

Análisis interlaboratorio de parámetros inmunoquímicos, paraproteínas y bandas oligoclonales. Informe técnico del IV Taller de Inmunoquímica de la Sociedad Española de Inmunología

Luisa María Villar Guimerans^{1*}, Juan José Rodríguez Molina^{2*}, Cándido Juárez Rubio^{3*},
Grupo de Trabajo de Inmunoquímica^{4*} del Taller SEI 2005, y Julia Sequí Navarro^{5*}

¹Servicio de Inmunología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid. ²Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid. ³Servicio de Inmunología, Hospital de Sant Pau, Barcelona. ⁴Grupo de Trabajo de Inmunoquímica: Ángel León Lara; Aurora Jurado Roger; Nieves Fernández Arcas; Antonio Alonso Ortiz; Marcos López Hoyos; Montserrat Alsina Donadeu; Cándido Juárez Rubio; Eva M^a Martínez Cáceres; María José Amengual Guedan; María José Rodrigo Anoro; Jordi Yagüe; Luisa M^a Villar Guimerans; Pedro González Porqué; Pilar Varela Peña; Luis Allende Martínez; Julia Sequí Navarro; María José Sentchordi Izquierdo; Luis Montesano Sánchez; Carmen Jiménez Garófano; Cecilia Muñoz Calleja; Margarita López Trascasa; Juan José Rodríguez Molina; Joaquín Navarro Caspistegui; Rosa García Delgado; Carmen Cámara Hijón; Luis Fernández Pereira; Pilar Sánchez Mozo; Joana Ferrer Balaguer; Inmaculada Alarcón Torres; Rocío Álvarez López; María Montes Casado. ⁵Servicio de Inmunología, Hospital Carlos III, Madrid.
*Coordinadores. Taller SEI, Córdoba. Mayo 2005.

REPORT OF THE IV WORKSHOP ON IMMUNOCHEMISTRY OF THE SPANISH SOCIETY OF IMMUNOLOGY

Recibido: 15 Junio 2009

Aceptado: 2 Julio 2009

RESUMEN

Objetivo: El IV Taller de Inmunoquímica, auspiciado por la Sociedad Española de Inmunología, consistió en la realización de una serie de comparaciones interlaboratorio para evaluar la homogeneidad de los métodos analíticos en Inmunoquímica (IQ). El objetivo de los Talleres de IQ es desarrollar herramientas de control de calidad y guías de trabajo que permitan estandarizar los distintos procedimientos analíticos, empleados en el diagnóstico clínico.

Métodos: En el Taller 2005, en 21 laboratorios se valoraron los parámetros IQ: Inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM, total IgE, cadenas ligeras κ y λ , C3, C4, FR, PCR y ASLO en muestras de Controles Comerciales. También se analizaron las paraproteínas en muestras de suero y orina y por vez primera se incorporó el estudio de bandas oligoclonales en líquido cefalorraquídeo y suero homólogo; todos ellos se evaluaron con los métodos habituales de diagnóstico clínico y los resultados se remitieron a los coordinadores del Taller, que presentaron los resultados en el XXXI Congreso de la SEI.

Resultados: En el estudio de todos los parámetros IQ estandarizados por la IFCC se encontró elevada homogeneidad, lo cual demuestra la utilidad de la normalización por Organismos Internacionales. Los parámetros IFCC muestran la utilidad de la estandarización. Los resultados relativos a parámetros analíticos no estandarizados por la IFCC mostraron una mayor heterogeneidad. El estudio interlaboratorio de las paraproteínas reveló un

alto grado de consenso, aunque en los especímenes con una menor incidencia clínica disminuye. En los estudios de las bandas oligoclonales los ocho laboratorios mostraron resultados concordantes.

Conclusiones: Los estudios interlaboratorio son útiles para estandarizar los métodos analíticos entre distintos laboratorios. Este estudio demuestra la utilidad de los procedimientos de normalización por Organismos Internacionales y la necesidad de los controles de calidad, evaluación de los suministradores y la elaboración de procedimientos de consenso en los grupos de trabajo.

PALABRAS CLAVE: Proteínas séricas/ Inmunoquímica/ Paraproteínas/ Bandas Oligoclonales en LCR.

ABSTRACT

Objective: The IV Immunochemistry Workshop supported by the "Sociedad Española de Inmunología" (SEI), consisted in a series of interlaboratory comparative studies to evaluate the homogeneity of the analytic methods in immunochemistry. The objective was to develop quality control tools to standardise diagnostic analytic procedures.

Methods: 21 centres have participated in the Workshop. It comprised the quantification of IgG, IgA, IgM, and total IgE κ and λ light chain Immunoglobulin; Complement C3 and C4; Rheumatoid Factor (RF); C-reactive protein (CRP), and Antistreptolysin O (ASL) in commercial control serum

samples. Monoclonal immunoglobulins present in serum and urine samples were also characterized. For the first time, the study of LCR oligoclonal bands in the serum and cerebrospinal fluid was incorporated. The study was performed using the routine methods currently used in each laboratory. The participant laboratories sent the records of the results to the workshop coordinators that proceeded to analyse them. Conclusions were presented at the XXXI Congress of the SEI.

Results: Analytical parameters standardised by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) showed a good homogeneity. Analytical parameters not standardised by IFCC showed higher heterogeneity. The identification of the monoclonal proteins in serum and urine was highly homogeneous. The quantitative results of monoclonal isotypes were more heterogeneous than those of polyclonal immunoglobulins. The results on oligoclonal bands reported in serum and cerebrospinal fluid were homogeneous.

Conclusions: Comparative studies are very useful to investigate the homogeneity among different laboratories. These results demonstrate the utility of standardization procedures developed by International Organizations, but also the need of quality controls, the evaluation of suppliers, and the elaboration of consensus working procedures.

KEY WORDS: Serum Proteins/ Immunochemistry/ Paraproteins/ C.R.F Oligoclonal Bands.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de los Talleres que se desarrollan por la Sociedad Española de Inmunología (SEI; www.inmunologia.org) es, mediante el intercambio de muestras, poner a disposición de los laboratorios asociados herramientas para el asegurar la calidad de los laboratorios analíticos, como un elemento valioso de comparación, dentro del proceso de estandarización. El IV Taller de Inmunología (IQ), se ha desarrollado en el ámbito del XXXI Congreso de la SEI (Córdoba, 2005).

En el laboratorio diagnóstico, algunos de los problemas más comunes son la disparidad entre especímenes idénticos valorados con distintos procedimientos analíticos y la definición de intervalos de confianza en los diversos biomarcadores, ya que un trabajo inadecuado puede originar errores en la interpretación de los resultados que pueden tener consecuencias en la práctica médica.

En esta línea, la SEI lleva varios años realizando Talleres en las distintas disciplinas de la Inmunología: Histocompatibilidad, Autoinmunidad, Inmunidad Celular e Inmunología. En la misma línea trabajan organismos internacionales: WHO (World Health Organization, www.who.int); FDA, (U.S. Food and Drug Administration, www.fda.gov); AACC (American Association for Clinical Chemistry; www.clinihem.org); CAP (College of American Pathologists, www.cap.org); FOCIS (Federation of Clinical Immunology Societies, www.focisnet.org); AOAC (Association of Official Analytical Chemistry, www.aoac.org) e instituciones internacionales de estandarización y metrología como la ISO (International Organization for Standardization, www.iso.org); EPTIS (European information System on

Proficiency Testing Schemes, www.eptis.bam.de); IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, www.ifcc.org); NIST (National Institute of Standards and Technology, www.nist.gov); IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements, www.irmm.jrc.be); BCR (Community Bureau of Reference, www.rsc.org); CLSI/NCCLS, (Clinical and Laboratory Standards Institute, <http://www.techstreet.com/info/clsi.tmpl>) así como los organismos nacionales ENAC (Entidad Nacional de Acreditación, www.enac.es) y AENOR (Asociación Española De Normalización y Certificación, www.aenor.es) y las múltiples Sociedades Científicas que colaboran en mantener la excelencia en las áreas de la Inmunología clínica. En todos se aplican los procedimientos del ICRMP, International Conventional Reference Measurement Procedure del International System (SI).

Al objeto de minimizar las diferencias en los procedimientos relativos a determinados parámetros analíticos, la International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) desarrolló un nuevo estándar compartido por los fabricantes de reactivos y material de control de calidad que es aplicable a una serie de 14 parámetros analíticos, en el ámbito de la Inmunología y Bioquímica Clínica (1). En el año 2008, el Institute for Reference Materials and Measurements, (IRMM) certificó un nuevo suero humano, (material de referencia ERM/IFCC-DA470K) que valora 12 proteínas en suero humano⁽²⁾, semejante a la muestra original de la IFCC.

El grupo de IQ de la SEI comenzó la realización de los Talleres en el año 2002, habiéndose publicado los resultados del III Taller⁽³⁾, y presentándose comunicaciones del III, IV Taller⁽⁴⁾ y V Taller-2006⁽⁵⁾ en formato póster, que ayudan a consolidar los objetivos iniciales del grupo. En nuestro anterior trabajo⁽³⁾ los laboratorios españoles demostraron una elevada homogeneidad en el estudio de los parámetros IQ y de las paraproteínas. A raíz de aquella publicación se planteó abordar el estudio de parámetros IFCC y no IFCC, junto con el análisis de las casas comerciales con las cuales trabajan habitualmente los participantes en el Taller. También quisimos conocer nuestra resolución en el estudio de paraproteínas poco frecuentes, y por vez primera abordamos los requisitos óptimos para el análisis de bandas oligoclonales (BOC) en líquido cefalorraquídeo (LCR), definidos en laboratorios de centros hospitalarios con experiencia demostrada, no desarrollados en anteriores Talleres.

En el Taller 2005, se han cuantificado los siguientes parámetros IQ: Inmunoglobulinas (Igs) IgG, IgA, IgM; factores del complemento C3 y C4, los reactantes séricos de fase aguda factor reumatoide (FR), proteína C reactiva (PCR) y antiestreptolisina O (ASLO), e IgE total en muestras de

controles comerciales de referencia (CC). Se buscaron posibles diferencias entre los parámetros estandarizados por la IFCC y aquellos que no lo están. En una segunda prueba, se evaluó la presencia de paraproteínas o componentes monoclonales (CM) en muestras de sueros y orinas. En el tercer ejercicio se analizaron las bandas oligoclonales en muestras pareadas de LCR y suero homólogo. Los laboratorios participantes realizaron todas las determinaciones del Taller 2005 con los métodos analíticos habituales en la práctica clínica.

En las determinaciones cuantitativas se realizó un estudio estadístico de los resultados remitidos por los responsables de los centros participantes, correspondientes a cada una de las muestras y de los parámetros analizados. En todos ellos se evaluó el porcentaje del coeficiente de variación (% CV), medida muy útil para valorar la homogeneidad de los resultados analíticos. En los parámetros con mayor dispersión se aplicó la prueba estadística de Grubbs, que elimina los resultados extremos, y se calculó el % CV estadísticamente modificado^(6,7).

Los coordinadores del IV Taller prepararon y distribuyeron las muestras biológicas correspondientes a los CC, los sueros, las orinas y los LCR, de acuerdo con los ejercicios de intercambio propuestos. Una vez estudiadas las muestras, los laboratorios remitieron sus resultados a los coordinadores del estudio, que tras su análisis estadístico, los presentaron en el XXXI Congreso de la SEI celebrado en Córdoba del 10 al 13 de mayo de 2005. En la presente publicación se describen los resultados de los distintas pruebas interlaboratorios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Laboratorios participantes y responsables del Taller 2005

En los ejercicios participaron 22 laboratorios, actuando cuatro de ellos como coordinadores. Todos los laboratorios recibieron las muestras con los códigos definidos para cada ejercicio y remitieron sus resultados a los coordinadores. La información se devolvió junto con un número de identificación propio del laboratorio, lo que permitió valorar de manera confidencial e individual sus datos, respecto al conjunto de los participantes en los ejercicios.

Listado de responsables y laboratorios participantes

Se indican a continuación todos los laboratorios participantes en el Taller 2005, ordenados por el orden alfabético de las Comunidades autónomas de Andalucía, Cantabria, Cataluña, Comunidad de Madrid, Extremadura, Galicia, Islas Baleares, Islas Canarias y Región de Murcia, junto con los nombres, correo electrónico de los profesionales responsables del Taller pertenecientes a sus respectivos centros y servicios hospitalarios.

Andalucía

1. Ángel León Lara: aleon@aehh.org
Aurora Jurado Roger: aurora.jurado.sspa@juntadeandalucia.es
Servicio de Hematología. Hospital del Servicio Andaluz de Salud (SAS). Carretera de Circunvalación s/n.11407. Jerez de la Frontera.
2. Nieves Fernández Arcas: nieves.Fernández.sspa@juntadeandalucia.es
Antonio Alonso Ortiz.
Servicio Inmunología. Hospital "Carlos Haya". Málaga.

Cantabria

3. Marcos López Hoyos: inmlhm@humv.es .
Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Cataluña

4. Montserrat Alsina Donadeu: malsina@egarlab.com
Hospital Mutua de Terrassa. Terrassa. Barcelona.
5. Cándido Juárez Rubio: cjuarez@hsp.santpau.es
Inmunología. Hospital de Sant Pau. Barcelona.
6. Eva M^a Martínez Cáceres: evammc@ns.hugtip.scs.es
Inmunología. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.
7. María José Amengual Guedan: mjamengual@csp.es
UDIAT-CD. Corporació Sanitaria Parc Taulí. Sabadell. Barcelona.
8. María José Rodrigo Anoro: mjrodrigo@vhebron.net
Inmunología. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona
9. Jordi Yagüe: JYAGUE@clinic.ub.es
Servicio de Inmunología. Hospital Clínic. Barcelona.

Comunidad de Madrid

10. Luisa M^a Villar Guimerans: lvillar.hrc@salud.madrid.org
Pedro González Porqué: pgonzalez.hrc@salud.madrid.org
Servicio de Inmunología Hospital Ramón y Cajal. Madrid.
11. Pilar Varela Peña: pvarela@h12o.es
Luis Allende Martínez
Inmunología. Hospital 12 de Octubre. Madrid.
12. Julia Sequí Navarro: jsequi.hcii@salud.madrid.org (Inmunología)
M^a José Sentchordi Izquierdo y Luis Montesano Sánchez (Bioquímica)
Hospital Carlos III. Madrid.
13. Carmen Jiménez Garófano: mjimgar@oc.mde.es
Inmunología. Hospital Central de la Defensa. Madrid.
14. Cecilia Muñoz Calleja: cmunoz.hlpr@salud.madrid.org
Servicio de Inmunología. Hospital de la Princesa. Madrid.
15. Margarita López Trascasa: mlopeztrascasa.hulp@salud.madrid.org
Servicio de Inmunología. Hospital Universitario "La Paz". Madrid.
16. Juan José Rodríguez Molina: jrodriguezmo.hgugm@salud.madrid.org
Joaquín Navarro Caspistegui: jnavarro.hgugm@salud.madrid.org
Servicio de Inmunología. Hospital General Universitario "Gregorio Marañón". Madrid.
17. Rosa García Delgado: RGarcia@fjd.es
Servicio de Inmunología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Extremadura

18. Carmen Cámara Hijón
Luis Fernández Pereira: kkk3@hotmail.com
Inmunología (Laboratório de Análisis Clínicos). Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres.

Galicia

19. Pilar Sanchez Mozo: smozo@canalejo.org
Laboratorio de Inmunología. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. La Coruña.

Islas Baleares

20. Joana Ferrer Balaguer: jferrer@hsd.es; joanaf@arrakis.es.
Inmunología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. Baleares.

Islas Canarias

21. Inmaculada Alarcón Torres: ialator@gobiernodecanarias.org
Servicio Análisis Clínicos. Hospital de Gran Canaria "Dr. Negrín". Las Palmas Gran Canaria.

Región de Murcia

22. Rocío Álvarez López: mdrocio.alvarez@carm.es
María Montes Casado: m.montescasado@terra.es
Servicio de Inmunología Hospital Virgen Arrixaca. Murcia.

Coordinadores del IV Taller de IQ.

- Juan José Rodríguez Molina. Inmunología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.
Julia Sequí Navarro. Inmunología. Hospital Carlos III. Madrid.
Luisa María Villar Guimerans. Inmunología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.
Cándido Juárez Rubio. Inmunología. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Metodología del Taller 2005

Se realizaron por los laboratorios participantes tres ejercicios (mencionados en el texto como A, B y C). En la Tabla I se describen todas las muestras estudiadas. En el primer ejercicio (A: A1, A2, A3) se estudió la cuantificación de parámetros básicos en el campo de la IQ, agrupados en tres bloques de analitos. En el ejercicio A1, se cuantificaron en cuatro muestras de suero de Controles Comerciales de Referencia (CCA1) las Igs (IgG, IgA, IgM) y los factores del complemento C3 y C4. En el ejercicio A2, se cuantificaron en tres muestras de suero de Controles Comerciales de Referencia (CCA2) el factor reumatoide (FR), la proteína C reactiva (PCR) y la antiestreptolisina O (ASLO); en el ejercicio A3, se cuantificó la IgE total en tres muestras de suero de Controles Comerciales de Referencia (CCA3).

El segundo ejercicio (B: B1 y B2) consistió en el estudio de las paraproteínas presentes en cinco muestras de suero (Ejercicio B1) y en el análisis de las Proteínas de Bence Jones (PBJ) en cuatro muestras de orina (Ejercicio B2). En todas ellas se realizó el análisis inmunoeléctroforético y la cuantificación de las Igs y/o las cadenas ligeras (CL).

En el Taller 2005 se aborda, por primera vez, la caracterización de Bandas oligoclonales (BOC) en tres muestras de LCR y los sueros homólogos (Ejercicio C).

Muestras de los ejercicios interlaboratorio.**Procedencia de las muestras**

En la Tabla I se describe la procedencia y las determinaciones realizadas en todas las muestras valoradas en el Taller 2005. En el análisis de los parámetros IQ, correspondientes a los ejercicios A1, A2 y A3, las muestras procedían de controles comerciales (CC). Dichos controles habían sido estandarizados por las propias compañías a partir de materiales de referencias primarios de parámetros homologados, en su mayoría, por la IFCC (IgG, IgA, IgM, C3, C4, PCR) y parámetros no-IFCC (FR, ASLO, IgE total). Los CC fueron aportados por las compañías IZASA SA, Dade-Behring, VITRO SA y Pharmacia Diagnostic.

El estudio de las paraproteínas séricas (Ejercicio B1), se realizó en cinco muestras de suero obtenidos de las serotecas de los Servicios de Inmunología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM), del Hospital Carlos III de Madrid y del Hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia. El análisis de las Proteínas de Bence Jones (PBJ) en las muestras de orina (Ejercicio B2), se llevó a cabo en tres especímenes facilitados por el Servicio de Inmunología del HGUGM. La identificación de bandas oligoclonales (BOC, Ejercicio C), se realizó en tres muestras pareadas de LCR y suero procedentes del Servicio de Inmunología del Hospital Ramón y Cajal de Madrid.

Preparación y distribución de las muestras

Las muestras de estudio de los parámetros de IQ (Ejercicios A1, A2, A3) y de las paraproteínas (Ejercicios B1, B2), se procesaron y distribuyeron de forma centralizada desde el Servicio de Inmunología del HGUGM. Se añadió azida sódica (0,1%) a las muestras seleccionadas, que fueron numeradas, alicuotadas y etiquetadas con las referencias de Taller de IQ 2005, ejercicio y número de muestra correspondiente. Los paquetes de alícuotas de los ejercicios A y B se remitieron a los respectivos laboratorios a temperatura ambiente y de forma simultánea. Se enviaron a cada uno de los laboratorios participantes 10 alícuotas de CC, 5 de suero y 4 de orina. Las muestras alicuotadas para la caracterización de bandas oligoclonales en LCR y suero (Ejercicio C), se remitieron congeladas desde el Servicio de Inmunología del Hospital Ramón y Cajal y se identificaron de igual modo que las anteriores (año, ejercicio y número de muestra). Se enviaron de manera simultánea 3 alícuotas de LCR y los 3 sueros de los respectivos pacientes.

TABLA I. Descripción de ejercicios, muestras enviadas a los laboratorios y determinaciones realizadas en el IV Taller de Inmunología de la SEL.

Ejercicio/Parámetros	Tipo de Muestra(*)/ N° Identificación: Procedencia	Determinaciones realizadas (**)
A1. Cuantificación IgG, IgA, IgM, C3, C4 (Parámetros IFCC)	Control comercial (*1) 50101: Beckman 50102: Vitro 50103: Beckman diluido (95%) 50104: Dade-Behring	IgG, IgA, IgM, C3, C4 (23)
A2. Cuantificación FR, PCR (Parámetros IFCC) y ASLO	Control comercial (*1) 50201: Dade-Behring 50202: Beckman 50203: Vitro	FR (18) PCR (15) ASLO (10)
A3. IgE Total (Parámetro OMS)??	Control comercial (*1) 50301: Pharmacia 50302: Pharmacia 50303: Pharmacia	Cuantificación IgE (20)
B1. Estudio de paraproteínas séricas	Suero/Inmunología: Hospital (*2) 50401: Carlos III 50402: Gregorio Marañón 50403: Gregorio Marañón 50404: Carlos III 50405: Arrixaca	Análisis componente monoclonal Identificación cualitativa (21) Cuantificación IgG, IgA, IgM (18) Cuantificación CL κ y λ (7)
B2. Estudio de Paraproteínas en Orina Proteínas de Bence Jones.	Orina / Inmunología: Hospital (*3) 50501: Gregorio Marañón 50502: Gregorio Marañón 50503: Gregorio Marañón 50504: Gregorio Marañón	Análisis componente monoclonal Identificación cualitativa (20) Líquido cefalorraquídeo y Suero/ Inmunología: Hospital (*4) Cuantificación CL κ y λ (8)
C. Estudio de Bandas oligoclonales en Líquido cefalorraquídeo.	50601: Ramón y Cajal 50602: Ramón y Cajal 50603: Ramón y Cajal	Bandas oligoclonales en LCR (8) y Suero (SLCR) (8)

(*) Tipos de muestras enviadas: (*1) Pool de sueros de Controles comerciales (CC); (*2) Paraproteínas séricas; (*3) Proteína de Bence-Jones en orina; (*4) Muestras pareadas de LCR y suero. (**) Número de laboratorios participantes.

Descripción de las muestras

En la Tabla I se describen todas las muestras enviadas. Las muestras seleccionadas para cuantificar los parámetros IQ (Ejercicio A1): IgG, IgA, IgM, factores del complemento C3 y C4 (parámetros IFCC) consisten en CC secundarios codificados como 50101 (CC-Beckman); 50102 (CC-Vitro); 50103 (corresponde al CC 50101 de Beckman diluido al 95% en Solución Salina) y 50104 (CC- Dade-Behring). El diseño del par de muestras 50101 y 50103 obedecía al interés adicional de establecer un estudio de reproducibilidad intralaboratorio.

Las muestras enviadas para cuantificar los reactantes séricos (Ejercicio A2), PCR (Parámetro IFCC), FR (Parámetro

no-IFCC) y ASLO (Parámetro no-IFCC), consisten en CC codificados como 50201 (CC-Dade-Behring); 50202 (CC-Beckman) y 50203 (CC-Vitro). En la cuantificación de los niveles de IgE (Ejercicio A3, Parámetro IFCC), las muestras de los CC se identificaron como 50301, 50302 y 50303, todos ellos cedidos por los laboratorios Pharmacia Diagnostic.

Las cinco muestras de suero (Ejercicio B1), remitidas a los laboratorios para el estudio de paraproteínas séricas han sido codificadas como 50401 (Inmunología. Hospital Carlos III); 50402 (Inmunología. HGUGM); 50403 (Inmunología. HGUGM); 50404 (Inmunología. Hospital Carlos III) y 50405 (Inmunología. Hospital Virgen de la Arrixaca).

TABLA II. Cuantificación de parámetros inmunoquímicos. Descripción de los equipos, casas comerciales, métodos y parámetros estudiados en el Taller IQ 2005 (Ejercicios A1 y A2).

Método de estudio (Antisueros)	Equipo/Casa Comercial	Parámetros (*)
Nefelometría Punto final (Behringwerke)	BNII/Dade Behring	IgG, IgA, IgM (13) C3, C4 (13) FR (10) PCR (8) ASLO (4)
Nefelometría Cinética (Beckman Institute)	IMMAGE/Beckman-Coulter	IgG, IgA, IgM (7) C3, C4 (7) FR (6) PCR (5) ASLO (5)
Turbidimetría (Sistema)	Modular/Roche	IgG, IgA, IgM (2) C3, C4 (2) FR (2) PCR (2) ASLO (1)
Turbidimetría Olympus DACE	Olimp Turb	IgG, IgA, IgM (1) C3, C4 (1)

(*) Número de laboratorios participantes que realizan las determinaciones con los métodos y equipos reseñados.

TABLA III. Cuantificación de IgE total. Descripción de los métodos de análisis, equipos empleados y número de laboratorios participantes. Taller IQ 2005 (Ejercicio A3).

Métodos	Equipo (Casa comercial)	Nº de laboratorios
CAP	AUTOCAP / UNICAP (Farmacia)	8
Nefelometría Punto Final	BNII (Dade-Behring)	8
Enzima Inmunoensayo	Access (Beckman-Coulter)	1
Turbidimetría	Modular (Roche)	1
Quimioluminiscencia	Immulate/ Quimio (DPC)	2

Las muestras de orina (Ejercicio B1), fueron codificadas como 50501, 50502, 50503 y 50504; todas ellas procedían del Servicio de Inmunología del HGUGM.

Las muestras para el análisis de bandas oligoclonales en LCR (Ejercicio C), fueron remitidas con los códigos 50601-LCR1, 50602-LCR2 y 50603-LCR3 y los sueros respectivos SLCR1, SLCR2 y SLCR3, todas ellas procedentes del Servicio de Inmunología del Hospital Ramón y Cajal.

Análisis de las muestras

Los responsables de las áreas de IQ de los laboratorios participantes, a la recepción de las alícuotas, procedieron a realizar las determinaciones analíticas, constitutivas del

Taller 2005; según las condiciones establecidas en los procedimientos habituales del diagnóstico clínico (Tablas II, III, IV, V, VI y VII).

Métodos de estudio empleados en la cuantificación de los parámetros IQ: IgG, IgA, IgM, los factores del complemento C3, C4 y reactantes FR, PCR y ASLO (Ejercicios A1 y A2)

Los laboratorios realizaron las cuantificaciones de las Inmunoglobulinas (Igs) IgG, IgA, IgM, los factores del complemento C3 y C4 y los reactantes FR, PCR y ASLO en las muestras descritas en la Tabla I.

Se utilizaron los métodos de Nefelometría a Punto Final (NefPF) con los equipos BN II (Dade-Behring), los métodos

TABLA IV. Estudio de paraproteínas y proteínas de Bence Jones. Métodos de análisis inmunolectroforéticos y equipos empleados en el estudio cualitativo en el Taller IQ 2005.

Métodos	Equipo (Casa comercial)	Paraproteínas séricas (Ejercicio B1)	Proteínas de Bence Jones (Ejercicio B2)
		Número de laboratorios	Número de laboratorios
Inmunofijación	Hydrasis (Sebia)	16	14
Inmunofijación	Paragon (Beckman)	1	2
Inmunofijación	Agarosa (Helena)	2	3
Inmunolectroforesis	Manual	1	1
Electroforesis capilar inmunosustractiva	CZE/Hydrasis (Izasa/ Beckman/Coulter)	1	

TABLA V. Paraproteínas en muestras de sueros. Descripción de métodos, equipos, parámetros y número de laboratorios participantes en el estudio cuantitativo. Taller IQ 2005.

Técnica	Equipo(Casa comercial)/Antisueros	Parámetros	Laboratorios Participantes*
Nefelometría Punto Final	BNII (Dade-Behring)/Behringwerke	IgG, IgA, IgM	9
		CLT (κ y λ)	3
Nefelometría Cinética	IMMAGE (Beckman-Coulter)/Beckman Institute	IgG, IgA, IgM	7
		CLT (κ y λ)	3
Turbidimetría	Olimp Turb (Roche)/Sistema	IgG, IgA, IgM	2
		CLT (κ y λ)	1

*Número de laboratorios que emplean los equipos y reactivos.

de Nefelometría Cinética (NefC) con los equipos IMMAGE (Beckman/Coulter), y los métodos de Turbidimetría con los equipos Olympus Turb y Modular/Roche. Cada laboratorio utilizó su método habitual de trabajo, con los respectivos antisueros establecidos por los proveedores. Los métodos, equipos y antisueros empleados se describen en la Tabla II.

Estudio de la cuantificación de IgE total en muestras de controles comerciales (Ejercicio A3)

La cuantificación de IgE total (Ejercicio A3) se realizó en los tres CC descritos en la Tabla I. En el ejercicio participaron un total de 20 laboratorios. Los métodos, equipos y reactivos utilizados se muestran en la Tabla III.

Estudio de las paraproteínas en muestras séricas (Ejercicio B1)

El análisis de paraproteínas en las 5 muestras séricas del Ejercicio B1, consistió en la identificación del componente monoclonal (CM) y su análisis cualitativo.

La identificación de los CM fue realizada con los equipos descritos en la Tabla IV, participando 21 laboratorios. Se emplearon las técnicas siguientes: Inmunofijación (IF) (19 laboratorios), electroforesis capilar sustractiva (ECS) (1

laboratorio) e inmunolectroforesis (IEF) (1 laboratorio). Los antisueros empleados en el reconocimiento de las Igs y de las cadenas ligeras (CL), proceden de los respectivos proveedores del material técnico de los equipos.

El análisis cuantitativo de las paraproteínas séricas se llevó a cabo con los métodos, equipos y antisueros descritos en la Tabla V. Los parámetros cuantitativos valorados en el estudio de las paraproteínas séricas son la cuantificación de las Igs (IgG, IgA e IgM), de las cadenas ligeras totales de tipo κ y λ (CLT) y el cálculo del cociente κ/λ . La cuantificación de los isotipos de las Igs (IgG, IgA e IgM; Tabla XII) fue analizada en 18 laboratorios (muestra-50401), 17 laboratorios (muestra-50402), 13 laboratorios (muestra-50403), 18 laboratorios (muestra-50404) y 17 laboratorios (muestra-50405). Se empleó en 9 laboratorios el método de NefPF, en 7 laboratorios el método de NefC y en 2 laboratorios el método Turbidimétrico (Tabla V).

Además se cuantificaron las CLT κ y λ en 7 laboratorios (muestra-50401), 5 laboratorios (muestra-50402), 2 laboratorios (muestra-50403), 7 laboratorios (muestra-50404), y 6 laboratorios (muestra-50405). De ellos, 3 laboratorios emplean el método de NefPF, otros 3 el método de NefC y 1 el método Turbidimétrico (Tabla V). Los 7 laboratorios emplean antisueros anti-CLT, los cuales reconocen las CL libres (CLL) y las ligadas a las cadenas pesadas.

TABLA VI. Estudio cuantitativo de proteínas de Bence Jones en muestras de orina. Descripción de métodos, equipos, antisue-ros, parámetros estudiados y número de laboratorios participantes en el Taller IQ 2005 (Ejercicio B2).

Método	Equipo / (Casa comercial)	Antisue-ros	Parámetros (*)
Nefelometría punto final (6)	BNII / (Dade-Behring)	Behringwerke NCS / New Scientif Company	CLT κ y λ (3) CLL κ y λ (3)
Nefelometría cinética (3)	IMMAGE / (Beckman-Coulter)	Beckman Institute NCS/ New Scientif Company	CLT κ y λ (1) CLL κ y λ (2)

CLT: Antisue-ros anti-cadenas ligeras totales; CLL: Antisue-ros anti-cadenas ligeras libres.
*Número de laboratorios.

TABLA VII. Estudio de bandas oligoclonales en muestras de LCR y sueros homólogos. Descripción de métodos, equipos, anti-sue-ros, parámetros estudiados y número de laboratorios participantes. Taller IQ 2005 (Ejercicio C).

Método	Antisue-ros	Fabricante geles	Nº Laboratorios
Isoelectrofoque y western blot	Anti IgG FA (Jackson)	Método manual	1
Isoelectrofoque y western blot	Anti IgG FA (Jackson)	Helena	1
Isoelectrofoque y western blot	Anti IgG PO (Helena)	Helena	5
Isoelectrofoque e inmunofijación	Anti IgG (Sebia)	Sebia	1

Estudio de Proteínas de Bence Jones (PBJ) en muestras de orina (Ejercicio B2)

El estudio de las PBJ en muestras de orina del Ejercicio B2, consistió en la identificación y análisis cuantitativo de las CL en las cuatro muestras remitidas. El análisis cualitativo del CM de las PBJ en las muestras de orina fue realizado en 20 laboratorios con los métodos, equipos y antisue-ros descritos en la Tabla IV.

Los métodos y antisue-ros empleados en el estudio cuantitativo se describen en la Tabla VI. La cuantificación en orina de las CL κ y λ se realizó en 9 laboratorios, en todos ellos con métodos nefelométricos, 6 laboratorios con NefPF y 3 con NefC. Las CLT se estimaron en 4 laboratorios y las CLL libres en 5 laboratorios. En 4 laboratorios se estimaron las CLT κ y λ , de ellos 3 emplearon antisue-ros anti-CLT de Behringwerke (equipos Dade-Behring) y 1 del Instituto Beckman (equipo IMMAGE, Beckman-Coulter). En 5 laboratorios se valoraron las CLL κ y λ , todos ellos con antisue-ros anti CLL κ y λ , de NCS (New Scientific Company) (3 con los equipos de Dade y 2 con IMMAGE), de NCS.

Estudio de bandas oligoclonales (BOC) en líquido cefalorraquídeo (LCR) (Ejercicio C)

El análisis de las BOC en LCR del ejercicio C se estudio en 8 laboratorios, con los métodos, equipos y antisue-ros descritos en la Tabla VII.

La valoración de las bandas oligoclonales se realizó

contrastando la presencia de bandas en el LCR y en el suero homólogo; los patrones fueron clasificados como "Positivo" si se detecta la presencia de al menos dos BOC en LCR, con un patrón policlonal en la muestra pareada de suero; el patrón "Más que" indica la presencia de BOC en suero con al menos dos bandas adicionales en LCR; el patrón en "Espejo" indica la presencia del mismo patrón de bandas en LCR y suero; por último el patrón "Negativo" se observa cuando se detecta IgG policlonal en LCR y suero. Los dos primeros patrones indican la existencia de síntesis intratecal de IgG; en los dos siguientes se da la ausencia de la misma. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de los tres patrones.

Evaluación estadística de los parámetros analizados en el Taller 2005

En el análisis estadístico de la cuantificación de los parámetros IQ se valoró la media de los resultados (\bar{x}) y el coeficiente de variación (% CV) interlaboratorio. El criterio de homogeneidad se estableció sobre el valor del % del CV, clasificando los resultados como concordantes si el % CV era menor del 10%, discordantes entre un 10 y un 20% y muy discordantes si el % era mayor de 20. En las series de resultados se aplicó la prueba estadística de Grubbs⁽⁶⁻⁸⁾ para descartar los valores discrepantes. En los ejercicios con paraproteínas se realizó el estudio de homogeneidad en los resultados cuantitativos y en los datos cualitativos se comparó la descripción de los CM.

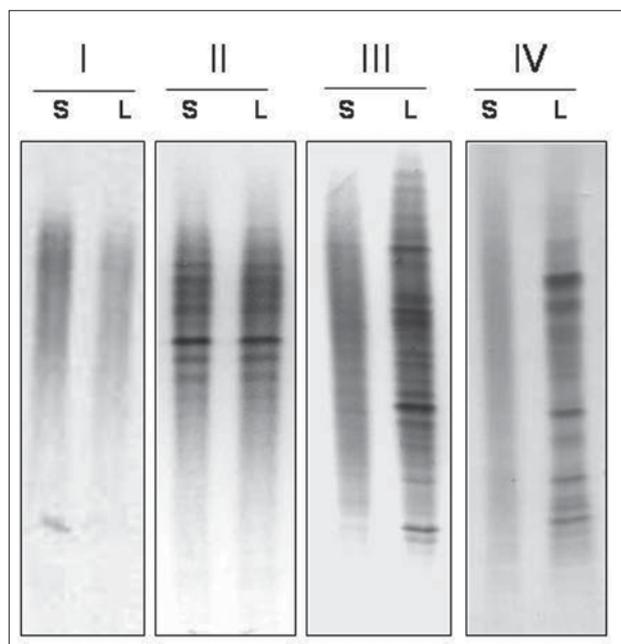


Figura 1. LCR: Distintos patrones de IgG que se observan cuando muestras pareadas de suero (S) y líquido cefalorraquídeo se estudian mediante isoelectroenfoque e inmunodetección. (I) Patrón policlonal: no se detectan bandas oligoclonales (BOC) ni en suero ni en líquido cefalorraquídeo (LCR); (II) Patrón en espejo: se detecta el mismo patrón de bandas en LCR y en la muestra pareada de suero; (III) Patrón "Más que": se detectan BOC en suero y LCR, con al menos dos bandas adicionales en la muestra de LCR al compararla con el suero; (IV) Patrón positivo: se detectan BOC en LCR y un patrón policlonal en la muestra pareada de suero. Los patrones III y IV implican síntesis intratecal de IgG.

RESULTADOS. EJERCICIOS TALLER 2005

Cuantificación de los parámetros inmunoquímicos (IQ) IgG, IgM, IgA, C3 y C4, en muestras de Controles Comerciales (CC) (Ejercicio A1)

Las valoraciones estadísticas de los valores medios (x), coeficiente de variación (CV) y CV modificado por el estadístico de Grubbs^(6,7) relativas al estudio de IgG, IgM, IgA, C3, C4, analizados en las cuatro muestras de los CC (Tabla I) del Ejercicio A1, se detallan en la Tabla VIII.

En la cuantificación de las Igs se observa una buena concordancia (CV < 10%) en los resultados correspondientes a la IgG en todos los CC (n, 4) analizados, e igualmente a las IgA e IgM de los CC50102 y CC50104, sin embargo los resultados relativos a las IgA e IgM de los CC50101 y CC50103 fueron discordantes (10 % < CV < 20 %). La aplicación del estadístico de Grubbs a las cuantificaciones de IgA e IgM (CC50101 y 50103, CV >10 %), señala que la eliminación de los resultados de los laboratorios discrepantes, que fueron dos laboratorios en la determinación de IgA en los CC50401 y CC50403 y un laboratorio en la determinación de IgM en los CC50401 y CC50403, de un total de 23 valoraciones (22 laboratorios), mejora los % CV y a todos ellos los sitúa en porcentajes inferiores al 10 % (Tabla VIII).

El análisis estadístico de los niveles del componente C3 del complemento, muestra una buena concordancia

TABLA VIII. Cuantificación de Parámetros Inmunoquímicos. Descripción de los Valores Medios (x), % Coeficiente de Variación (CV) y modificaciones con la aplicación del estadístico de Grubbs. Taller IQ 2005 (Ejercicio A1).

Muestra	Parámetro (n) (*)				
	IgG (n23) (*22)	IgA (n23) (*22)	IgM (n23) (*22)	C3 (n23) (*22)	C4 (n23) (*22)
50101					
x (CV %)	1132 (7,7)	248,9 (10,7)	104 (10,0)	179,9 (9,0)	45,7 (13,5)
Grubbs: x (CV %) (a/b)		249 (7) (21a/2b)	105 (9,6) (22a/1b)		44 (9,6) (21a/2b)
50102					
x (CV %)	694 (4,5)	126,9 (5,0)	86,6 (6,9)	68 (5,7)	15 (6,9)
Grubbs: x (CV %) (a/b)					
50103					
x (CV%)	1084 (5,0)	235 (10,2)	98 (11,0)	168,9 (9,0)	42 (10,6)
Grubbs: x (CV %) (a/b)		240,5 (7) (21a/2b)	99 (9) (22a/1b)		41,6 (9,9) (22a/1b)
50104					
x (CV %)	1198 (5,9)	239,7 (7,0)	95 (6,8)	179 (9,0)	29,6 (9,5)
Grubbs: x (CV %) (a/b)					

(n) Número de determinaciones realizadas. (*) Número de laboratorios participantes.
 En cada uno de los parámetros y muestras analizadas se detalla el Valor Medio (x) y el CV (%) del conjunto de los laboratorios participantes. En todos se aplicó el estadístico de Grubbs, si la prueba descarta algún valor se detalla el Valor Medio x, el CV (%) modificado y el cociente (a)/(b): (a) Número total de laboratorios participantes/(b) Número de laboratorios excluidos al aplicar la prueba estadística de Grubbs.

TABLA IX. Cuantificación de Parámetros Inmunoquímicos. Descripción de los valores medios (x), % coeficiente de variación (CV) y modificaciones con la aplicación del estadístico de Grubbs. Taller IQ 2005 (Ejercicio A2).

Muestra	Parámetro (n)		
	PCR (n, 15)	ASLO (n, 10)	FR (n, 18)
50201			
x (CV %)	5 (10,6)	292 (39,0)	166,7 (18,0)
Grubbs: x (CV %) (a/b)	4,9 (7,0) (14a/ 1b)		
50202			
x (CV %)	7,5 (8,0)	410,5 (18,7)	157 (23,9)
Grubbs: x (CV %) (a/b)	7 (5,7) (14a/ 1b)		
50203			
x (CV %)	4,4 (9,8)	234 (30,7)	85,7 (27,9)
Grubbs: x (CV %) (a/b)	4,3 (7,8) (14a/ 1b)		

(n) Número de Laboratorios participantes.
 En cada uno de los parámetros analizados se muestra el Valor Medio (x) y el CV (%). En los parámetros en los que la prueba estadística de Grubbs descartó valores se detalla el valor medio x y el CV (%) modificado. Cociente (a)/(b): (a) Número total de laboratorios participantes / (b) Número de laboratorios excluidos, después de aplicar el estadístico de Grubbs.

(CV < 10 %) en los 4 CC estudiados. La cuantificación de los niveles del factor C4 indica discordancia con un CV >10 % en los CC50101 y CC50103 y la aplicación del estadístico de Grubbs permitió descartar respectivamente el valor de las determinaciones de dos y uno de los laboratorios participantes y en todos los hace inferiores al 10 % (Tabla VIII).

No se analizaron los resultados agrupados según las metodologías de NefC (7, laboratorios), NefPF (13, laboratorios) y Turbidimetría (3, laboratorios) al ser muy pocos los laboratorios participantes, en especial respecto a la aplicación de métodos turbidimétricos (Tabla II).

Estudio de Reproducibilidad.

Comparación de las muestras 50101 y 5010

El análisis comparativo de las cuantificaciones de los parámetros IgG, IgA, IgM, C3 y C4 de los CC50101 y CC50103 (CC50101 diluido al 95%), de todas las valoraciones realizadas (23, determinaciones) en los laboratorios participantes (22, laboratorios) nos muestra diferencias que no sobrepasan la discrepancia del 0,5% entre los dos CC (Tabla VIII). Los participantes pueden evaluar su imprecisión intralaboratorio como prueba de validación interna de técnicas de cada uno de los parámetros en su tabla de reproducibilidad personal (datos no mostrados).

Cuantificación de los parámetros PCR, FR y ASLO, en muestras de Controles Comerciales (CC) (Ejercicio A2)

Las valoraciones estadísticas de los valores medios (x), coeficiente de variación (CV) y CV modificado por el estadístico de Grubbs^(6,7) relativas al estudio y el análisis de los parámetros

PCR, FR y ASLO, analizados en las tres muestras de los CC del ejercicio A2, se detallan en la Tabla IX.

El parámetro PCR (15 laboratorios) (estándar-IFCC) muestra una concordancia buena o intermedia en los tres CC valorados (% CV: 10,6; 8 y 9,8), todos mejoran al aplicar el estadístico de Grubbs (% CV: 7; 5,5 y 7,8), únicamente se eliminan los resultados de un laboratorio, que usa el método IMMAGE/MODULAR, no así el resto de los usuarios de los métodos de NefC/ IMMAGE (4 laboratorios), NefPF/ DADE (8 laboratorios) y Turbidimetría (2 laboratorios) (Tabla II).

Los parámetros FR (18 laboratorios) y ASLO (10 laboratorios) muestran una alta discrepancia (% CV>18) en los 3 CC estudiados. Además, el % CV no mejora con la aplicación del estadístico de Grubbs (Tabla IX). Al ser parámetros aun no estandarizados por la IFCC, la falta de homogeneidad en la cuantificación del FR y el ASLO en los 3 CC valorados puede estar asociada a las distintas estandarizaciones empleadas en la preparación de los CC por los tres fabricantes de reactivos (CC50201-Dade Behring, CC50202-Beckman y CC50203-Vitro).

Cuantificación de IgE total en Controles Comerciales de Pharmacia Diagnostic (Ejercicio A3)

En la Tabla X se detallan las medias (x) y los % CV, de la cuantificación de IgE total realizada en los tres CC de Pharmacia Diagnostic (Tabla I). En el estudio se observa una concordancia buena a intermedia en los 3 CC valorados (% CV: 17,7; 9,54 y 13,85); los % CV de los CC-50301 y CC-50302 mejoran con la aplicación del estadístico de Grubbs (% CV: 10,81 y 7,07 y 13,85) con las cinco metodologías (CAP; NefPF; Enzima Inmunoensayo, Turbidimetría y

TABLA X. Cuantificación de IgE Total. Descripción de los Valores Medios (x), % Coeficiente de Variación (CV) y modificaciones al aplicar el estadístico de Grubbs. Taller IQ 2005 (Ejercicio A3).

Muestra	IgE Total (n, 20)
50301	
x (CV%)	19,41(17,77)
Grubbs: x (CV %) (a/b)	20,02 (10,81) (19a/1b)
50302	
x (CV%)	91,37 (9,54)
Grubbs: x (CV %) (a/b)	92,70 (7,07) (19a/1b)
50303	
x (CV%)	423,17 (13,85)
Grubbs: x (CV %) (a/b)	-

(n) Número de laboratorios participantes.
 En cada uno de los parámetros analizados se muestra el Valor Medio (x) y el CV (%). En los parámetros en los que la prueba estadística de Grubbs descartó valores se detalla el valor medio x y el CV (%) modificado. Cociente (a)/(b): (a) Número total de laboratorios participantes / (b) Número de laboratorios excluidos, después de aplicar el estadístico de Grubbs.

Quimioluminiscencia) y los seis equipos empleados (Tabla III). La mayor dispersión corresponde al CC50303 con los niveles mayores de IgE.

Estudio de las paraproteínas en muestras de suero (Ejercicio B1)

El estudio de las cinco paraproteínas séricas remitidas a los participantes (Tabla I) incluye la identificación del CM

TABLA XI. Estudio de paraproteínas séricas. Descripción de los Componentes Monoclonales. Taller IQ 2005 (Ejercicio B1).

Muestra (n)	Identificación Inmuno electroforética (*) Descripción de la disproteinemia identificada
50401 (n 21)	Cadenas pesadas μ (20*), Asociado a: IgA κ (3*) λ débil (1*) Actividad de piroglobulina (2*) No detecta paraproteína (1*)
50402 (n 21)	IgG κ (21*)
50403 (n 20)	IgG Policlonal (11*) λ libre (5*) IgG $\kappa\lambda$ Biclonal (2*) IgG λ/λ libre Biclonal (1*) Muestra insuficiente (1*)
50404 (n 21)	IgA λ (19*) Asociado a: IgM λ (3*) Cadenas pesadas \cdot (1*) No detecta paraproteína (1*)
50405 (n 21)	IgG λ (21*)

(n) Número total de laboratorios participantes en la identificación de la muestra.
 (*) Número de laboratorios que describen la paraproteína.

(Tabla XI) y la evaluación cuantitativa de IgG, IgA, IgM y las CL κ y λ (Tabla XII), empleando los equipos y antisueros descritos en las Tablas IV y V.

TABLA XII. Valores Medios y Coeficiente de Variación (CV %) de la cuantificación de Igs (IgG, IgM, IgA) y cociente κ/λ en las muestras de paraproteínas séricas. Taller IQ 2005 (Ejercicio B1).

Muestra	IgG	IgA	IgM	Cociente κ/λ	Paraproteína Consenso
50401 (n, 18) x (CV %)	1727,5 (4,1)	199,1 (17,2)	4346,2(*) (34,5)	$\kappa/\lambda = 2,29$ (n, 7)	Cadenas μ
50402 (n, 17) x (CV %)	1108,2 (*) (5,6)	96,1 (11,5)	127,3 (7,7)	$\kappa/\lambda = 4,95$ (n, 7)	IgG κ
50403 (n, 13) x (CV %)	2781,0 (5,8)	75,5 (11,9)	87,1 (10,4)	$\kappa/\lambda = 4,74$ (n, 7)	IgG policlonal
50404 (n, 18) x (CV %)	1262,2 (5,4)	443,1(*) (11,8)	195,8 (7,3)	$\kappa/\lambda = 1,61$ (n, 7)	IgA λ
50405 (n, 17) x (CV %)	1075,5 (*) (5,5)	109,9 (5,9)	100,3 (25,1)	$\kappa/\lambda = 1,85$ (n, 7)	IgG λ

Parámetros: x = Valor Medio de las cuantificaciones. CV % = Coeficiente de Variación expresado en porcentaje de las cuantificaciones de los parámetros estudiados.
 (n) Número de laboratorios participantes. La cuantificación de Igs fue realizada en un número máximo de 18 laboratorios y de CLT (κ y λ) en 7 laboratorios. En las columnas se detalla el promedio de la cuantificación de las Igs (IgG, IgM, IgA) y el cociente κ/λ .
 (*) CM: Isotipo del componente monoclonal.

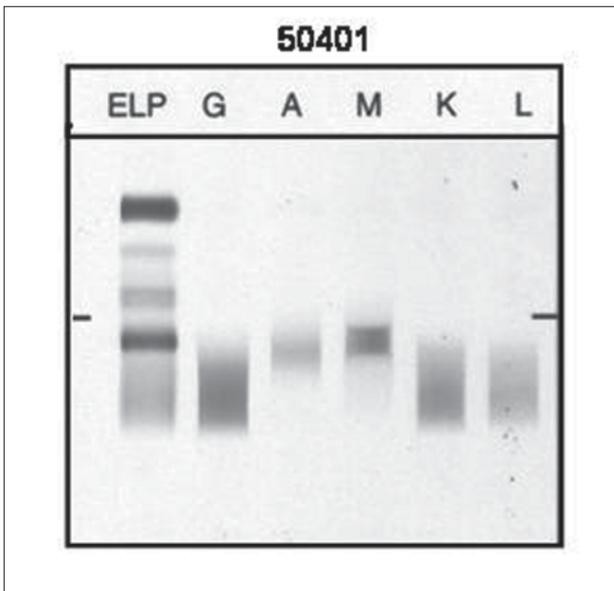


Figura 2. Inmunofijación de la paraproteína sérica 50401. La muestra se aplicó sobre los marcos señalados en el gel, las proteínas se separan por electroforesis. Los antisueros mono específicos anti-IgG, IgA, IgM, κ y λ , se vierten en los cinco marcos para su unión inmune. Tras la fijación, el gel de inmunoelectroforesis se lava y las proteínas se tiñen. EPS o SPE: Electroforesis de las proteínas séricas. La inmunofijación del suero 50401 revela la presencia de cadenas pesadas μ .

Identificación del Componente Monoclonal (CM) en las paraproteínas séricas.

Los resultados de la identificación de los CM de las cinco disproteinemias estudiadas en el IV Taller de IQ se describen en la Tabla XI. Las muestras remitidas por los Servicios de Inmunología de los Hospitales Gregorio Marañón y Carlos III de Madrid y Virgen de la Arrixaca de Murcia se refieren en la Tabla I y los métodos de inmunofijación empleados se detallan en la Tabla IV. Todos los laboratorios (n=21) muestran una alta homogeneidad en la identificación del CM en las cinco paraproteínas estudiadas.

Análisis individualizado de la paraproteína 50401

La muestra 50401 (Tabla I) procedía de una muestra remitida por el laboratorio emisor (Hospital Carlos III, Madrid) con el diagnóstico de enfermedad de cadenas pesadas μ y que además presentaba actividad de piroglobulina. La propiedad de piroglobulina la presentan ciertas proteínas que cuando se calientan a 56°C durante 30 minutos, dan lugar a su precipitación irreversible⁽⁹⁾. Los estudios cualitativos se realizaron en un total de 21 laboratorios (Tabla XI). En 20 laboratorios fue detectada la cadena pesada μ , 3 laboratorios lo asocian además con la presencia de IgAk y 1 laboratorio a CL λ . En 1 laboratorio no se detectó la presencia de la

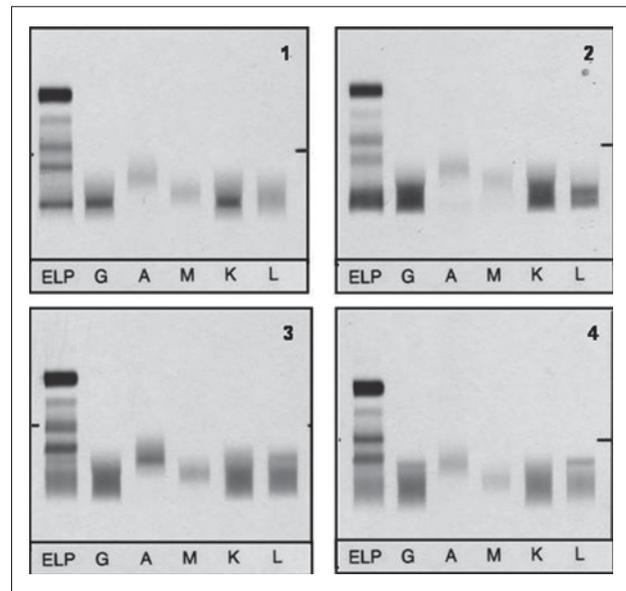


Figura 3. Inmunofijación de las paraproteínas séricas de las muestras 50402, 50403, 50404 y 50405.

Las muestras 50402, 50403, 50404 y 50405 se aplican sobre los marcos señalados en los gels respectivos (1, 2, 3 y 4), y las proteínas se separan por electroforesis. Los antisueros monoespecíficos anti-IgG, IgA, IgM, κ y λ se vierten en los marcos para su unión inmune. Tras la fijación, los gels de inmunoelectroforesis se lavan y las proteínas se tiñen. El análisis del gel 1 (muestra 50402) contiene una proteína monoclonal IgG κ . El análisis del gel 2 (muestra 50403) revela un aumento policlonal de la proteína IgG. El análisis del gel 3 (muestra 50404) revela una proteína monoclonal IgA λ . El análisis del gel 4 (muestra 50405) revela una proteína de cadenas monoclonal IgG λ . EPS o SPE: Electroforesis de las proteínas séricas.

paraproteína y 2 laboratorios demuestran la actividad de piroglobulina. El CM de la piroglobulina se definió por inmunofijación y se confirmó por inmunoblot en SDS-PAGE (datos no mostrados). La Inmunodetección con las técnicas de Inmunofijación y los equipos de Sebia del suero 50401 se detallan en la Figura 2.

Análisis individualizado de la paraproteína 50402

La muestra 50402 (Tabla I), procedía de una muestra remitida por el laboratorio emisor (Hospital Gregorio Marañón, Madrid). Los estudios cualitativos (Tabla XI) se realizaron en 21 laboratorios y en todos ellos se identificó una banda monoclonal IgG κ en absoluta concordancia con el laboratorio de referencia. En la Figura 3 (gel 1) se muestra el patrón de la Inmunofijación del suero 50402.

Análisis individualizado de la paraproteína 50403

La muestra 50403 (Tabla I), procedía de un patrón sérico remitido por el laboratorio emisor (Hospital Gregorio Marañón, Madrid), caracterizado como una hipergammaglobulinemia policlonal (Tabla XI). Los estudios cualitativos se realizaron

en un total de 20 laboratorios, siendo los resultados recogidos muy variados: 11 laboratorios identificaron IgG policlonal, 5 laboratorios λ libre, 2 laboratorios IgG $\kappa\lambda$ biclonal, 1 laboratorio IgG λ/λ libre de tipo biclonal y en 1 laboratorio la muestra fue insuficiente. En la Figura 3 (gel 2) se muestra el patrón de la Inmunofijación del suero 50403.

Análisis individualizado de la paraproteína 50404

La muestra 50404 (Tabla I), procedía de un patrón sérico definido por el laboratorio emisor (Hospital Carlos III, Madrid) y caracterizada como proteína monoclonal IgA λ (Tabla XI). Los estudios cualitativos por métodos de inmunofijación se realizaron en 21 laboratorios. En 19 laboratorios se detectó IgA λ y 3 laboratorios lo asociaron a IgM λ . En un laboratorio se informó de cadenas pesadas y un laboratorio no demostró la presencia de la proteína monoclonal. En la Figura 3 (gel 3) se muestra el patrón de Inmunofijación del suero 50404.

Análisis individualizado de la paraproteína 50405

En la muestra 50405 (Tabla I) todos los laboratorios participantes identificaron una paraproteína IgG λ (Tabla XI).

Los estudios cualitativos con la inmunofijación de la muestra 50405 se realizaron en 21 laboratorios, en todos se identificó una banda monoclonal IgG λ . En la Figura 3 (gel 4) se muestra el patrón de Inmunofijación del suero 50405.

Estudio de las cuantificaciones de las paraproteínas séricas del Taller 2005

En la Tabla XII se detallan las valoraciones estadísticas de las medias y los coeficientes de variación (% CV) de las cuantificaciones de las Igs (IgG, IgA e IgM) y el cociente κ/λ de las CLT, en las cinco paraproteínas estudiadas (Tabla I). En un máximo de 18 laboratorios se realizó la cuantificación de las Igs que mostró % CV muy variados. La cuantificación de CLT κ y λ únicamente se realizó en 7 laboratorios.

Análisis cuantitativo de la muestra 50401

Los estudios cuantitativos de la muestra 50401 se realizaron en 18 laboratorios (Tabla XII). Los valores medios de la cuantificación de IgG, e IgM muestran aumento de los niveles séricos en las dos Igs, especialmente IgM. En la cuantificación del CM IgM, 2 laboratorios, que emplean el sistema Turbidimétrico (Modular/Roche) observaron niveles muy bajos. En IgG la correlación (% CV: 4,1) fue buena, mientras que en IgA (% CV: 17,2) e IgM (% CV: 34,5) fue baja, aunque la mayor discrepancia fue en la cuantificación del CM IgM. El cociente κ/λ (n=7) es de 2,29.

Análisis cuantitativo de la muestra 50402

Los estudios cuantitativos de la muestra 50402 (Tabla I) se realizaron en 17 laboratorios (Tabla XII). Los valores medios y los % CV de la cuantificación de las Igs IgG, IgA, IgM (% CV: 5,6; 11,5; 7,7) muestran buena correlación. El cociente $\kappa/\lambda=4,95$ (n=7), muestra aumento de cadenas ligeras κ , en concordancia con el tipo de CL asociada al isotipo G del CM.

Análisis cuantitativo de la muestra 50403

Los estudios cuantitativos de la muestra 50403 se realizaron en 13 laboratorios (Tabla XII). Los valores medios y los % CV (% CV: 5,8; 11,9; 10,4) de la cuantificación de las Igs, muestran buena correlación, aunque 1 laboratorio que trabaja con Modular Roche, reporta la cuantificación de IgA e IgM, ligeramente alta. Los niveles de IgG de la muestra están elevados. El cociente $\kappa/\lambda=4,74$; (n=7) muestra aumento de las cadenas ligeras κ .

Análisis cuantitativo de la muestra 50404

Los estudios cuantitativos de la muestra 50404 se realizaron en 18 laboratorios (Tabla XII). Los valores medios y los % CV (% CV: 5,4; 11,8; 7,3) muestran buena correlación. Los niveles de IgG e IgA muestran aumentos en especial el CM (IgA). El cociente $\kappa/\lambda=1,61$ (n=7), señala aumento de cadenas ligeras λ , como corresponde al tipo de CL asociada al isotipo A del CM.

Análisis cuantitativo de la muestra 50405

Los estudios cuantitativos de la muestra 50405 se realizaron en 17 laboratorios (Tabla XII). Los valores medios y los % CV de la cuantificación de las Igs, IgG, IgA y el cociente κ/λ , muestran buena correlación, aunque 1 laboratorio reporta la cifra de la cuantificación de IgM muy baja (Dade). Los valores medios de la cuantificación de las Igs, IgG, IgA muestran niveles en el rango de las Igs séricas, la correlación de los % CV es buena en el CM IgG, en la IgA, y muestra discordancia en la IgM (% CV 25,1). El cociente $\kappa/\lambda=1,85$ (n=7), señala aumento de cadenas ligeras λ asociada al isotipo G del CM.

Análisis cuantitativo de las CLT κ y λ

Los estudios cuantitativos de las CLT κ/λ de las cinco disproteinemias se realizaron en 7 laboratorios. Los resultados de los valores medios y % CV de la cuantificación de las CLT (κ y λ) no se presentan por ser pequeño el número de participantes. Tampoco se pudieron agrupar al emplear distintos métodos de estudio y equipos (3 laboratorios emplean Inmage, 3 Dade, 1 Modular Roche) (Tabla V). El análisis de homogeneidad de las CLT (κ y λ) muestra resultados discrepantes debido fundamentalmente a los diferentes procedimientos de estandarización de los tres

TABLA XIII. Descripción cualitativa de las proteínas de Bence Jones (PBJ) analizadas en las muestras de orina. Taller IQ 2005 (Ejercicio B2).

Muestra (n)	Identificación Inmuno electroforética (*) Descripción de la disproteinemia identificada
50501 (n, 19)	Bence Jones λ (18) Asociado a IgM λ (1)
50502 (n, 20)	Bence Jones λ (20)
50503 (n, 20)	Bence Jones κ (18) Asociado a IgG κ (2)
50504 (n, 20)	Bence Jones κ (20)

(n) Número de total de laboratorios participantes en la identificación de la muestra.
(*) Número de laboratorios que describen la proteína de Bence Jones.

fabricantes (Beckman-Coulter, Dade-Behring y Roche) que aportan los reactivos.

En cada una de las muestras se valoró el cociente κ/λ , que presenta un valor mayor de 2 en los especímenes de la proteína monoclonal IgG κ 50402 y de la IgG policlonal 50403, e inferior de 2 en los CM IgA λ 50404 e IgG λ -50405. En el suero 50401 el cociente κ/λ no sirve de ayuda para el diagnóstico de la cadena pesada μ (Tabla XII).

Estudio de las Proteínas de Bence Jones (PBJ) en muestras de orina (Ejercicio B1).

Los resultados de la identificación cualitativa de las PBJ en las cuatro orinas estudiadas (Tabla I) se muestran en la Tabla XIII. Los 20 laboratorios participantes identifican el componente monoclonal de la PBJ con los ensayos de inmunolectroforesis descritos en la Tabla IV. La inmunodetección con las técnicas de Inmunofijación y los equipos de Sebia de las PBJ, se detallan en la Figura 4. Las cuatro muestras de orina se caracterizaron en el laboratorio emisor como 50501-PBJ λ (gel 1), 50502-PBJ λ (dilución de 50501) (gel 2); 50503-PBJ κ (gel 3) y 50504-PBJ κ (gel 4) (dilución de 50503). En las muestras 50501 y 50502 los 20 laboratorios participantes identificaron PBJ λ , y 1 laboratorio lo asoció a IgM λ . En las muestras 50503 y 50504, todos los laboratorios identificaron PBJ κ , y se asoció en 2 laboratorios a IgG κ . En las cuatro muestras no existieron discrepancias o fueron menores exclusivamente en las muestras más concentradas (50501, 50503) probablemente debidas a un efecto prozona.

Los métodos y antisueros empleados en el estudio cuantitativo de las PBJ se describen en la Tabla VI. En cuanto a la cuantificación de las PBJ, en las muestras PBJ λ (50501) y PBJ λ (50502) se demostró aumento del respectivo tipo de CL λ . En las muestras PBJ κ (50403) y PBJ κ (50404), la

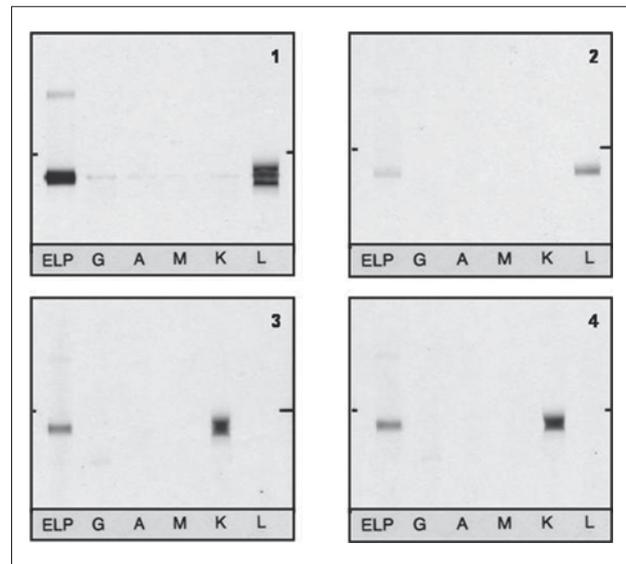


Figura 4. Inmuno-fijación de Proteínas de Bence Jones en muestras de orina. Las muestras 50501, 50502, 50503 y 50504 se aplican sobre los marcos señalados en los gels respectivos (1, 2, 3 y 4), las proteínas se separan por electroforesis. Los antisueros monoespecíficos anti-IgG, IgA, IgM, κ y λ se vierten en los cinco marcos para su unión inmune. Tras la fijación, el gel de inmunolectroforesis se lava y las proteínas se tiñen. El análisis del gel 1 (muestra 50501) revela una proteína B λ . El análisis del gel 2 (muestra 50502) revela una proteína B λ . El análisis del gel 3 (muestra 50503) revela una proteína B κ . El análisis del gel 4 (muestra 50504) revela una proteína B κ . EPS o SPE: Electroforesis de las proteínas de la orina

cuantificación de la cadena κ fue mayor. En las muestras 50502 y 50504, diluciones respectivas de las muestras 50501 y 50503, los niveles de las PBJ λ y PBJ κ fueron muy bajos debido al bajo nivel de CM en las alícuotas finales.

Los escasos laboratorios (n=9) (Tabla VI) que reportaron resultados cuantitativos mostraron una gran dispersión debido a las metodologías empleadas, lo cual refleja los distintos procedimientos de estandarización, métodos de estudio y antisueros empleados en la cuantificación de CLT o CL (datos no mostrados).

Resultados del Estudio de bandas oligoclonales (BOC) en líquido cefalorraquídeo (LCR) (Ejercicio C)

Los resultados del estudio de bandas oligoclonales en tres pares de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y suero se muestran en la Tabla XIV. A pesar de la heterogeneidad en las técnicas empleadas (Tabla VII), se obtuvo un 100% de concordancia entre los ocho laboratorios participantes en cuanto a la presencia o ausencia de síntesis intratecal de IgG. En este sentido, todos los laboratorios calificaron la muestra 50601 como positiva y las muestras 50602 y 50603 como negativas.

En cuanto a la descripción de los patrones de bandas, los resultados fueron más heterogéneos. La muestra 50601

TABLA XIV. Descripción de los Patrones del estudio de Bandas Oligoclonales en LCR y suero homólogo. Taller IQ 2005 (Ejercicio B1).

Muestra (n)	Síntesis intratecal de IgG (*)	Patrón (*)
50601 (n, 8) LCR1/SLCR	Positivo (8)	Más que (7) Positivo (1)
50602 (n, 8) LCR2/SLCR	Negativo (8)	Policlonal (4) Espejo (4)
50603 (n, 8) LCR3/SLCR	Negativo (8)	Policlonal (6) Espejo (2)

(*) Número de laboratorios.

fue definida como patrón positivo (Bandas presentes exclusivamente en LCR) por siete laboratorios, mientras que otro la definió como patrón "más que" (bandas presentes en suero y al menos dos bandas adicionales en la muestra pareada de LCR). En la muestra 50602 fue donde se encontró la mayor heterogeneidad. Cuatro laboratorios la definieron como policlonal (Ausencia de bandas en LCR y suero), mientras que otros cuatro la definieron como patrón en espejo (El mismo patrón de bandas en suero y LCR). Finalmente, seis laboratorios informaron la muestra 50603 como policlonal, y los dos restantes como patrón en espejo.

DISCUSIÓN. TALLER 2005

La publicación de nuestro anterior Taller 2004⁽³⁾ nos demostró la capacidad de los laboratorios españoles en la consecución de los objetivos primordiales del mismo: el análisis de los parámetros IQ y la definición de las paraproteínas básicas. A la vista de los resultados de dicho Taller, el grupo de IQ de la SEI se planteó abordar en el Taller 2005 el estudio diferencial de los parámetros IQ homologados y no homologados por la IFCC. En el estudio de las paraproteínas del Taller 2005, se abordó el estudio de algunas paraproteínas raras con distinta incidencia y frecuencia. Además, en ese taller se incluyó, por primera vez, el estudio interlaboratorio de las bandas oligoclonales en LCR.

Los ejercicios interlaboratorio de cuantificación de parámetros IQ se han analizado según las normas internacionales de estandarización y metrología (ISO, www.iso.org; EPTIS, www.eptis.bam.de; AOAC, www.aoac.org) para estudios en colaboración⁽⁸⁾, con idénticos criterios a los llevados a cabo en el Taller 2004⁽³⁾.

Los estudios de los parámetros IQ en las muestras séricas, abordados en el Taller 2005, muestran muy buena homogeneidad, especialmente en los parámetros estandarizados por la IFCC (IgG, IgA, IgM, C3, C4, y PCR), exceptuando la valoración

de los parámetros IgA, IgM y el componente C4 del complemento. La leve desviación de los parámetros anteriores se corrigió eliminando los valores discrepantes con la aplicación de la prueba estadística de Grubbs⁽⁶⁻⁸⁾. La cuantificación de los reactantes séricos FR y ASLO, parámetros IQ no estandarizados por la IFCC, muestran falta de homogeneidad. No se valoró si podría mejorar al agrupar los resultados por equipos y métodos, dado el bajo número de participantes (n<20), lo cual nos impide aplicar valoraciones estadísticas. En futuros Talleres sería conveniente realizar estudios de estos dos parámetros con los distintos métodos analíticos y con un número más amplio de participantes.

La cuantificación de IgE muestra homogeneidad, si exceptuamos la comparabilidad en la muestra con niveles altos⁽⁹⁾. El grupo de IQ piensa incorporar, en posteriores Talleres, la cuantificación de IgE específica a los antígenos más solicitados en los laboratorios clínicos.

El análisis estadístico de los parámetros IQ demuestra la necesidad y utilidad de la realización de ejercicios interlaboratorio, así como la aplicación de los controles de calidad intralaboratorio que permitan el reconocimiento y la detección precoz de estas situaciones. Los estudios de cuantificación de los parámetros IQ resaltan la importancia de la Metrología clínica, y las ventajas de emplear materiales estandarizados, a partir de los controles internacionales de referencia IFCC para las proteínas plasmáticas^(1,2), de acuerdo con las normas de calidad ISO y las guías de estudios interlaboratorio CLSI /NCCLS (www.clsi.org).

En el estudio de las paraproteínas séricas del Taller 2005 se observó una gran homogeneidad de resultados en dos de las muestras, IgGκ-50402, e IgGλ-50405, y en menor grado en tres que presentaban, respectivamente, aumento policlonal de IgG-50403, IgAλ-50404 y CP μ-50402. El estudio interlaboratorio de la CP μ-50401 permitió abordar el análisis de esta paraproteína de gran interés por la rareza de la enfermedad de CP μ⁽¹⁰⁾. En todos los laboratorios se identificó la CP μ y sólo uno no la detecta; esto pudo ser debido al método de cuantificación turbidimétrico empleado en el citado laboratorio^(11,12).

Mención especial requiere la caracterización de la actividad de piroglobulina presente en la CP μ-50401. Sólo dos laboratorios muestran el hallazgo, y esto se debe a que en los análisis habituales de paraproteínas no se estudia sistemáticamente esta propiedad^(13,14) lo que nos hizo cuestionar la relevancia de estudiar dicha actividad en este tipo de muestras. El reconocimiento del fenómeno de las piroglobulinas tiene importancia como factor de confusión en aquellos ensayos que requieren calentamiento, así en los estudios de inactivación del complemento o en la determinación de niveles del fibrinógeno. Las piroglobulinas son Igs que precipitan irreversiblemente formando un gel cuando el suero es calentado a 56°C durante

30 minutos, a diferencia de la precipitación reversible de las PBJ en condiciones idénticas de calentamiento. Las piroglobulinas constituyen el <1% de las gammapatías monoclonales y un 6% de la macroglobulinemia de Waldenstrom⁽¹⁴⁾. El espécimen estudiado en este Taller procedía de un paciente con enfermedad de CP μ con actividad de piroglobulina, asociado a un linfoma de la zona marginal del bazo.

En el Taller 2005, la cuantificación de las Igs de las cinco muestras disproteinemias muestra homogeneidad en los niveles de IgG, se encuentre en forma de CM o policlona. En la cuantificación de IgA e IgM los resultados son menos homogéneos, en concordancia con lo descrito en la literatura^(11,12), y es de señalar los de la muestra de CP μ con actividad de piroglobulina, en especial en los dos laboratorios que emplean el método turbidimétrico.

En las cuantificaciones de las CLT κ y λ de las cinco paraproteínas no se pudieron obtener resultados significativos, por el bajo número de laboratorios participantes. La evaluación del cociente κ/λ como marcador de malignidad no aporta datos significativos en las muestras de las CP μ o con aumento policlona de IgG. Datos recientes continúan debatiendo y ponen de manifiesto el poder predictivo de los niveles séricos de CL libres en el seguimiento de las denominadas paraproteínas de significado incierto⁽¹⁵⁻¹⁷⁾, por lo que sería interesante aumentar el número de laboratorios que emplean este parámetro clínico, en próximos Talleres.

En los laboratorios clínicos el algoritmo de análisis de las disproteinemias incluye la caracterización, el reconocimiento del CM, la cuantificación del isotipo y la alteración del cociente κ/λ , herramientas muy útiles para la identificación y monitorización de las paraproteínas. Los resultados encontrados en los estudios interlaboratorio nos exigen estudiar si las distintas muestras pueden también mostrar la presencia de CL libres, o CP libres. En la actualidad en muchos laboratorios se está implantando el análisis cuantitativo del CM, con el fin de ayudar en el diagnóstico diferencial del mieloma múltiple (10% de los cánceres hematológicos) y la denominada gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS), que afecta al 3% de la población >50 años y que evoluciona a mieloma u otras malignidades relacionadas a una tasa del 1% por año⁽¹⁸⁾. En los pacientes con Mieloma Múltiple el nivel del pico monoclonal es un predictor de respuesta beneficiosa en el tratamiento con trasplante autólogo⁽¹⁹⁾. En el futuro, los miembros del Grupo de IQ de la SEI debemos realizar un esfuerzo para implantar en un número amplio de laboratorios la cuantificación por densitometría de los CM, como método de estudio en las disproteinemias^(11,18,19).

La identificación de los componentes monoclonales de las PBJ en orina fue homogénea en todos los laboratorios participantes, aunque dos lo acompañan de la presencia

respectiva de IgM λ e IgG κ . Los resultados de la cuantificación de las CLL (κ y λ) en orina muestran discrepancias. El estudio se realizó en nueve laboratorios, que emplean distintos métodos y antisueros. Una posible explicación podría ser que los tres fabricantes de reactivos adjudican distintos valores a las cadenas ligeras en sus respectivas estandarizaciones. En este Taller 2005 no se pudieron realizar estudios estadísticos, al igual que ocurrió en el Taller 2004⁽³⁾. En las cuantificaciones de las PBJ por métodos nefelométricos, también pueden influir factores tales como son el exceso de antígeno, la posible dimerización de las CLL, su corta vida media y la rápida degradación de las CL en orina, lo que hace aún más difícil la estandarización y realización de los ejercicios.

El apartado de bandas oligoclonales se incluyó por primera vez en este Taller, constituyendo un importante esfuerzo por homogeneizar los resultados, con esta técnica de reciente implantación, que tiene gran utilidad clínica en distintas enfermedades neurológicas y principalmente en el diagnóstico de esclerosis múltiple⁽²⁰⁾. Los resultados fueron óptimos en cuanto a la concordancia de resultados positivos y negativos, que fue del 100%, superior a la descrita en otros estudios similares⁽²¹⁾. Esto es de la mayor importancia de cara a su uso a nivel diagnóstico. En cuanto a los patrones, en las muestras 50601 y 50603 se obtuvo una alta concordancia. En la muestra 50602 se observó mayor disparidad, ya que el 50% de los laboratorios la definieron como patrón en espejo y el otro 50% como patrón policlona. Estos datos confirman la dificultad en la identificación de los dos patrones negativos ya descrita por otros autores⁽²¹⁾. Su identificación de forma homogénea por distintos grupos contribuirá a evaluar su interés como ayuda al diagnóstico de distintas enfermedades neurológicas.

Finalmente, en este Taller concluimos que las pruebas de inter-comparación son una excelente herramienta en los procesos de aseguramiento de la calidad en nuestros laboratorios. Además sirven para asegurar la correcta implantación de nuevas técnicas y para la elaboración de protocolos de trabajo consensuados. En futuros Talleres las líneas de trabajo del grupo de IQ pretenden desarrollar guías de estudio de proteínas plasmáticas.

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal técnico de los laboratorios y profesionales participantes por su colaboración en la realización del estudio y a los laboratorios IZASA SA/ Beckman/ Coulter y Dade-Behring por el soporte logístico en la distribución de las muestras a los Laboratorios participantes. A las compañías IZASA SA, Dade-Behring, VITRO SA y Pharmacia Diagnostic por la aportación de reactivos control empleados como controles comerciales.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los cuatro coordinadores han participado en el Taller sin conflicto de intereses.

CORRESPONDENCIA:

Juan José Rodríguez Molina

Servicio de Inmunología.

Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

C/ Dr. Esquerdo, 46

28007 Madrid.

Phone: +34-915868461. Fax: +34-914586801

Correo-E: jrodriguezmo.hgugm@salud.madrid.org

Julia Sequí Navarro

Servicio de Inmunología. Hospital Carlos III. Madrid

Correo-E: jsequi.hcii@salud.madrid.org

Luisa María Villar Guimerans

Servicio de Inmunología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid

Correo-E: lvillar.hrc@salud.madrid.org

Candido Juárez Rubio

Servicio de Inmunología, Hospital de Sant Pau, Barcelona.

Correo-E: cjuarez@hsp.santpau.es

REFERENCIAS

- Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J, et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities. College of American Pathologists. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
- Human Serum, ERM/IFCC- DA470K. Institute for Reference Materials and Measurements, (IRMM, www.irmm.jrc.be). (<https://irmm.jrc.ec.europa.eu/rmcatalogue/detailsrncatalogue.do?referenceMaterial=DA470k%2B%2B%2B%2B%2B%2B%2B>)
- Rodríguez Molina JJ, Sequí Navarro J, Villar Güimerans LM, Grupo de Trabajo de Inmunología. Taller SEI 2004. Análisis de parámetros inmunoquímicos y paraproteínas. Informe del III Taller de Inmunología de la Sociedad Española de Inmunología. Inmunología 2006; 25:57-66.
- Sequí Navarro J, Rodríguez Molina J J, Villar Güimerans LM, Juárez Rubio C, Grupo de Trabajo en Inmunología. Valoración clínica, identificación y caracterización de proteínas inmunes en gammopatías monoclonales. Talleres de Inmunología. Inmunología 2007; 26, Supl 1:120.
- Rodríguez Molina JJ, Villar Güimerans LM, Sequí Navarro, et al. Cuantificación de proteínas inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM, Complemento C3, C4 y Proteína C Reactiva. Estudio de variabilidad Inter e intralaboratorio. Taller de Inmunología Inmunología 2007; 26, Supl 1:102.
- Grubbs F. Procedures for detecting outlying observations in samples. Technometrics 1969; 11:1-21.
- Engineering Statistics Handbook. NIST/SEMATECH e-Handbook of Statistical Methods. Chapter 1. Exploratory Data Analysis. EDA Techniques. Quantitative Techniques. Grubbs' Test for Outliers. Grubbs'. 1.3.5.17: September 11, 2005. <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/section3/eda35h.htm>
- AOAC International. OMA Program Manual. 2002. Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristic of a method of analysis. Appendix D, p.1-12.3. <http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no3/130301006.htm>. The IVD Directive and Availability of Reference Systems for IVD Medical Devices: A View from Industry. www.aoac.org./ Association of Official Analytical Chemistry, Official Methods. www.aoac.org/vmeth/omamanual/omamanual.htm.
- Matsson NJ. Pharmacia & Upjohn. I/LA20-A2. Analytical performance characteristics and clinical utility of immunological assays for human immunoglobulin E (IgE) antibodies and defined allergen specificities; Approved Guideline -Second Edition. www.clsi.org/Content/NavigationMenu/Committees/ImmunologyandLigandAssay/Projects inDevelopment/Projects_in_Developm.htm.
- Witzig TE, Wahner-Roedler DL. Heavy Chain disease. Curr Treat Options Oncol 2002; 3:247-254.
- Attalman M, Levinson SS. Understanding and identifying Monoclonal Gammopathies. Clin Chem 2000; 46:1230-1238.
- Berth M, Delanghe J. Protein precipitation as a possible important pitfall in the clinical chemistry analysis of blood samples containing monoclonal immunoglobulins: 2 case reports and a review of the literature. Acta Clin Belg 2004; 59:263-273.
- Gorevic PD, Galanakis D. Cryoglobulins, Cryofibrinogenemia and Pyroglobulins. Cap 10; pp 97. Section B. Immunochemical Methods. Vol Ed. Hamilton RG; Sec Ed. Kyle RA. In: Manual of Clinical Laboratory, Sixth Ed. Eds: Rose NR, Hamilton RG, American Society for Microbiology, ASM Press 2002.
- Moriyama T, Torimoto Y, Kohgo Y, Ikeda H, Matsuno K. Immunochemical characterization of monoclonal protein in the serum of a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia showing both pyroglobulin and cryoglobulin properties. Clin Chim Acta. 2000; 296:171-180.
- Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ 3rd, Bradwell AR, Clark RJ, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. Blood. 2005; 106: 812-817.
- Rajkumar SV. MGUS and Smoldering Multiple Myeloma: Update on pathogenesis, natural history, and management. Hematology (Am Soc Hematol Edu Programe) Hematology 2005; 340-345.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. N Engl J Med. 2006; 354:1362-1369.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. Blood 2008; 11: 2962-2972.
- Dingli D, Pacheco JM, Dispenzieri A, Hayman SR, Kumar SK, Lacy MQ, et al. Serum M-spike and transplant outcome in patients with multiple myeloma. Cancer Sci 2007; 98:1035-1040.
- McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the international panel on the diagnosis of Multiple Sclerosis. Ann Neurol 2001; 50:121-127.
- Reiber H, Thompson EJ, Grimsley G, Bernardi G, Adam P, Monteiro de Almeida S, et al. Quality assurance for cerebrospinal fluid protein analysis: International consensus by an Internet-based group discussion. Clin Chem Lab Med 2003; 41:331-337.