

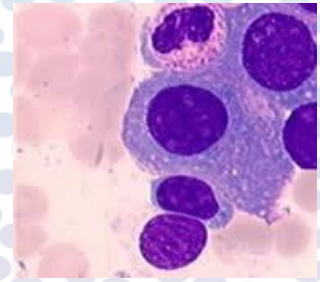
# Electroforesis de Proteínas séricas

María de las Nieves Sanz  
Asesor Científico

[nsanz@sebia.com](mailto: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

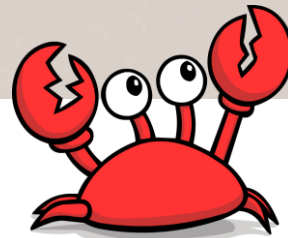
75% de los  
componentes  
monoclonales

# 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

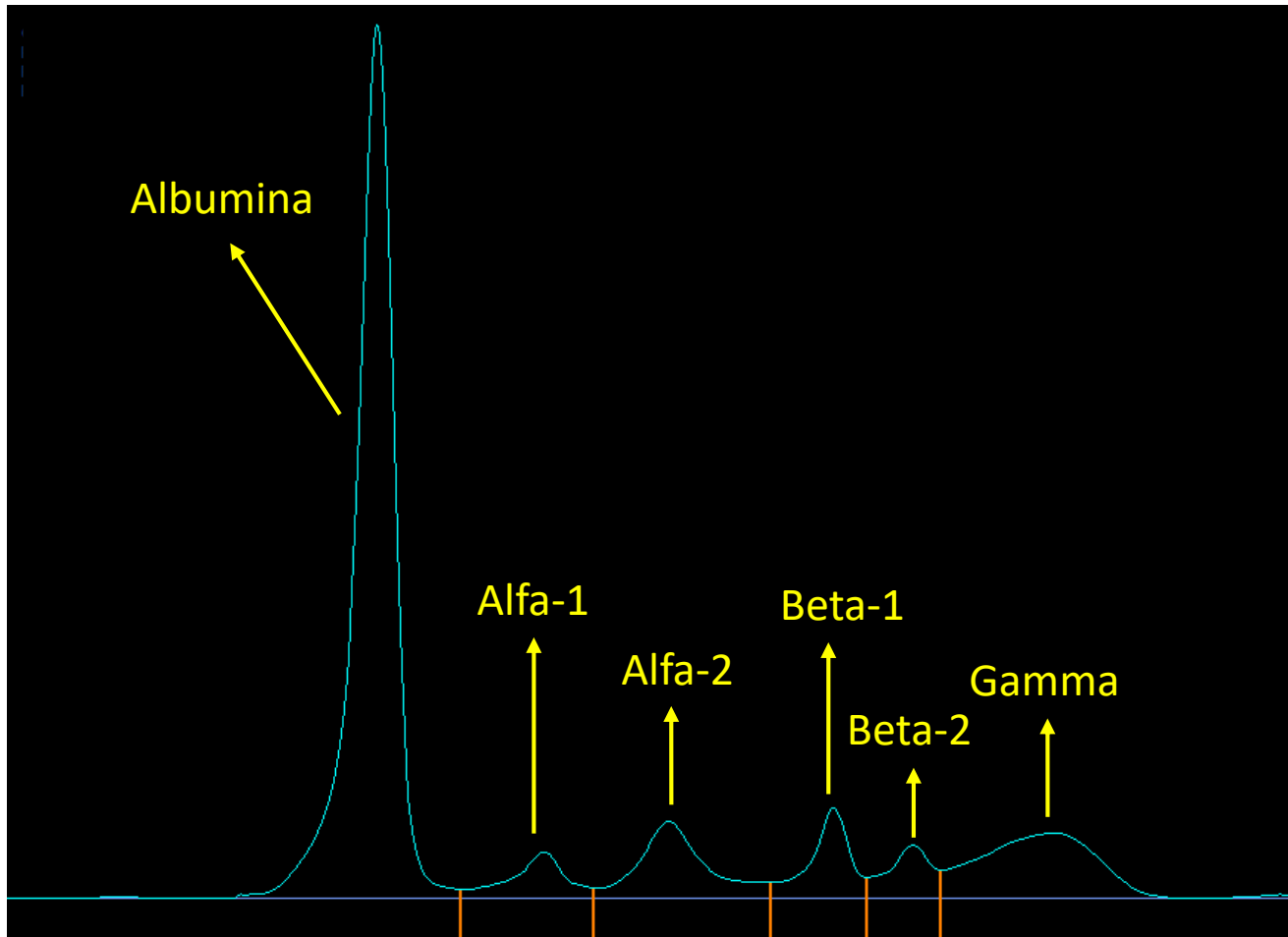
\*\* End-organ damage includes hyper**C**alcemia, **R**enal failure, **A**nemia and **B**one lesions (**CRAB** criteria)



# 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"> <li>▪ CRAB +</li> <li>o</li> <li>- Relación i/u sFLC <math>\geq 100</math></li> <li>- &gt; 1 lesión ósea en la RMN</li> <li>- Células plasmáticas anormales en medula ósea &gt; 60%</li> </ul>

# 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
<b>Albumine</b>	<b>61,6</b>	44,7
<b>Alpha 1</b>	<b>4,5</b>	3,3
<b>Alpha 2</b>	<b>9,3</b>	6,8
<b>Beta 1</b>	<b>6,3</b>	4,6
<b>Beta 2</b>	<b>4,1</b>	3,0
<b>Gamma</b>	<b>14,2</b>	10,3

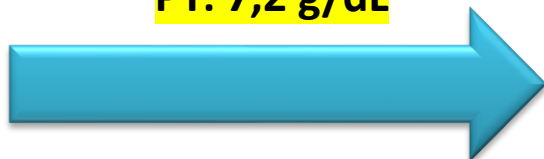
1. Fracción gamma con aspecto de campana de Gauss
2. Ausencia de pico (s) o deformación (es) en gamma, beta-1, beta-2 y alfa-2
3. Valores de las fracciones dentro del rango de referencia

# Valores de referencia normales

## Instructivo de uso de la técnica:

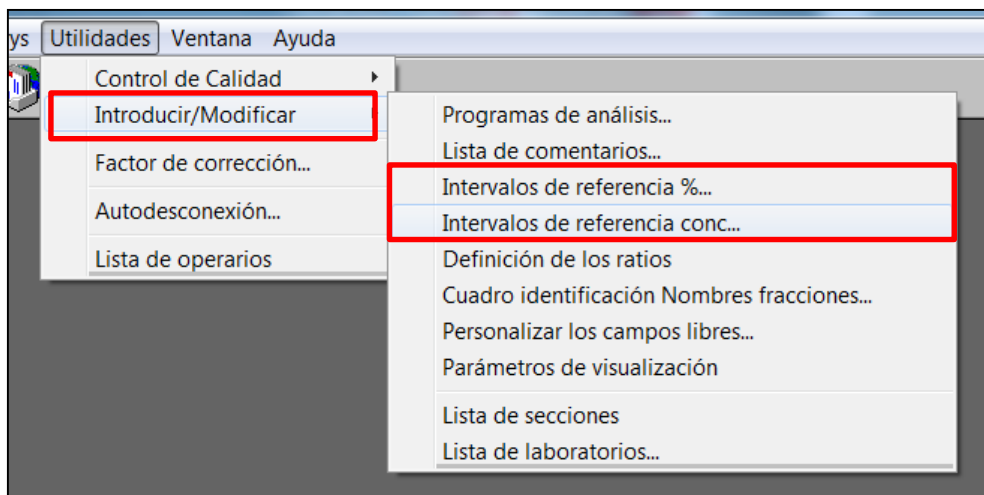
	CAPILLARYS PROTEIN(E) 6
Albúmina	55,8 - 66,1 %
Alfa-1 globulinas	2,9 - 4,9 %
Alfa-2 globulinas	7,1 - 11,8 %
Beta globulinas	8,4 - 13,1 %
<i>Beta-1 globulinas</i>	4,7 - 7,2 %
<i>Beta-2 globulinas</i>	3,2 - 6,5 %
Gamma globulinas	11,1 - 18,8 %

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**

Default configuration  
 Manage categories | Prog.: **PROTEIN(E) 6**



**Data**

Title: **PROTEIN(E) 6**

	.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.	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

		<b>ESTABLISHMENT OF REFERENCE RANGES FOR SERUM PROTEIN CAPILLARY ELECTROPHORESIS IN THE PEDIATRIC POPULATION</b>						
<b>Valériane BATO<sup>1</sup>, Bruno PEREIRA<sup>2</sup>, Bertrand EVRARD<sup>3</sup>, Loïc PIOT<sup>1</sup>, Vincent SAPIN<sup>1</sup>, Anne FOGLI<sup>1</sup></b>								
<small><sup>1</sup> Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand ; <sup>2</sup> Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation (DRCI), CHU de Clermont-Ferrand, <sup>3</sup> Service d'Immunologie, CHU de Clermont-Ferrand</small>								
Age ranges	Proteins (g/L): median	Albumin (%) Albumin (g/L)	$\alpha$ 1-glob (%) $\alpha$ 1-glob (g/L)	$\alpha$ 2-glob (%) $\alpha$ 2-glob (g/L)	$\beta$ 1-glob (%) $\beta$ 1-glob (g/L)	$\beta$ 2-glob (%) $\beta$ 2-glob (g/L)	$\gamma$ -glob (%) $\gamma$ -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	
≥ 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

code  
nbrFrac  
Age

**Category details**

**Properties**

Name Age

Label Values according age

Item label Age range

Key Eta

Type interval

**Items**

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

Sample No. 21  
- 19/05/2016

**Fraction values**

Names	%	g/l
Albumine	62,2	41,7
Alpha1	4,3	2,9
Alpha2	8,5	5,7
Beta1	6,2	4,2
Beta2	4,3	2,9
Gamma	14,5	9,7

**Minimum mode**

- names
- percentages 0,334
- concentrations 5

Rack No. : 12  
Read time : 09:01

**Y scale**  
Full   
Variable   
P6  
CT  
QC

**LOT:** 11016/01    **EXP:** 2019/01  
21016/01    2018/01

**A/G** 1,65    **Ratio 2** 1,00  
**Conc.** 67 g/l

**Seleccionar el rango etario**

# Albúmina

(VR= 40,2 – 47,6 g/L)

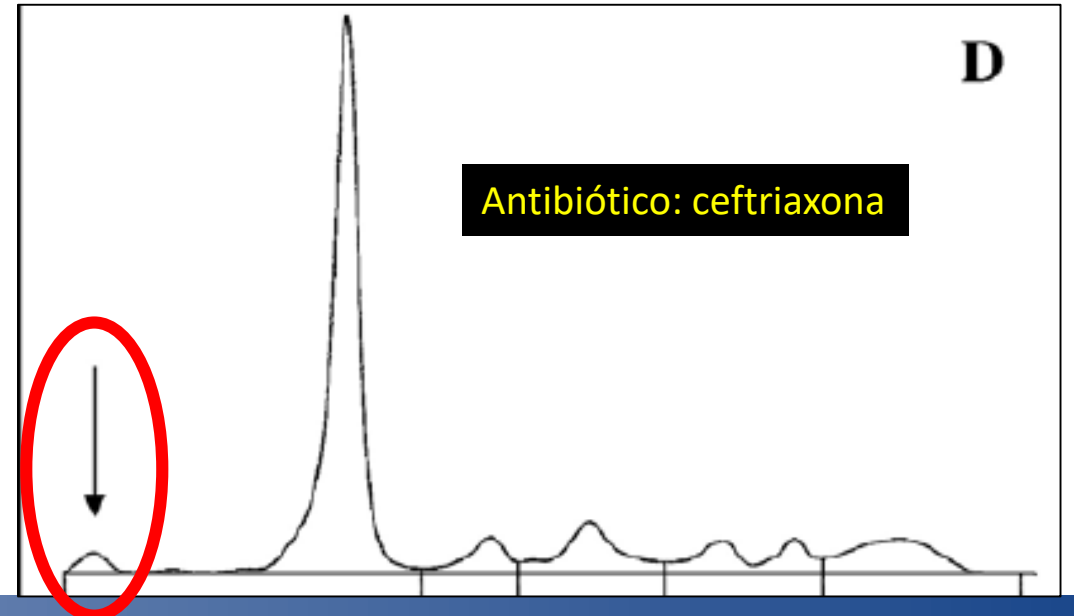
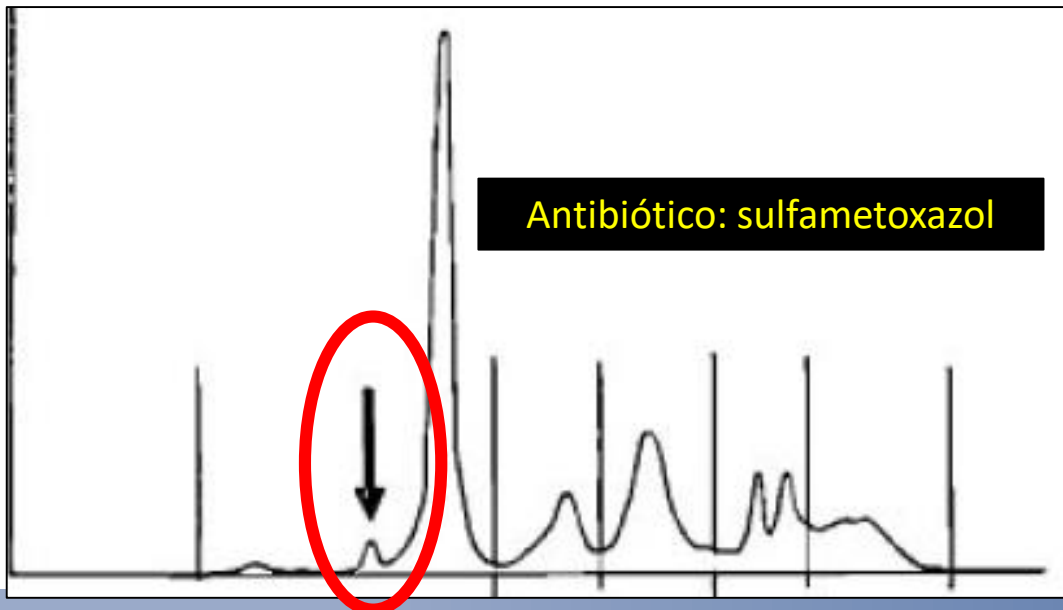
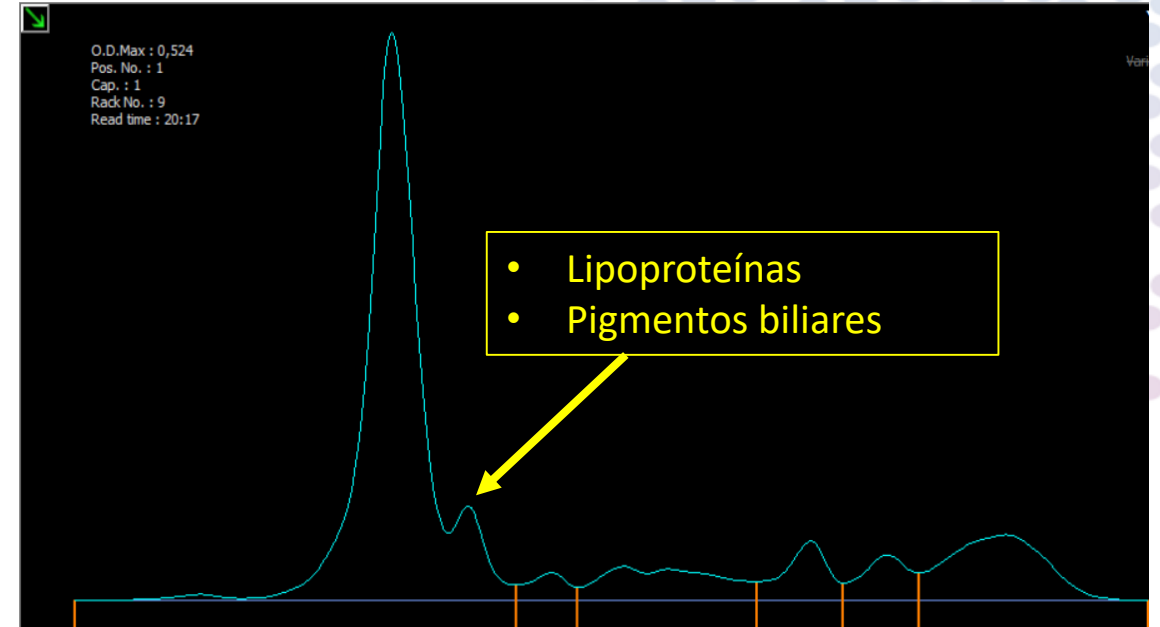
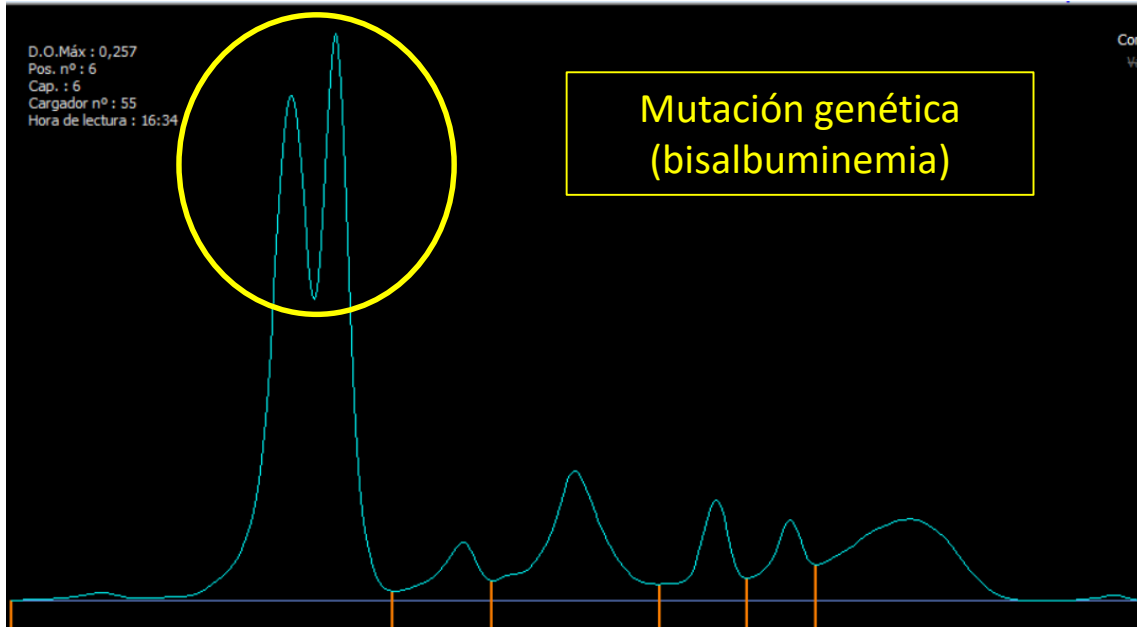
## DISMINUCION

- 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

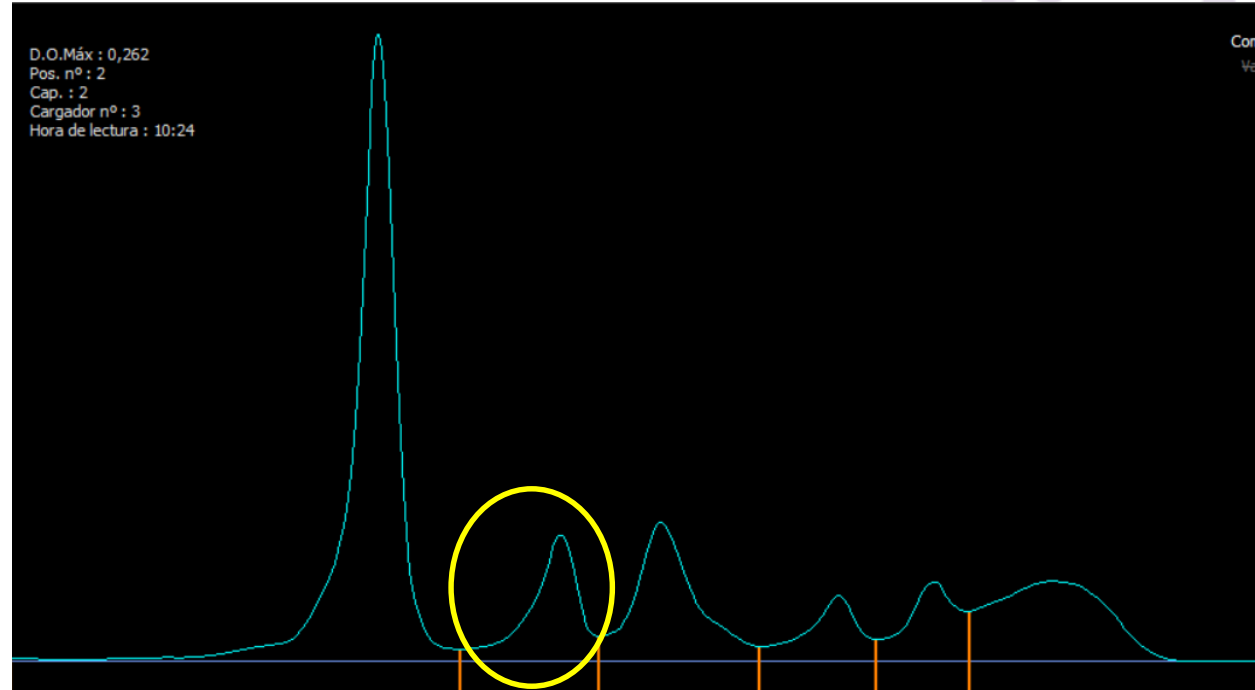
(VR= 2,1 – 3,5 g/L)

## DISMINUCION

- Deficiencia de alfa-1 antitripsina
- Enfermedad hepática

## AUMENTO

- Inflamación aguda
- Inflamación crónica
- Embarazo



# Alfa-2

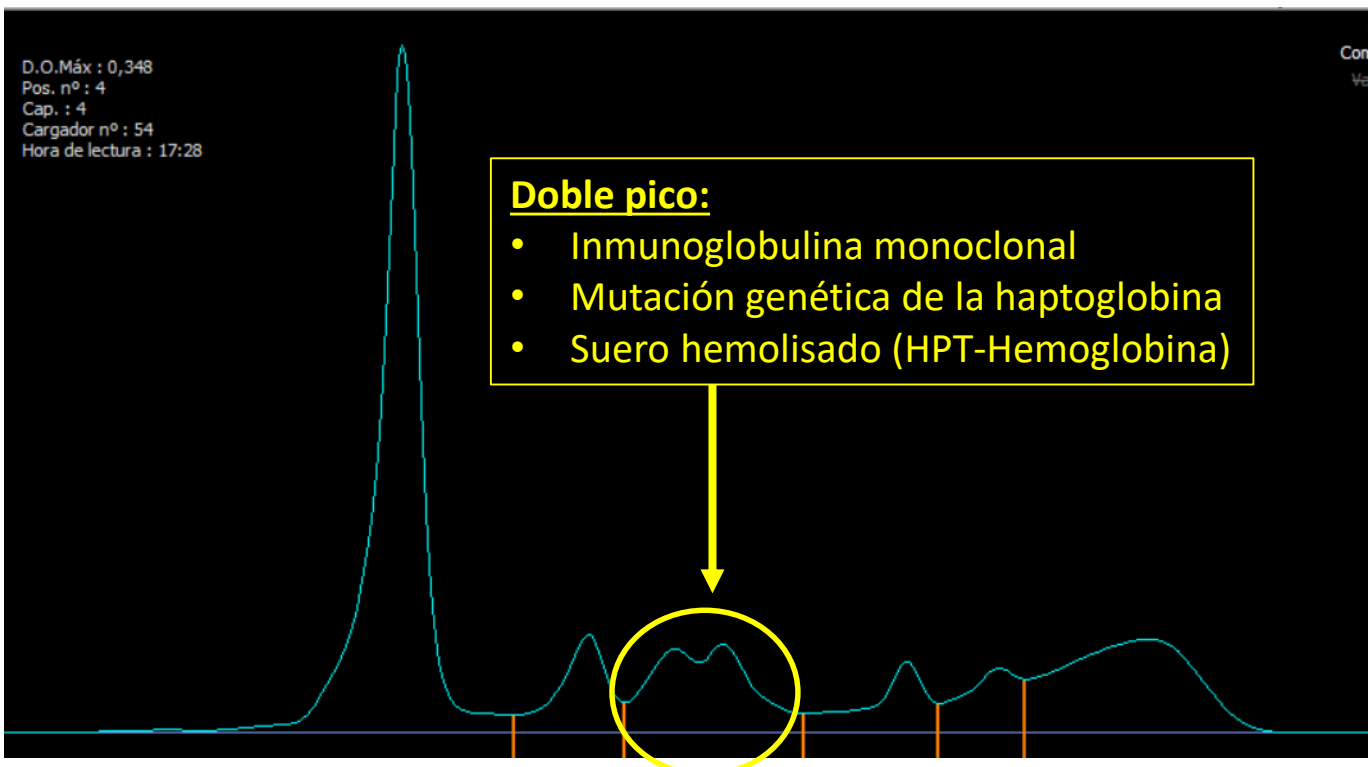
(VR= 5,1 – 8,5 g/L)

## DISMINUCION

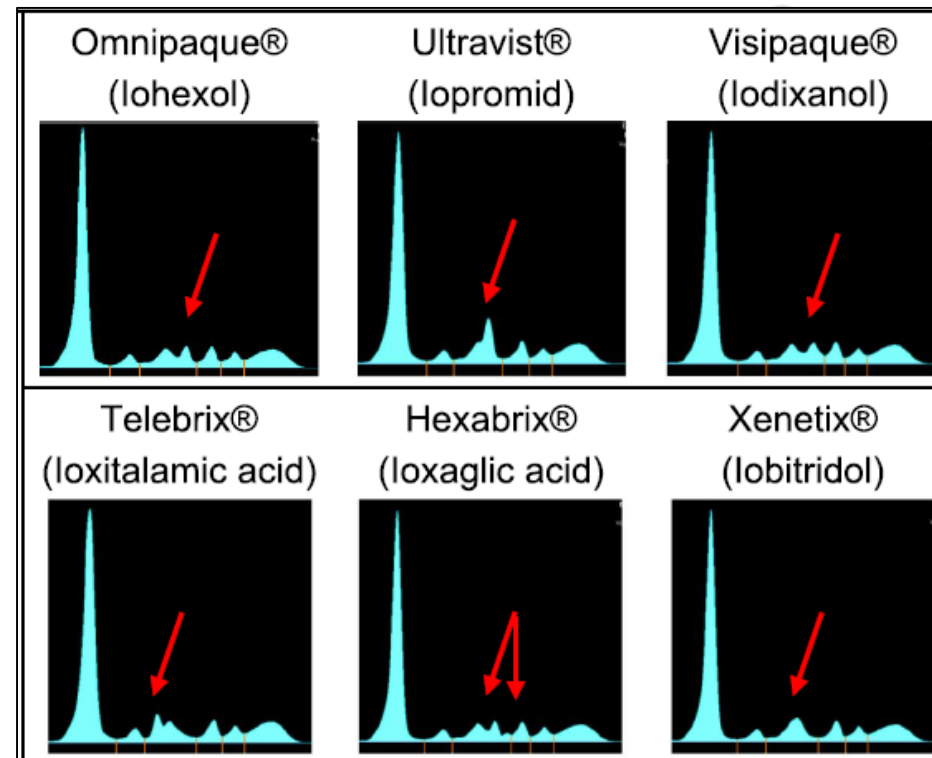
- Hemólisis
- Desnutrición

## AUMENTO

- Inflamación aguda
- Inflamación crónica
- Síndrome nefrótico



## Productos de contraste

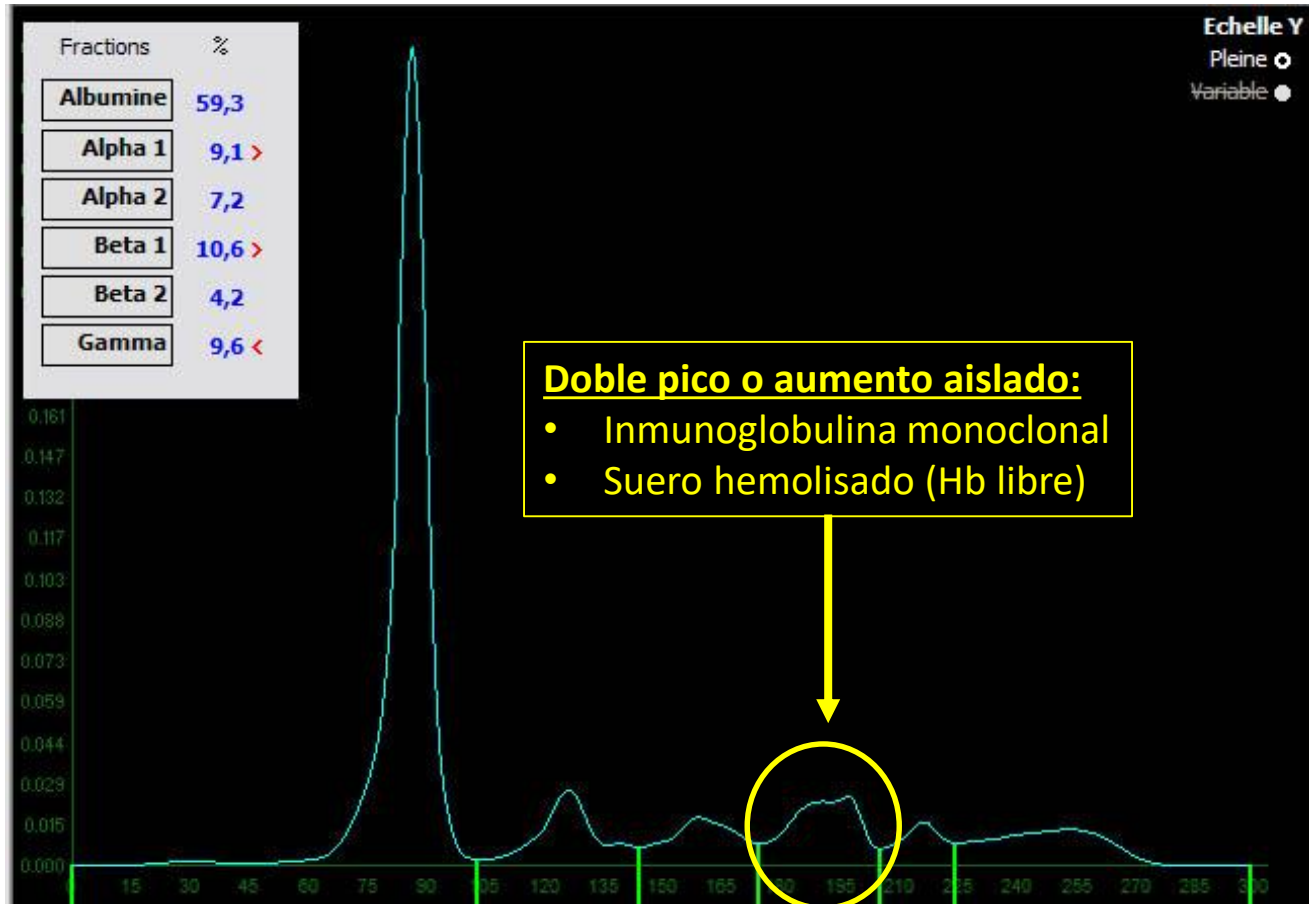


# Beta-1

(VR = 3,4 – 5,2 g/L)

## AUMENTO

- Deficiencia de hierro (aumento Tf)



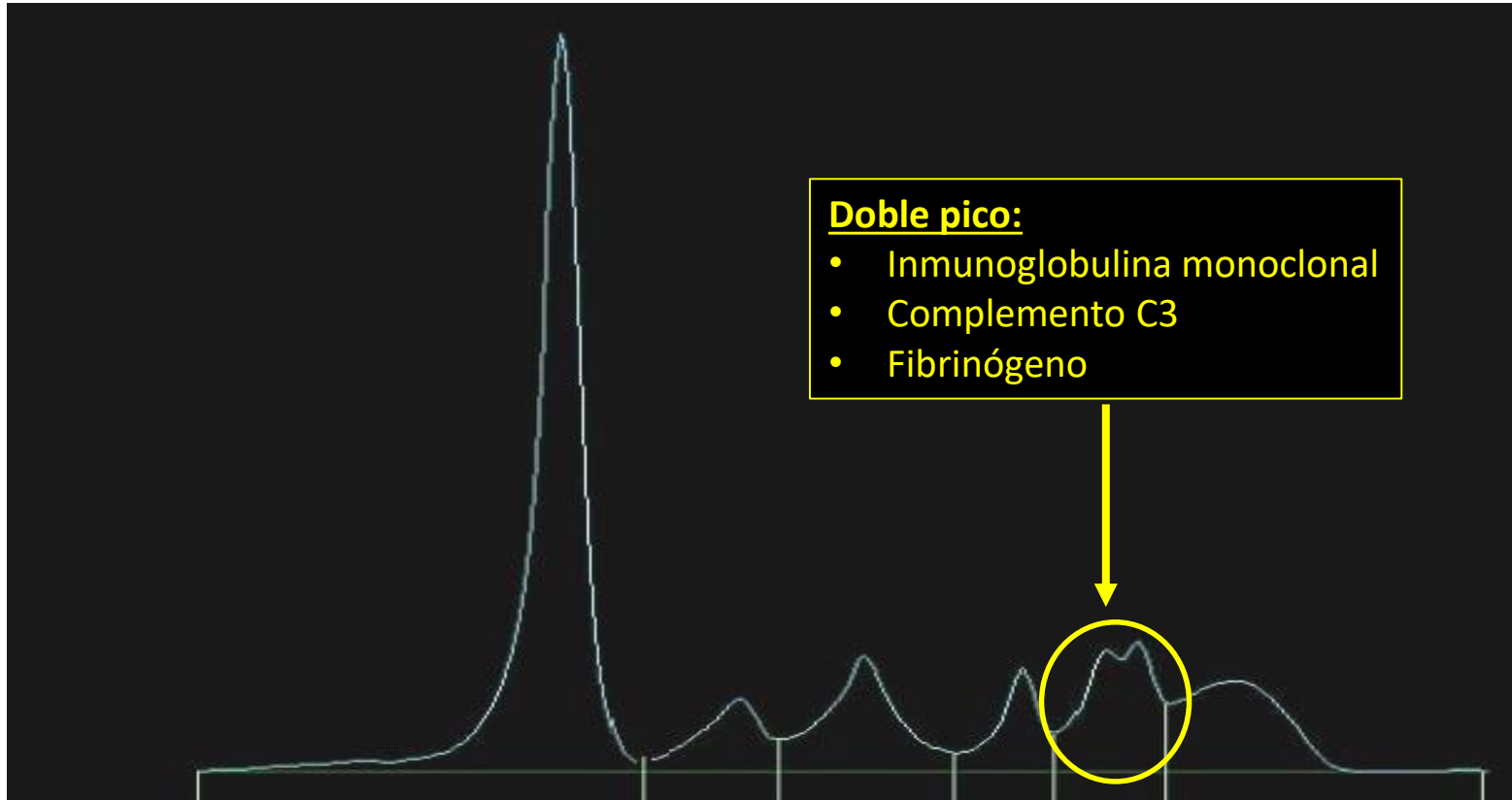


# Beta-2

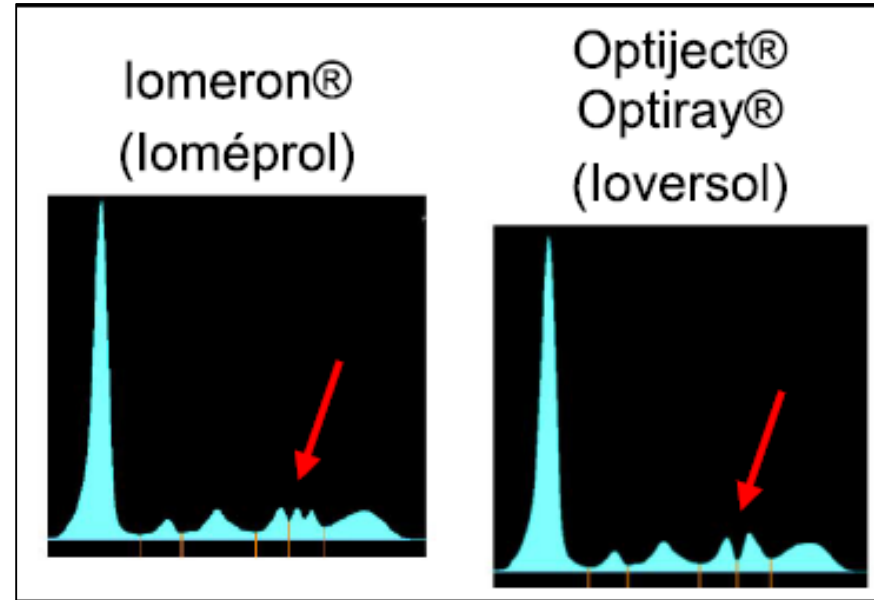
(VR= 2,3 – 4,7 g/L)

## AUMENTO

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



## Productos de contraste



# Gamma

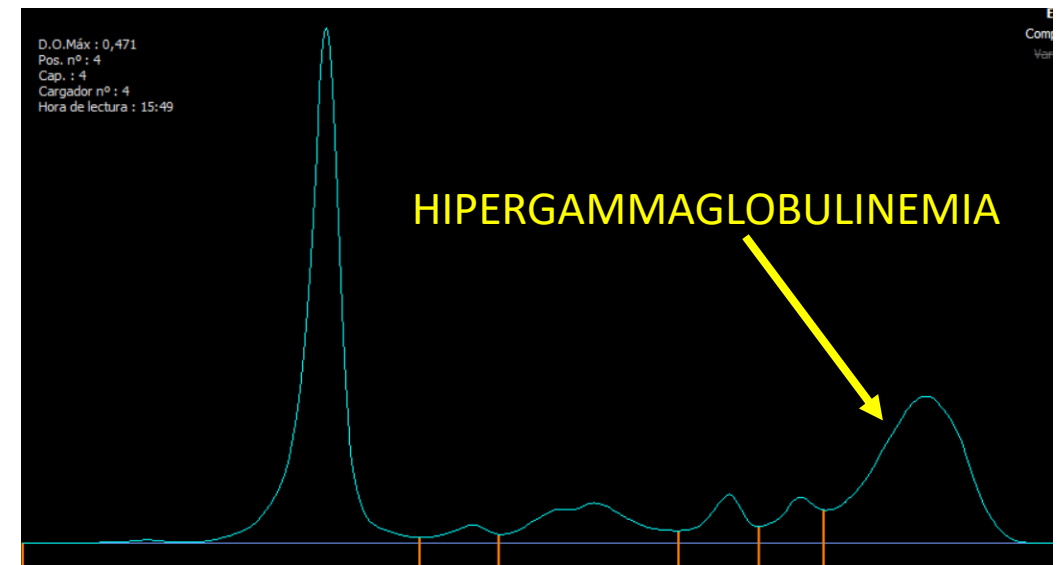
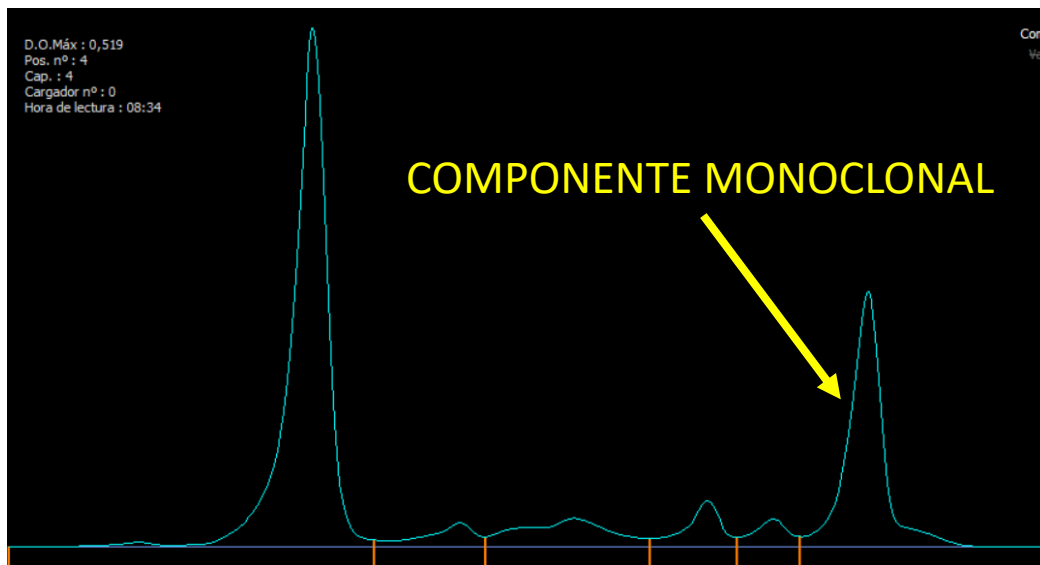
(VR= 8,0 – 13,5 g/L)

## DISMINUCION: Hipogammaglobulinemia

- Enteropatía perdedora de proteínas
- Desnutrición

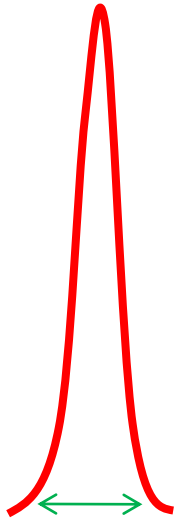
## AUMENTO: Hiper gammaglobulinemia

- Inflamación crónica
- Cirrosis
- Componente monoclonal



# Características de la fracción gamma

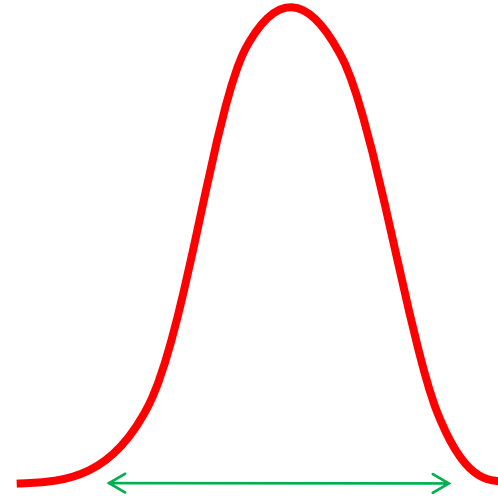
Parte superior en punta



Base estrecha

Inmunoglobulina monoclonal

Parte superior redondeada



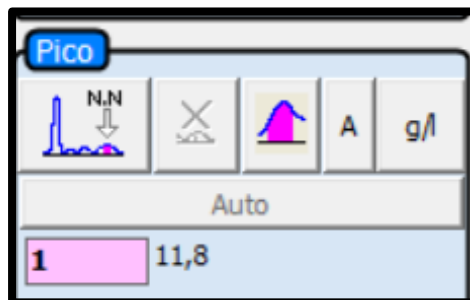
Base ancha

Aumento policlonal de inmunoglobulinas

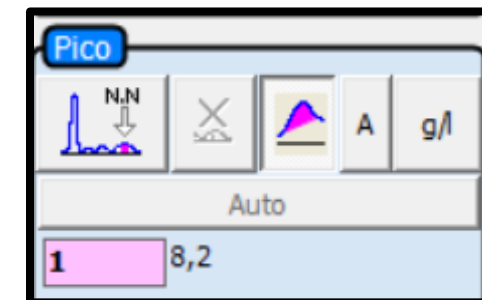
# Cuantificación del pico monoclonal

**MODO ORTOGONAL**

**MODO TANGENCIAL**



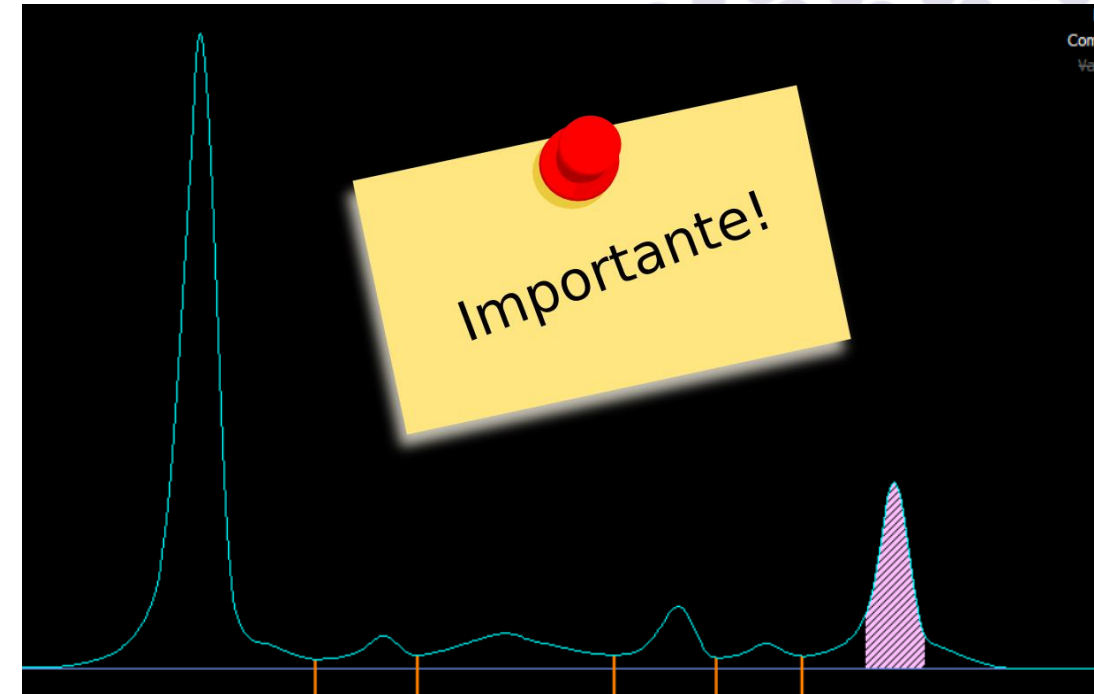
**Imperativo:**  
El laboratorio debe seleccionar un modo de cuantificación y utilizarlo para todos los pacientes



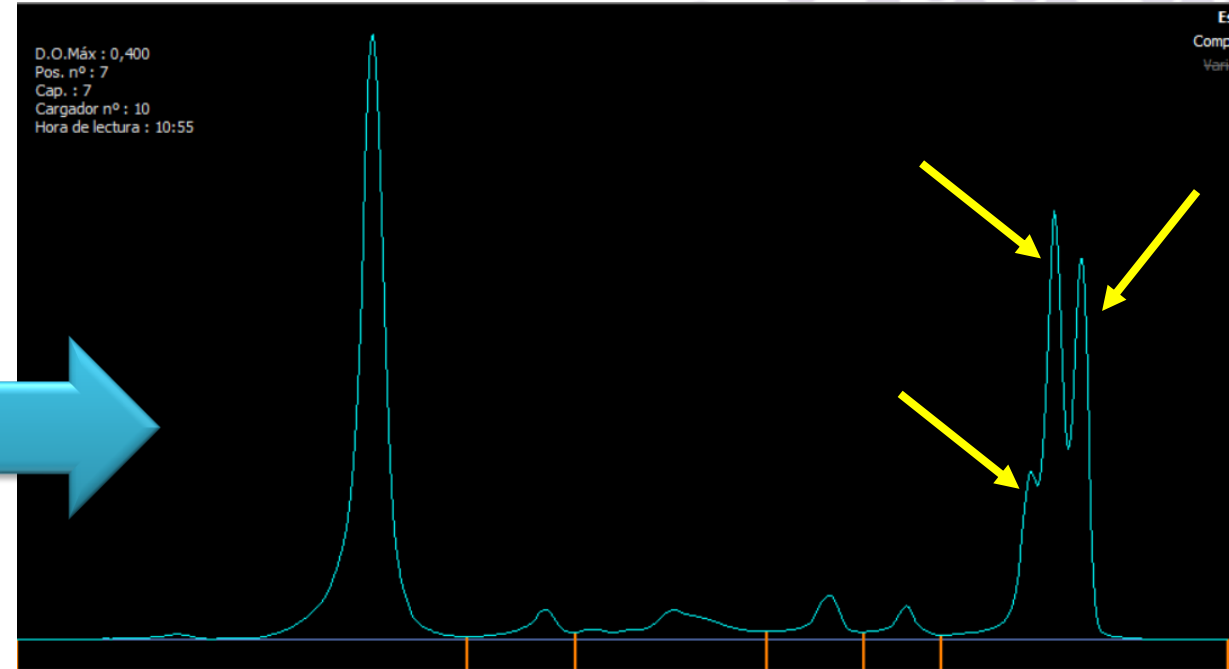
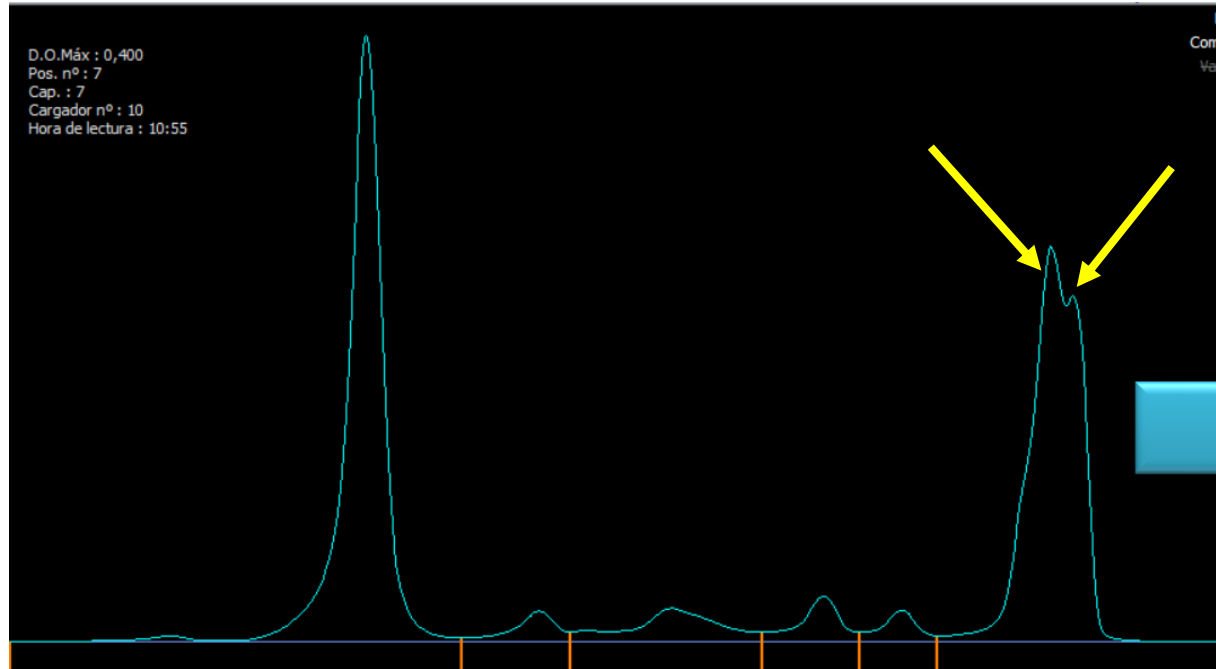
# Cuantificación del pico monoclonal es importante

La concentración de la inmunoglobulina monoclonal se requiere para:

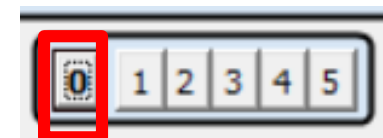
- ✓ Clasificación del mieloma (MGUS, SM o MM)
- ✓ Estadío del MM (I, II y III)
- ✓ Seguimiento de la evolución de la enfermedad (evolución de estado no maligno a un estado maligno)
- ✓ Evaluación de la respuesta al tratamiento



# 1, 2 o más distorsiones?

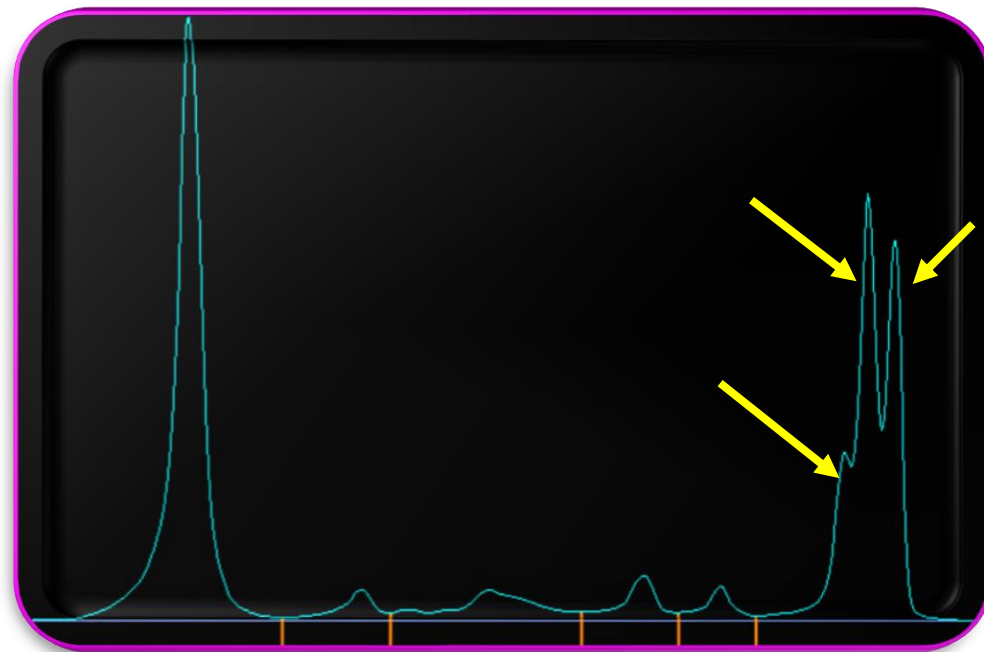


**ALISADO 2: POR DEFECTO**



**ALISADO 0**

# Perfil oligoclonal o proteína polimerizada?



## Tratamiento con $\beta$ -mercaptoetanol (BME)

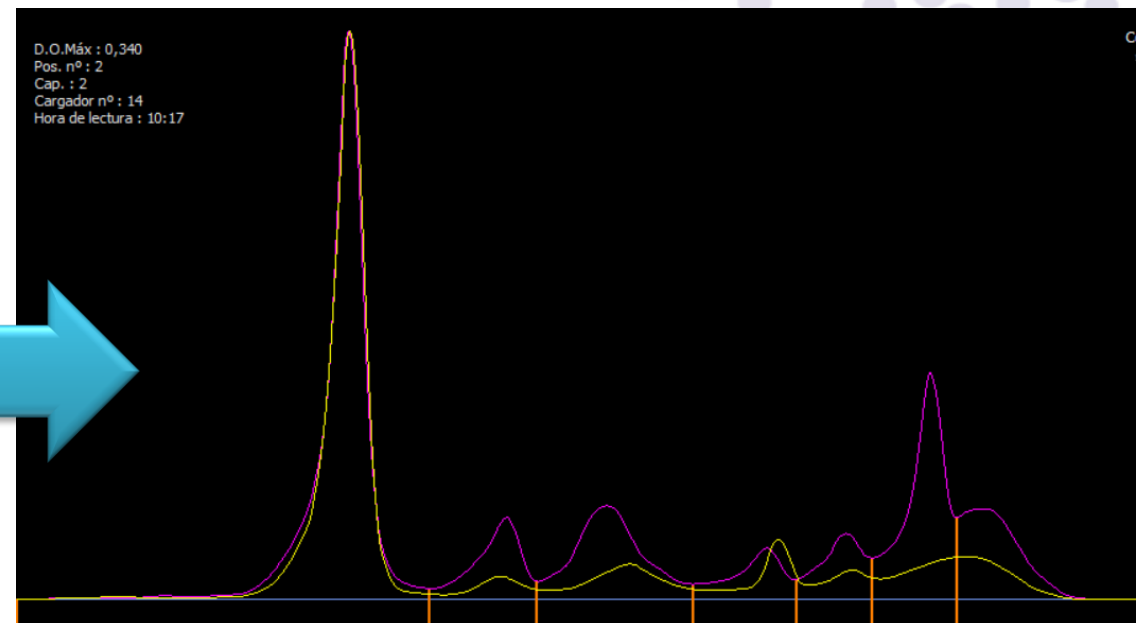
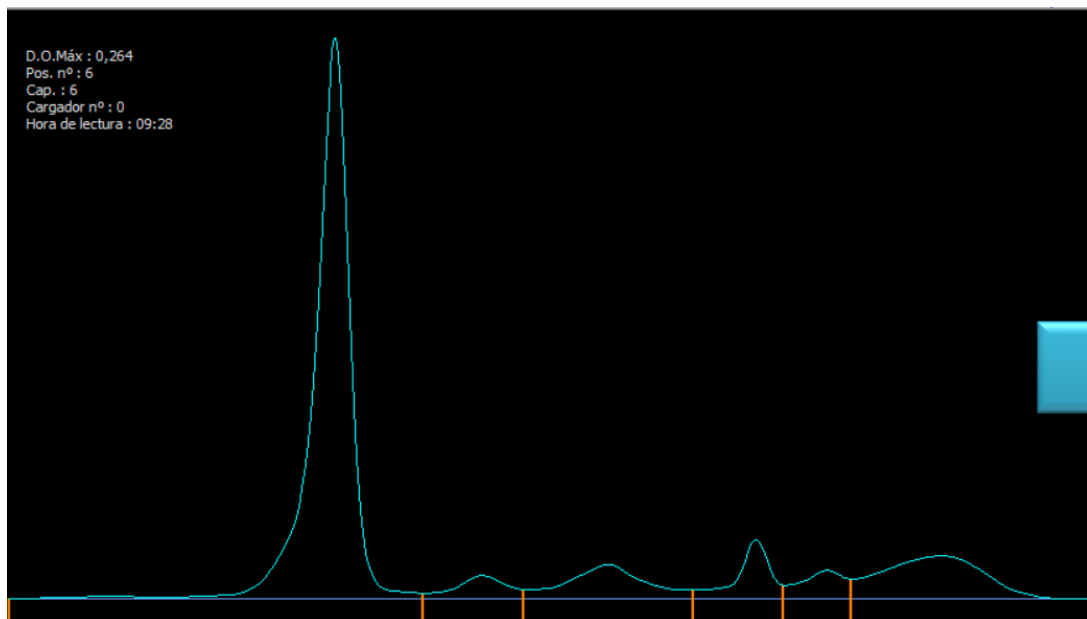
- 1) Preparar una solución reductora de BME al 1% :
  - a) 10  $\mu$ L BME + 90  $\mu$ L H<sub>2</sub>O = SOLUCION A
  - b) 10  $\mu$ l SOLUCION A + 90  $\mu$ L Fluidil = SOLUCION B
- 2) Mezclar 25  $\mu$ L de SOLUCION B + 75  $\mu$ L suero
- 3) Homogenizar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente
- 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  $\mu$ L de solución reductora + 300  $\mu$ L de suero puro
- 3) Homogenizar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente
- 4) Analizar la muestra tratada inmediatamente

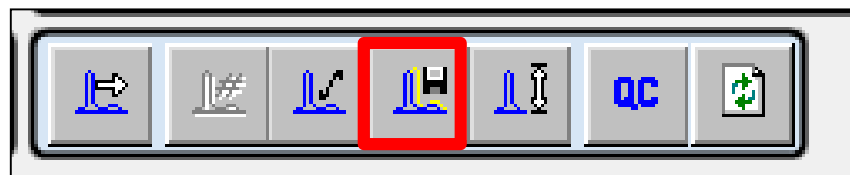


# Curva de referencia



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

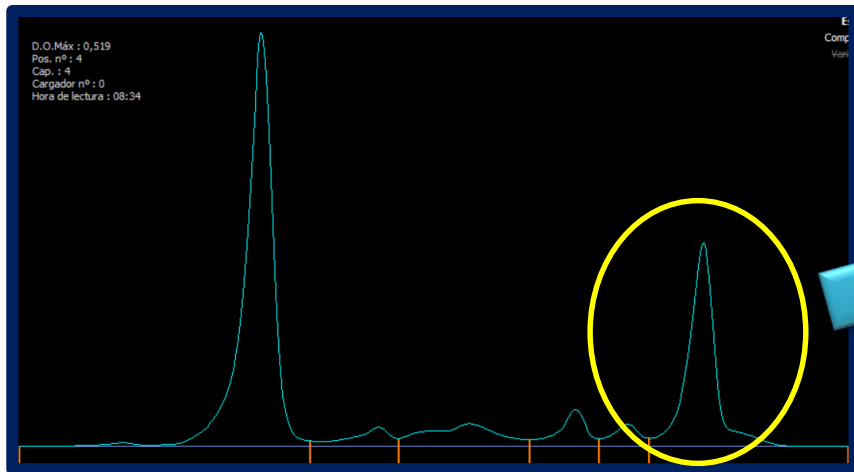
2) Superponer la **CURVA DE REFERENCIA DEL DIA** con la de la muestra





# 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

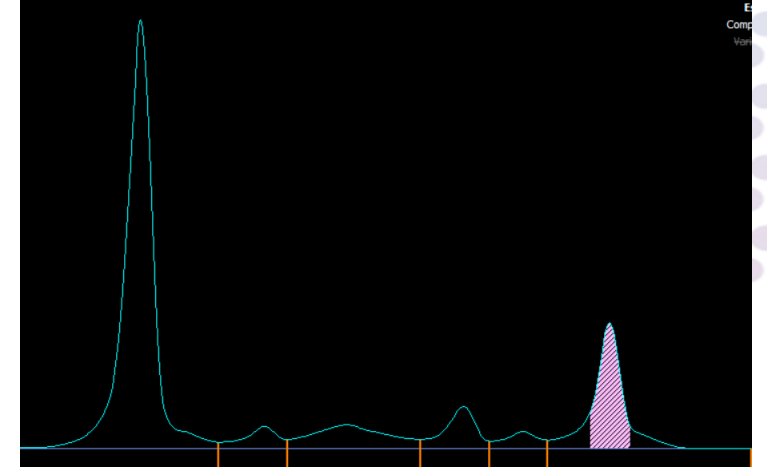


## Nomenclatura recomendada:

- 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*

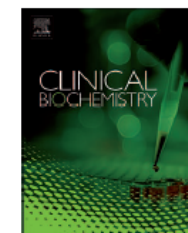


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect)

# Clinical Biochemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/clinbiochem](http://www.elsevier.com/locate/clinbiochem)



## Synoptic reporting for protein electrophoresis and immunofixation

Christopher R. McCudden<sup>a,\*</sup>, Ronald A. Booth<sup>a</sup>, Danny C.C. Lin<sup>a</sup>, Arleigh McCurdy<sup>b,c</sup>,  
Natasha Rupani<sup>b,c</sup>, Andrea Kew<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Dept. of Pathology & Lab. Medicine, Division of Biochemistry, University of Ottawa, Canada

<sup>b</sup> Dept. of Medicine, Division of Hematology, University of Ottawa, Canada

<sup>c</sup> Myeloma Program, The Ottawa Hospital, Canada



**Table 1**

Synoptic reporting template for SPE and UPE.

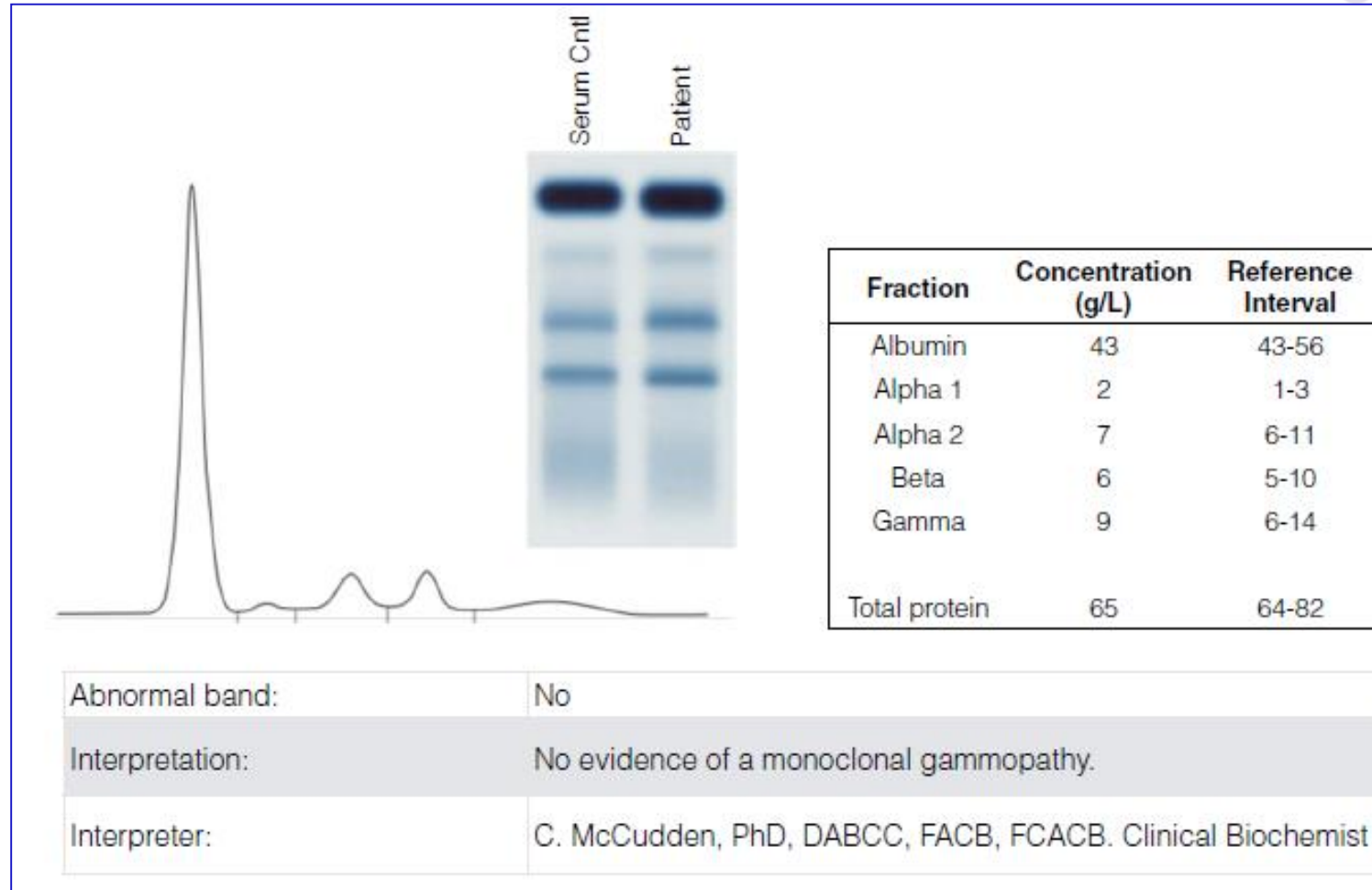
Field	Content
1). Abnormal band <sup>a</sup> :	Yes/No/Equivocal
2). Band description: (if necessary)	Number and position of abnormal bands. Limitation of band quantitation as relevant to interpretation
3). Previous history: (if available)	History of previous analyses (SPE and IFE). Source of orders from 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

<sup>a</sup> Defined as an abnormality that might represent a monoclonal protein.

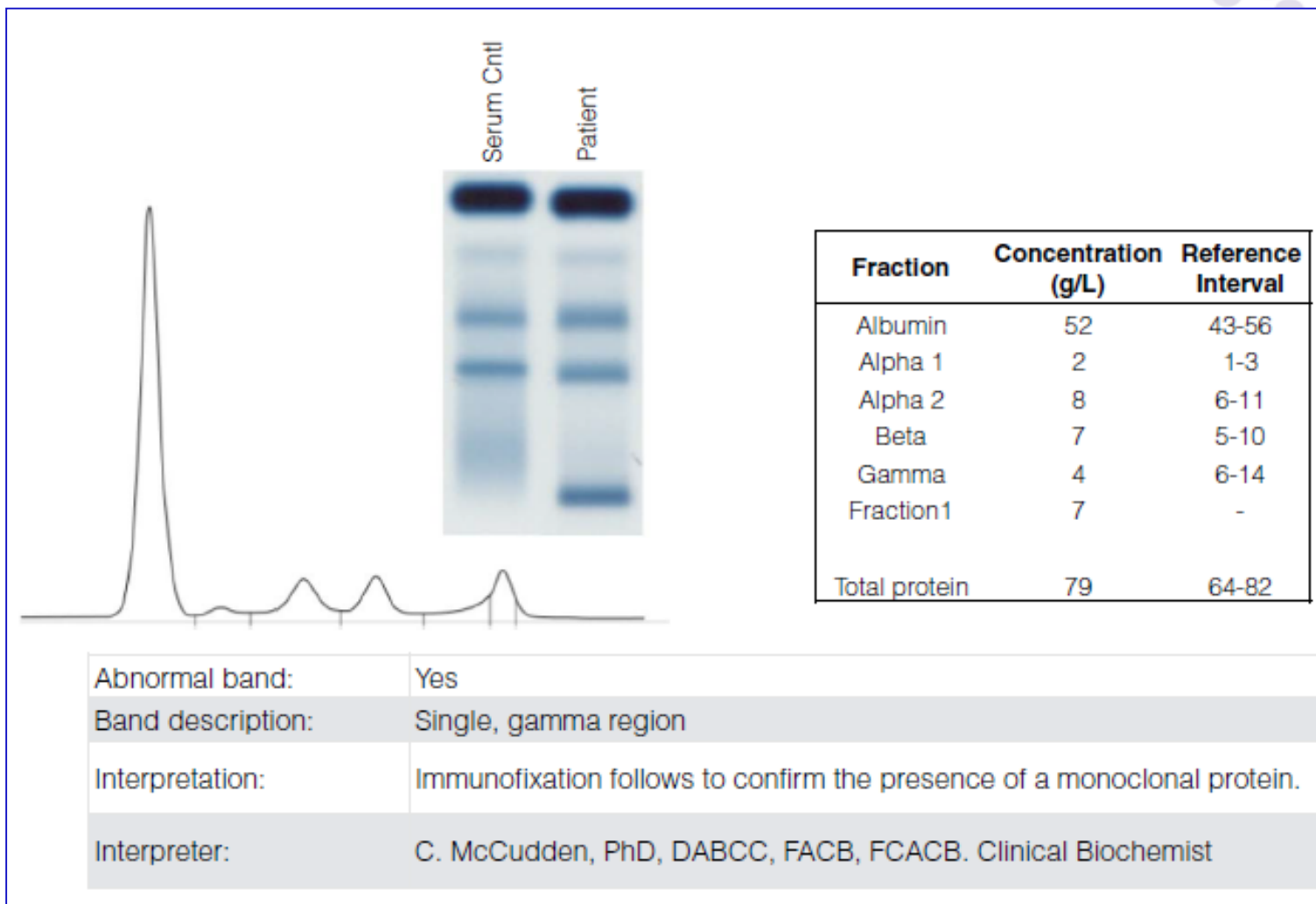
Clinical Biochemistry 51 (2018) 21–28

sebia

# Ejemplo: Reporte suero normal



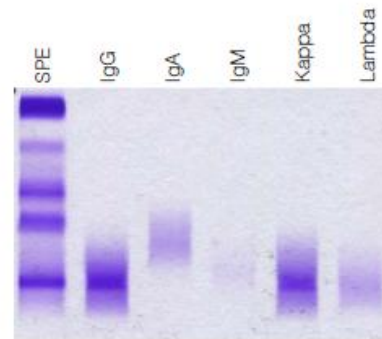
## Ejemplo: Reporte suero anormal



# Reporte de resultados de IF

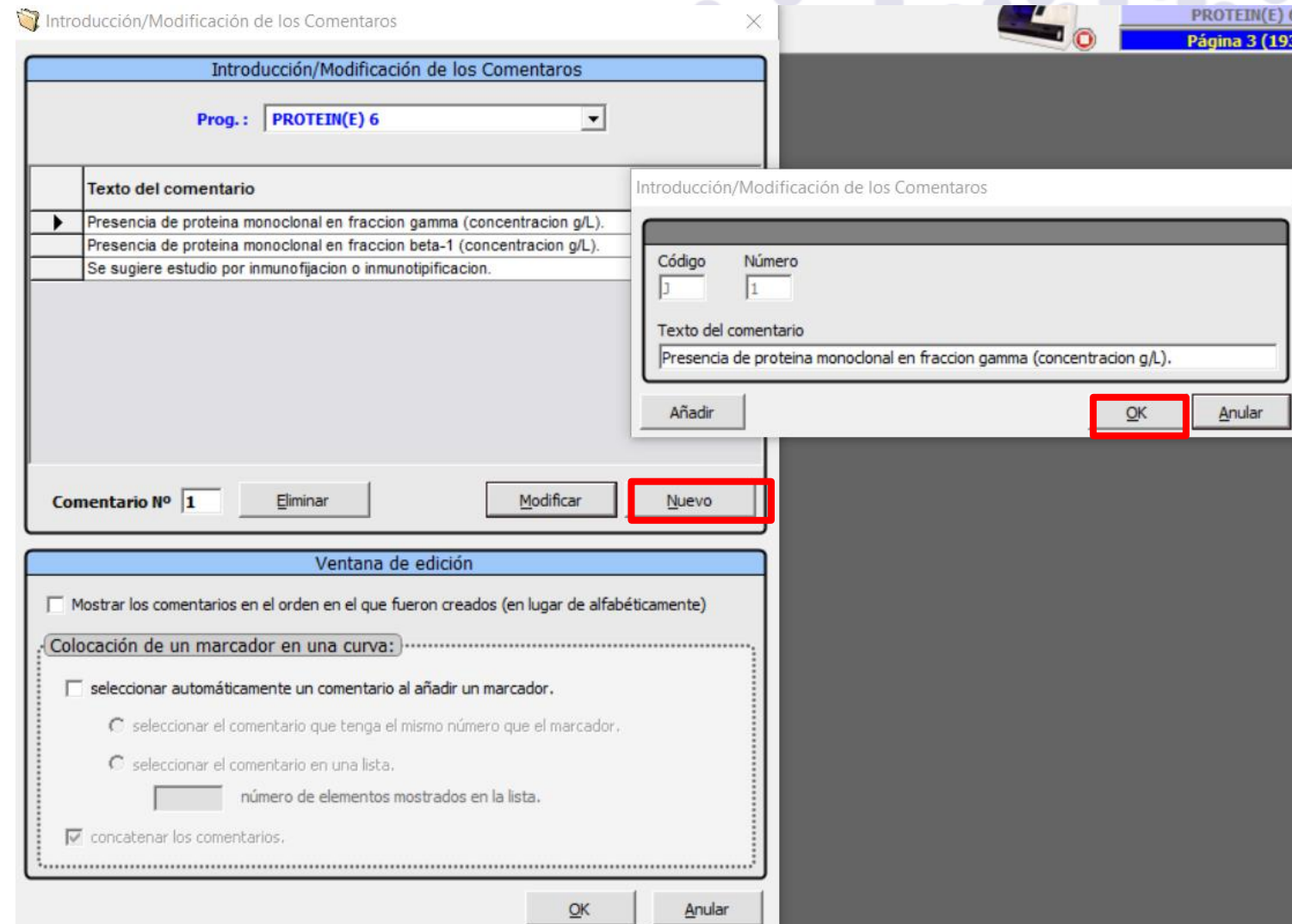
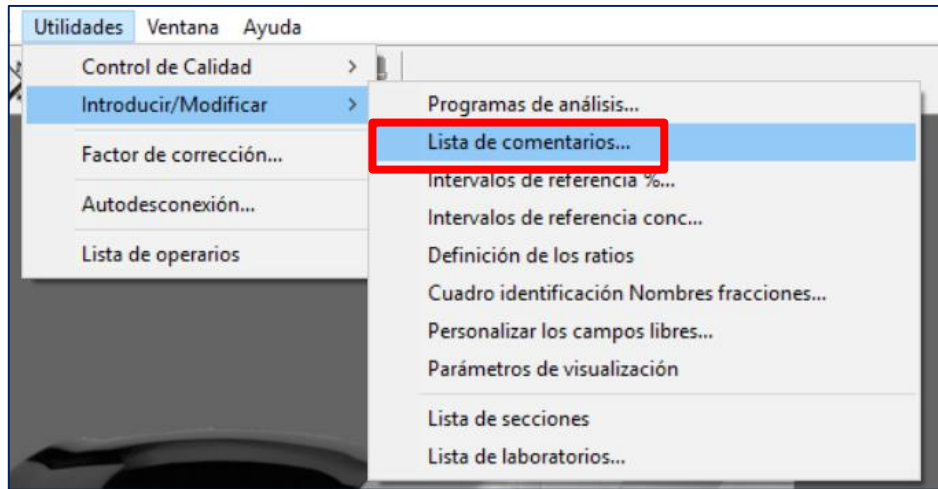
**Table 2**  
Synoptic reporting template for IFE.

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 in g/l. The main area shows a gel image with a prominent peak in the beta-1 region. On the right, there are controls for 'Escala Y' and 'Variable' (set to P6). Below the gel, a 'Comentario' box is highlighted with a red border, 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.



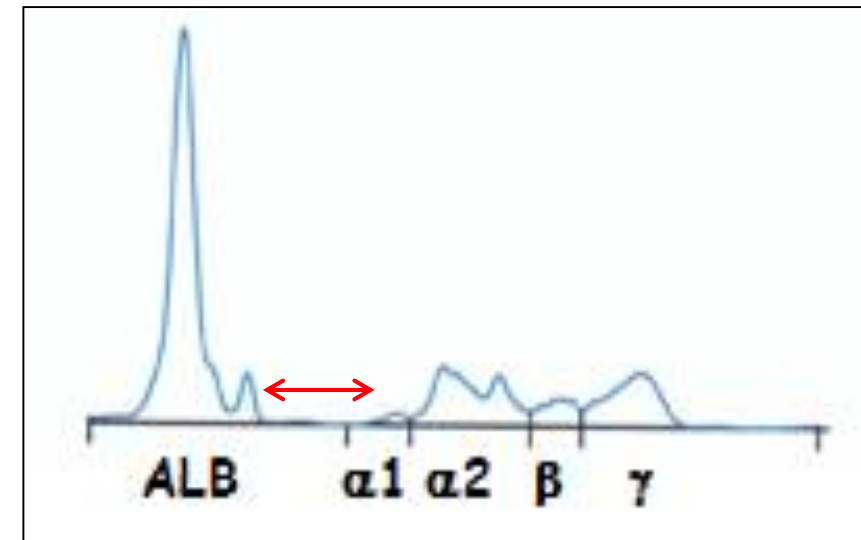
# Phoresis 9.15: Modo veterinario

- 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](mailto:nsanz@sebia.com)

**sebia**