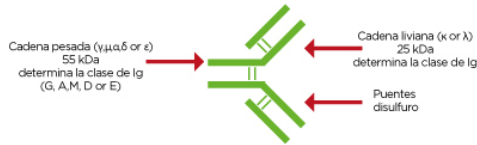


Inmunotipificación (IT) e Inmunofijación (IF): Diferencias y ventajas

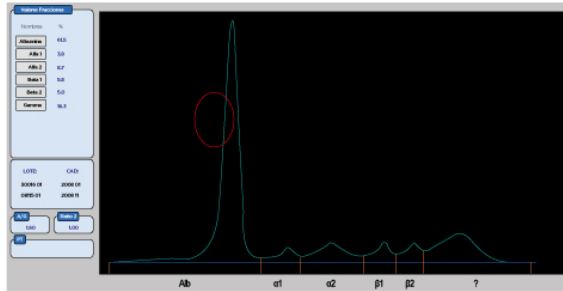
QFB. Rubén Doroteo Alvillar, Manager for Development of Market LATAM, Sebia.

La electroforesis de proteínas de suero y orina resulta un análisis útil para investigar problemas sistémicos, por ejemplo, procesos inflamatorios, síndromes nefróticos, perfil cirrótico, etc., pero también permite el diagnóstico de enfermedades específicas, donde existe afectación de las **inmunoglobulinas (Igs)**, por ejemplo, la **Gammapatía Monoclonal de Importancia Incierta (MGUS)**, **Smoldering Myeloma (SM)** o **Mieloma asintomático** y por supuesto, **Mieloma Múltiple**.

Las inmunoglobulinas implicadas en la respuesta inmune son sintetizadas por un tipo de leucocito denominado **linfocito B** que tiene un peso aproximado de 160 kDa. Cada Inmunoglobulina está constituida por dos unidades estructurales: dos cadenas pesadas idénticas que determinan la clase y dos cadenas livianas idénticas que determinan el tipo.

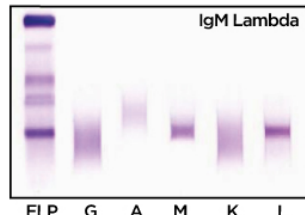


Existen cinco tipos de cadenas pesadas identificadas por letras griegas: IgA(α), IgD(δ), IgE(ε), IgG(γ) e IgM(μ) y dos tipos de cadenas ligeras igualmente identificadas por letras griegas: Kappa(κ) y Lambda(λ), existen hasta 10 combinaciones posibles que se pueden identificar o tipificar. Las inmunoglobulinas migran a la zona gamma en el corrimiento electroforético. Aproximadamente el 85% de las Inmunoglobulinas corresponde a IgG, el 15% a IgA, el 5% a IgM y menos del 1% a IgD e IgE, observamos una forma gaussiana en esta fracción sin deformación o picos adicionales.



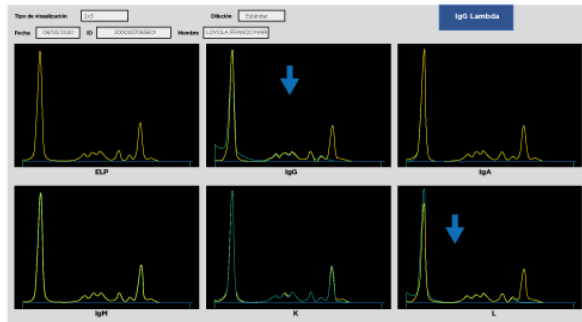
En caso de una neoplasia que afecte a la médula ósea particularmente a las células plasmáticas, observaremos como consecuencia la proliferación de una inmunoglobulina (gammapatía monoclonal) o la proliferación de varias (gammapatía biclonal u oligoclonal), la cual se debe a la sospecha de proteínas monoclonales (Proteínas-M, paraproteínas, inmunoglobulinas monoclonales) principalmente aquellas situadas en las fracciones de beta globulinas y gamma globulinas (se pueden observar en baja prevalencia en zona alfa). En cualquiera de las circunstancias se debe cuantificar y tipificar la cadena pesada y ligera por Inmunofijación o inmunotipificación.

La Inmunofijación (IF) es una técnica que permite la separación de una proteína por electroforesis, a la que se adicionan antisueros, los cuales difunden dentro del gel precipitando a los anticuerpos correspondientes en caso de estar presentes (cadena pesada y/o ligera); una prueba positiva permite observar al menos una banda homogénea en los diferentes carriles sin importar sea una cadena pesada, ligera o ambas.



La Inmunotipificación o inmunotipado (IT), es una técnica que permite mezclar la muestra con un antisuero específico en función de su movilidad electroforética, en un pH alcalino. La muestra migra a través del tubo capilar, la detección se realiza a 200 nm eliminando la necesidad de tinción y mejorando la precisión y resolución.

Una prueba positiva involucra la inmunosustracción de los componentes monoclonales sin importar que sea de una cadena pesada, ligera o ambas. La unión entre el anticuerpo presente en la muestra y el antisuero presente en el reactivo genera un compuesto más pesado y de mayor carga negativa, provocando una migración más rápida que pasa a un lado de la albúmina, por ello, desaparece el pico problema. La IT nos permite determinar hasta 12 pruebas/hora.



Se han realizado diferentes estudios para mostrar las similitudes y diferencias entre ambas metodologías, uno de los primeros estudios prospectivos se realizó por el **Dr. Katzmann**, donde se incluyeron 1,518 pacientes, se realizaron estudios de electroforesis de proteínas séricas en gel de agarosa y electroforesis capilar. La electroforesis en gel de agarosa tuvo una sensibilidad y especificidad de 91% y 99%, respectivamente, mientras que la electroforesis capilar dio resultados de 95% y 99%. El inmunotipado de las proteínas monoclonales se realizó por inmunofijación e inmunosustracción. La electroforesis capilar fue más sensible que la electroforesis en gel de agarosa para la identificación de proteínas monoclonales en suero. Además, el método de inmunosustracción resultó técnicamente más simple y automatizado que la inmunofijación representando un enfoque adicional y útil para inmunotipar proteínas monoclonales.

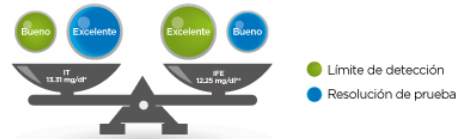
En 2016 el **Dr. Kanji Miyazaki** y **Dr. Kenshi Suzuki** evaluaron diferentes pruebas en las que se incluyó IT e IF para determinar la mejor alternativa de detección y tipificación de las proteínas monoclonales en suero en pacientes con amiloidosis (AL). Se incluyeron 50 pacientes diagnosticados, 17 nuevos diagnósticos (con bandas muy pequeñas) y 33 pacientes que iniciaron tratamiento. Se demostró que la IT permitió diagnosticar más casos en comparación a la IF, y que es posible combinar varias metodologías para mejorar la sensibilidad. Los resultados de la IT dependen de la interpretación, por tanto es importante el entrenamiento y la experiencia por parte del operador.

Tabla 1. Sensibilidad diagnóstica de la inmunosustracción capilar y otras técnicas

Tipo de Examen	Nuevos diagnósticos de pacientes con amiloidosis (n=17) Positivos (no) % (95% CI)	Pacientes con amiloidosis bajo tratamiento. (n=33) Positivos (no) % (95% CI)
sIFE	7 41% (15-67)	8 24% (9-40)
CE/IS	7 41% (15-67)	9 27% (11-43)
SPEP (Pico M)	7 41% (15-67)	3 9% (0-19)
sIFE+FLC (Anormal)	15 88% (71-100)	11 33% (16-50)
sIFE+FLC	17 100%	14 42% (25-60)
CE/IS+FLC	17 100%	16 48% (30-66)

sIFE, electroforesis de inmunofijación sérica; CE / IS electroforesis capilar / Inmunosustracción; SPEP, electroforesis de proteínas séricas; FLC, cadena ligera libre.

Las conclusiones de los diferentes estudios demuestran que la inmunotipificación (IT) e inmunofijación (IF) nos permiten tipificar las gammopatías monoclonales de acuerdo a su cadena pesada y ligera. La IT nos ofrece una excelente resolución y buen límite de detección mientras que la IF provee una excelente sensibilidad y buena resolución.



Finalmente, consideramos que la IT ofrece una automatización completa del análisis, nos permite incrementar la cantidad de pruebas por hora y reducir la manipulación por parte del operador y así mejorar los tiempos de entrega de resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Capillary electrophoresis/immunosubtraction as a better alternative to immunofixation for detecting and immunotyping serum monoclonal proteins in patients with immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis, Kanji Miyazaki and Kenshi Suzuki, September 2016
2. Performance of the Sebia CAPILLARYS 2 for Detection and Immunotyping of Serum Monoclonal Paraproteins, Zhaochai Yang, et al, Am J Clin Pathol 2007.
3. Performance of the Sebia CAPILLARYS 2 for Detection and Immunotyping of Serum Monoclonal Paraproteins, Zhaochai Yang, American Journal of Clinical Pathology 128(2):293-9 - September 2007
4. An international multi-center serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study, Joannes F.M. Jacobs, Clin Chem Lab Med 2020