

L'ANGOLO DELL'ELETTROFORESI

a cura di F. Aguzzi

CASO 15

L. Abate, M. Martelli, R. Zannini
Laboratorio Analisi - Ospedale Bellaria - USL 29 - Bologna

Proteinuria di Bence Jones: sperimentazione di un nuovo metodo immunoturbidimetrico per la determinazione delle catene leggere libere nelle urine non concentrate

PAROLE CHIAVE

Catene leggere, kappa, lambda, Bence Jones.

SOMMARIO

È stato sperimentato un kit immunoturbidimetrico per la determinazione qualitativa rapida non strumentale delle catene leggere libere in urine. I risultati sono stati confrontati con quelli dei metodi già in uso nella routine dei settori del laboratorio interessati: Termo-Test, Elettroforesi e ImmunoFissazione delle urine concentrate. Il confronto, nell'ambito della sperimentazione effettuata, consente di valutare positivamente il metodo per la sua percorribilità nello screening.

I dati preliminari consentono anche un moderato ottimismo per le possibilità aperte dal metodo nello studio delle catene leggere libere nelle urine.

PREMESSE

A) *Perché la ricerca delle catene leggere libere nelle urine?*

A.1) per l'importanza e il significato di tale ricerca nelle malattie immunoproliferative e in quelle iperimmuni e ciò nella diagnosi, nella prognosi, nel seguire l'evoluzione della malattia e l'efficacia della terapia.

A.2) A seguito di specifica richiesta del radiologo per i pazienti da sottoporre a contrastografia in particolare per la tomografia assiale.

In tal caso il numero di richieste può essere elevato, una media di 18/giorno-lavorativo nel nostro Ospedale.

B) *Metodi comunemente utilizzati per la ricerca:*

B.1) Termo-Test,

B.2) Elettroforesi delle urine concentrate su diversi supporti.

B.3) Elettroforesi delle urine non concentrate su Cellogel RS Wedge.

B.4) ImmunoElettroforesi delle urine concentrate.

B.5) ImmunoFissazione delle urine concentrate o non concentrate.

C) *La concentrazione: pro e contro:*

C.1) Alcuni ricercatori preferiscono non concentrare per evitare indesiderate alterazioni del campione.

C.2) Al contrario, altri consigliano concentrazioni molto spinte (100-200 volte) poiché diversamente sembra non si abbia una sensibilità sufficiente.

C.3) Alcuni concentrano in relazione al dosaggio quantitativo delle proteine totali benché sia noto che nessuna relazione esiste tra quantità di proteine totali e quantità di catene leggere libere.

D) *Metodi di recente proposti:*

Recentemente sono stati proposti metodi che per la loro sensibilità consentono di utilizzare il campione non concentrato:

D.1) Elettroforesi e colorazione con argento o oro.

D.2) ImmunoFissazione e colorazione con argento o oro.

D.3) ImmunoBlotting.

E) *Catene leggere totali (libere & legate) e catene leggere libere:*

Alcuni consigliano l'uso nell'ImmunoFissazione dei soli antisieri anti catene leggere totali estrapolando la presenza di catene leggere libere dal confronto delle mobilità elettroforetiche delle bande, dalla reattività della banda con antisieri anti catena pesante o da altri segni indiretti.

Essi affermano che gli antisieri anti catena leggera libera hanno titolo basso e non danno risultati soddisfacenti.

Altri affermano che è indispensabile utilizzare antisieri anti catena leggera libera e che esistono ormai diversi buoni produttori.

F) *Catene leggere monoclonali, oligoclonali, policlonali:*

È molto diffuso il termine di banda monoclonale e oligoclonale.

In questa nota si è preferito parlare di «Gradiente/i Monoclonale/i» per sottolineare l'aspetto squisitamente estetico della rilevazione che non vuole sottointendere alcun significato clinico.

La segnalazione della presenza in urina di catene leggere libere policlonali non sembra avere attualmente interesse.

Si può però ipotizzare che il tubulo non faccia differenza tra catene leggere libere mono e policlonali; inoltre forse le catene leggere libere possono essere un altro indice di funzionalità tubulare.

G) *Proteine di Bence Jones, terminologia:*

In senso restrittivo con Proteine di Bence Jones (BJP) si dovrebbe intendere le catene leggere libere.

Alcuni restringono ulteriormente il significato e intendono le catene leggere libere monoclonali.

Comunque, il termine di proteine di Bence Jones e di catene leggere in generale è frequentemente usato come sinonimo.

In realtà non sembra esistere attualmente un metodo o una procedura standardizzata e raccomandata, così come non vi sono indicazioni univoche sul limite di sensibilità ottimale per la ricerca delle catene leggere libere nelle urine.

Nella pratica della maggior parte dei laboratori lo screening viene effettuato con il termo-test o con l'elettroforesi delle urine concentrate.

Nel caso di negatività non si procede oltre a meno che non vi sia richiesta esplicita del clinico o altre indicazioni.

OBIETTIVI

La sperimentazione è stata condotta al fine di valutare

la possibilità di sostituire e/o affiancare ai metodi attualmente in uso nel nostro laboratorio un nuovo metodo immunoturbidimetrico di recente presentato dalla New Scientific Company.

Più precisamente l'obiettivo era valutare l'efficacia e l'efficienza del metodo in:

A) Determinazione della presenza di catene leggere libere nelle urine di pazienti con gradiente monoclonale all'elettroforesi del siero come indagine preliminare e di screening per l'esecuzione dell'immunofissazione su urine concentrate.

B) Determinazione della presenza di catene leggere libere nello screening routinario dei pazienti per cui è prevista indagine contrastografica.

PROCEDURA LOGICA

L'introduzione di un metodo in laboratorio deve passare tramite il modello generale di analisi dell'efficacia e dell'efficienza che possono essere così definiti:

a) *efficacia: capacità di raggiungere l'obiettivo.*

Nel nostro caso la totale efficacia si avrebbe da un metodo che consentisse di individuare tutti i pazienti con catene leggere libere nelle urine senza falsi negativi e senza falsi-positivi.

Nel caso specifico non sembra attualmente definito il positivo e il negativo, né qualitativamente né quantitativamente e non è definito un metodo di riferimento.

Pertanto si è utilizzato un criterio di valutazione per così dire «statistico».

b) *efficienza: qualità del percorso per raggiungere l'obiettivo.*

Sono state scartate tutte quelle procedure operative che pur essendo probabilmente molto efficaci, sono state giudicate non percorribili almeno nel nostro laboratorio, e cioè con bassa efficienza.

CASISTICA

Sono state esaminate due differenti casistiche:

A) *Casistica A*

Gradienti monoclonali nel siero e catene leggere nelle urine.

Tutti i pazienti con richiesta di elettroforesi delle sieroproteine.

Campionamento: da gennaio 1988 fino alla concorrenza di 50 Gradienti Monoclonali.

B) *Casistica B*

Screening catene leggere nelle urine e contrastografia. Tutti i pazienti con richiesta di determinazione delle proteine di Bence Jones come indagine preliminare

all'esecuzione di contrastografia, in particolare tomografia assiale.

Campionamento: da gennaio 1988 fino alla concorrenza di 20 campioni positivi con il test ImmunoTurbidimetrico per le catene leggere libere.

Un campione è stato poi escluso perché risultato presente anche nella Casistica A.

PROCEDURA OPERATIVA

Per le due casistiche si è operato come segue:

A) Casistica A

Per i pazienti che hanno mostrato un gradiente monoclonale all'elettroforesi delle sieroproteine si è proceduto come segue:

- A.1) ImmunoFissazione su siero (anche per catene leggere libere).
- A.2) Elettroforesi delle proteine urinarie.
- A.3) Immunofissazione su urine (catene pesanti, catene leggere libere & legate, catene leggere libere).
- A.4) Test ImmunoTurbidimetrico (catene leggere libere e catene leggere libere & legate).

B) Casistica B

Per i pazienti risultati positivi al test ImmunoTurbidimetrico per le catene leggere libere si è proceduto come segue:

- B.1) Test ImmunoTurbidimetrico per le catene leggere libere & legate.
- B.2) Elettroforesi delle proteine urinarie.
- B.3) Immunofissazione su urine (catene pesanti, catene leggere libere & legate, catene leggere libere).
- B.4) Elettroforesi delle sieroproteine.
- B.5) Immunofissazione su siero (anche catene leggere libere).

C) Controllo generale del kit

Sono state controllate le dichiarazioni del produttore circa le urine di controllo inserite nel kit.

I risultati sono sostanzialmente coincidenti con quanto dichiarato; in particolare la concentrazione minima di catene leggere libere evidenziabili è risultata essere di circa 5 mg/dl.

D) Controllo «Eccesso di Antigene»

Per poter escludere falsi-negativi per «eccesso di antigene» per tutti i campioni è stato aggiunto al reagente 10 μ l e 50 μ l di antigene (vedi: ImmunoTurbidimetria, Procedura operativa).

In nessun caso si è verificato l'eccesso di antigene.

MATERIALI - METODI - CAMPIONI

A) Elettroforesi sieroproteine:

- A.1) **Materiali:** CelloGel (r) Multipolar (Chemetron) (a);

apparecchiatura, reagenti e accessori standard del produttore.

- A.2) **Metodo** : Secondo le istruzioni standard del produttore, deposito semimicro, lunghezza della corsa: 5 cm circa, colorante: rosso ponceau,

- A.3) **Lettura** : Ispettiva.

- A.4) **Campione:** Siero fresco.

B) Elettroforesi delle proteine urinarie:

- B.1) **Materiali** : Agarosio Paragon (r) (Beckman) (b) apparecchiatura, reagenti e accessori standard del produttore.

- B.2) **Metodo** : Secondo le istruzioni standard del produttore.

- B.3) **Lettura** : Ispettiva.

- B.4) **Campione:** Urine concentrate 25 volte; aliquota delle 24 ore.

C) Immunofissazione siero e urine:

- C.1) **Materiali** : Agarosio Paragon (r) (Beckman) (b) apparecchiatura, reagenti, antisieri e accessori standard del produttore.

- C.2) **Metodo** : Secondo le istruzioni standard del produttore.

- C.3) **Campione:** — Siero fresco.

- Urine concentrate 25 volte; aliquota delle 24 ore.

D) Antisieri:

- D.1) **Antisieri da capra anti proteine umane:**

- Immunoglobuline IgA - catena alfa
- Immunoglobuline IgG - catena gamma
- Immunoglobuline IgM - catena mu
- Catene leggere libere & legate kappa
- Catene leggere libere & legate lambda

Distributore: Beckman (b).

Produttore: probabilmente Atlantic Antibodies (ATAB).

- D.2) **Antisieri da capra anti proteine umane:**

- Immunoglobuline IgD - catena delta
- Catene leggere libere kappa
- Catene leggere libere lambda

Distributore: New Scientific Company (c)

Produttore: Atlantic Antibodies (ATAB).

E) Concentratori: Minicon B15 (d)

F) ImmunoTurbidimetria:

Sono stati utilizzati i kits della New Scientific Company (c) ottenuti con antisieri Atlantic Antibodies (ATAB)

- F.1) **Materiali** : — Kit catene leggere libere & legate
- Kit catene leggere libere

- F.2) **Metodo** : metodo qualitativo non strumentale come descritto dal produttore.

- F.3) **Campione:** Urine non concentrate; aliquota di 24 ore.

IMMUNOTURBIDIMETRIA: PROCEDURA OPERATIVA

Si è operato come descritto nel foglio allegato al kit seguendo la procedura qualitativa non strumentale. Nel foglio sono pure riportate la procedura qualitativa strumentale e la procedura quantitativa.

In sintesi:

- A) aggiungere 10 μ l di urina non concentrata a 250 μ l di ciascuno dei reagenti per cui si intende testare il campione, per es.: reagente catene leggere libere kappa e reagente catene leggere libere lambda.
- B) lasciare incubare per 60 minuti.
- C) osservare la torbidità rispetto al bianco-campione e al bianco-reagente utilizzando una opportuna illuminazione, possibilmente una lampada alogena.
- D) per tutti i campioni sono stati aggiunti alla miscela di cui al punto A) altri 40 μ l di urina.
- E) lasciare incubare per altri 60 minuti.
- F) leggere come al punto C).

Nel kit sono compresi due controlli liofilizzati costituiti da urine contenenti catene leggere libere rispettivamente kappa e lambda in concentrazione nota (circa 4mg/dl nelle condizioni di diluizione raccomandate dal produttore). È opportuno utilizzare tali controlli in ogni seduta.

RISULTATI - COMMENTI

I risultati sono sinteticamente riportati nelle Tabelle.

L'elettroforesi delle proteine urinarie è stata considerata negativa nei casi in cui non vi era il ragionevole sospetto della presenza di gradiente monoclonale; nella maggior parte dei casi non era presente alcuna banda o era presente solo albumina.

A) Casistica A**Tabella 1.**

Casistica: A							
Gradienti monoclonali nel siero e catene leggere nelle urine							
Valori assoluti							
Siero		Urine concentrate 25 volte				Ur. non concentrate	
Elett.	Gradienti Monoclon.	Elett.	ImmunoFissazione (IFE)		ImmunoTurbidimet.		
(EF)	(GM)	+	catena pesante	catene leggere		catene leggere	
(EF)	(GM)	(EF)		totali	libere	totali	libere
1621	50	10	13	14	5	14	5

Tabella 2.

Casistica: A							
Gradienti monoclonali nel siero e catene leggere nelle urine							
Valori percentuali della Tabella 1							
Siero		Urine concentrate 25 volte				Ur. non concentrate	
Elett.	Gradienti Monoclon.	Elett.	ImmunoFissazione (IFE)		ImmunoTurbidimet.		
(EF)	(GM)	+	catena pesante	catene leggere		catene leggere	
(EF)	(GM)	(EF)		totali	libere	totali	libere
100	3,08 100	0,62 20	0,80 26	0,86 28	0,30 10	0,86 28	0,30 10

Tabella 3.

Casistica: A							
Gradienti monoclonali nel siero e catene leggere nelle urine - Dati disaggregati; riferimento tipo di gradiente monoclonale nel siero							
Gruppi di casi	Siero	Urine concentrate 25 volte				Ur. non concentrate	
	Gradienti Monoclon.	Elett.	ImmunoFissazione (IFE)		ImmunoTurbidimet.		
	(IFE)	+	catena pesante	catene leggere		catene leggere	
(IFE)	(EF)	totali		libere	totali	libere	
3.a	21 IgG-k	—	—	—	—	—	—
3.b	6 IgG-k	5	6gamma	6kappa	—	6kappa	—
3.c	3 IgG-k	2	3gamma	3kappa	3kappa	3kappa	3kappa
3.d	3 IgG-l	—	—	—	—	—	—
3.e	2 IgG-l	2	2gamma	2lambda	—	2lambda	—
* 3.f	1 IgG-k + IgG-l	—	1gamma	1kappa + lambda	1kappa + lambda	1kappa + lambda	1kappa + lambda
3.g	1 IgA-k	—	—	—	—	—	—
3.h	3 IgA-l	—	—	—	—	—	—
3.i	6 IgM-k	—	—	—	—	—	—
3.l	1 IgM-k	—	1 mu	1kappa	—	1kappa	—
3.m	1 IgM-l	—	—	—	—	—	—
3.n	1 IgD-l	—	—	—	—	—	—
3.o	1 kappa	1	—	1kappa	1kappa	1kappa	1kappa

La percentuale di gradienti monoclonali riscontrati rispetto al totale delle elettroforesi eseguite 3,08% è analoga a quella comunemente stimata.

La percentuale delle urine positive all'immunofissazione con antisieri anti catene leggere libere & legate è risultata essere del 28% rispetto al totale dei gradienti monoclonali del siero.

Tale percentuale è analoga a quella comunemente riportata a proposito della positività della proteinuria di Bence Jones rispetto ai gradienti monoclonali sierici.

Le urine positive all'immunofissazione con antisieri anti catene leggere libere costituiscono il 10% rispetto al totale dei gradienti monoclonali sierici.

L'immunofissazione e l'immunoturbidimetria hanno dato risultati sovrapponibili in tutti i casi.

L'elettroforesi delle urine concentrate 25 volte si è dimostrata meno efficace dell'immunofissazione e dell'immunoturbidimetria.

La disaggregazione dimostra in particolare che in due casi positivi per le catene leggere libere sia all'immunofissazione sia all'immunoturbidimetria l'elettroforesi è risultata negativa.

Caso notevole: Tabella 3, caso 3.f. - Figura 1
Paziente esterno, maschio, anni 56.

Elettroforesi sieroproteine: Gradiente monoclonale.

Immunofissazione siero: gamma2 kappa2, gamma2 lambda2.

catene leggere libere: non dimostrabili.

Elettroforesi proteine urinarie: nulla da segnalare.

Immunofissazione urine: 2 bande gamma, 3 bande kappa totale e 3 lambda, 3 bande kappa libere e 2 lambda libere.

Immunoturbidimetria: vedi tabella.

B) Casistica B

Tabella 4.

Casistica: B Screening catene leggere urine per contrastografia Valori assoluti							
Totale Urine	Ur. non concentrate		Urine concentrate 25 volte				Siero
	ImmunoTurbidimet.		Elett. + (EF)	ImmunoFissazione (IFE)			Gradienti Monoclon. (IFE)
	catene leggere			catena pesante	catene leggere		
libere	totali		totali		libere		
1136	19	19	13	7	19	19	16

La percentuale di urine con catene leggere libere è stata pari al 1,67% del campione esaminato ed è inaspettatamente elevata.

L'immunoturbidimetria e l'immunofissazione hanno dato risultati sovrapponibili in tutti i casi.

L'elettroforesi delle urine si è dimostrata nettamente meno sensibile.

Nella disaggregazione è da notare che tre campioni con catene leggere libere tipo kappa non presentano anomalie all'elettroforesi e all'immunofissazione del siero.

Tabella 5.

Casistica: B Screening catene leggere urine per contrastografia Valori percentuali della Tabella 4							
Totale urine	Ur. non concentrate		Urine concentrate 25 volte				Siero
	ImmunoTurbidimet.		Elett. + (EF)	ImmunoFissazione (IFE)			Gradienti Monoclon. (IFE)
	catene leggere			catena pesante	catene leggere		
libere	totali		totali		libere		
100	1,67 100	1,67 100	1,14 68,42	0,62 36,84	1,67 100	1,67 100	1,40 84,21

Tabella 6.

Casistica: B Screening catene leggere urine per contrastografia Dati disaggregati							
Gruppi di Casi	Ur. non concentrate		Urine concentrate 25 volte				Siero
	ImmunoTurbidimet.		Elett. + (EF)	ImmunoFissazione (IFE)			Gradienti Monoclon. (IFE)
	catene leggere			catena pesante	catene leggere		
libere	totali		totali		libere		
6.a	3kappa	3kappa	1	—	3kappa	3kappa	—
6.b	1kappa	1kappa	1	—	1kappa	1kappa	1kappa
6.c	2kappa	2kappa	2	2gamma	2kappa	2kappa	2 IgG-k
6.d	2kappa	2kappa	1	—	2kappa	2kappa	2 IgG-k
6.e	1kappa	1kappa	1	—	1kappa	1kappa	1 IgM-k
* 6.f	1lambda	1lambda	—	—	1lambda	1lambda	1lambda
6.g	2lambda	2lambda	2	2gamma	2lambda	2lambda	2 IgG-l
6.h	1lambda	1lambda + kappa	1	1 — gamma	1lambda + kappa	1lambda	1 IgG-k
6.i	1lambda	1lambda	1	—	1lambda	1lambda	1lambda + IgG-k + IgG-l
6.l	1lambda	1lambda	1	1alfa	1lambda	1lambda	1 IgA-l
6.m	2kappa + lambda	2kappa + lambda	1	—	2kappa + lambda	2kappa + lambda	2 IgG-k + kappa
6.n	1kappa + lambda	1kappa + lambda	1	1gamma	1kappa + lambda	1kappa + lambda	1 IgG-k + IgG-l
* 6.o	1kappa + lambda	1kappa + lambda	—	—	1kappa + lambda	1kappa + lambda	1 IgG-k + IgG-l + lambda

Casi notevoli:

Tabella 6, caso 6.f - Figura 2.

Paziente maschio, anni 80.

Motivo del ricovero: trauma cranico.

Si noti che l'elettroforesi del siero evidenzia una banda in posizione transferrinica che difficilmente sarebbe stata identificata come gradiente monoclonale.

Tabella 6, caso 6.o - Figura 3.

Paziente femmina, anni 79.

Motivo del ricovero: emiparesi sinistra.

Diagnosi (TAC senza contrasto): lesione calcifica parietale destra inoperabile.

CONCLUSIONI

A) *L'esame dei risultati della casistica A) evidenzia che:*

A.1) Almeno nell'ambito della casistica esaminata il metodo ImmunoTurbidimetrico non ha dato risultati diversi da quelli dell'ImmunoFissazione che è stato considerato metodo di riferimento.

Pertanto, immunofissazione e ImmunoTurbidimetria hanno dimostrato pari efficacia.

A.2) Teoricamente non è escluso che utilizzando antisieri di diversi produttori per l'immunofissazione e l'immunoturbidimetria si possano a volte ottenere risultati non sovrapponibili.

A.3) L'elettroforesi delle urine concentrate 25 volte ha mostrato minore efficacia rispetto all'ImmunoTurbidimetria e all'ImmunoFissazione.

A.4) Indiscutibile la migliore efficienza dell'ImmunoTurbidimetria rispetto all'elettroforesi delle urine concentrate e all'immunofissazione.

È possibile concludere che il metodo ImmunoTurbidimetrico per la determinazione delle catene leggere nelle urine può essere utilizzato nel caso di pazienti con gradiente monoclonale all'elettroforesi delle sieroproteine come test di screening a cui far seguire sui positivi l'ImmunoFissazione.

Ciò comporta un notevole snellimento nella routine senza perdita di sensibilità.

B) *L'esame dei risultati della casistica B) evidenzia che:*

B.1) L'ImmunoTurbidimetria ha dimostrato efficacia pari all'ImmunoFissazione.

B.2) L'elettroforesi delle urine concentrate 25 volte ha mostrato efficacia nettamente inferiore a quella dell'ImmunoTurbidimetria e dell'ImmunoFissazione.

B.3) Indiscutibile la migliore efficienza dell'ImmunoTurbidimetria rispetto all'elettroforesi delle urine concentrate e all'immunofissazione.

È possibile concludere che il metodo proposto è consigliabile nello screening routinario dei pazienti per cui è prevista indagine contrastografica data l'ottima affidabilità e percorribilità.

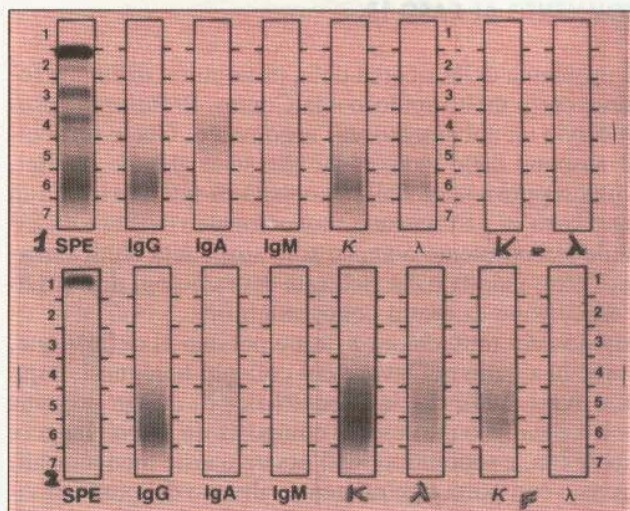


Fig. 1.

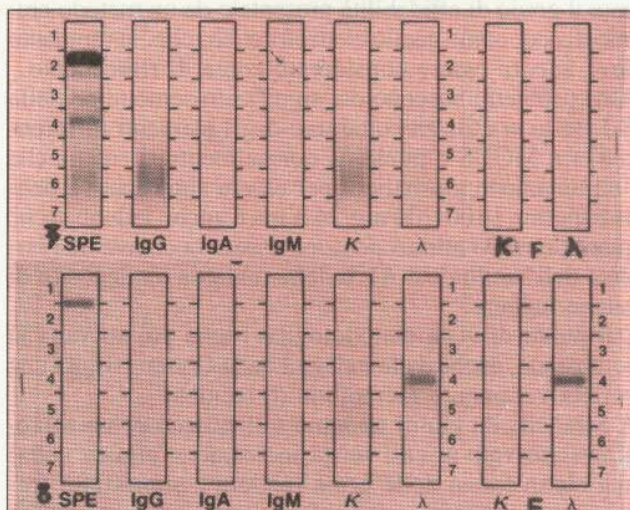


Fig. 2.

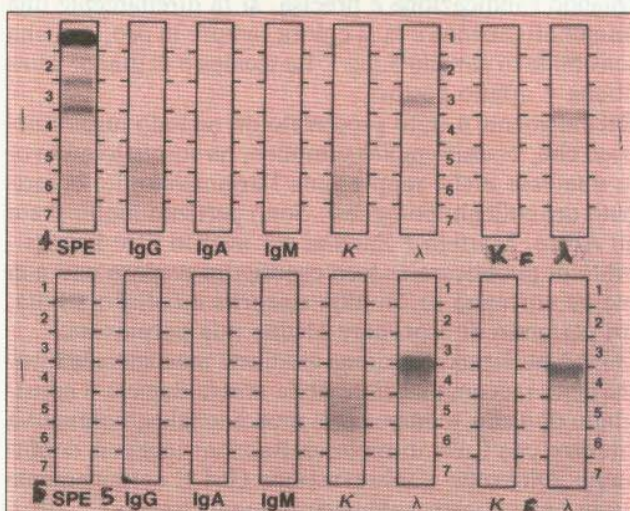


Fig. 3.

COMMENTO AL CASO 15

Il problema della ricerca della proteinuria di Bence Jones è certo molto spinoso e la Comm. Proteine sta producendo un documento sull'argomento. Già le difficoltà nascono dalle indicazioni che sono almeno duplici, l'una rappresentata dalla necessità di questa ricerca in ogni caso di gammapatia monoclonale rilevata alla EF delle sieroproteine o anche solo sospettata clinicamente, l'altra indotta dalla richiesta dei radiologi prima dell'esecuzione di esami contrastografici.

Ma non del tutto chiara a tutti è persino la definizione, come ben detto nel lavoro dei colleghi bolognesi, e qui non avrei dubbi che la caratteristica di questa proteina non è data solo dall'essere composta da catene leggere libere ma, e soprattutto, dall'essere queste monoclonali. Questo comporta naturalmente, almeno dal punto di vista concettuale, alcune conseguenze fra cui la principale è che un metodo solo immunologico non può raggiungere il grado di affidabilità presentato da un metodo chimico-fisico, come quello elettroforetico, che, al momento deve ancora essere considerato come di riferimento. Altri problemi nascono dal significato semeiotico della B J, se la si utilizza come uno degli elementi differenziali fra MGUS e mieloma normalmente si ritiene che l'eliminazione giornaliera per essere significativa debba superare i 100/200 mg/24 h ma è anche indubbio che quantità molto minori possono essere la chiave diagnostica dell'amiloidosi AL e della malattia da deposito di catene leggere.

Dal punto di vista metodologico regna poi sovrana la confusione, anche dalle indagini della Comm. risulta una varietà veramente incredibile di tecniche.

A Stradella da più di un anno utilizziamo come screening (riservato ai casi senza indicazione clinica netta) una elettroforesi delle urine random e soprattutto fresche non concentrate con colorazione ad alta sensibilità (oro colloidale) con una sensibilità di circa 10-20 mg/l. Quando l'indicazione è precisa, si fa direttamente una immunofissazione e la si colora sempre in oro, con una sensibilità di almeno 5 mg/l. La tecnica è di grande semplicità e affatto costosa.

Recentemente è stato presentato un metodo turbidimetrico che, essendo molto semplice, ha suscitato notevole interesse e che rappresenta l'argomento del contributo dei colleghi bolognesi. Sono pertanto molto grato ad Abate, Martelli e Zannini per avermi dato la possibilità di pubblicare le loro esperienze e spero che non me ne vorranno se, in tutta sincerità e collaboratività, mi permetto di esprimere alcune mie perplessità.

Gli AA utilizzano il termine gradiente monoclonale mentre nelle raccomandazioni della nostra Società è consigliato di usare «componente monoclonale», continuo a ritenere che l'uso di molte definizioni ingeneri confusione. Oltretutto l'abbreviazione GM È comunemente usata per indicare gammapatia monoclonale.

Per quanto è della oligoclonalità, l'aggettivo corrispon-

dente dovrebbe riferirsi alla presenza di più bande e non alla presenza di una piccola banda come sembra potersi ipotizzare dal suo uso al singolare.

Non viene detto nulla sulle caratteristiche delle popolazioni delle due casistiche che sembrano essere sostanzialmente differenti per la frequenza delle CM (30.8/1000 in A e 14.1/1000 in B) e soprattutto per quella delle B J, maggiore nella B (3/1000 e 16.7/1000). Naturalmente occorre anche considerare come è stata raccolta la casistica, nel gruppo A si sono esaminate le urine dei pazienti che presentavano una CM, nel B il procedimento è invertito, questo può ben spiegare la minore frequenza delle CM, ma lascia sempre impressionante la frequenza di B J. Questo potrebbe indurre a considerare l'opportunità di una ricerca di questo dato molto più estesa dell'attuale.

Nel lavoro manca una ricerca direttamente volta a investigare la sensibilità del metodo in tutte le condizioni, ossia se ci viene detto che tutti i positivi sono stati confermati alla IFE, non sappiamo quante e quali urine positive sono risultate negative. È ben possibile e naturalmente sarebbe anche augurabile che così fosse, ma ritengo che sia assolutamente necessario che questo venga verificato.

D'altra parte la sensibilità dichiarata è attorno a 50 mg/l e, siccome nella nostra esperienza è tutt'altro che raro riscontrare concentrazioni minori, risulterebbe che la frequenza reale dovrebbe essere ancora maggiore!

Infine, per quanto riguarda le considerazioni sulle percentuali (circa il 20% dei mielomi sono dei micromolecolari, almeno il 60% dei mielomi non micromolecolari presentano B J) occorre considerare che essi sono per lo più basati su statistiche americane, ossia di un paese in cui raramente vengono rilevate le piccole CM. Quando questo avviene la frequenza è sicuramente minore.

Confido che altri colleghi vorranno comunicare le esperienze ottenute con questa metodica, anche se basate su casistiche modeste.

F. Aguzzi

BIBLIOGRAFIA

1. F. Aguzzi e altri. L'elettroforesi delle sieroproteine 1 Raccomandazione provvisoria SIBioC. *Biochimica Clinica*, **9**, 1985.
2. F. Aguzzi e altri. L'elettroforesi delle sieroproteine 2 Raccomandazione provvisoria SIBioC. *Biochimica Clinica*, **9**, 1985.
3. G. Merlini, F. Aguzzi. Le componenti monoclonali; raccomandazione provvisoria SIBioC. *Biochimica Clinica*, **10**, 1986.
4. L. Massaro. Metodo per la determinazione di catene leggere libere in campioni di urina, complesso di preparati per l'esecuzione del metodo, e relativo reagente. Brevetto depositato.

AZIENDE CITATE

- a) Chemetron, Via G. Modena 24 - Milano; distribuito da: Labometrics, Via Varanini 8 - Milano.
- b) Beckman, Via Lario 12 - Milano.
- c) New Scientific Company, Via Po 77 - Cormano (Mi).
- d) Amicon-Grace Italiana, Via Trento 7 - Passirana di Rho (Mi).