



Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques: indications modernes... il ne faut pas en faire une montagne!

Richard LeBlanc, M.D., FRCPC

Hématologue et oncologue médical

Hôpital Maisonneuve-Rosemont (HMR)

Chef médical du laboratoire d'immunologie clinique HMR

Professeur adjoint de clinique, Université de Montréal

*Titulaire de la Chaire Myélome Canada sur le myélome multiple de
l'Université de Montréal*

29 Novembre 2016 – Webminar Biochimistes Cliniques

Objectifs

- Connaître les indications cliniques de l'électrophorèse et l'immunofixation des protéines
- Reconnaître les inconvénients de ces tests lorsqu'ils sont effectués hors indication
- Dyscrasie plasmocytaire 101

Conflits d'intérêt

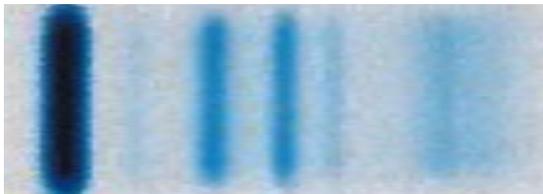
- Aucun conflit d'intérêt pour cette présentation et pour ce sujet

Cas clinique (1)

- Femme 84 ans
- Antécédents personnels
 - Dyslipidémie
 - Hypertension artérielle
 - G₃P₃A₀
- Rx
 - Norvasc 2,5 mg po die
 - Lipitor 10 mg po die
- Pas de tabagisme à vie
- Alcool très rarement
- Pas d'allergie
- Antécédents familiaux
 - Frère décédé cancer colon à 62 ans
 - Frère décédé IDM à 79 ans

Cas clinique (2)

- Vient de changer de médecin de famille
 - Bilan de prise en charge
 - Questionnaire
 - Examen physique
 - Bilan biologique
 - Glycémie
 - Bilan lipidique
 - ... et électrophorèse des protéines sériques!?!



Présence d'une bande monoclonale
dans la région gamma
Immunofixation suggérée

Cas clinique (3)

- Découverte fortuite
 - Le médecin est étonné de ce résultat et ne sait pas trop quoi en faire!
- ...
 - Consultation en hématologie

Cas clinique (4)

- Consultation en hématologie
 - Patiente se sent bien, belle qualité de vie, toujours active
 - Aucun symptôme d'atteinte de l'état général
 - Douleurs osseuses mécaniques aux deux genoux, depuis plus de 10 ans, fluctuantes et non évolutives
 - Examen physique non contributoire
 - Pas de stigmate d'amyloïdose ou de cryoglobulinémie ou autres éléments suggérant une dyscrasie plasmocytaire ou un syndrome lymphoprolifératif indolent

Cas clinique (5)

- Bilan minimal d'un pic monoclonal

Analyses	Résultats
Formule sanguine	Normale Hb 114 g/L
Créatinine	Normale 72 μ mol/L
Calcémie	Normale 2,27 mmol/L
Albumine	Normale 36 g/L
Dosage des immunoglobulines	Normal, pas d'immunoparésie
Immunofixation des protéines sériques	IgG kappa
Électrophorèse des protéines sériques	4,2 g/L
Dosage des chaînes légère sériques libres	Ratio normal
Analyse urinaire	Absence de protéine
Série osseuse	Arthrose diffuse

Cas clinique (6)

- Diagnostic
 - Gammapathie monoclonale bénigne IgG kappa
 - Mayo 0/3 (faible risque)
- Conduite
 - Revoir dans 6 mois puis chaque année pour s'assurer qu'il n'y ait rien d'évolutif
 - Ostéodensitométrie chaque 1-2 ans selon l'espérance de vie
 - Supplément calcium et vitamine D si diète inadéquate

Cas clinique (7)

- **Résultats**

Analyses	Coûts
Consultation en hématologie	218 \$
Formule sanguine	5 \$
Créatinine	1 \$
Calcémie	1 \$
Albumine	1 \$
Dosage des immunoglobulines	5 \$
Immunofixation des protéines sériques	45 \$
Électrophorèse des protéines sériques	5 \$
Dosage des chaînes légère sériques libres	40 \$
Analyse urinaire	5 \$
Série osseuse	335 \$
Total	661 \$

Et la patiente ne se sent pas mieux!

Un peu d'histoire



1862

Introduction du terme globuline pour décrire des protéines insolubles dans l'eau

1932

Premières études électrophorétiques (Tiselius) – milieu liquide

1951

Les techniques électrophorétiques deviennent utilisées en clinique – papier filtre

1960-70

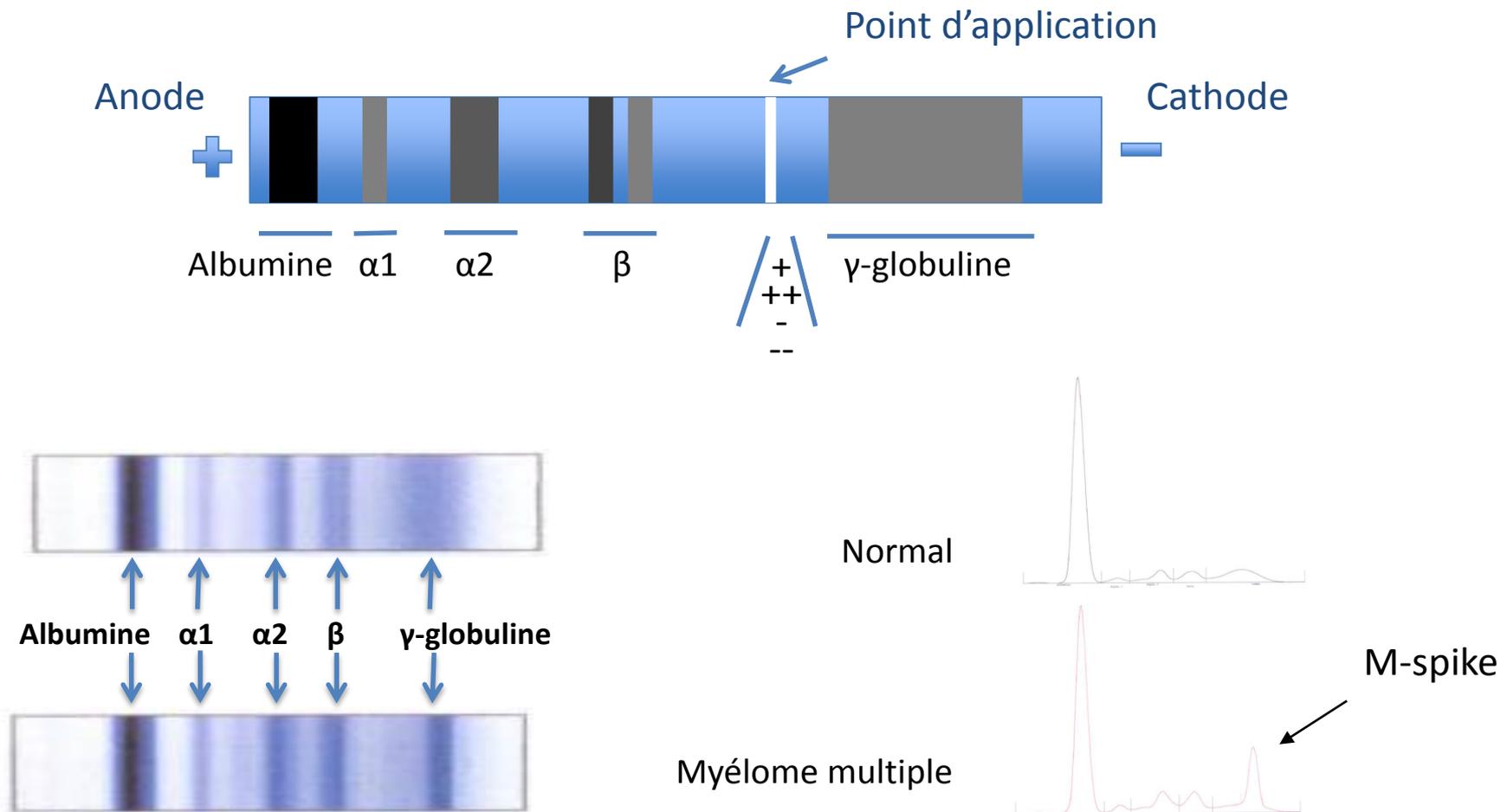
Amélioration du milieu de support – acetate de cellulose et agarose

≥ 1967

Électrophorèses capillaire

Électrophorèse des protéines sériques

- Séparation le contenu protéique du sérum selon le poids moléculaire et la charge ionique à l'aide d'un courant électrique

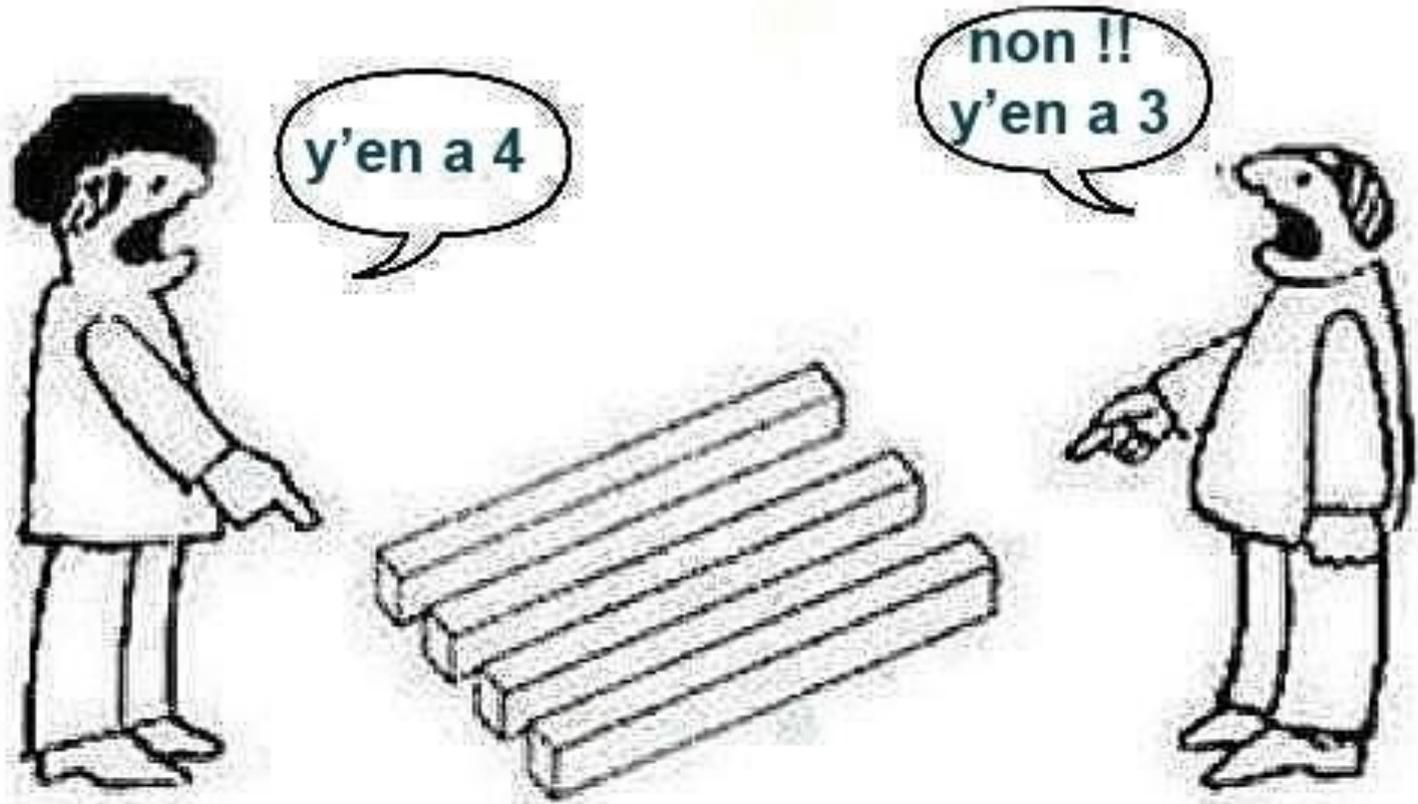


Distinction de ces bandes pour faciliter l'interprétation



Subjectivité dans l'interprétation

Lequel a raison ?



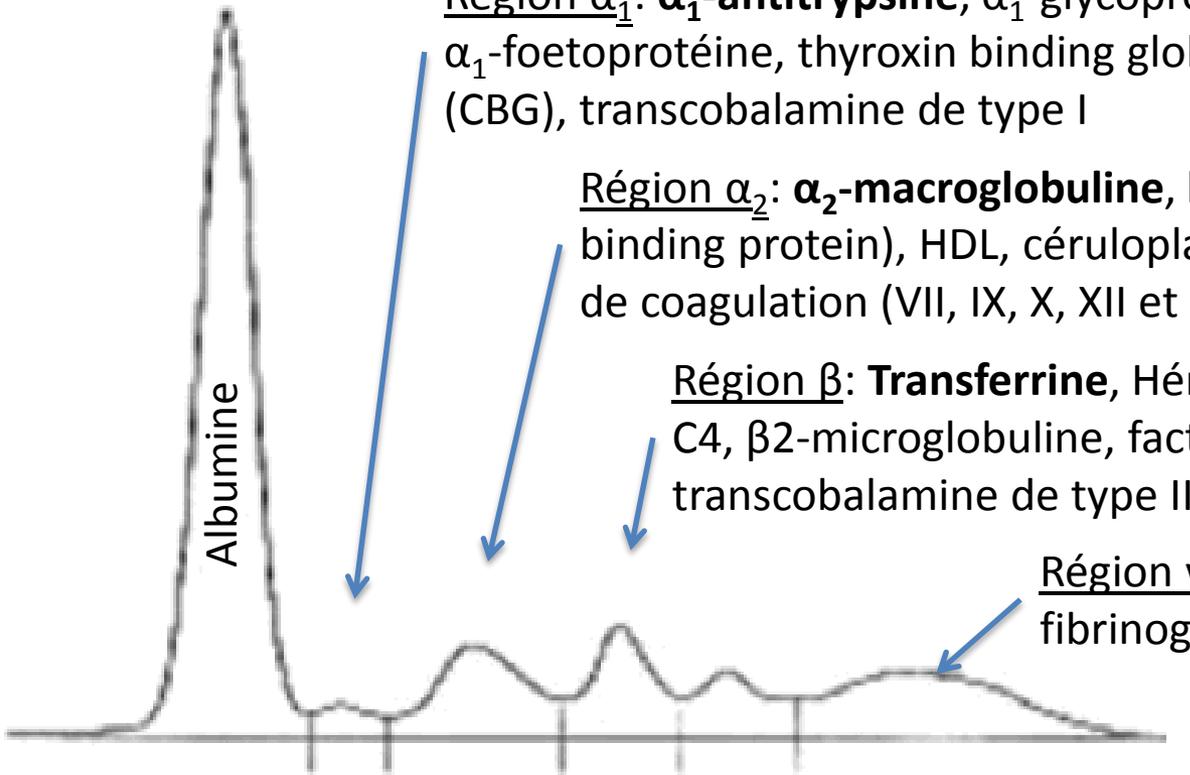
Rôle potentiel de SPEP

Région α_1 : **α_1 -antitrypsine**, α_1 -glycoprotéine acide, α_1 -antichymotrypsine, α_1 -foetoprotéine, thyroxin binding globulin, prothrombine, transcortine (CBG), transcobalamine de type I

Région α_2 : **α_2 -macroglobuline, haptoglobine**, GC-globulin (vitD binding protein), HDL, céruloplasmine, antithrombine III, facteurs de coagulation (VII, IX, X, XII et XIII), α -lipoprotéine

Région β : **Transferrine**, Hémopexine, β -lipoprotéine LDL, C3, C4, β_2 -microglobuline, facteurs de coagulation (V et VIII), transcobalamine de type II, plasminogène, LDL

Région γ : **Immunoglobulines**, CRP, fibrinogène



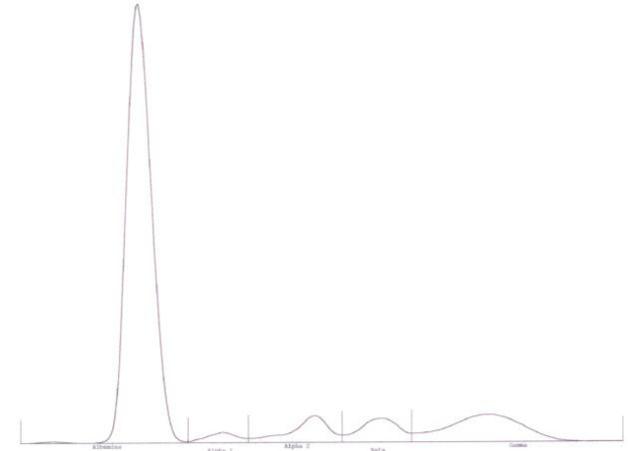
Protéines hépatiques

Protéines lymphoïdes

Rôle potentiel de SPEP

- Il existe un pattern normal de distribution et concentration protéique

Électrophorèse des protéines sériques	
Albumine	35-48 g/L
Alpha1-globulines	1,7-3,5 g/L
Alpha2-globulines	4-9 g/L
Beta-globulines	6-11 g/L
Gamma-globulines	6-17,5 g/L



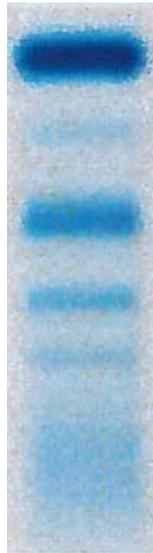
- Des variations protéiques de différentes conditions cliniques peuvent occasionner des anomalies de ce pattern
 - Maladies inflammatoires
 - MII
 - PAR
 - LED et maladies apparentées
 - Infections
 - Malnutrition
 - Maladies hépatiques chroniques
 - Maladies associées aux pertes protéiques
 - Syndrome néphrotique
 - Perte digestive
 - Dyscrasies plasmocytaires/SLP

Applications cliniques initiales

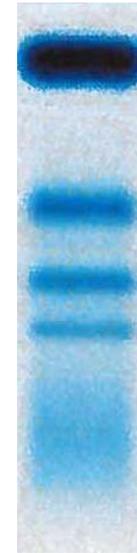
Diagnostic	Pattern électrophorétique	origine
Syndrome néphrotique	Diminution de l'albumine et des γ -globulines Augmentation des α_2 -globulines	1940
Maladies hépatiques	Diminution de l'albumine et des β -globulines Augmentation des γ -globulines	1951-56
Hypogammaglobulinémie	Diminution des γ -globulines	1952
Myélome multiple	Augmentation des γ -globulines Diminution de l'albumine	1953



Observations



- Hypoalbuminémie
 - Pertes rénales ou digestives
 - Maladie hépatique
 - malnutrition

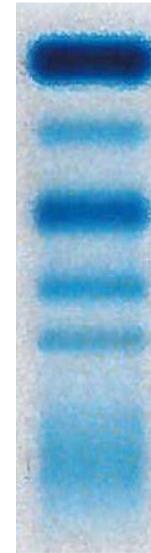


- Diminution des α 1-globulines
 - Déficit en α 1-antitrypsine

Observations



- Augmentation des α_2 -globulines
 - Hémolyse (in vitro)
 - L'hémoglobine liée à l'haptoglobine migre dans la région α_2
 - L'hémoglobine libre migre dans la région β (parfois augmentation des β -globulines)



- Augmentation des α_1 - et α_2 -globulines souvent avec réduction de l'albumine
 - Contexte inflammatoire ou infectieux

Observations



- Augmentation isolée des β_1 globulines
 - Anémie par déficit en fer (transferrine augmentée)
 - Parfois, dyscrasie plasmocytaire (surtout IgA)



- β - γ bridging
 - Maladie hépatique chronique

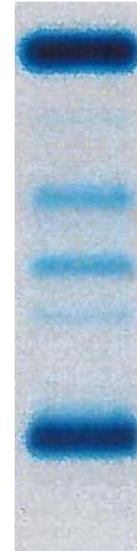


- Hypogammaglobulinémie
 - Congénitale
 - Acquis
 - Myélome multiple (souvent à chaînes légères)
 - Leucémie lymphoïde chronique/SLP indolent
 - Syndrome néphrotique

Observations

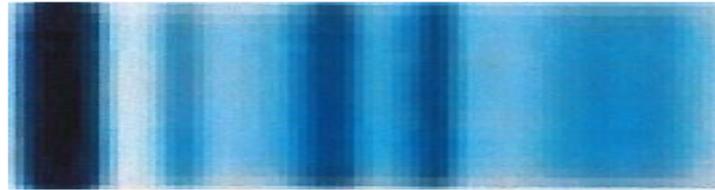


- Hypergammaglobulinémie polyclonale (souvent avec réduction de l'albumine)
 - Maladie inflammatoire
 - Infection
 - Maladie hépatique
 - Cancer pluri-métastatique



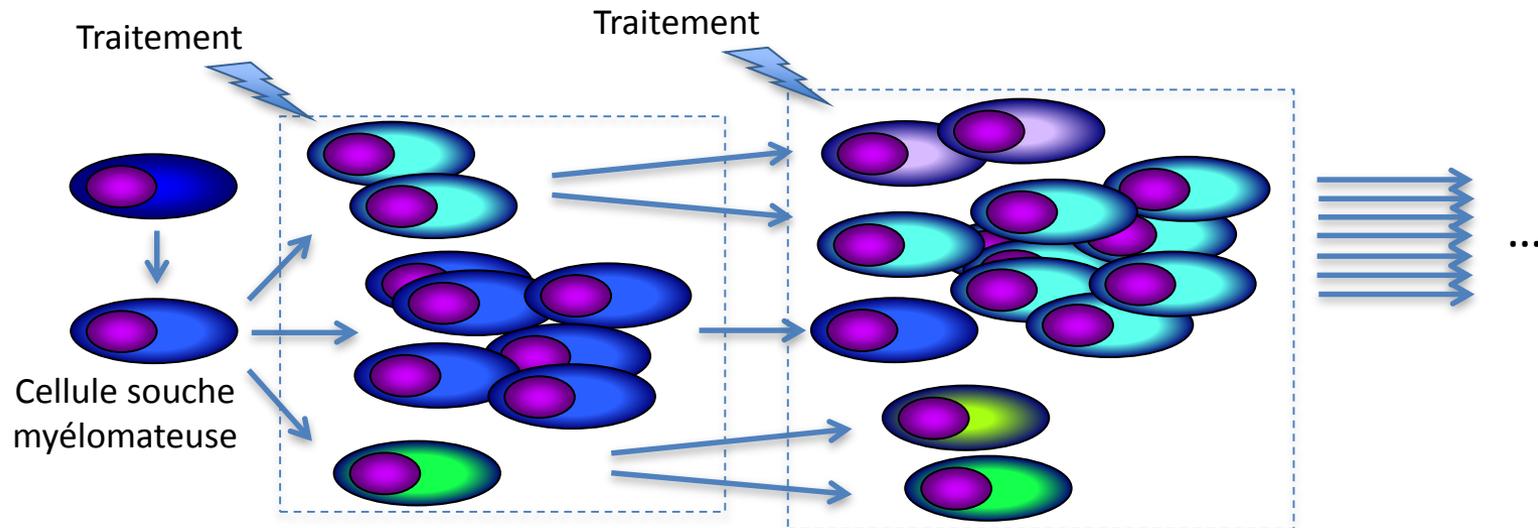
- Hypergammaglobulinémie monoclonale (dyscrasie plasmocytaire/SLP indolent)
 - Myélome multiple
 - Macroglobulinémie de Waldenström
 - ...

Autres pattern



- Bi-clonalité

- N'est pas une rareté
- Surtout connaissant l'évolution clonale du myélome multiple



Autres pattern



- Profil oligoclonal
 - Maladies auto-immunes
 - Maladies infectieuses
 - Reconstitution immune
 - Maladie du greffon contre l'hôte chronique

Indication d'une électrophorèse des protéines sériques

- Lorsque la pathologie investiguée ou connue est une maladie infectieuse ou inflammatoire, une malnutrition ou une maladie hépatique
 - Il y a des tests diagnostiques plus sensibles et spécifiques que l'électrophorèse des protéines sériques
 - L' électrophorèse des protéines sériques ajoute peu d'information supplémentaire pour ces états cliniques
 - ... on peut même nuire aux patients...

Indication d'une électrophorèse des protéines sériques

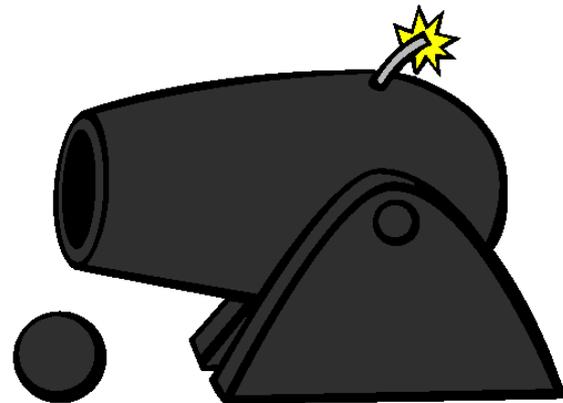
- Dans l'investigation de maladie hépatique, l'électrophorèse des protéines sériques «peut» être demandée pour l'investigation de :
 - Cirrhose biliaire primitive
 - Augmentation polyclonale des IgM
 - Hépatite auto-immune
 - Augmentation des gammaglobulines ou augmentation polyclonale des IgG

Électrophorèse des protéines sériques	
Albumine	35-48 g/L
Alpha1-globulines	1,7-3,5 g/L
Alpha2-globulines	4-9 g/L
Beta-globulines	6-11 g/L
Gamma-globulines	6-17,5 g/L

	Concentration
IgG	5,52 – 16,31 g/L
IgA	0,69 – 5,17 g/L
IgM	0,33 – 2,93 g/L

Indication d'une électrophorèse des protéines sériques

- En 2016, faire une électrophorèse des protéines sériques dans un contexte infectieux, inflammatoire, d'un bilan nutritionnel ou d'un contexte de maladie hépatique revient à demander un scan pan-corporel pour une céphalée
 - On court, à ce moment, aux découvertes fortuites !



Indications formelles de l'électrophorèse des protéines sériques

- Diagnostic et suivi des dyscrasies plasmocytaires et syndromes lymphoprolifératifs indolent associés à un pic monoclonal
 - Myélome multiple
 - Leucémie plasmocytaire
 - POEMS
 - Plasmocytomes
 - Amyloïdose primaire
 - Macroglobulinémie de Waldenström
 - SLP indolents
 - ... et gammopathie monoclonale bénigne, lorsque connu...
- Il n'y a aucune indication à faire des dépistages de gammopathie monoclonale bénigne s'il n'y a pas de symptômes, signes ou manifestations d'appels

Indications formelles de l'électrophorèse des protéines sériques

- Message central de la présentation
 - L'électrophorèse des protéines sériques n'est pas un outil nécessaire au diagnostique et au suivi de la majorité de ces pathologies
 - Maladies inflammatoires
 - MII, PAR, LED et maladies apparentées...
 - Infections
 - Malnutrition
 - Maladies hépatiques chroniques
- Dans ce contexte, l'électrophorèse des protéines sériques, en plus de ne pas être nécessaire à ces pathologies, peut nuire aux patients en documentant des pics monoclonaux type MGUS



MAYO CLINIC
Mayo Medical Laboratories

Web: MayoMedicalLaboratories.com
E-mail: mml@mayo.edu
Telephone: 800-533-1710
International: +1 855-379-3115

Values are valid only on day of printing.

Test 80085 : Electrophoresis, Protein, Serum

Useful For

Monitoring patients with monoclonal gammopathies

Diagnosis of monoclonal gammopathies, when used in conjunction with immunofixation

Protein electrophoresis alone is not considered an adequate screen for monoclonal gammopathies



Usage judicieux de 14 analyses biomédicales

Outil pratique

Avril 2014

Une production de l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux

2.5 ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES



L'électrophorèse des protéines sériques ne doit pas être prescrite

- chez les personnes asymptomatiques; ou
- d'emblée pour un bilan inflammatoire.



L'électrophorèse des protéines sériques est principalement indiquée

- en cas de suspicion de myélome multiple¹⁰ pour le diagnostic^{1, 2-8} et le suivi^{1, 5-7}; et
- pour le diagnostic de la maladie de Waldenström.⁹

Niveau de preuve et grade de recommandations

Les énoncés sont tirés des recommandations gradées et non gradées.

Recommandation grade C : niveau de preuve IV (opinion ou expérience clinique des experts).

Indications formelles de l'électrophorèse des protéines sériques

- Anémie/autres cytopénies
- Hypercalcémie
- Lésions lytiques
- Fractures pathologiques
- Ostéoporose/ostéopénie
- Insuffisance rénale
- Protéinurie/albuminurie
- Neuropathies périphériques non attribuables à d'autres pathologies
- Protéines sériques élevées discordantes à l'albumine
- Dosage d'une immunoglobuline élevée
- Hypogammaglobulinémie
- Lymphocytose
- Plasmocytes circulants
- Rouleaux érythrocytaires au frottis
- ...

Indications formelles de l'électrophorèse des protéines sériques

- ... finalement... lorsqu'une dyscrasie plasmocytaire ou un syndrome lymphoprolifératif indolent est suspectée
 - Myélome multiple
 - Leucémie plasmocytaire
 - POEMS
 - Plasmocytomes
 - Amyloïdose primaire
 - Macroglobulinémie de Waldenström
 - SLP indolents
 - ... et gammopathie monoclonale bénigne, lorsque connu...



MAYO CLINIC
Mayo Medical Laboratories

Web: MayoMedicalLaboratories.com
E-mail: mml@mayo.edu
Telephone: 800-533-1710
International: +1 855-379-3115

Values are valid only on day of printing.

Test 80085 : Electrophoresis, Protein, Serum

Useful For

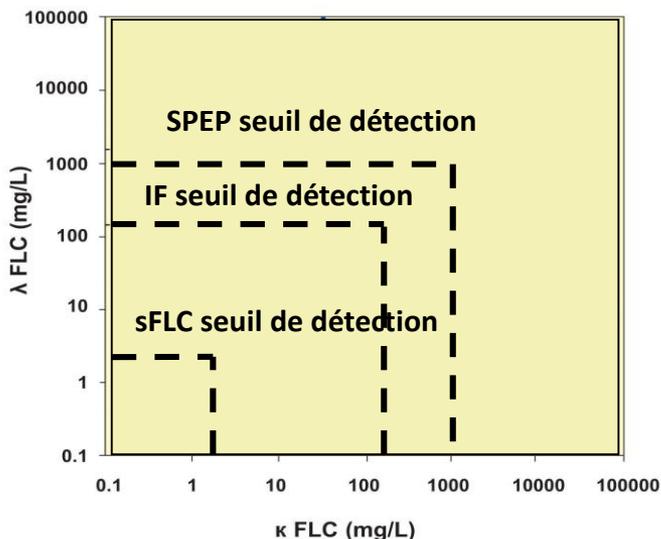
Monitoring patients with monoclonal gammopathies

Diagnosis of monoclonal gammopathies, when used in conjunction with immunofixation

Protein electrophoresis alone is not considered an adequate screen for monoclonal gammopathies

Investigation d'une suspicion de dyscrasie plasmocytaire/SLP

- La sensibilité de l'électrophorèse des protéines sériques est problématique lorsque ces pathologies sont suspectées
 - L'immunofixation des protéines sériques est plus sensible pour les dyscrasies plasmocytaires à immunoglobulines intactes
 - Le dosage des chaînes légères libres sériques et l'immunofixation des protéines urinaires sont plus sensibles pour les dyscrasies plasmocytaires à chaînes légères

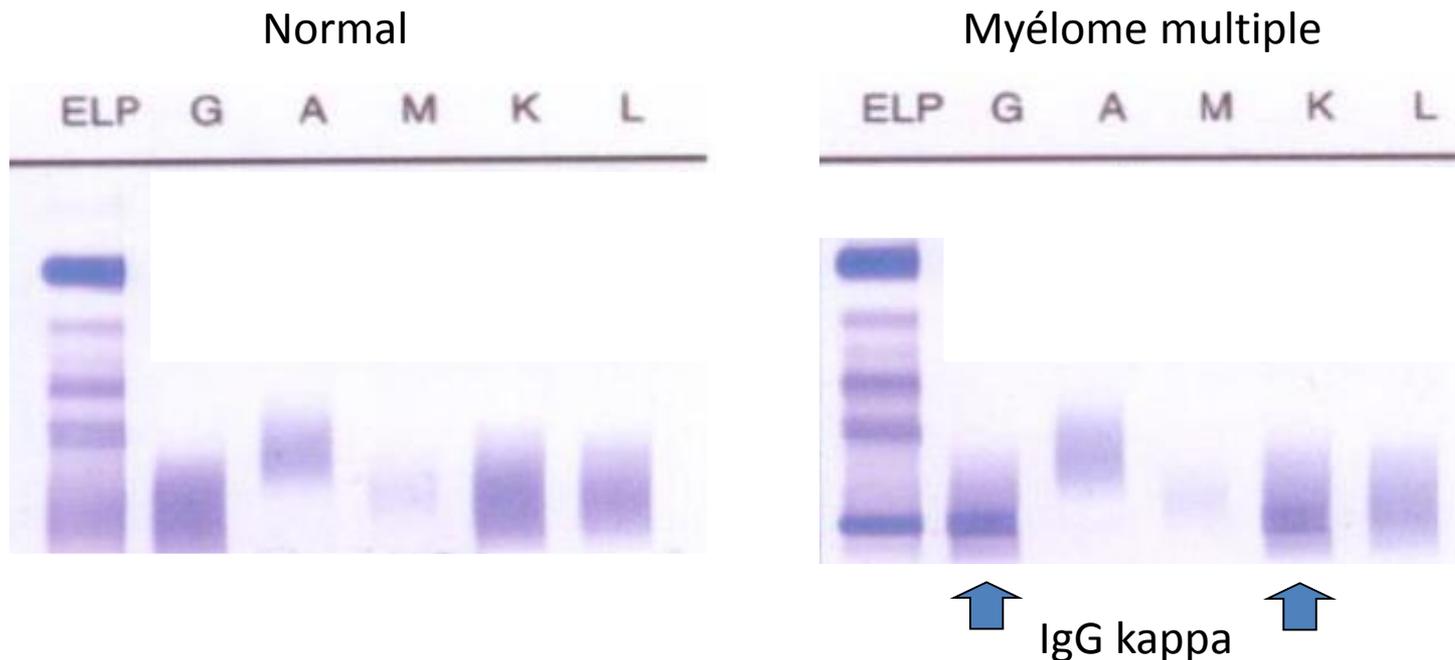


- ✓ Pour les patients, le sérum est plus facile à collecter que les urines
- ✓ Pour les patients moins compliants, un prélèvement ponctuel est plus fiable qu'une collecte de 24 heures

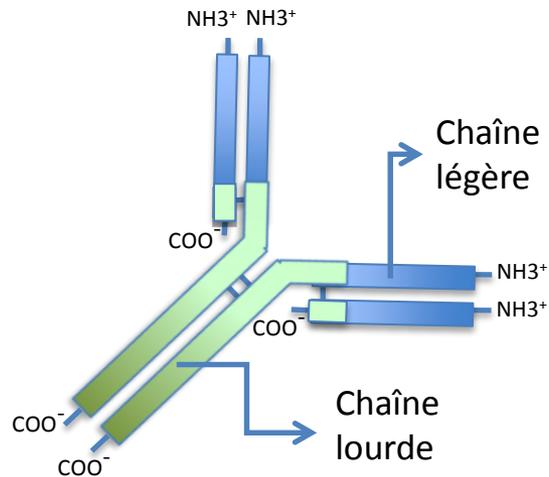
	Sensibilité de détection des chaînes légères
Électrophorèse des protéines sériques	500-2000 mg/L
Immunofixation des protéines sériques	150-500 mg/L
Dosage des chaînes légères libres sériques	< 5 mg/L

Détection/caractérisation d'un pic monoclonal

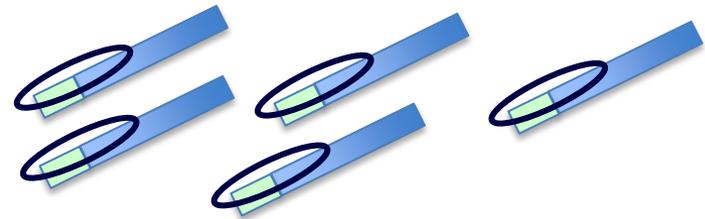
- L'immunofixation des protéines sérique est plus sensible que l'électrophorèse des protéines sériques tant pour les immunoglobulines intactes que les chaînes légères libres sériques
- Permet de caractériser une bande monoclonale
 - Ne la quantifie pas!



Dosage des chaînes légères libres sériques

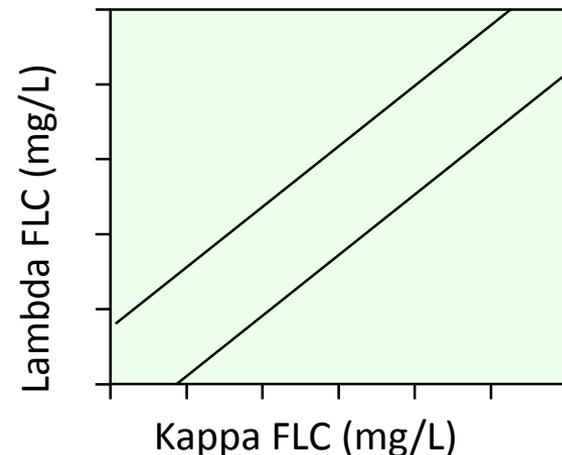


Immunoglobuline intacte

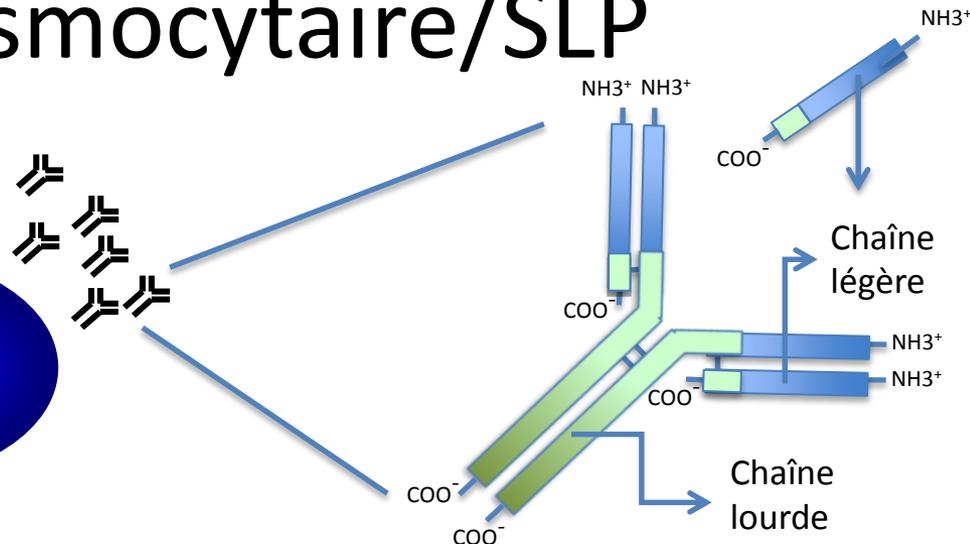
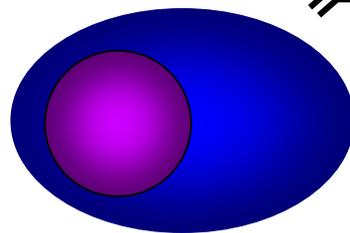
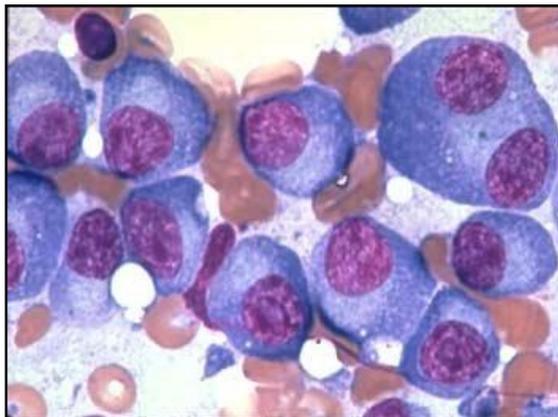


Chaînes légères libres sériques

	Chaînes légères libres sériques
Kappa (IC à 95%)	3,3-19,4 mg/L
Lambda (IC à 95%)	5,7-26,3 mg/L
Ratio κ/λ (IC à 100%)	0,26-1,65



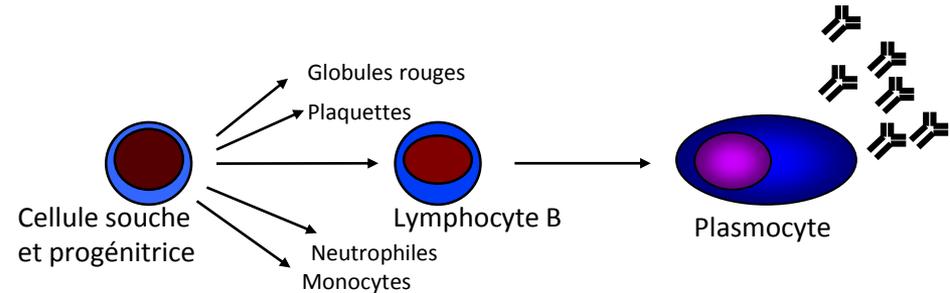
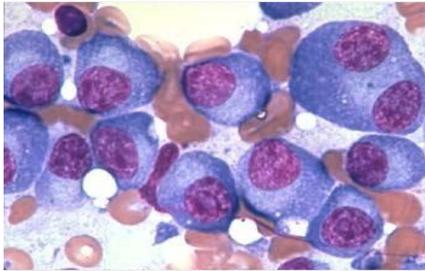
Investigation d'une suspicion de dyscrasie plasmocytaire/SLP



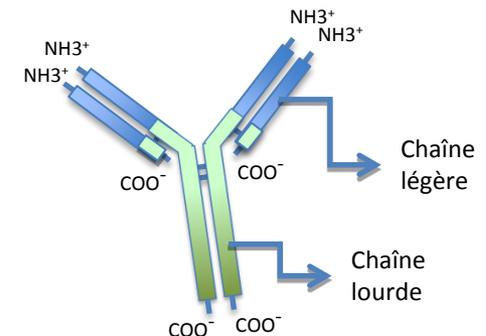
	Sensibilité		
	Myélome multiple à Ig intactes	Myélome à chaînes légères	Myélome non sécrétant
Électrophorèse des protéines sériques	80%	50-65%	0%
Immunofixation des protéines sériques	90%	~ 80%	0%
Immunofixation des protéines sériques et urinaires	95%	~ 85-90%	0%
Électrophorèse des protéines sériques et dosage des chaînes légères libres sériques	> 95%	> 98%	70-80%
Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques, et dosage des chaînes légères libres sériques	> 98%	> 98%	70-80%

Dyscrasies plasmocytaires

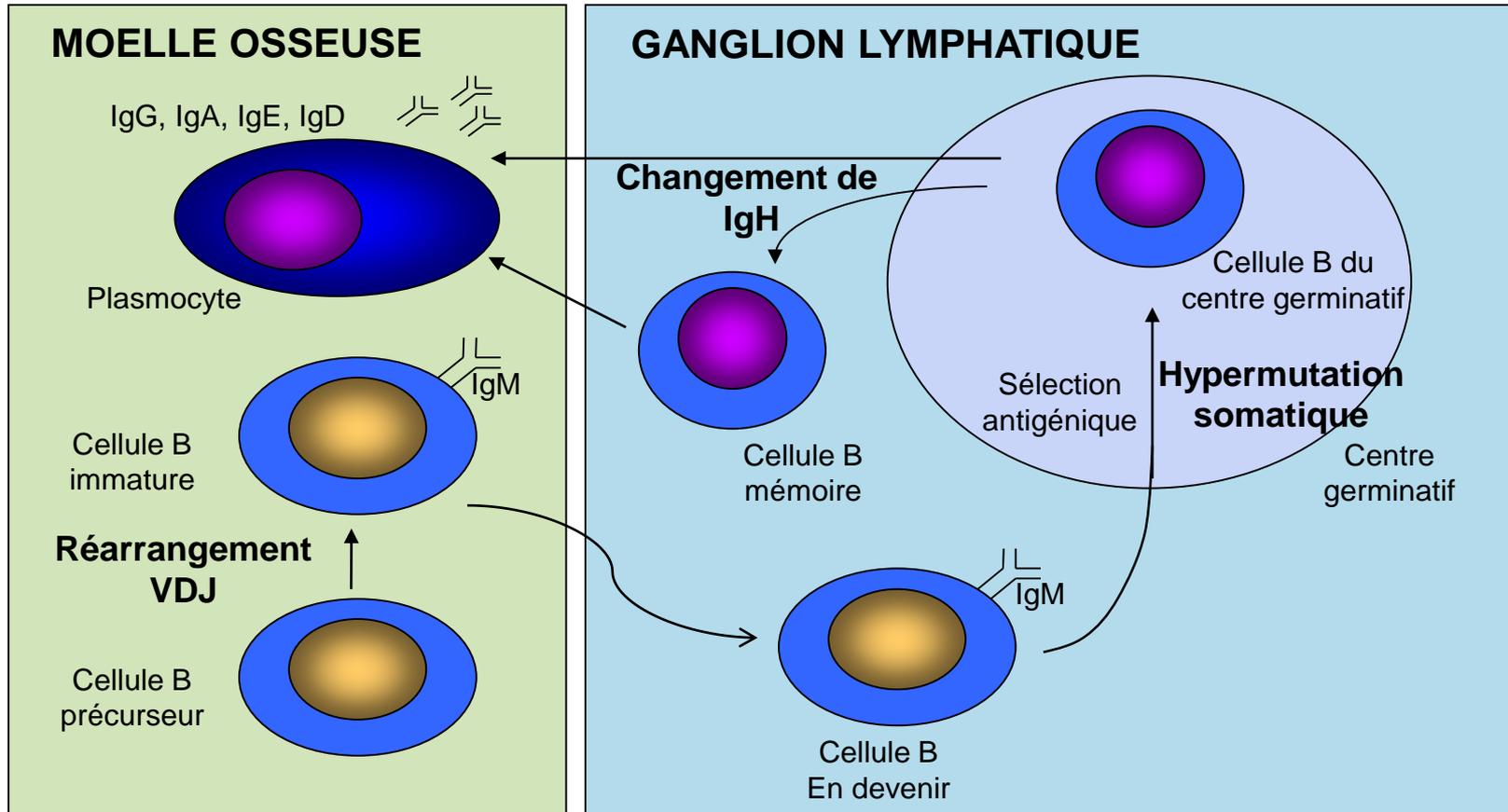
- Résulte de la prolifération, mais surtout de l'accumulation d'un clone de plasmocytes



- Produisant le plus souvent une immunoglobuline monoclonale



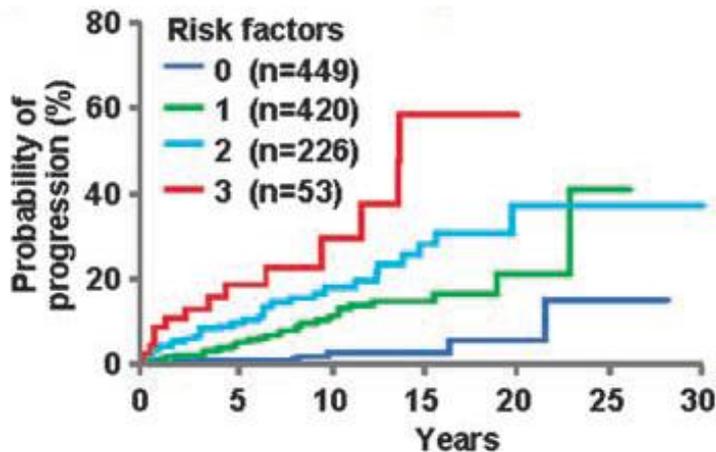
Ontogénie



- Insultes génétiques ± phénomènes épigénétiques vont moduler le comportement normal des plasmocytes

Gammopathie monoclonale bénigne (MGUS)

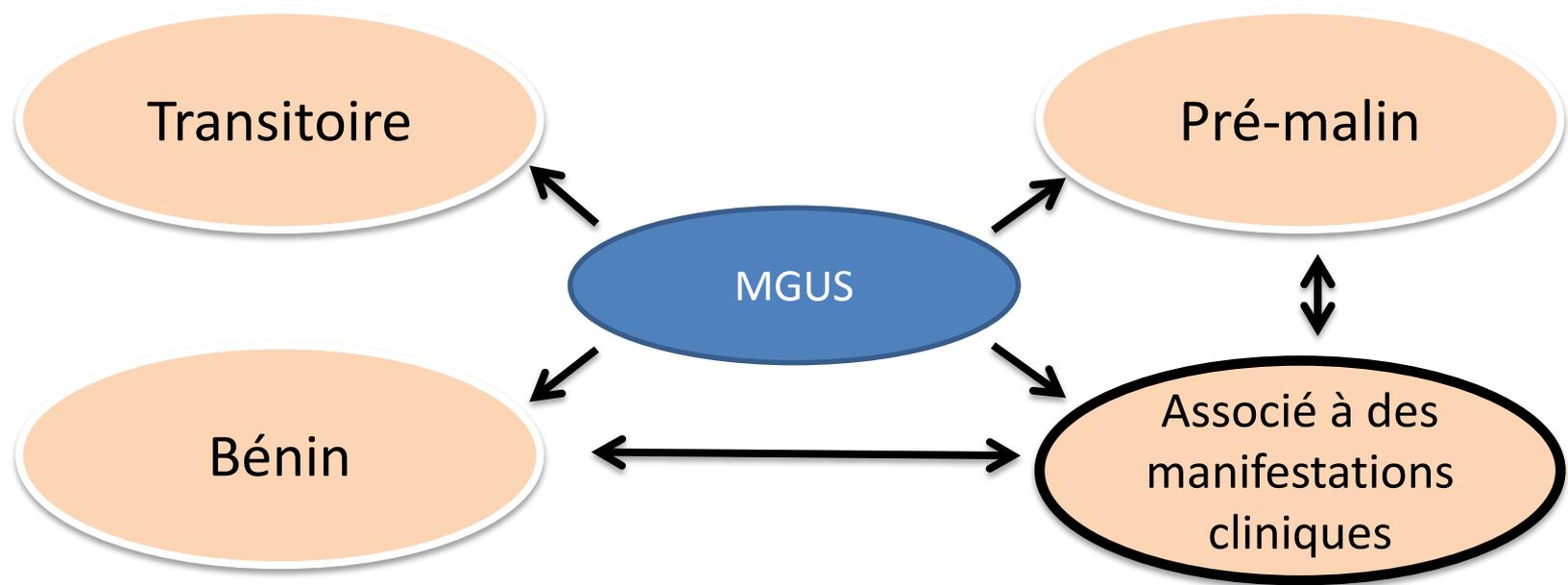
MGUS	IgM	IgG, IgA, IgD	Chaînes légères
Protéine monoclonale	Pic < 30 g/L	Pic < 30 g/L	Pas de chaîne lourde à l'IF Ratio FLC anormal Augmentation d'une FLC BJ < 500 mg/24 heures
Plasmocytose médullaire monoclonale < 10%	Lympho-plasmocytes	Plasmocytes	
Absence d'atteinte d'organe cible	Pas de symptôme généraux ou symptômes B, pas d'hyperviscosité...	Pas d'hypercalcémie, d'insuffisance rénale, d'anémie ou d'atteinte osseuse relié à la dyscrasie plasmocytaire. Absence de biomarqueur à haut risque	
Taux de progression	1,5%/an	1%/an	0,3%/an
Évolution	Macroglobulinémie de Waldenström ou autre SLP indolent	Myélome multiple	Myélome à chaînes légères, amyloïdose



{ Non IgG
 ≥ 15 g/L
 Ratio FLC anormal

Risque de progression à 20 ans

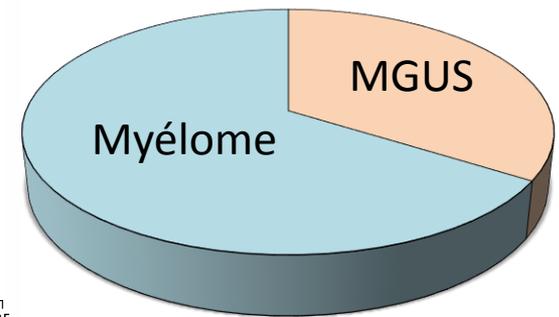
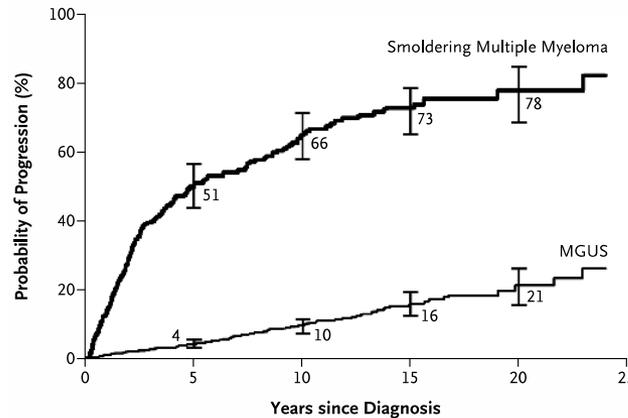
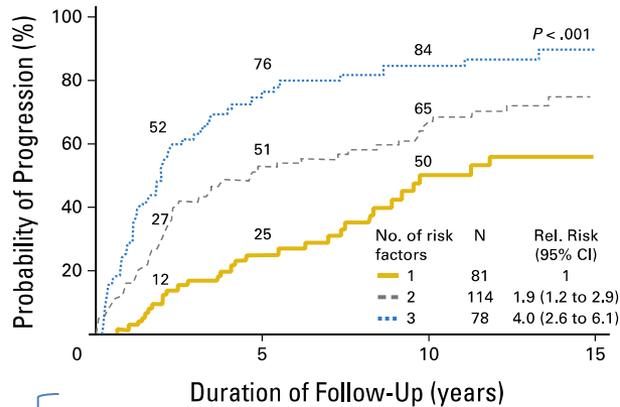
- 0 facteur : 5%
- 1 facteur : 21%
- 2 facteurs : 37%
- 3 facteurs : 58%



- Manifestations cliniques «associables» (pas toujours si bénin)
 - **Néphropathies**
 - Gammapathie monoclonale de signification rénale (**MGRS**)
 - Neuropathies
 - Dermatopathies
 - Ostéopénie/ostéoporose

Myélome indolent

- Protéine monoclonale ≥ 30 g/L, et/ou
- Protéinurie de Bence Jones ≥ 500 mg/24 heures, et/ou
- Plasmocytose médullaire entre 10% et 60%



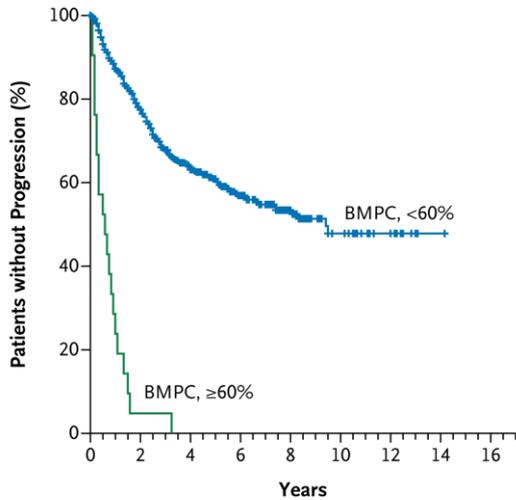
Pic ≥ 30 g/L
 Plasmocytose médullaire $\geq 10\%$
 Ratio FLC anormal

Myélome multiple

- Plasmocytose médullaire clonale $\geq 10\%$ ou plasmocytome extramédullaire prouvé, et
- Au moins un événement définissant le myélome :
 - CRAB
 - Hypercalcémie: $> 2,75$ mmol/L ou $> 0,25$ mmol/L x N
 - Insuffisance rénale: < 40 cc/min ou > 177 μ mol/L
 - Anémie: < 100 g/L ou > 20 g/L sous limite N
 - Lésions osseuses: ≥ 1 lésion lytique sur RX, scan ou IRM
 - Trois autres événements définissent le myélome...

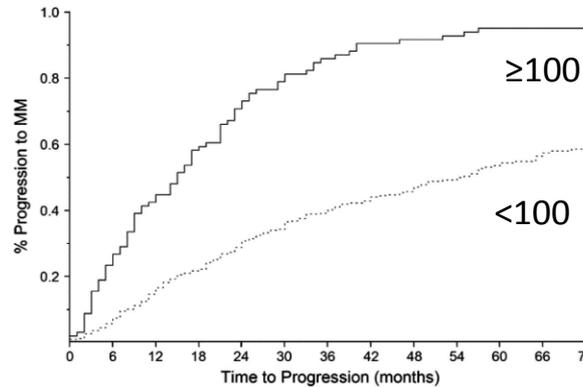
Myélome multiple

Plasmocytose médullaire $\geq 60\%$



- $\geq 60\%$ chez 2-5%
 - TTP médiane: 7-15 mois
 - 95-100% de progression à 2 ans

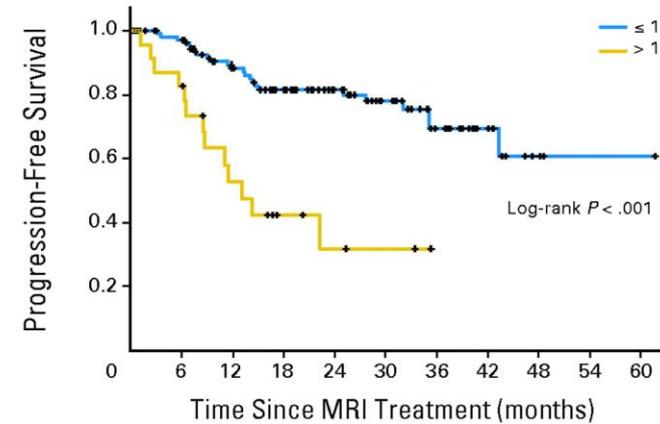
Ratio des chaînes légères ≥ 100



- ≥ 100 chez 7-15%
 - 64-100% de progression à 2 ans
 - $\geq 25\%$ IRA à la progression

Larsen et al. Leukemia 2013

> 1 lésion focale par IRM

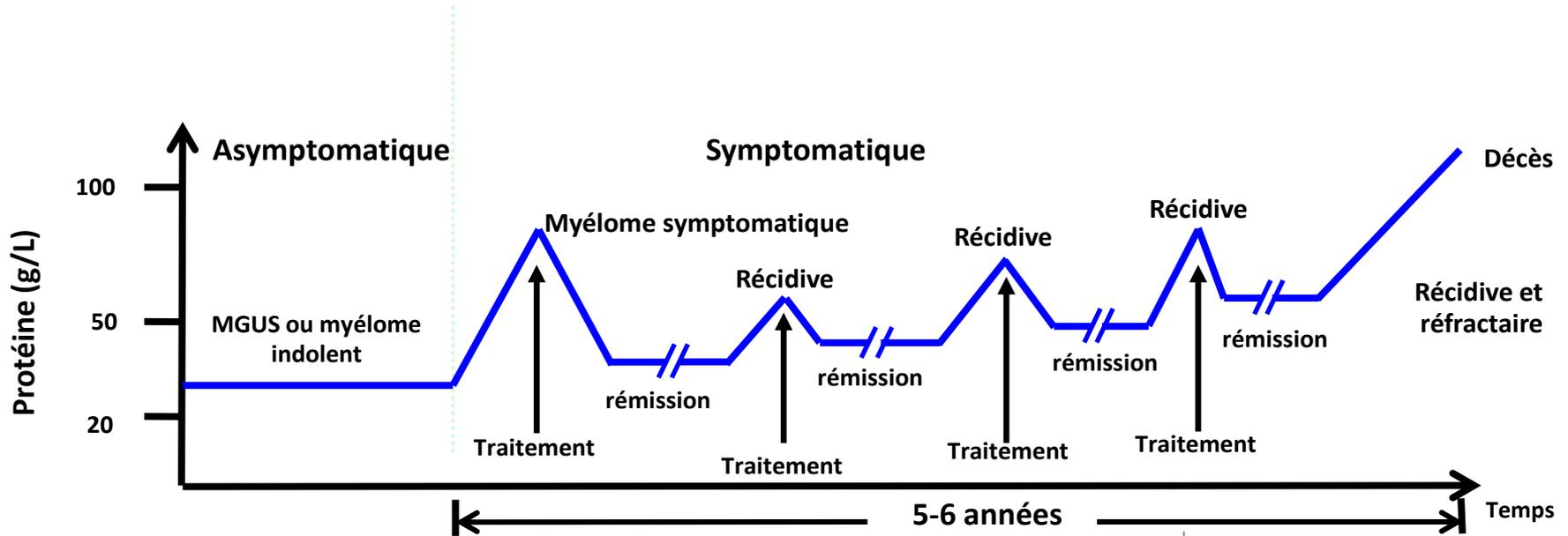


- >1 lésion focale chez 14-15%
 - TTP médiane: 13-15 mois
 - 70% de progression à 2 ans

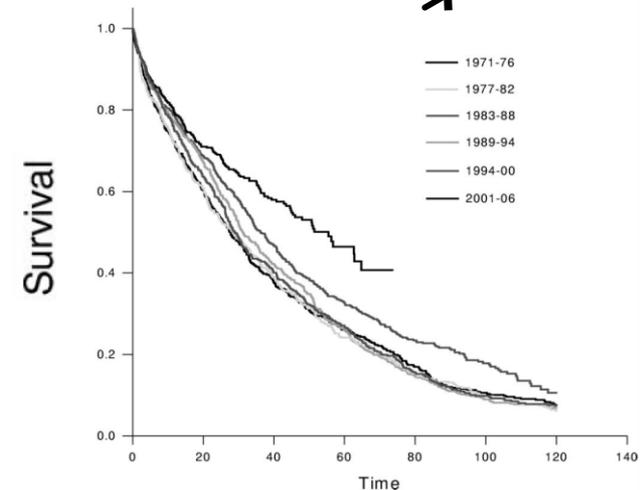
Hillengass et al. JCO 2010

Rajkumar et al. NEJM 2011

Évolution



- Début des années '90: survie médiane de 2-3 ans
- Milieu et fin des années '90: survie médiane de 3-4 ans
- Aujourd'hui, survie médiane de ≥ 5 ans
- Les patients avec mauvais facteurs biologiques ont toujours un mauvaise survie



Bonne gestion du laboratoire

- Pertinence de l'examen
 - Requête d'examen où il faudra justifier que l'analyse est demandé pour suspicion clinique ou biologique d'une dyscrasie plasmocytaire/SLP indolent
- Efficience de ce qui doit être fait
 - Orientation du spécimen selon l'antériorité des résultats et les résultats obtenus

Conclusion

- L'électrophorèse des protéines sériques n'est pas un test de dépistage sur l'état de santé global d'un patient
 - Il est approprié lorsqu'il y a une suspicion clinique de dyscrasie plasmocytaire ou de SLP indolent
 - Il ne faut pas aller à la pêche de MGUS, pour obtenir de l'information que l'on peut obtenir autrement

La SQBC vous remercie de votre participation!

- Code de participation : **pU4a**
- Des questions? Envoyez-les par courriel au ***secretariat@sqbc.qc.ca***
- Cet événement constitue une activité d'apprentissage en groupe accréditée, telle que définie par le programme de perfectionnement professionnel de la SCCC/l'ACBC et de l'OPTMQ.
 - Pour imprimer un certificat de participation :
 - Visiter le site ***www.csc.ca***
 - Aller dans la section « ***Conferences/Events*** » et choisir le menu « ***Non-member certificates*** »
 - Entrer le code de participation : **pU4a**