

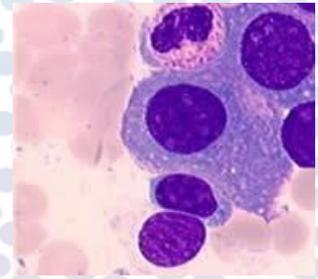
Electroforesis de Proteínas séricas

María de las Nieves Sanz
Asesor Científico

nsanz@sebia.com

sebia

Clasificación de las gammopatías monoclonales



Asintomático

- Gammopatía de significado indeterminado (MGUS)
- Smoldering myeloma (SM)

Maligno

- Mieloma Múltiple (MM)
- Macroglobulinemia de Waldenström
- Plasmocitoma solitario
- Otros síndromes linfoproliferativos

Secundario

- Enfermedades autoinmunes
- Infecciones crónicas
- Inmunodeficiencia primaria y secundaria
- Algunos cánceres no linfoides

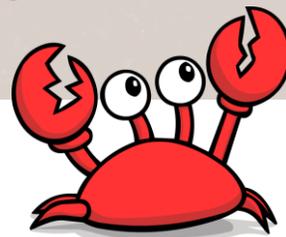
75% de los
componentes
monoclonales

Diagnóstico diferencial entre Mieloma Múltiple, MGUS y Smoldering myeloma

	MGUS	Smoldering Myeloma	Multiple Myeloma
M-protein serum concentration	< 30 g/l	> 30 g/l*	No cut-off value
% of abnormal plasma cells in the Bone Marrow	< 10 %	> 10 %*	> 10 %
End-organ damage**	-	-	+

* At least one of the two criteria present

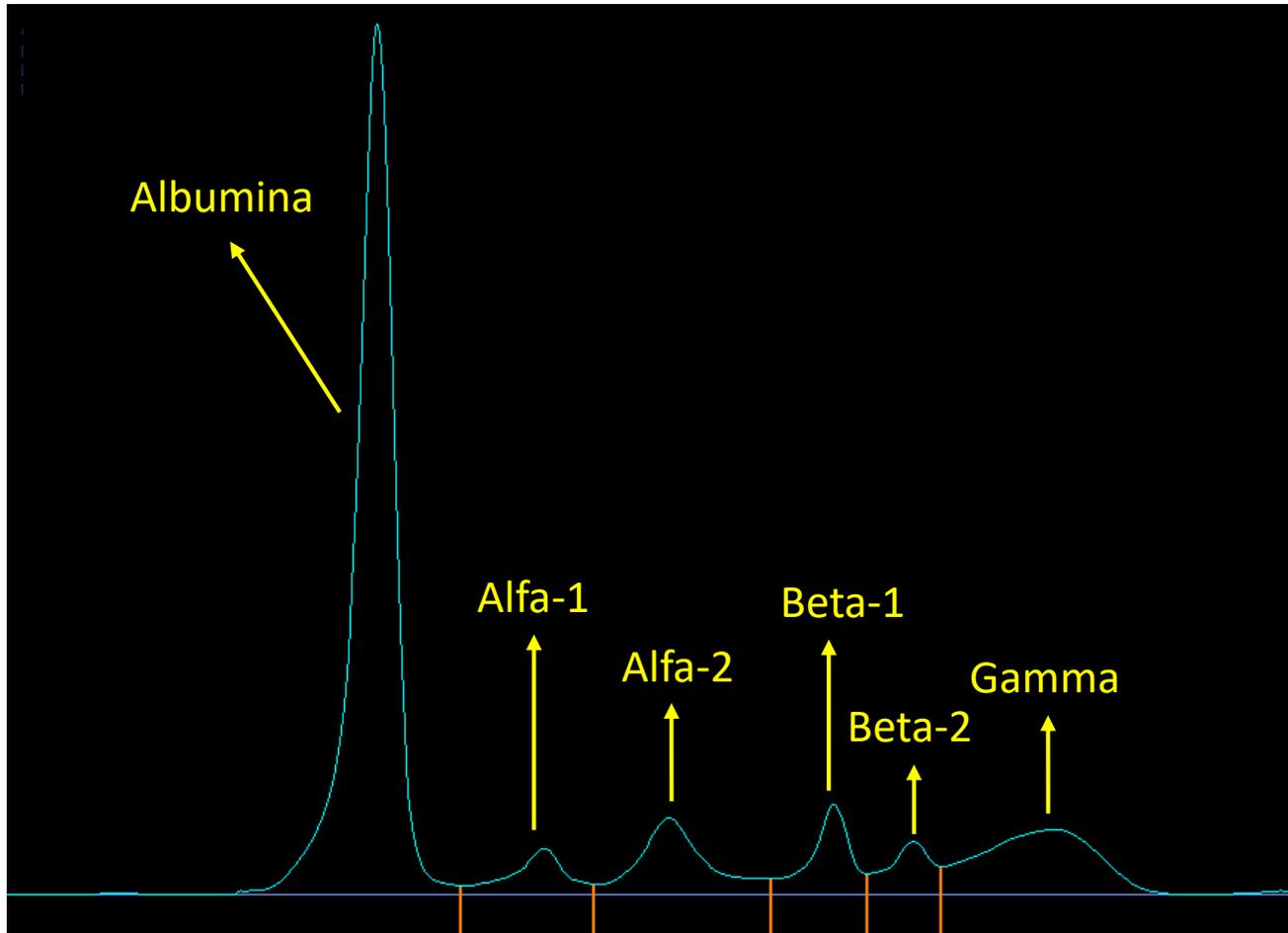
** End-organ damage includes hyper**C**alcemia, **R**enal failure, **A**nemia and **B**one lesions (**CRAB** criteria)



Definición actualizada de Mieloma Múltiple

	MM antes de 2014	MM después de 2014
Concentración de la proteína monoclonal	Sin valor cut-off	Sin valor cut-off
Células plasmáticas anormales en médula ósea	> 10%	> 10%
Daño en órganos	CRAB +	<ul style="list-style-type: none"> ▪ CRAB + o - Relación i/u sFLC ≥ 100 - > 1 lesión ósea en la RMN - Células plasmáticas anormales en medula ósea > 60%

Electroforesis de proteínas séricas: 6 fracciones



Albúmina:

- Transtiretrina
- Bilirrubina
- Lipoproteínas
- Productos de contraste
- Antibióticos

Alfa-1:

- Alfa-1 glicoproteína acida
- Alfa-1 antitripsina

Alfa-2:

- Alfa-2 macroglobulina
- Haptoglobina

Beta-1:

- Hemopexina
- Transferrina
- Hb libre

Beta-2:

- Complemento C3
- Complemento C4
- CRP
- IgA policlonal

Gamma:

- IgM policlonal
- IgG policlonal

RESULTADO NORMAL

Fraction values

Names	%	g/l
Albumine	61,6	44,7
Alpha 1	4,5	3,3
Alpha 2	9,3	6,8
Beta 1	6,3	4,6
Beta 2	4,1	3,0
Gamma	14,2	10,3

1. Fracción gamma con aspecto de campana de Gauss
2. Ausencia de pico (s) o deformación (es) en gamma, beta-1, beta-2 y alfa-2
3. Valores de las fracciones dentro del rango de referencia

Valores de referencia normales

Instructivo de uso de la técnica:

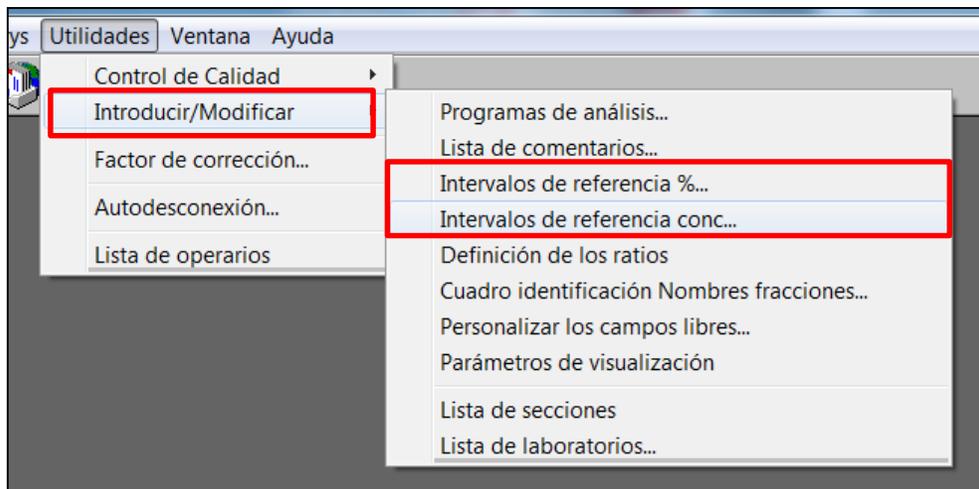
	CAPILLARYS PROTEIN(E) 6
Albúmina	55,8 - 66,1 %
Alfa-1 globulinas	2,9 - 4,9 %
Alfa-2 globulinas	7,1 - 11,8 %
Beta globulinas	8,4 - 13,1 %
<i>Beta-1 globulinas</i>	4,7 - 7,2 %
<i>Beta-2 globulinas</i>	3,2 - 6,5 %
Gamma globulinas	11,1 - 18,8 %

PT: 7,2 g/dL



	g/dL
Albúmina	40,2 – 47,6
Alfa-1	2,1 -3,5
Alfa-2	5,1 – 8,5
Beta-1	3,4 – 5,2
Beta-2	2,3 – 4,7
Gamma	8,0 – 13,5

Software Phoresis:



Configuration																				
<input type="checkbox"/> Default configuration																				
Manage categories Prog.: PROTEIN(E) 6																				
Data																				
Title: PROTEIN(E) 6																				
Fractions	.Frac 1		.Frac 2		.Frac 3		.Frac 4		.Frac 5		.Frac 6		.Frac 7		.Frac 8		.Frac 9		.Frac 10	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
1 Frac.																				
2 Frac.																				
3 Frac.																				
4 Frac.																				
5 Frac.	40,2	47,6	2,1	3,5	5,1	8,5	6	9,4	8	13,5										
6 Frac.	40,2	47,6	2,1	3,5	5,1	8,5	3,4	5,2	2,3	4,7	8	13,5								
7 Frac.																				
8 Frac.																				
9 Frac.																				
10 Frac.																				

g/dL

Valores de referencia en niños

		ESTABLISHMENT OF REFERENCE RANGES FOR SERUM PROTEIN CAPILLARY ELECTROPHORESIS IN THE PEDIATRIC POPULATION						
Valériane BATO¹, Bruno PEREIRA², Bertrand EVRARD³, Loïc PIOT¹, Vincent SAPIN¹, Anne FOGLI¹								
<small>¹ Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand ; ² Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation (DRCI), CHU de Clermont-Ferrand, ³ Service d'Immunologie, CHU de Clermont-Ferrand</small>								
Age ranges	Proteins (g/L): median	Albumin (%) Albumin (g/L)	α 1-glob (%) α 1-glob (g/L)	α 2-glob (%) α 2-glob (g/L)	β 1-glob (%) β 1-glob (g/L)	β 2-glob (%) β 2-glob (g/L)	γ -glob (%) γ -glob (g/L)	
< 6 months	64.5	58.9 – 73.4 27.3 – 49.1	3.2 – 11.7 2.1 – 5.4	10.6 – 14 5.3 – 9.8	4.8 – 7.9 2.2 – 4.6	2.1 – 3.3 1.1 – 2.1	3.50 – 9.7 1.7 – 6.3	
6 months to 1 year	70	57.4 – 71.4 36 – 50.6	3 – 5 2 – 3.7	10.2 – 16.1 6.3 – 12.1	5.3 – 6.9 3.3 – 4.9	2.1 – 3.6 1.4 – 2.6	4.2 – 11 2.8 – 8	
1 year to 2 years	72.5	57.4 – 69 38.7 – 51.1	3.2 – 5.4 2.4 – 4	10.7 – 15.5 7.8 – 11.6	5.6 – 7 3.7 – 5.2	2.3 – 3.5 1.6 – 2.7	5.8 – 12.1 4.2 – 8.8	
2 years to 7 years	71	57.5 – 67.7 30.5 – 48.9	3.3 – 5.4 2 – 3.7	10 – 14.8 5.6 – 10.6	5.2 – 7 2.8 – 5.2	2.6 – 4.2 1.5 – 3.1	7.7 – 14.8 4.6 – 10.7	
\geq 7 years	73	57.1 – 67.2 30.9 – 49.5	3.2 – 4.9 1.7 – 3.7	8.9 – 13 4.8 – 9.7	5.1 – 6.9 2.7 – 5.2	2.9 – 5.2 1.7 – 3.9	9.8 – 16.9 6 – 12.7	
Adults	Range 60-80	55.8 – 66.1 40.2 – 47.6	2.9 – 4.9 2.1 – 3.5	7.1 – 11.8 5.1 – 8.5	4.7 – 7.2 3.4 – 5.2	3.2 – 6.5 2.3 – 4.7	11.1 – 18.8 8 – 13.5	

Creación de nuevos rangos etarios en Phoresis

Utilidades / Introducir-Modificar / Intervalos de referencia (% , conc):

Introducción / Modificación Intervalos de Referencia conc.

Configuración

Configuración por defecto

Gestión de las categorías Prog.: **PROTEIN(E) 6**

Datos

Título **PROTEIN(E) 6**

Fracciones	.Frac 1		.Frac 2		.Frac 3		.Frac 4		.Frac 5		.Frac 6		.Frac 7		.Frac 8		.Frac 9		.Frac 10		
	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	
1 Frac.																					
2 Frac.																					
3 Frac.																					
4 Frac.																					
5 Frac.	40,2	47,6	2,1	3,5	5,1	8,5	6	9,4	8	13,5											
6 Frac.	40,2	47,6	2,1	3,5	5,1	8,5	3,4	5,2	2,3	4,7	8	13,5									
7 Frac.																					
8 Frac.																					
9 Frac.																					
10 Frac.																					

Reinicializar Borrar la rejilla Guardar Cerrar

Configuración de las categorías

Escoja un modo de configuración

Asistente (modo simple)

Modo avanzado

Anular << Anterior Siguiente >>

Category configuration

+ **x** **↓** **↑**

code
nbrFrac
Age

Category details

Properties

Name Age

Label Values according age

Item label Age range

Key Eta

Type interval

Items

+ **x** **↓** **↑**

Adult
Child 8-18
Child 2-7
Child 2 or less

Name Child 2 or less

Label Child 2 or less

Interval

From 1 To 2

Cancel Close

Creación de nuevos rangos etarios en Phoresis

Utilidades / Introducir-Modificar / Intervalos de referencia (% , conc):

Configuration

Default configuration

Manage categories | Prog.: PROTEIN(E) 6

Values according age: **Adult**

- Adult
- Child 8-18
- Child 2-7
- Child 2 or less

Data

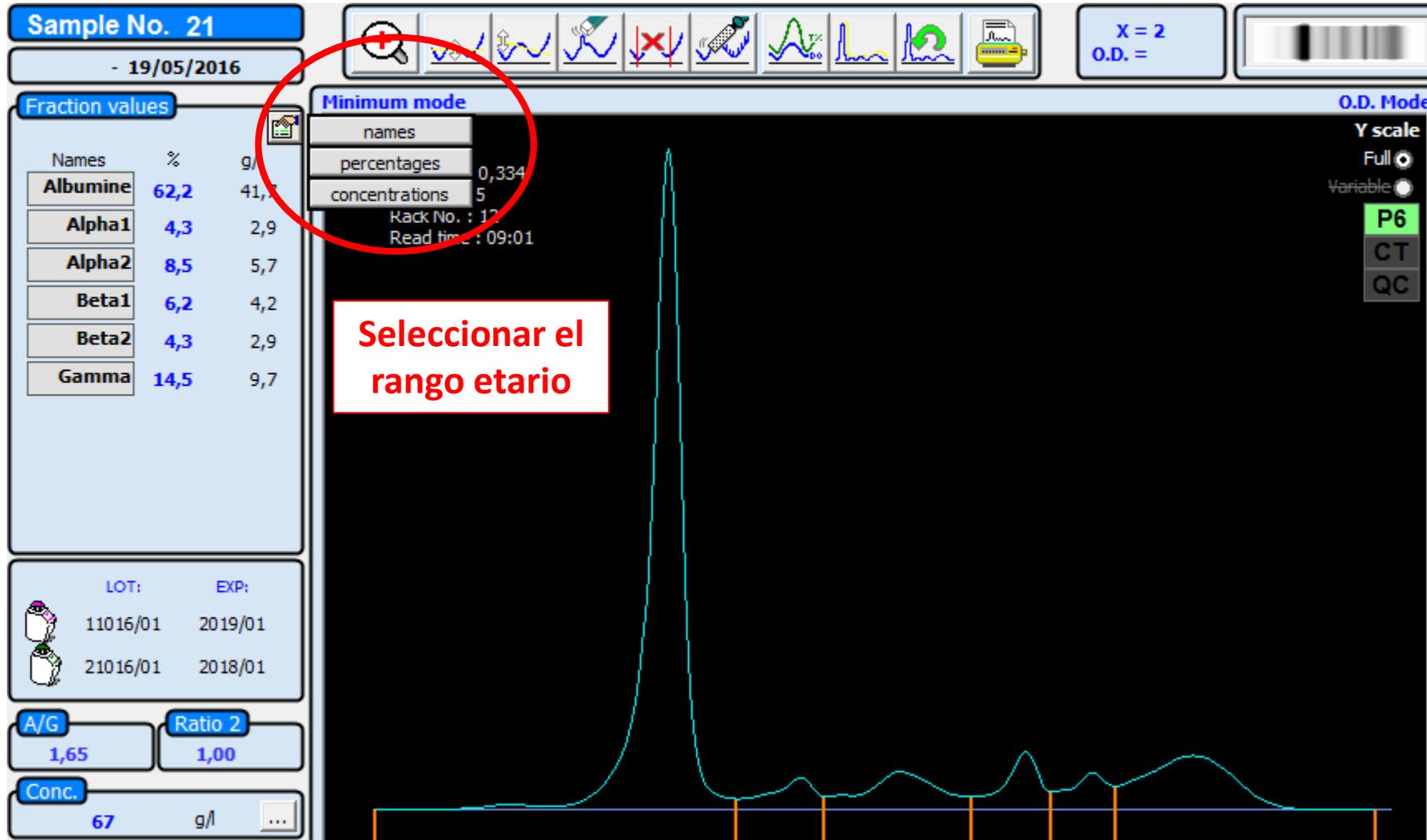
Title: PROTEIN(E) 6 / Adult

	.Frac 1		.Frac 2		.Frac 3		.Frac 4		.Frac 5		.Frac 6		.Frac 7		.Frac 8		.Frac 9		.Frac 10	
Fractions	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
1 Frac.																				
2 Frac.																				
3 Frac.																				
4 Frac.																				
5 Frac.	55,8	66,1	2,9	4,9	7,1	11,8	8,4	13,1	11,1	18,8										
6 Frac.	55,8	66,1	2,9	4,9	7,1	11,8	4,7	7,2	3,2	6,5	11,1	18,8								
7 Frac.																				
8 Frac.																				
9 Frac.																				
10 Frac.																				

Reset to default values | Erase grid | Save | Close

Ingresar los valores de referencia para cada uno de los rangos etarios

Utilización de los rangos etarios



Albúmina

(VR= 40,2 – 47,6 g/L)

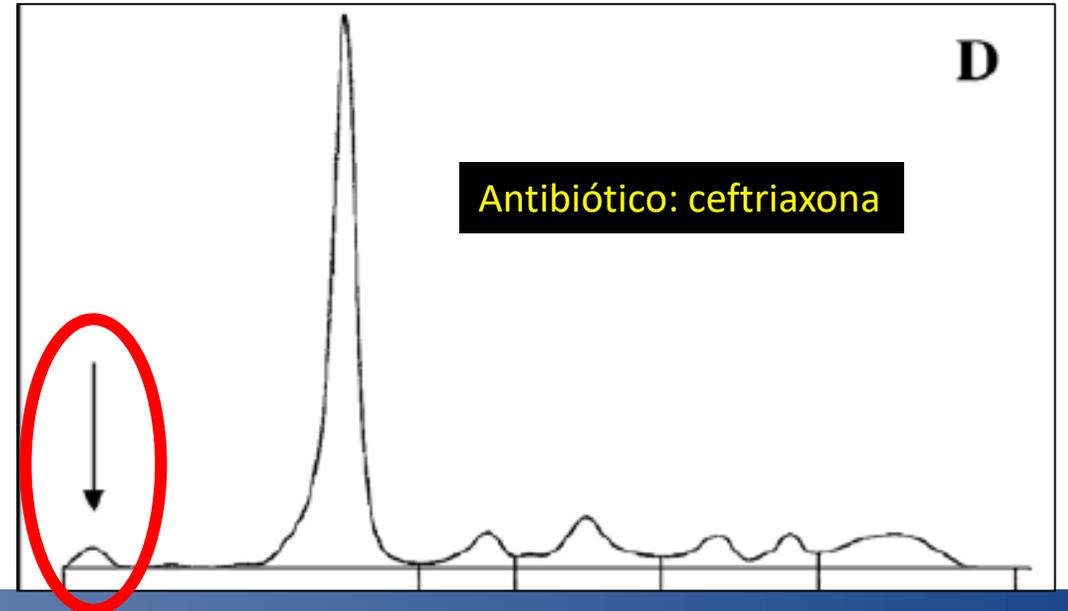
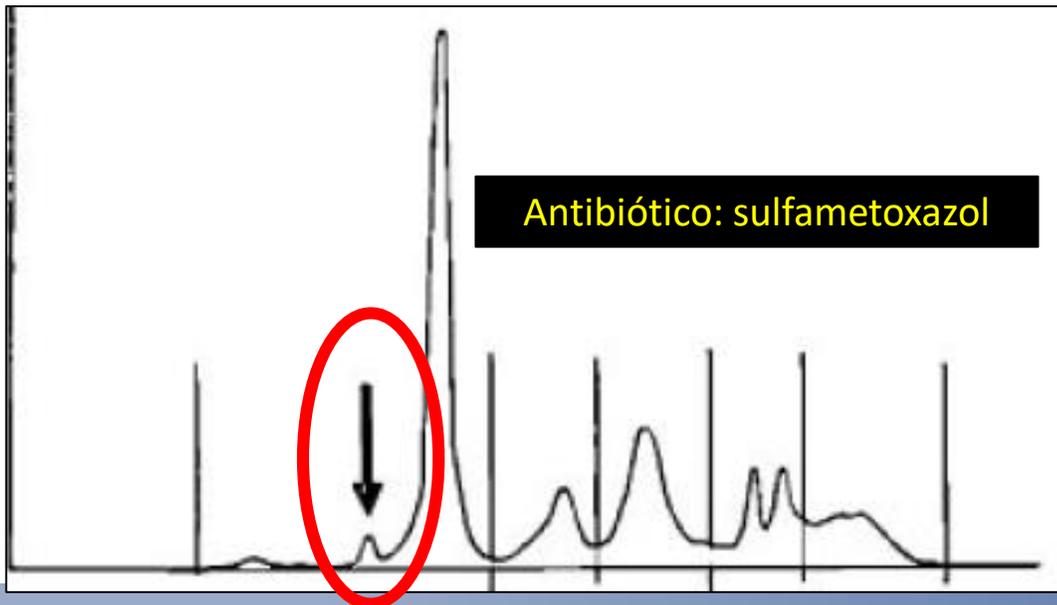
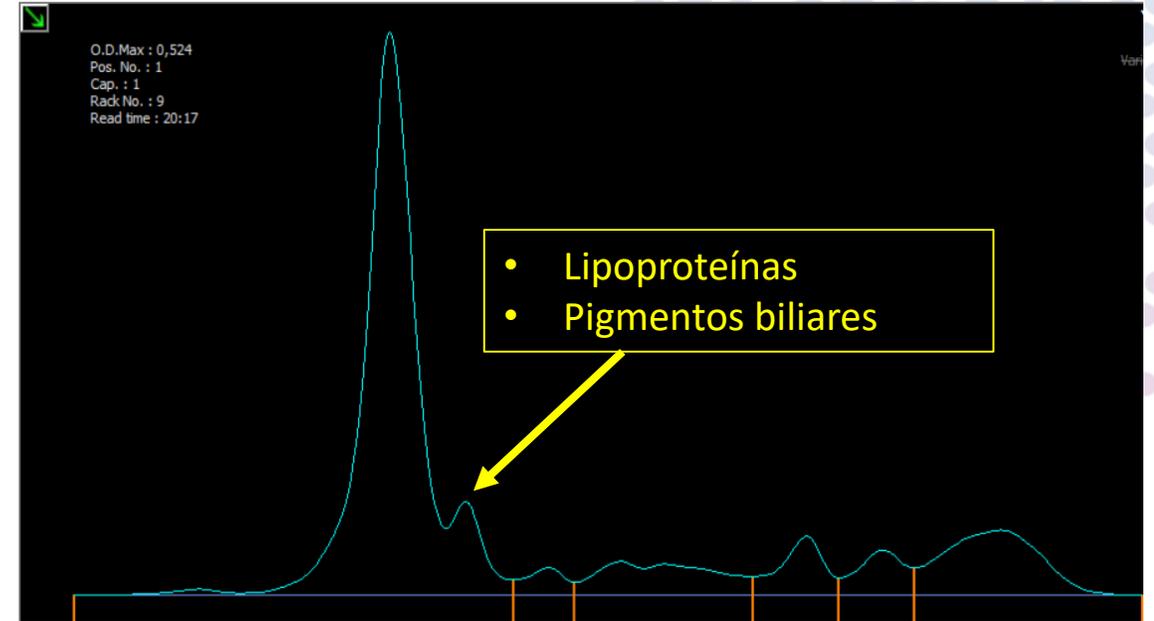
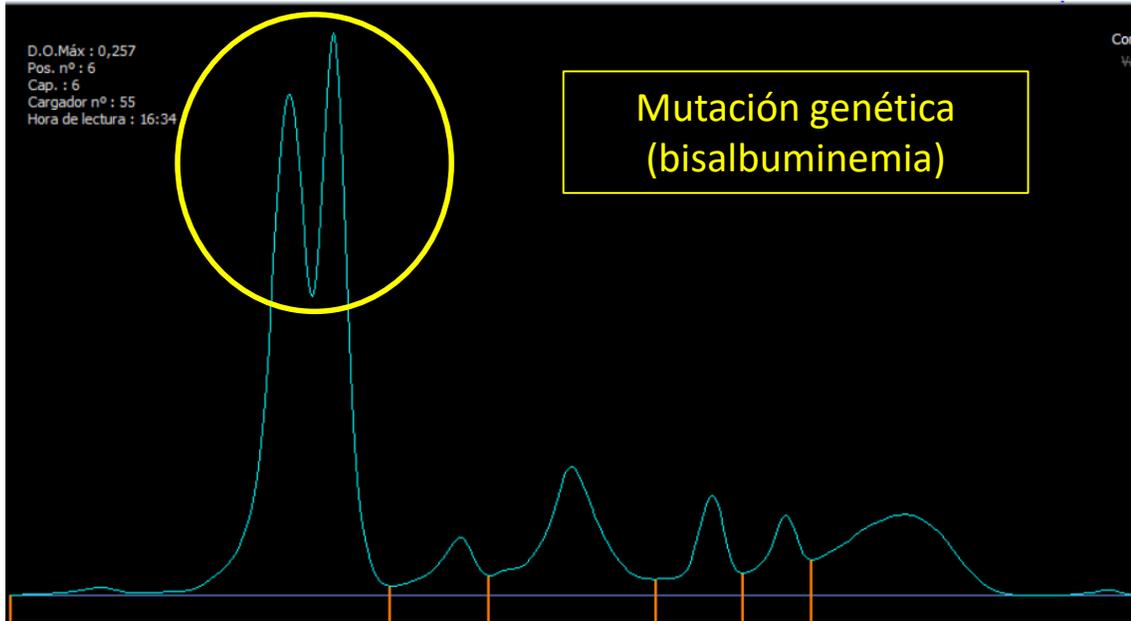
DISMINUCION

- Baja producción de albúmina por parte del hígado (enfermedad hepática)
- Aumento de la pérdida o degradación de la albúmina
- Desnutrición
- Pérdida renal (ej: síndrome nefrótico)
- Terapia hormonal
- Embarazo
- Quemaduras

AUMENTO

- Deshidratación

Albúmina



Alfa-1

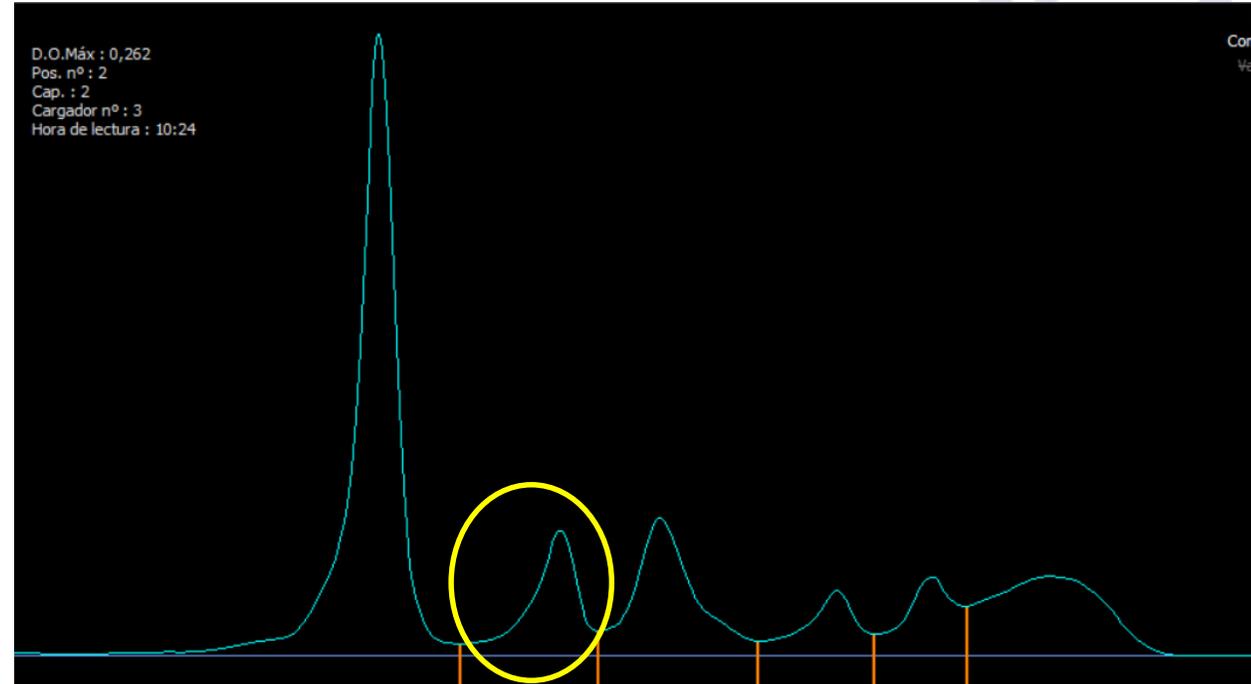
(VR= 2,1 – 3,5 g/L)

DISMINUCION

- Deficiencia de alfa-1 antitripsina
- Enfermedad hepática

AUMENTO

- Inflamación aguda
- Inflamación crónica
- Embarazo



Alfa-2

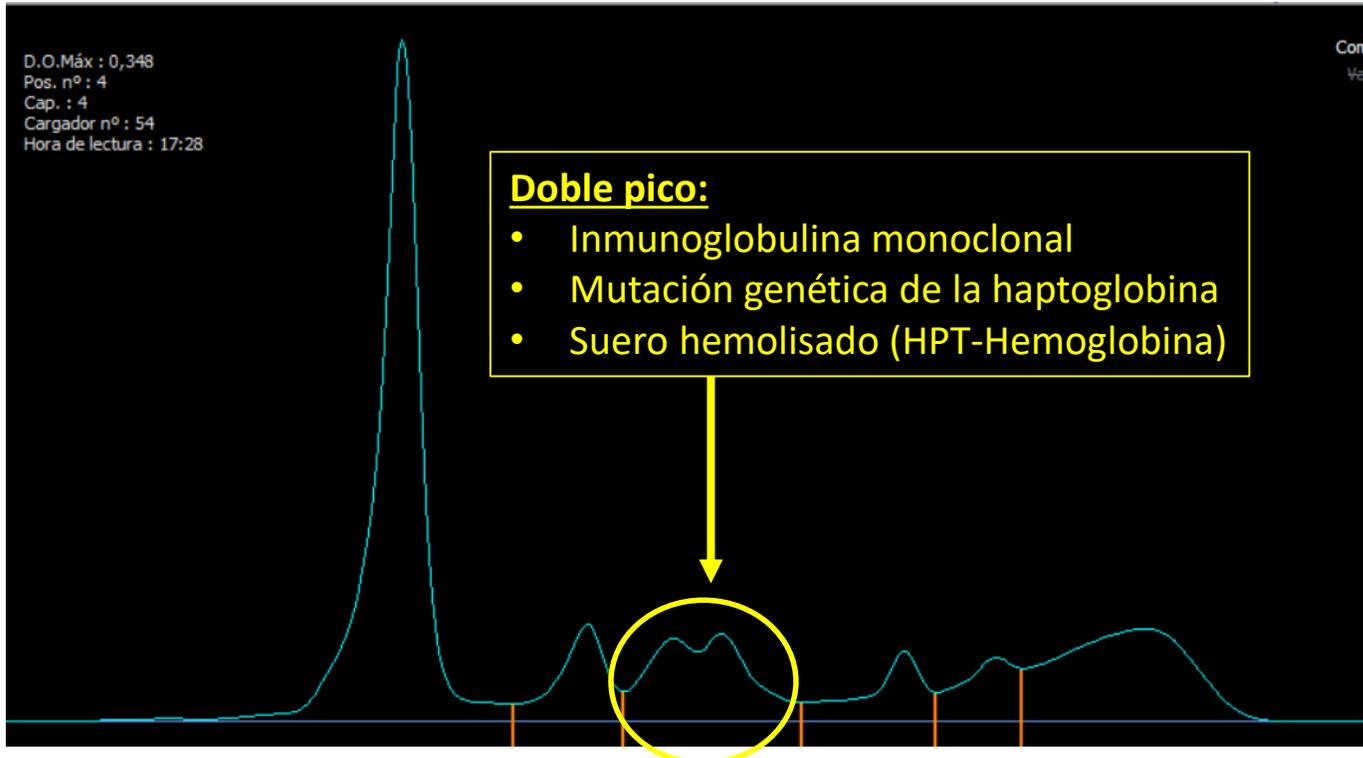
(VR= 5,1 – 8,5 g/L)

DISMINUCION

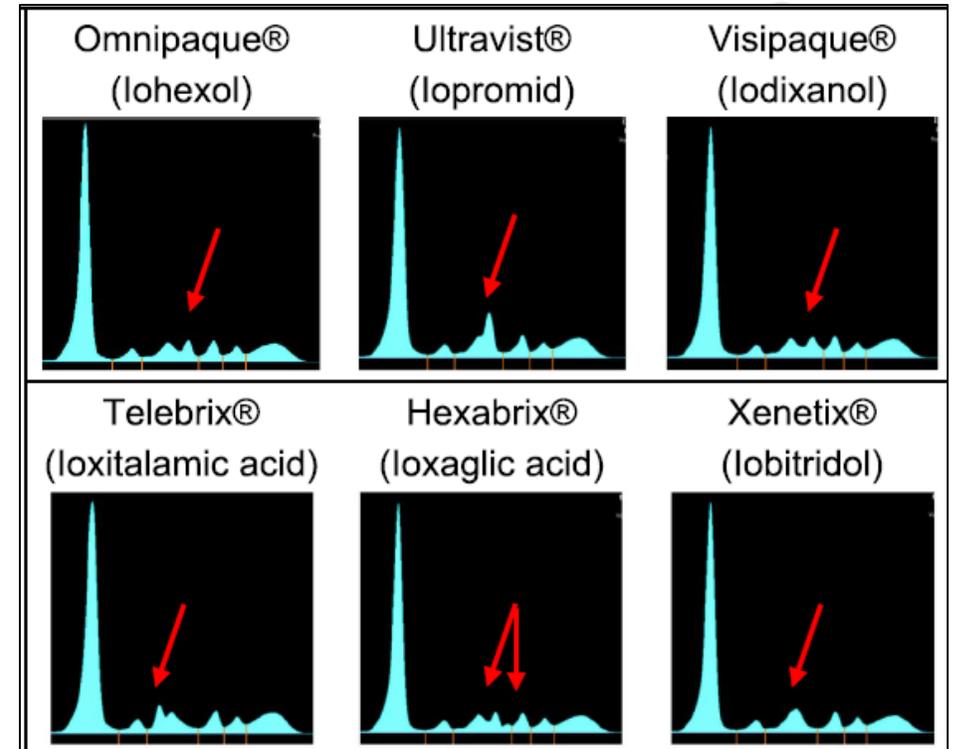
- Hemólisis
- Desnutrición

AUMENTO

- Inflamación aguda
- Inflamación crónica
- Síndrome nefrótico



Productos de contraste

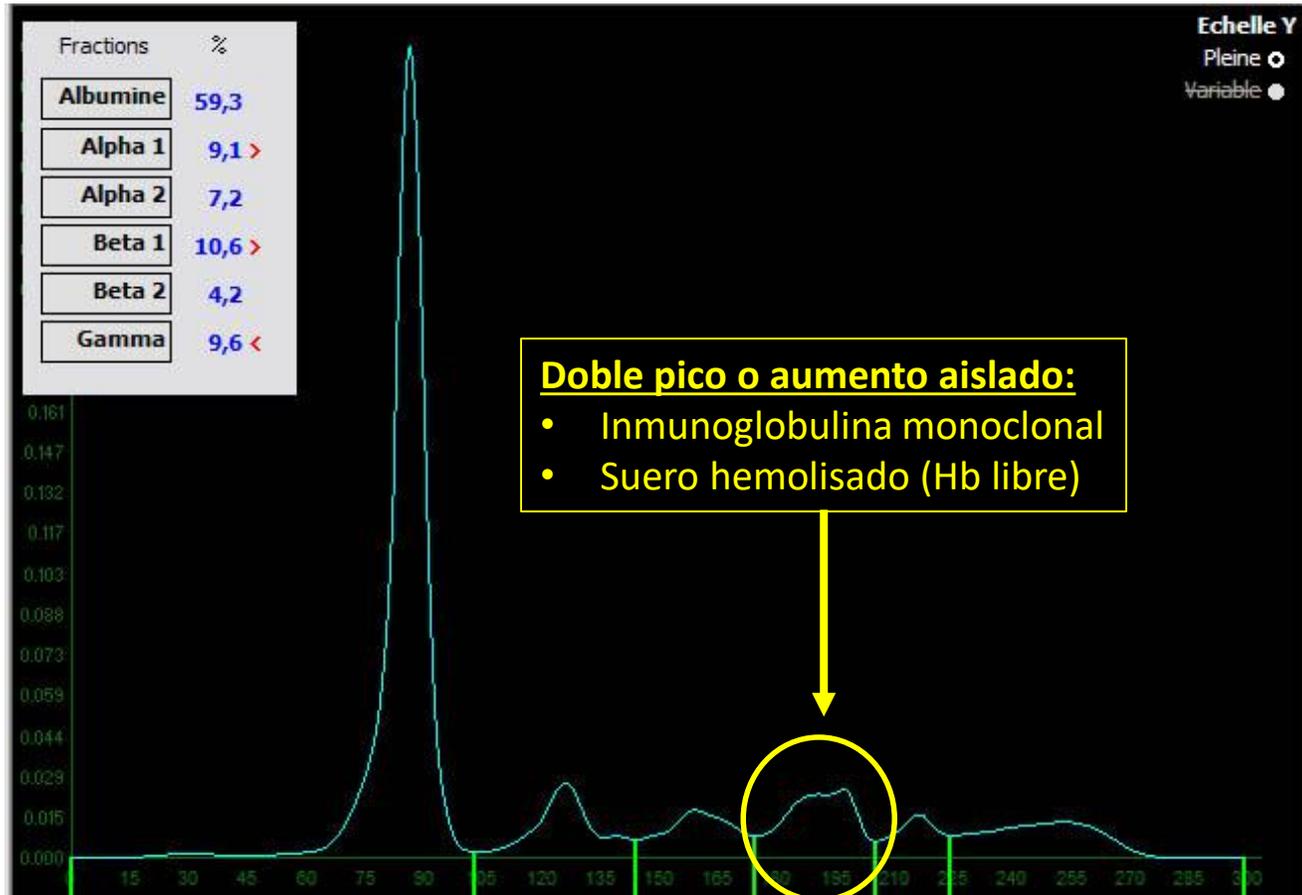


Beta-1

(VR = 3,4 – 5,2 g/L)

AUMENTO

- Deficiencia de hierro (aumento Tf)

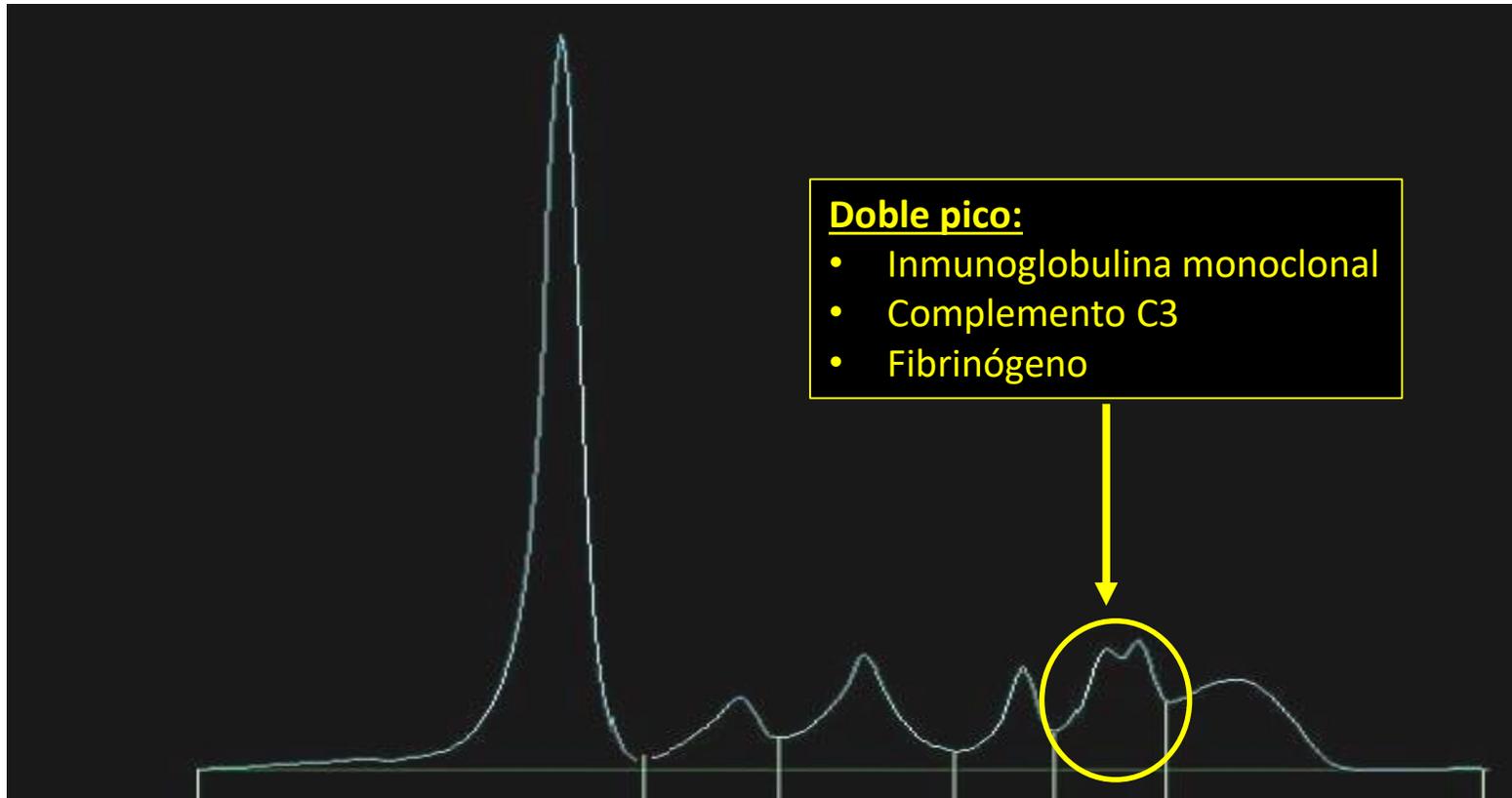


Beta-2

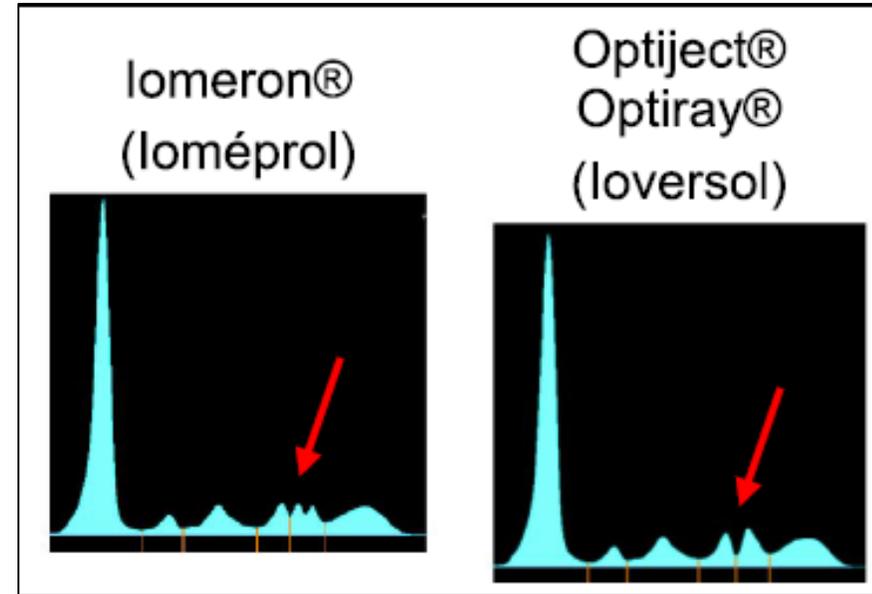
(VR= 2,3 – 4,7 g/L)

AUMENTO

- Aumento policlonal IgA
- Cirrosis biliar
- Aumento policlonal de la subclase IgG4



Productos de contraste



Gamma

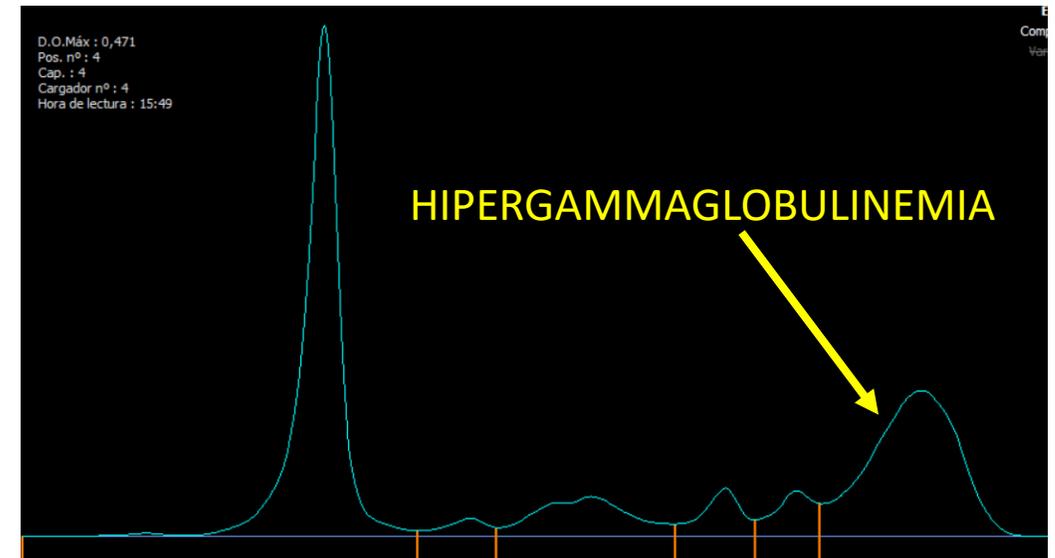
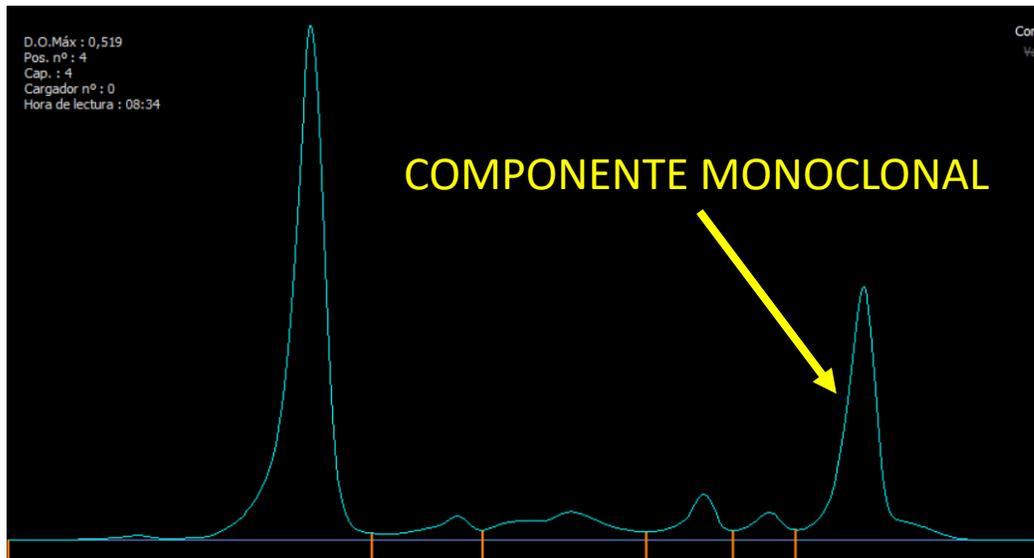
(VR= 8,0 – 13,5 g/L)

DISMINUCION: Hipogammaglobulinemia

- Enteropatía perdedora de proteínas
- Desnutrición

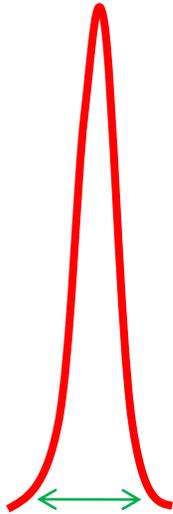
AUMENTO: Hipergammaglobulinemia

- Inflamación crónica
- Cirrosis
- Componente monoclonal



Características de la fracción gamma

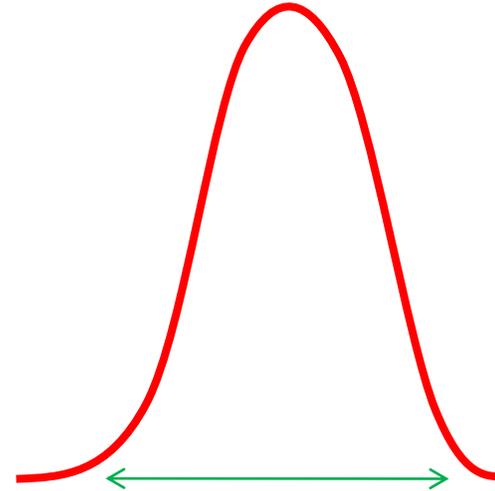
Parte superior en punta



Base estrecha

Inmunoglobulina monoclonal

Parte superior redondeada



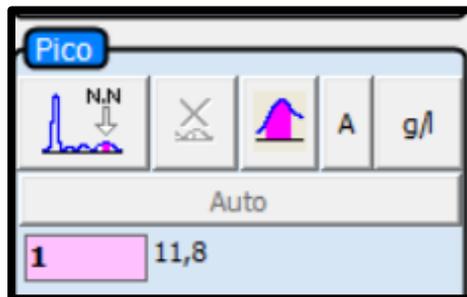
Base ancha

Aumento policlonal de inmunoglobulinas

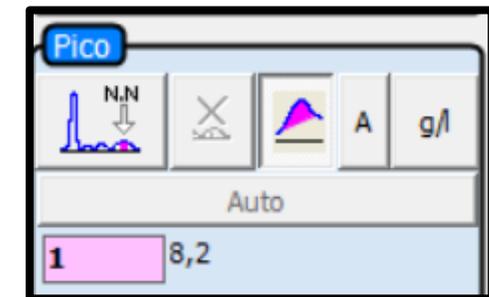
Cuantificación del pico monoclonal

MODO ORTOGONAL

MODO TANGENCIAL



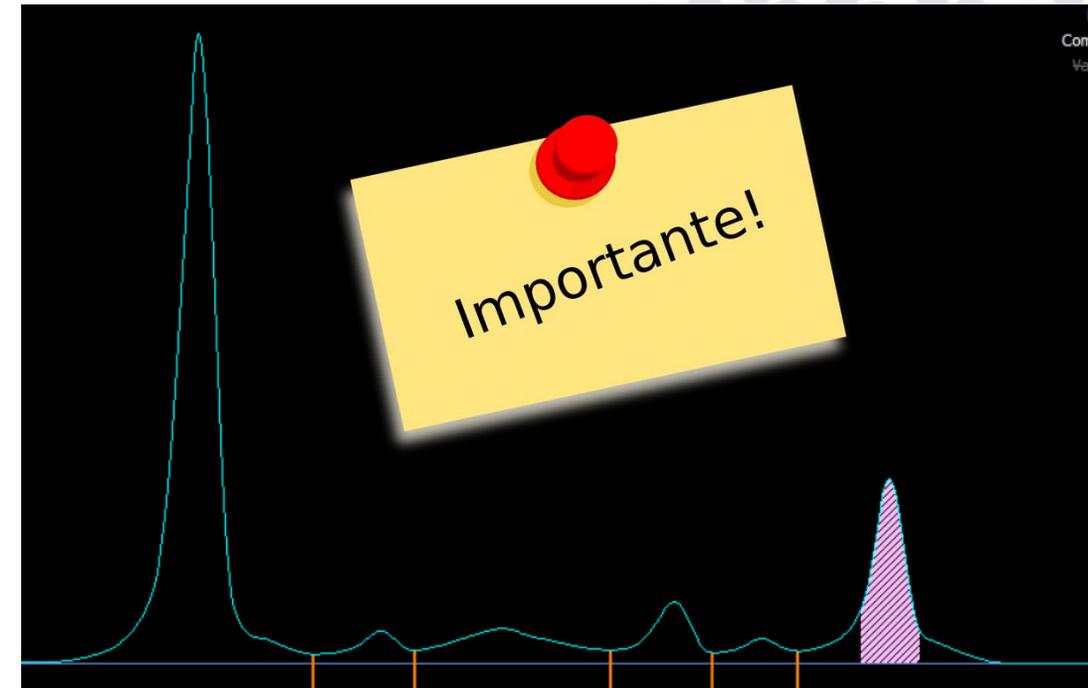
Imperativo:
El laboratorio debe seleccionar un modo de cuantificación y utilizarlo para todos los pacientes



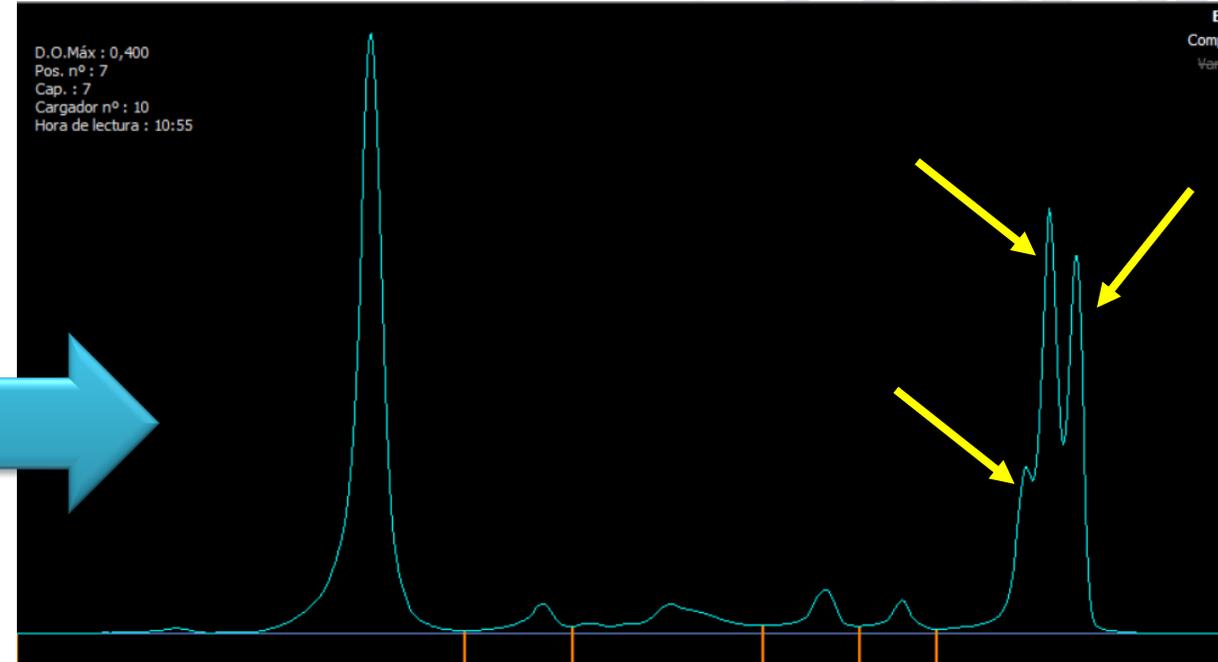
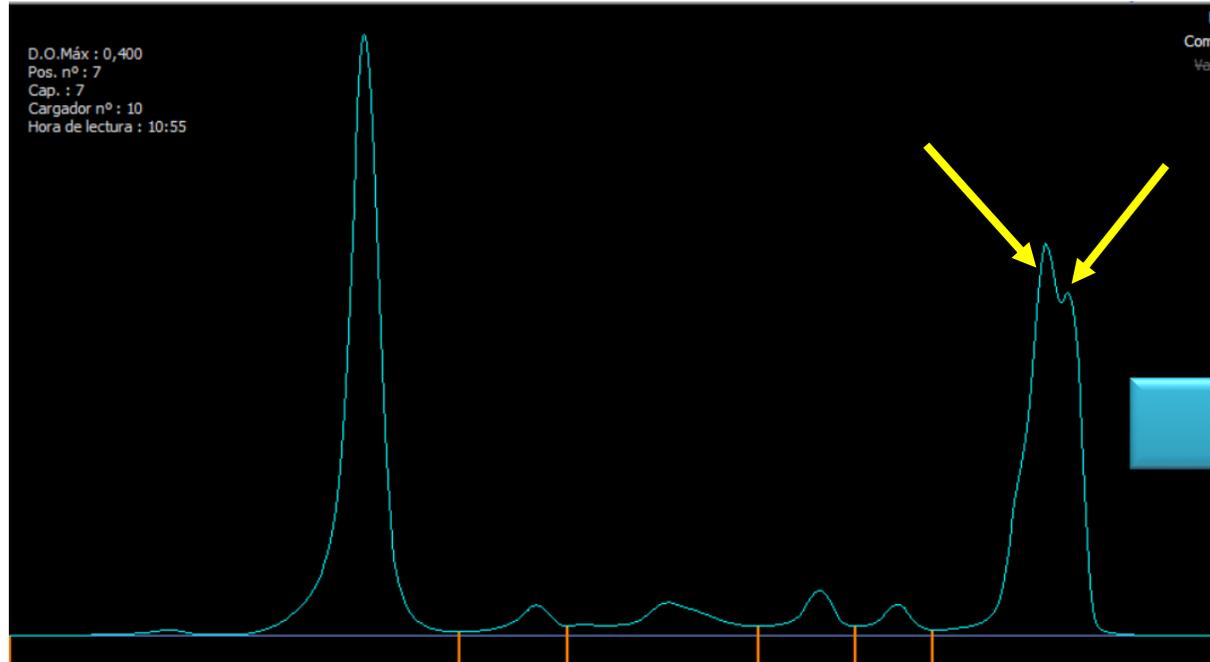
Cuantificación del pico monoclonal es importante

La concentración de la inmunoglobulina monoclonal se requiere para:

- ✓ Clasificación del mieloma (MGUS, SM o MM)
- ✓ Estadío del MM (I, II y III)
- ✓ Seguimiento de la evolución de la enfermedad (evolución de estado no maligno a un estado maligno)
- ✓ Evaluación de la respuesta al tratamiento



1, 2 o más distorsiones?

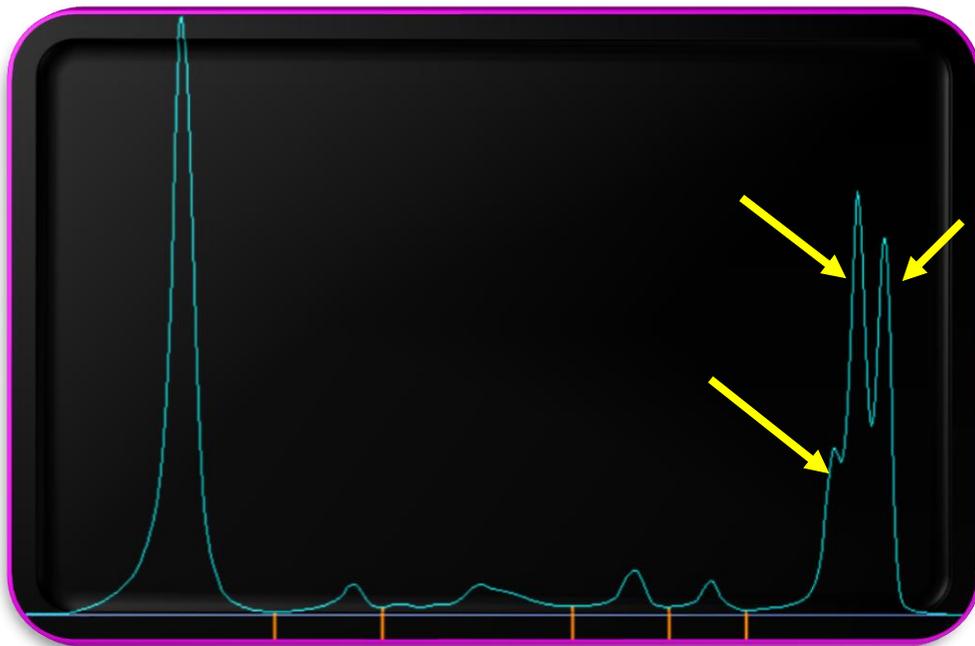


ALISADO 2: POR DEFECTO



ALISADO 0

Perfil oligoclonal o proteína polimerizada?



Tratamiento con β -mercaptoetanol (BME)

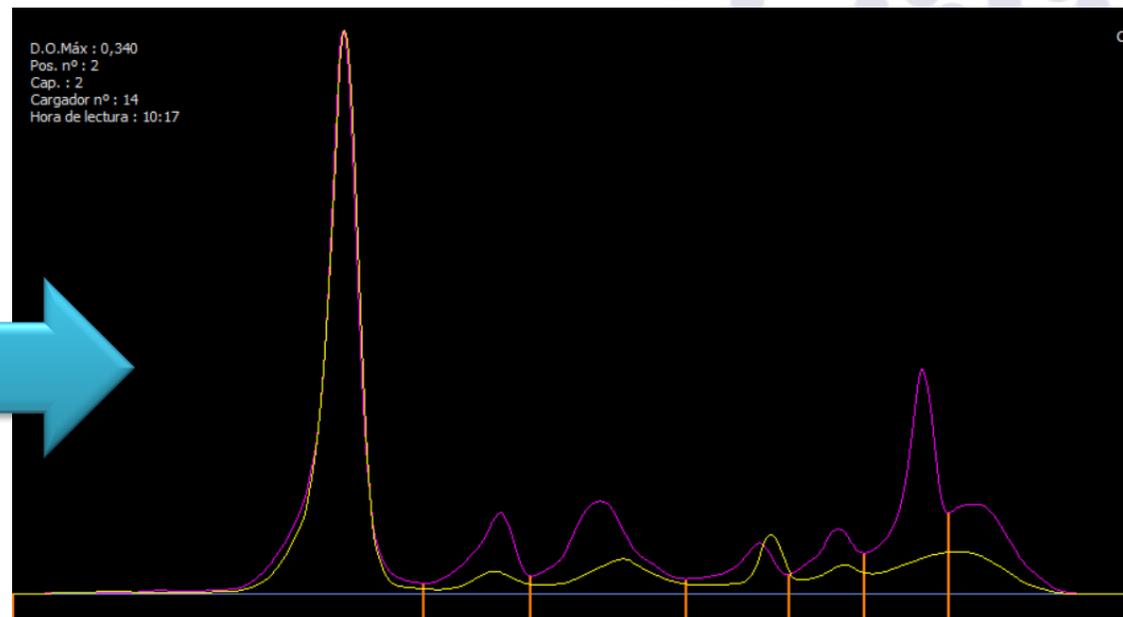
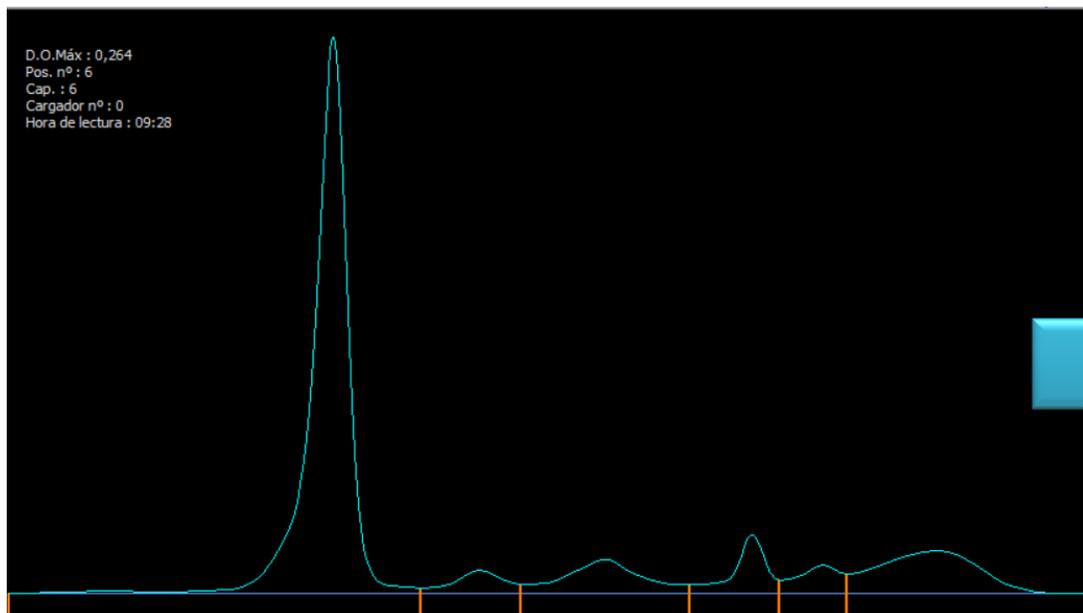
- 1) Preparar una solución reductora de BME al 1% :
 - a) 10 μ L BME + 90 μ L H₂O = SOLUCION A
 - b) 10 μ l SOLUCION A + 90 μ L Fluidil = SOLUCION B
- 2) Mezclar 25 μ L de SOLUCION B + 75 μ L suero
- 3) Homogenizar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente
- 4) Analizar la muestra tratada inmediatamente

Tratamiento con Ditiotreitól (DTT)

- 1) Reconstituir 1 vial de 1 g de DTT (SIGMA – Ref D9163) con 13 mL de diluyente DTT
- 2) Mezclar 100 μ L de solución reductora + 300 μ L de suero puro
- 3) Homogenizar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente
- 4) Analizar la muestra tratada inmediatamente

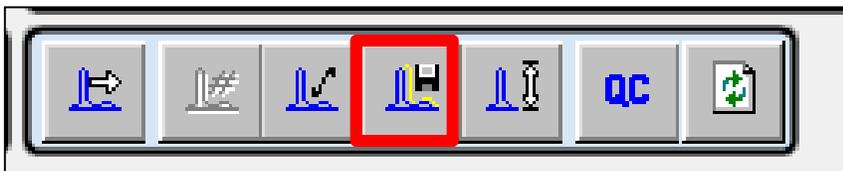


Curva de referencia



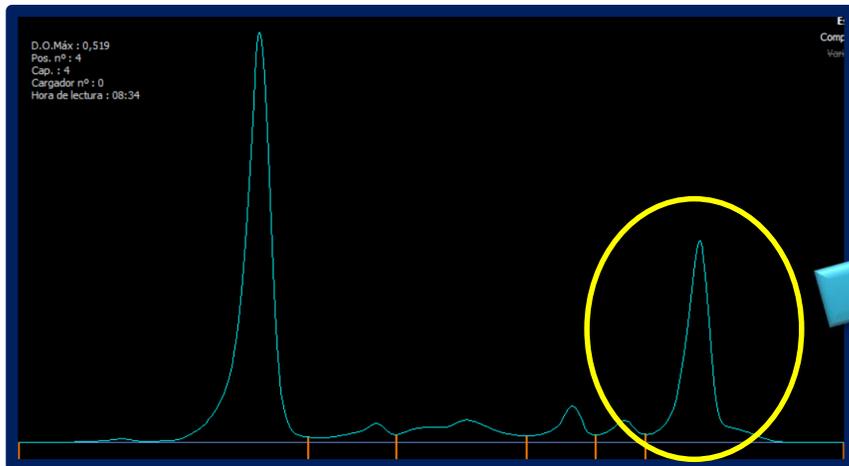
1) Guardar como curva de referencia el **CONTROL NORMAL DEL DIA**

2) Superponer la **CURVA DE REFERENCIA DEL DIA** con la de la muestra



Recomendaciones para el reporte de la electroforesis de proteínas séricas

- ✓ Los laboratorios deben reportar la misma cantidad de información y en el mismo formato
- ✓ Los reportes que indiquen la presencia de una inmunoglobulina monoclonal deben incluir el isotipo (si se conoce previamente) y su concentración (g/L)
- ✓ Cuando las pruebas de confirmación (IF, por ejemplo) no son posibles / no están disponibles, debe indicarse que hay una anomalía presente y recomendar pruebas adicionales
- ✓ Se debe incluir la cuantificación de las fracciones proteicas en g/L (idealmente 6 fracciones)
- ✓ Se deben incluir los valores de referencia normales para cada fracción

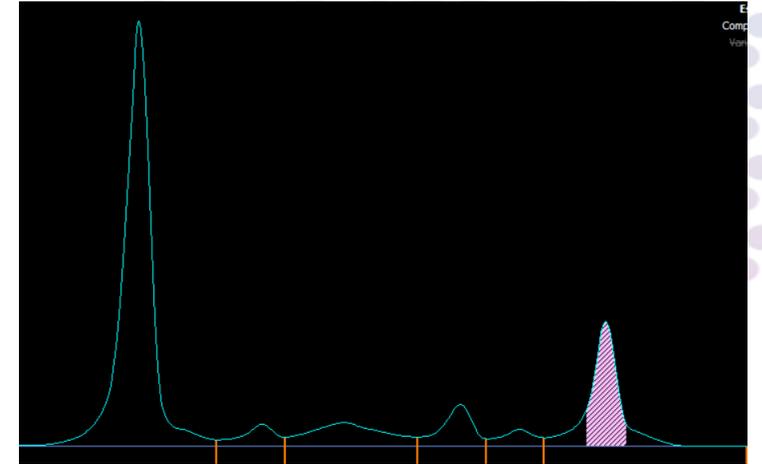


Nomenclatura recomendada:

- Proteína monoclonal
- Inmunoglobulina monoclonal
- *Cadenas livianas libres monoclonales*
- *Cadenas pesadas libres monoclonales*

Cuantificación de la proteína monoclonal

- Proteína monoclonal en región gamma: modo tangencial / modo ortogonal
- Varias proteínas monoclonales en región gamma: cada proteína monoclonal debe ser cuantificada independientemente



- Proteínas monoclonales muy pequeñas: no deben ser cuantificadas si son <1 g/L



Reportar como “Presencia de proteína monoclonal de concentración < 1 g/L”

- Proteínas monoclonales que co-migran con otras proteínas: reportar el valor de la « fracción (alfa-2 o beta) + proteína monoclonal »



En estos casos, la cuantificación total de inmunoglobulinas por nefelometría/turbidimetría será mas útil para monitorear la proteína monoclonal

Recomendaciones para el reporte de la electroforesis de proteínas séricas

Es importante que la persona que interpreta los perfiles electroforéticos conozca los tipos de interferencias y sepa cuales son las opciones para resolverlas:

Interferente	Método afectado	Acción para resolverlo
Fibrinógeno	SPE/IFE (gel y EC)	Tratamiento con trombina, precipitación con etanol
Productos de contraste	EC	IF/IT no se ve afectado
Antibióticos	SPE (gel y EC)	IF/IT no se ve afectado
Hemólisis	SPE (gel y EC)	IF/IT no se ve afectado
Terapias monoclonales	SPE/UPE/IFE (gel y EC)	Contexto clínico, pruebas que cambian la migración

*EC: Electroforesis Capilar



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinbiochem



Synoptic reporting for protein electrophoresis and immunofixation

Christopher R. McCudden^{a,*}, Ronald A. Booth^a, Danny C.C. Lin^a, Arleigh McCurdy^{b,c},
Natasha Rupani^{b,c}, Andrea Kew^{b,c}

^a Dept. of Pathology & Lab. Medicine, Division of Biochemistry, University of Ottawa, Canada

^b Dept. of Medicine, Division of Hematology, University of Ottawa, Canada

^c Myeloma Program, The Ottawa Hospital, Canada



Table 1

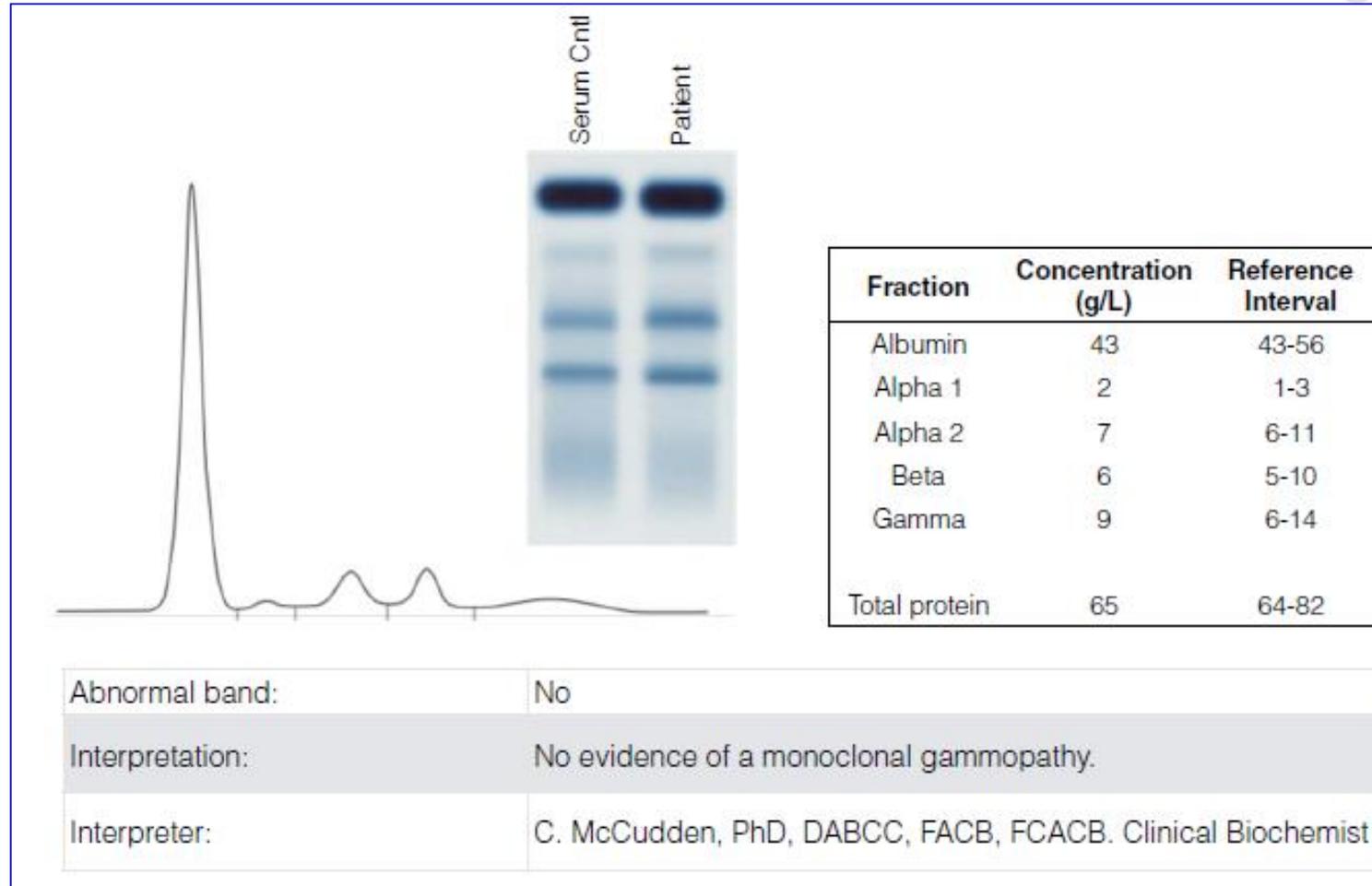
Synoptic reporting template for SPE and UPE.

Field	Content
1). Abnormal band ^a :	Yes/No/Equivocal
2). Band description: (if necessary)	Number and position of abnormal bands. Limitation of band quantitation as relevant to interpretation
3). Previous history: (if available)	History of previous analyses (SPE and IFE). Source of orders from other hospitals would be provided where relevant
4). Interpretation:	Concise summary of collective pattern and if changes are noted as relevant
5). Recommendation: (where appropriate)	Description of whether repeat testing or alternative testing is recommended (e.g. UPE, sFLC); frequency of repeat testing. Use available literature and guidelines where applicable
6). Interpreter:	Who interpreted the results, contact info

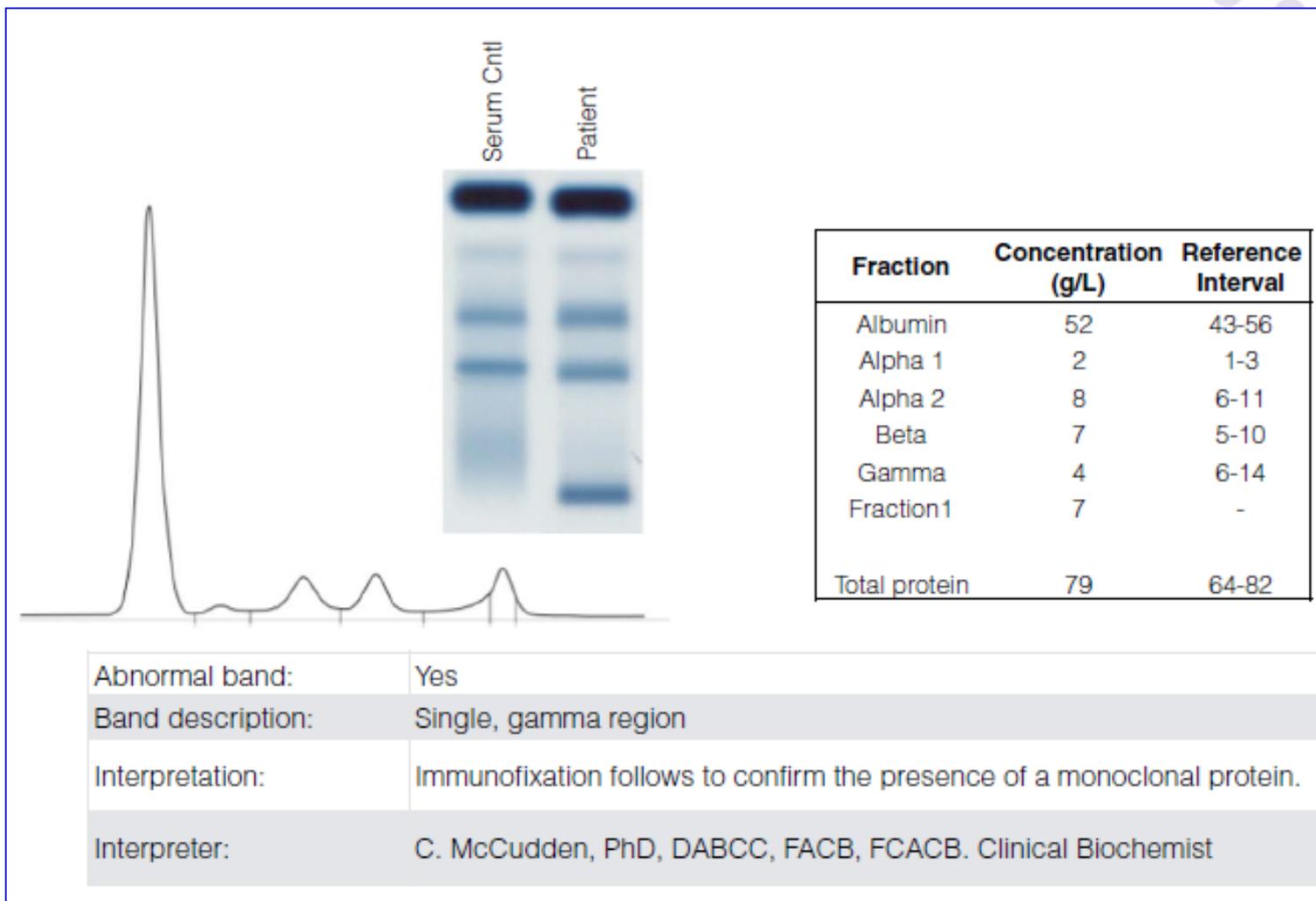
^a Defined as an abnormality that might represent a monoclonal protein.

Clinical Biochemistry 51 (2018) 21–28

Ejemplo: Reporte suero normal



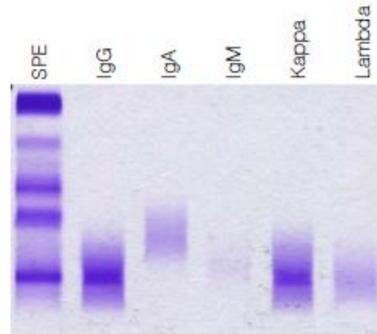
Ejemplo: Reporte suero anormal



Reporte de resultados de IF

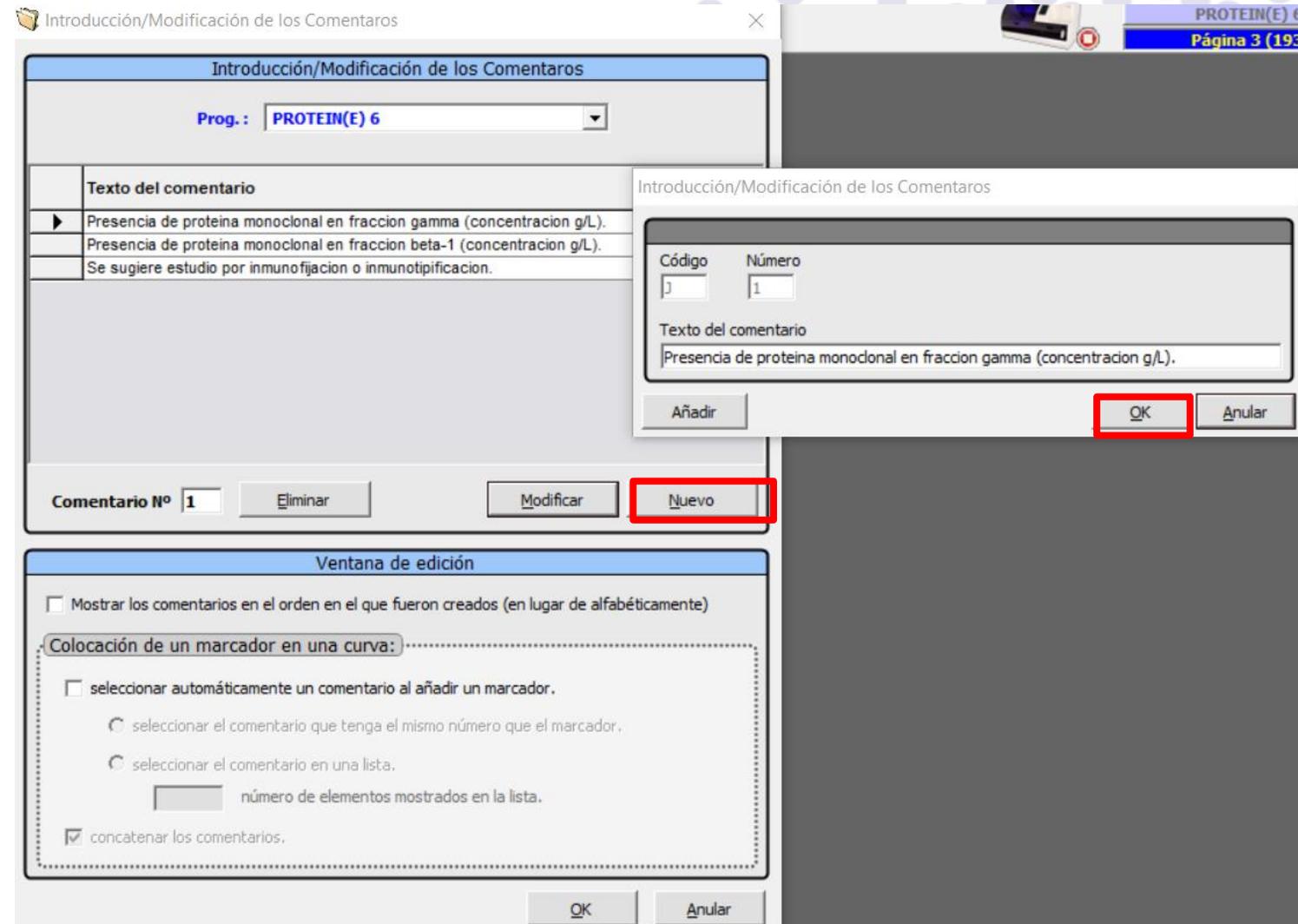
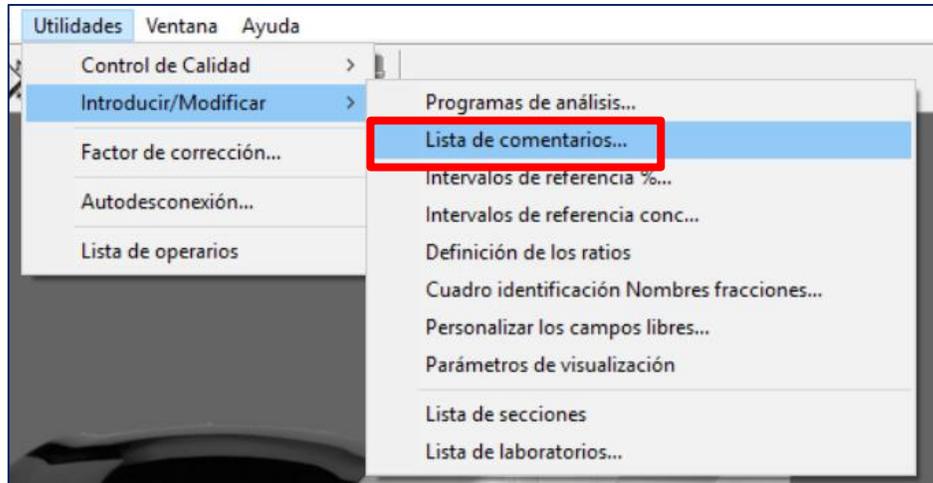
Table 2
Synoptic reporting template for IFE.

Field	Content
1). Monoclonal protein:	Yes/No/Equivocal
2) Isotype: (if present)	Isotype of intact immunoglobulin, free light chain, or heavy chain
3). Abnormal band description: (as necessary)	Number and position of abnormal bands. Align description with quantitation as relevant
4). Previous history: (if available)	History of previous analyses (IFE). Source of orders from other hospitals would be provided where relevant
5). Immunosuppression:	Yes/No
6). Interpretation: (where appropriate)	Concise summary of collective pattern and if changes are noted as relevant
7). Recommendation: (where appropriate)	Description of whether follow up and/or repeat testing; frequency of repeat testing. Use available literature and guidelines where applicable
8). Interpreter:	Who interpreted the results, contact info



Monoclonal Immunoglobulin:	Yes
Isotype	IgG kappa
Band Description (if present):	Single band in gamma region
Immunosuppression:	No
Interpretation:	IgG kappa monoclonal gammopathy
Interpreter:	C. McCudden, PhD, DABCC, FACB, FCACB. Clinical Biochemist.

Creación de una lista de comentarios estandarizados en Phoresis



Creación de una lista de comentarios estandarizados en Phoresis

The screenshot displays the Phoresis software interface. On the left, a table titled 'Valores Fracciones' lists protein fractions with their percentages and concentrations. The central area shows a gel image with a prominent peak in the beta-1 fraction. On the right, there are controls for 'Escala Y' and 'Variable', with 'P6' selected. Below the gel, a 'Comentario' field is highlighted with a red box, containing a standardized comment in Spanish.

Nombres	%	g/l
Albumina	62,4	4,0 <
Alfa 1	3,6	0,2 <
Alfa 2	10,2	0,7 <
Beta 1	6,0	0,4 <
Beta 2	4,8	0,3 <
Gamma	13,0	0,8 <

Comentario

Presencia de proteína monoclonal en fracción beta-1 (concentración g/L).
Presencia de proteína monoclonal en fracción gamma (concentración g/L).
Se sugiere estudio por inmunofijación o inmunotipificación.



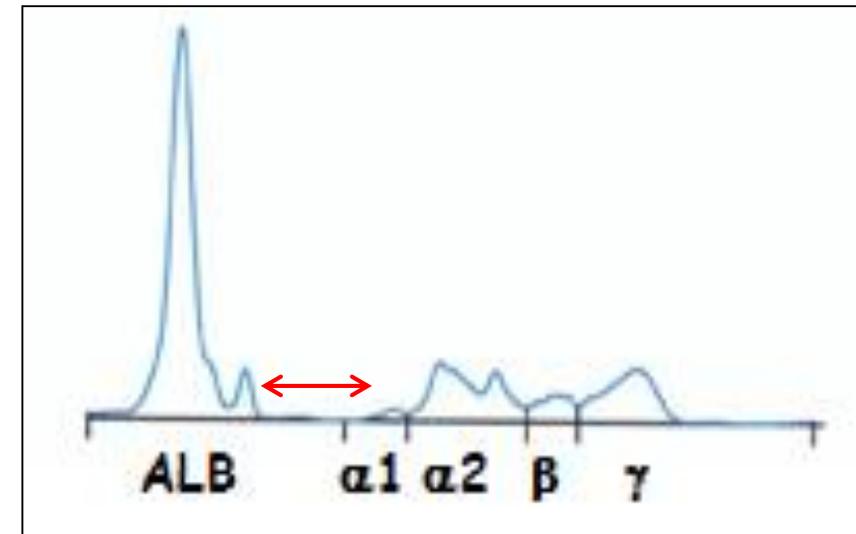
Phoresis 9.15: Modo veterinario

- 1) Seleccionar el icono « modo veterinario » antes del análisis de sueros de animales

Nota: No mezclar sueros de animales y sueros humanos en el mismo rack

- 2) Analizar los sueros de animales en el programa Protein 6:
El modo veterinario desactiva el centrado del perfil

- 3) Deseleccionar el icono « modo veterinario » para el análisis de sueros humanos





**MUCHAS GRACIAS
POR SU ATENCION**

nsanz@sebia.com

sebia