



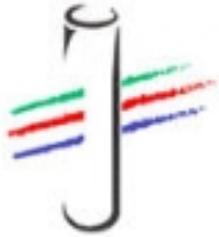
Electrophorèses et Immunotypages : profils et pièges

Dr B. ONRAED

Praticien Hospitalier – UF Pathologie des protéines

CHRU de LILLE

**25^{èmes} Journées Nationales – Collège National de Biochimie des Hôpitaux
PARIS - 28 et 29 janvier 2016**



COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX
25^e Journées Nationales
Paris 28-29 Janvier 2016
Programme 16891500004



ODPC N°1689

DECLARATION D'INTERET
DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION

Dr Brigitte ONRAED

Exerçant au CHU de Lille

déclare sur l'honneur

ne pas avoir d'intérêt, direct ou indirect (financier) avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le DMDIV et/ou le sujet présenté.**

Séparation, détection et quantification des fractions protéiques

en électrophorèse en gel d'agarose ou en électrophorèse capillaire

Profil d'électrophorèse capillaire (*Spectra Biologie n°146 Juin 2005. D Le Carrer, K Bach-Ngohou.*)

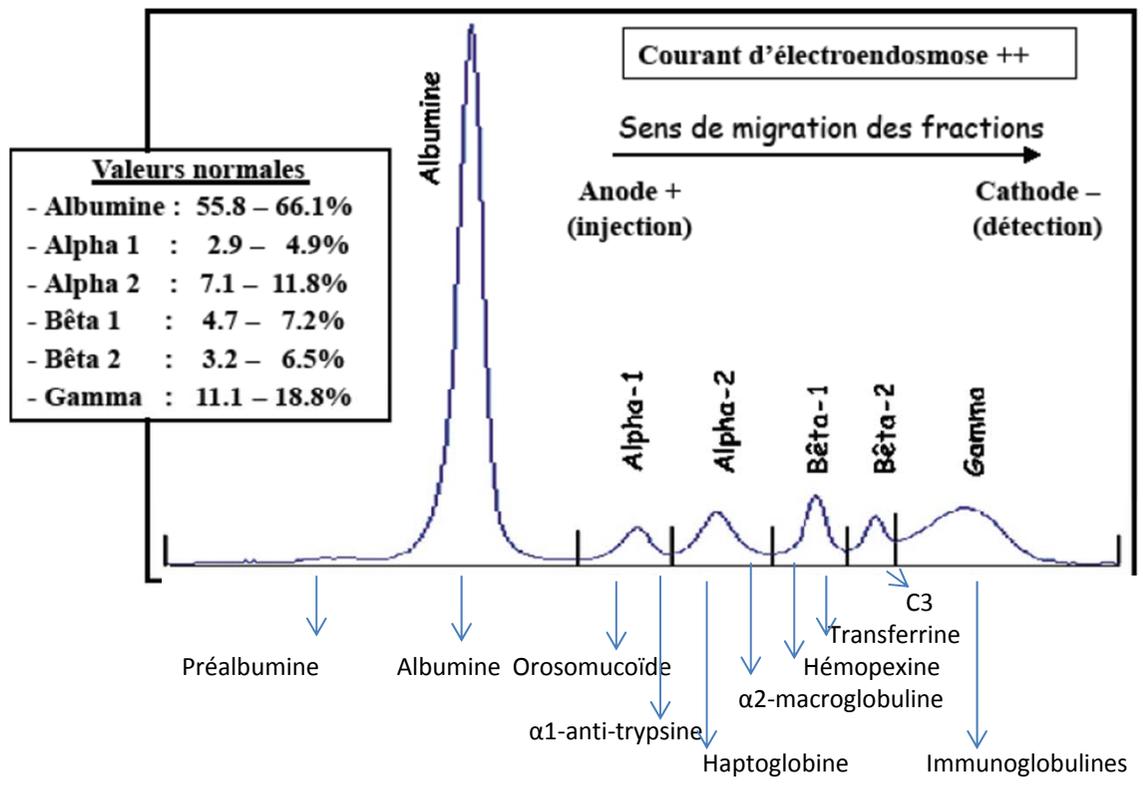


Figure 1
 Valeurs normales en pourcentages et identification des fractions protéiques en électrophorèse capillaire sur Capillary® Sebia (tampon Protéine 6).

Méthodes corrélées mais quelques différences

- La séparation et la quantification des fractions:

orosomucoïde plus élevée en capillaire, albumine plus élevée en agarose, migration des lipoprotéines, des Ig monoclonales...

- La détection des protéines

*en gel d'agarose: détection par un colorant des protéines

*en électrophorèse capillaire: détection UV des protéines à la sortie du capillaire par mesure de l'absorbance à 200 - 220 nm (absorption proportionnelle au nombre de liaisons peptidiques)

→ *Toute substance ou médicament absorbant à 200-220 nm peut interférer et induire un pic « de type monoclonal » si même temps d'élution*

- Les interférences

Electrophorèse des protéines :

Analyse quantitative

et

Détection d'anomalies qualitatives

Le dosage des protéines totales conditionne les résultats g/l

Connaître l'impact des interférences analytiques:

- liées à l'aspect du sérum (**hémolyse, lactescence, ictère**)
- liées à des **médicaments** tels que Cefotaxime, solutés de remplissage (dextran), substances colorées absorbant à 540 nm...

Comment?

- Notice technique => **concentrations maximales acceptables** de la substance interférente
- **Tests de charge**

Compléter les données à différentes concentrations du paramètre

Établir la correspondance entre indices chiffrés et concentrations de la substance interférente

- ***Bibliographie***

Hémolyse: Annales de Biologie Clinique 2015; 73(6):705-16. CNBH.

Lipémie et ictère: Annales de Biologie Clinique 2015; 73(6):671-89. Ali D et al.

Corrélation Albumine électrophorèse/ dosage spécifique

*Limites de la quantification

de l'albumine, un exemple:

=> En électrophorèse: 31,1 g/l

=> En néphélémétrie: 23,0 g/l

soit un écart de 26%

- En dehors des cas d'Ig monoclonale, bonne corrélation avec autres méthodes

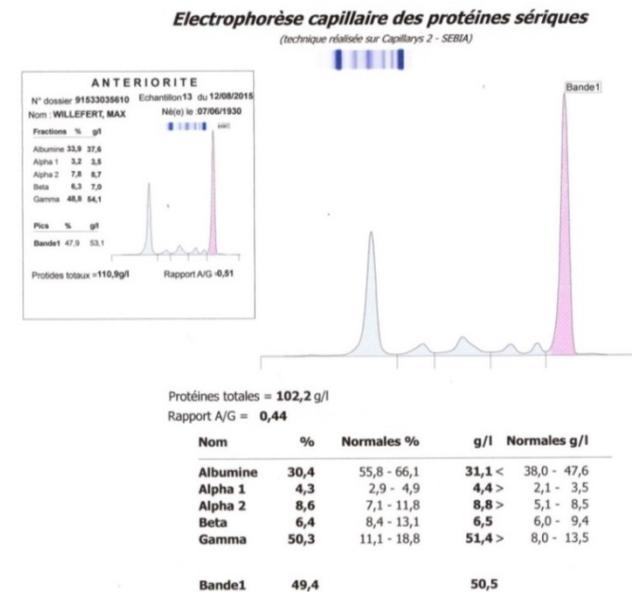
- D Le Carrer, K Bach-Ngohou. *Spectra Biologie* n°146

Juin 2005. *L'électrophorèse capillaire automatisée en Biologie clinique.*

- Tournoys MH, Lourme C, Dufosse F, Crepin O, Dekeyser S, Descamps D. Poster B17 39^{ème} Colloque National des Biologistes des hôpitaux Lille -2010.

- En dehors des interférences de l'hémolyse, lactescence et ictère

- Des réserves: F Blondé-Cynober. *Etude comparative multicentrique du groupe de travail de la SFBC. Conférence Colloque national des biologistes des hôpitaux. Nantes 2015.*



De l'électrophorèse à l'immunotypage

Anomalies suspectes déclenchant l'ajout d'un immunotypage:

ABC des gammopathies monoclonales 2014. Hennache B, Musset L, Stordeur P, Bengoufa D, Chapuis C et al.

Clin Chem 2010; 56(12): 1899-1900 (en gel d'agarose) Katzmann JA et al

SPE Abnormality	Reflexed SPE cases, n	IFE positive (specificity), n	Monoclonal free light chain by IFE, n
All abnormalities	790 (13.2%)	341 (43%)	9
M-spike	169	169 (100%)	—
Fuzzy band	206	112 (54%)	4
Questionable fuzzy band	263	47 (18%)	0
Hypogammaglobulinemia (<5.5 g/L)	85	10 (12%)	5
Elevated β fraction (16–19 g/L)	10	1 (10%)	0
Elevated α_2 fraction (≥ 14 g/L)	48	2 (4%)	0
Broad or extra α_2 fraction	9	0 (0%)	0

- En gel d'agarose: immunofixation
- En technique capillaire: immunosoustraction ou immunodéplacement (difficultés possibles en cas de chaînes légères libres, IgD ou E, dysglobulinémie biclonale)

-Chemoul A, Bigois L, Le Page B, Gardet V. Poster B06- Colloque National des Biologistes de Hôpitaux. Clermont Ferrand.

Difficultés d'interprétation de l'électrophorèse: à propos d'un cas.

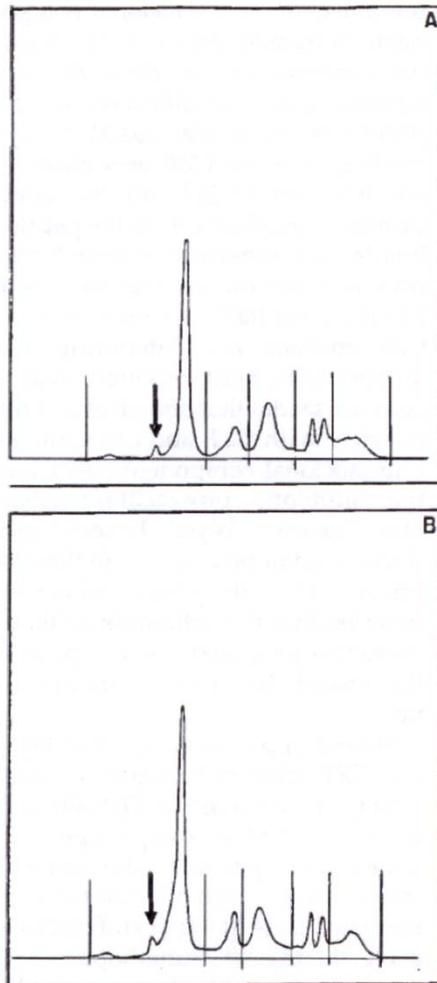
-Adjtoutah Z, Oddoux C, Jacob N, Tournoys MH, Descamps D- poster B11. Colloque National des Biologistes de Hôpitaux. Angers 2011

Dépistage et identification des dysglobulinémies par immunosoustraction: interprétation des résultats et place de cette technique dans la démarche diagnostique

Profils atypiques : de la pré-albumine aux Υ -globulines

Zone Pré-albumine : prise de Sulfaméthoxazole

Bossuyt X, et al. Clin Chem. 2003; 49(2):340-341.



A et B: Patients ayant reçu 400 mg Sulfaméthoxazole

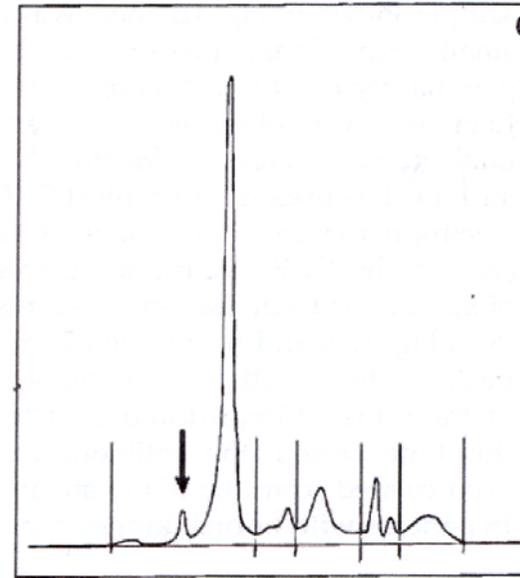


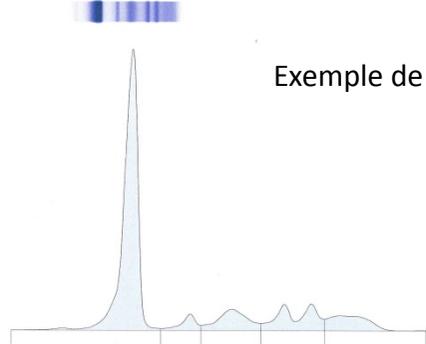
Fig. 1. Effect of sulfamethoxazole on serum CZE.

Panels A and B show the CZE electropherograms of samples from two patients receiving intravenous sulfamethoxazole-trimethoprim (400 mg of sulfamethoxazole/80 mg of trimethoprim, 12 ampoules/day for 6 days). *Panel C* shows the CZE electropherogram of a normal sample to which sulfamethoxazole (Roche) dissolved in methanol (final concentration, 240 mg/L) was added. The arrows indicate the abnormal peak.

C: Sérum normal supplémenté

Zone Pré-albumine-Albumine: interférence des lipides

Electrophorèse capillaire des protéines sériques
(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Exemple de 3 patients

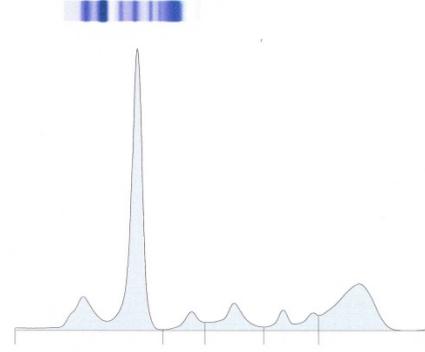
Protéines totales = 59,2 g/l
Rapport A/G = 1,69

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	62,8	55,8 - 66,1	37,2 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	3,9	2,9 - 4,9	2,3	2,1 - 3,5
Alpha 2	10,2	7,1 - 11,8	6,0	5,1 - 8,5
Beta	13,5	8,4 - 13,1	8,0	6,0 - 9,4
Gamma	9,6	11,1 - 18,8	5,7 <	8,0 - 13,5

Mr D.

Chol: 4,07g/l TG: 14,0 g/l

Electrophorèse capillaire des protéines sériques
(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



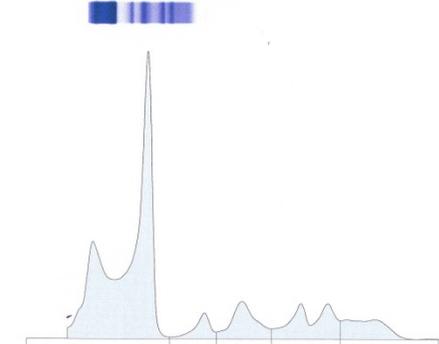
Protéines totales = 80,6 g/l
Rapport A/G = 1,29

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	56,3	55,8 - 66,1	45,4	38,0 - 47,6
Alpha 1	4,1	2,9 - 4,9	3,3	2,1 - 3,5
Alpha 2	8,5	7,1 - 11,8	6,9	5,1 - 8,5
Beta	7,2	8,4 - 13,1	5,8 <	6,0 - 9,4
Gamma	23,9	11,1 - 18,8	19,3 >	8,0 - 13,5

Mme M.

Chol: 6,5 g/l TG: 32,1 g/l

Electrophorèse capillaire des protéines sériques
(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = 145,1 g/l
Rapport A/G = 1,27

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	65,1	55,8 - 66,1	94,5 >	38,0 - 47,6
Alpha 1	4,2	2,9 - 4,9	6,1 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	9,4	7,1 - 11,8	13,6 >	5,1 - 8,5
Beta	12,9	8,4 - 13,1	18,7 >	6,0 - 9,4
Gamma	8,4	11,1 - 18,8	12,2	8,0 - 13,5

Mr F.

Chol: 10,6 g/l TG: 79 g/l

En électrophorèse capillaire (coffret Sebia Protéines 6), des lipoprotéines migrent dans le pic «Albumine » ; interférence visible pour des triglycéridémies très augmentées (indice lactescence +++)

Migration des lipides

Protein electrophoresis in clinical diagnosis. 2003. D F Keren

1/ Electrophorèse capillaire:

Migration des LP peut varier selon l'automate

Par exemple, HDL: sur Paragon CZE 2000: entre albumine et $\alpha 1$

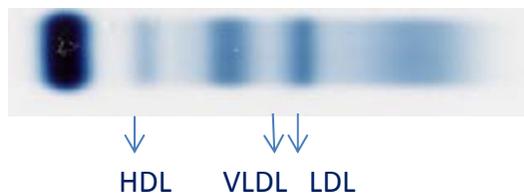
sur Capillarys 2, migration dans le pic albumine

**Traitement hépariné:* l'héparine active la lipoprotéine lipase, libération d'AG libres à partir des TG. Les AG libres se lient aux HDL

=> migration des HDL tend vers la zone pré-albumine

**Capillaires vieillissants:* épaulement cathodique récurrent du pic Albumine

2/ Gel d'agarose:

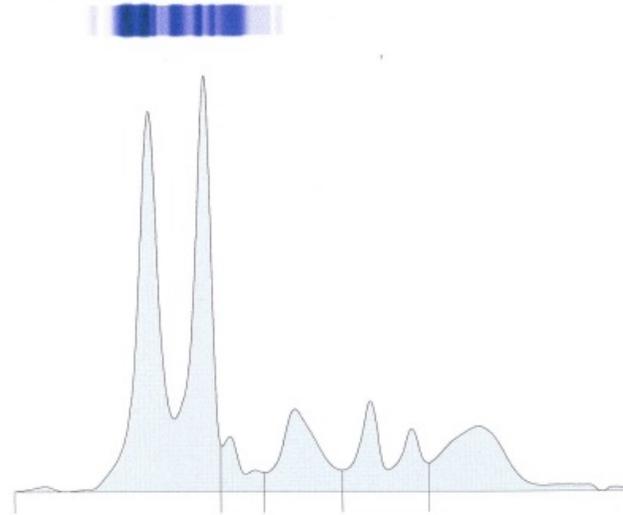


**les HDL (α -globulines) peuvent masquer un déficit en $\alpha 1$ -anti-trypsine. Les VLDL migrent en pré- β et les LDL en β .*

Zone Albumine: dédoublement du pic

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **66,9** g/l

Rapport A/G = **1,41**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	58,5	55,8 - 66,1	39,1	38,0 - 47,6
Alpha 1	4,1	2,9 - 4,9	2,7	2,1 - 3,5
Alpha 2	11,0	7,1 - 11,8	7,4	5,1 - 8,5
Beta	11,5	8,4 - 13,1	7,7	6,0 - 9,4
Gamma	14,9	11,1 - 18,8	10,0	8,0 - 13,5

Aspect en bonnet d'âne

Zone albumine: dédoublement du pic (1)

K. Bach-NGOHOU et al. Les Dysalbuminémies. Ann.Clin.Biol. (2005); 63(2);127-34.

1/ Bisalbuminémies héréditaires: Anomalies permanentes
transmission autosomique co-dominante

fréquence variable selon les populations de 1/1000 à 1/10 000

- *Sujet hétérozygote: 2 types d'albumine sont exprimés, en quantité égale (« bonnet d'âne ») ou non*

- *Sujet homozygote: un seul type de migration plus anodique ou plus cathodique.*

Pas de conséquence pathologique mais parfois affinité perturbée pour certaines hormones:

Hyperthyroxinémie familiale dysalbuminémique (rare)

Zone albumine: dédoublement du pic (2)

K. Bach-NGOHOU et al. Les Dysalbuminémies. Ann.Clin.Biol. (2005); 63(2);127-34.

2/ Bisalbuminémies acquises: Anomalies transitoires

Dédoublement ou épaulement du pic « albumine »

***Protéolyse** limitée de l'albumine **par des enzymes pancréatiques**
lors de fistules

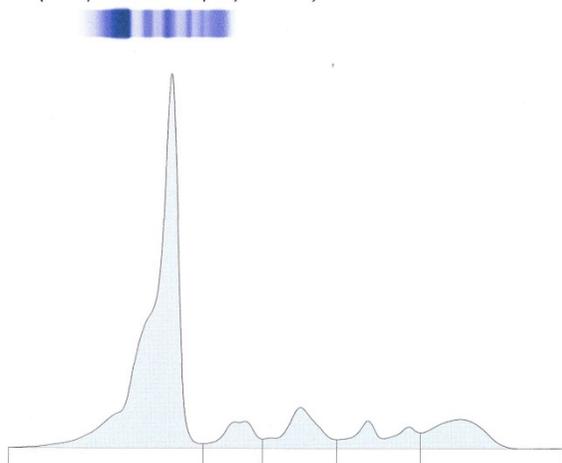
***Liaison à certaines immunoglobulines monoclonales** (IgA ou IgM)

***Liaison à l'albumine d'antibiotiques de type β -lactamines**
(apparition du dédoublement 3 à 8 jours après le début du traitement,
disparition progressive à l'arrêt du traitement)

Zone Albumine: épaulement du pic

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **57,8** g/l

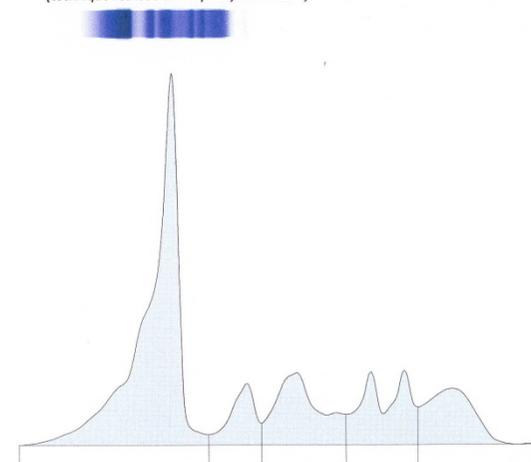
Rapport A/G = **2,00**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	66,7	55,8 - 66,1	38,6	38,0 - 47,6
Alpha 1	5,8	2,9 - 4,9	3,4	2,1 - 3,5
Alpha 2	9,2	7,1 - 11,8	5,3	5,1 - 8,5
Beta	7,9	8,4 - 13,1	4,6 <	6,0 - 9,4
Gamma	10,4	11,1 - 18,8	6,0 <	8,0 - 13,5

Patient sous ATB: Tazocilline
(pipéracilline-tazobactam)

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **54,4** g/l

Rapport A/G = **1,07**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	51,6	55,8 - 66,1	28,1 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	7,1	2,9 - 4,9	3,9 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	15,0	7,1 - 11,8	8,2	5,1 - 8,5
Beta	13,8	8,4 - 13,1	7,5	6,0 - 9,4
Gamma	12,5	11,1 - 18,8	6,8 <	8,0 - 13,5

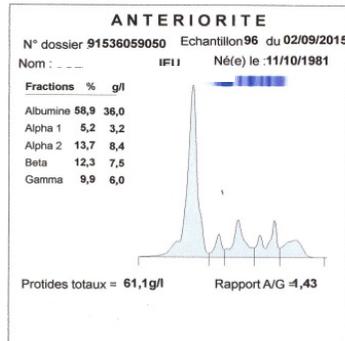
Patient sous ATB: Augmentin
(Amoxicilline + Ac clavulanique)

Variation possible selon l'appareillage: Clin Chem 2002; 48 (1) 204-205. pic en β anodique sur Paragon CZE 2000)

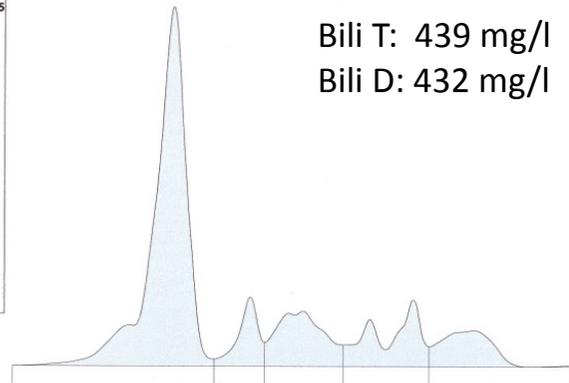
Zone Albumine: hyperbilirubinémie

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Bili T: 439 mg/l soit 751 μ mol/l
Bili D: 432 mg/l soit 739 μ mol/l



Protéines totales = 46,2 g/l

Rapport A/G = 1,35

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	57,4	55,8 - 66,1	26,5 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	7,0	2,9 - 4,9	3,2	2,1 - 3,5
Alpha 2	13,5	7,1 - 11,8	6,2	5,1 - 8,5
Beta	12,5	8,4 - 13,1	5,8 <	6,0 - 9,4
Gamma	9,6	11,1 - 18,8	4,4 <	8,0 - 13,5

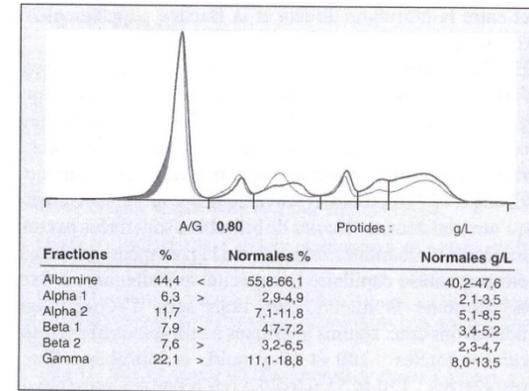


Figure 1. Étalement de la fraction albumine pour une bilirubinémie de 218,2 μ mol/L.

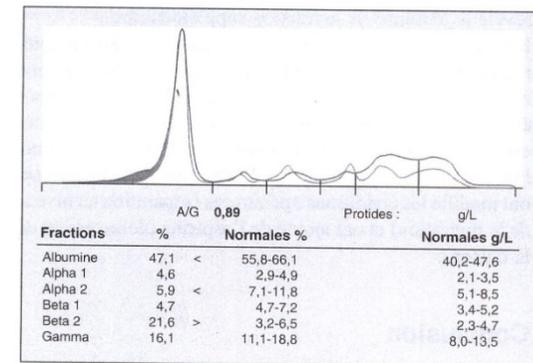


Figure 2. Fraction à séparation plus tardive que l'albumine pour bilirubinémie supérieure à 400 μ mol/L.

- Selon Hellara et al Ann Biol Clin 2014;72(1):124-8: en él. capillaire

Étalement anormal de la fraction anodique de l'albumine, impact minime

En relation avec la bilirubine directe (la surcharge de sérums par une solution de bilirubine ne reproduit pas l'anomalie)

L' anomalie diminue si le sérum est exposé à la lumière. (photosensibilité de la bilirubine)

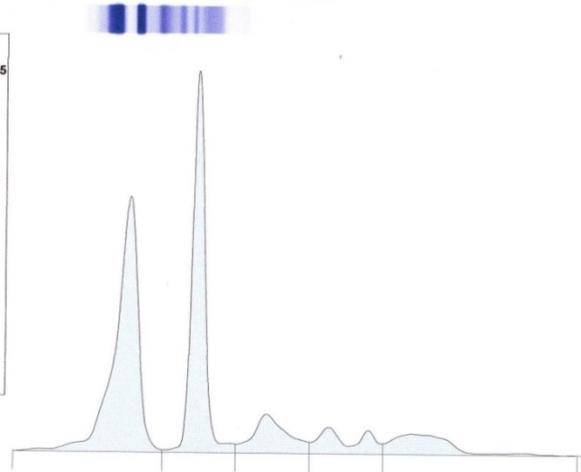
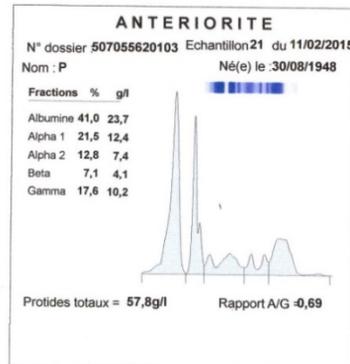
- Lipémie et ictère: Annales de Biologie Clinique 2015; 73(6):671-89 Ali D et al.

Interférence impactant la mesure des protéines totales

Zone Albumine/ α 1-globulines

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)

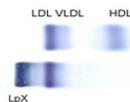


Protéines totales = 50,2 g/l
 Rapport A/G = 0,69

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	40,7	55,8 - 66,1	20,4 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	34,4	2,9 - 4,9	17,3 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	9,3	7,1 - 11,8	4,7 <	5,1 - 8,5
Beta	7,1	8,4 - 13,1	3,6 <	6,0 - 9,4
Gamma	8,5	11,1 - 18,8	4,3 <	8,0 - 13,5

Lipidogramme: présence de LpX (LP basse densité riche en phospholipides)

témoin
 Mr P



Mr P., 66 ans, suivi en Endocrinologie, hospitalisé en Néphrologie en juillet 2015 pour IRA

ATCD: LAM en 2013 traitée par chimiothérapie puis en mars 2014, **allogreffe** de cellules souches

Clinique: GVH cutanée et hépatique chronique post-allogreffe, IRA

Biologie: cytolysse hépatique modérée et **cholestase** ictérique

TGO: 80 UI/l GGT 1703 UI/l

TGP: 137 UI/l PAL 399 UI/l

Bil T: 26 mg/l (44 μ mol/l)

Bil D: 24 mg/l (32 μ mol/l)

Cholestérol: 11,8 g/l (30,4 mmol/l)

Triglycérides: 2,49 g/l (2,84 mmol/l)

LpX: conséquences sur le bilan biochimique. Onraed B, Hennache B, Brousseau T. Poster B07 Colloque national des biologistes des hôpitaux - Lille 2010

Zones Albumine et α 1-globulines

➤ **AFP (α 1-globuline):** *Boujelbene A et al. Gastroentérologie clinique et biologique (2010) 34:636-38: Fausse bisalbuminémie et hyperalpha1foetoprotéinémie. ?*

➤ Variants de l' α 1-anti-trypsine

Garcia Hejl C et al. Diagnosis of α 1-antitrypsin deficiency using capillary zone electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2015; 53(10): e271-e273.

Foray V, Chapuis-Cellier C. Dépistage des variants génétiques de l' α 1-antitrypsine par électrophorèse capillaire sur Paragon CZE 2000. Imm. Biol. Spéc. 2004, 19:117-20.

Zone α_2 -globulinique: dédoublement

➤ *Revue Francophone des Laboratoires: Bioquizz -Septembre-octobre 2014-n°465 cahier 1: p75-76*

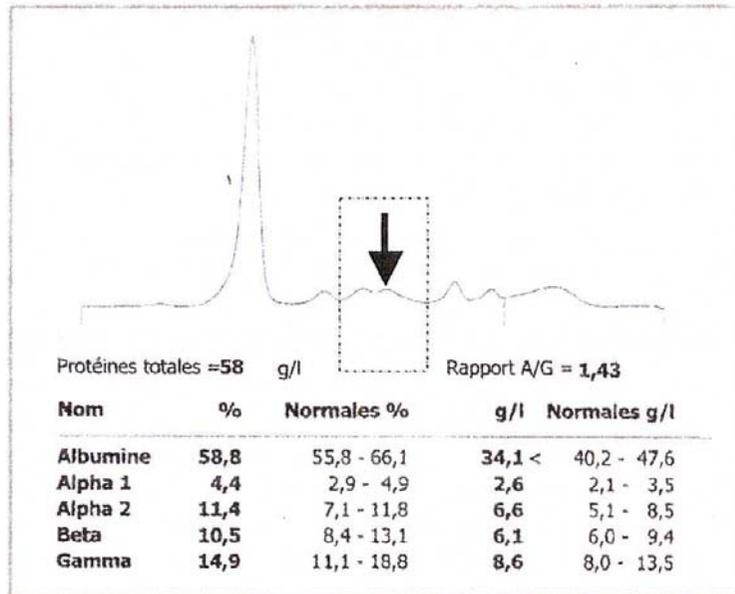


Figure 1 - Trace de M. T.

- **Variants de l'haptoglobine**
3 phénotypes principaux:
Hp 1-1 Hp 2-1 Hp 2-2
- En électrophorèse capillaire:
épaulement ou dédoublement des α_2 -globulines pour les phénotypes Hp 1-1 et Hp 2-1

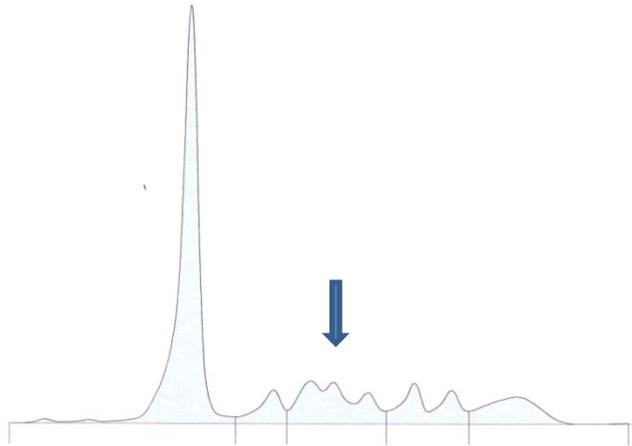
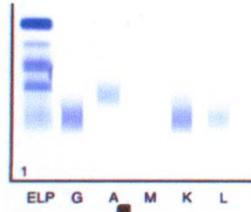
➤ *Bourrouillou A, Galinier A, Salvayre R. Poster. Colloque National des Biologistes de Hôpitaux. Angers 2011. Une approche du phénotypage de l'haptoglobine.*

Détermination exacte **délicate** en électrophorèse capillaire mais **classification du risque** proposée (spécificité 85%) en se basant sur un diagnostic d'exclusion.

Zone α_2 -globulinique: dédoublement

Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **59,6** g/l Rapport A/G = **1,27**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	55,9	55,8 - 66,1	33,3 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	5,6	2,9 - 4,9	3,3	2,1 - 3,5
Alpha 2	17,0	7,1 - 11,8	10,1 >	5,1 - 8,5
Beta	11,1	8,4 - 13,1	6,6	6,0 - 9,4
Gamma	10,4	11,1 - 18,8	6,2 <	8,0 - 13,5

Mme S. née le 21.02.1953,
hospitalisée en Néphrologie
pour prise en charge d'une
**Hyponatrémie, douleurs
abdominales, vomissements**
Discrète IRA, Lipase augmentée
ATCD:
Hypothyroïdie, Diabète type II
HTA, Dyslipémie

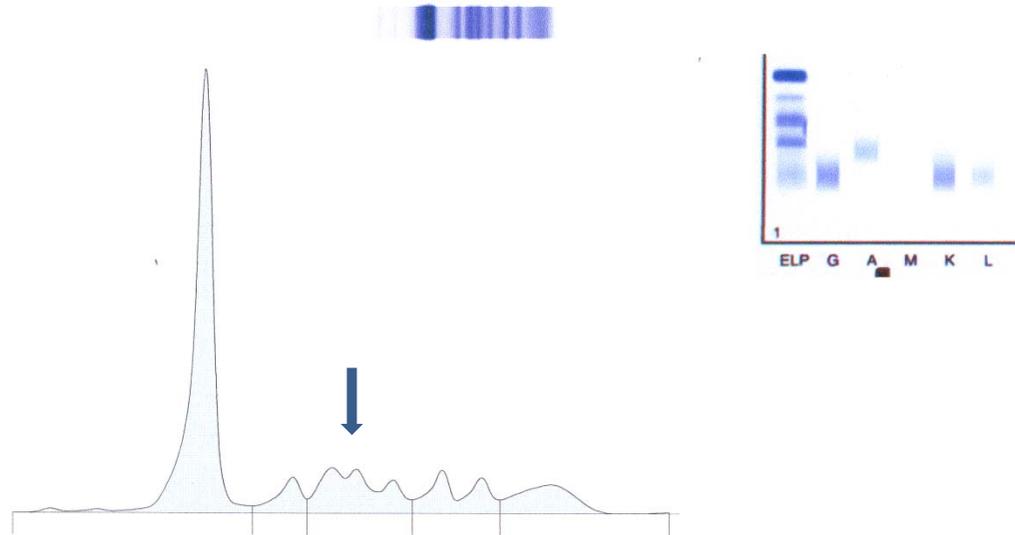
Imagerie: scanner abdominal

IF: normale

Zone α_2 -globulinique: dédoublement

Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **59,6** g/l Rapport A/G = **1,27**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	55,9	55,8 - 66,1	33,3 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	5,6	2,9 - 4,9	3,3	2,1 - 3,5
Alpha 2	17,0	7,1 - 11,8	10,1 >	5,1 - 8,5
Beta	11,1	8,4 - 13,1	6,6	6,0 - 9,4
Gamma	10,4	11,1 - 18,8	6,2 <	8,0 - 13,5

Mme S. née le 21.02.1953,
hospitalisée en Néphrologie
pour prise en charge d'une
Hyponatrémie, douleurs
abdominales, vomissements

ATCD:

Hypothyroïdie, Diabète type II
HTA, Dyslipémie

IF: normale

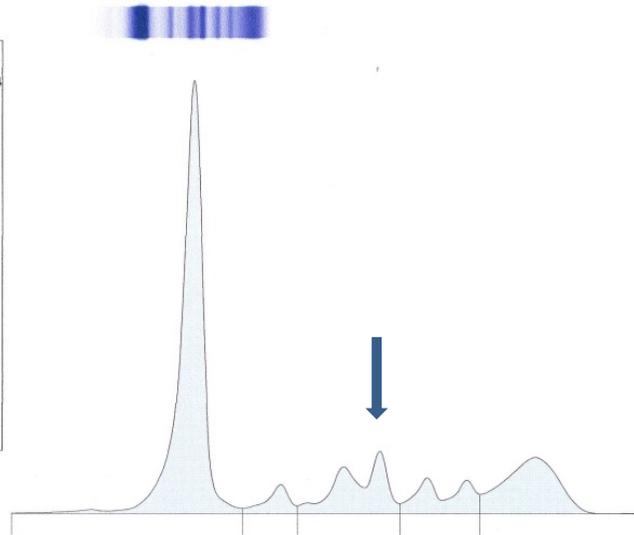
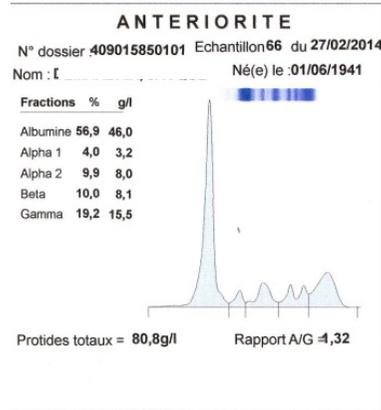
Imagerie: scanner abdominal
avec injection de **Xénétix**®

=> pic au centre des
 α_2 -globulines

Zone $\alpha 2$ -globulinique: dédoublement

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **80,1** g/l
 Rapport A/G = **1,23**

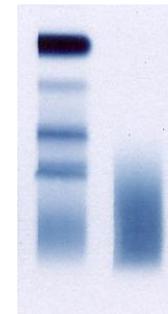
Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	55,2	55,8 - 66,1	44,2	38,0 - 47,6
Alpha 1	3,9	2,9 - 4,9	3,1	2,1 - 3,5
Alpha 2	14,4	7,1 - 11,8	11,5 >	5,1 - 8,5
Beta	8,8	8,4 - 13,1	7,0	6,0 - 9,4
Gamma	17,7	11,1 - 18,8	14,2 >	8,0 - 13,5

Mme D. 74 ans Dermatologie HCD
 Hospitalisée pour réévaluation
 clinique et thérapeutique d'une
 sarcoïdose ganglionnaire et
 cutanée =>

➤ **Imagerie:** Examen
 tomodensitométrique du
 thorax

EL: pic en $\alpha 2$ -globulines

➤ **IF** dépistage (pentavalent):
 Normal

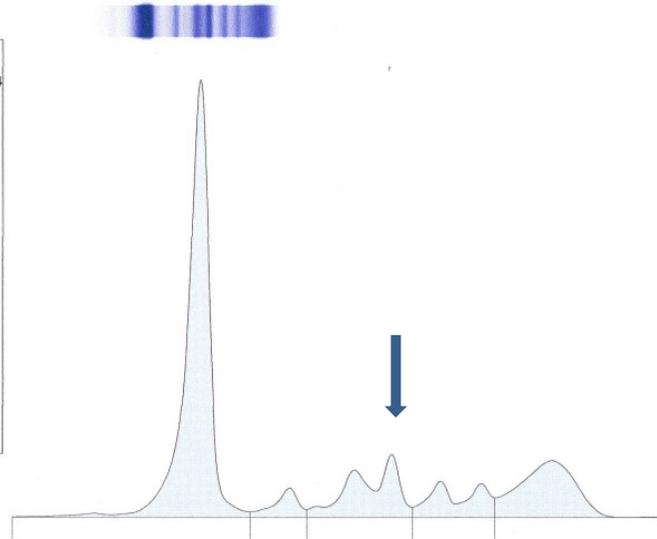
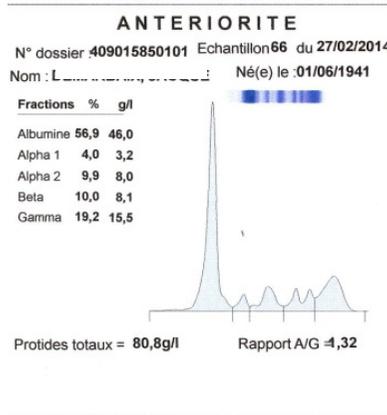


Pas de dédoublement en
 agarose (piste Total)
 Pentavalent: normal

Zone α 2-globulinique: dédoublement

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **80,1** g/l

Rapport A/G = **1,23**

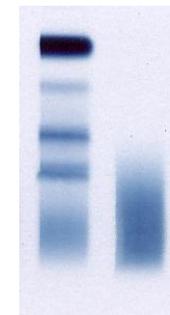
Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	55,2	55,8 - 66,1	44,2	38,0 - 47,6
Alpha 1	3,9	2,9 - 4,9	3,1	2,1 - 3,5
Alpha 2	14,4	7,1 - 11,8	11,5 >	5,1 - 8,5
Beta	8,8	8,4 - 13,1	7,0	6,0 - 9,4
Gamma	17,7	11,1 - 18,8	14,2 >	8,0 - 13,5

Mme D. 74 ans Dermatologie HCD
 Hospitalisée pour réévaluation
 clinique et thérapeutique d'une
 sarcoïdose ganglionnaire et
 cutanée

Examen tomодensitométrique du
 thorax avec injection
 d'**Omnipaque®** quelques heures
 avant le prélèvement.

EL: pic en α 2-globulines
 (cathodique)

IF dépistage (pentavalent):



Pas de dédoublement
 en agarose (piste
 Total)
 Pentavalent: normal

Zone α_2 -globulinique: une bande discrète

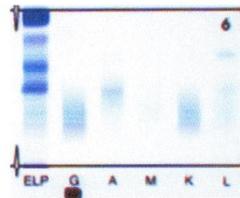
05.06.2014

Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Anti-D et anti-E négatifs



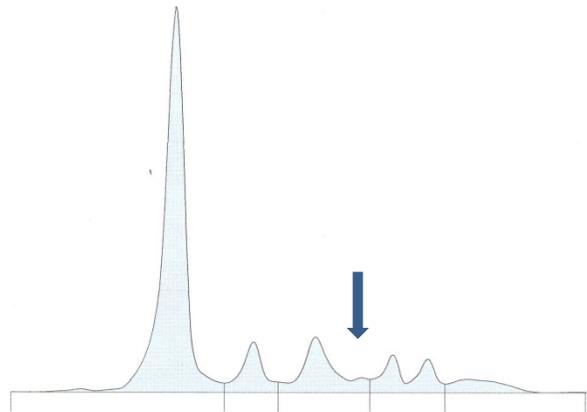
← Lambda
← IgA lambda

Mr P. né le 25/04/1931, MDS

IgA 0,68 g/l

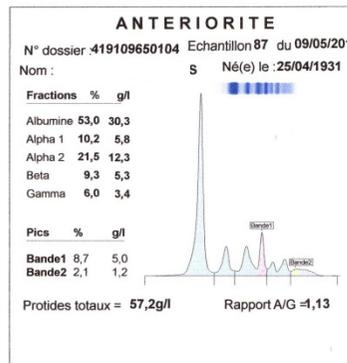
IgG 2,9 g/l

IgM 0,14 g/l



Protéines totales = **53,9** g/l Rapport A/G = **1,71**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	63,1	55,8 - 66,1	34,0 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	8,1	2,9 - 4,9	4,4 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	13,6	7,1 - 11,8	7,3	5,1 - 8,5
Beta	9,9	8,4 - 13,1	5,3 <	6,0 - 9,4
Gamma	5,3	11,1 - 18,8	2,9 <	8,0 - 13,5



EL: Bande discrète entre α_2 et β -globulines et hypo γ -globulines

SFLC Kappa 5,4 mg/l

Lambda 1098 mg/l

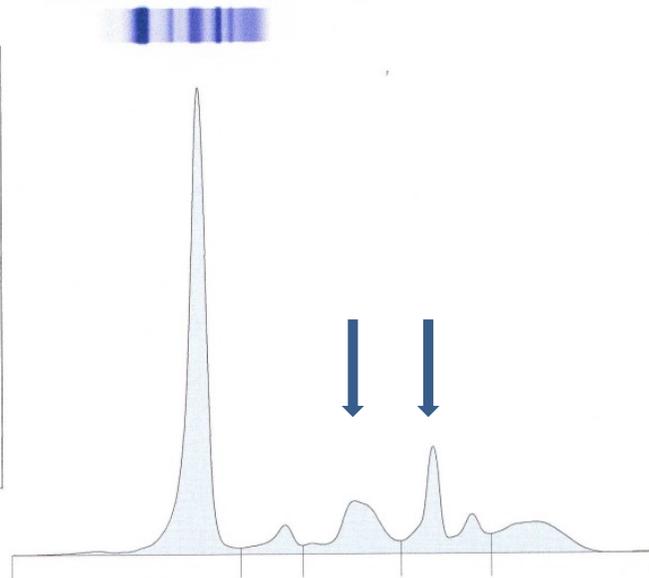
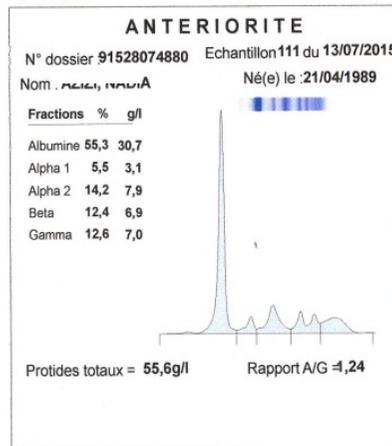
Ratio <0,01

IF: IgA Lambda discrète + excès de chaînes légères libres Lambda

Zones α_2 et β -globuliniques: hémolyse

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **76,3** g/l

Rapport A/G = **1,16**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	53,7	55,8 - 66,1	41,0	38,0 - 47,6
Alpha 1	4,7	2,9 - 4,9	3,6 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	13,7	7,1 - 11,8	10,5 >	5,1 - 8,5
Beta	16,5	8,4 - 13,1	12,6 >	6,0 - 9,4
Gamma	11,4	11,1 - 18,8	8,7	8,0 - 13,5

Le 13/08/15

Prélt hémolysé: indice 3+

sur automate C4000

1+: 30 < DO < 100

2+: 100 < DO < 200

3+: 200 < DO < 500

4+: DO > 500

Protidémie surestimée

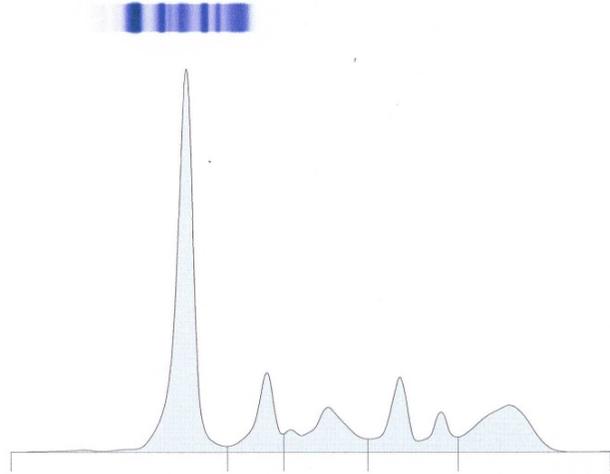
**Hyper α_2 -globulinémie
majorée par l'hémolyse**

**(complexe Hpt-Hb) +
Hyper β_1 -globulinémie (Hb)**

Prélèvement non conforme

Zone β -globulinique

Electrophorèse capillaire des protéines sériques
(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **58,1** g/l
Rapport A/G = **0,86**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	46,3	55,8 - 66,1	26,9 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	10,3	2,9 - 4,9	6,0 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	12,4	7,1 - 11,8	7,2	5,1 - 8,5
Beta	15,0	8,4 - 13,1	8,7	6,0 - 9,4
Gamma	16,0	11,1 - 18,8	9,3	8,0 - 13,5

Hypoprotidémie

Hyposérumalbuminémie

Dissociation α 1 et α 2-globulinémie
et accentuation des β 1-globulines
(grossesse, hémolyse) ↘

Mme P. née le 01.01.1989, hospitalisée en Pathologie maternelle et fœtale

Anémie normocytaire arégénérative

PAL 243 UI/l (N < 104)

LDH 260 UI/l (N < 210)

Plaquettes: 43. 10⁹/l (150 < N < 400)

TGO 89 UI/l (N < 30)

TGP 210 UI/l (N < 35)

Acides biliaires sériques 15 μ mol/l (N < 6)

Haptoglobine 0,26 g/l (0,34 < N < 2,00)

Hémolyse, Cytolyse et Thrombopénie

Diagnostic: HELLP syndrome

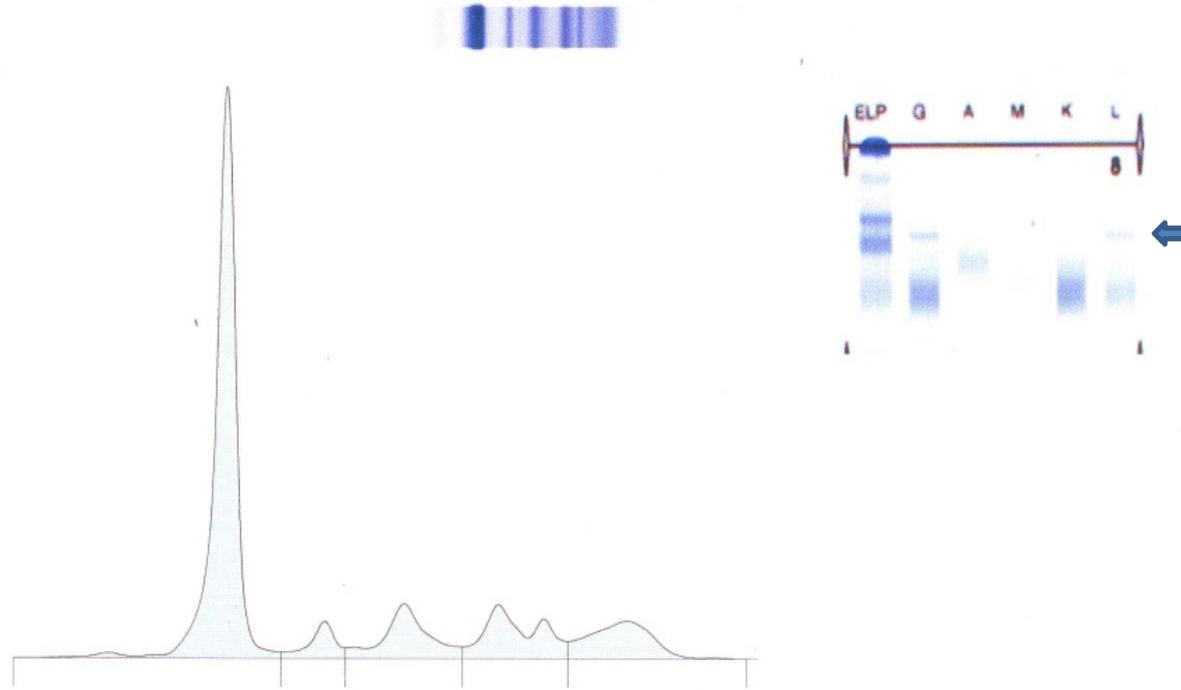
(complication de la pré-éclampsie)

=>Accouchement à 37 SA

Zone β 1-globulinique: élargissement du pic

Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Electrophorèse:

Elargissement du pic des β 1-globulines



Immunofixation sérique:

Dysglobulinémie monoclonale de type **IgG Lambda**

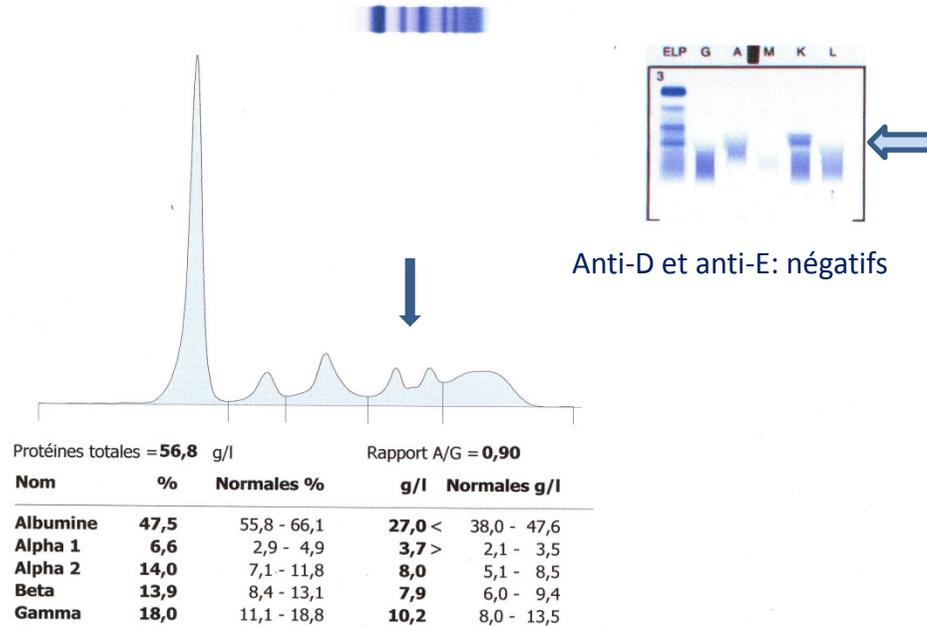
Protéines totales = **59,9** g/l

Rapport A/G = **1,40**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	58,4	55,8 - 66,1	35,0 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	4,6	2,9 - 4,9	2,8	2,1 - 3,5
Alpha 2	11,6	7,1 - 11,8	6,9	5,1 - 8,5
Beta	13,4	8,4 - 13,1	8,0	6,0 - 9,4
Gamma	12,0	11,1 - 18,8	7,2 <	8,0 - 13,5

Zone β -globulinique: « vallée » β 1- β 2 atypique

Electrophorèse des protéines sériques
(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Mr V. né le 09/11/1940, Med post urgence

EL: Discrète anomalie entre les β 1 et les β 2 sans hypo γ -globulinémie

IgA: 2,76 g/l IgG: 11,1 g/l IgM: 0,44 g/l

SFLC: Kappa: 13 517 mg/l
 Lambda: 25 mg/l
 ratio: 540

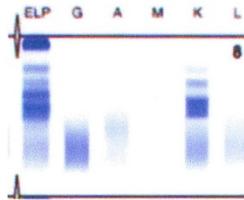
Protéinurie: 0,15 g/l 0,18 g/24H
IF urinaire: Présence d'une protéine de Bence Jones de type Kappa

IF avec anti-D et anti-E:
Maladie des chaînes légères de type KAPPA

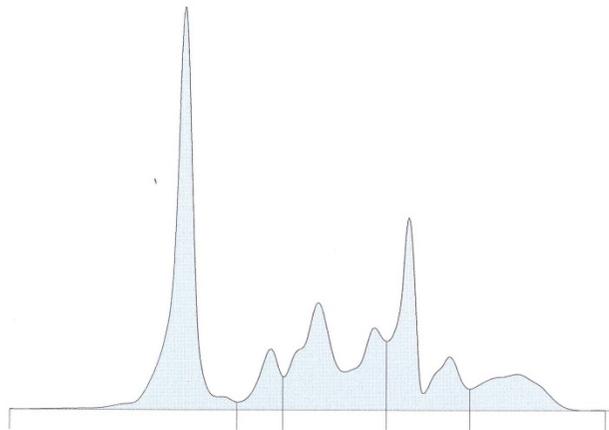
SFLC polymérisées

Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Anti-D et anti-E: négatifs



Protéines totales = **72,6** g/l

Rapport A/G = **0,57**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	36,5	55,8 - 66,1	26,5 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	6,0	2,9 - 4,9	4,4 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	26,0	7,1 - 11,8	18,9 >	5,1 - 8,5
Beta	21,6	8,4 - 13,1	15,7 >	6,0 - 9,4
Gamma	9,9	11,1 - 18,8	7,2 <	8,0 - 13,5

**Polymères de ch. légères:
Pas de concordance entre
le pic électrophorétique et le
dosage SFLC impliquée**

Mr R. né le 07/06/1959

Mal du sang Cs (CH extérieur)

SFLC Kappa: >189 000 mg/l

Lambda: 113,4 mg/l

Ratio: >1666

EL: pic en $\alpha 2$ et β + fusion α - β

IF: 3 bandes homogènes avec anti-Kappa (migrant de la zone α à la zone β):

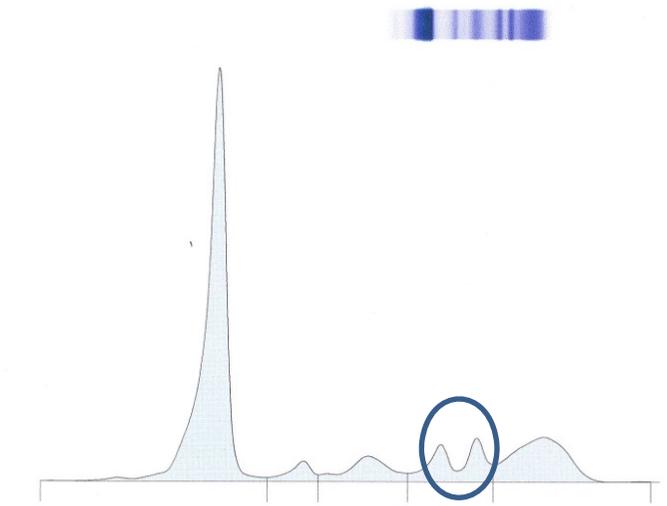
SFLC Kappa polymérisées

IF urinaire, protéinurie: pas d'échantillon d'urines
= Analyses urines à réaliser en complément du bilan

Zone β -globulinique: $\beta 2 > \beta 1$

Electrophorèse des protéines sériques

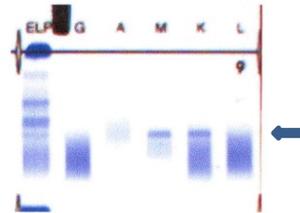
(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **72,4** g/l

Rapport A/G = **1,51**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	60,2	55,8 - 66,1	43,6	38,0 - 47,6
Alpha 1	3,3	2,9 - 4,9	2,4	2,1 - 3,5
Alpha 2	7,6	7,1 - 11,8	5,5	5,1 - 8,5
Beta	11,5	8,4 - 13,1	8,3	6,0 - 9,4
Gamma	17,4	11,1 - 18,8	12,6	8,0 - 13,5



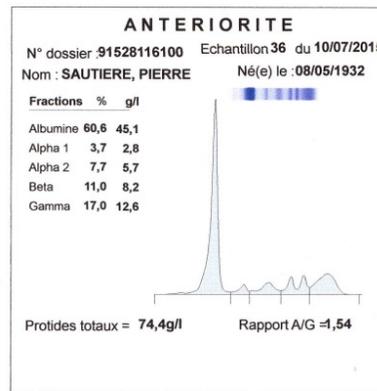
Mr S. né le 08.05.1932 .

Médecine interne Cs

IgA: 1,23 g/l

IgG: 13,4 g/l

IgM: 3,86 g/l



Electrophorèse:
Accentuation des $\beta 2$ -globulines
 $\beta 2 > \beta 1$ sans syndrome inflammatoire

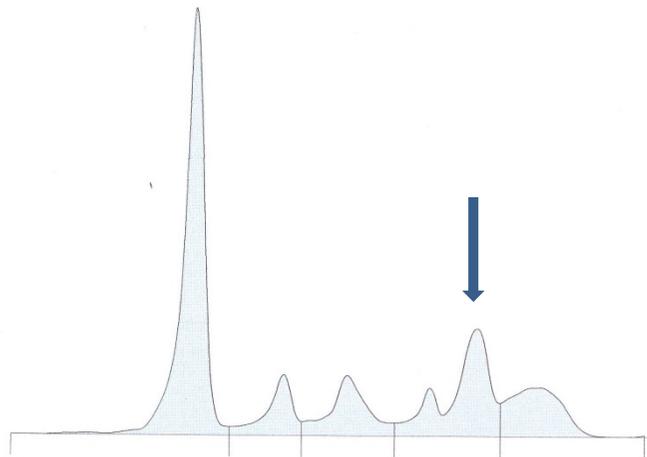
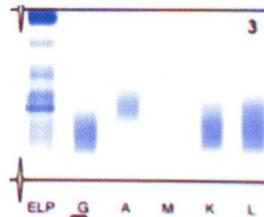
=> ajout d'IF: IgM Kappa monoclonale

Zone β 2-globulinique: pic en β 2

29/09/2014

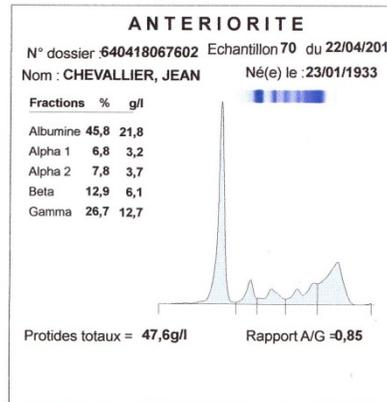
Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **61,6** g/l Rapport A/G = **0,84**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	45,7	55,8 - 66,1	28,2 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	7,9	2,9 - 4,9	4,9 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	11,3	7,1 - 11,8	7,0	5,1 - 8,5
Beta	21,6	8,4 - 13,1	13,3 >	6,0 - 9,4
Gamma	13,5	11,1 - 18,8	8,3	8,0 - 13,5



Mr C. né le 23/01/1933, CH extérieur

Electrophorèse:
bande en β 2-globulines

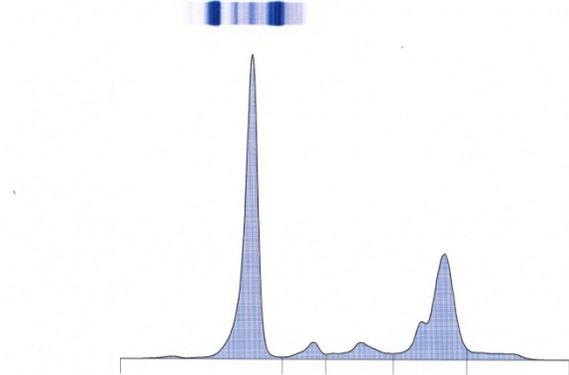
Ajout IF : normale

+ piste anti-Fibrinogène :
1 bande

Prélèvement non conforme:
Présence de fibrinogène

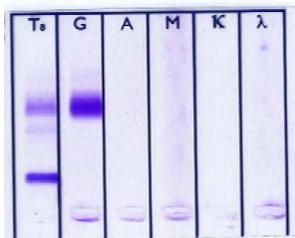
Zone β 2-globulinique: pic en β 2

Electrophorèse capillaire des protéines sériques
(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **69,2** g/l
A/G **1,13**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	53,0	55,8 - 66,1	36,7 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	3,7	2,9 - 4,9	2,6	2,1 - 3,5
Alpha 2	6,5	7,1 - 11,8	4,5 <	5,1 - 8,5
Beta	32,8	8,4 - 13,1	22,7 >	6,0 - 9,4
Gamma	4,0	11,1 - 18,8	2,8 <	8,0 - 13,5



Mme B. née le 19/02/1949 CH extérieur
EL: Bande β 2-globulinique, hypo γ -globul. associée

Dosages: IgA 0,30 g/l IgG 34,2 g/l IgM 0,22 g/l

SFLC: Kappa 38,9 mg/l

Lambda: 18,4 mg/l

Ratio 2,11

**IF: bande homogène avec anti-gamma sans
anomalie correspondante des chaînes légères**

avec Antisérums d'un autre fabricant: idem



Suspicion maladie des chaînes lourdes Gamma

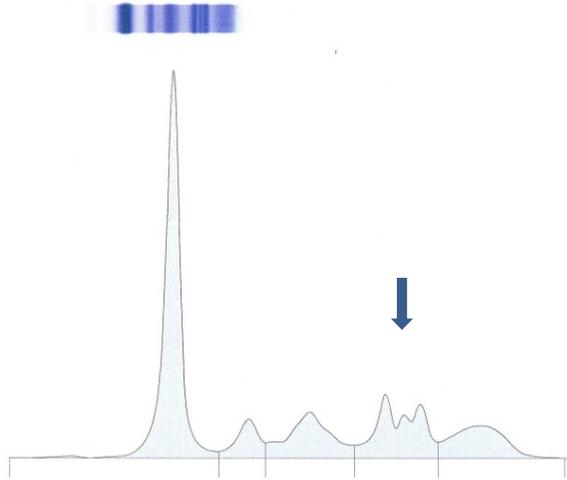
Confirmation par immunosélecton (envoi extérieur)

⇒ **À confronter au tableau clinique**

Zone β -globulines: 3 bandes en β

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = 62,6 g/l

Rapport A/G = 0,89

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	47,1	55,8 - 66,1	29,5 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	6,6	2,9 - 4,9	4,1 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	14,6	7,1 - 11,8	9,1 >	5,1 - 8,5
Beta	18,7	8,4 - 13,1	11,7 >	6,0 - 9,4
Gamma	13,0	11,1 - 18,8	8,1	8,0 - 13,5

Mme A. S 34 ans, enceinte de 8 mois

Hospitalisée en Soins intensifs Neurovasculaires pour **suspicion de thrombophlébite cérébrale** (céphalée unilatérale gauche évoluant depuis la veille 22H)

CRP: 53 mg/l

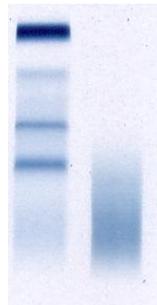
Cholestérol T: 2,77 g/l (7,15 mmol/l)

Triglycérides: 3,17 g/l (3,61 mmol/l)

Pas de notion de diabète ou d'HTA gravidique

Imagerie:

IRM et Angioscanner veineux cérébral



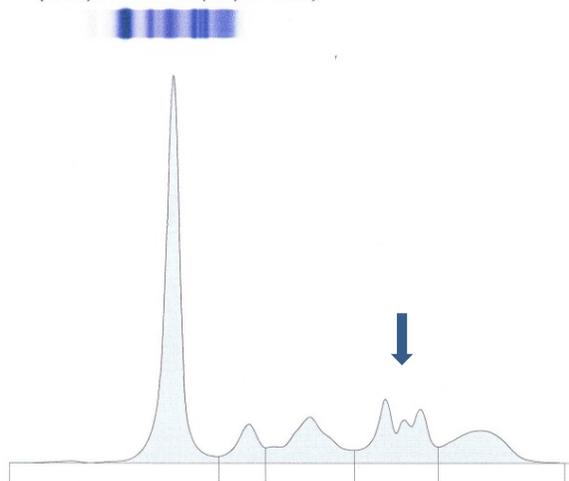
IF: pas de dédoublement en agarose (piste Total)

Pentavalent: normal

Zone β -globulines: 3 bandes en β

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **62,6** g/l

Rapport A/G = **0,89**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	47,1	55,8 - 66,1	29,5 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	6,6	2,9 - 4,9	4,1 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	14,6	7,1 - 11,8	9,1 >	5,1 - 8,5
Beta	18,7	8,4 - 13,1	11,7 >	6,0 - 9,4
Gamma	13,0	11,1 - 18,8	8,1	8,0 - 13,5

Mme AZ. S 34 ans, enceinte de 8 mois

Hospitalisée en Soins intensifs Neurovasculaires pour **suspicion de thrombophlébite cérébrale** (céphalée unilatérale gauche évoluant depuis la veille 22H)

CRP: 53 mg/l

Cholestérol T: 2,77 g/l (7,15 mmol/l)

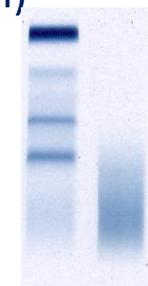
Triglycérides: 3,17 g/l (3,61 mmol/l)

Pas de notion de diabète ou d'HTA gravidique

IF pentavalent:

Pas de dédoublement en agarose (piste Total)

Pentavalent: normal



Imagerie:

Angioscanner veineux cérébral avec injection d'un produit de contraste iodé:

Ioméron® => pic de migration β -globulinique

Interférences par Produits de contraste

Clin Chem Lab med 2003; 41(6):762-772. Bossuyt X. Separation of serum proteins by automated capillary zone electrophoresis.

Table 7 Detector interference in CZE analysis of serum proteins.

Reference	Interfering substance	Location on electropherogram
Interference by radio-opaque agents Bossuyt <i>et al.</i> (37)	Urografin (Meglumine amidotrizoate) Telebrix (Meglumine ioxitalamate) Omnipaque (Iohexol)	Anodal side α_2 -globulin fraction Mid- α_2 -globulin fraction Cathodal side α_2 -globulin fraction
Blessum <i>et al.</i> (39) Arranz-Pena <i>et al.</i> (38)	Telebrix (Meglumine ioxitalamate) Meglumine iotroxate Meglumine amidotrizoate Ioxitalamic acid Iobitridol Iopamidol Iohexol Iopromide Meglumide ioxaglate Ioversol Iomeron	Mid- α_2 -globulin fraction Prealbumin Anodal site α_2 -globulin fraction Mid- α_2 -globulin fraction Mid- α_2 -globulin fraction Cathodal site α_2 -globulin fraction Cathodal site α_2 -globulin fraction Cathodal site α_2 -globulin fraction Anodal site β -globulin fraction Mid β -globulin fraction Mid β -globulin fraction

- Ajout des substances à des sérums normaux
=> anomalie reproduite
- Nouvelle analyse après élimination du produit
=> disparition de pic
1/2 vie: environ 1H30
élimination quasi-totale en 24H (si fonction rénale normale)
- Pic non soustrait en immuno-soustraction
- Pic non observé en agarose

L.Seaux et al. Electrophoresis (2014) 35: 2248-2252.

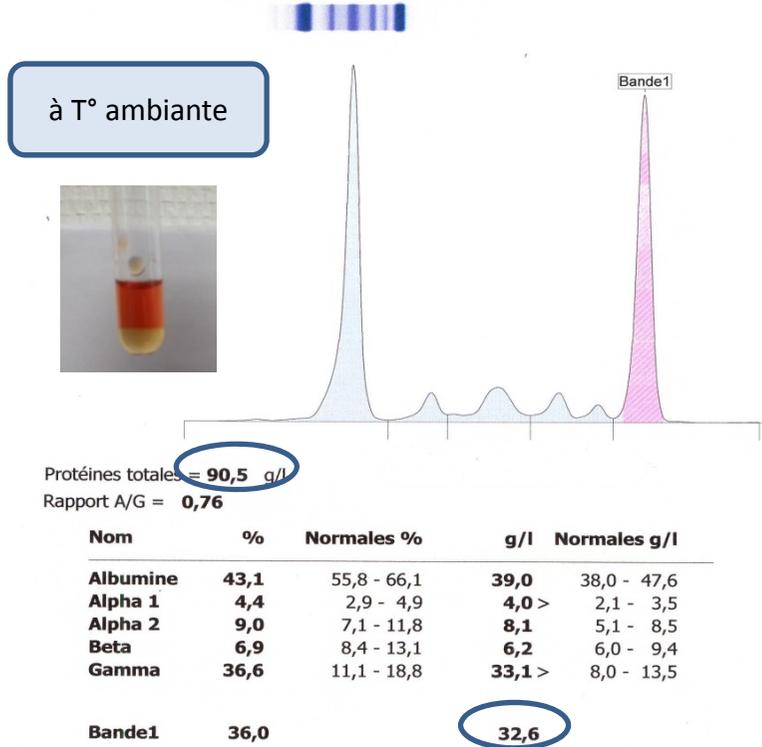
Lecture à 2 longueurs d'ondes 210 nm et 246 nm sur HELENA V8:

*Si interférence: absorbance à 210 nm < absorbance à 246 nm

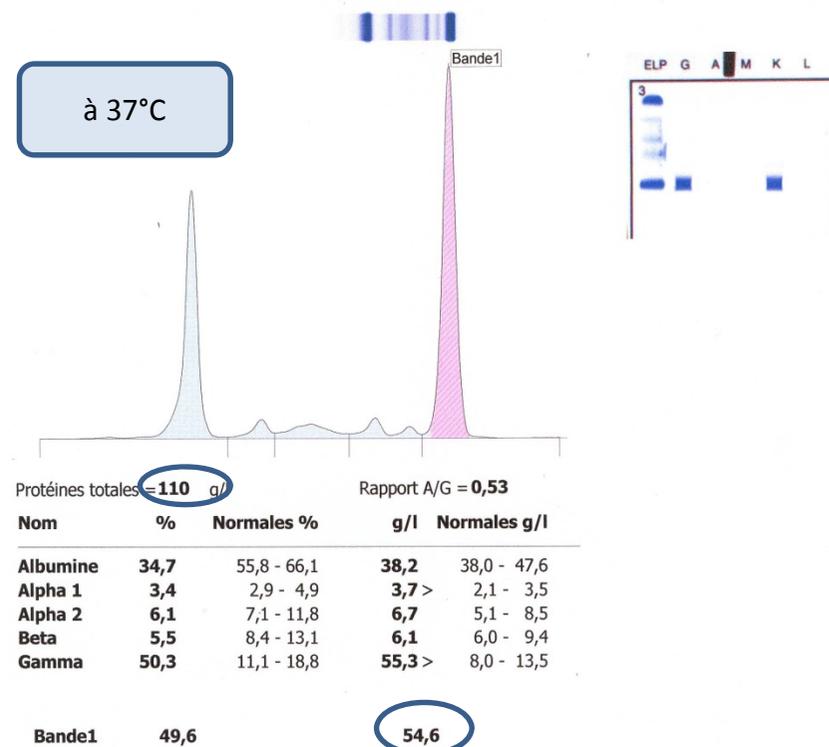
*L' absorbance à 246 nm n'augmente pas s'il s'agit d'une Ig monoclonale

Détection fortuite d'une cryoglobulinémie

Electrophorèse capillaire des protéines sériques
(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Electrophorèse des protéines sériques
(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



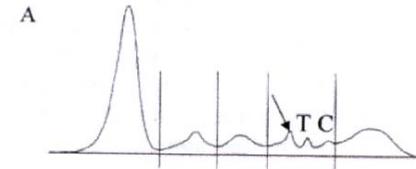
Observation du tube: suspicion de cryoglobuline → ré-analyse après réchauffement du sérum à 37°C → modification de l'électrophorèse → **recueil à 37°C pour analyse complète**

Ig monoclonales non détectées

- **Discordance de quantification** du pic entre l'électrophorèse et les dosages spécifiques

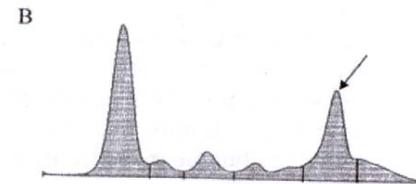
IgM: 15 g/l

Pic en électrophorèse capillaire: **2,6 g/l** →



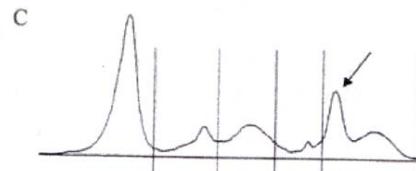
CZE 2000
Avant traitement

Pic en gel d'agarose: **15,5 g/l** →



SEBIA gels
agarose β 1- β 2

Après traitement 2-mercaptoéthanol: →
pic électrophorèse capillaire: 9,0 g/l



CZE 2000
Après traitement

Fig. 1. Electropherograms of patient's serum before (A) and after (C) treatment with 2-ME, and densitometric scan demonstrating large M-protein in the fast γ region (B).

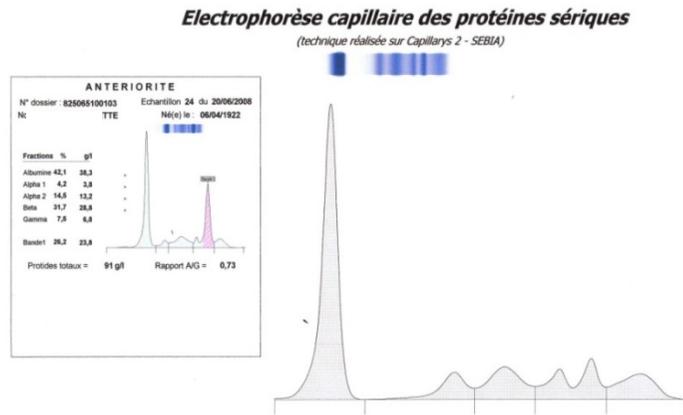
(A), electropherogram from CZE 2000. Note small peak (arrow) just anodal to transferrin (T) and C3 (C) peaks. (B), scan from Sebia Beta-1,2 gel. (C), electropherogram from CZE 2000. Note change in migration of M-protein (arrow) from the fast β to the fast γ region.

2-mercaptoéthanol treatment improves measurement of an IgM K M-protein by capillary electrophoresis. D.F.Keren et al.) Clin Chem 2001 47;7:1326-27.

Ig monoclonales non détectées

- **Espacement anormal** entre albumine et α 1-globulines: retard de migration ; écarter un problème d'inactivation de capillaire

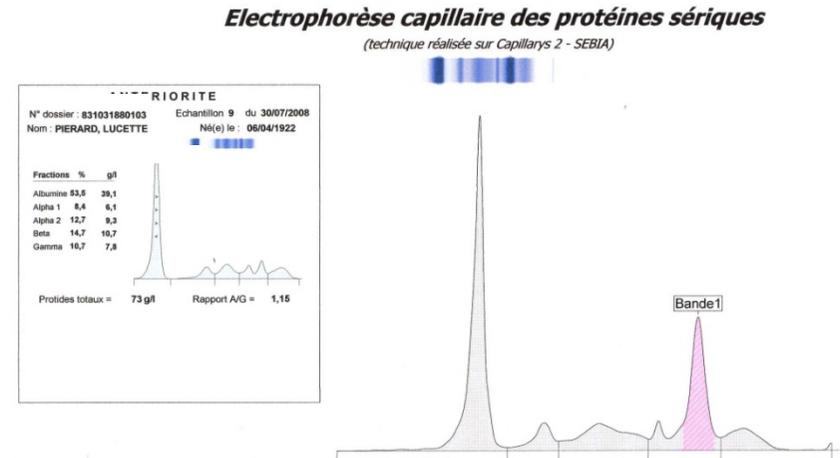
IgM : > 20,0 g/l et pas de correspondance en électrophorèse



Protéines totales = 73 g/l
Rapport A/G = 1,15

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	53,5	55,8 - 66,1	39,1	38,0 - 47,6
Alpha 1	8,4	2,9 - 4,9	6,1 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	12,7	7,1 - 11,8	9,3 >	5,1 - 8,5
Beta	14,7	8,4 - 13,1	10,7 >	6,0 - 9,4
Gamma	10,7	11,1 - 18,8	7,8 <	8,0 - 13,5

Commentaires: Avant traitement au mercaptopéthaneol.



Protéines totales = 73 g/l
Rapport A/G = 0,78

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	43,8	55,8 - 66,1	32,0 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	6,0	2,9 - 4,9	4,4 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	14,7	7,1 - 11,8	10,7 >	5,1 - 8,5
Beta	27,6	8,4 - 13,1	20,1 >	6,0 - 9,4
Gamma	7,9	11,1 - 18,8	5,8 <	8,0 - 13,5
Bande1	21,3		15,5	

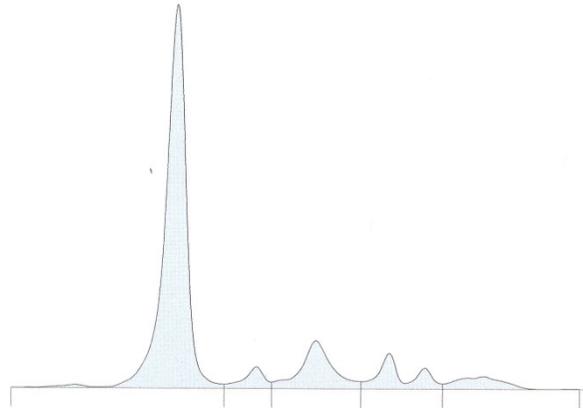
Après traitement dépolymérisant:

=> pic en β -globulines => en IF: IgM de type LAMBDA

Hypo γ -globulinémie : vigilance

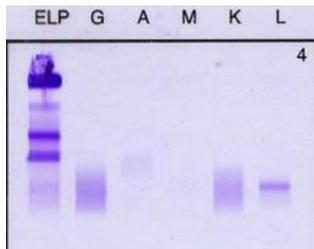
Electrophorèse des protéines sériques

(technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **65,5** g/l Rapport A/G = **2,27**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	69,4	55,8 - 66,1	45,5	38,0 - 47,6
Alpha 1	3,8	2,9 - 4,9	2,5	2,1 - 3,5
Alpha 2	12,9	7,1 - 11,8	8,4	5,1 - 8,5
Beta	8,7	8,4 - 13,1	5,7 <	6,0 - 9,4
Gamma	5,2	11,1 - 18,8	3,4 <	8,0 - 13,5



Mme D. 49 ans, Hospitalisée en juillet 2014 pour bilan d'une **protéinurie**.

Hypo γ -globulinémie franche

IgA 0,34 g/l IgG 3,4 g/l IgM 0,17 g/l

SFLC: Kappa: 0,6 mg/l

Lambda: 754 mg/l

Protéinurie de Bence-Jones Lambda

Suspicion d'amylose AL => biopsie rénale en faveur d'une **amylose AL**; recherche d'une atteinte cardiaque : d'abord peu symptomatique puis évolution rapide jusqu'au stade III

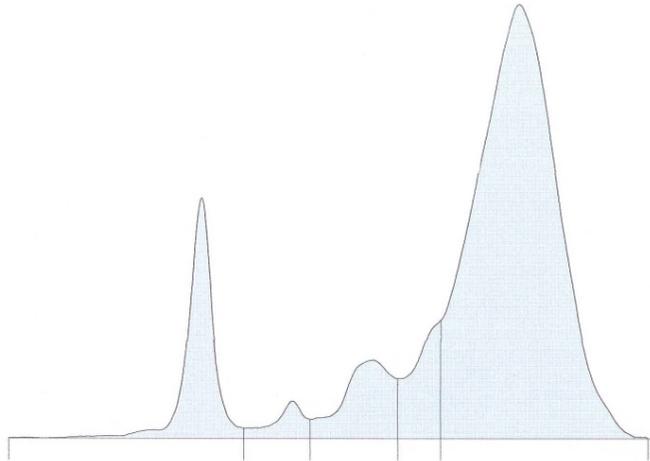
DCD en octobre 2015

Hypo γ => vigilance aussi chez les patients de Néphrologie et Cardiologie

Zone γ -globulinique: hyper γ -globulinémie intense

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **30** g/l

Rapport A/G = **0,14**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	12,3	55,8 - 66,1	3,7 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	2,3	2,9 - 4,9	0,7 <	2,1 - 3,5
Alpha 2	7,9	7,1 - 11,8	2,4 <	5,1 - 8,5
Beta	6,4	8,4 - 13,1	1,9 <	6,0 - 9,4
Gamma	71,1	11,1 - 18,8	21,3 >	8,0 - 13,5

Mme Br. Née le 03/07/1936, hospitalisée en Médecine interne puis Réa pour **Choc septique**

Pas de traitement par Ig polyvalentes (type Tégéline®)

EL: Hyper γ -globulinémie intense et diffuse

Dosages spécifiques:

effondrés et discordants/électrophorèse

IgA: 0,16 g/l

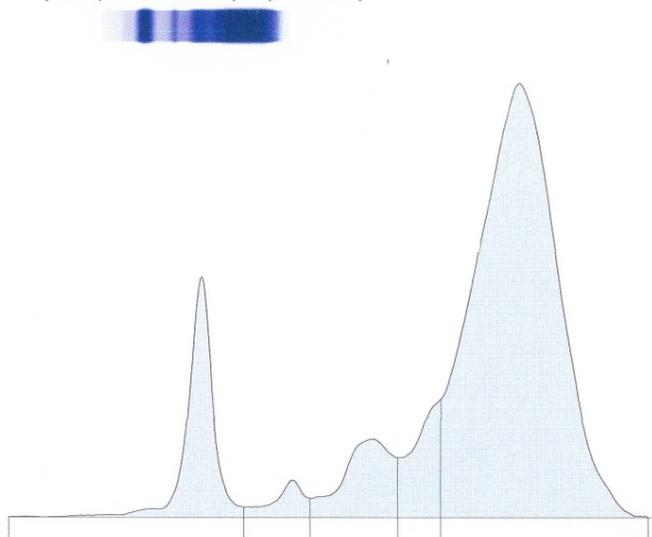
IgG: 0,3 g/l

IgM: <0,04 g/l

Zone γ -globulinique: hyper γ -globulinémie intense

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys 2 - SEBIA)



Protéines totales = **30** g/l

Rapport A/G = **0,14**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	12,3	55,8 - 66,1	3,7 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	2,3	2,9 - 4,9	0,7 <	2,1 - 3,5
Alpha 2	7,9	7,1 - 11,8	2,4 <	5,1 - 8,5
Beta	6,4	8,4 - 13,1	1,9 <	6,0 - 9,4
Gamma	71,1	11,1 - 18,8	21,3 >	8,0 - 13,5

Mme Br. née le 03/07/1936, hospitalisée en Médecine interne puis Réa pour **Choc septique**

Dosages spécifiques:

effondrés et discordants/électrophorèse

IgA: 0,16 g/l

IgG: 0,3 g/l

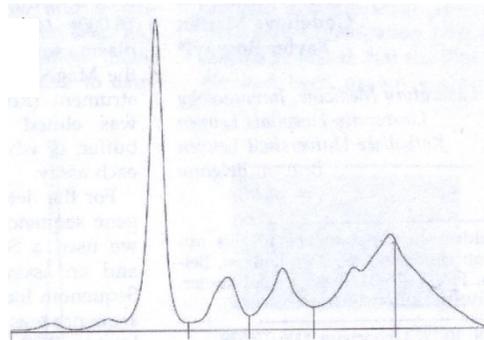
IgM: <0,04 g/l

Prélèvement réalisé à proximité d'une perfusion de **Gélofusine®**

Zone γ -globulinique: substituts de l'albumine

Substituts de l'albumine: à base de dextran, de gélatine ou d'amidon

- **Dextran:** Rhéomacrodex => petit pic supplémentaire *zone γ -globulines*
- **Gélatine:** - Gélofusine[©], Plasmion[©] => bande diffuse *zone γ -globulines*
 $\frac{1}{2}$ vie = 3-4H, assez rapidement éliminés
- Geloplasma[©] => bande diffuse *zone γ -globulines*,
pouvant s'étendre vers les β -globulines:



- **Amidon:** Voluven, HAES-steril => RAS

Effets des traitements par Ac monoclonaux (1)

Clin Chem 2010 56:12; 1897-1904. Mc Cudden CR et al. Interference of monoclonal antibody therapies with serum protein electrophoresis tests.

Siltuximab (Centocor[®]): Ac monoclonal chimérique de haute affinité pour l'IL-6, utilisé dans le **traitement du MM**

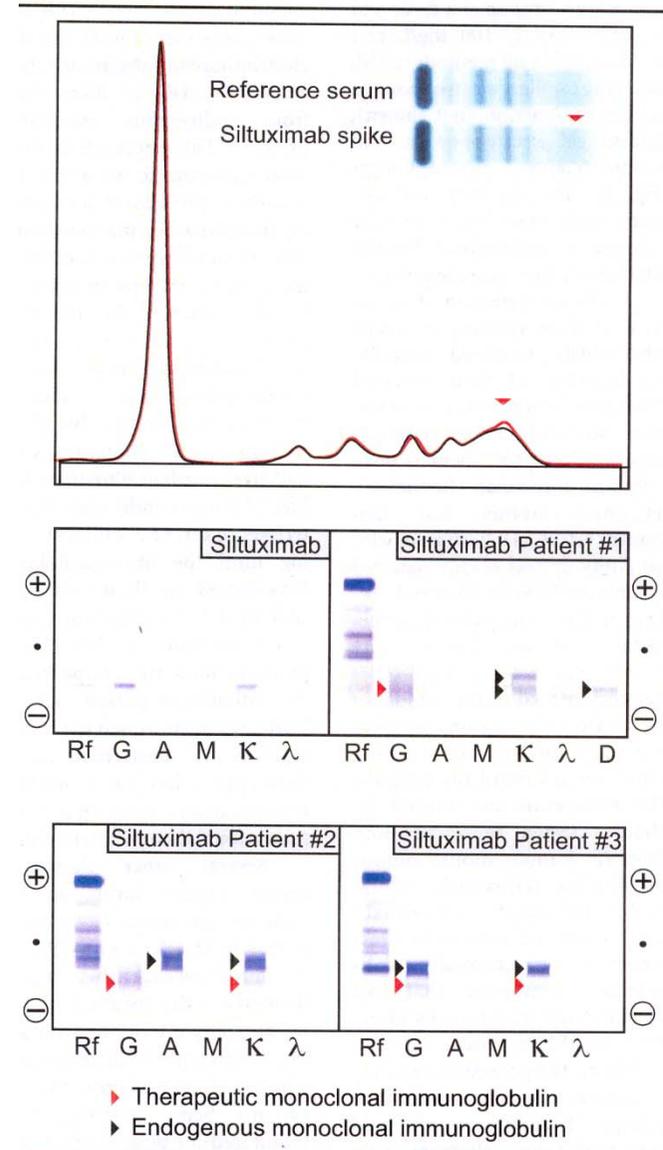
***Aspect de pic IgG Kappa** à partir de 100 mg/l

***Siltuximab: ½ vie: 18 jours → L'interférence disparaît 3 mois après l'arrêt du traitement (équivalent de 5 demi-vies)**

Patient 1: suspicion IgD kappa + Chaînes lourdes IgG

Patient 2: IgA Kappa + pic Ac monoclonal IgG Kappa

Patient 3: IgG Kappa + pic Ac monoclonal IgG Kappa



Effets des traitements par Ac monoclonaux (2): anticorps chimériques ou humanisés

Zone centrale des γ -globulines	Zone cathodique des γ -globulines
Bevacizumab (Avastin [®])	Rituximab (Rituxan [®])
Infliximab (Remicade [®])	Trastuzumab (Herceptin [®])
Cetuximab (Erbix [®])	
Adalimumab (Humira [®])	

Problème: si pic interférent et pic pathologique superposés

⇒ utilisation d'anticorps anti-Mab

(exemple du test DIRA pour le Daratumumab) pour déplacer le pic interférent.

Une autre interférence médicamenteuse

Nespola B, Mathiaux F, Moreau P, Parent X. poster B05. Colloque National des Biologistes de Hôpitaux. Marseille 2014:

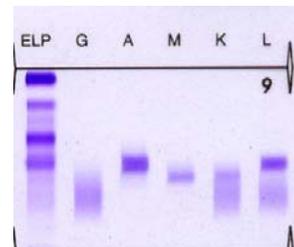
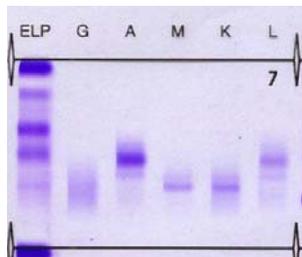
- **Observation d'une interférence en immunofixation:**
Mme B, 68 ans, suivie pour une PAR
 - IF: bande d'allure monoclonale dans la piste gamma sans correspondance sur les chaînes légères (IFs différentes avant et après traitement)
 - Patiente traitée par **Abatacept**: Molécule de **biothérapie** constituée d'un **fragment Fc d'IgG 1** humaine couplé à une fraction du récepteur CTLA4
- **attention avant d'orienter à tort le clinicien vers une maladie des chaînes lourdes**

Immunofixation: dépolymérisation

Avant traitement

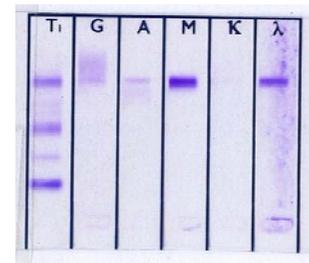
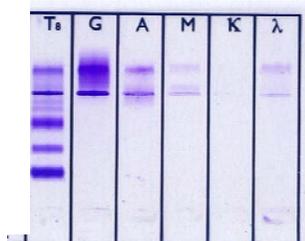
Après traitement

1



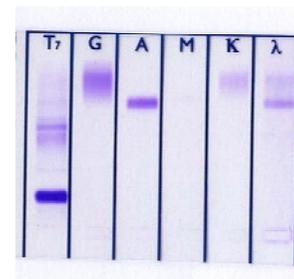
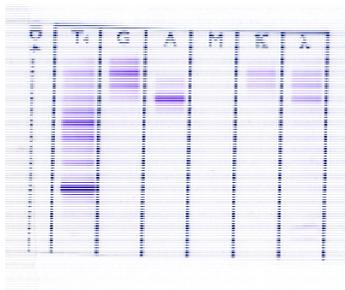
IgA λ + IgM K

2



IgM λ

3



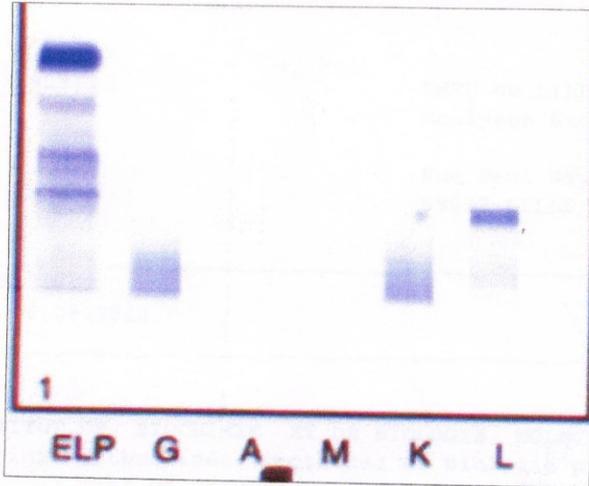
IgA λ

Immunofixation: migrations décalées(1)

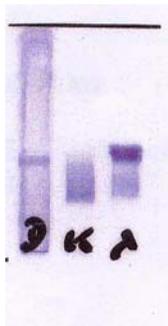
Patient n°1:

Immunofixation des protéines sériques

(technique réalisée sur gel d'agarose - système Hydrasys 2 Scan/Phoresis - SEBIA)



Anti-E négatif
Anti-D positif



Dosages:

IgA: 0,35 g/l IgG 4,4 g/l IgM 0,31 g/l

IgD: 1155 mg/l (N: 30 -140)

IF: Bandes avec anti- λ et anti-D dont le niveau de migration est légèrement différent et avec bande λ nettement plus intense

SFLC: Kappa: 12,1 mg/l Lambda: 4316 mg/l

Ratio K/ λ < 0,01

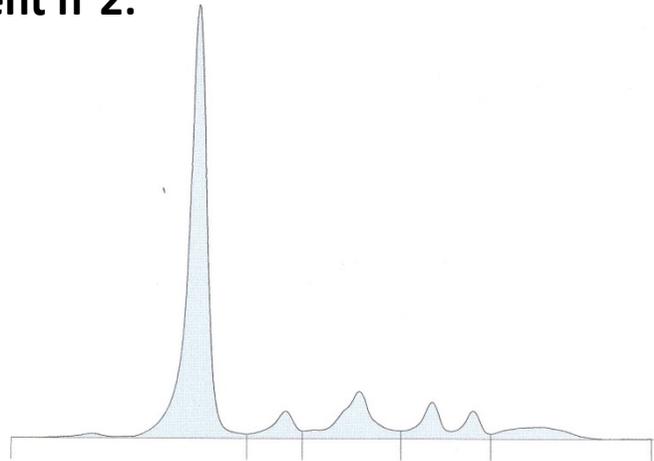
Urines: protéinurie 1,56 g/l avec présence de BJ λ

Conclusion:

IgD λ avec excès de λ libres

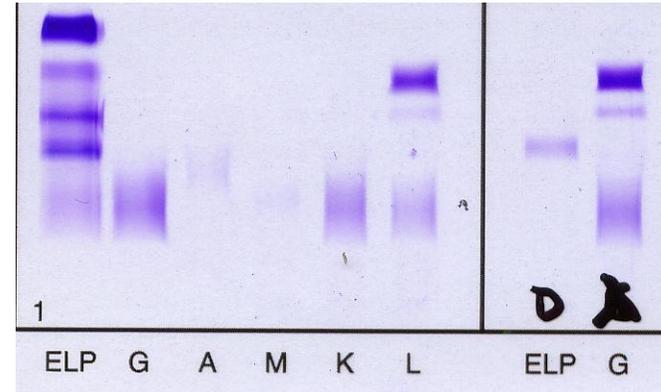
Immunofixation: migrations décalées(2)

Patient n°2:



Protéines totales = **60,3** g/l Rapport A/G = **1,94**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	66,0	55,8 - 66,1	39,8	38,0 - 47,6
Alpha 1	5,1	2,9 - 4,9	3,1	2,1 - 3,5
Alpha 2	12,8	7,1 - 11,8	7,7	5,1 - 8,5
Beta	10,2	8,4 - 13,1	6,2	6,0 - 9,4
Gamma	5,9	11,1 - 18,8	3,6	8,0 - 13,5



Patient connu depuis 2006 pour IgD λ

Traitement : disparition de l'Ig monoclonale.

Depuis 2009: 2 bandes homogènes en Lambda + IgD dont la chaîne légère n'est plus visible

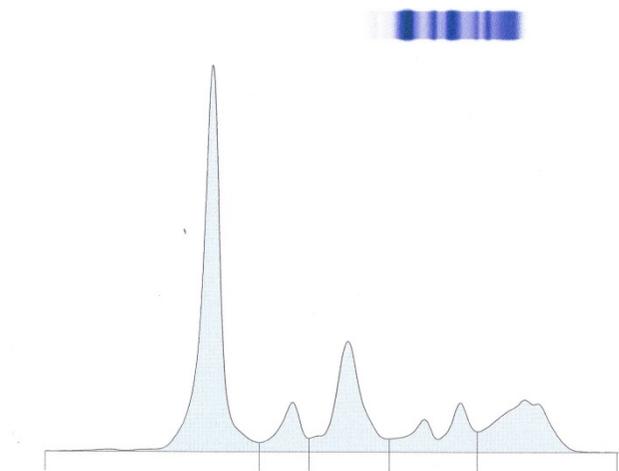
Transformation, effet des traitements, nouveau clone?

Observation comparable :

Nouveaux critères diagnostiques du myélome:

*2 cas difficiles. M-L Curutchet et Y Benard
Conférence du 44^{ème} Colloque National des
Biologistes des Hôpitaux. Nantes 2015.*

Immunofixation: bande gamma moins visible



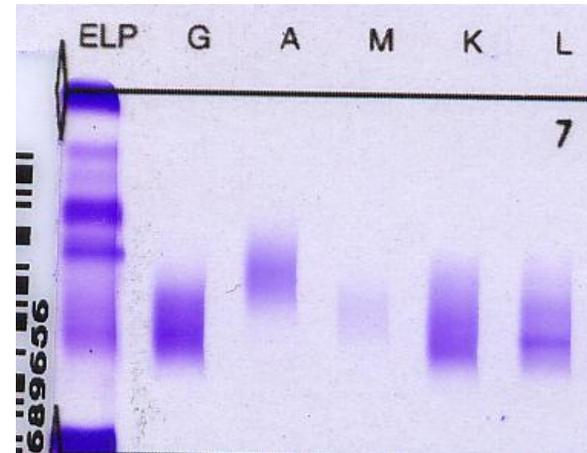
IF: bande nette avec l'anti-Lambda

Pistes anti-A et anti-M: RAS

Piste Gamma: anomalie moins visible

Protéines totales = **72,7** g/l Rapport A/G = **0,85**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	45,8	55,8 - 66,1	33,3 <	38,0 - 47,6
Alpha 1	6,8	2,9 - 4,9	4,9 >	2,1 - 3,5
Alpha 2	19,1	7,1 - 11,8	13,9 >	5,1 - 8,5
Beta	11,5	8,4 - 13,1	8,4	6,0 - 9,4
Gamma	16,8	11,1 - 18,8	12,2	8,0 - 13,5



Contexte d'inflammation chronique

Conclusion

- **Préanalytique** : prélever à distance des injections de produits de contraste, et certains traitements
- **Renseignements cliniques et thérapeutiques**
- Observer **l'aspect du sérum**
- Prendre en compte les **interférences**: conduite à tenir
- Conduite à tenir en cas d'**anomalies discrètes** de l'électrophorèse en évitant les **ajouts** excessifs d'IF
- **Relations clinico-biologiques, prestation de conseil**
- Validation biologique du bilan: **signes d'alerte** et ajout d'analyses complémentaires

Questionnaire DPC

2^{ème} partie: Electrophorèses et Immunotypages

Electrophorèse et immunotypage

Phase préanalytique

6. Réalisation des électrophorèses :

à partir du tube primaire : 82 (76 %)

à partir d'un aliquot : 26 (24 %)

- *Tube primaire: pas d'erreur de décantation*
- *A étudier en fonction de l'organisation du laboratoire:*
 - *Automatisation de l'aliquotage*
 - *Proximité des appareillages utilisés (protidémie, électrophorèse)*

Electrophorèse et immunotypage

Phase préanalytique

7. Conservation avant analyse si pas réalisée le jour même

à température ambiante	2	(1.9 %)
à 4 °C	105	(97.2 %)
congelés	1	(0.9 %)

- 24H à T° ambiante sur sang total
- Eviter l'hémolyse
- Dégradation du C3: rapide à T° ambiante, à partir de 3 jours à 2-8°C

➤ Bibliographie

ROCHE. Reference ranges präanalytik-2009
WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 page 30

Electrophorèse et immunotypage

Phase préanalytique

8. Délai de conservation maximum avant analyse

24 heures	4	3.7 %
48 heures	24	22.2 %
7 jours	62	57.4 %
Autre	18	16.7 %

3 j : 10 (9 %)
10 j : 5 (5%)

- 24H à T° ambiante sur sang total
- Dégradation du C3: rapide à T° ambiante, à partir de 3 jours à 2-8°C
- Voir Notice technique
- Bibliographie
 - ROCHE. Reference ranges präanalytik-2009
 - WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 page 30

Electrophorèse et immunotypage

9. Non-conformité justifiant une annulation de l'électrophorèse :

Hémolyse	26	24.1 %
Lactescence	0	0 %
Hémolyse et lactescence	25	23.1 %
Variable en fonction des indices d'hémolyse et de lactescence	57	52.8 %

Electrophorèse et immunotypage

10. Délai de redondance pour limiter la réalisation d'une électrophorèse des protéines sériques

Oui : 75 (69 %) Non : 33 (31 %)

Délai de redondance mis en place : **variable**

2 j : 1 3 j : 2 5 j : 1

6-7-8 j : 34 (45 %)

10 j : 4 15 j : 4 21 j : 2

30 j : 21 (28%)

15 à 30 j selon services : 2

3 mois : 3

*délai minimum d'une semaine entre deux électrophorèses: **raisonnable***

*Pour observer des variations rapides, privilégier les **dosages spécifiques de protéines.***

À évaluer en fonction de la pathologie et des antécédents (prestation de conseil)

Electrophorèse et immunotypage

11. Délai de redondance pour limiter la réalisation d'une immunofixation ou d'un immunotypage ?

Oui : 49 (45 %) Non : 59 (55 %)

Délai de redondance mis en place : très variable

7 j : 3 15 j : 2

30 j : 7 (14 %)

3 mois : 2

6 mois : 16 (33 %)

1 an : 4 2 ans : 1 5 ans : 1

Variable selon tracé EP, évolution clinique : 12 (24 %)

À évaluer en fonction de la pathologie et des antécédents (prestation de conseil) :

- Patient déjà connu: inutile*
- si pic différent, pic supplémentaire, pic disparu, augmentation des SFLC...: utile*

Electrophorèse et immunotypage

12. Algorithme pour la réalisation d'une immunofixation ou d'un immunotypage en fonction du tracé électrophorétique

Oui : 45 (42 %) Non : 63 (58 %)

➤ **Anomalies déclenchant une IF**

- *Pic monoclonal*
- *Restriction d'hétérogénéité sans signes d'inflammation*
- *Accentuation des β_2 -globulines et/ou $\beta_2 > \beta_1$, pic inexplicé en α_2 -globulines*
- *Hypo γ -globulinémie, seuil à définir (< 6 g/l ? sauf post-greffe, Pédiatrie..)*
- *Espacement anormal entre l'albumine et les α_1 -globulines*
- *Discordance avec les dosages d'Ig et/ou de SFLC*
- *Discordance avec l'IF urinaire*

➤ **Utilisation de IF pentavalent (dépistage)**

- *En cas de suspicion d'interférences (produits de contraste ou médicaments, interférence du fibrinogène...)*
- *Ne suffit pas pour un diagnostic d'exclusion en cas de suspicion de maladie des chaînes légères ou si anomalie discrète.*

Electrophorèse et immunotypage

13. Interprétation quantitative des pics de l'électrophorèse

à partir des pourcentages des différentes fractions	20	18.5 %
à partir de la valeur absolue des différentes fractions	88	81.5 %

➤ *Valeurs en % intéressantes si Protidémie anormale*

Electrophorèse et immunotypage

14. Conduite à tenir pour l'utilisation d'un dépolymérisant (β2mercaptoéthanol ou autre)

Oui : 72 (67 %) Non : 36 (33 %)

Traitement dépolymérisant à mettre en œuvre:

- en électrophorèse: espacement anormal entre albumine et α1-globulines
- en Immunotypage: 2 ou plusieurs bandes homogènes de même isotype: IgA ou IgM, ou aspect de co-précipitation au point de dépôt

Electrophorèse et immunotypage

15. Utilisation d'une liste de commentaires préétablis

Oui : 105 (97 %) Non : 3 (3 %)

Recommandé

culture-qualité abc

Ann Biol Clin 2006 ; 64 (4) : 367-80

Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques

A proposal of ready-made interpretative comments applicable to serum protein electrophoresis

A. Szymanowicz¹
B. Cartier
J.-P. Couailliac³
C. Gibaud⁴
G. Poulin⁵
H. Rivière⁶
D. Le Carrer⁷
Groupe de travail du Collège national de biochimie des hôpitaux

¹ Laboratoire de biochimie, Centre hospitalier de Roanne <anton.szymanowicz@ch-roanne.fr>
² Service de biochimie, Hôpital Lucien Husset, Vienne
³ Service de biologie, Centre hospitalier de Cahors
⁴ Laboratoire de biologie, Centre Hospitalier St-Joseph-St-Luc, Lyon
⁵ Service de biochimie, Centre hospitalier J. Monod, Fiers
⁶ Service de biologie, Centre hospitalier de Rodez
⁷ Laboratoire de biochimie spécialisée, Nantes

Article reçu le 2 janvier 2006, accepté le 14 mars 2006

Résumé. L'analyse des protéines sériques par électrophorèse est une analyse utile dans de nombreuses situations pathologiques pour orienter un diagnostic, préciser la gravité d'une maladie ou suivre l'efficacité d'une thérapeutique. L'obligation légale est faite au biologiste d'accompagner chaque résultat d'un commentaire. Le but est de favoriser l'interprétation du résultat et d'en assurer la pleine exploitation par le clinicien, voire de satisfaire les patients qui souhaitent bénéficier d'une double information : du prescripteur et du biologiste. Afin d'aider les biologistes à répondre à ces objectifs, notre groupe de biologistes, sous l'égide du Collège national de biochimie des hôpitaux (CNBH) a établi, une liste de commentaires prêts à l'emploi que nous proposons comme outil facilitant la validation des électrophorèses des protéines sériques.

Mots clés : électrophorèse, protéine, sérique, Capillarys[®], commentaire

Abstract. Zone electrophoresis for separation and quantification of serum proteins is useful in numerous pathological situations to make clinical diagnostics, to follow the evolution of a disease or to evaluate the efficiency of a treatment. The biologist must apply professional recommendations according to the official nomenclature of biological analysis. He must attach a comment to each result in order to help the physician to perform the best interpretation of the results. To answer those needs, a work of standardization of these comments has been realized by a group of biologists. They are members of the national college of biologists (CNBH). All the commentaries are assembled in a thesaurus which could be a base of ready-made comments, favouring the interpretation of serum protein electrophoresis results.

Key words: serum, protein, electrophoresis, Capillarys[®], comment

Electrophorèse et immunotypage

16. Comparaison résultats Albumine obtenus par dosage (turbidimétrie ou néphélémétrie) et à partir de l'électrophorèse

- **Oui : 42 (39 %)** Non : 66 (61 %)

17. Prescription de l'électrophorèse des protéines

Indications de prescription définies avec les prescripteurs	11	10.2 %
Renseignements cliniques obligatoires définis avec les prescripteurs	9	8.3 %
Aucun critère défini	92	85.2 %

Merci de votre attention!

Algorithme

Stratégie d'investigation des gammopathies monoclonales

