



MANLAB[®]

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

Evaluación e Interpretación Visual de la curva obtenida por Electroforesis Capilar: Resultados inesperados

 15 min.



En el siguiente trabajo el Área de Proteínas de MANLAB – Diagnóstico Bioquímico y Genómico – nos presentan seis casos de pacientes donde evalúan e interpretan de manera visual las curvas obtenidas por electroforesis capilar utilizando los equipos Capillarys 2 y Capillarys 2 Flex Piercing Sebia. Los volúmenes trabajados brindan la posibilidad de observar las más variadas formas de presentación de las curvas.



Baigorria, Laura;
Invernizzi, Antonella;
Osatinsky Raquel.

Area Proteínas, Manlab Diagnóstico Bioquímico y Genómico
E-mail: raquel.osatinsky@manlab.com.ar
laura.baigorria@manlab.com.ar



La inspección visual de un proteinograma realizado por una persona entrenada, permite efectuar una evaluación semi-cuantitativa de las diversas fracciones proteicas, que dan una información clínica, que no se obtiene de otra manera. Estos conceptos fueron definidos por el primer Comité de Expertos en Electroforesis de Proteínas en el año 1966, y veinte años después sigue considerándose válida la inspección visual de un proteinograma sobre

agarosa así como la de una curva realizada por electroforesis capilar. Los métodos semi y totalmente automatizados nos permiten obtener resultados muy confiables, que sumados al análisis de las características de la corrida o la forma que presentan las diferentes fracciones de una curva, contribuyen a precisar con mayor información el diagnóstico del paciente.

La electroforesis capilar (EC) es un método de fraccionamiento basado en la diferente velocidad de migración de las distintas proteínas cargadas bajo la acción de un campo eléctrico. Separa las moléculas en función de su movilidad electroforética en un buffer a un pH dado según su punto isoeléctrico, por acción de un flujo electro-endosmótico importante. La detección de las fracciones proteicas es directa, y la curva obtenida expresa los valores reales de las mismas. No existen los pasos correspondientes a la coloración y decoloración de las corridas, por tanto la figura que se observa similar a la de una electroforesis en agarosa a un costado de la pantalla, es virtual.

En el área de proteínas de Manlab se procesan un promedio/día 800 / 900 muestras por EC, utilizando equipos Capillarys 2 y Capillarys 2 Flex Piercing Sebia. Éste volumen nos da la posibilidad de observar las más variadas formas de presentación de curvas. El método es muy sensible, y al tener incorporado controles internos normales y patológicos visualizamos las más pequeñas alteraciones que nos permite sugerir, o no, estudios proteicos más específicos para aportar a un diagnóstico a veces no pensado. Cabe aclarar que dado el volumen de muestras, el trabajo de los profesionales del sector es

muy arduo, porque no se tienen datos de los pacientes y se solicitan los mismos en aquellos casos que sean imprescindibles para realizar un informe final.

En ésta breve comunicación se presentan seis casos de pacientes cuyas curvas de fraccionamiento proteico, tenían alteraciones pequeñas o poco habituales. Se solicitaron antecedentes de los mismos como edad, diagnóstico presuntivo y algunos parámetros bioquímicos. De acuerdo a la información obtenida, se procedió al estudio de las proteínas séricas.

CASO 1

Hombre, 68 años. No presenta síntomas clínicos. Solicita le transcriban una orden médica para realizar una serie de determinaciones y por equivocación indican proteinograma electroforético (PE); que presenta una banda homogénea de movilidad Beta 2. Valor del pico: 1.03 g/dl. Se indica su estudio por inmunofijación (IF). (Figura 1A)

Resultado de la IF: Se observa banda homogénea IgG de movilidad Beta 2, banda homogénea Kappa de la misma movilidad sobre perfil policlonal, IgA, IgM y Lambda policlonales. (Figura 1B)

Determinación cuantitativa de cadenas livianas Kappa y Lambda libres por nefelometría:

Kappa libre 42.9 mg/L; Lambda libre 20.4 mg/L.- Relación Kappa/ Lambda: 2.10mg/L (VR: 0.26 – 1.65 mg/L).-

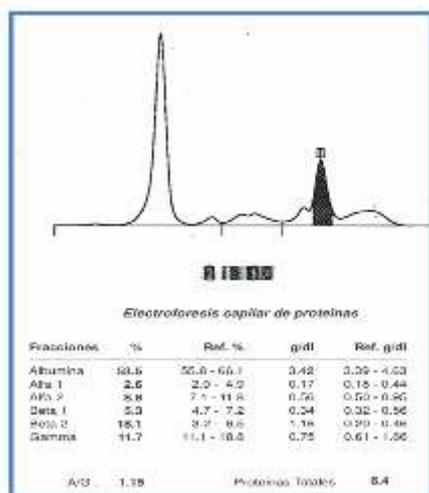


Figura 1A

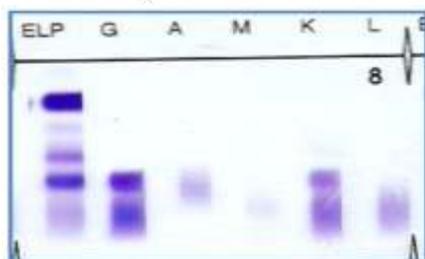


Figura 1B

CASO 2

Se solicita al derivante datos del paciente, porque la curva presenta una forma poco habitual en la zona de la Alfa 2, con valor elevado e hipogammaglobulinemia. Alfa 2: 1.40 g/dL y gammaglobulina 0.38 g/dL. (Figura 2 A). Informan: Hombre 73 años. Indicado estudio prequirúrgico. Diagnóstico hidrocele (acumulación patológica de líquido en la túnica que recubre los testículos). Se realiza IF y se observa: Banda homogénea IgA, banda homogénea Lambda de movilidad Alfa 2. IgG y Kappa policlonal, IgM muy disminuída. (Figura 2 B)

Dos patologías distintas asociadas, puesta en evidencia por el laboratorio.

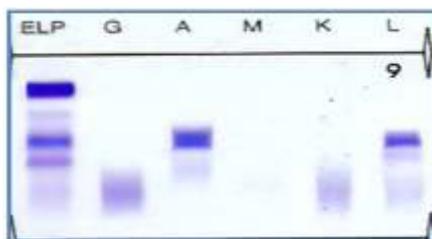


Figura 2B

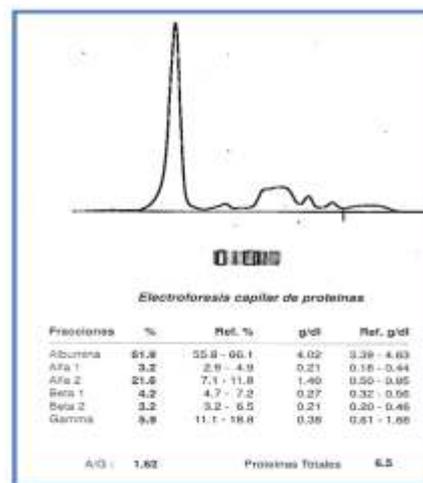


Figura 2A

CASO 3

Curva electroforética alterada por la ictericia que presenta la muestra. Se solicitan datos al derivante que informa:

Hombre de 61 años, internado; diagnóstico presuntivo: sospecha de enfermedad autoinmune. En la inspección visual del

 **BD Vacutainer®**

Líder en Soluciones Preanalíticas

Calidad y Bioseguridad:
Su interés y nuestro compromiso



Para contactarse, llámenos al: 0800-444-55BD (23)
o escribanos a: vacutainer@bd.com



proteinograma la sensibilidad de la EC permite ver un pico que, en este caso, puede confundirse con una Banda Homogénea en Beta 2, acompañado de valores alterados de las fracciones proteicas. (Figura 3A).

Al realizar IF se certifica que no se observa reacción con ninguno de los antisueros anticadenas pesadas ni livianas; sí compatible con un perfil Oligoclonal.

Otros datos: Hb: 8.2 g/dL; Hto: 25.7%; Leucocitos: 4900 xmm³. FAL: 646 U; GOT 107 U; GPT: 56 U; BT: 14.37 mg/dl; BD: 13.7 mg/dl; Lipasa: 230 U; Na: 125 meq/L.

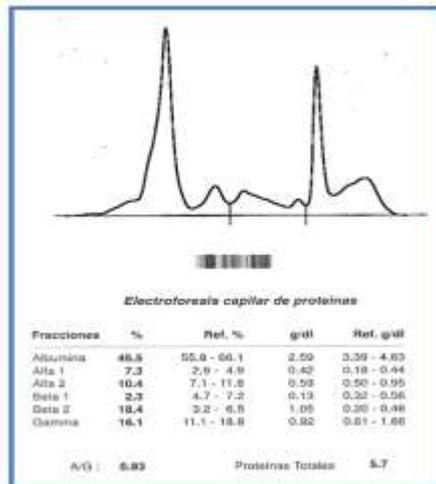


Figura 3A

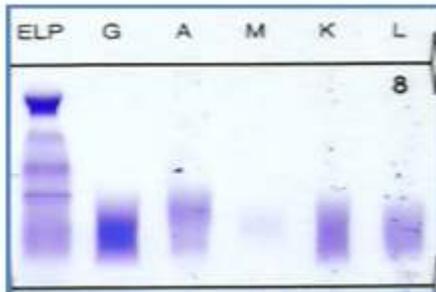


Figura 3B

CASO 4

Se observa una curva muy alterada con proteínas totales dentro de los valores de referencia, proteínas de fase aguda reactiva en su máxima expresión: Albúmina baja, Alfa 1 y Alfa 2 elevadas, Beta 1 baja. Presencia de una probable banda homogénea en Beta 2 y Gammaglobulina con perfil oligoclonal; se piden datos del paciente. (Figura 4A)

Mujer, 66 años; diagnóstico: Síndrome coledociano (Obstrucción de la vía biliar extra hepática que se caracteriza por ictericia, coluria y acolia).

Se realiza una IF y se observa: Banda Homogénea IgM y Banda Homogénea Kappa de la misma movilidad sobre perfil oligoclonal. IgG, IgA y Lambda oligoclonal. Se sugiere repetir el estudio dentro de tres meses (Figura 4B). La presencia de una BH en éste caso puede ser parte de una Oligoclonalidad o una patología asociada, razón por la que se sugiere su monitoreo en el tiempo, siempre que el estado del paciente lo permita.

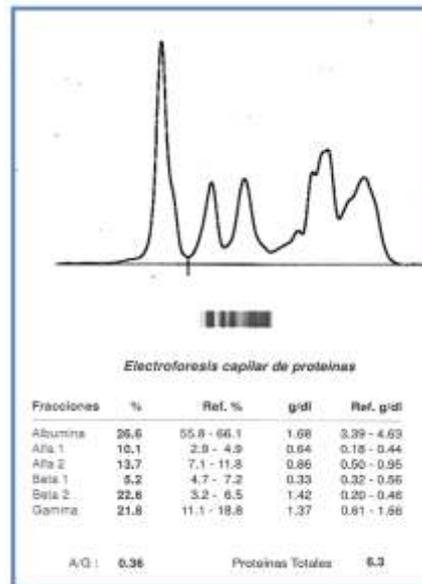


Figura 4A

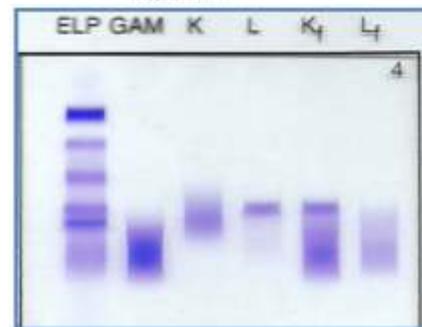


Figura 4B

CASO 5

El proteinograma electroforético presenta en la zona de Beta 1 una forma anómala que podría solapar una BH (Figura 5A). Se descarta presencia de hemólisis en la

muestra y se solicitan datos del paciente. Informan: Mujer de 91 años, diagnóstico: "anemia". Cabe aclarar que la anemia no es un diagnóstico, sino que la misma pone en evidencia alguna patología que la puede presentar y que son muchas y variadas. Cuando se sospecha la presencia de una BH o de un componente monoclonal, se suele observar anemia en algunos casos, depende del estado clínico del paciente. Tratándose de un adulto mayor, se sugiere realizar una IF.

Resultado: Se observa Banda Homogénea IgM, Banda Homogénea Kappa de movilidad Beta 1, tenue Banda Homogénea IgA, tenue banda homogénea Lambda, IgG oligoclonal. Se sugiere repetir el estudio dentro de tres meses. Probable gammapatía biclonal. (Figura 5B)

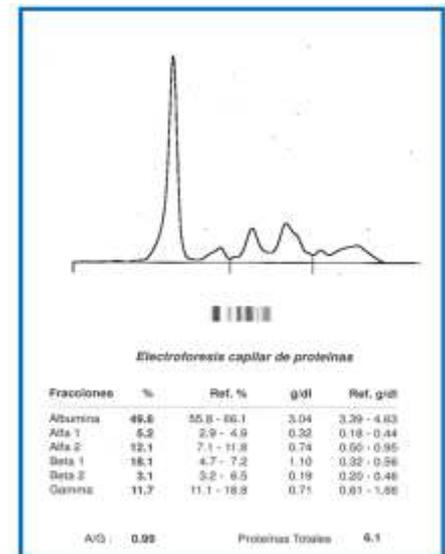


Figura 5A

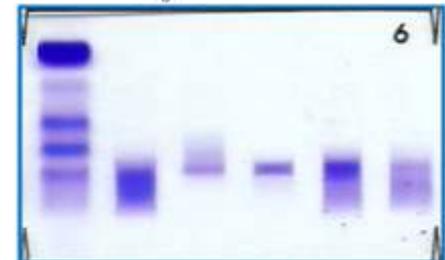


Figura 5B

CASO 6

Paciente que presenta proteínas totales elevadas (10.00 g/dl), con una gammaglobulina de 5.60g/dl que muestra en el proteinograma dos picos (Figura 6A). Podría



Analizador Multiparamétrico Totalmente automatizado

CHORUS TRIO



- Dispositivo individual de un solo uso que contiene todos los reactivos necesarios para realizar el ensayo.
- Capacidad multiparamétrica: Procesa hasta 30 diferentes pruebas por corrida.
- La velocidad permite obtener resultados simultáneos de diferentes paneles.
- El primer resultado se obtiene antes de 90 minutos.
- Volumen de muestra:
La muestra se dispensa manualmente.
ELISA: Mínimo de muestra 60 uL.
Fijación de complemento: Mínimo de muestra 120 uL.

Enfermedades Infecciosas

Adenovirus IgG	Legionella Pneumophyla 1-6 IgG
Adenovirus IgA	Measles IgG
Chlamydia Pneumoniae IgG	Measles IgM
Chlamydia Pneumoniae IgM	Mycoplasma Pneumoniae IgA
Chlamydia Pneumoniae IgA	Mycoplasma Pneumoniae IgG
Cytomegalovirus IgG	Mycoplasma Pneumoniae IgM
Cytomegalovirus IgG Avidity	Mumps IgG
Cytomegalovirus IgM	Mumps IgM
Epstein-Barr VCA IgG	Respiratory Syncytial Virus IgG
Epstein-Barr VCA IgM	Respiratory Syncytial Virus IgG
Epstein-Barr EBNA IgG	Rubella IgG
Epstein-Barr Early Antigen IgG	Rubella IgG Avidity
Epstein-Barr Early Antigen IgM	Rubella IgM
Helicobacter Pylori IgG	Syphilis Screen Recombi
Helicobacter Pylori IgA	Treponema IgG
HSV 1 Screen	Treponema IgM
HSV 2 Screen	Toscana Virus IgG (Sandfly Fever Virus)
Herpes Simplex 1+2 IGM	Toscana Virus IgM (Sandfly Fever Virus)
Herpes Simplex 1+2 IgG	Toxoplasma IgG
Influenza A IgG	Toxoplasma IgG Avidity
Influenza A IgG	Toxoplasma IgM
Influenza B IgG	Toxoplasma IgA
Influenza B IgG	Varicella IgG
Legionella Pneumophyla IgM	Varicella IgM
Legionella Pneumophyla 1 IgG	

Autoinmunidad

AINA-B	Glutadin-B
ENA-6-S	Deaminated Glutadin
ANA Screen	Preptide-G
SM	Deaminated Glutadin
SS-A	Preptide -A
SS-B	ITg-A
Scl-70	ITg-G
Cemp-B	ASCA-A
Jo-1	ASCA-G
dsDNA-G	PR3
dsDNA-M	MPO
CCP	GBM
RF-G	a-TG
RF-M	a-TPO
Cardiolipin-IgG	TG
Cardiolipin-IgM	LKM-1
Beta 2-Glycoprotein-G	AMA-M2
Beta2-Glycoprotein -M	Insulin
Glutadin-A	

Fijación del Complemento

Bordetella Pertussis	Chlamydia
Borrelia	Echo Virus P Mix
Brucella	Influenza A Virus
Campylobacter Jejuni	Influenza B Virus
Legionella Pneumophila	Mycoplasma Pneumoniae
Leptospira Mix	Parainfluenza Mix
Listeria Monocytogenes	O-Fever
Shigella Flexneri	Reovirus
Yersinia Enterocolitica	Respiratory Syncytial Virus
Echo Virus N Mix	Coxsackie Virus A Mix
Poliovirus Mix	Coxsackie Virus B Mix
Adenovirus	Achinococcus

Próximamente disponibles: Borellia IgG - IgM, Vitamina D, Chlamydia Trachomatis IgG - IgA, Parvovirus IgG - IgM, Panel Vacunacion (Tetanos - Difteria - polio IgG), EBV VCA Recombinante.



tratarse de dos componentes monoclonales o de una polimerización de una misma inmunoglobulina. Se solicitan datos al derivante y además se decide realizar IF con la muestra primaria y otra luego de ser tratada con 2-mercaptoetanol, que separa las cadenas polipeptídicas en estados de oligomerización de las proteínas.

Hombre de 67 años, con hipertensión, sin tratamiento médico y diagnóstico de insuficiencia renal.

Gráficos del PE y de la IF con la muestra primaria; en la IF se observa un componente monoclonal con redisolución por exceso de antígeno y/o 2 BH probables. (Figura 6B)

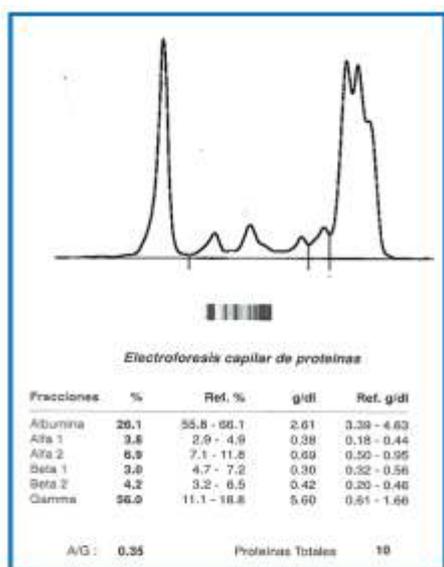


Figura 6A

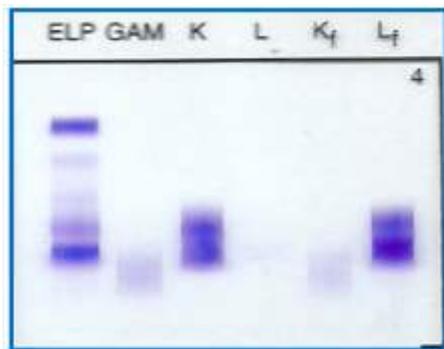


Figura 6B

En los gráficos siguientes se muestra el PE (Figura 6C) y la IF luego de tratarse a la muestra con 2-mercaptoetanol, donde se observa un solo CM (Figura 6D).

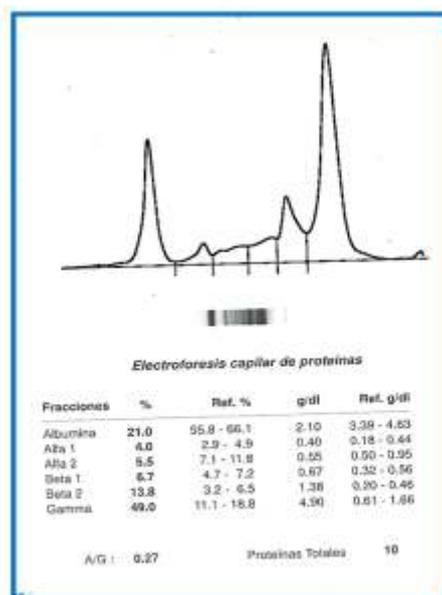


Figura 6C

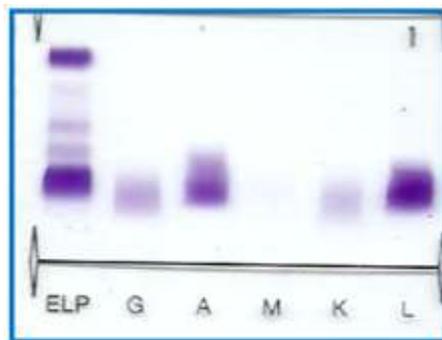


Figura 6D

Conclusión

Los proteinogramas que presentan curvas con alteraciones son muy frecuentes considerando el número de muestras/día que se procesan en el laboratorio. Suelen observarse perfiles alterados por sueros ictericos, turbios o por ingesta de algún medicamento (éstas se consideran interferencias, generalmente relacionadas con el aspecto del suero). Perfiles oligoclonales que pueden solapar bandas homogéneas y / o componentes monoclonales; alteraciones en las fracciones que expresan a las proteínas de la fase aguda reactiva, entre otras. Esto evidencia la importancia de la correcta interpretación de un proteinograma electroforético por parte del profesional.

Muchas veces los valores de las proteínas totales y de sus fracciones pueden

estar dentro de los rangos de los valores de referencia, y aún así presentar una curva con alteraciones que amerita sugerir estudios posteriores (como uroproteinograma, cuantificación de inmunoglobulinas, IF en suero y en orina, cadenas livianas libres kappa y lambda cuantitativas, y también algunos parámetros bioquímicos como ser Ca sérico, FAL, LDH, Beta 2 microglobulina entre otras) que posibilitan un mejor y más rápido diagnóstico de la patología que presenta el paciente.

La sensibilidad por electroforesis capilar, y la lectura de las fracciones proteicas realizada a 200nm, permite detectar alteraciones en la fracción albúmina; fenotipos de alfa 1 antitripsina; distintos fenotipos de la haptoglobina en la zona de la fracción alfa 2, y la visualización (cuando los valores son elevados) de las fracciones alfa 2 macroglobulina y ceruloplasmina. También separa y define con claridad las fracciones Beta 1 de la Beta 2 y permite cuantificar los picos de los componentes monoclonales, aún aquellos que se encuentran en hipogammaglobulinemias severas. Todo esto hace que el método pueda considerarse el estándar de oro.

En conclusión, el PE puede considerarse al estudio de las proteínas, similar a un electrocardiograma o al examen microscópico de un frotis de sangre periférica, por la información que suministra al médico del paciente.

MANLAB®
Diagnóstico Bioquímico y Genómico

Referencias Bibliográficas

- 1- G. Ariceta, M. Aguirre. Tubulopatías en la infancia que progresan hacia la enfermedad renal crónica. NefroPlus 2011;4(1):11-8.
- 2- Osatinsky R, Desimone I, Lencina M, Quian

A. Gammapatía oligoclonal en niños con infección por HIV. Rev. Mexicana de Patología Clínica.- 2000; 23: 34.

3- Osatinsky R, Garnek L. ¿A qué se denomina patente oligoclonal? Rev. B y PC. ABA. 1999; 63: 212-220.

4- Osatinsky R, Desimone I, Garnek L. Importancia de la diferenciación de patentes poli, oligo y monoclonales: su valor diagnóstico. Rev. Mexicana de Patología Clínica. 2004; 51: 167-170.

5- Osatinsky R. Posibilidad de malignización de las Gammapatías Monoclonales de Significado Indeterminado. Rev. B y PC. ABA. 2006; 70: 37-42.

6- Osatinsky R, Chávez V, Sanz N. Método Automatizado para Tipificación de Componentes Monoclonales por Electroforesis Capilar (Immunotyping). Rev. Bioanálisis. 2010; 35: 18-21.

7- Osatinsky R, Chávez V. Revisión retrospectiva de estudios de las proteínas séricas en muestras enviadas a un laboratorio de Alta Complejidad. Rev. B y PC. ABA. 2005; 69: 63-65.

8- Osatinsky Raquel, Desimone Isabel, Garnek Luis. Incidencia de patente oligoclonal en población adulta aparentemente sana. Publicado en Revista Mexicana de Patología Clínica. 2004; Volumen 51: 2: 90-92.

9- Desimone Isabel; Quian Antonio; Lencina Mónica; Osatinsky Raquel. Valor pronóstico del estudio de las proteínas en sueros de niños recién nacidos de madre HIV positivas.- Publicado en Revista B y PC de la ABA. Vol.

63: No 3 - Pag 221-230.-1999.

10- Tovar N, Fernández de Larrea C, Aróstegui J, et. al. Natural history and prognostic impact of oligoclonal humoral response in patients with multiple myeloma after autologous stem cell transplantation: long-term results from a single institution. Haematologica 2013; 98(7) - 1142-1146.

11- Rajkumar V, Palumbo A, Blade J, Merlini G. et. al. - International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma.- www.thelancet.com/oncology Vol 15 November 2014.

12- Nelson Leung, David R. Barnidge, Colin A. Hutchison. Laboratory testing in monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS). Clin Chem. Lab Med 2016; 54(6): 929-937.

13- Desafío diagnóstico: Macroglobulinemia de Waldenström- Mieloma múltiple IgM.- Hematología. Volumen 20 nº 1: 110-114- Enero -Abril 2016.

14- Hugh D. Carr-Smith, Ellen L. Jenner, Josie A.R. Evans, Stephen J. Harding.- Analytical issues of serum free light chain assays and the relative performance of polyclonal and monoclonal based reagents.- Clin Chem Lab Med 2016.

15- Osatinsky, Raquel.-Electroforesis capilar: fundamentos, interpretación de la curva, interferencias.- Capítulo 2. Las proteínas séricas. Pag. 39-62.- Ed. Emma Fiorentino. 2012.

16- Osatinsky, Raquel.-Oligoclonalidad: que expresa y como se interpreta una patente oligoclonal.- Casos clínicos.- Capítulo 5. Las proteínas séricas. Pag. 97-116.- Ed. Emma

Fiorentino. 2012.

17- Josie Evans, PhD; Fiona Kilvington, MSc; Stephen Harding, PhD.- Ensayo policlonal Freelite® El estándar de excelencia para la cuantificación precisa de cadenas ligeras libres. The Binding Site Group. 2014.

18- Beaumont-Epinette MP, Moreau C, Besnard S, Latute F, Collet N, Sebillot M, Grosbois B, Bendavid C, Guenet L, Decaux O.- Heavy/light chain specific immunoglobulin ratios provides no additional information than serum proteins electrophoresis and immunofixation for the diagnosis and the follow-up of intact immunoglobulin multiple myeloma patients.- Pathol Biol (Paris). 2015 Sep; 63(4-5): 215-21. doi: 10.1016/j.patbio.2015.06.001. Epub 2015 Aug 28.

virus dengue

tecnolab

Serología



- **ELISA** Detecta y utiliza los 4 Serotipos (Dengue Tipo 1, 2, 3 y 4)
- Incluyen todos los reactivos y controles necesarios para el ensayo
- Placa por 96 pocillos para cortar
- Sensibilidad y Especificidad > al 95 % (frente a paneles comerciales)

EL1500M
EL1500G

Dengue Virus IgM Capture DxSelect™
Dengue Virus IgG DxSelect™

Kits y Reactivos



- Kits de Extracción y Purificación de RNA Viral
- Reactivos de Amplificación para PCR Standard o Tiempo Real: Primers, Sondas y Kits de PCR / RT-PCR