

## GUÍA DE REVISIÓN

# Recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteinograma electroforético

*Recommendations for the clinical laboratory for the study of serum proteins from the electrophoretic proteinogram*

Arco, Silvia Estela<sup>1</sup>; Baquío, María Isabel<sup>2</sup>; Bovone, Nora Silvia<sup>3</sup>; Crispiani, Isabel Amalia<sup>3</sup>; De Marco, Beatriz<sup>5</sup>; Desimone, Isabel Viviana<sup>6</sup>; Factorovich, Adriana Marcela<sup>7</sup>; Fernández, Diego Javier<sup>8</sup>; García, Mónica Alicia<sup>9</sup>; Giani, Miriam Patricia<sup>3</sup>; Lorenzon, María Victoria<sup>10</sup>; Lunazzi, Graciela<sup>11</sup>; Madalena, Leticia Bibiana<sup>12</sup>; Nieves Luciano David<sup>6</sup>; Osatinsky, Raquel<sup>13</sup>; Pijuan, María Carla<sup>14</sup>; Ríos, María de Lourdes<sup>15</sup>; Santoro, Silvina Andrea<sup>5</sup>; Tavella de Del Río, Ofelia<sup>16</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Hidalgo. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica Clínica. Rosario, Santa Fe, Argentina.

<sup>3</sup>Laboratorio de Proteínas y Autoinmunidad, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. El Palomar, Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Laboratorio Pérez Crispiani. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup>Laboratorio Central, Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>6</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Evita. Lanús, Buenos Aires, Argentina.

<sup>7</sup>Laboratorio Central. Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>8</sup>Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>9</sup>Laboratorio Bioquímico Dra. García. Castelar, Buenos Aires, Argentina.

<sup>10</sup>Laboratorio Central. Hospital Italiano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>11</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Dr. Paroissien. Isidro Casanova, Buenos Aires, Argentina.

<sup>12</sup>Laboratorio de Proteínas, Hospital de Clínicas, José de San Martín, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>13</sup>Laboratorio Manlab. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>14</sup>Instituto de Análisis Fares Taie. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>15</sup>Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Carlos G. Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>16</sup>Laboratorio Central, Hospital Militar Central Cirujano Mayor Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Fernández, Diego Javier; Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich; Pi y Margall 750, C1155 AHD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; fdjfrey84@gmail.com

## Resumen

**Introducción:** El laboratorio clínico de proteínas es uno de los pilares para la caracterización, el diagnóstico y el monitoreo de diversas patologías. Sin embargo, ante la heterogeneidad observada tanto en las metodologías utilizadas como en la confección del informe de los estudios proteicos en la encuesta realizada durante los años 2018 -2019 en nuestro país, surge, desde el Foro de Proteínas, la necesidad de redactar las primeras recomendaciones sobre prácticas de laboratorio de proteínas. **Objetivo:** Crear una directriz como primer paso para armonizar la detección inicial y la medición cuantitativa de proteínas monoclonales. **Materiales y Métodos:** En el Foro de Proteínas, con sede en la Asociación Bioquímica Argentina, se generó un ámbito de discusión donde los profesionales especialistas en el área de Proteínas nos reunimos periódicamente para consensuar criterios que puedan ser utilizados como herramientas en la transmisión de resultados clínicamente útiles. **Resultados:** Estas recomendaciones recopilan consensos sobre la etapa pre-analítica, analítica y posanalítica y brindan información valiosa sobre el tipo de muestra, interferencias, metodologías disponibles, análisis e informe de resultados. **Conclusiones:** Estas recomendaciones, que son las primeras en el ámbito nacional, se redactaron para armonizar y fortalecer la detección inicial de una proteína M en pacientes que muestran síntomas o características de laboratorio de una gammapatía monoclonal. Se pudieron desarrollar mediante el consenso profesional, con el propósito de unificar criterios tanto metodológicos como de presentación de resultados.

**Palabras clave:** proteinograma electroforético, consenso, informe.

## Abstract

**Introduction:** The clinical protein laboratory is one of the pillars for the characterization, diagnosis and monitoring of various pathologies. However, given the heterogeneity observed both in the methodologies used and in the preparation of the report of protein studies in the survey carried out during the years 2018-2019 in Argentina, the need arises, from the Protein Forum, to write the first consensus on protein laboratory practices. **Objective:** To present the first clinical laboratory practice guide for the study of serum proteins from the electrophoretic proteinogram. **Materials and Methods:** The Protein Forum, based on the Argentine Biochemical Association, generated a forum for discussion, where professional specialists in the Protein area meet periodically to agree on criteria that can be used as tools in the transmission of clinical results. **Results:** These recommendations compile consensus on the preanalytical, analytical

and post-analytical stage, providing valuable information on the type of sample, interference, available methodologies, and analysis and report of results. Conclusions: These first national recommendations for the unification of both methodological and results presentation criteria was developed through professional consensus.

**Key words:** electrophoretic proteinogram, consensus, report.

## Introducción

El Foro de Proteínas con sede en la Asociación Bioquímica Argentina constituye desde el año 2007 un ámbito de discusión donde los profesionales especialistas en el área de proteínas nos reunimos periódicamente para consensuar criterios que puedan ser utilizados como herramientas en la transmisión de resultados clínicamente útiles.

Diversas sociedades científicas que se dedican al estudio de las gammopatías monoclonales (GM) como, por ejemplo, el International Myeloma Working Group publican periódicamente estrategias de trabajo consensuadas por especialistas tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de las GM<sup>1</sup>. Estos documentos contienen actualizaciones de los criterios diagnósticos, paneles de *screening* y metodologías de trabajo recomendadas. Sin embargo, la ausencia de propuestas específicas con respecto al reporte de los estudios proteicos séricos y urinarios genera una gran variabilidad en los informes emitidos por diferentes laboratorios. Trabajando en la búsqueda de consensos, tanto la Asociación de Bioquímica Clínica Australiana como la Sociedad Canadiense de Química Clínica han aportado en la última década valiosas recomendaciones, a las que se suman recientemente las generadas por el Colegio Americano de Patólogos, con el objeto de estandarizar el informe del proteínograma electroforético (PE).<sup>2,3</sup>

La falta de consensos en el ámbito nacional sobre cómo informar los estudios proteicos séricos y urinarios nos obliga a los profesionales del área a recabar información acerca de las técnicas utilizadas, la nomenclatura y el diseño del informe de resultados en nuestro país. Esto nos llevó a plantearnos como primer objetivo evaluar en el ámbito nacional, durante los años 2018 - 2019, el estado del arte en lo concerniente a metodologías y contenidos de informe para el estudio de GM.<sup>4</sup>

Desde el Foro de Proteínas, se invitó a los laboratorios bioquímicos clínicos de la República Argentina tanto del ámbito público como privado a participar de una encuesta voluntaria y anónima con el objetivo de confeccionar las primeras recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteínograma electroforético. Con la recopilación y el análisis de los datos obtenidos, se ha avanzado en la construcción del presente documento cuyo objetivo es crear directrices de prácticas del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas, a partir del proteínograma electroforético, para establecer las primeras recomendaciones argentinas sobre las fases preanalítica, analítica y posanalítica del proteínograma electroforético sérico (PES), la expresión de los resultados y comentarios interpretativos basados en la utilidad clínica de la separación electroforética de las proteínas plasmáticas presentes en el suero.

## Materiales y Métodos

Las presentes recomendaciones fueron desarrolladas por bioquímicos pertenecientes al Foro Argentino de Proteínas. Los autores se reunieron mensualmente, de forma plenaria, durante el año 2019 en la Asociación Bioquímica Argentina, mientras que, durante los años 2020, 2021 y 2022, las reuniones se realizaron de forma virtual.

La metodología utilizada para la elaboración de estas *Primeras recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteínograma electroforético* consistió en la búsqueda bibliográfica de trabajos de diferentes lugares relacionados con las etapas preanalítica, analítica y posanalítica para la realización del proteínograma. Se revisaron consensos escritos por otros países como Nueva Zelanda, Canadá y España.<sup>2,3,5</sup>

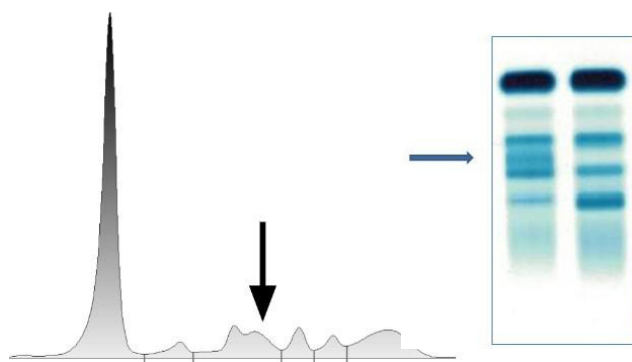
La difusión de este documento tiene por objeto divulgar los aspectos metodológicos y de formato de informe recomendados para la electroforesis de proteínas, con la finalidad de que puedan ser utilizados por todos los laboratorios del país en pos de la armonización.

### 1. Aspectos preanalíticos para la realización de proteínogramas

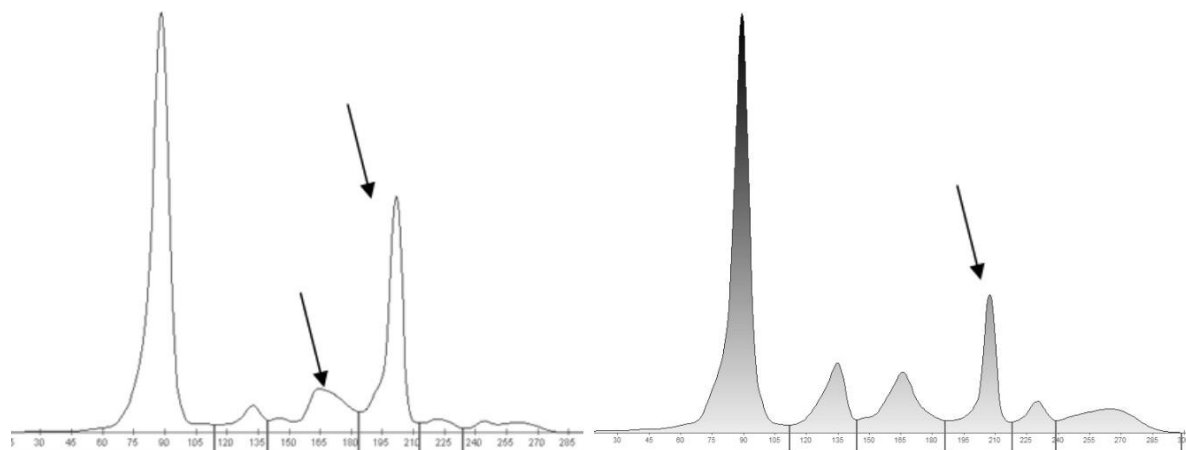
#### 1.1. Tipo de muestra

La muestra de elección para el estudio electroforético de las proteínas es el suero fresco. Esta debe ser obtenida por venopunción y colocada en el interior del tubo, sin anticoagulante, hasta que se produzca la coagulación completa. En caso de realizar una centrifugación previa sin que se haya completado la formación del coágulo, puede observarse la deformación

**Figura 1.** Proteínograma electroforético en soporte líquido (izq.) y en gel de agarosa (der.)



► Izquierda: corresponde a muestra con moderada hemólisis. Se observa desdoblamiento de la fracción  $\alpha$ -2; derecha: corresponde a muestra con hemólisis. Se observa aparición de una banda homogénea entre  $\alpha$ -2 y  $\beta$ -1.

**Figura 2.** Proteinograma electroforético en soporte líquido.

► Curva izquierda: corresponde a muestra con abundante hemólisis. Se observa desdoblamiento de la fracción  $\alpha$ -2 y aumento de fracción  $\beta$ -1 correspondiente esta última a la presencia de hemoglobina libre. Curva derecha: corresponde a presencia de componente monoclonal con migración en fracción  $\beta$ -1.

de la fracción  $\beta$ -2 o la presencia de una banda homogénea en gamma rápida por la presencia de fibrinógeno.<sup>5</sup>

### 1.2. Ayuno

Se recomienda que la extracción de la muestra se realice con un ayuno previo de 8 horas, para evitar la interferencia por hiperlipemia [“Apartado 1.4.1.”], principalmente cuando se utiliza como soporte gel de agarosa.

### 1.3. Estabilidad y temperatura de conservación de la muestra

Es recomendable la separación del suero del paquete globular después de la centrifugación, lo antes posible. La estabilidad a temperatura ambiente [20-25 °C] es de un día. Se puede conservar la muestra hasta 7 días a 4-8 °C o hasta 3 semanas a -20 °C.<sup>5</sup>

En caso de necesitar conservar la muestra congelada para posterior análisis, se recomienda realizar alícuotas y que la misma no sufra más de un proceso de congelación/descongelación, ya que puede presentar una degradación *in vitro* de las proteínas del complemento y, en consecuencia, una disminución de la fracción  $\beta$ -2-globulinas.

Se recomienda que el procesamiento se realice cuando la muestra se encuentre entre 18 y 24°C.

### 1.4. Interferencias

#### 1.4.1. Lipemia

Las lipoproteínas migran en diferentes posiciones, dependiendo de la técnica electroforética que se utilice: en soporte sólido, suelen migrar en la zona de las alfa y beta globulinas, aunque, en electroforesis capilar, suele verse un incremento de la zona posalbúmina. El aumento de la concentración hallada en los sueros hiperlipémicos puede dificultar la interpretación cuando se observa una zona beta aumentada o hasta hacer sospechar de un componente monoclonal cuando se utiliza soporte sólido.

Se sugiere no trabajar con sueros hiperlipémicos. En caso de no poder solicitar nueva muestra o esperar a que el paciente resuelva la hiperlipemia, siempre aclarar que se trabajó con un suero lipémico.<sup>5</sup>

#### 1.4.2. Hemólisis

Los complejos haptoglobina - hemoglobina formados durante la hemólisis *in vitro* pueden originar un desdoblamiento o ensanchamiento de la fracción  $\alpha$ -2. La presencia de hemoglobina libre en el suero también puede provocar estas mismas alteraciones en la fracción  $\beta$ -1. Por este motivo, se recomienda trabajar con sueros sin hemólisis. En caso de no poder solicitar nueva muestra, siempre aclarar que se trabajó con un suero con presencia de hemólisis [Figura 1 y 2].<sup>5</sup>

#### 1.4.3. Fibrinógeno

La administración de medicamentos anticoagulantes puede motivar la presencia de fibrinógeno en el suero. No se deben procesar muestras que hayan sido extraídas en tubos con algún tipo de anticoagulante. En el caso de poder confirmar la presencia de fibrinógeno, se debe aclarar la presencia del mismo y sugerir repetición del estudio con una nueva muestra de suero [Figura 3].<sup>5,6</sup>

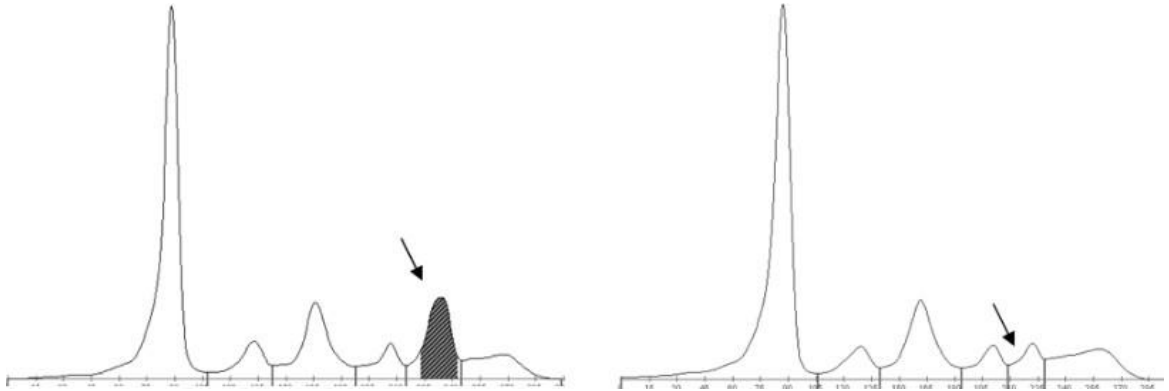
#### 1.4.4. Compuestos radiopacos y medicamentos

La administración intravenosa de contrastes químicos utilizados en diferentes técnicas de imágenes puede ocasionar la aparición de una banda adicional en las fracciones  $\alpha$ -2 o  $\beta$ -globulinas emulando componentes monoclonales, si la corrida se realiza en equipos de electroforesis capilar que detectan proteínas con lecturas a 200 nm. Algunos antibióticos también pueden originar este tipo de interferencias. Estas sustancias no afectan en corridas en soportes sólidos, donde el método de detección es mediante la utilización de colorantes. De sospechar o confirmar la presencia de un interferente de este tipo, se debe incluir una leyenda y solicitar nueva muestra de suero teniendo en cuenta la vida media de los componentes en cuestión.<sup>6,7</sup>

#### 1.4.5. Anticuerpos monoclonales de terapéutica

[daratumumab, elotuzumab, etc.]

El tratamiento con anticuerpos monoclonales puede ser el origen de una interferencia en la fracción gamma-globulinas,

**Figura 3.** Proteinograma electroforético en soporte líquido.

► Curva izquierda: muestra remitida con heparina de sodio. Se observa presencia de fibrinógeno en fracción  $\beta$ -2. Curva derecha: muestra remitida en tubo sin anticoagulante. Ambas muestras corresponden al mismo paciente.

dependiendo de la dosis y el régimen de administración. Todos los laboratorios deben conocer a sus pacientes tratados con este tipo de terapia para evitar malas interpretaciones de los análisis a realizar.<sup>5</sup> De tener conocimiento de la presencia de alguno de estos componentes terapéuticos, es necesario poner una leyenda que advierta de su presencia en el perfil del proteinograma electroforético (Figura 4).

#### 1.4.6. Crioglobulinas

Si se ha llevado a cabo en frío, en la electroforesis de proteínas en soporte sólido, puede observarse acumulación en el sitio de aplicación, que recrea la presencia de un “pico monoclonal”. En la situación de tener un diagnóstico de crioglobulinas positivas, dichas muestras deben sembrarse a 37°C al momento de procesarlas.

## 2. Aspectos sobre la metodología para realizar el proteinograma electroforético

### 2.1. Tipos de soportes

Los dos tipos de electroforesis utilizados para la separación de las proteínas plasmáticas presentes en el suero son: electroforesis en soporte sólido y electroforesis capilar.

#### 2.1.1. Electroforesis en soporte sólido

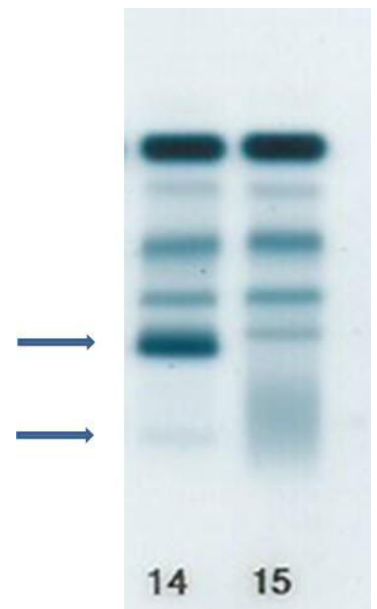
La capacidad de resolución y la sensibilidad analítica de esta metodología dependen del soporte y colorante utilizados<sup>8</sup>. En la práctica clínica, se utilizan habitualmente dos tipos de soporte: acetato de celulosa y gel de agarosa.

El acetato de celulosa está siendo paulatinamente reemplazado por métodos con mayor resolución como los geles de agarosa y la capilaridad; estos dos últimos métodos son los recomendados por el Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma Múltiple (IMWG) para el estudio de gammopatías monoclonales.

Cualquiera sea el colorante utilizado, deben tenerse en cuenta dos posibles fuentes de error: la heterogénea captación de colorante por unidad de masa entre las distintas fracciones proteicas y la pérdida de linealidad de la fijación del colorante en relación con la concentración de la proteína.

### 2.1.2. Electroforesis capilar

Todas las proteínas migran a distinta velocidad, en función de su relación carga/masa, hacia un detector que mide la absorbancia del enlace peptídico a 200 o 214 nm; esta absorbancia es proporcional al número de uniones peptídicas. La lectura directa de las fracciones proteicas evita el error por saturación de unión al colorante observado en las técnicas sobre soporte sólido, especialmente para componentes monoclonales (CM) de altas concentraciones.

**Figura 4.** Proteinograma electroforético en soporte de gel de agarosa.

► Calle 14: corresponde a paciente con mieloma múltiple tratado con daratumumab. En el proteinograma, se observa la presencia del componente monoclonal de la patología en fracción  $\beta$ -2 y la presencia del componente monoclonal utilizado para la terapia, con movilidad en zona gamma lenta.

## 2.2. Requisitos analíticos del proteinograma electroforético

La separación electroforética de las proteínas plasmáticas presentes en el suero se considera adecuada para los fines diagnósticos, cuando se cumplen requisitos mínimos de calidad resolutive en el perfil proteico obtenido<sup>9</sup>. Estos incluyen:

- visualización de banda tenue de prealbúmina
- detección de heterocigosis de alfa-1-antitripsina
- desdoblamiento de la zona de beta globulinas en beta-1 y beta-2
- detección de CM de concentración igual o menor que 1 g/L (0,1 g/dl)
- identificación de perfil oligoclonal en la zona gamma

## 2.3. Precisión de medida

Teniendo en cuenta la variabilidad biológica, se han establecido especificaciones de calidad analítica para la imprecisión para las distintas fracciones del proteinograma. Los valores de imprecisión deseables, expresados como coeficientes de variación para las distintas fracciones, son de 1,6 % para la albúmina; 5,7 % para alfa-1-globulinas; 5,2 % para alfa-2-globulinas; 5,1 % para beta globulinas y 7,3 % para gammaglobulinas.

Debido a la complejidad para cumplir las especificaciones deseables en la fracción albúmina, se puede optar por cumplir el requisito de mínima de 2,3 %.

La imprecisión interensayo descrita para los equipos de electroforesis capilar actuales es menor que 2 % para la albúmina y que 7,7 % para el resto de las fracciones. En la electroforesis en gel de agarosa, la imprecisión varía desde el 2,7 % al 8,0 %.<sup>9</sup>

Debido a que las fracciones del proteinograma deben expresarse como concentraciones de masa (g/L o g/dL), es necesario conocer la concentración de proteínas totales. Por lo tanto, la incertidumbre de medida de la concentración de proteínas totales se suma a la asociada a la electroforesis.<sup>10</sup>

Respecto de la cuantificación del CM, a la incertidumbre de su medida contribuyen: la imprecisión de medida de la fracción proteica, la imprecisión del valor de proteínas totales y la imprecisión asociada al acotamiento del CM en el perfil electroforético. En el caso de CM de baja concentración, la delimitación de los puntos de corte es un factor importante de error.

Según datos bibliográficos, la imprecisión oscila entre 11 - 29 % en geles de agarosa y entre 10 - 16 % en electroforesis capilar para CM mayores que 0,1 g/dL (1g/L)<sup>10</sup>. Para minimizar el error debido al acotamiento del CM, es aconsejable realizar el seguimiento siempre de la misma forma.

## 2.4. Valores de referencia

Los valores de referencia de la separación de proteínas en fracciones proteicas varían de acuerdo con la metodología utilizada y la población en estudio. El laboratorio debe disponer y dejar asentados en el informe los valores de referencia específicos discriminando por rango etario.

Si comparamos los rangos de referencia para los dos tipos de métodos electroforéticos mencionados, vemos que existe una buena correlación entre las fracciones, pero se presentan diferencias significativas en la fracción alfa-1-globulinas y, en menor medida, en la fracción albúmina<sup>9,10,11</sup>. Estas diferencias se deben al principio de medida de las proteínas (unión a colorantes o absorbancia a 214 nm).

Para la zona alfa-1-globulinas, la electroforesis capilar pre-

senta valores superiores a los obtenidos por electroforesis sobre soporte sólido. Esto se debe a que la alfa-1-antitripsina es prácticamente la única proteína de la fracción que se une al colorante, ya que la alfa-1-glicoproteína presenta un alto contenido de ácido siálico, que disminuye la afinidad por los colorantes. En el caso de la albúmina, debido a que esta proteína presenta una alta afinidad por el colorante, los resultados obtenidos en gel de agarosa son aproximadamente un 10 % superiores a los obtenidos por capilaridad.

## 3. Aspectos sobre el informe del proteinograma sérico

Se recomienda el siguiente contenido:

- Identificación de la prueba en el informe clínico:  
Título: *Proteinograma sérico*  
Método: Electroforesis en acetato de celulosa/electroforesis en gel de agarosa/electroforesis capilar
- Número de fracciones: Se informarán las fracciones de acuerdo con el sistema empleado:  
-Cinco fracciones: Alb/ $\alpha$ 1/ $\alpha$ 2/ $\beta$ / $\gamma$   
-Seis fracciones: Alb/ $\alpha$ 1/ $\alpha$ 2/ $\beta$ 1/ $\beta$ 2/ $\gamma$
- Unidades: Las fracciones proteicas deben informarse en unidades de concentración. Estas unidades deben ser las mismas que las del dosaje de proteína total. Pueden expresarse en g/L o g/dL. Opcionalmente, puede acompañarse este resultado de los valores porcentuales de cada una de las fracciones.
- Valores de referencia (VR): Deben constar en el informe los VR correspondientes al grupo etario del paciente tanto de los porcentuales como del valor absoluto. Las fuentes de los VR pueden provenir de estimaciones del propio laboratorio, búsqueda bibliográfica (verificada en el laboratorio) o de la otorgada por el fabricante (verificada en el laboratorio).
- Curva densitométrica: Es opcional. No se considera indispensable a los efectos interpretativos, si se respetan los contenidos recomendados.
- Informe interpretativo: Debe proveer información sobre hallazgos relevantes en el proteinograma y sugerir otros estudios, en caso de que se requieran.  
En caso de que ninguna fracción proteica se encuentre alterada, es opcional el comentario global. Se puede informar: *perfil sin particularidades*. En cambio, si alguna de las fracciones se encuentra alterada, se recomienda realizar un comentario descriptivo adjunto al proteinograma.

Ejemplos:

- Hipoalbuminemia
- $\alpha$ 1 marcadamente disminuida
- Hipergammaglobulinemia policlonal
- $\beta$ 2 marcadamente disminuida
- Hipogammaglobulinemia
- Fracciones  $\alpha$ 1 y  $\alpha$ 2 aumentadas

En caso de observarse una banda en zona de gammaglobulinas, se sugiere utilizar el término *banda homogénea* (BH) y se debe describir la movilidad, es decir, si la banda corre en zona rápida, media o lenta de gammaglobulinas. También debe cuantificarse la banda homogénea en estudio; utilizarse las mismas

**Tabla I.** Casos asociados a oligoclonalidad.**Infecciones agudas o crónicas recurrentes**

- Hepatitis
- HIV-SIDA
- Enfermedades por depósito de complejo inmune circulante
- Enfermedades autoinmunes
- Neoplasias
- Síndrome de Guillain-Barré
- Neuropatía periférica
- Trasplantes

unidades que para las distintas fracciones proteicas; aclarar por qué método se realizó la cuantificación (tangencial/a línea de base) y sugerir estudios complementarios necesarios. Cabe aclarar que la cuantificación de la banda homogénea debe realizarse siempre por el mismo método.

Se desaconseja fuertemente utilizar terminología ambigua para describir la banda anómala, tal como *restricción electroforética, condensación, distorsión, componente M, proteína M, banda monoclonal*. A continuación, presentamos un ejemplo de informe adecuado:

*Se observa banda homogénea en zona (rápida/media/lenta) de  $\gamma$  globulinas. Medida de la banda por (método tangencial/a línea de base): xx,x g/dl (g/l). Se sugiere completar su estudio por inmunofijación sérica, cuantificación de inmunoglobulinas totales y de cadenas livianas libres (CLL) en suero; así como también estudios en orina de 24 horas (electroforesis e inmunofijación).*

**4. Aspectos sobre oligoclonalidad**

Las disgamaglobulinemias oligoclonales pueden confundirse con las gammapatías monoclonales.<sup>12</sup>

La presencia de esta patente suele estar relacionada con complejos inmunes circulantes contra antígenos extraños, am-

bientales o autoantígenos. La oligoclonalidad se observa principalmente en infecciones crónicas, enfermedades autoinmunes, enfermedades por inmunocomplejos, hepatitis crónicas, algunos estadios de pacientes VIH positivos, en trasplantes o en tratamiento con quimioterapia de inducción en pacientes con mieloma múltiple (Tabla I).<sup>12,13</sup>

La oligoclonalidad es una patente proteica que, en el proteinograma, tiene dos formas de presentación: como varias bandas o como una zona de mayor condensación en la región de gammaglobulinas.

La importancia de diferenciar la patente oligoclonal de la monoclonal radica en el hecho de que una confusión entre ambas se traduce en tratamientos completamente distintos. Por ello, es sumamente importante tener conocimiento de la presentación clínica, del diagnóstico presuntivo y de otros parámetros bioquímicos del paciente en estudio.<sup>14</sup>

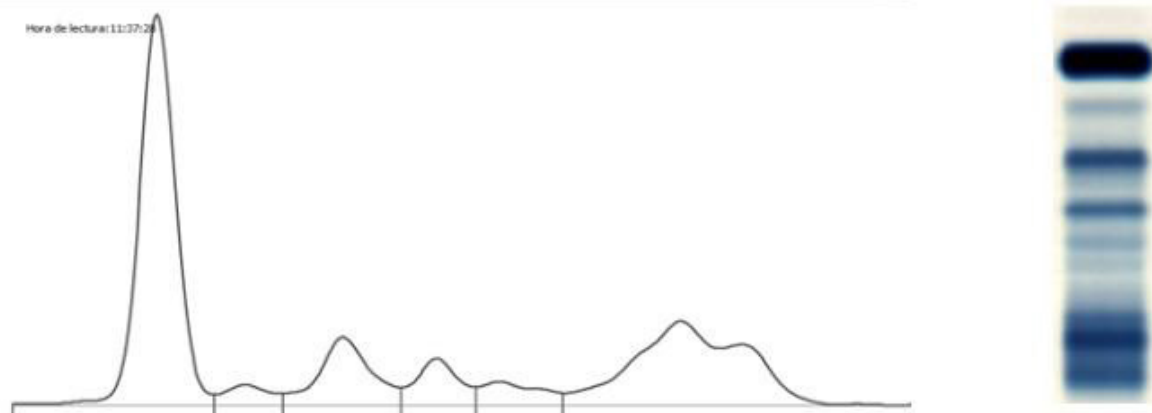
Frente a la sospecha de una patente oligoclonal en el proteinograma electroforético, se podría completar el estudio cuantificando las inmunoglobulinas (por turbidimetría y/o nefelometría), realizar inmunofijación para descartar monoclonalidad (en el caso en que la imagen presente dudas) y, además, observar si hay presencia de crioglobulinas en el suero. En la inmunofijación sérica, se verá reacción con uno o varios de los antiseros anticadenas pesadas y livianas. También es aconsejable tener una alícuota del suero congelada para evaluar y comparar posteriores corridas electroforéticas y observar presencia o ausencia de alguna de las bandas.

Adicionalmente, se recomienda sugerir el estudio por inmunofijación y el control periódico para observar la evolución de la respuesta inmune expresada por la patente oligoclonal.

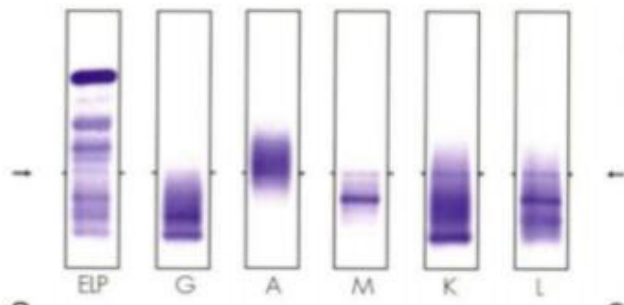
El control periódico de los pacientes que presentan una disgamaglobulinemia debe realizarse con las mismas metodologías para que los resultados sean comparables.<sup>12-14</sup>

**4a) Informe de la oligoclonalidad en el proteinograma**

Se sugiere informar de la siguiente manera: *Se observa región de gammaglobulinas con características oligoclonales. Se sugiere control periódico.* (Figura 5)

**Figura 5.** Proteinograma electroforético en soporte líquido (izq.) y en gel de agarosa (der.)

► Izquierda: paciente pediátrico. Derecha: paciente adulto. En ambos se observa zona gamma con patente oligoclonal.

**Figura 6.** Inmunofijación en suero.

► Se observa presencia de patente oligoclonal correspondiente a componentes de los isotipo IgM lambda, IgG lambda e IgG kappa.

#### 4 b) Informe de la oligoclonalidad en la inmunofijación

Se sugiere informar: *Inmunofijación compatible con características oligoclonales* y de forma opcional, describir calle por calle y luego, escribir un comentario final. (Figura 6)

#### 4c) Oligoclonalidad post - trasplante autólogo de médula ósea (TAMO) en pacientes con mieloma múltiple (MM).

La presencia de bandas oligoclonales (BO) dificulta el monitoreo de la concentración del componente monoclonal (CM) del paciente con MM sometido a TAMO. Suele observarse en la evolución que, frente a la desaparición de las BO, los pacientes recuperan los niveles de inmunoglobulinas policlonales, con ausencia del componente monoclonal original confirmada por inmunofijación.<sup>15</sup>

También es importante remarcar si se observa el componente monoclonal original o no, ya que ayuda en el seguimiento del paciente.

En la electroforesis, el registro de la localización del componente homogéneo original resulta fundamental, ya que facilita el reconocimiento de bandas oligoclonales en el postrasplante de médula ósea. El hecho de reconocer que la ubicación de la nueva banda es diferente de la banda monoclonal original, a pesar de que la banda oligoclonal sea del mismo isotipo que el componente monoclonal original, permite determinar que representa una inmunoglobulina benigna y regenerativa en lugar de una recurrencia o persistencia de un clon maligno (Figura 7).<sup>16</sup>

Además, se ha visto que en los pacientes que presentaron bandas oligoclonales en su evolución, el tiempo de supervivencia global observado fue significativamente más prolongado, por lo que se lo ha considerado un marcador pronóstico favorable. De allí, la importancia de su descripción en el proteinograma y la necesidad de comunicarlo en el informe.<sup>17</sup>

Por otro lado, en presencia de valores aumentados de la zona de  $\gamma$ -globulina del proteinograma electroforético con BO, puede ser observada una relación de cadenas livianas libres anormal, lo que dificulta la valoración de una respuesta completa estricta. Es por ello que su seguimiento cercano es esencial debido a la dificultad adicional en la interpretación de los estudios proteicos, cuando se evalúa la respuesta terapéutica y la evolución.<sup>18</sup>

## 5. Aspectos sobre el análisis del componente monoclonal

### 5.1. Cuantificación del CM<sup>2,19-22</sup>

Ante la presencia de una banda homogénea en el proteinograma, se debe registrar su movilidad y cuantificarla por medida directa del perfil electroforético (densitometría para electroforesis sobre soporte sólido o espectrofotometría para electroforesis capilar).

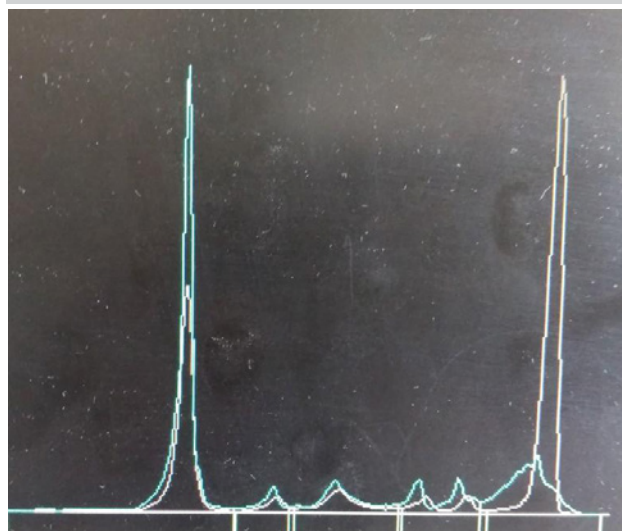
Desde hace décadas, y hasta el día de la fecha, se usa la demarcación perpendicular de pico a línea de base, a pesar de ser un método subjetivo, dependiente del operador y sujeto a la sobreestimación por las inmunoglobulinas presentes en el fondo policlonal.

La cuantificación del pico monoclonal presenta diversas fuentes de error, que deben ser tenidas en cuenta y que varían de acuerdo con la técnica utilizada y su movilidad electroforética. Se presentan dificultades en la medida del CM en:

- zona gamma sobre fondo policlonal
- zona no gamma
- presencia de CM polimerizados
- CM con patrón de migración ancho
- subestimación del CM por saturación del colorante para electroforesis en soporte sólido

Las diferentes estrategias para optimizar la medida del CM van desde modificar la delimitación del pico hasta incluir otras metodologías que permitan la exclusión de las inmunoglobulinas policlonales y de otras proteínas normales presentes en esa fracción, a saber:

- Medida inmunoquímica de la inmunoglobulina involucrada por inmunonefelometría o inmunoturbidimetría, información que reemplaza o complementa la medida del CM.
- Uso del método tangencial para delimitar el CM, que excluye el fondo policlonal. Hasta ahora, esta opción se usa solo para zona gamma.

**Figura 7.** Superposición de corridas electroforéticas.

► Se observa la superposición de una corrida con componente monoclonal original (amarillo) y corrida posterior a TAMO (trasplante autólogo de médula ósea) con múltiples bandas homogéneas (celeste).

- En el caso de trabajar con electroforesis capilar, se puede recurrir a la inmunosustracción para seleccionar una zona de interés en la región beta de modo que se excluyan así otras proteínas presentes en esa fracción.

En todos los casos, se hace imprescindible aclarar la metodología utilizada para demarcar el pico de proteína monoclonal y se debe recomendar hacer seguimiento con el mismo método.

#### 5.1.1. Cuantificación de CM en zona no gamma<sup>2,19-22</sup>

##### 5.1.1.1 Limitaciones para la cuantificación de pico

En diferentes situaciones donde la cuantificación del CM es compleja (por su baja concentración, por estar superpuesto con otras proteínas o por no observarse una clara individualización dentro de un perfil oligoclonal), cada laboratorio decide reportar el CM de forma cuali o cuantitativa. En caso de no realizar la cuantificación, es recomendable aclarar la causa y, eventualmente, sugerir estudios complementarios.

La cuantificación y seguimiento de un CM en zona alfa, beta o beta - gamma, representan un desafío para el laboratorio de proteínas. Frecuentemente, corresponden a CM de tipo IgA, aunque, ocasionalmente, otros isotipos migran también en zona no gamma.

Mientras que la cuantificación del CM por delimitación de pico sobreestima por la presencia de proteínas que migran conjuntamente en dicha zona (ej. Transferrina, C3), la cuantificación por inmunoquímica mide el total de inmunoglobulina (monoclonal + policlonal). Tanto la nefelometría como la turbidimetría sobreestiman para todos los isotipos, pero presentan, en general, buena concordancia para IgA. Para CM a IgG mayor que 3,0 g/dl, se produce subestimación de pico por saturación de colorante. En el caso de IgM, la discordancia es mayor: usualmente, IgM por inmunoquímica es 1,8 veces mayor que el valor de pico. Por lo expuesto, los resultados por ambas metodologías no son intercambiables y debe consignarse en el informe cuál se utilizó.

Teniendo en cuenta las limitaciones de cada técnica, se proponen diferentes alternativas:

- Cuantificación inmunoquímica de la inmunoglobulina comprometida. En el año 2014, el IMWG recomienda el monitoreo de CM IgA que migran en zona beta por medida de IgA total en vez de delimitación de pico. El dosaje de *Heavy Light Chain* (HLC) es un método que permite cuantificar por separado los diferentes tipos de cadenas ligeras de cada clase de inmunoglobulina (por ejemplo, se mide el par IgA kappa e IgA lambda para los frecuentes CM de tipo IgA en zona beta) y surge como una alternativa al dosaje de IgA total.
- Separación electroforética por EC, seguida de inmunosustracción (que identifica así proteínas que migran conjuntamente con el componente monoclonal).
- Cuantificación inmunoquímica de la inmunoglobulina comprometida, simultáneamente con densitometría de pico. Varios factores dificultan dar recomendaciones universales: ausencia de consenso en el ámbito internacional, diferente disponibilidad de técnicas analíticas (CE, HLC, inmunosustracción) y un formato establecido a lo largo del tiempo para comunicar resultados al médico hematólogo.

Sin embargo, la delimitación de pico junto con la determinación de la inmunoglobulina comprometida parecería la mejor opción para el monitoreo de pacientes con gammopatías monoclonales.

En el caso de que el laboratorio opte por cuantificar pico en zona no gamma, debe tener presente lo siguiente:

- Cuando la fracción no gamma que contiene al CM presenta un valor normal, no es posible su cuantificación y se debe recurrir al método inmunoquímico. A continuación, presentamos un ejemplo de cómo podría informarse adecuadamente: *Se observa banda homogénea en zona beta-2 no cuantificable por delimitación de pico.*
- Cuando la fracción no gamma que contiene al CM supera el valor de referencia, se recomienda informar como valor aproximado. Se recurre habitualmente a dos tipos de aproximaciones: restar al CM el valor promedio de la concentración de proteínas de la fracción donde se encuentra o informar concentración total de alfa/beta + CM, por ejemplo, de la siguiente manera: *Se observa banda homogénea en zona beta-2 con una concentración estimada de x g/dl [o g/L].*
- Cuando el CM se presenta entre dos fracciones proteicas, por ejemplo, entre alfa-1 y alfa-2, entre beta-1 y beta-2 o en beta-2-gamma, también se reporta su cuantificación como valor aproximado, por estar parcialmente solapado con una o más fracciones del perfil electroforético. La elección de un método u otro dependerá de cada laboratorio, pero es importante respetar el mismo criterio de cuantificación para un correcto seguimiento a lo largo del tiempo. Conocer las limitaciones de las técnicas utilizadas permite elegir la mejor estrategia de seguimiento.

#### 5.2. Límite de cuantificación<sup>23-27</sup>

El límite de cuantificación del CM está en el orden de 1 g/L (0,1 g/dL). Dependerá de la zona de migración, del isotipo de inmunoglobulina, del fondo de inmunoglobulinas policlonales, del soporte e instrumento utilizado, del conocimiento de datos previos del paciente y de la experiencia del observador. Componentes que están por debajo de este valor no pueden ser cuantificados de forma confiable, especialmente si hay un fondo policlonal, y debería informarse cada uno como *menor que 1 g/L (0,1 g/dL)*.

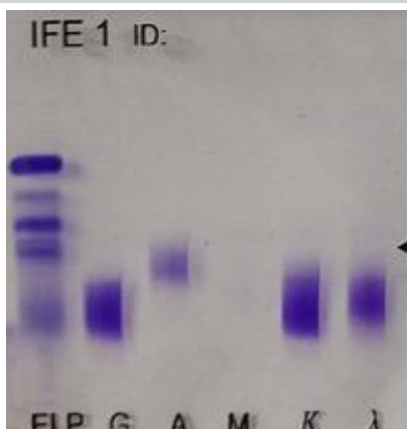
### 6. Aspectos sobre inmunofijación

#### 6.1. Aspectos sobre inmunofijación sérica<sup>19,22,28-30</sup>

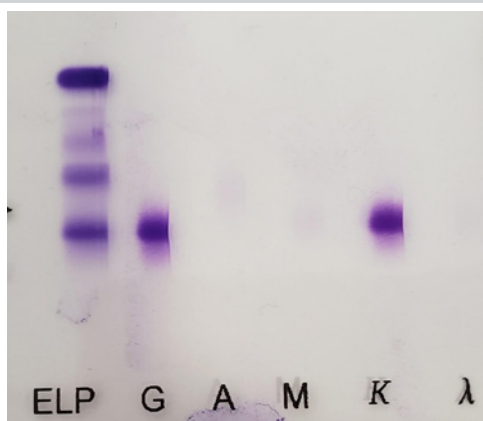
La observación de una banda homogénea (BH) en el proteinograma electroforético (PES) requiere ser verificada. Es por ello por lo que en estas recomendaciones se incluye una breve descripción de los dos métodos necesarios para confirmar su presencia.

Para la caracterización de la BH, contamos con dos técnicas: la inmunofijación sobre soporte sólido y la inmunosustracción o *immunotyping* en medio líquido.

- La inmunofijación (IF) es una electroforesis de zona seguida de una inmunoprecipitación con anticuerpos monoespecíficos para cadenas pesadas (G, A, M) y cadenas

**Figura 8.** Inmunofijación en suero.

► Se observa patrón policlonal.

**Figura 9.** Inmunofijación en suero.

► Se observa componente monoclonal correspondiente a IgG kappa.

livianas ( $\kappa$  y  $\lambda$ ), con posterior coloración del complejo Ag-Ac precipitado con negro amido o violeta ácido (este último es más sensible). Las muestras se diluyen para enfrentarse con los antisueros según las indicaciones del fabricante de los reactivos utilizados. De ser posible, hay que realizar previamente el dosaje de las inmunoglobulinas por si fuera necesario hacer una mayor dilución en alguna de las calles.

La IF es la técnica más utilizada en la actualidad y la recomendada por el Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma Múltiple (IMWG, por sus siglas en inglés) para la tipificación del componente monoclonal en el diagnóstico y seguimiento de las patologías linfoproliferativas.

La inmunosustracción consiste en la tipificación del componente monoclonal por electroforesis capilar (EC) utilizando anticuerpos monoespecíficos. Se realiza el PES del paciente y se observa su perfil proteico. Seguidamente, se mezcla en un equipo automatizado la muestra con cada uno de los anticuerpos contra cadenas pesadas (G, A, M,) y cadenas livianas ( $\kappa$  y  $\lambda$ ) y se procesa como 5 muestras independientes. Se superpone cada perfil de las 5 mezclas con los antisueros con la curva del PES tomada como patrón. Se observa la disminución o desaparición del pico monoclonal en el perfil de la mezcla con algún antisuero y así se tipifica el CM.

#### 6.2. Límite de detección

El límite de detección en inmunofijación varía de 0,12 a 0,25 g/L y para inmunosustracción, es de 0,25 g/L. Para ambas técnicas, puede variar según la posición del pico y el fondo policlonal. Para la IF, también depende del colorante utilizado.

#### 6.3. Utilidad de la inmunofijación

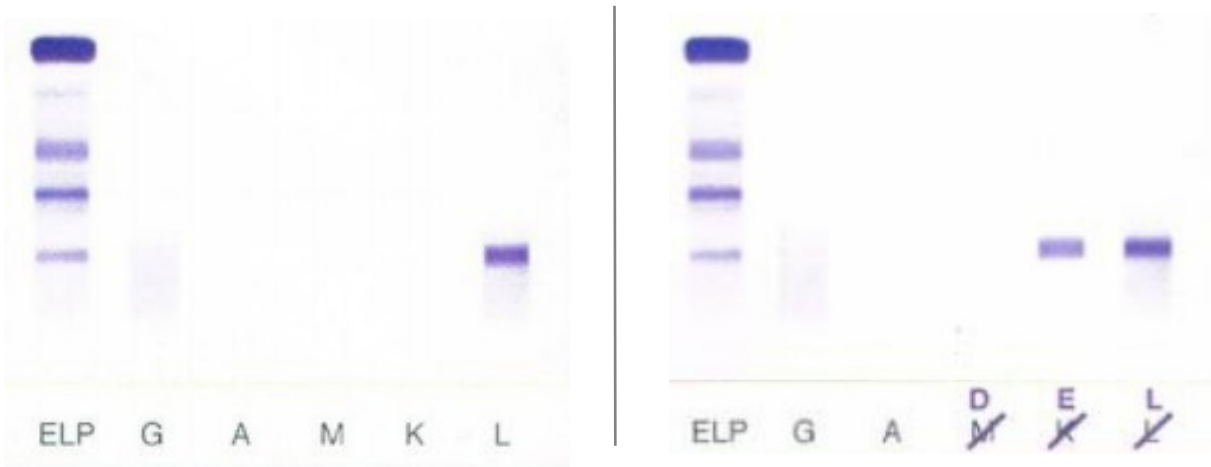
La inmunofijación es de utilidad ante:

- la presencia de una banda homogénea en el PES
- presencia de hipogammaglobulinemia sin causa que la justifique
- sospecha de CM en las fracciones alfa 2 y beta
- cambio de movilidad del CM en el PES
- desaparición del CM en el PES
- y como criterio para evaluar remisión completa.

#### 6.4. Interpretación en informe

Se deben observar las seis calles de la IF: la primera representa el PES y las siguientes, el enfrentamiento con los distintos antisueros monoespecíficos.

- La precipitación difusa y tenue en todas las calles indica una muestra normal. Se informa como *patrón compatible con perfil policlonal* (Figura 8).
- La presencia de precipitado en alguna de las calles, que involucra una cadena pesada (G; A; M), y un precipitado de la misma movilidad en alguna de las calles, que involucra las cadenas livianas (kappa o lambda), indican la presencia de una banda monoclonal. Es importante remarcar que los dos precipitados deben tener la misma movilidad que la BH observada en la primera calle. Se debe informar tanto la cadena pesada como liviana involucradas (Figura 9).
- La presencia de precipitado en alguna de las calles de cadenas livianas y no en cadenas pesadas puede deberse a una gammapatía IgD o IgE y se debe confirmar utilizando antisueros anti - D y E para descartar la presencia de estas cadenas pesadas; o puede deberse a la presencia de una cadena ligera libre, que se deberá confirmar con los antisueros específicos anticadenas ligeras libres kappa o lambda (Figura 10).
- Si se observan dos bandas en la zona correspondiente a las cadenas pesadas (iguales o diferentes) y dos bandas correspondientes a las cadenas livianas (iguales o diferentes), estamos en presencia de una biclonalidad, siempre dentro de un contexto clínico que lo confirme (Figura 11).
- Si se observan múltiples bandas en una o varias cadenas pesadas y en una o en las dos cadenas ligeras, se está en presencia de un patrón oligoclonal.
- La presencia de varias bandas en una misma cadena pesada y una misma cadena liviana podría deberse a inmunoglobulinas polimerizadas, las cuales deberían tratarse con  $\beta$ -mercaptoetanol (u otro agente despolimerizante) y volver a realizar la IF.

**Figura 10.** Inmunofijación correspondiente a un mieloma IgE lambda.

- Izquierda, primera inmunofijación: se observa banda monoclonal correspondiente a lambda, por lo tanto, se debe descartar una gammapatía monoclonal IgD o IgE y por ello se realiza una segunda inmunofijación probando los antisueros anti-D y anti-E.  
Derecha, segunda inmunofijación: se observa banda monoclonal correspondiente a IgE lambda.

### Resumen

En el informe debe constar:

- Presencia o ausencia de CM.
- Si hay CM, la cadena pesada y liviana involucrada por ejemplo.: IgGκ
- Si solo hay precipitado de cadena liviana, se debe aclarar si se enfrentó con antisueros para cadenas pesadas D y E.

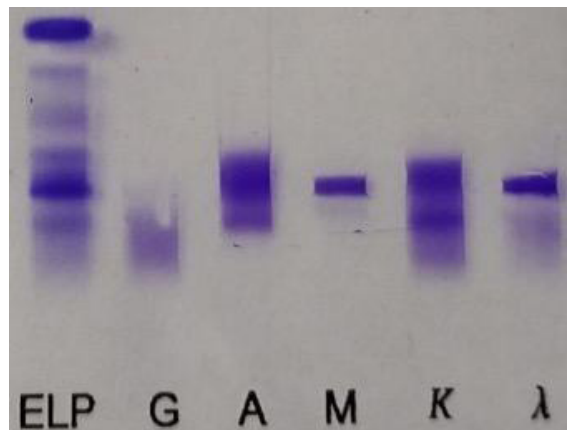
Además, se deberían incluir recomendaciones acerca de la necesidad de realizar estudios de mayor sensibilidad para la detección de cadenas livianas como la inmunofijación en orina o dosaje de cadenas livianas libres en suero en aquellos casos de componentes de muy baja concentración.

### Interferencias y limitaciones

- Crioglobulinas: puede aparecer una banda en todas las calles en el punto de siembra.
- Fibrinógeno: aparece como una banda en la calle del PES que no correlaciona con ninguna banda en el resto de las calles (Figura 3).
- Con fondo policlonal marcado, se debe realizar una mayor dilución de la muestra.

### Discusión

El PES es el punto de partida para el *screening* de numerosas patologías y juega un rol fundamental en el estudio de las gammapatías monoclonales. Permite diferenciar entre inmunoglobulinas monoclonales y policlonales y también, cuantificar por medida directa del perfil proteico el pico monoclonal (dato indispensable para el diagnóstico y seguimiento), pero presenta una sensibilidad limitada en la investigación de gammapatías oligosecretoras o de cadenas livianas libres monoclonales. Por ejemplo, el PES permite visualizar el CM en aproximadamente el 80 % de los casos de MM; un 10 % restante presentará hipogammaglobuline-

**Figura 11.** Patrón biclonal: IgM lambda - IgA kappa.

mia (por presencia de CLL en orina) y otro 10 % presentará un perfil normal o dudoso (patrón de migración ancho o aumento de zona beta-1, beta-2 o alfa-2). En todos los casos, se debe verificar la clonalidad a través de un método inmunoelectroforético.<sup>31</sup>

Luego, a través de la IF o inmunosustracción se establecen los isotipos de cadena pesada y/o ligera de inmunoglobulina. Debido a que estas técnicas inmunoelectroforéticas son aproximadamente diez veces más sensibles que el PES, es posible, en numerosas situaciones, no observar el CM por electroforesis, pero sí, por IF o inmunosustracción.

A su vez, las determinaciones cuantitativas de inmunoglobulinas pueden ayudar en la detección de proteínas monoclonales y complementar algunas de las debilidades de las técnicas electroforéticas (por ejemplo, la dificultad en la cuantificación del CM que migra en zona no gamma).

La determinación de CLL permite evaluar gammapatías

oligosecretoras o no secretoras y tiene también utilidad pronóstica en casos de CM mensurable. Este inmunoensayo automatizado para turbidimetría y nefelometría determina cadenas livianas kappa y lambda libres, no unidas a la cadena pesada. Cuantifica tanto las cadenas monoclonales como las policlonales, y la relación kappa/lambda fuera de su rango de referencia es un indicador de proliferación monoclonal.

Se ha demostrado que la prueba de CLL tiene importancia clínica para la detección, la estratificación del riesgo, el seguimiento y la evaluación de la respuesta. Las CLL son útiles para diagnóstico en *smoldering* mieloma múltiple (SMM) de alto riesgo, mieloma a cadena liviana, amiloidosis y mielomas no secretores. Presentan valor pronóstico en gammapatía monoclonal de significado incierto, SMM, MM y plasmocitoma. Se utilizan para monitoreo en mieloma a cadenas livianas, amiloidosis, mielomas no secretores, escape de CLL y para establecer respuesta completa estricta.

Para aumentar la sensibilidad diagnóstica en la búsqueda del CM, es necesaria la determinación simultánea o secuencial de diferentes técnicas, tales como PES, IF y CLL en suero y PE e IF en orina de 24 h. Debido a que ningún ensayo individual puede diagnosticar y monitorear de manera efectiva todas las enfermedades proliferativas de células plasmáticas, el laboratorio necesita definir estrategias que abarquen el espectro de presentaciones de la enfermedad. Por otra parte, se ha demostrado que diferentes enfoques de detección (paneles simplificados) pueden ser efectivos para diferentes trastornos de células plasmáticas.<sup>32</sup>

El Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma Múltiple ha definido paneles de *screening* para el estudio de GM que comprenden estudios en suero y en orina de 24 h. Recomiendan realizar proteinograma electroforético junto con inmunofijación sérica y CLL séricas, al momento del diagnóstico. En caso de sospecha de amiloidosis, sugieren incorporar también uroproteinograma e inmunofijación urinaria y, en el caso de confirmarse la presencia de GM, estudiar simultáneamente sangre y orina en los controles sucesivos.<sup>33,34</sup>

## Conclusión

El PES constituye una herramienta fundamental en el estudio de las disproteinemias. Para que el informe de resultados sea interpretativo y no meramente descriptivo, deben conocerse los diferentes perfiles proteicos y su implicancia clínica junto con las posibles interferencias que puedan presentarse y los estudios complementarios a sugerir.

Cuando se respeta una estrategia de trabajo adecuada y los resultados obtenidos son volcados a un informe de una manera consensuada o armónica, se evitan repeticiones innecesarias de estudios y/o demoras en el diagnóstico de la enfermedad. A su vez, el comentario en un resultado de laboratorio mejora considerablemente la interpretación del mismo, en numerosos casos; los resultados inesperados debido a una interferencia; los hallazgos particulares descubiertos por el laboratorio; etc.. Particularmente en las gammapatías monoclonales, la claridad

en la transmisión de resultados permite una ágil ampliación de la solicitud original al incluir pruebas más específicas.

## Agradecimientos y dedicatoria especial

Agradecemos a las autoridades de la ABA por su apoyo incondicional para el desarrollo de las reuniones a lo largo de todos estos años, y hacemos una dedicatoria especial a la memoria de la Dra. Raquel Osatinsky, mujer extraordinaria, de un enorme compromiso con la profesión y la docencia, consultora y referente del Foro de Proteínas desde sus inicios y gran impulsora de nuevos proyectos, quien supo transmitirnos su pasión por el estudio de las proteínas. Sus enseñanzas perduran en todos aquellos que hemos tenido el placer de conocerla y su ejemplo de compromiso, generosidad y espíritu de grupo nos obliga a continuar la tarea emprendida.

## Referencias bibliográficas

- Rajkumar S, Dimopoulos M, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):538-4.
- Tate J, Caldwell G, Daly J, Gillis D, Jenkins M, Jovanovich S, et al. Working Party on Standardised Reporting of Protein Electrophoresis. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem*. 2012;49(Pt 3):242-56
- Bootha R, McCudden C, Balionb C, Blasutigc I, Byouhtiauyd I, Rodriguez-Capotee K, et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem*. 2018;51:10-20.
- Acastello NE, Arco SE, Baquío MI, Bovone NS, Crispiani IA, De Marco B, et al. State of the art in the protein study field. Results of the survey carried out by the protein forum from October 2018 to March 2019 in Argentina. *ByPC; sep-dic 2021; 85(3):26-31//ISSN-e 2684-0359*
- Pérez Surribas D, Cárdenas Fernández MC, Zapico Muñoz E. Recomendaciones sobre la separación electroforética de las proteínas plasmáticas en el suero. *Documentos de la SEQC 2015; 91-104*.
- World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. [2002]. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>
- Carballo L, Carballeira L, Calvo M, Rentería YM, García-Moll X, Martínez-Bru C. Interferencias por contrastes yodados en la electroforesis capilar. *Rev Lab Clin*. 2010;3:129-35.
- Aguzzi F, Allen W, Bienvenu J, Craig WY, Davis AE, Guder W. et al. *Serum Proteins in Clinical Medicine. Volume I. Laboratory Section*. 1.ª ed. Scarborough: Robert F. Ritchie, M.D.; 1996.
- Doménech MV, Hernández A, Ricós C, Minchinela J et al. Variación biológica en patologías: revisión de datos y consecuencias clínicas. *Rev Lab Clin* 2008;1:17-23.
- Gella FJ, Canalías F, Izquierdo S, Martínez V, Sánchez. M. Recomendaciones para la estimación de la incertidumbre de medida en el laboratorio clínico. *Documentos de la SEQC*. 2009;27-9.
- Luraschi P, Infusino I, Merlotti C, Franzini C. Analytical variation in the measurement of serum monoclonal component by capillary electrophoresis. *Clin Chim Acta*. 2004;349(1-2):151-6.
- Osatinsky R. *Las proteínas Séricas*. 1.ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ed Emma Fiorentino Publicaciones Técnicas S.R.L.; 2012. 97 p.
- Osatinsky R, Desimone IV, Garnek L. Incidencia de patente oligoclonal en población adulta aparentemente sana. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2004;51(2):90-92.
- Osatinsky R, Desimone I, Garnek L. Importancia de la diferenciación de patentes poli, oligo y monoclonales: su valor diagnóstico. *Rev. Mexicana de Patología Clínica*. 2004;51:167-170.