immunofluorescence, the casts stain brightly with kappa (**c**, $\times 100$) with negative to trace staining for lambda (**d**, $\times 100$)



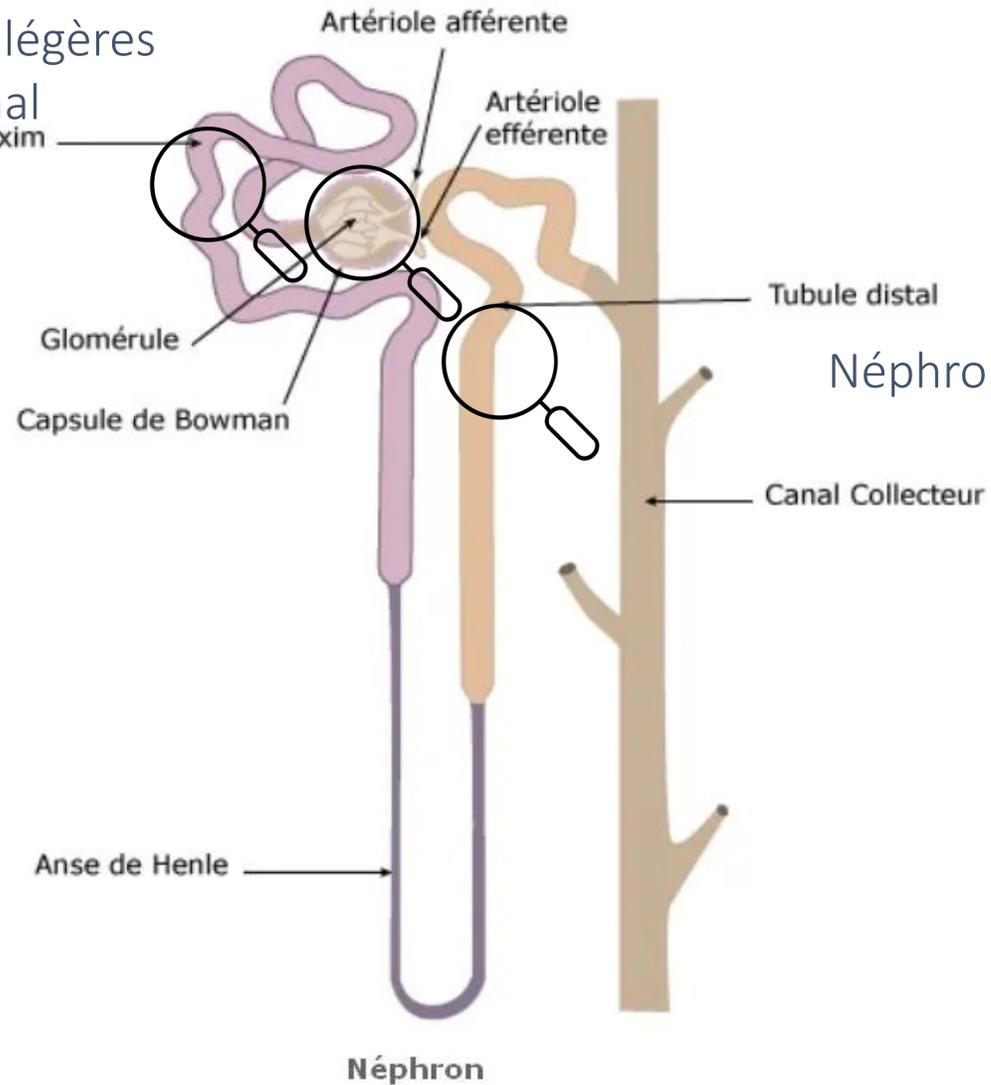
Préambule

Maladie de dépôt des chaînes légères

Lésions du tubule proximal

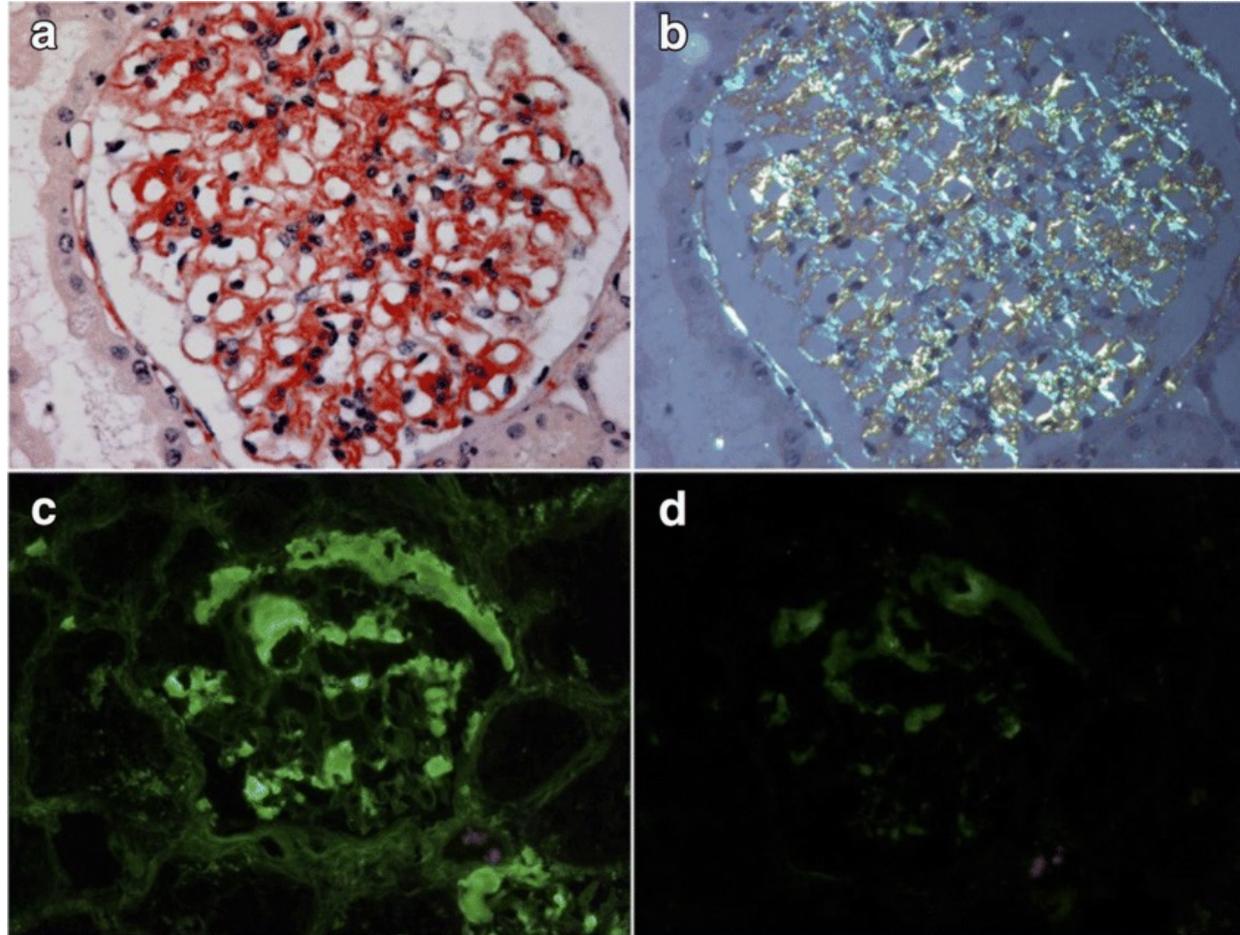
Fanconi

Amyloïdose



Néphropathie à cylindres

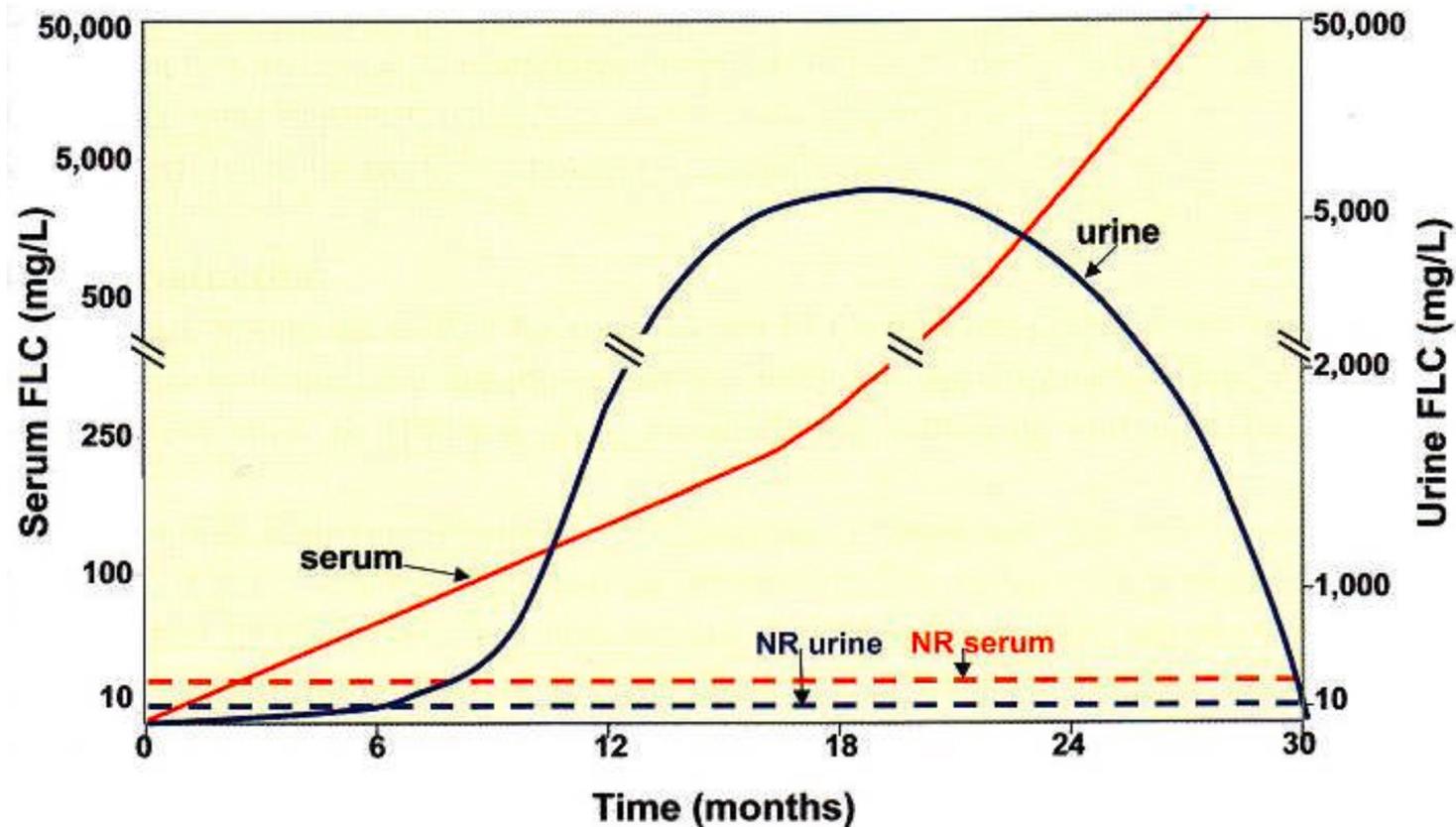
Préambule



Kidney biopsy in systemic AL amyloidosis. a, b Light microscopy with Congo red staining ($\times 400$). The glomerular deposits are visible in the mesangium, in the capillary walls and Bowman's capsule (a); under polarized light, they show the typical apple-green birefringence (b). c Immunofluorescence ($\times 400$). Image shows glomerular amyloid deposits that are positively stained with the antilambda conjugate (c), but not with the antikappa conjugate (d).

Préambule

- Piège analytique – matrice urinaire

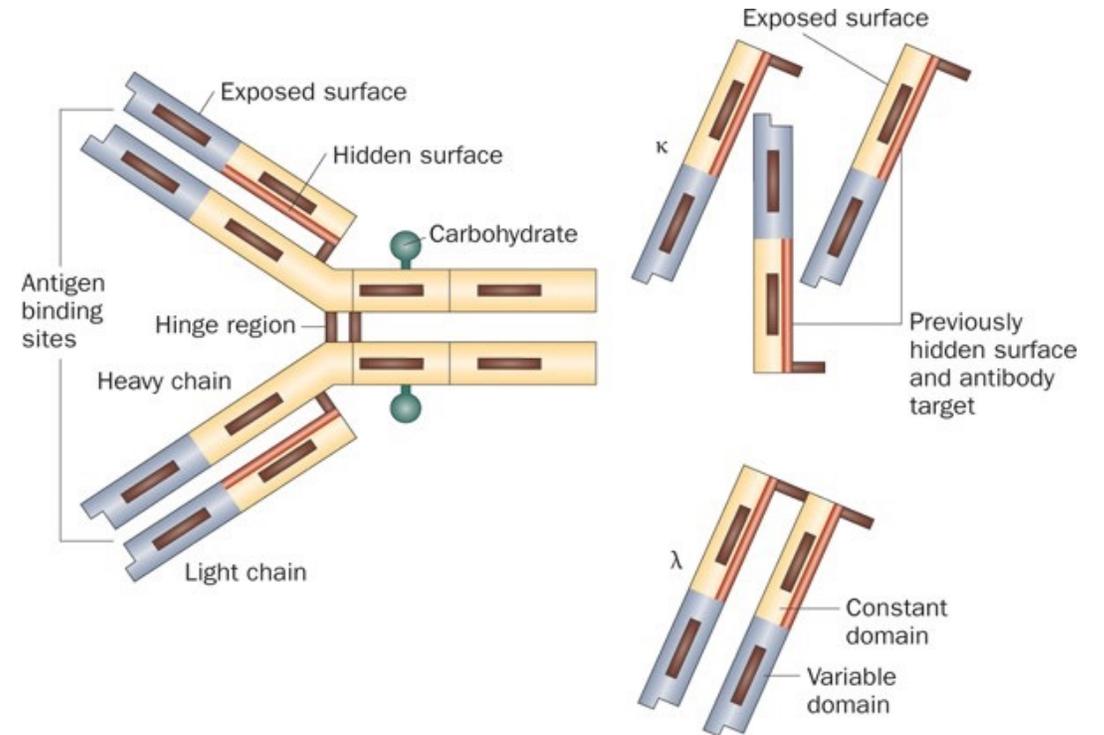


- ✓ Matrice urinaire → mauvais milieu pour le dosage des CLL
- ✓ Quantité de CLL urinaire davantage tributaire de la fonction rénale résiduelle que de l'importance de la masse tumorale

Préambule

- Matrice de choix pour le dosage des chaînes légères libres : sérum

- ✓ Matrice peu invasive
- ✓ Bonne sensibilité analytique
 - CLL : < 5 mg/L
 - Electrophorèse des protéines : 500 mg/L
 - Immunofixation : 150 mg/L
- ✓ Test quantitatif
- ✓ Test automatisable
- ✓ Marqueur précoce
 - $t_{1/2}$ vie des CLL : 2-6 heures
 - $t_{1/2}$ vie d'une IgG : 20-25 jours
- ✓ Challenges techniques
 - Détection des excès d'antigènes
 - Variabilité interlot pour les réactifs polyclonaux
 - Quid de la polymérisation des chaînes légères libres
- ✓ Coût



Préambule

- Marqueur analytique de choix mais à ne pas utiliser seul
 - ✓ Exemple : amyloïdose AL

Table 1: Sensitivities of investigations for AL amyloidosis incorporating the Freelite FLC assay.

IFE	Mayo clinic [7]	Pavia [8]	Pavia [8]	Heidelberg [9]	Brisbane [10]	Boston [11]
	Standard	Standard	High resolution	Standard	Standard	Standard
n	581	115	115	133	31	169
	%	%	%	%	%	%
SPEP	65.9	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated
SPEP+IFE	73.8	80	95	69	67	76
UPEP+IFE	Not stated	67	95	86	83	88
FLC ratio	88.3	76	76	87^c	97	75
SPEP and FLC ratio	96.2	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated
SPEP+IFE and FLC ratio	97.1 ^a	96 ^b	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated
SPEP+IFE and UPEP+IFE	94.2	Not stated	100	92	90	96
SPEP+IFE and UPEP+IFE and FLC ratio	98.1	100	100	98	97	Not stated

SPEP, Serum protein electrophoresis; IFE, immunofixation electrophoresis; UPEP, urine protein electrophoresis; FLC, free light chain;

^aomitting UPEP+IFE missed six cases of λ AL; ^bomitting UPEP+IFE missed five cases of λ AL; ^cFLC missed one case of κ AL and 16 cases of λ AL.

Dosages disponibles

The Binding Site®	Siemens®	Sebia®
		
Freelite®	N Latex FLC®	Sebia FLC Kappa et Lambda®
Commercialisation en 2001	Commercialisation en 2011	Commercialisation en 2018
Néphélométrie/Turbidimétrie	Néphélométrie	Technique ELISA
Anticorps polyclonaux	Anticorps monoclonaux	Anticorps polyclonaux
CE*	CE-IVDR	CE

*Pas sur l'Aneph 630®

Dosages disponibles

- Binding site - the Freelite®

Test repris nommément dans de nombreuses guidelines internationales (IMWG)

Vaste littérature disponible

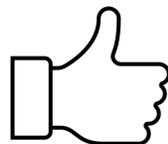
Automatisable sur néphélomètre/turbidimètre

Cut-off d'interprétation disponibles pour de nombreuses pathologies, reconnus et validés

Polyclonal – vaste reconnaissance de divers épitopes

Support scientifique important pour les cliniciens - culturellement implanté

Programme EEQ développé en interne (Improve)



Problème de reproductibilité, et particulièrement dans les valeurs basses

Variabilité de lot à lot (polyclonal)

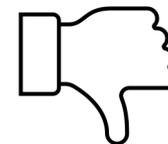
Effet de la fonction rénale sur les valeurs de référence des ratios

Effet de la plateforme utilisée sur la valeur du résultat

Difficulté sur certains échantillons pour détecter l'excès d'antigène

Coût (dilutions...) – effet de monopole

Marquage CE limité (dernière génération Siemens)



Dosages disponibles

- N Latex FLC[®] - Siemens

Meilleure reproductibilité de lot à lot, et de plus faibles CV dans les valeurs basses

Pas d'effet de la fonction rénale sur les valeurs de référence des ratios

Automatisable sur néphélomètre

Rapide (pré-réaction)

Meilleure sur la détection de l'excès d'antigène

Marquage CE-IVDR

De plus en plus d'utilisateurs et expérience grandissante

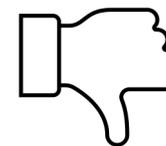


Pas de guidelines officielles reprenant des valeurs cut-off pour les N-FLC Latex

Monoclonal – risque de louper des épitopes ?

Moins de littérature disponible

Moins implanté culturellement chez les cliniciens



Dosages disponibles

Performance Evaluation of Serum Free Light Chain Analysis

Nephelometry vs Turbidimetry, Monoclonal vs Polyclonal Reagents

Comparison of Freelite and N-Latex serum free light chain assays: a critical review

Anne-Sophie Messiaen, MSc,¹ Maxime N. Martine Vercaemmen, MD, PhD,² Lieve Johan Debrabandere, MSc,¹ Hilde Vanbo

Massimo Daves*¹, Andrea Piccin^{2,3}, Vincenzo Roccaforte⁴, Giuseppe Lippi⁵

DE GRUYTER

DOI 10.1515/cclm-2013-0361 — Clin Chem Lab Med 2013; 51(12): 2303–2310

Peter Mollee*, Jill Tate and Carel J. Pretorius

Evaluation of the N Latex free light chain assay in the diagnosis and m

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 SPA_{plus}

Nicole M.A. White-Al Habeeb^{a,b}, Tammy Earle^b, Megan Spencer^b, Ivan M. Blasutig^{a,b,*}

^a Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Canada

^b Department of Clinical Biochemistry, University Health Network, Toronto, ON, Canada

→ Moins « ready to use » pour le biologiste

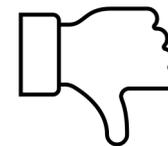
Dosages disponibles

- Sebia FLC®

Automatisable sur préparateur ELISA
Grande accessibilité – pas besoin d’avoir un néphélomètre ou un turbidimètre
Polyclonal – vaste reconnaissance de divers épitopes
Quid des données EEQ ?
Taux rerun plus faible (7 % versus 30 % BS)



Pas de guidelines officielles reprenant des valeurs cut-off pour les FCL Sebia®
Moins de littérature disponible
Moins implanté culturellement chez les cliniciens
Peu de recul et d’expérience



Corrélation entre méthodes

- Méthodologie
 - ✓ Beaucoup d'études réalisées sur d'anciennes sérothèques (Freelite® sur BN ProSpec®)
 - ✓ Impact de la plateforme analytique pour une même trousse de réactifs

Table 4. FLC reference ranges for different instrument platforms, modified from [23].

	κ FLC (mg/L) 95% reference interval	λ FLC (mg/L) 95% reference interval	κ/λ FLC ratio diagnostic range
Freelite manufacturer ranges*	3.30–19.40	5.70–2.63	0.26–1.65
Freelite on Immage	5.83–17.38	7.38–24.51	0.20–1.26
Freelite on Cobas	8.10–29.80	8.60–19.90	0.50–2.43
Freelite on Optilite (OSU)	7.20–27.50	5.70–21.50	0.40–2.58
Freelite on Optilite (UNC)	7.31–26.85	4.70–21.10	0.40–2.53
Freelite on SPA plus	5.46–24.69	4.88–18.75	0.36–2.07

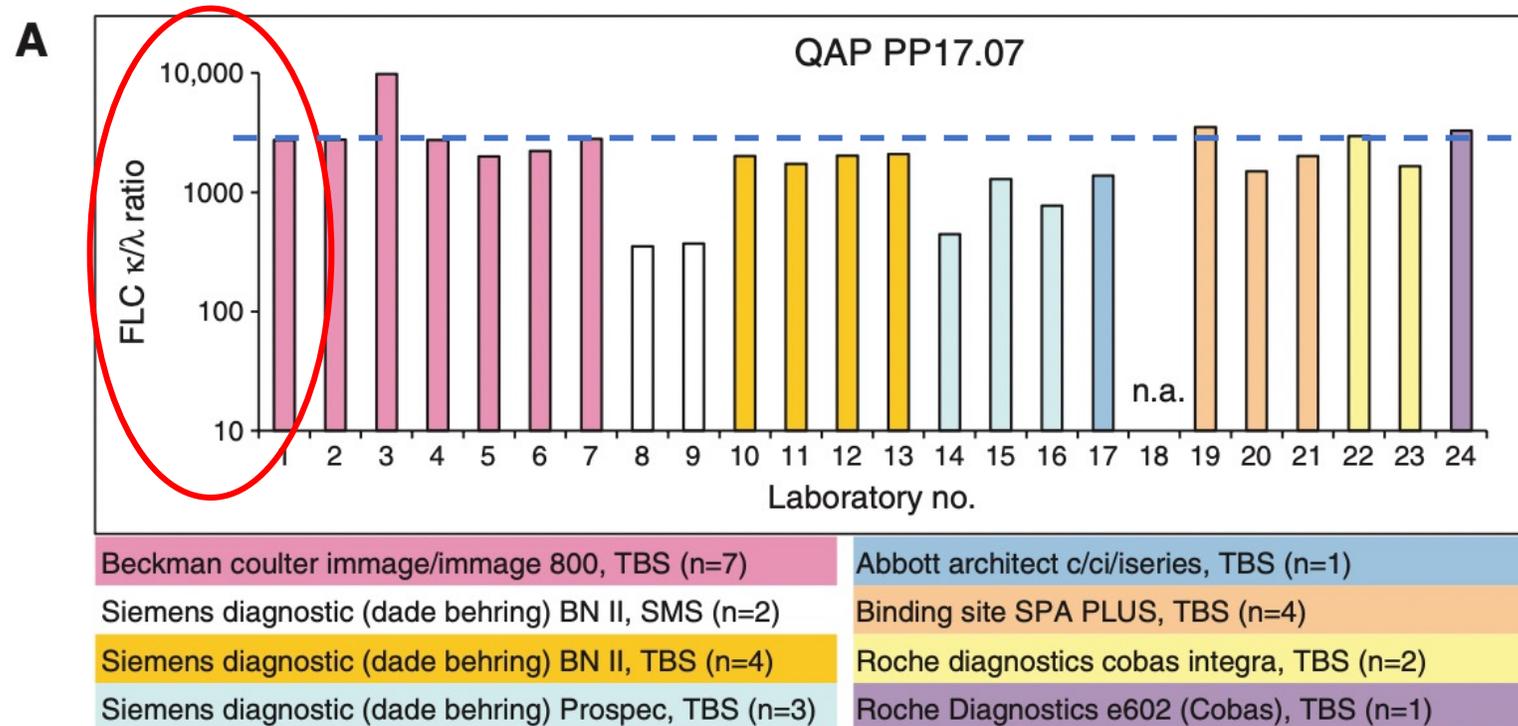
OSU: Ohio State University, Wexner Medical Center; UNC: University of North Carolina Hospitals at Chapel Hill.

*Obtained on a Siemens BNII nephelometric platform [21].

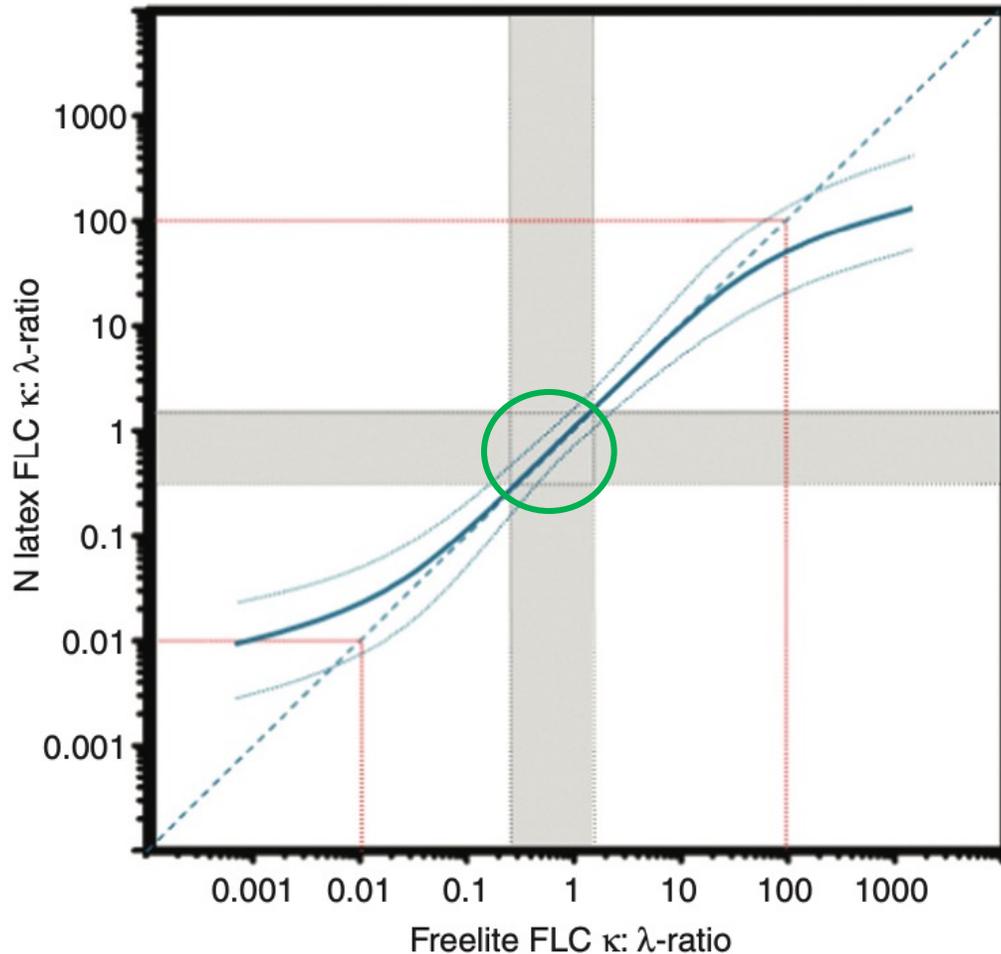
Corrélation entre méthodes

- Méthodologie

- ✓ Beaucoup d'études réalisées sur d'anciennes sérothèques (Freelite® sur BN ProSpec®)
- ✓ Impact de la plateforme analytique pour une même trousse de réactifs



Corrélation entre méthodes

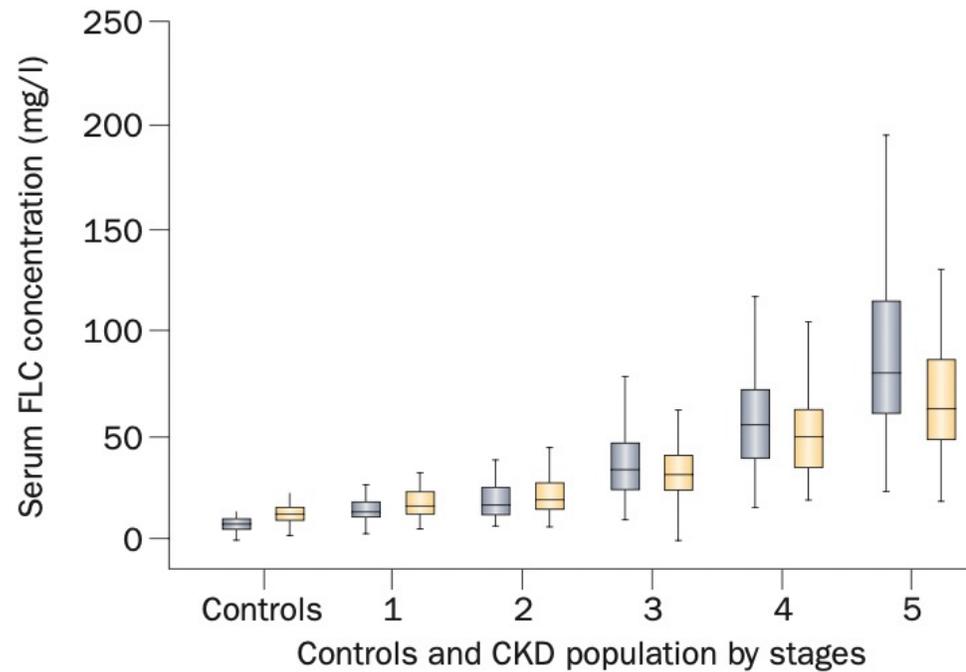


Patients sains (pas de CLL en excès)

- Ratio κ/λ
- Cut-off spécifiques pour chaque technique
- Bonne corrélation des différentes techniques entre elles pour les patients sans excès de CLL
- Seule exception
 - ✓ Insuffisants rénaux
 - ✓ Nécessité de cut-off spécifiques sur certaines méthodes

Corrélation entre méthodes

- Cas particulier des patients insuffisants rénaux – Freelite®



- Nécessité d'avoir des cut-off ajustés chez les patients insuffisants rénaux

Figure 3 | Serum FLC concentrations in patients with CKD. Both κ (blue) and λ (yellow) FLC increase progressively with each CKD stage (both $P < 0.0001$). Data presented as box plots with whiskers; solid lines denote median values.

- Cas particulier des patients insuffisants rénaux – Freelite®

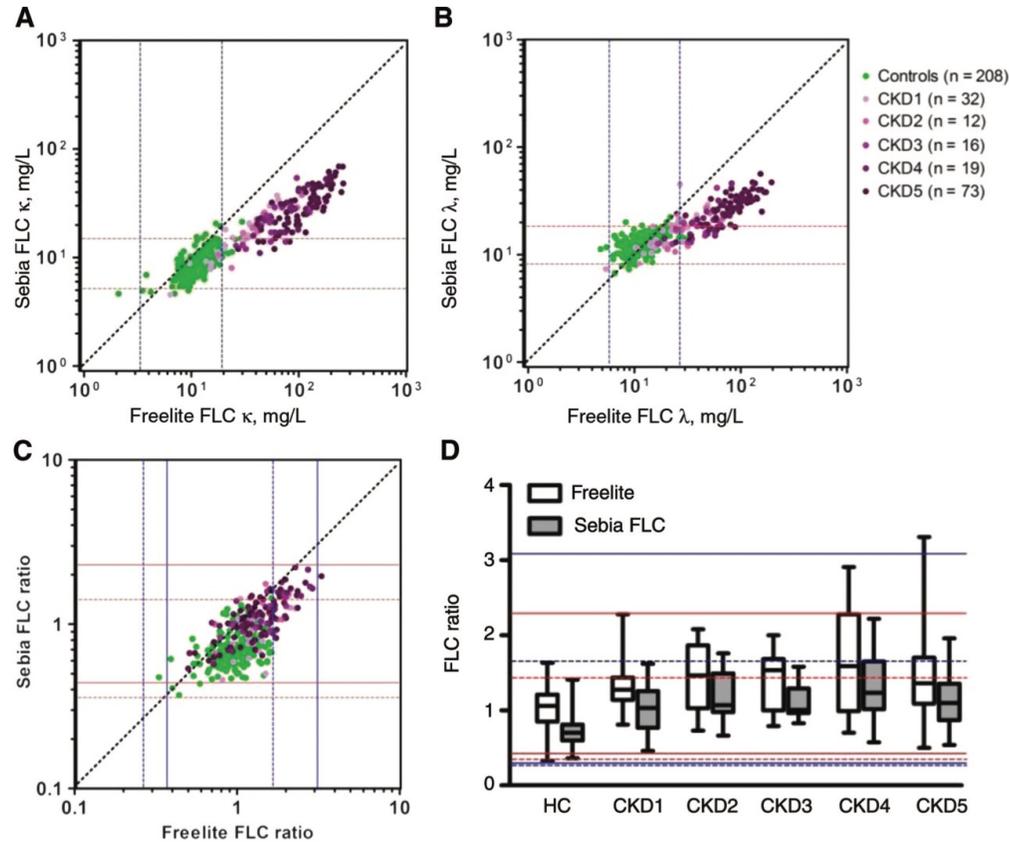
Table 3. Novel reference intervals for serum kappa FLC (mg/L), serum lambda FLC (mg/L), and FLC ratio in individuals with eGFR of 45–59, 30–44, and < 30 mL/min/1.73 m².

Group	0.5th percentile	95% CI	99.5th percentile	95% CI
	Value		Value	
Kappa (mg/L)				
eGFR 45–59	7.8	7.6–8.2	83.6	70.2–96.2
GFR (ml/min/1,73 m²)	Kappa (mg/L)	Lambda (mg/L)	Ratio K/L	
45-59	7,8-83,6	7,3-65,1	0,46-2,62	
30-44	8,8-103,3	8,2-73,2	0,48-3,38	
< 30	11,7-265,1	12,6-150,9	0,54-3,30	
FLC ratio				
eGFR 45–59	0.46	0.41–0.51	2.62	2.24–6.93
eGFR 30–44	0.48	0.37–0.54	3.38	2.45–12.3
eGFR < 30	0.54	0.53–0.61	3.30	2.27–10.9

Central 99% reference intervals. *eGFR* Estimated glomerular filtration rate, *FLC* Free light chain, *CI* Confidence interval.

Corrélation entre méthodes

- Cas particulier des patients insuffisants rénaux – Sebia®



- Nécessité d'avoir des cut-off ajustés chez les patients insuffisants rénaux
- Cut-off proposé : 0,46-2,23

Figure 1: Correlations between Sebia FLC and Freelite assays in CKD patients.

(A) κFLC. (B) λFLC. (C) FLC κ/λ-ratio. Control samples (blood bank donors) are indicated by green dots. Patients are classified from CKD1 (light purple dots) to CKD5 (dark purple dots). (D) Box and whiskers plots represent min-max ranges for FLC-ratios in patients with CKD1-5. sFLC-ratio reference ranges are indicated by blue (Freelite 0.26–1.65) and red (Sebia FLC 0.37–1.44) dotted lines. Adjusted sFLC-ratio reference ranges for CKD patients are represented by blue (Freelite 0.37–3.1) and red (Sebia FLC 0.46–2.23) solid lines.

Corrélation entre méthodes

- Cas particulier des patients insuffisants rénaux – Siemens®

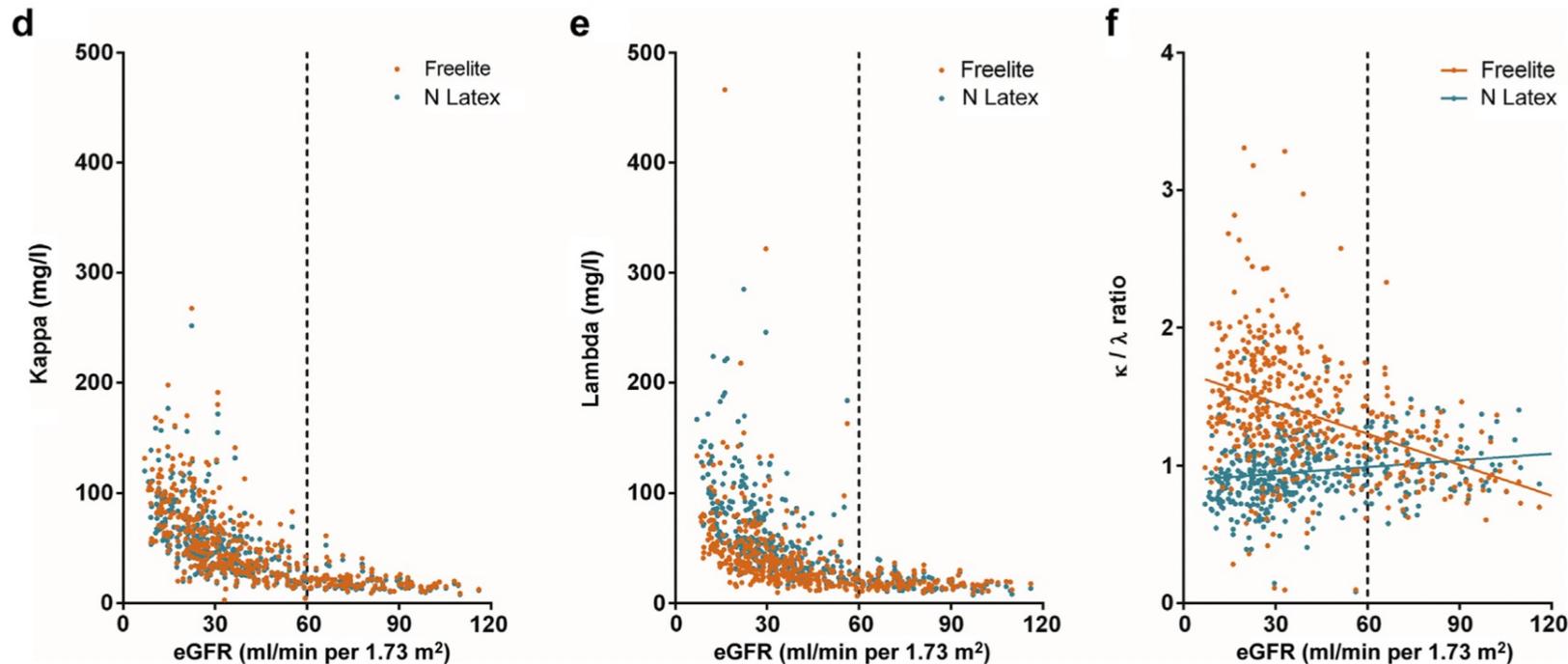


Table 1. Mean and SD for the Freelite and N Latex assay per chronic kidney disease stage (according to KDIGO)

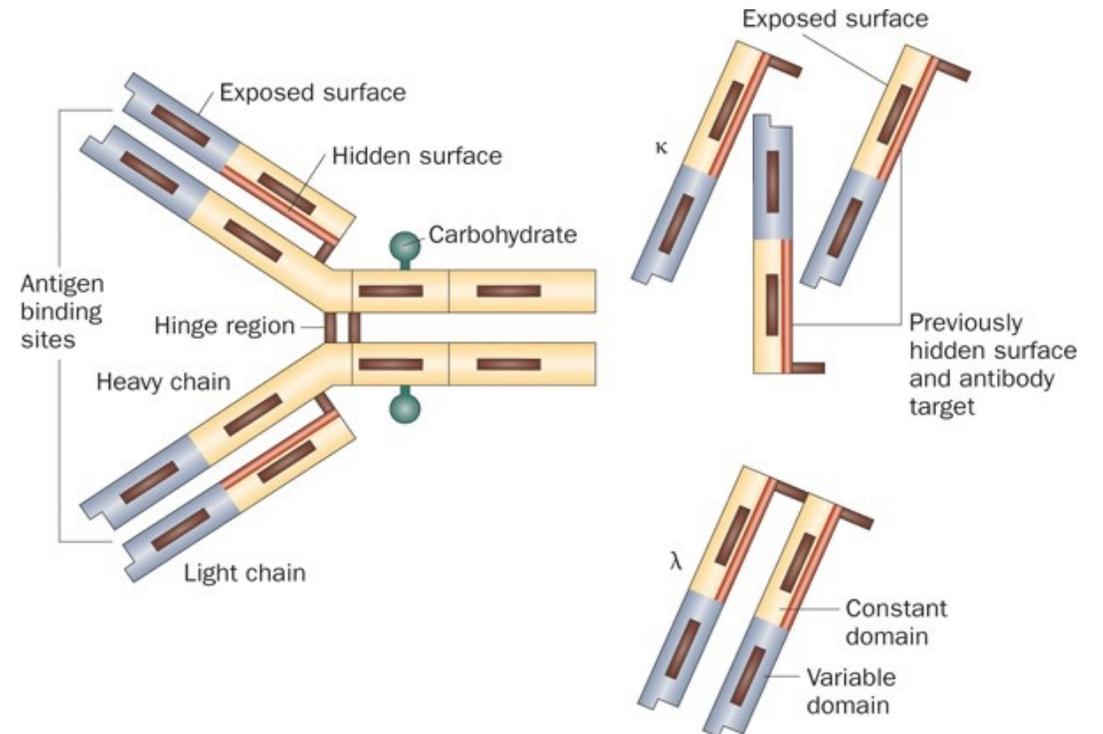
	Patients (n)	Freelite	N Latex	P value
Kappa				
KDIGO G1	31	15.8 (4.1)	14.6 (3.7)	<0.001
KDIGO G2	72	21.2 (8.6)	19.3 (7.3)	<0.001
KDIGO G3a	57	29.6 (15.3)	27.1 (12.4)	<0.001
KDIGO G3b	119	48.3 (29.5)	42.7 (24.3)	<0.001
KDIGO G4	142	71.3 (34.7)	63.3 (31.1)	<0.001
KDIGO G5	47	97.7 (31.2)	89.1 (30.0)	<0.001
Lambda				
KDIGO G1	31	17.4 (6.4)	15.1 (5.1)	0.0006
KDIGO G2	72	19.1 (6.1)	19.3 (6.5)	0.7
KDIGO G3a	57	25.9 (23.0)	30.9 (25.5)	<0.001
KDIGO G3b	119	35.0 (19.9)	44.1 (22.3)	<0.001
KDIGO G4	142	54.2 (51.2)	73.7 (43.0)	<0.001
KDIGO G5	47	68.4 (27.1)	103.7 (36.2)	<0.001
Kappa/lambda ratio				
KDIGO G1	31	0.95 (0.23)	1.01 (0.20)	0.11
KDIGO G2	72	1.12 (0.27)	1.01 (0.21)	0.0001
KDIGO G3a	57	1.28 (0.37)	0.99 (0.24)	<0.001
KDIGO G3b	119	1.42 (0.43)	0.98 (0.2)	<0.001
KDIGO G4	142	1.54 (0.51)	0.92 (0.25)	<0.001
KDIGO G5	47	1.50 (0.35)	0.88 (0.19)	<0.001

KDIGO, Kidney Disease Improving Global Outcomes. Kappa- and lambda-free light-chain concentrations and ratios, stratified according to KDIGO stages 1–5 (not in dialysis). Data are reported as mean (SD), and differences were analyzed using paired *t* tests.

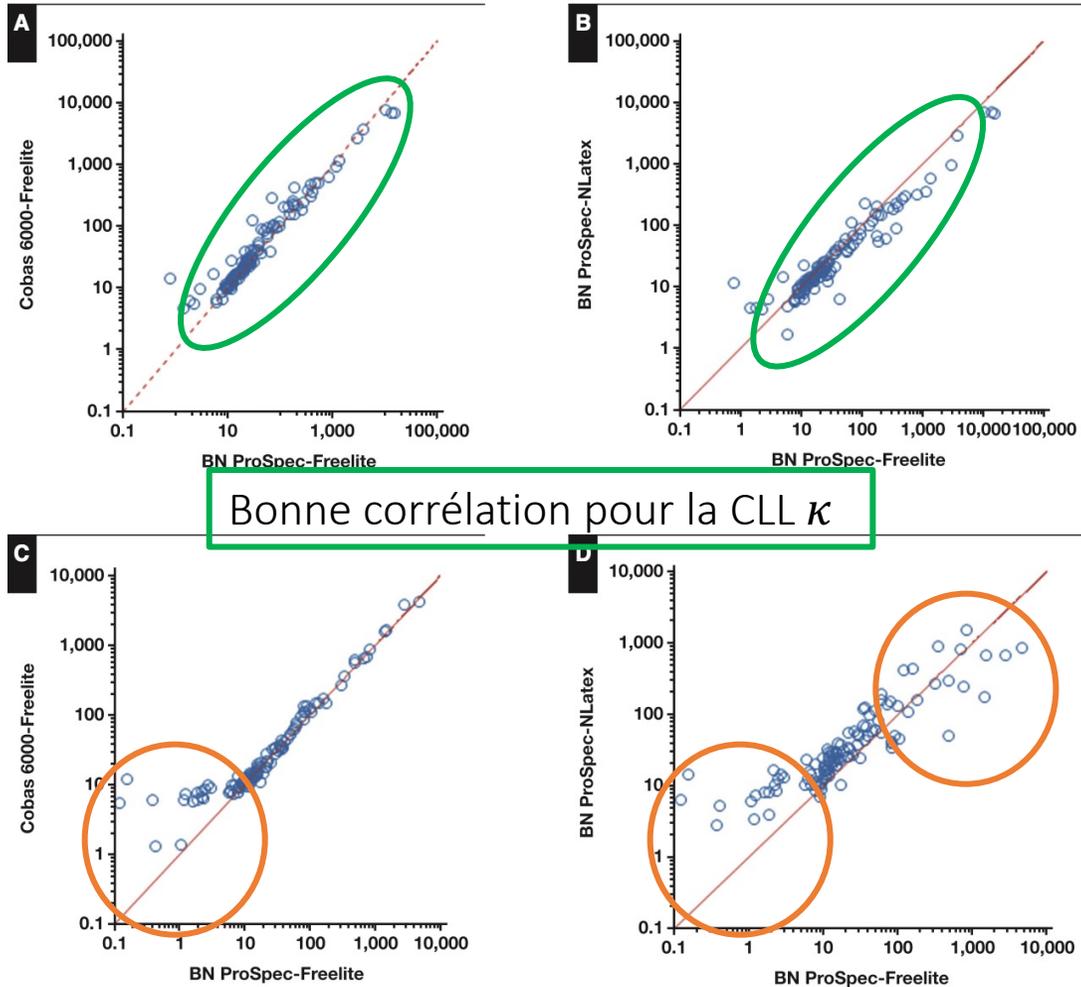
- Freelite® : relation inverse entre le rapport κ/λ et l'insuffisance rénale
- N Latex FLC® : relation positive entre le rapport κ/λ et l'insuffisance rénale mais cliniquement non significative
- Pas de nécessité d'adapter les cut-off chez les patients insuffisants rénaux

Corrélation entre méthodes

- Pourquoi une différence entre les techniques ?
 - ✓ Hypothèse avancée dans plusieurs publications
 - ✓ Binding Site® et Sebia® (polyclonaux) reconnaîtraient mieux les dimères et les formes polymérisées +++
 - ✓ Siemens reconnaîtrait mieux les monomères
- Insuffisance rénale
 - ✓ ↗ du ratio dimères/monomères
 - ✓ Impact plus important sur Freelite® et Sebia®



Corrélation entre méthodes



Bonne corrélation pour la CLL κ

Corrélation peu concluante dans les valeurs pathologiques pour la CLL λ

Patients avec une CLL en excès (myélome, MGUS, amyloïdose AL...)

- Freelite® sur Cobas® versus Freelite® sur BN ProSpec®
- N-Latex sur BN ProSpec® versus Freelite® sur BN ProSpec®

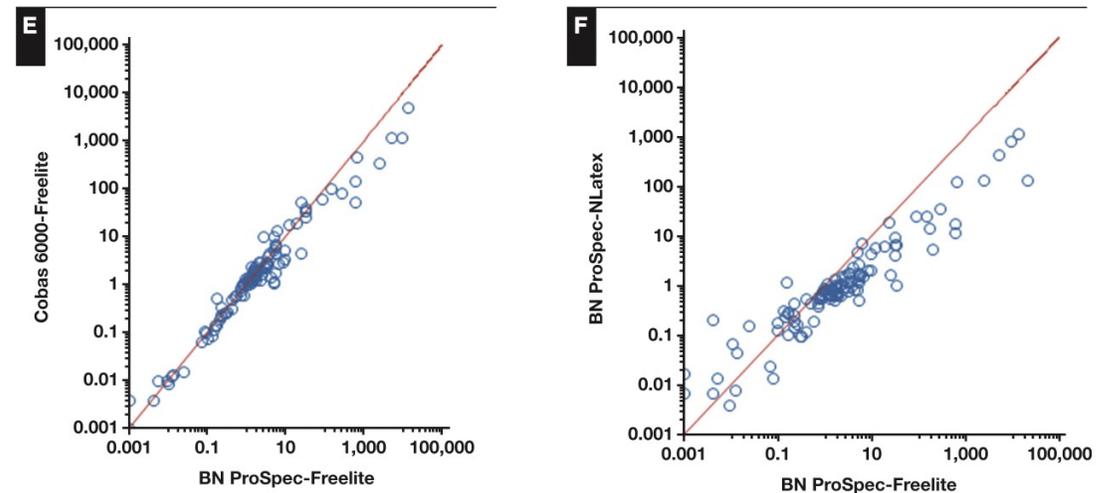


Figure 1 (cont) intercept = 0.24

Corrélation peu concluante dans les valeurs pathologiques pour les ratios ($\Delta > 10 \times$)

Figure 1 Méthode de référence: Freelite platform. Spearman's rank correlation coefficient = 0.90 (0.5-2.09); intercept = 1.09

ProSpec-...
ty. A,
e interval)
-1.12);

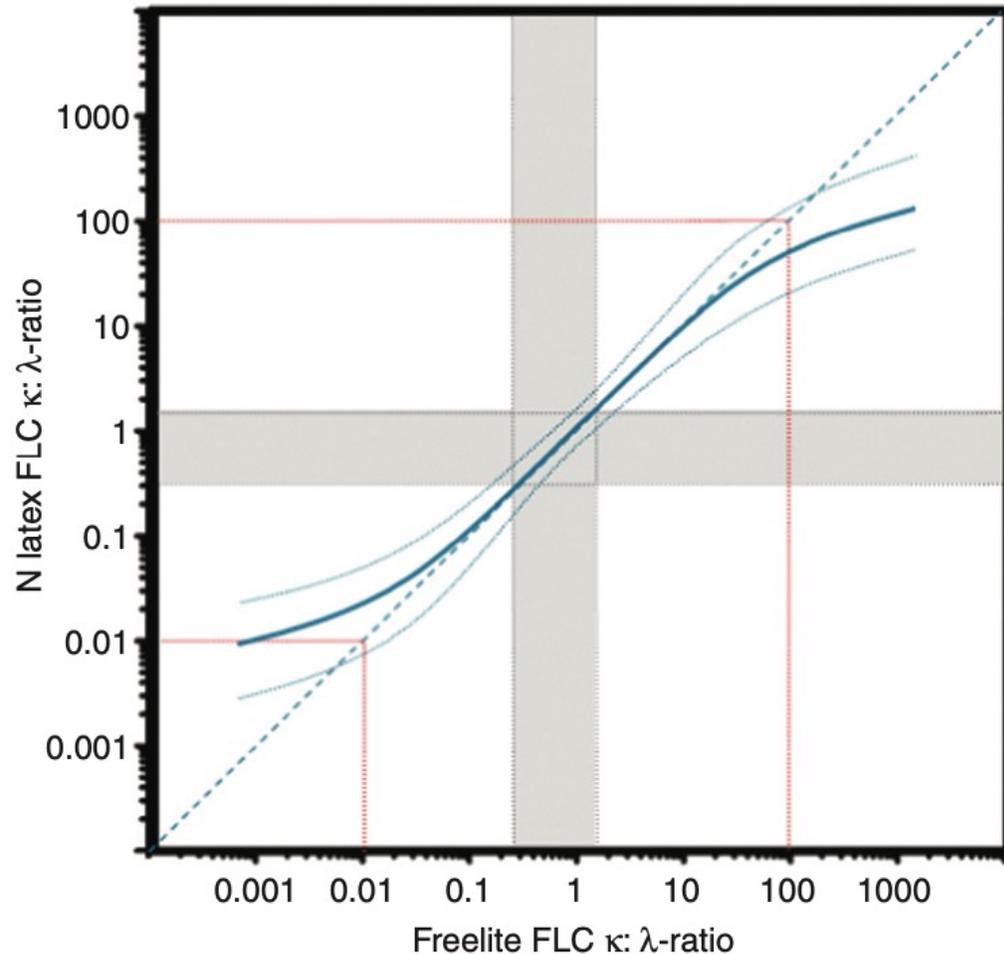
Corrélation entre méthodes



Patients avec une CLL en excès (myélome, MGUS)

- Freelite® sur Optilite® versus N Latex FLC® sur BN ProSpec®
- Bonne corrélation sur la CLL κ ($r^2 : 0,941$)
- Plus grande dispersion dans les valeurs hautes et basses pour la CLL λ ($r^2 : 0,855$)
 - ✓ Freelite® mesure plus bas dans les valeurs basses
 - ✓ Freelite® mesure plus haut dans les valeurs élevées
- Ratio plus élevé sur Freelite pour les ratio > 1
- Nécessité de revoir les cut-off des guidelines pour les techniques N-Latex®

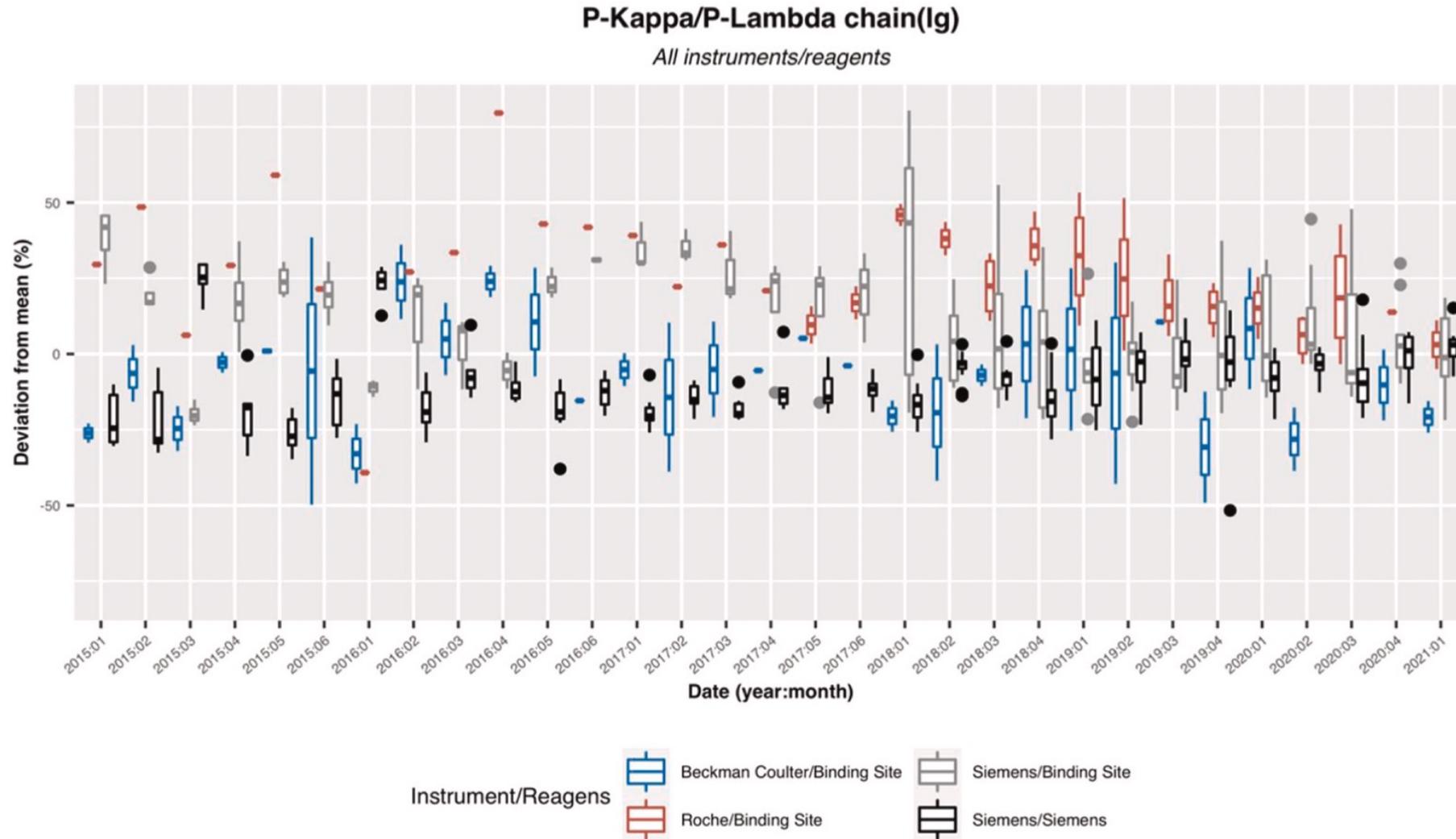
Corrélation entre méthodes



Patients avec une CLL en excès (myélome, MGUS, amyloïdose AL...)

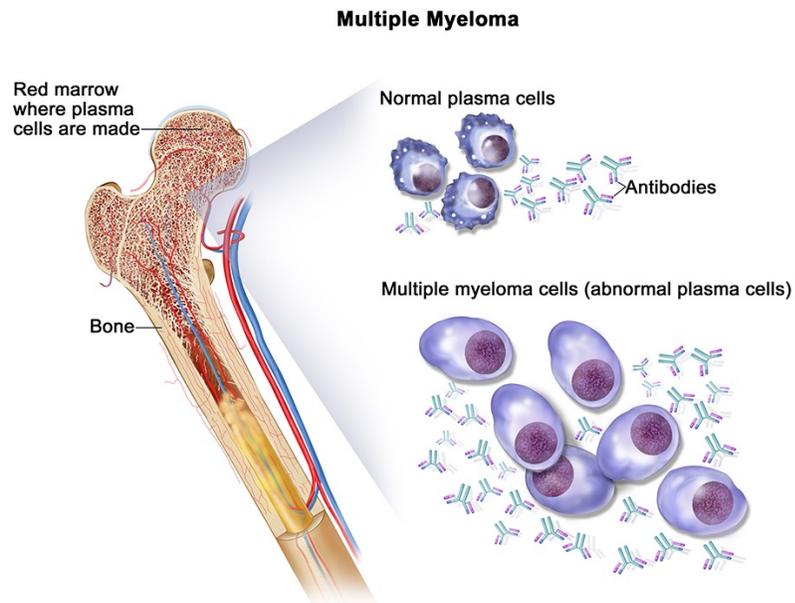
- Entre toutes les trousse des différents fournisseurs et même pour une trousse identique sur des plateformes différentes
 - Biais non constant sur la gamme de mesures
 - Biais non linéaire sur la gamme de mesures
 - Pas de possibilité d'interconversion des résultats entre eux
 - ✓ ! Double affichage !
 - Pas d'interchangeabilité des données
- ➔ Impact majeur pour le suivi des patients
- ➔ Importance d'identifier clairement la technique de dosage sur les protocoles

Aperçu d'un EEQ

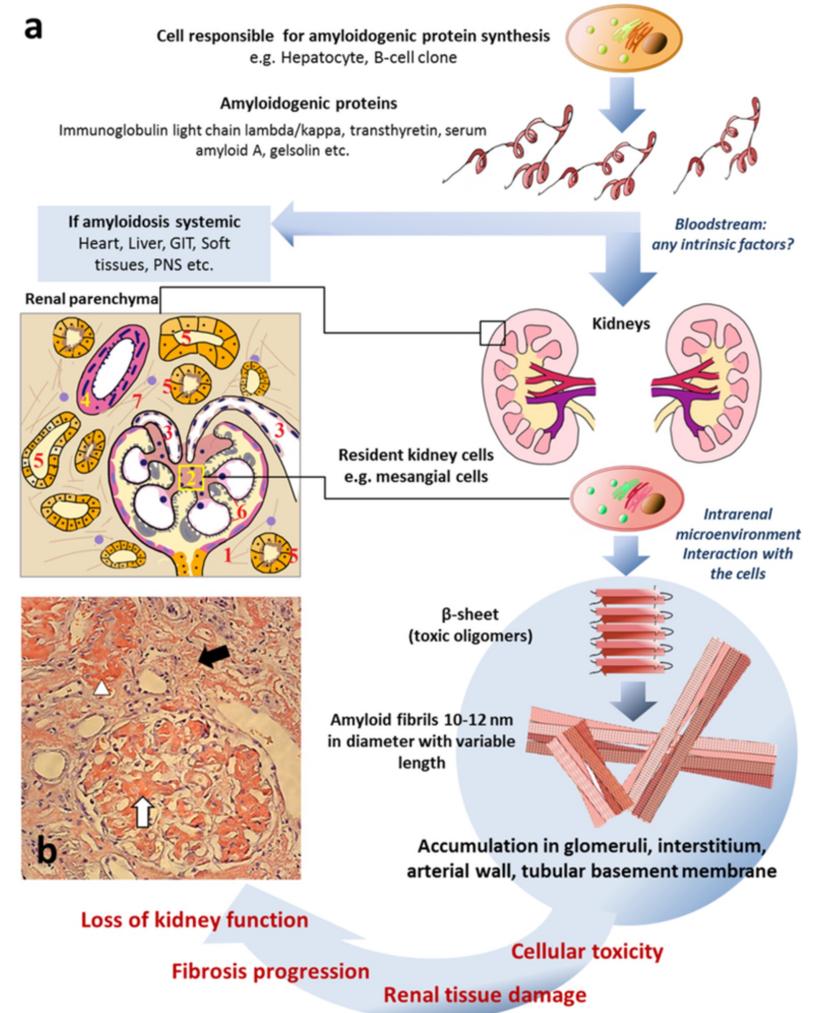


Critères d'interprétation

- Quel impact pour le clinicien ?
 - ✓ Besoin de cut-off spécifiques (plateforme et trousse)
 - ✓ Revoir les critères
 - Marqueur diagnostique
 - Marqueur de stadification/classification
 - Marqueur de réponse au traitement



© 2014 Terese Winslow LLC
U.S. Govt. has certain rights



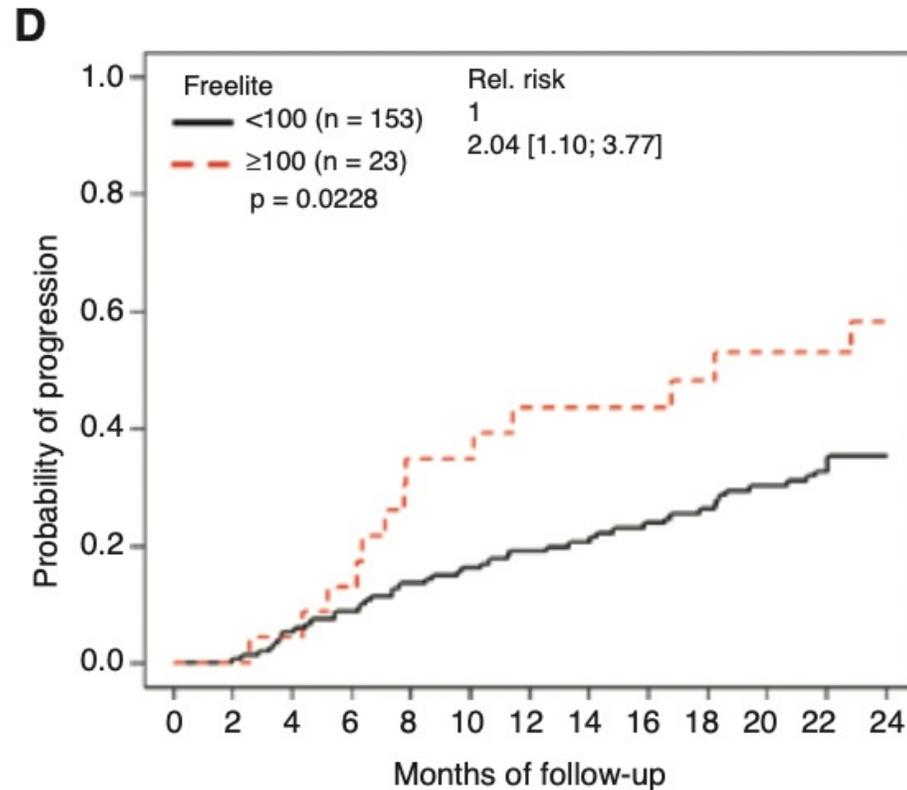
Critères d'interprétation

Table 1. Disease definition for MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance), light-chain MGUS, SMM (smoldering multiple myeloma) and MM (multiple myeloma) [25].

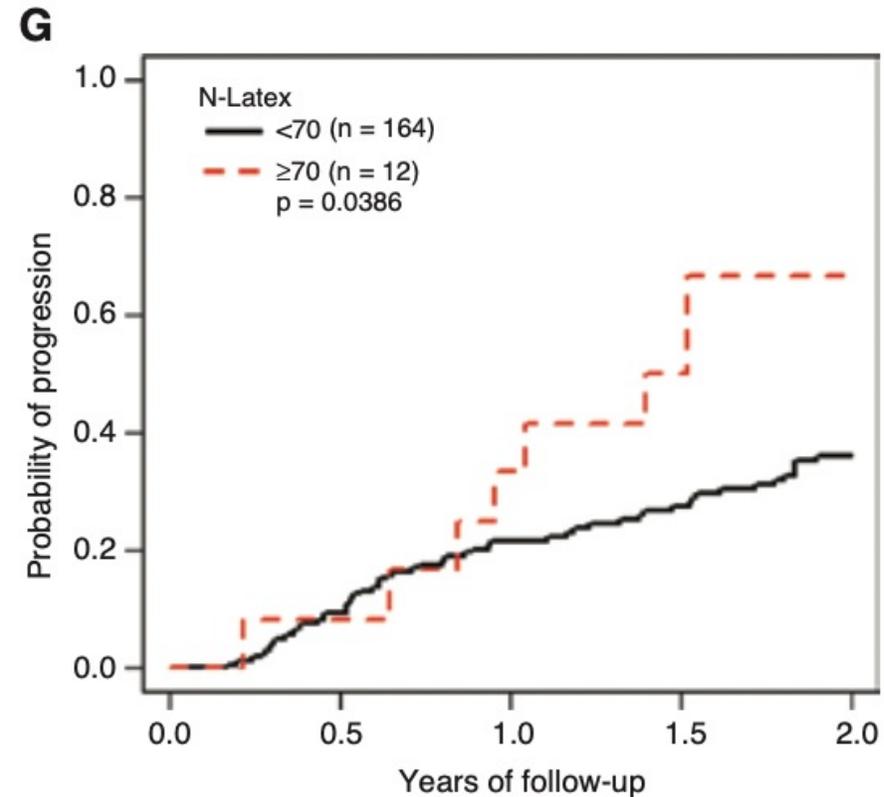
MGUS	<ul style="list-style-type: none"> • Definition: presence of serum MP characterized by ELP, S-IF, FLC; Serum MP < 30g/L; clonal BMPC < 10%; absence of CRAB features or amyloidosis. • Risk of progression: it depends on the isotype of MP and its concentration, FLC κ/λ ratio. • Patients at higher risk of progression: non-IgG MP and/or MP >15 g/L and/or abnormal κ/λ ratio.
Light-chain MGUS	<ul style="list-style-type: none"> • Definition: MP composed only by FLC as demonstrated by S-IF and U-IF, abnormal FLC κ/λ ratio according to the increased level of the appropriate iFLC; urinary MP <500mg/24h clonal BMPC < 10%; absence of CRAB features or amyloidosis.
SMM	<ul style="list-style-type: none"> • Definition: presence of serum MP (IgG or IgA) characterized by FLC, ELP, S-IF; Serum MP \geq 30g/L or urinary MP \geq 500mg/24h and/or clonal BMPC 10-60%; absence of CRAB features or amyloidosis. • Risk of progression: 10% per year (in the first 5 years after diagnosis). • Patients at higher risk of progression: i/u FLC \geq100 and iFLC \geq100 mg/L.
MM	<ul style="list-style-type: none"> • Definition: Clonal BMPC > 10% or extramedullary plasmacytoma and one or more of the following criteria: <ul style="list-style-type: none"> – evidence of CRAB features attributable to the clonal disease; – BMPC \geq 60%; – i/u FLC \geq100 and iFLC \geq100 mg/L; – >1 focal lesion at MRI. • Patients with progressive disease, one or more of the following criteria: <ul style="list-style-type: none"> – serum MP increase > 5 g/L (or >10 g/L if the lowest MP was \geq 50 g/L) and/or urine MP increase >200 mg/24h; – if serum and urine MP are undetectable (negative ELP, IF-S, IF-U): increase of dFLC \geq 100 mg/L; – if serum and urine MP and iFLC are undetectable: increase of clonal BMPC \geq10%; – lesions: increase of dimensions and/or appearance of a new one(s); – circulating plasma cells: increase \geq50%. • Response criteria: <ul style="list-style-type: none"> – Stringent C.R.: as C.R. plus normal κ/λ ratio and absence of clonal BMPC; – Complete response (C.R.): negative ELP, S-IF, U-IF and clonal BMPC <5% and disappearance of soft tissue plasmacytomas; – Very good partial response: negative ELP and positive s-IF and U-IF, serum MP reduction \geq90% and urine MP < 100mg/24h; – Partial response: <ul style="list-style-type: none"> – serum MP reduction \geq50% and urine MP < 200mg/24 (or \geq90% reduction), – if serum and urine MP are undetectable: dFLC decrease \geq50%, – if MP and iFLC are undetectable: BMPC reduction \geq50% and soft tissue plasmacytomas reduction \geq50%; • Minimal response: serum MP reduction (25-49%) and urine MP reduction (50-89%) and soft tissue plasmacytomas reduction \geq50%

Critères d'interprétation

- Risque de progression

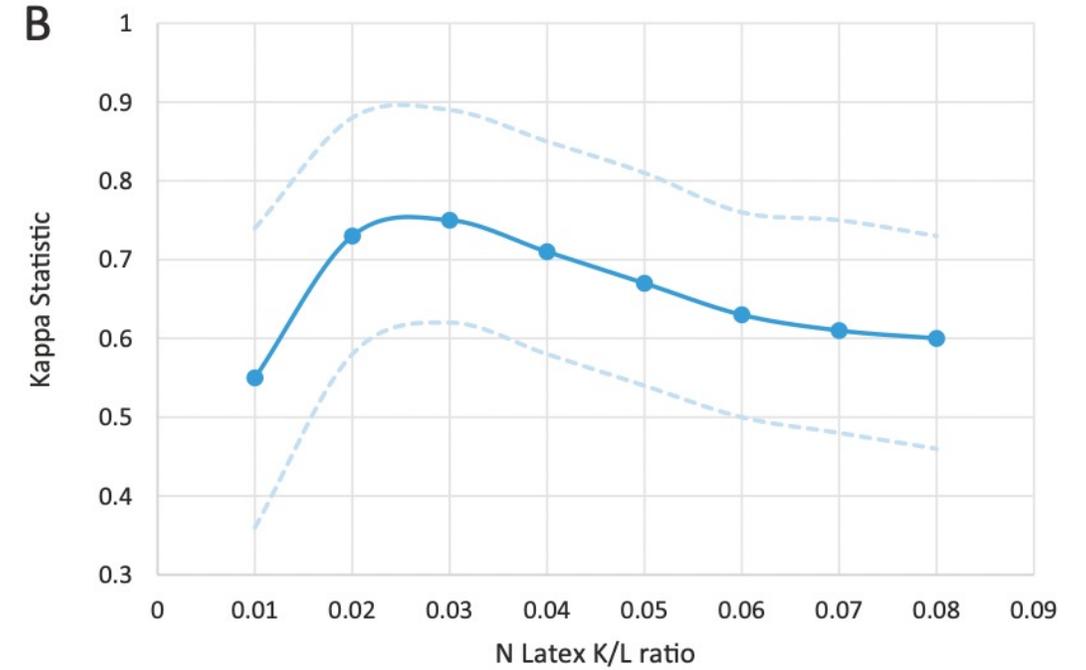
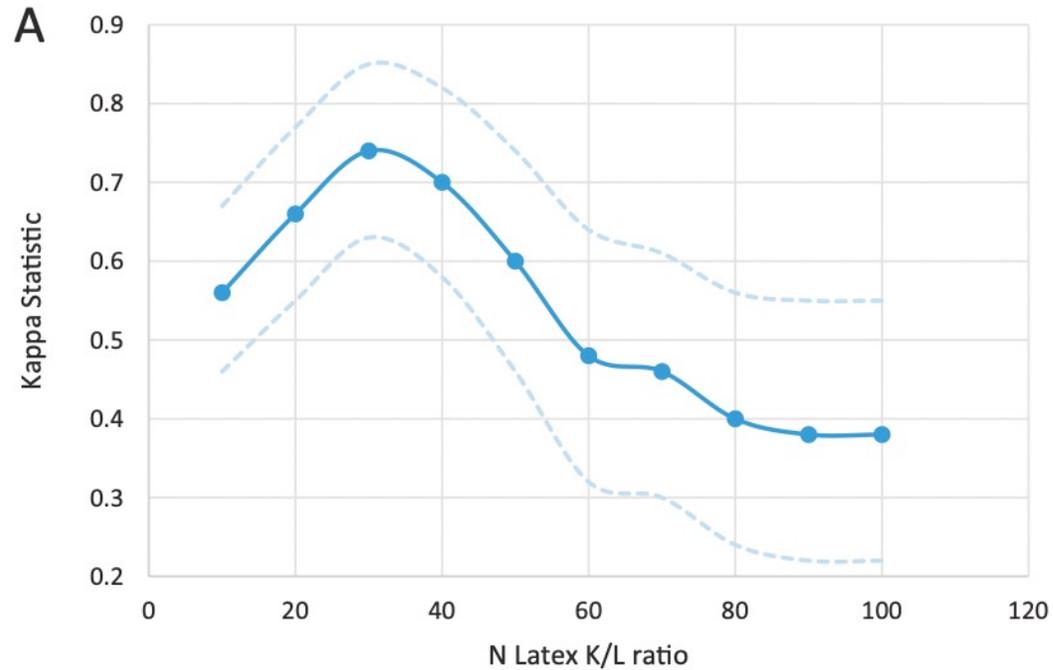


Ratio $\kappa/\lambda \geq 100$ (Freelite sur BN ProSpec®)



Ratio $\kappa/\lambda \geq 70$ (N Latex FLC® sur BN ProSpec®)

Critères d'interprétation



Ratio $\kappa/\lambda \geq 30$ ou $\leq 0,03$ (N Latex FLC[®] sur BN ProSpec[®])

Critères d'interprétation

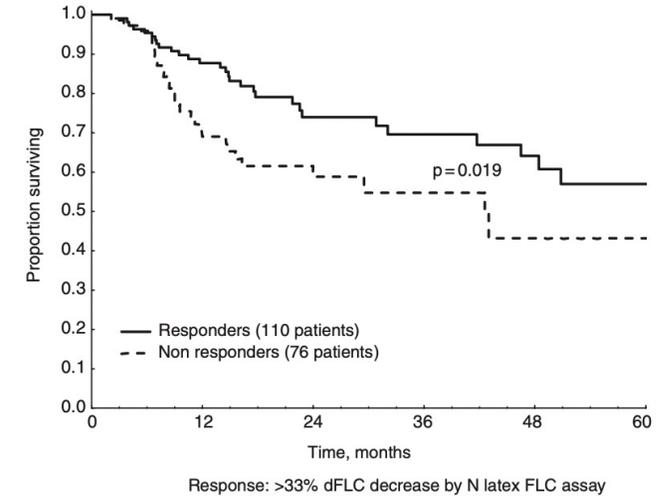
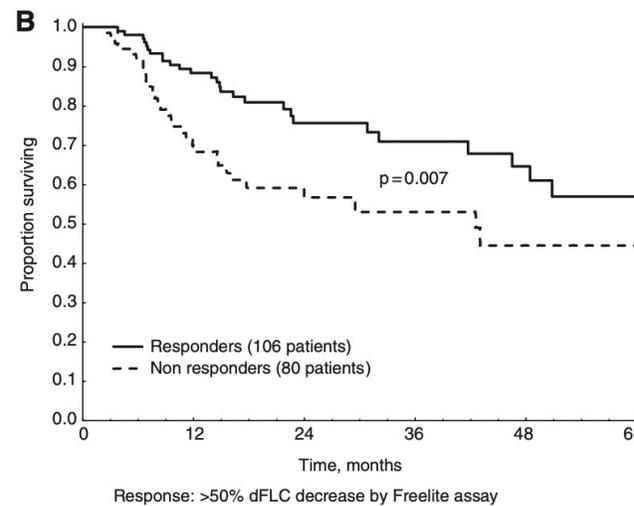
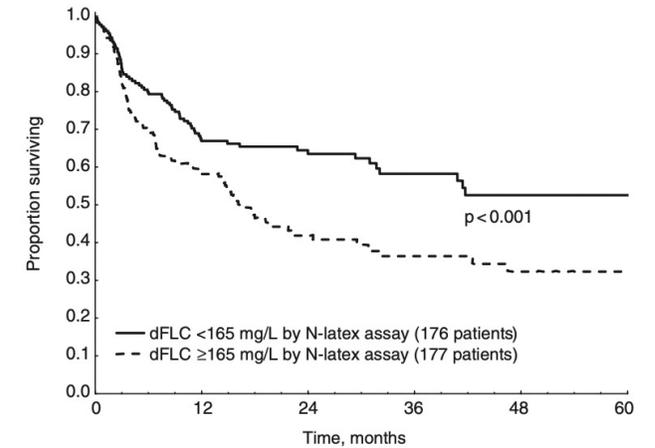
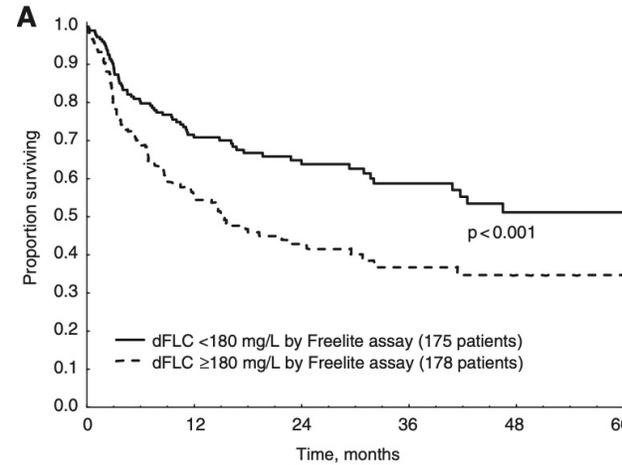
Table 2. FLC in the diagnosis and management of patients with AL amyloidosis [25,50,55,57].

AL Amyloidosis	<p>Definition, all the following criteria:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presence of amyloid-related syndrome (e.g. heart, kidney, liver involvement) • Positive staining by Congo red in fat aspirate or organ biopsy • Evidence of LC-related amyloidosis in involved tissues • Laboratory evidence of a monoclonal plasma cell proliferative disorder (positive ELP and/or S-IF and/or U-IF, and/or abnormal FLC κ/λ ratio, and/or clonal bone marrow plasma cell) <p>Risk stratification:</p> <ul style="list-style-type: none"> • dFLC is an independent prognostic biomarker predicting poor survival: cut off values are 180 mg/L for patients with systemic AL-amyloidosis and 75.89 mg/L for patients with isolated renal AL-amyloidosis <p>Response to therapy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Complete response: normal FLC κ/λ ratio and negative S-IF and U-IF; • Very good partial response: dFLC <40 mg/L • Partial response: dFLC decrease >50% • No response
----------------	---

165 mg/dL

33 %

dFLC = différence entre CLL impliquée (clonale) et CLL non impliquée



Critères d'interprétation

- Pas si évident que cela...
 - ✓ Littérature grandissante mais reprenant des cut-off différents
 - ✓ Manque de consensus aujourd'hui
 - ✓ Manque d'harmonisation et de standardisation entre les techniques

Retour d'une expérience de terrain



2018
➔



**Binding
Site**  THE BINDING SITE

**Binding
Site**  THE BINDING SITE

Setting « idéal » : kit Freelite® sur un néphélomètre (guidelines)

Problématiques ponctuelles mais récurrentes : résultats de QC (changement de lots!) ou des discordances par rapport aux examens complémentaires (immunofixation, bence jones)

Retour d'une expérience de terrain

Ce n'est pas mon
analyseur



Ce n'est pas mon
réactif

Retour d'une expérience de terrain

- Case mix CHU Charleroi : plus grand centre de dialyse de Belgique (néphro+++)
- Validation sur une série de 84 échantillons en sérothèque
- Confronter les dosages obtenus :
 - ✓ Freelite® sur Atellica Neph 630®
 - ✓ N Latex FLC sur Atellica Neph 630®
- Confrontation par rapport aux données des examens complémentaires
- Analyse de concordance sur base des cut-off fournis par chacun des fournisseurs
- Résultats similaires à ceux obtenus dans la littérature
 - ✓ Pas d'erreur de diagnostic
 - ✓ Plus « facile » pour l'interprétation des résultats chez les patients insuffisants rénaux
 - ✓ Attention à la stadification et au pronostic

Retour d'une expérience de terrain

- Création d'une nouvelle analyse
 - ✓ Intitulé identifiant clairement la technique N-Latex
 - ✓ Rupture d'antériorité
 - ✓ Commentaire externe explicatif
 - ✓ ! Transmission informatique (Fihr...) + rapport de consultation
- Courrier envoyé par mail
 - ✓ Onco-hémato
 - ✓ Néphrologues
 - ✓ Internistes
 - ✓ Cardiologues
 - ✓ Laboratoires partenaires (sous-traitance)
- < 10 retours par mail
 - ✓ Information
 - ✓ Pas de refus formel



Dosage des chaînes légères libres kappa et lambda dans le sérum

Suite au dernier marché public pour la néphélogétrie, nous sommes amenés à changer de réactifs pour le dosage des chaînes légères libres kappa et lambda dans le sérum.

Cela impacte l'interprétation des résultats car les valeurs de référence ne sont pas les mêmes, et les critères d'interprétation de l'*International Myeloma Working Group* doivent donc être adaptés.

Impact sur les valeurs de référence et l'interprétation pour le suivi

- Amyloïdose AL

Modification du critère de réponse : anciennement diminution de 50 % considérée comme critère de réponse → revu à 33% avec le nouveau réactif N-latex

- Myélome

Modification des seuils de ratio pour l'interprétation : anciennement $\text{ratio } \kappa/\lambda \geq 100$ ou $\leq 0,01$ → revu à $\text{ratio } \kappa/\lambda \geq 30$ ou $\leq 0,03$ avec le nouveau réactif N-latex

Les valeurs de référence sont différentes et les résultats **ne peuvent** absolument **pas** être convertis d'une technique vers l'autre. Si vous avez des patients en cours de suivi (amyloïdose AL, myélome à chaînes légères et non sécrétant), une double détermination (ancien et nouveau réactif) pourra être effectuée pour avoir une valeur de départ dans le suivi (prendre contact au 60584 ou 22089, possible jusque fin avril 2020).

Remboursement INAMI

Pour rappel, ce dosage n'est remboursé par l'AMI dans le sérum que dans trois indications :

- Suivi des patients atteints d'amyloïdose primaire
- Suivi des patients atteints de myélome à chaînes légères
- Suivi des patients atteints de myélome non sécrétant

L'AMI ne prévoit aucun remboursement pour les dosages de chaînes légères libres dans l'urine. En dehors des règles diagnostiques et sur prélèvement urinaire, cette analyse est donc facturée au patient.

Références

International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders, *Leukemia*, 2009

Diagnostic thresholds for free light chains in multiple myeloma depend on the assay used, Bossuyt et al, *Leukemia*, 2018

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

Contact

Phn Biol Anne Tamigniau (071/92 47 16 – DECT 60584)

Phn Biol Morgane De Laveleye (071/92 20 89 – DECT 22089)

Retour d'une expérience de terrain



Evolution du remboursement INAMI

- 542791-542802 – Dosage des chaînes légères libres Kappa et Lambda dans le sérum
 - ✓ B2000 : 17,32 € 25% B – 69,27 € 100 % B
 - ✓ Introduite en 2009
- Changement au 1^{er} mars 2023
 - ✓ Règle de cumul 49 : Les prestations 542791-542802 (dosage des CLL), 540470-540481 (immunoélectrophorèse) et 542032-542043 (immunofixation) ne sont pas cumulables entre elles
 - ✓ Règle diagnostique 86 : La prestation 542791-542802 ne peut être portée en compte que pour la mise au point diagnostique et le suivi des patients atteints d'amyloïdose primaire, de myélome à chaînes légères, de myélome non sécrétant et patients dialysés atteints de myélome. La prestation 542791-542802 peut être portée en compte au maximum douze fois par année civile

Evolution du remboursement INAMI

- « Retour en arrière » : AR avril 2021

1° dans la rubrique 1/CHIMIE, sous l'intitulé 1/Sang, la prestation 542791-542802 est remplacée par ce qui suit :

« 542791-542802

Dosage des chaînes légères libres kappa et lambda dans le sérum.....B 2000

(Maximum 1) (Règle diagnostique 53, 86) »;

2° dans la rubrique « Règles diagnostiques »,

a) la règle diagnostique 53 est remplacée par ce qui suit :

« 53

Les prestations 556290-556301, 556651-556662, 556673-556684 et 542791-542802 peuvent être portées en compte au maximum 4 fois par année civile. » ;

b) la règle diagnostique 86 est remplacée par ce qui suit :

« 86

La prestation 542791-542802 ne peut être portée en compte à l'AMI que pour le suivi des patients atteints d'amyloïdose primaire, de myélome à chaînes légères, de myélome non sécrétant ou pour la mise au point diagnostique et le suivi de myélome multiple, à l'exclusion de la MGUS. ».

Conclusion

- Importance de toujours suivre un patient sur la même combinaison réactifs/analyseur
- Pas de « mauvais » ou de « meilleur » réactif
 - ✓ Différents et non interchangeables
 - ✓ Absence totale de standardisation entre les méthodes actuelles
- Rôle du laboratoire
 - ✓ Être conscient des limites de tous les tests disponibles : avantages et inconvénients
 - ✓ Faire le meilleur choix pour soi-même (différent d'un laboratoire à l'autre)
 - ✓ Rôle d'information des cliniciens
 - Sur la place du test (! Conflit entre recommandations et critères de remboursement INAMI)
 - Sur le coût lors d'une demande hors critères et l'obligation d'en informer le patient

