

Indicazioni per l'armonizzazione del referto dell'elettroforesi delle sieroproteine e della tipizzazione delle componenti monoclonali

Marcella Savoia¹, Laura Michetti², Giovanni Cigliana³, Fiorella Turra⁴, Daria Debbia⁵, Valeria Visconti⁶, Sara Altinier⁷, Silvia Gelsumini², Umberto Basile⁸, Patrizia Natali⁵, Massimo Pieri⁹, Ivana Cataldo¹⁰, Michele Mussap¹¹, Maria Stella Graziani¹², Giovanni Palladini¹³ per il Gruppo di Studio SIBioC Proteine

¹ Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, DAI Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli

² SC SMeL2 Analisi Chimico Cliniche, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo

³ Patologia Clinica e Biobanca Oncologica, IRCCS Istituto Nazionale Tumori Regina Elena - Roma

⁴ Azienda Unità Sanitaria Locale di Bologna, Laboratorio Unico Metropolitan, Bologna

⁵ Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Unità Sanitaria Locale e Azienda Ospedaliera Universitaria di Modena, Modena

⁶ UO Medicina di Laboratorio, Ospedale Policlinico San Martino, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico per l'Oncologia, Genova

⁷ U.O.C. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale Università di Padova, Padova

⁸ Unità Operativa Complessa Patologia Clinica DEA II Livello Ospedale Santa Maria Goretti, ASL Latina, Latina

⁹ Dipartimento di Medicina Sperimentale e Dipartimento Ospedaliero di Medicina di Laboratorio, Università di Roma "Tor Vergata", Roma

¹⁰ Asl2 Lanciano Vasto Chieti, Patologia Clinica Aziendale, Ospedale SS. Annunziata- Chieti

¹¹ Laboratorio molecolare, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi, Cagliari

¹² Sezione di Biochimica Clinica, Università di Verona, Verona

¹³ Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Laboratorio Biochimica - Biotecnologie e Diagnostica avanzata, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia, Pavia

ABSTRACT

Harmonizing serum protein electrophoresis and monoclonal component characterization laboratory report

The Italian Society of Clinical Biochemistry and Molecular Biology (SIBioC) has long promoted harmonizing activities, focusing on the laboratory reports to guarantee accuracy and comparability of the results. There is a wealth of guidelines on the clinical usefulness and diagnostic accuracy of serum protein electrophoresis (SPE), but only few provide specific recommendations for reporting and commenting the results. According to surveys and international multi-center studies, there is considerable variability between SPE reports among laboratories, which negatively impacts the management of patients with monoclonal gammopathies (MGs). This document issued by the SIBioC Study Group on Proteins, provides guidance on how to standardize and harmonize laboratory SPE reports, formulated on the basis on the available reference literature as well as on expert consensus. Each SPE report should be accompanied by a descriptive comment, mainly related to the management of samples with monoclonal components (detection, quantification and immunotyping). Examples of comments are provided. Special attention should be dedicated to samples showing a possible interference by therapeutic monoclonal antibodies (tmAb) currently used for the treatment of Multiple Myeloma (MM). Failure to detect interference due to tmAb can lead to further unnecessary diagnostic procedures or incorrect interpretations of the efficacy of treatment, such as the failure to detect a complete response to treatment in MM patients. Close collaboration between laboratory professionals and clinicians is therefore of paramount importance to provide correct information that will be useful in every step of the management of MGs patients.

Parole chiave: *elettroforesi sieroproteine, armonizzazione referto, discrasie plasmacellulari*

Corrispondenza a: Marcella Savoia, Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche Napoli, Email: marcella.savoia@unina.it

Ricevuto: 29.12.2023

Revisionato: 04.01.2024

Accettato: 11.01.2024

Publicato on-line: 30.01.2024

DOI: 10.19186/BC_2024.003

INTRODUZIONE

La comunicazione dei risultati di laboratorio, espressa nella pratica clinica dal referto, rappresenta una delle fasi più importanti e qualificanti per il professionista della medicina di laboratorio, chiamato a trasformare i risultati analitici in informazioni cliniche.

Al fine di migliorare la qualità e consentire una maggiore fruibilità delle informazioni fornite, data la non sempre confrontabilità dei risultati prodotti da differenti laboratori, si è reso necessario nell'ultimo decennio promuovere processi di armonizzazione di tutte le fasi del processo che concorrono all'esito delle analisi, ivi inclusa la refertazione (1-3).

SIBioC si è fatta da lungo tempo promotrice della attività di armonizzazione (4,5) e la Strategic Conference della Società tenutasi a Roma nel maggio 2023, sul futuro della nostra professione, ha dato ampio risalto alle attività di armonizzazione, con particolare attenzione alla armonizzazione del referto, al fine di garantire l'accuratezza e la confrontabilità delle informazioni prodotte dal laboratorio (6,7).

Agli specialisti di Medicina di Laboratorio viene richiesto che la refertazione dei risultati analitici sia sottoposta a revisione e aggiornamento continuo e che si esplichino attività di consulenza sui dati forniti. Comunicazione, interpretazione e corretto utilizzo dei risultati (fasi post e post-post analitiche) sono elementi indispensabili per garantire la qualità delle cure, velocizzare il percorso e aumentare la sicurezza per il paziente.

Nella fase di refertazione, i commenti interpretativi rappresentano un momento cruciale dell'attività dello specialista di laboratorio. Infatti, il referto ha il compito di trasmettere al clinico informazioni chiare ed esaustive, che gli consentano un corretto inquadramento diagnostico, una idonea gestione del paziente ed una valutazione efficace della risposta alla terapia (6-9).

L'elettroforesi delle sieroproteine (serum protein electrophoresis, SPE), strumento indispensabile nei diversi contesti clinici (screening, diagnosi differenziale, monitoraggio della patologia e della terapia) della gestione del paziente con gammopatia monoclonale (GM), rappresenta un esame in cui si esprime la competenza e l'esperienza del laboratorista: trattandosi di un esame a valenza morfologica, deve essere sempre accompagnato da un idoneo commento descrittivo e interpretativo, con indicazioni a valenza clinica.

La modalità di refertazione dell'SPE tra laboratori risulta molto variegata, come evidenziato dai sondaggi effettuati mediante preparazione ed invio da parte di Società Scientifiche e gruppi di esperti, di specifici questionari in Italia (10), Australia e Nuova Zelanda (11,12), Stati Uniti e Canada (13,14), dall'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) (15) e in Malesia (16). Alcune di queste rilevazioni sono alquanto datate, ma non esistono evidenze comprovate che si siano modificate significativamente negli anni più recenti.

Come sottolineato da più autori, la mancanza di armonizzazione nella fase di refertazione è particolarmente critica per la gestione dei pazienti affetti da GM e può generare sfavorevoli ricadute sugli

esiti clinici (17,18). Da qui la necessità, fortemente raccomandata dalle Società Scientifiche del settore, di migliorare il livello di armonizzazione dell'intero processo che concorre alla produzione del referto dell'SPE (19-21).

E' evidente che l'armonizzazione della fase post-analitica di refertazione può essere attuata efficacemente solo in seguito ad una standardizzazione/armonizzazione delle fasi pre-analitica e analitica. Ad esempio, la mancanza di informazioni cliniche associate alla richiesta, la sua inappropriata, la scarsa conoscenza delle specifiche di qualità dell'esame, sono fattori che, sia singolarmente che nel loro insieme, limitano considerevolmente la corretta interpretazione dei risultati da parte dei professionisti di laboratorio.

Non meno rilevante è la necessità di disporre di un archivio storico digitale interfacciato agli strumenti analitici contenente i dati anagrafici, clinici e di laboratorio dei pazienti, in modo da poter individuare, al momento della valutazione del tracciato elettroforetico, i risultati relativi agli esami precedentemente eseguiti e valutare in tempo reale la presenza di eventuali variazioni. Ciò consente, inoltre, di evitare inutili ripetizioni o approfondimenti diagnostici per pazienti conosciuti e con quadri sieroproteici immutati nel tempo.

SCOPO DEL DOCUMENTO

Nell'ambito del Gruppo di Studio (GdS) Proteine di SIBioC è stato costituito un Gruppo di Lavoro (GdL) denominato "Armonizzazione del referto dell'elettroforesi delle sieroproteine" i cui componenti sono rappresentativi delle principali tipologie di laboratori medio-grandi presenti in Italia: Policlinici Universitari e Università; Aziende Ospedaliere; Aziende Sanitarie Locali a diverso grado di centralizzazione; Istituti di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS), nonché esperti dello specifico settore di laboratorio.

Il documento si prefigge di indicare le informazioni indispensabili e clinicamente utili da riportare nel referto dell'SPE e i commenti interpretativi da impiegare. Le indicazioni fornite sono basate sulla letteratura nazionale e internazionale disponibile, e sul consenso tra i componenti del GdL (consenso tra esperti). Gli autori riconoscono che l'applicabilità nella pratica delle indicazioni può essere condizionata dalla possibilità locale di attivare gli esami riflessi e sulle caratteristiche e flessibilità dei sistemi informatici presenti nei laboratori. Tenuto conto che la motivazione essenziale per l'esecuzione di una SPE (appropriatezza della richiesta) è relativa alla rilevazione, tipizzazione e misurazione di una componente monoclonale (CM), le principali indicazioni del documento sono dedicate a questo scopo specifico, ma sono stati inseriti possibili commenti interpretativi relativi ad altri aspetti qualitativi del tracciato elettroforetico che possono essere di interesse clinico.

OPERATIVITA'

Come detto in precedenza, le indicazioni contenute nel documento sono basate sulla bibliografia disponibile e sul consenso tra esperti, tenendo conto della specifica

tipologia di diagnostica in campo proteico che si avvantaggia di una autonomia gestionale (test riflessi) da parte del settore specifico, non sempre attuabile per regole locali amministrative.

Documentazione consultata

Raccomandazioni internazionali

L'International Myeloma Working Group (IMWG) ha pubblicato numerose raccomandazioni, criteri di consenso e linee guida per la diagnosi, la prognosi e il trattamento del Mieloma Multiplo (MM) (22-27). Tali documenti forniscono indicazioni su quali indagini effettuare per la gestione delle GM e quando impiegarle: alla diagnosi, nella stratificazione del rischio, nel monitoraggio terapeutico e nella individuazione della malattia minima residua. Tuttavia, nei documenti non vengono trattati specificamente gli aspetti analitici, né la fase di refertazione, né i commenti interpretativi da impiegare.

Alcuni esperti, riconosciuti a livello internazionale nella diagnostica delle GM, hanno fornito nel tempo indicazioni operative per il laboratorio riguardo le tecniche elettroforetiche da utilizzare, le modalità di quantificazione della CM e gli esami da impiegare al primo riscontro, così come durante il monitoraggio (28-32), suggerendo, ma non indicando chiaramente, le modalità cui attenersi nella fase post-analitica.

Le prime raccomandazioni sulla necessità di armonizzazione dei referti dell'SPE sono state pubblicate nel 2012 dal gruppo multidisciplinare Australiano guidato da Jillian Tate (per conto della Australasian Association of Clinical Biochemists); il documento prodotto è stato successivamente sottoposto al vaglio delle Società Scientifiche interessate (Myeloma Foundation of Australia Medical and Scientific Advisory Group, Australasian Association of Clinical Biochemists, Haematology Society of Australia and New Zealand, Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy, Royal College of Pathologists of Australasia) (19). Tali raccomandazioni sono state aggiornate nel 2019, in particolare riguardo alla refertazione della risposta alla terapia ed all'impiego delle catene leggere libere sieriche (Free Light Chain, FLC) (33).

Nel 2016 l'Intergroupe Francophone du Myélome ha emesso delle raccomandazioni per l'armonizzazione dell'elettroforesi sierica e urinaria nella diagnostica e nel monitoraggio del MM (18) e nel 2018 il Monoclonal Gammopathy Working Group Canadese ha pubblicato le sue indicazioni per la refertazione dell'SPE (20). Ancora, nell'articolo di Moss MA (21) del 2016 viene evidenziata la necessità di armonizzare la refertazione dell'SPE e viene proposta una lista di commenti sui quali si auspica di poter iniziare a costruire un documento di consenso. Nel 2019 Tate JA (34) ribadisce l'importanza dell'armonizzazione dell'SPE anche nella fase post-analitica (unità di misura, terminologia, intervalli di riferimento, formato del referto, commenti interpretativi), per poter rispondere in modo adeguato alle esigenze cliniche.

La quantificazione della CM, il cui valore ha un elevato impatto clinico nella fase di diagnostica differenziale delle GM, nella definizione del rischio di progressione e nella valutazione della risposta al trattamento, è oggetto di alcuni lavori scientifici che ne esprimono l'elevata variabilità e pertanto ne sottolineano la criticità. Nel 2018 Wijeratne et al. (35) hanno evidenziato, in particolare, la variabilità nella quantificazione delle CM migranti in zona betaglobulinica, osservata tra i laboratori dell'Australia e della Nuova Zelanda.

Nel 2020 Turner et al. (36) hanno pubblicato i risultati di uno studio multicentrico internazionale sull'SPE che ha coinvolto 16 laboratori di riferimento in tre continenti diversi. Sono state valutate le prestazioni diagnostiche ottenute in elettroforesi in gel di agarosio (Agarose Gel Electrophoresis, AGE) e in elettroforesi capillare zonale (Capillary Zone Electrophoresis, CZE). In un secondo lavoro (37), lo stesso gruppo ha evidenziato i limiti nella quantificazione (limit of quantitation, LOQ) e i limiti nella rilevazione (limit of detection, LOD) delle CM, in relazione a: tecnica di misura della CM [ortogonale punti di flessione-base; (perpendicular drop, PD), o tangente tra i punti di flesso (tangent skimming, TS)]; concentrazione della CM; zona di migrazione, contributo delle immunoglobuline policlonali. I risultati degli studi, rappresentando un valido strumento per promuovere l'armonizzazione dei risultati dell'SPE, sono stati pubblicati in italiano e commentati da Mussap M sulla rivista societaria (38).

Accuratezza ed imprecisione nella misura delle CM sono oggetto anche del contributo di Angelino et al. (39), che hanno valutato i risultati ottenuti da 73 laboratori partecipanti al programma di VEQ olandese per la diagnostica delle GM. Gli autori hanno evidenziato profonde differenze analizzando le prestazioni diagnostiche dei centri coinvolti.

Recentemente è stata pubblicata dal College of American Pathologists, in collaborazione con l'American Association for Clinical Chemistry e l'American Society for Clinical Pathology (40), una "evidence-based guideline" per la iniziale identificazione delle CM. Nel lavoro vengono riportate raccomandazioni sugli esami da eseguire e il loro impiego per la diagnosi di GM; riguardo la refertazione vengono indicati gli elementi chiave da riportare nel referto (rilevazione CM, zona di migrazione della CM, quantificazione CM, tecnica di tipizzazione CM, misura delle immunoglobuline, FLC, e per i pazienti in monitoraggio i risultati storici presenti in archivio).

McCudden et al. (41) nel 2018 hanno pubblicato una proposta per standardizzare la refertazione dell'SPE, condivisa con i medici della loro istituzione clinica, al fine di rendere i risultati forniti facilmente consultabili e semplificare l'estrazione delle informazioni dai database. Tale modalità consente, inoltre, di ridurre la variabilità di refertazione, operatore dipendente, esistente nell'approccio classico.

In letteratura è riportata anche la possibilità di avvalersi di sistemi esperti, basati su reti neurali di intelligenza artificiale, per l'interpretazione della SPE e l'inserimento di commenti interpretativi (42,43); l'utilizzo di tali software presenta vantaggi in termini di riduzione dei tempi analitici, di riproducibilità e di armonizzazione

inter-laboratorio, ma il loro impiego non ha ad oggi ancora larga applicazione.

Indicazioni precedenti del gruppo di studio SIBioC

Il GdS Proteine di SIBioC ha prodotto negli anni diversi documenti, linee-guida e raccomandazioni relativi alle metodiche e alle procedure da seguire nel laboratorio clinico (44-48). Sono state date indicazioni riguardo l'appropriatezza della richiesta e gli aspetti metodologici, in particolare legati alla ricerca e caratterizzazione delle CM. Nei documenti prodotti dal GdS non è stata, però, affrontata in maniera esaustiva l'armonizzazione della refertazione degli esami relativi alla diagnostica proteica.

Alcune raccomandazioni sono state tuttavia incluse: riportare nel referto la metodologia impiegata per l'esecuzione dell'SPE e per la quantificazione delle CM (TS o PD), monitorare i pazienti con CM impiegando sempre le stesse metodologie, esprimere le CM in g/L, non quantificare le CM <1g/L.

Da un'indagine effettuata in Italia dal GdS Proteine nel 2007 era emerso come, a fronte del diffuso impiego dell'SPE nei laboratori italiani, fosse presente una notevole difformità nella modalità di refertazione (49). Un secondo questionario, condotto qualche anno più tardi, metteva in evidenza un maggior grado di omogeneità (50), dimostrando la maggiore aderenza dei laboratori alle indicazioni fornite dal GdS Proteine.

In un altro documento il GdS Proteine sottolinea che l'esecuzione dell'SPE trova indicazione in condizioni di sospetto diagnostico di GM e nel monitoraggio dei pazienti affetti da GM, scoraggiandone l'esecuzione per valutare i livelli di albumina e per la valutazione indiretta di quadri infiammatori, nefrologici ed epatopatici (44).

È stata proposta l'utilità di eseguire uno screening per le GM nei pazienti >50 anni, non solo ospedalizzati, ma anche ambulatoriali, vista l'elevata prevalenza di CM (6%) rilevata in questa classe di età nella popolazione esaminata (51). Il tema dello screening delle GM è vivacemente dibattuto nella comunità ematologica internazionale e c'è attesa dei risultati di uno studio randomizzato che valuta i benefici dello screening condotto su tutta la popolazione islandese (52).

Il GdS 'Proteine' della SIBioC nei diversi documenti prodotti ha sottolineato la necessità di riportare nel referto un commento interpretativo, focalizzato alla indicazione della presenza/assenza di CM, senza dover necessariamente allegare il tracciato elettroforetico (49,50).

Test riflessi

La diagnostica delle discrasie plasmacellulari si avvantaggia della possibilità di eseguire test riflessi a cascata. Questa pratica, ormai largamente impiegata per altre diagnostiche, come le patologie tiroidee, o quelle prostatiche, consente di fornire al medico curante risposte più complete e in tempi più rapidi, senza aggravare i pazienti della necessità di un secondo prelievo e i clinici della necessità di effettuare una ulteriore richiesta.

Si sottolinea l'importanza, come già segnalato (45,50), che il professionista di laboratorio esegua autonomamente gli approfondimenti analitico-diagnostici derivanti dalla valutazione del profilo dell'SPE e/o dalle indicazioni fornite dal clinico al laboratorio, in modo da produrre e fornire un referto completo e clinicamente utile, evitando il rischio di ritardare il completamento dell'iter diagnostico del paziente.

Al momento, in molte regioni i Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) non prevedono test riflessi per la diagnostica proteica e proprio per questo motivo è necessario promuovere una sensibilizzazione sulla loro utilità. Qualora le strutture sanitario/amministrative locali non consentano al laboratorio di eseguire in autonomia i test riflessi, deve essere sempre riportato nel referto un commento che indichi la necessità dell'esecuzione degli specifici test di approfondimento necessari (45).

INDICAZIONI PER LA REFERTAZIONE

Elettroforesi proteica

Ogni referto di SPE deve essere accompagnato da un commento interpretativo che faccia riferimento all'ispezione visiva del tracciato elettroforetico.

- L'ispezione visiva non rileva alterazioni morfologiche che facciano sospettare la presenza di una CM.

Commento suggerito. *Nel tracciato elettroforetico non si evidenziano alterazioni relative alla presenza di una componente monoclonale, alla sensibilità del metodo utilizzato.*

- L'ispezione visiva rileva la possibile presenza di una CM di primo riscontro (per quel laboratorio) e il laboratorio è in grado di procedere autonomamente alla tipizzazione immunologica. Al referto dell'SPE deve seguire il referto della tipizzazione immunologica.

Commento suggerito. *Il tracciato elettroforetico rileva la presenza di una componente monoclonale (vedi tipizzazione immunologica).*

- L'ispezione visiva rileva la possibile presenza di una CM di primo riscontro e il laboratorio NON è in grado di procedere autonomamente alla tipizzazione immunologica.

Commento suggerito. *Presenza di una alterazione ad aspetto monoclonale in zona..., si raccomanda approfondimento diagnostico mediante richiesta di tipizzazione immunologica.*

- L'ispezione visiva rileva la presenza di una CM già nota. Commento suggerito. *Si conferma la presenza di componente monoclonale di tipo... in zona ... pari a ... g/L.*

- L'ispezione visiva rileva la presenza di un quadro di oligoclonalità (>2 componenti).

Commento suggerito. *Presenza di un quadro di oligoclonalità; la tipizzazione viene effettuata solo in seguito a specifica richiesta.*

- Diminuzione della zona gamma globulinica. Una zona gamma <5 g/L negli adulti è meritevole di essere segnalata sempre.

Commento suggerito. *Zona gamma globulinica diminuita; si suggerisce la determinazione delle immunoglobuline e, se clinicamente indicato, l'esecuzione di tipizzazione immunologica su siero ed urine.*

Nota 1

Poiché alcuni strumenti di elettroforesi capillare propongono all'operatore la scelta di aumentare o diminuire la risoluzione del tracciato, si raccomanda di scegliere un grado di risoluzione che eviti la probabilità di aumentare sia le valutazioni false negative per il sospetto di CM (grado di risoluzione troppo restrittivo) sia quelle false positive (grado di risoluzione troppo amplificato). Nel primo caso si potrebbero quindi "perdere" piccole CM, mentre il secondo caso comporterebbe inutili approfondimenti e sprechi di risorse.

Nota 2

La presenza di eventuali alterazioni morfologiche che possono mimare la presenza di una CM, come ad esempio i mezzi di contrasto non ancora eliminati dal circolo, impedisce la refertazione e richiede un contatto con il reparto o il medico che hanno inviato l'esame al fine di riprogrammare l'esame. Qualora il contatto risultasse non praticabile, è indicato utilizzare per la refertazione il seguente commento. *Tracciato elettroforetico suggestivo di interferenza da mezzo di contrasto: si suggerisce di inviare un nuovo campione.* Analoga osservazione si applica al campione emolitico.

Nota 3

È altamente auspicabile che il singolo laboratorio verifichi la sensibilità del proprio metodo e la riporti nel referto.

Nota 4

È facoltà del laboratorio decidere (in accordo con i clinici di riferimento) se allegare o meno il tracciato elettroforetico al referto.

Caratterizzazione qualitativa e quantitativa della componente monoclonale

L'autonomia del laboratorio nel proseguire con l'iter diagnostico in questo specifico campo, applicando il test riflesso, dovrebbe essere ricercata a livello locale (aziendale/regionale) nell'interesse precipuo del paziente; in particolare dovrebbe poter essere eseguita la immunotipizzazione (immunosottrazione, ISE o immunofissazione, IFE) delle possibili CM.

- Se la tipizzazione è negativa

Commento suggerito. *L'immunofissazione (o l'immunosottrazione) non rileva la presenza di componente monoclonale.*

- Se la tipizzazione è positiva

Commento suggerito. *L'immunofissazione (o l'immunosottrazione) evidenzia la presenza di una componente monoclonale di tipo ... in zona.... pari a ... g/L.*

Nota 1

È fortemente sconsigliato riportare una quantificazione di CM <1 g/L; in questo caso indicare solamente <1 g/L.

Nota 2

È fortemente raccomandato di refertare la CM in g/L.

Nota 3

In caso di componenti monoclonali note, qualora non sia necessario ripetere la tipizzazione, la quantificazione della componente monoclonale va comunque sempre eseguita.

Nota 4

In caso di componenti monoclonali note, la tipizzazione va eseguita nuovamente in caso di modifica della posizione di migrazione, e/o comparsa di picchi aggiuntivi.

Nota 5

Qualora sia necessario indagare l'assenza di CM con la sensibilità massima (per sospetto clinico o per verificare la scomparsa di CM in corso valutazione della risposta alla terapia), è necessario eseguire l'IFE in quanto dotata di maggiore sensibilità rispetto all'ISE.

Nota 6

Di recente applicazione per la tipizzazione delle CM sono le tecniche di spettrometria di massa, ad elevata sensibilità, ma, non ancora largamente impiegate (53,54).

Nota 7

Se la CM è presente in zona "non-gammaglobulinica" (alfa1/2 e beta1/2) si suggerisce di quantificarla solo quando sia distinguibile e ben separata dalle altre proteine presenti nella frazione globulinica. Una possibile alternativa consiste nel quantificare tutta la zona elettroforetica in cui migra la CM, specificando che la misura comprende anche le proteine comigranti nella zona globulinica coinvolta. È comunque consigliato misurare (o richiedere la quantificazione) della immunoglobulina coinvolta (19,29,33,40,47).

Nota 8

Se si utilizza il metodo PD, in caso di ipergammaglobulinemia si suggerisce di apporre la nota al referto. *La co-migrazione di immunoglobuline policlonali influenza l'accuratezza della misura della CM, con possibile sovrastima.*

Nota 9

Se si utilizza il metodo PD, è indicato di non quantificare le CM il cui picco sia <1/4 della base (29,36).

Nella Figura 1 è riportato l'algoritmo da seguire nel caso in cui l'ispezione visiva rilevi la possibile presenza di una CM di primo riscontro.

Interferenza da farmaci biologici

Numerosi farmaci biologici, definiti anticorpi monoclonali terapeutici (tmAb), utilizzati attualmente nella pratica clinica per la cura di malattie a diversa eziologia, oncologiche, reumatologiche ed ematologiche, possono interferire con le analisi di diagnostica proteica (elettroforesi e tipizzazione immunologica). Farmaci come Daratumumab, Isatuximab, Elotuzumab, Rituximab, Trastuzumab, Bevacizumab, Infliximab, Cetuximab, Adalimumab, Siltuximab, Ofatumumab, Nivolumab, sono costituiti da anticorpi monoclonali umanizzati di tipo IgG kappa, e possono comparire all'SPE come piccole CM, (≤ 2 g/L) (55-58), riconosciuti dagli antisieri impiegati nelle tecniche di tipizzazione immunologica.

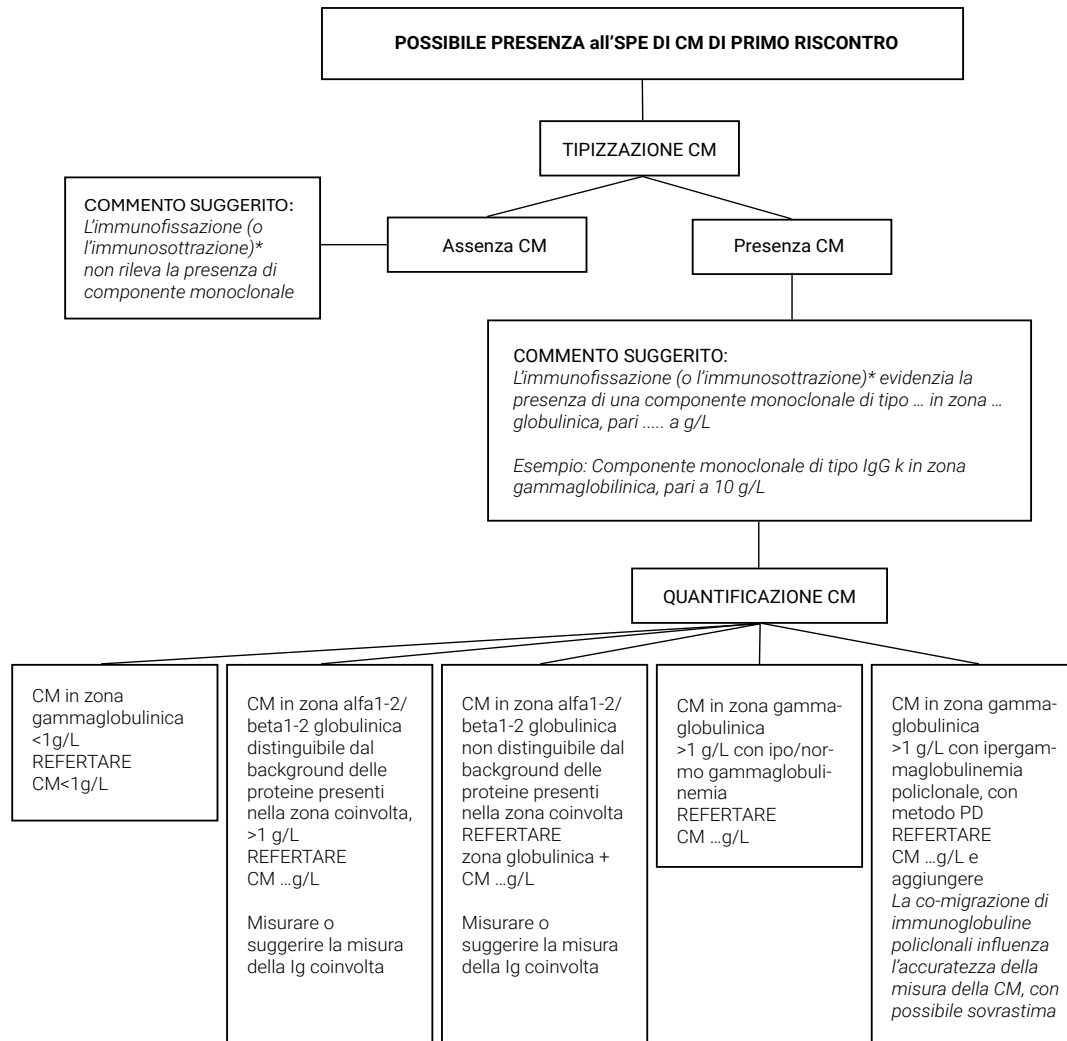


Figura 1

Algoritmo da seguire in caso in cui l'ispezione visiva del tracciato dell'elettroforesi delle sieroproteine rilevi la possibile presenza di una componente monoclonale (CM) di primo riscontro.

*o la Spettrometria di massa (più raramente impiegata)

SPE, serum protein electrophoresis; CM, componente monoclonale.

L'interferenza analitica può durare da pochi giorni a diverse settimane dalla somministrazione dei farmaci, in base alla concentrazione e alla frequenza della terapia (57, 59, 60) e può causare inutili indagini diagnostiche di approfondimento o, nel caso della terapia del MM, erronee interpretazioni dell'efficacia terapeutica, come l'individuazione della risposta completa al trattamento (23,61,62).

Esiste una vasta bibliografia disponibile su questo argomento (59-65). I professionisti di laboratorio devono essere consapevoli di questa problematica per essere in grado di gestirla correttamente (60). Deve essere tuttavia considerato che l'interferenza da farmaci biologici può essere gestita al meglio se vengono segnalati dai clinici i pazienti in trattamento, pianificando

se possibile l'esecuzione dell'SPE e della tipizzazione immunologica nei pazienti il più lontano possibile dalla somministrazione del farmaco biologico.

Nel trattamento del MM sono attualmente utilizzati tre tmAb: Daratumumab, Isatuximab ed Elotuzumab (Figura 2) (63-65). Ad oggi esiste la possibilità di riconoscere ed eliminare, mediante immunofissazione specifica approvata dalla FDA statunitense, la presenza di interferenza da Daratumumab e Isatuximab, tramite un test di "spostamento" che utilizza un anticorpo anti-Daratumumab o anti-Isatuximab per formare un complesso che si sposta in posizione anodica, modificando la migrazione del tmAb, distinguendolo nettamente dalla CM originale (66-70).

Sono stati descritti altri metodi, tra cui ASADA (Antigen Specific therapeutic monoclonal Antibody Depletion Assay), non ancora approvato dalla FDA (71) e analisi in spettrometria di massa (72-74). Quest'ultima tecnologia, ad oggi poco diffusa nel laboratorio clinico, potrà in futuro risolvere il problema dell'interferenza da qualsiasi tmAb.

In letteratura non sono presenti raccomandazioni formali per la gestione dei campioni che presentano interferenza da tmAb. Qualora al tracciato si evidenzino una CM di tipo IgGκ compatibile per entità (≤ 2 g/L) e zona di migrazione con la presenza del farmaco biologico, è opportuno verificare con i clinici di riferimento l'eventuale trattamento del paziente e possibilmente riprogrammare l'esecuzione dell'esame.

Qualora tale verifica risultasse impossibile è indicato utilizzare per la refertazione il commento.

Tracciato elettroforetico suggestivo di interferenza da anticorpi monoclonali terapeutici.

Se è disponibile in laboratorio il test specifico (anti-Daratumumab o anti-Isatuximab) ed è possibile eseguirlo come test riflesso o dopo richiesta specifica. Il commento al referto deve includere l'informazione della presenza del farmaco biologico. L'esame è raccomandato in particolare per confermare la risposta completa alla terapia in caso di CM IgG-kappa migrante nelle zone del tmAb.

È evidente che la comunicazione da parte del medico prescrittore di informazioni sulla eventuale terapia in atto al momento della richiesta di SPE e il tempestivo inserimento di queste informazioni nell'archivio storico pazienti del laboratorio facilitano in modo sostanziale l'interpretazione dei risultati, comportando risparmi di tempo e di risorse.

PRINCIPALI INFORMAZIONI DA INCLUDERE NEL REFERTO

Per un referto completo e informativo è indicato riportare le informazioni elencate nella Tabella 1

Ulteriori indicazioni

La SPE è un esame morfologico; oltre alla presenza di CM, è possibile siano rilevate altre anomalie quali/quantitative (non di interesse ematologico) meritevoli di essere segnalate nel referto:

- Sdoppiamento (o allargamento) della zona albuminica (75,76).

Commento suggerito. *Presenza di bis- (o allo-) albumina, di probabile origine genetica (o iatrogena).*

- Diminuzione o sdoppiamento della frazione alfa-1 globulinica. Può segnalare un deficit di alfa-1 antitripsina o la sua eterozigosi (77). In entrambi i casi eseguire la misura immunochimica della proteina o suggerire di richiederla.

Commento suggerito. *Morfologia della zona alfa-1 globulinica suggestiva di possibile deficit di alfa-1 antitripsina, viene fornita la misura della proteina (o si suggerisce di richiedere la misura della proteina).*

Le indicazioni riportate per la refertazione dell'SPE e la tipizzazione delle CM sono riassunte nella tabella sinottica riportata in calce al documento.

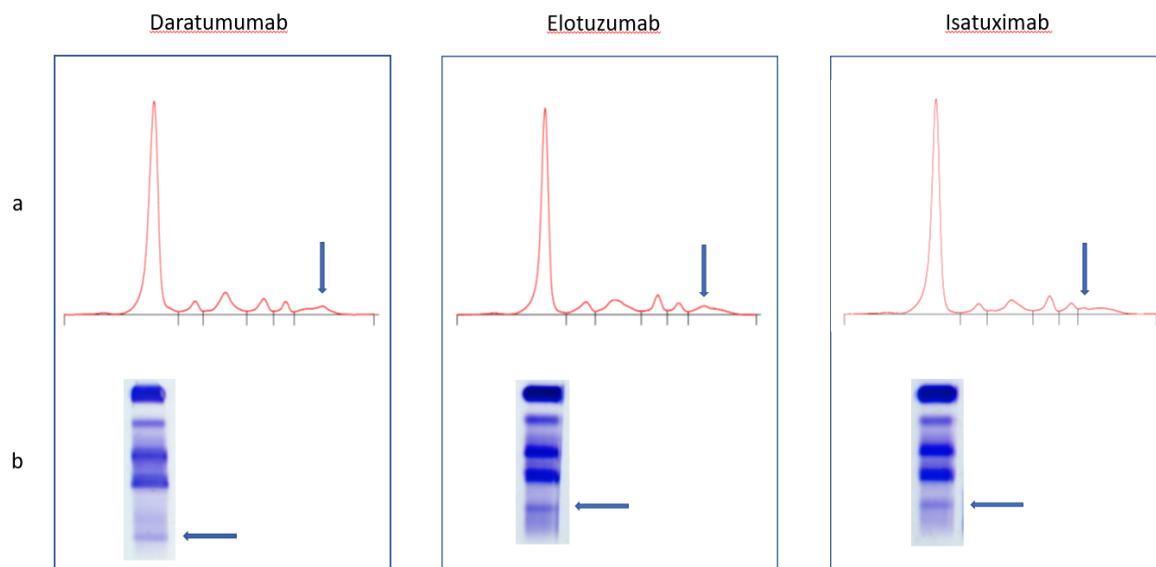


Figura 2

Zona di migrazione per farmaci Daratumumab, Elotuzumab ed Isatuximab in elettroforesi capillare (a) e in gel di agarosio (b)

Tabella 1*Informazioni da riportare nel referto dell'elettroforesi sieroproteica*

Metodo elettroforetico	Indicare se l'SPE è eseguita in: Elettroforesi Capillare Zonale (CZE) o Elettroforesi in Gel di Agarosio (AGE)
Denominazione della immunoglobulina monoclonale	Componente Monoclonale (CM)
Proteine totali	Esprimere in g/L
Determinazione quantitativa delle frazioni proteiche	Riportare nel referto il valore delle frazioni proteiche in % (una cifra decimale) e g/L (senza decimali); questa ultima modalità è opzionale.
Determinazione quantitativa della componente monoclonale	Esprimere in g/L (senza decimali) indicando la tecnica tangent skimming o perpendicular drop
Intervalli di riferimento delle frazioni proteiche	Riportare quelli validati dalla letteratura o dal fornitore o determinati nel laboratorio in % e opzionalmente in g/L
Grafico elettroforetico	Opzionale
Dati storici dei pazienti (Ad es.: CM nota, tipizzazione e quantificazione)	Se estraibili dai sistemi informatici impiegati
Commento interpretativo all'elettroforesi	Sempre
Sensibilità analitica SPE, IFE, ISE	Se note

SPE, serum protein electrophoresis; ISE, immunosottrazione; IFE, immunofissazione.

CONCLUSIONI

Le raccomandazioni presenti in letteratura sulla necessità di armonizzare il referto dell'SPE si focalizzano su diversi aspetti che devono essere definiti: nomenclatura, quantificazione della CM, espressione dei risultati e unità di misura, intervalli di riferimento, gestione dei possibili interferenti e commenti interpretativi da apporre al referto (16-21).

Vengono inoltre indicati percorsi specifici di formazione per i professionisti, che comportino un'esperienza minima di un anno nel settore analitico delle proteine, con una continua crescita professionale (20). In particolare, l'interpretazione dell'SPE deve essere eseguita da personale formato ed è necessario che all'interno del laboratorio si raggiunga l'armonizzazione tra operatori soprattutto nelle fasi di individuazione, delimitazione, quantificazione della CM e nell'inserimento dei commenti interpretativi al referto.

Il quesito principale al quale il laboratorio deve dare risposta nella esecuzione e refertazione della SPE è se la CM sia presente e in quale concentrazione (34,78,79).

L'attuale documento, frutto del confronto tra le indicazioni presenti in letteratura e il consenso degli esperti che hanno partecipato alla sua stesura, è da intendersi come un insieme di indicazioni emanate al fine di armonizzare il referto dell'SPE. Vengono descritte e illustrate le informazioni necessarie da riportare nel referto, le modalità operative e i principali commenti

interpretativi da impiegare; resta inteso che, in particolari casi, il professionista di laboratorio deve poter generare un commento inedito che rispecchi e descriva la situazione evidenziata.

Per i pazienti con GM si auspica l'applicazione di test riflessi che consentano la produzione di un referto completo comprendente l'SPE, con la quantificazione e la tipizzazione della CM, ed altri parametri (come FLC sieriche e ricerca e quantificazione della proteina di Bence Jones) in relazione alla situazione clinica (45,80,81).

Infine, come da più autori raccomandato, si sottolinea l'importanza di una stretta collaborazione del professionista di laboratorio con i clinici di riferimento, per poter fornire le informazioni corrette e utili in tutte le tappe della presa in carico del paziente affetto da GM: diagnosi, monitoraggio, risposta alla terapia, malattia minima residua, ripresa della malattia (82,83).

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

1. AAVV. Harmonization in Laboratory Medicine: the request, the sample, the measurement and the report-an update. Part 1. Clin Chem Lab Med 2018;56:Special Issue.
2. AAVV. Harmonization in Laboratory Medicine: the request, the sample, the measurement and the report-an update. Part 2. Clin Chem Lab Med 2019;57:Special Issue.

3. Zaninotto M, Graziani MS, Plebani M. The harmonization issue in laboratory medicine: the commitment of CCLM. *Clin Chem Lab Med* 2023;61:721-31.
4. Ceriotti F. Standardizzazione e armonizzazione: SIBioC in prima linea. *Biochim Clin* 2015;39:48-55.
5. Plebani M., Panteghini M. Armonizzazione in laboratorio: verso una visione globale. *Biochim Clin* 2015;39:12-4.
6. Ceriotti F. Promuovere l'accuratezza e la confrontabilità delle informazioni di laboratorio attraverso programmi di armonizzazione e standardizzazione. *Biochim Clin* 2023;47 Suppl2:S8-20.
7. Buoro S, Da Rin G, Ceriotti F. Trasformare i risultati in informazioni, armonizzazione del referto. *Biochim Clin* 2023;47 Suppl2:S21-27.
8. Jones GRD, Legg M. Report formatting in laboratory medicine – a call for harmony. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:61–5.
9. Vasikaran S, Sikaris K, Kilpatrick E, French J, Badrick T, Osypiw J, et al. IFCC WG Harmonization of Quality Assessment of Interpretative Comments. Assuring the quality of interpretative comments in clinical chemistry. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1901-11.
10. Caldini A, Graziani MS, Terreni A, Merlini G, per il Gruppo di Studio Proteine SIBioC. Indagine sulle modalità di refertazione dell'elettroforesi sieroproteica. *Biochim Clin* 2009;33:62-5.
11. Inman Z, Martin H, Chubb SA P. Reporting of quantitative protein electrophoresis in Australia and New Zealand: a call for standardization. *Clin Biochem Rev* 2009;30:141-51.
12. Wijeratne N, Tate JR, Wienholt L, Mollee P. Report of the survey conducted by RCPAQAP on current practice for paraprotein and serum free light chain measurement and reporting in Australia and New Zealand: a need for harmonisation. *Clin Biochem Rev* 2019;40:31-42.
13. Genzen JR, Murray DL, Abel G, Meng HQ, Baltaro JR, Rhoads DD et al. Screening and Diagnosis of Monoclonal Gammopathies: An International Survey of Laboratory Practice. *Arch Pathol Lab Med* 2018;142:507-15.
14. Chan PC. A Canada-wide practice survey on serum protein electrophoresis. Opportunity for standardization and improvement. *Clin Biochem* 2014;47:1149.
15. Tate J, Graziani MS, Wirlrich M, Jacobs H, Moss M. IFCC Working Group on Harmonization of Interpretive Commenting EQA (WG-ICQA) subgroup. International Survey on protein electrophoresis and serum free light chains, and quantification of small monoclonal proteins. <http://www.ifcc.org/ifcc-education-division/workinggroups-special-projects/wg-icqa/> (ultimo accesso: agosto 2018).
16. Sthaneshwar P, Thambiah SC, Mat Salleh MJ, Nasuruddin DN, Ahmad Zabidi NF, Jelani MA et al. Survey on serum protein electrophoresis and recommendations for standardised reporting. *Malays J Pathol* 2021;43:281-90.
17. Chan PC, Chen Y, Randell EW. On the path to evidence-based reporting of serum protein electrophoresis patterns in the absence of a discernible monoclonal protein—A critical review of literature and practice suggestions. *Clin Biochem* 2018;5:29-37.
18. Dejoie T, Lakomy D, Caillon H, Pegourié B, Decaux O. IFM (Intergroupe francophone du myélome) recommendations for uniform interpretation of serum and urine protein electrophoresis in multiple myeloma diagnosis and follow-up. *Ann Biol Clin* 2016;74:429-41.
19. Tate J, Caldwell G, Daly J, Gillis D, Jenkins M, Jovanovich S et al. Working Party on Standardised Reporting of Protein Electrophoresis. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem* 2012;49:242-56.
20. Booth RA, McCudden CR, Balion CM, Blasutig IM, Bouhtiauy I, Rodriguez-Capote K et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem* 2018;51:10-20.
21. Moss MA. Moving towards harmonized reporting of serum and urine protein electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:973-9.
22. Mateos MV, Kumar S, Dimopoulos MA, González-Calle V, Kastritis E, Hajek R et al. International Myeloma Working Group risk stratification model for smoldering multiple myeloma (SMM). *Blood Cancer J* 2020;10:102.
23. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016;17:e328-46.
24. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538-48.
25. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R et al. International Myeloma Working Group. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215-24.
26. Lakshman A, Rajkumar SV, Buadi FK, Binder M, Gertz MA, Lacy MQ et al. Risk stratification of smoldering multiple myeloma incorporating revised IMWG diagnostic criteria. *Blood Cancer J* 2018;8:59.
27. Chng WJ, Dispenzieri A, Chim CS, Fonseca R, Goldschmidt H, Lentzsch S et al. International Myeloma Working Group. IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28:269-77.
28. Tate JR, Keren DF, Mollee P. A global call to arms for clinical laboratories - Harmonised quantification and reporting of monoclonal proteins. *Clin Biochem* 2018;51:4-9.
29. Willrich AV, Katzmann JA. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:907-19.
30. Willrich AV, Murray DL, Kyle RA. Laboratory testing for monoclonal gammopathies: focus on monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Clin Biochem* 2018;51:38-47.
31. Katzmann JA, Keren DF. Strategy for detecting and following monoclonal gammopathies Chapter 11. in *Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology*, Eighth Edition. Hoboken: John Wiley & Sons. 2016:112-24.
32. Tate JR, Graziani MS, Mollee P, Merlini G. Protein Electrophoresis and serum free light chains in the diagnosis and monitoring of plasma cell disorders: laboratory testing and current controversies. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:899–905.
33. Tate JR, Smith JD, Wijeratne N, Mollee. Proposed addendum to 2012 recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Clin Biochem Rev* 2019;40:23-30.
34. Tate JR. The Paraprotein – an Enduring Biomarker. *Clin Biochem Rev* 2019;40:5-22.
35. Wijeratne N, Tate JR, Du Toit S, Smith JD, Soepnel A, Weng Choy K et al. Paraprotein Sample Exchange in Australia and New Zealand – 2018. *Clin Biochem Rev* 2019;40:43-54.
36. Turner KA, Frinack JL, Ettore MW, Tate JR, Graziani

- MS, Jacobs JFM et al. An international multicenter serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study. Part I: factors impacting limit of quantification of serum protein electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:533-46.
37. Jacobs JFM, Turner KA, Graziani MS, Frinack JL, Ettore MW, Tate JR et al. An international multi-center serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study. Part II: limit of detection and follow-up of patients with small M-proteins. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:547-59.
 38. Mussap M. Misura e identificazione delle componenti monoclonali plasmatiche: risultati di uno studio multicentrico internazionale. *Biochim Clin* 2020;44:270-8.
 39. Angelino CM, Jacobs JFM. External quality assessment of M-protein diagnostics: a realistic impression of the accuracy and precision of M-protein quantification. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1063-8.
 40. Keren DF, Bocsi G, Billman BL, Etzell J, Faix JD, Kumar S et al. Laboratory Detection and Initial Diagnosis of Monoclonal Gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 2022;146:575-90.
 41. McCudden CR, Booth RA, Lin DCC, McCurdy A, Rupani N, Kew A. Synoptic reporting for protein electrophoresis and immunofixation. *Clin Biochem* 2018;51:21-8.
 42. Altinier S, Sarti L, Varagnolo MC, Zaninotto M, Maggini M, Plebani M. An expert system for the classification of serum protein electrophoresis patterns. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1458-63.
 43. Chabrun F, Dieu X, Ferre M, Gaillard O, Mery A, Chao de la Barca JM et al. Achieving Expert-Level Interpretation of Serum Protein Electrophoresis through Deep Learning Driven by Human Reasoning. *Clin Chem* 2021;67:1406-14.
 44. Graziani MS, Dolci A, Greco C, Luraschi P, Muratore MT, Mussap M et al. per il Gruppo di Studio Proteine SIBioC. Indicazioni per la richiesta di elettroforesi sieroproteica. *Biochim Clin* 2008;32:48-51.
 45. Caldini A, Graziani MS, Basile U, Cataldo I, Cigliana G, Muratore MT et al. per il Gruppo di Studio Proteine SIBioC. Il contributo della diagnostica proteica nella gestione delle gammopatie monoclonali. *Biochim Clin* 2014;38:47-53.
 46. Dolci A, Vernocchi A, per il Gruppo di Studio Proteine SIBioC. Aspetti metodologici nella ricerca e caratterizzazione delle componenti monoclonali nel siero. *Biochim Clin* 2012;36:84-9.
 47. Vernocchi A, Dolci A, per il Gruppo di Studio Proteine SIBioC. Indicazioni per la quantificazione delle componenti monoclonali nel siero. *Biochim Clin* 2015;39:199-207.
 48. Graziani MS, Caldini A, Basile U, Dolci A, Ferraro S, Ferrarotti I et al. Indicazioni per la misura delle principali proteine sieriche. *Biochim Clin* 2012;36:244-67.
 49. Caldini A, Graziani MS, Terreni A, Merlini G. Indagine sulle modalità di refertazione dell'elettroforesi sieroproteica. *Biochim Clin* 2009;33:62-5.
 50. Terreni A, Caldini A, Graziani MS, Merlini G. Valutazione dell'impatto delle raccomandazioni del Gruppo di Studio SIBioC Proteine sull'operatività dei laboratori italiani. *Biochim Clin* 2015;39:585-90.
 51. Vernocchi A, Gelsumini S, Piazza E. Prevalenza di gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) in soggetti ambulatoriali di età >50 anni: un'indicazione all'esecuzione dell'elettroforesi delle sieroproteine? *Biochim Clin* 2014;38:154-5.
 52. Rognvaldsson S, Love TJ, Thorsteinsdottir S, Reed ER, Oskarsson JP, Petursdottir I et al. Iceland screens, treats, or prevents multiple myeloma (iStopMM): a population-based screening study for monoclonal gammopathy of undetermined significance and randomized controlled trial of follow-up strategies. *Blood Cancer J* 2021;11:94.
 53. Milani P, Murray DL, Barnidge DR, Kohlhagen MC, Mills JR, Merlini G et al. The utility of MASS-FIX to detect and monitor monoclonal proteins in the clinic. *Am J Hematol* 2017;92:772-9.
 54. Milani P, Palladini G. La spettrometria di massa nella diagnosi e nel monitoraggio delle gammopatie monoclonali. *Biochim Clin* 2019;43:256-63.
 55. Morrison T, Booth RA, Hauff K, Berardi P, Visram A. Laboratory assessment of multiple myeloma. *Adv Clin Chem* 2019;89:1-58.
 56. Noori S, Verkleij CPM, Zajec M, Langerhorst P, Bosman PWC, De Rijke YB et al. Monitoring the M-protein of multiple myeloma patients treated with a combination of monoclonal antibodies: the laboratory solution to eliminate interference. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1963-71.
 57. Baloda V, Shurin MR, Wheeler SE. Pilot verification of a novel approach to remove electrophoretic interference of the therapeutic monoclonal antibody daratumumab. *JALM* 2022;7:910-5.
 58. McCudden CR, Voorhees PM, Hainsworth SA, Whinna HC, Chapman JF, Hammet-Stabler CA, et al. Interference of monoclonal antibody therapies with serum protein electrophoresis tests. *Clin Chem* 2010;56:1897-904.
 59. Cigliana G, Illuminati A, De Santis E, Conti L, Pisani F, La Malfa A et al. Interference by biological anti-cancer drugs in electrophoretic and immunofixation techniques. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:e297-9.
 60. Tang F, Malek E, Math S, Schmotzer CL, Beck RC. Interference of therapeutic monoclonal antibodies with routine serum protein electrophoresis and immunofixation in patients with myeloma: Frequency and Duration of Detection of Daratumumab and Elotuzumab. *Am J Clin Pathol* 2018;150:121-9.
 61. Durie BGM, Miguel JFS, Blade J, Rajkumar SV. Clarification of the definition of complete response in multiple myeloma. *Leukemia* 2015;29:2416-7.
 62. McCudden C, Axel AE, Slaets D, Dejoie T, Clemens PL, Frans S et al. Monitoring multiple myeloma patients treated with Daratumumab: taesing out monoclonal antibody interference. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1095-104.
 63. NICE guidance - Daratumumab with bortezomib and dexamethasone for previously treated multiple myeloma. Technology appraisal guidance Published: 10 April 2019. <https://www.nice.org.uk/guidance/ta573>
 64. NICE guidance - Isatuximab with pomalidomide and dexamethasone for treating relapsed and refractory multiple myeloma. Technology appraisal guidance Published: 18 November 2020. <https://www.nice.org.uk/guidance/ta658>
 65. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E, Mateos MV, Zweegman S, Cook G et al. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2021;32:309-22.
 66. van de Donk NWCJ, Otten HG, El Haddad O, Axel A, Sasser AK, Croockewit S et al. Interference of daratumumab in monitoring multiple myeloma patients using serum immunofixation electrophoresis can be abrogated using the daratumumab IFE reflex assay (DIRA). *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1105-9.
 67. Caillon H, Irimia A, Simon JS, Axel A, Sasser K, Scullion M et al. Overcoming the interference of Daratumumab with immunofixation electrophoresis (IFE) using an industry-developed Dira Test: Hydrashift 2/4 Daratumumab. *Blood* 2016;128:2063.
 68. Debbia D, Natali P, Trenti T. Nuovi e insidiosi interferenti in elettroforesi siero-proteica: gli anticorpi monoclonali terapeutici. *Biochim Clin* .2023;47:355-9.

69. Thoren KL, Pianko MJ, Maakaroun Y, Landgren CO, Ramanathan LV. Distinguishing Drug from Disease by Use of the Hydrashift 2/4 Daratumumab Assay. *JALM* 2019;3:857-63.
70. Sherbenou DW, Mark TM, Forsberg P. Monoclonal antibodies in multiple myeloma: a new wave of the future. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017;17:545-54.
71. Liu L, Shurin MR, Wheeler SE. A novel approach to remove interference of therapeutic monoclonal antibody with serum protein electrophoresis. *Clin. Biochem.* 2020;75:40-7.
72. Moore LM, Cho S, Thoren KL. MALDI-TOF mass spectrometry distinguishes daratumumab from M-proteins. *Clin Chim Acta* 2019;492:91-4.
73. Mills JR, Kohlhagen MC, Willrich MAV, Kourelis T, Dispenzieri A, Murray DL. A universal solution for eliminating false positives in myeloma due to therapeutic monoclonal antibody interference. *Blood* 2018;132:670-2.
74. Murray DL, Puig N, Kristinsson S, Usmani SZ, Dispenzieri A, Bianchi G et al. Mass spectrometry for the evaluation of monoclonal proteins in multiple myeloma and related disorders: an International Myeloma Working Group Mass Spectrometry Committee Report. *Blood Cancer Journal* 2021;11:24-9.
75. Kragh-Hansen U, Minchiotti L, Galliano M, Peters T Jr. Human serum albumin isoforms: genetic and molecular aspects and functional consequences. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830:5405-17.
76. Kapatia G, Wadhwa M, Malhotra P, Prakash G, Aggarwal R. Bisalbuminemia: A Pathologist's Insight of an Uncommon Phenomenon. *J Lab Physicians.* 2021;13:219-223.
77. Scarlata S, Santangelo S, Ferrarotti I, Corsico AG, Ottaviani S, Finamore P et al. Electrophoretic α 1-globulin for screening of α 1-antitrypsin deficient variants. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1837-45.
78. Rajkumar SV. Multiple Myeloma: 2022 update on Diagnosis, Risk-stratification and Management. *Am J Hematol* 2022;97:1086-107.
79. Merlini G. Perché è importante identificare e segnalare le piccole componenti monoclonali. *Biochim Clin* 2012;36:25-8.
80. Palladini G, Russo P, Bosoni T, Verga L, Sarais G, Lavatelli F et al. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin Chem.* 2009;55:499-504.
81. Natali P, Cigliana G, Savoia M., Gelsumini S, Basile U, Vernocchi A et al. per il Gruppo di Studio Proteine SIBioC. Revisione e aggiornamento del documento di consenso SIBioC per la ricerca e quantificazione della proteina di Bence Jones. *Biochim Clin* 2021;45:75-86.
82. Adami F, Berno T, Riva M, Lessi F, Graziani MS. Gammopatie monoclonali: quadri clinici principali e ruolo del laboratorio. *Biochim Clin* 2019;43:366-83.
83. Merlini G. Le gammopatie monoclonali: una sfida continua per la Medicina di Laboratorio *Biochim Clin* 2019;43:355-6.

Tabella sinottica*Indicazioni per la refertazione dell'elettroforesi delle sieroproteine e tipizzazione delle componenti monoclonali*

ELETTROFORESI DELLE SIEROPROTEINE

Condizione	Commento suggerito al referto	Annotazione
L'ispezione visiva non rileva alterazioni morfologiche che facciano sospettare la presenza di una CM	Nel tracciato elettroforetico non si evidenziano alterazioni relative alla presenza di una componente monoclonale, alla sensibilità del metodo utilizzato	
L'ispezione visiva rileva la possibile presenza di una CM di primo riscontro (per quel laboratorio): -il laboratorio è in grado di procedere autonomamente alla tipizzazione immunologica -il laboratorio NON è in grado di procedere autonomamente alla tipizzazione immunologica	Il tracciato elettroforetico rileva la presenza di una componente monoclonale (vedi tipizzazione immunologica) Presenza di una alterazione ad aspetto monoclonale in zona..., si raccomanda approfondimento diagnostico mediante richiesta di tipizzazione immunologica	Al referto dell'SPE deve seguire il referto della tipizzazione immunologica
L'ispezione visiva rileva la presenza di una CM già nota	Si conferma la presenza di componente monoclonale di tipo... in zona ... pari a ... g/L	
L'ispezione visiva rileva la presenza di un quadro di oligoclonalità (>2 componenti)	Presenza di un quadro di oligoclonalità; la tipizzazione viene effettuata solo in seguito a specifica richiesta	
Diminuzione della zona gamma globulinica <5 g/L, popolazione adulta	Zona gamma globulinica diminuita; si suggerisce la determinazione delle immunoglobuline e, se clinicamente indicato, l'esecuzione di tipizzazione immunologica su siero ed urine	Negli adulti la condizione è meritevole di essere segnalata sempre
Interferenza da mezzo di contrasto (contatto con il reparto non praticabile)	Tracciato elettroforetico suggestivo di interferenza da mezzo di contrasto: si suggerisce di inviare un nuovo campione.	
Interferenza da farmaci biologici (contatto con il reparto non praticabile)	Tracciato elettroforetico suggestivo di interferenza da anticorpi monoclonali terapeutici	

CARATTERIZZAZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DELLA COMPONENTE MONOCLONALE

Condizione	Commento suggerito al referto	Annotazione
La tipizzazione è negativa	L'immunofissazione (o l'immunosottrazione) non rileva la presenza di componente monoclonale	
La tipizzazione è positiva	L'immunofissazione (o l'immunosottrazione) evidenzia la presenza di una componente monoclonale di tipo ...in zona...pari a g/L	

ULTERIORI INDICAZIONI

Condizione	Commento suggerito al referto	Annotazione
Sdoppiamento (o allargamento) della zona albuminica	Presenza di bis- (o allo-) albumina, di probabile origine genetica (o iatrogena)	
Diminuzione o sdoppiamento della frazione alfa-1 globulinica.	Morfologia della zona alfa-1 globulinica suggestiva di possibile deficit di alfa-1 antitripsina, viene fornita la misura della proteina (o si suggerisce di richiedere la determinazione della proteina)	

Ogni referto di elettroforesi siero-proteica deve essere accompagnato da un commento interpretativo che faccia riferimento all'ispezione visiva del tracciato elettroforetico.

Il laboratorio ha la facoltà di decidere (in accordo con i clinici di riferimento) se allegare o meno il tracciato elettroforetico al referto.

In ogni caso, è opportuno che il professionista di laboratorio possa generare un commento inedito che rispecchi e descriva situazioni particolari, non precedentemente descritte.