

# Verschillen tussen capillaire en gel electroforese

Joke Boonstra  
Corrie de Kat Angelino  
Janneke Ruinemans-Koerts  
Ina Klasen

13 oktober 2009





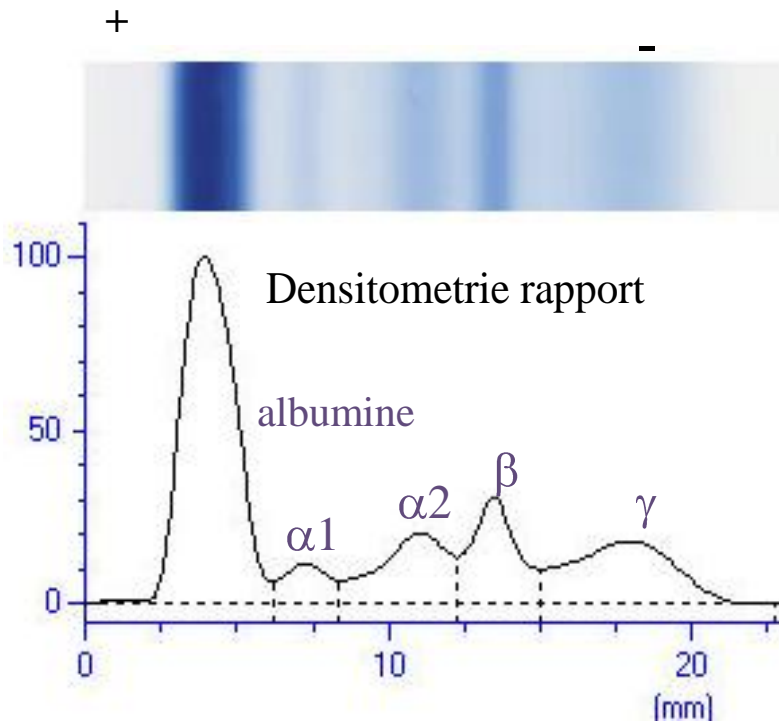
# M-Proteïne diagnostiek

## Technieken

- Gel electroforese (AGE)
  - Principe / Beoordeling
- Capillaire electroforese (CE)
  - Principe
  - Werking
  - Beoordeling
- Onderzoek vergelijking AGE - CE

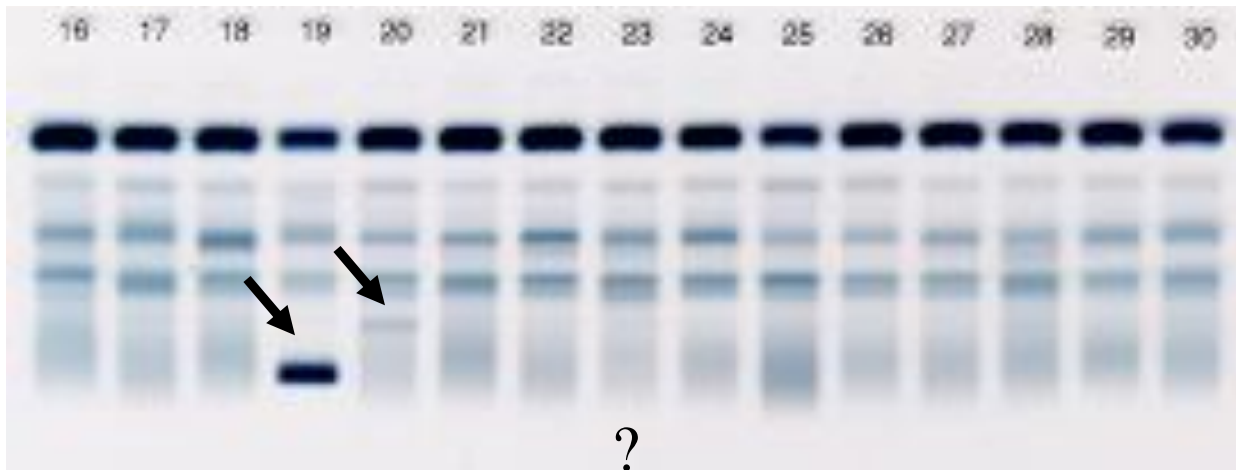
# Gel-elektroforese

Elektroforese gel



<b>Fractie</b>	<b>%</b>	<b>g/l</b>
Albumine	51,1	38,3
Alpha 1	4,8	3,6
Alpha 2	13,1	9,8
Beta	13,2	9,9
Gamma	17,8	13,4
Totaal eiwit		75

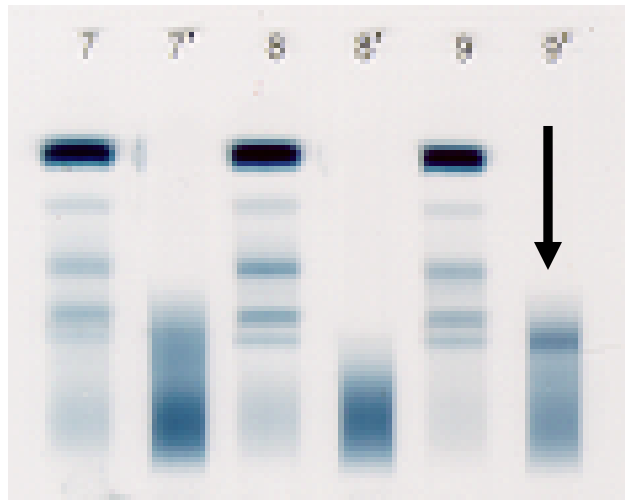
# Gel-elektroforese eiwitspectrum



# Gel-elektroforese

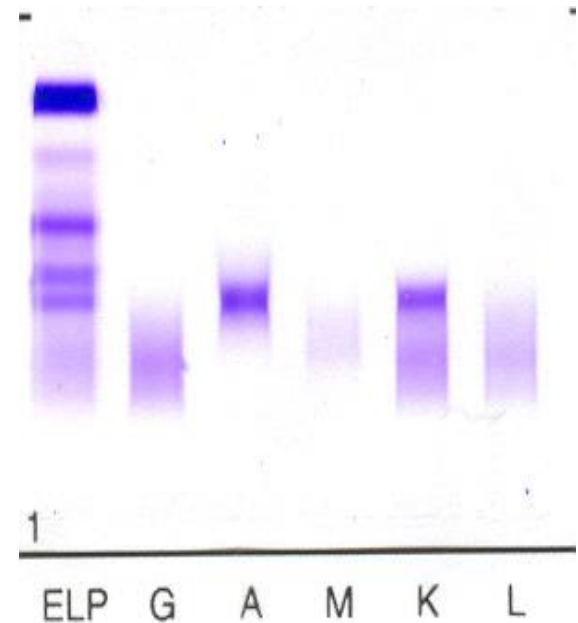
screening pentavalent

typering



Pentavalent antiserum

- anti GAM $\kappa\lambda$



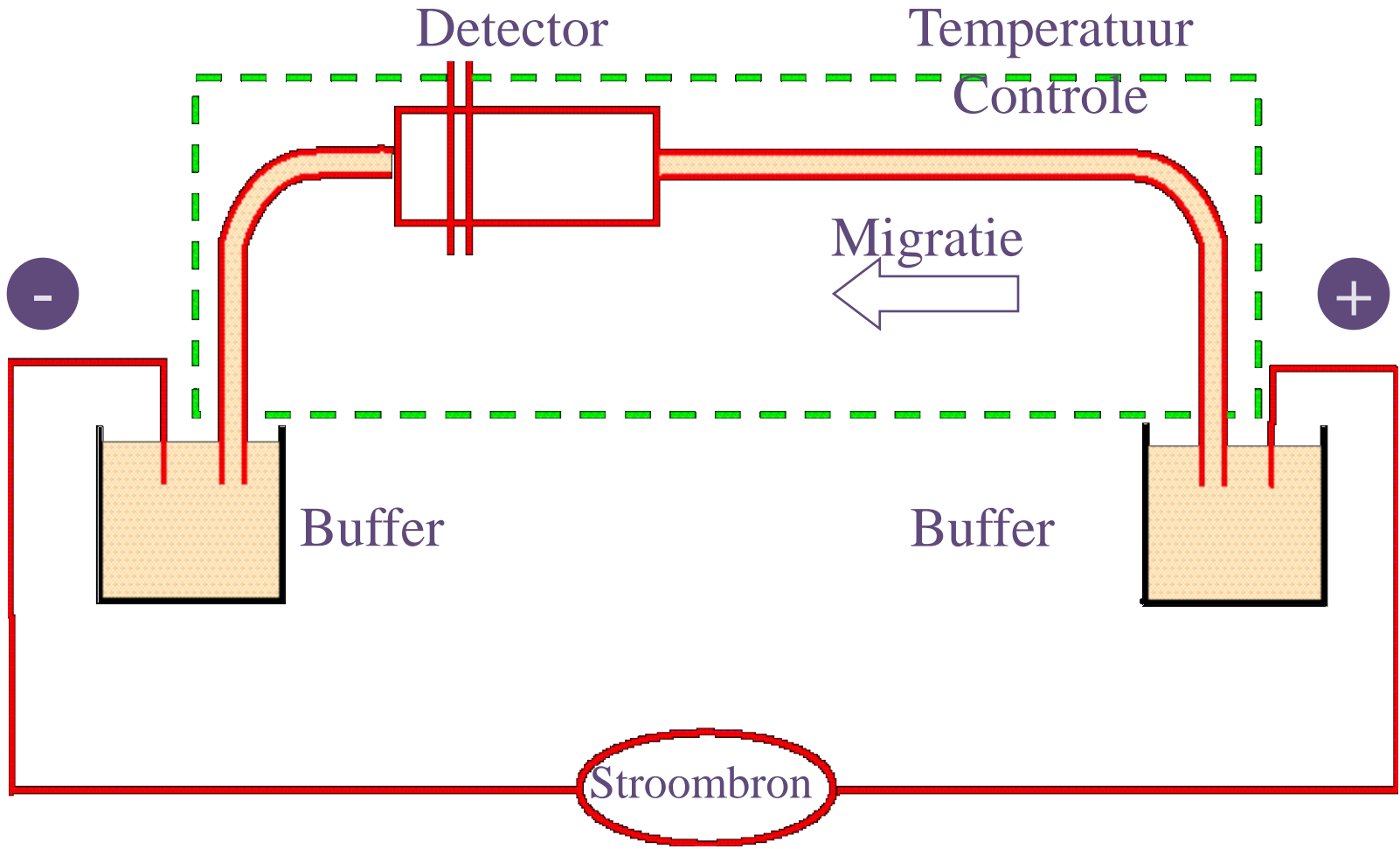
Immunofixatie

# Capillaire electroforese

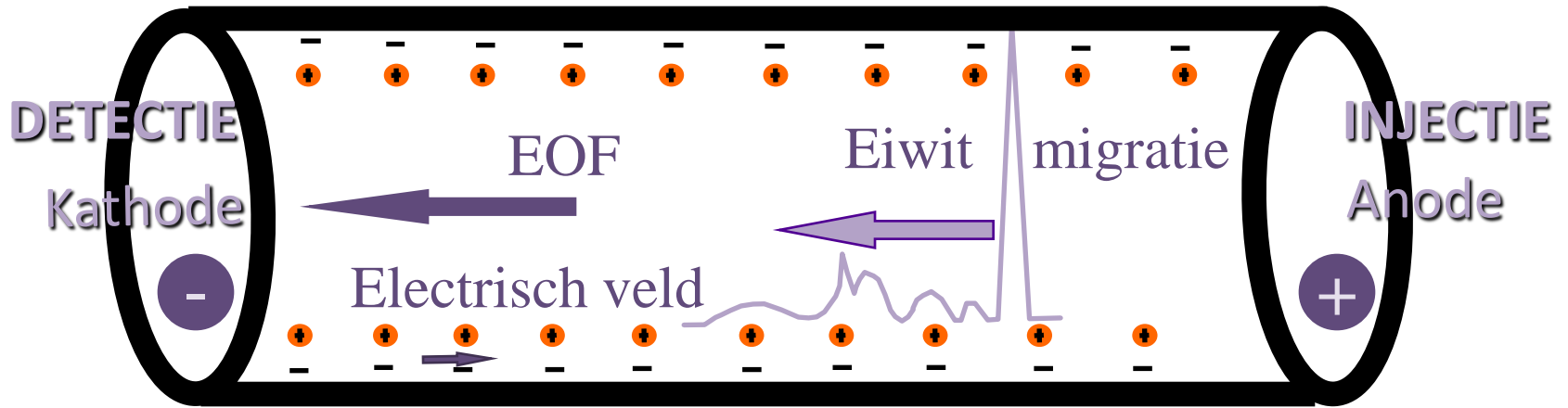
De techniek: gebaseerd op elektrokinetische scheiding in capillair gevuld met een elektrolyet.



# Capillair electroforese Principe



# Capillaire elektroforese Principe



+ Positieve lading buffer

- Negatieve lading capillaire wand

De Electro-Osmotische Flow (EOF) is sterkere kracht dan het elektrisch veld.



Resultaat: alle eiwitten naar de kathodische kant van capillair.

# Capillaire electroforese

De combinatie van:

- Diameter < 100  $\mu\text{m}$
- Hoog voltage (7700 volts)
- Temperatuurscontrole

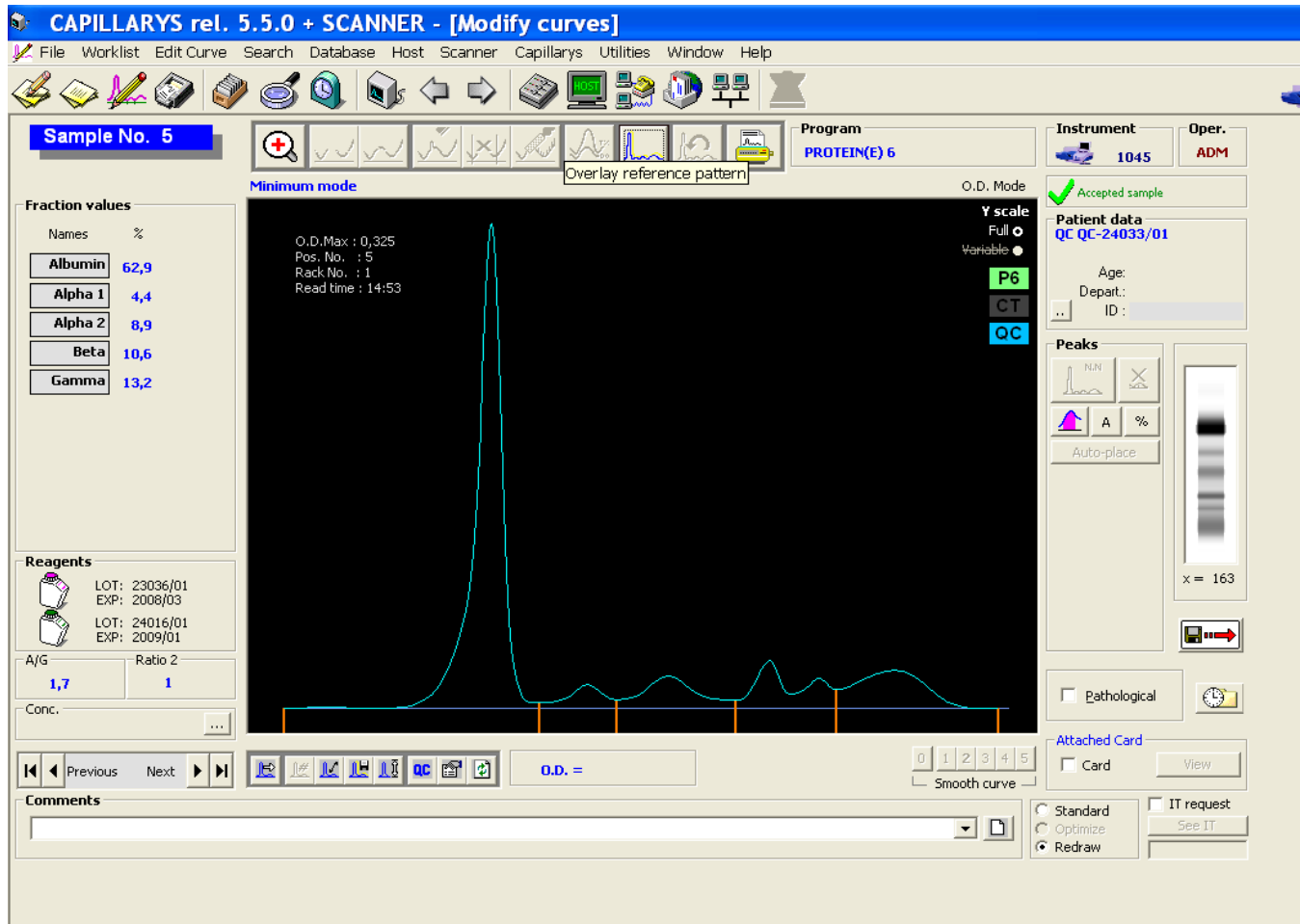
Resultaat:

- Snelle, efficiënte scheiding van eiwitten
- Reproduceerbaar
- Een goede resolutie

# Capillaire elektroforese (Capillarys2)

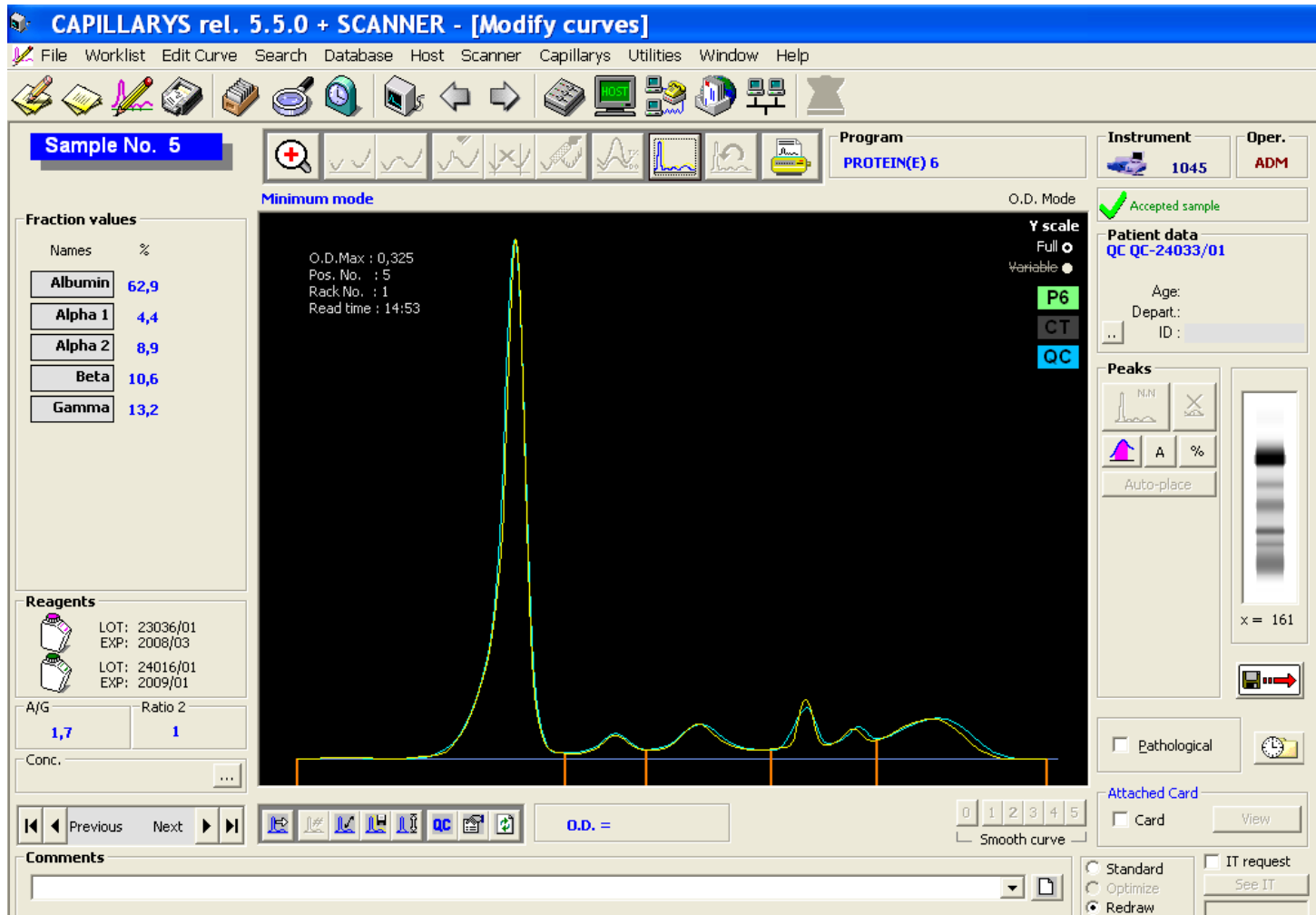
## Beoordeling

### Eiwitspectrum met proteïne 6 kit



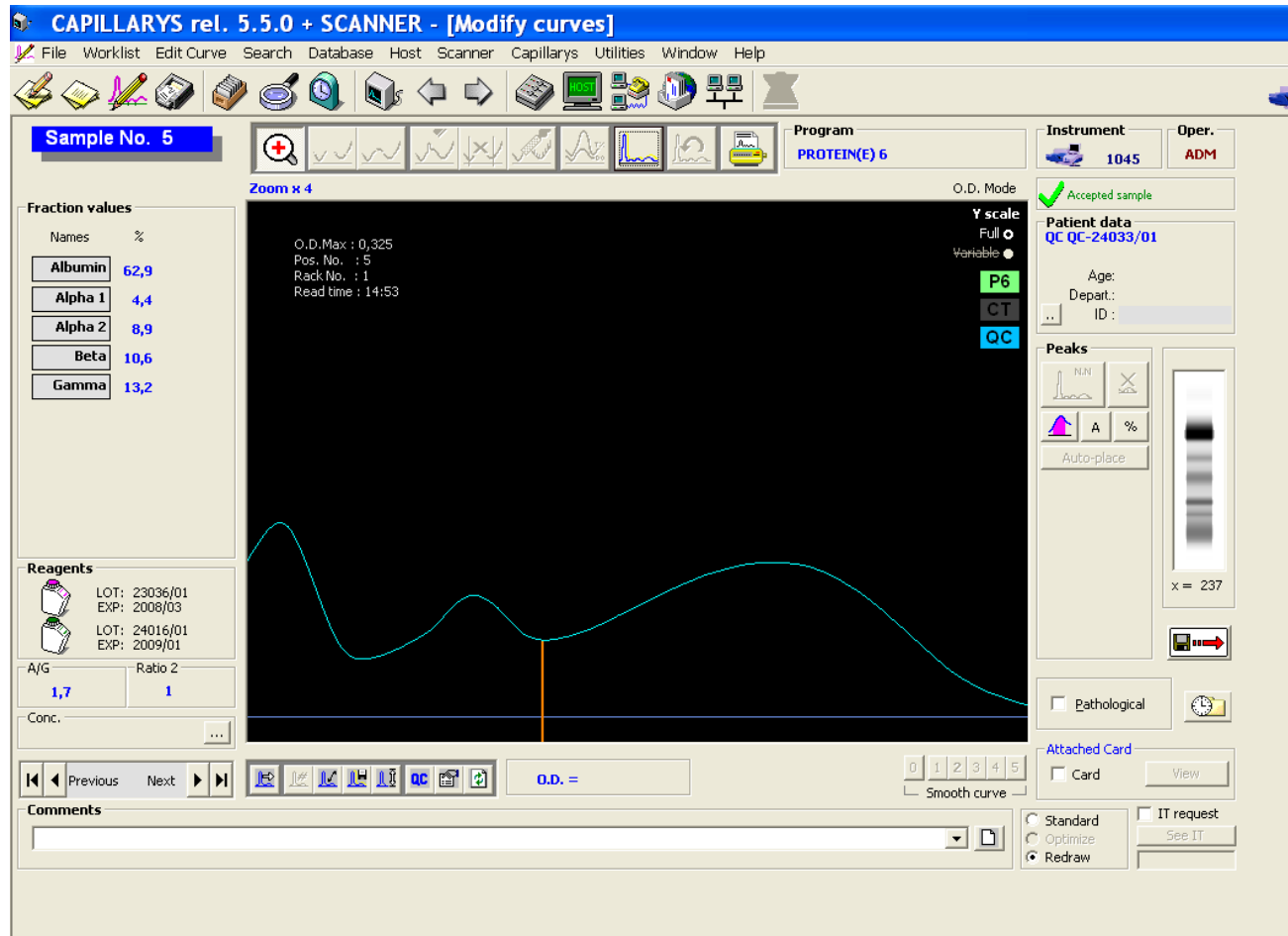
# Capillaire elektroforese (Capillarys2 )

## Beoordeling Eiwitspectrum



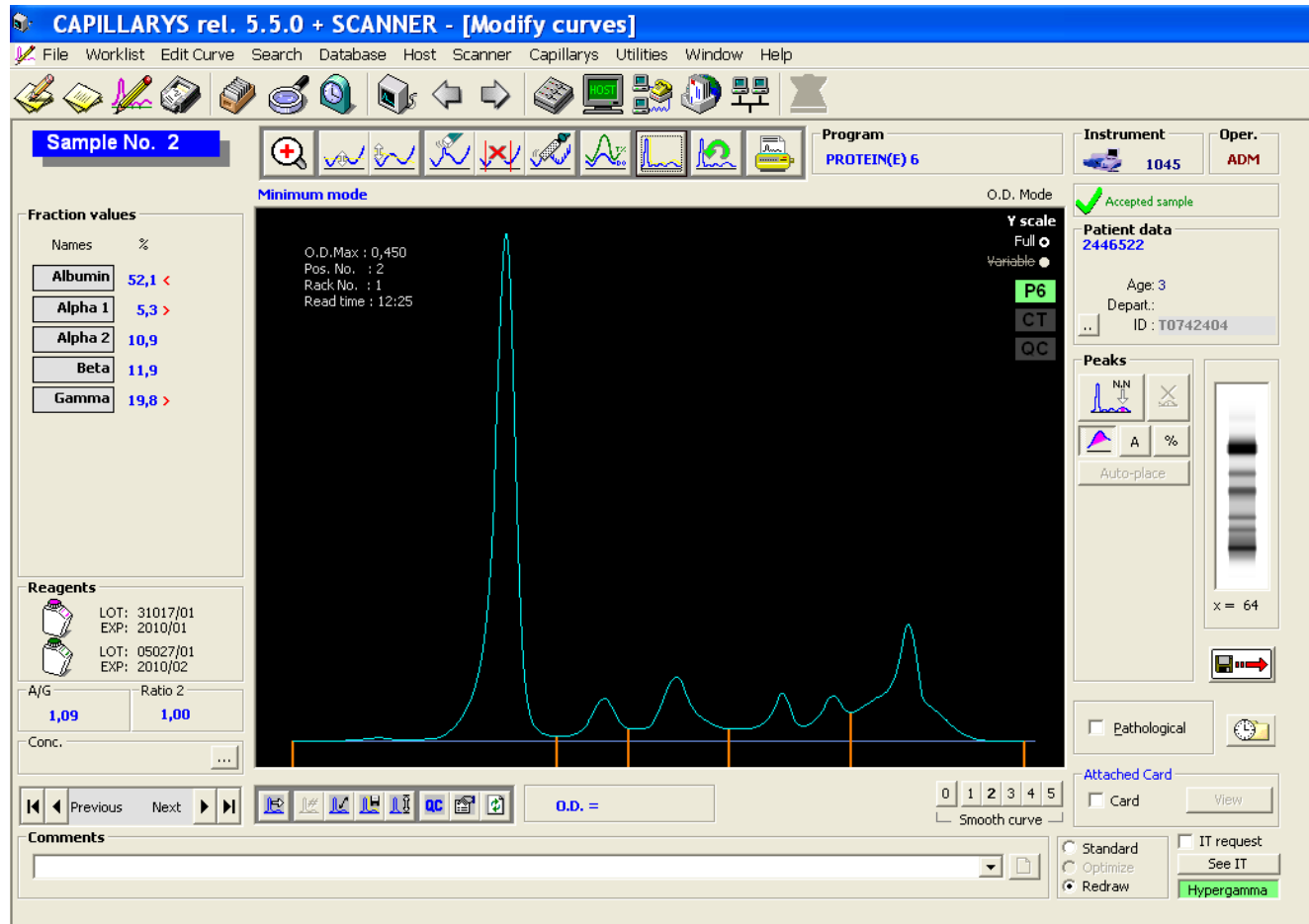
# Capillaire elektroforese (Capillarys2 )

## Beoordeling Eiwitspectrum



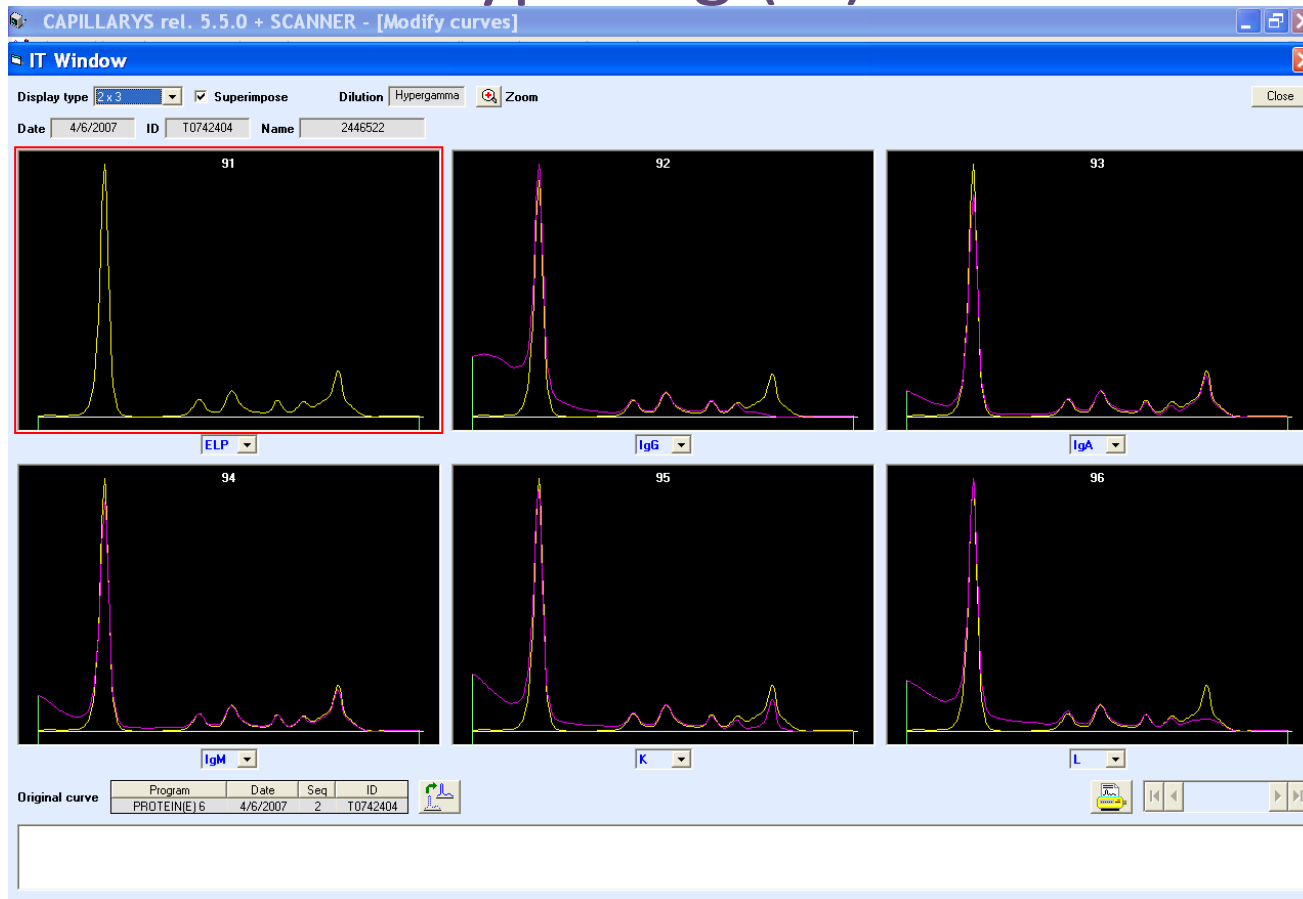
# Capillaire elektroforese (Capillarys2 )

## Beoordeling Eiwitspectrum



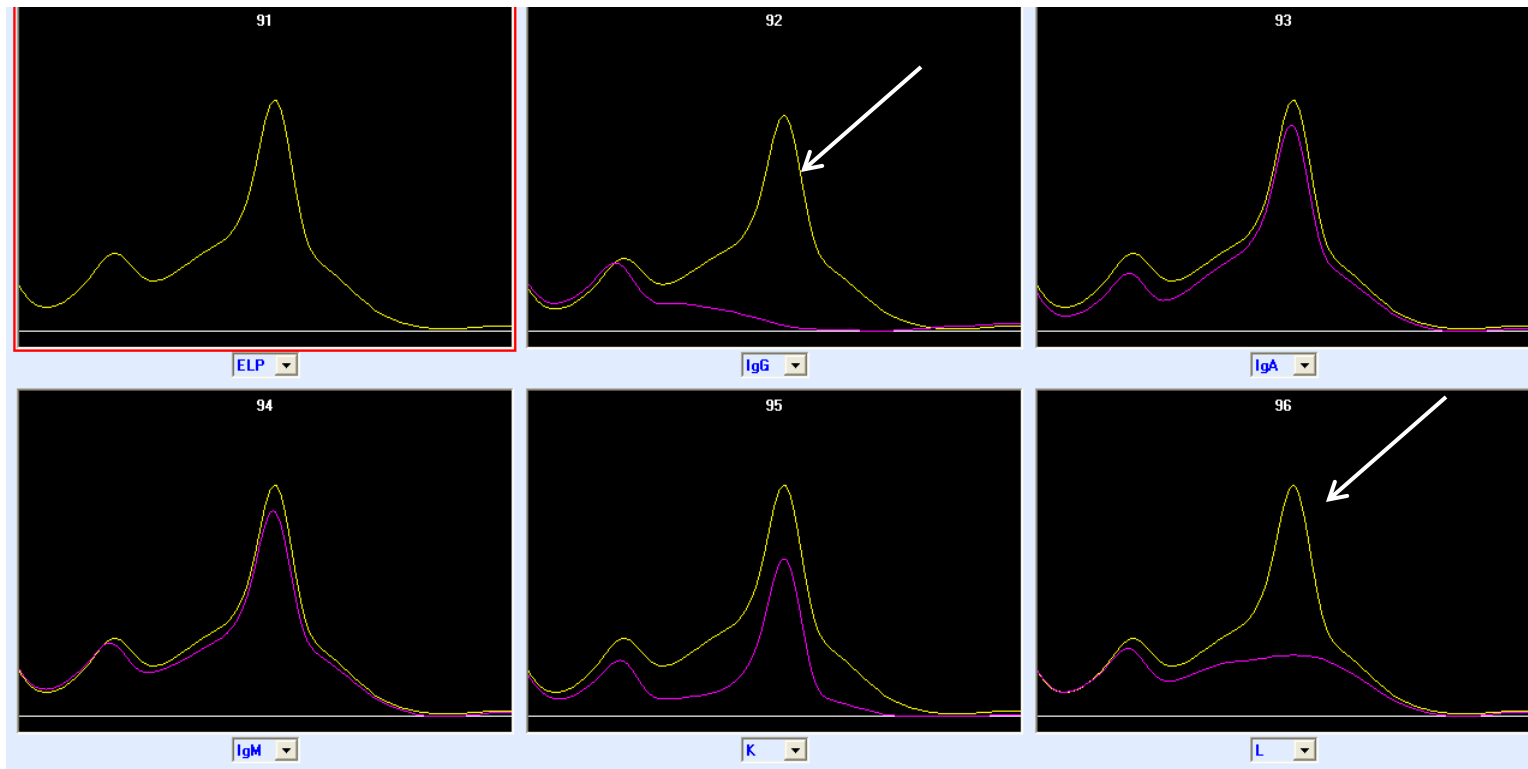
# Capillaire elektroforese (Capillarys) Typering

## Immunotypering (IT) substractie



# CE (Capillary) Typing

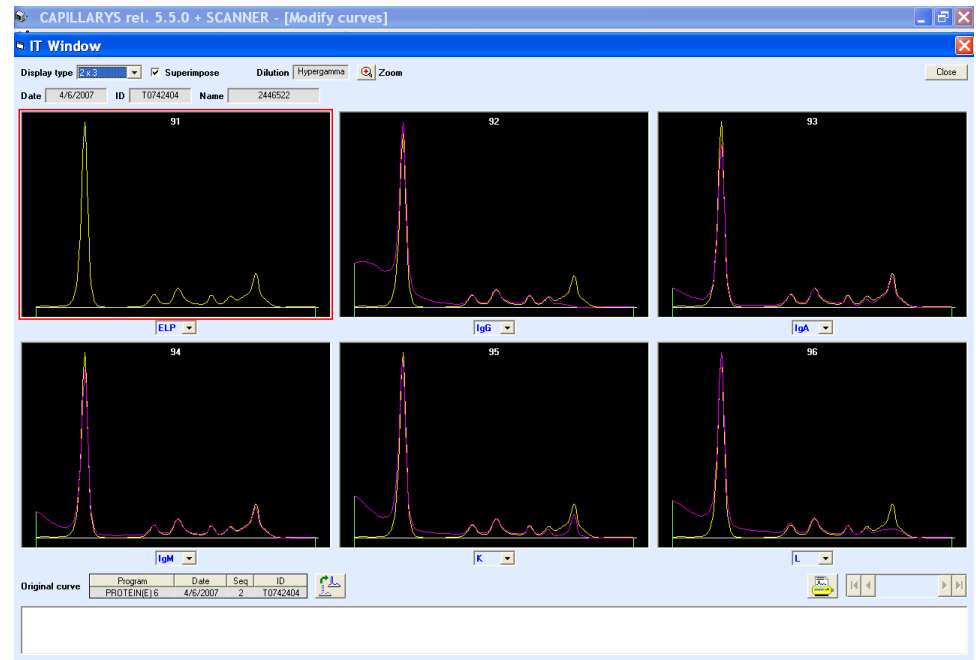
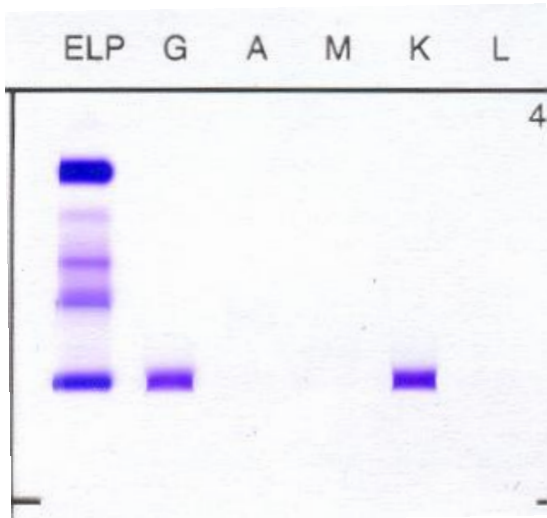
Immunotyping (IT) substractie



# M-Proteïne diagnostiek

## Typing

- Gel elektroforese  
Immunofixatie
- Capillair elektroforese  
Immunosubstractie



**Onderzoek**  
**UMC St Radboud, Nijmegen**

Capillaire elektroforese  
(Capillarys)

versus

Agarose gel elektroforese  
(Hydrasys/Hyrys)

# Onderzoek vraagstelling:

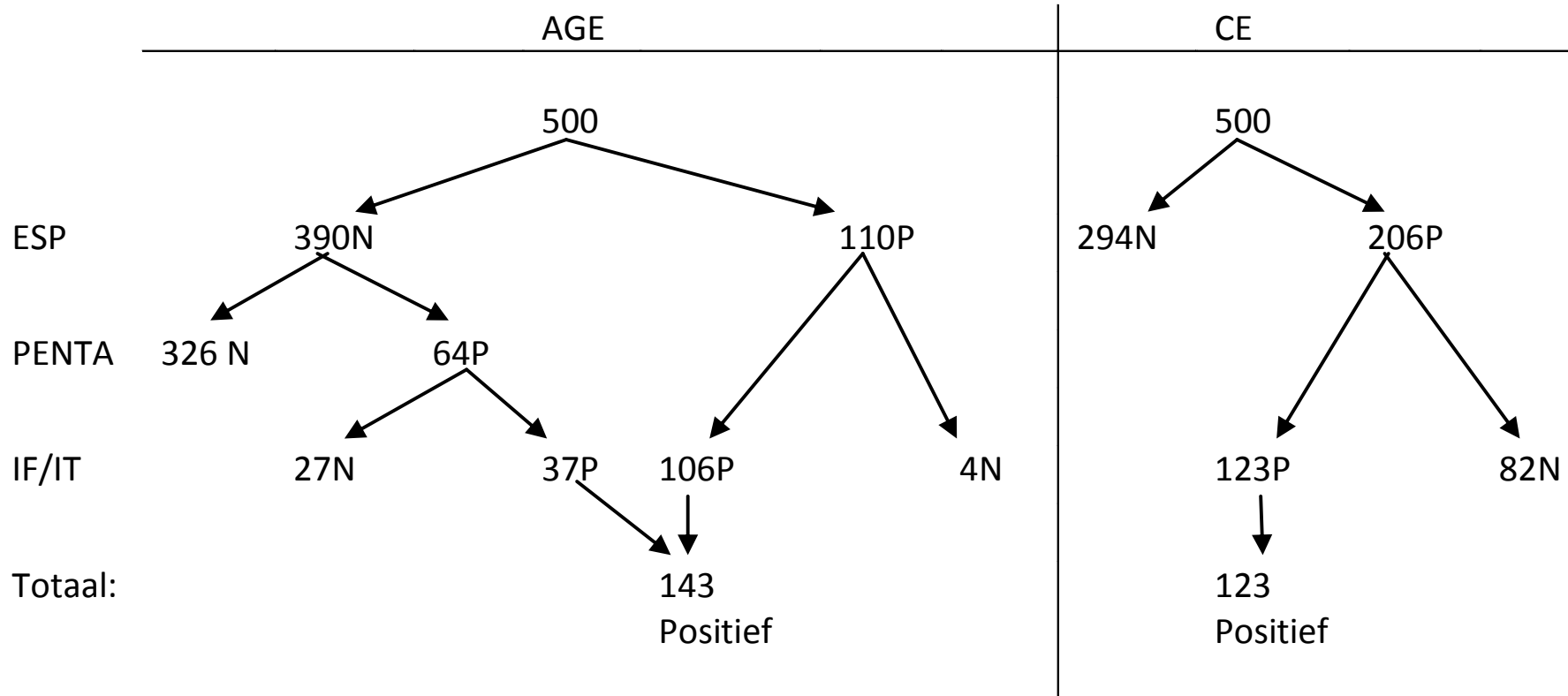
- Hoe verhouden de Agarose gel elektroforese (AGE) en capillair electroforese (CE) zich in de detectie van M-proteïnen?
- Kan voor M-proteïne screening met Capillaire elektroforese (CE) volstaan worden met een eiwitspectrum?

# Onderzoek

- 500 monsters
- 80 patiënten bekend met M-proteïne (geselecteerd op type, hoeveelheid en positie in gel)
- Screening op beide systemen  
Agarose gel elektroforese referentie methode
- Onafhankelijk onderzoek
- Beoordeling door 3 personen met wisselende ervaring

# Resultaten

## Vergelijking AGE en CE



# Verdeling M-proteïnen

Type (IF)	aantal
IgG	58
IgA	29
IgM	28
IgD	5
LC	5
Oligoclonaal	16
Immuuncomplexen	2
Totaal	143

# Resultaten: Vergelijking detectie M-proteïne met AGE en CE

	AGE				CE			
	analist	student	Mc Cudden*		Sebia	analist	student	Mc Cudden*
	ESP	ESP	ESP* Gem (5) N=146		ESP	ESP	ESP	ESP* Gem (5) N=146
sensitiviteit	74,5%	71,9%	90,9%		84,3%	86,3%	88,9%	91,5%
specificiteit	96,0%	97,1%	81,0%		77,8%	79,0%	70,3%	73,7%

\* Am J Clin Pathol 2008;451-458

# Resultaten: Vergelijking detectie M-proteïne met AGE en CE

	AGE				CE			
	analist	student	Mc Cudden*		Sebia	analist	student	Mc Cudden*
	ESP	ESP	ESP* Gem (5) N=146		ESP	ESP	ESP	ESP* Gem (5) N=146
sensitiviteit	74,5%	71,9%	90,9%		84,3%	86,3%	88,9%	91,5%
specificiteit	96,0%	97,1%	81,0%		77,8%	79,0%	70,3%	73,7%
	ESP+Penta	ESP+Penta			ESP+IT	ESP+IT	ESP+IT	IT
sensitiviteit	94,8%	92,8%			77,8%	73,4%	70,6%	84,9%
specificiteit	91,6%	92,5%			87,6%	95,0%	96,5%	93,8%

\* Am J Clin Pathol 2008;451-458

## Grootte M-proteïne

Type	Zeer gering / gering	Duidelijke band	Dikke band	
IgG	< 2	2 - 5	> 5	g/l
IgA	< 1	1 - 5	> 5	g/l
IgM	< 1	1 - 5	> 5	g/l
IgD	< 0,5	0,5 - 1	> 1	g/l
LC	< 0,5	0,5 - 1	> 1	g/l

# Resultaten: Discrepanties detectie M-proteïne AGE en CE met meerdere beoordelingen (ervaring)

Grootte M-proteïne	Niet gevonden M-proteïnen				Door niemand gevonden M-proteïne type (IF)
	Sebia	Analist	Student	Allen	
Zeer gering / gering	26	30	30	17	1x IgA-L, 6x IgG-K, 3x IgM-K, 3x IgM-L, 1x Lc-L, 3x Oligo IgG
Duidelijke band	6	6	8	4	1x IgA-K, 2x IgA-L, 1x Lc-K
Dikke band	2	2	1	1	1x Lc-K
Totaal	34	38	39	22	

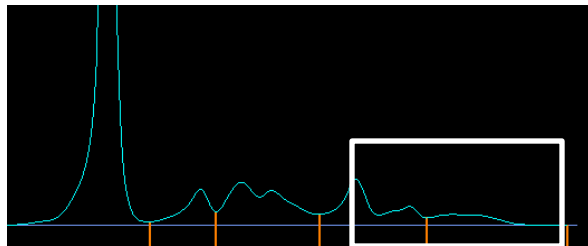
# Resultaten: Discrepanties detectie M-proteïne AGE en CE met meerdere beoordelingen (ervaring)

Grootte M-proteïne	Extra gevonden M-proteïnen				M-proteïne type CE
	Sebia	Analist	Student	Iedereen	
Zeer gering / gering	53	18	22	7	IgG-K of oligo

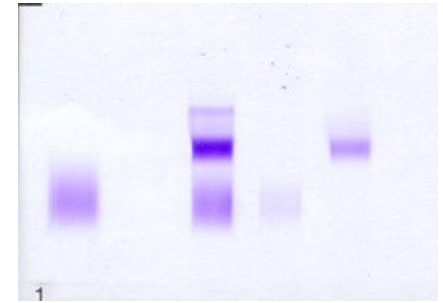
Alsnog immunofixatie (AGE) gedaan :

- 2 x zeer gering IgG-K
- 1 x gering Lc-K

# Voorbeeld discrepantie eiwitspectrum

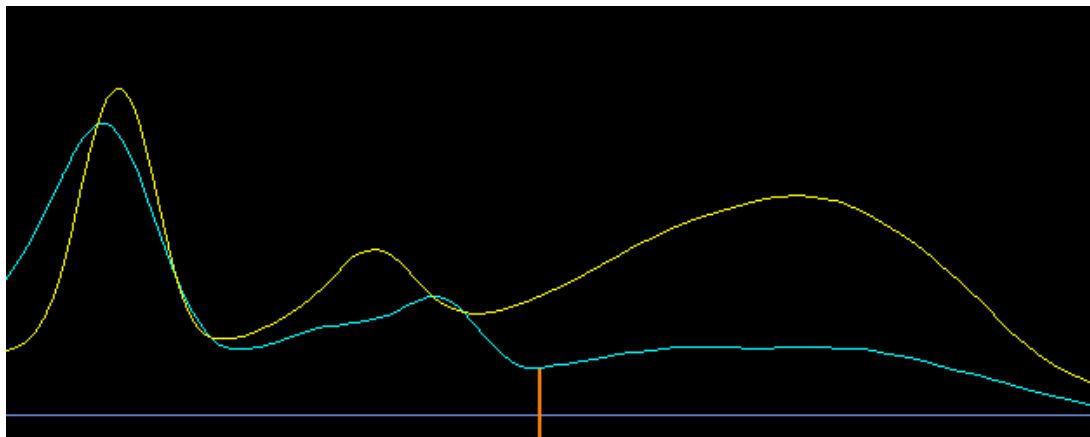


29 30



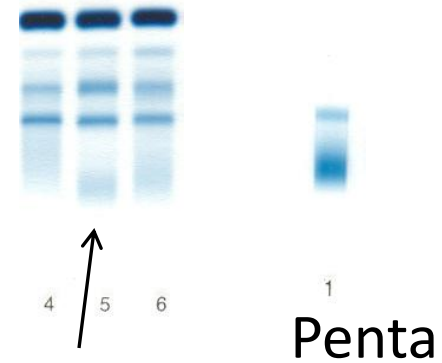
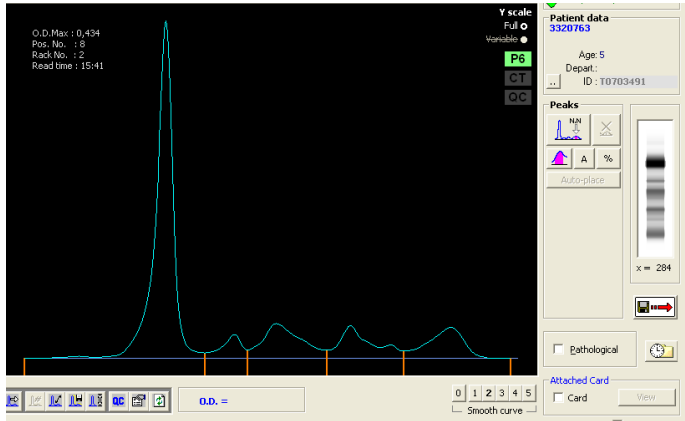
Penta

G, A, K, L, Lc-k Lc-l



Allemaal  
negatief  
beoordeeld

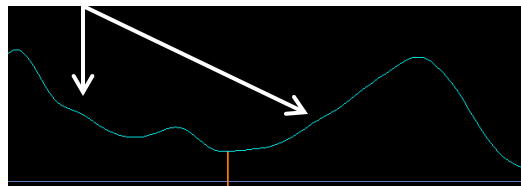
# Discussie: discrepanties in beoordeling



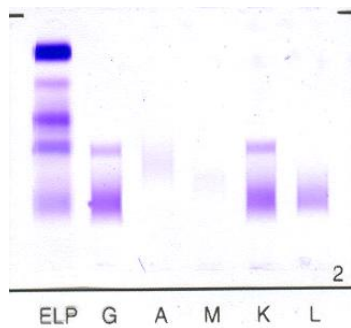
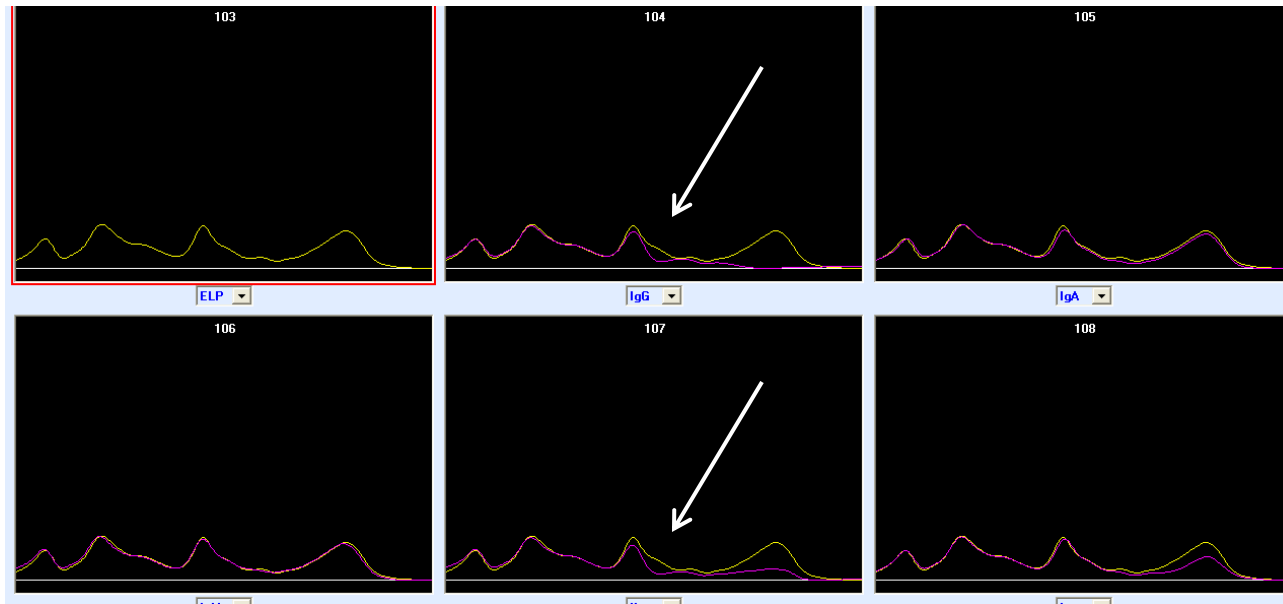
Beoordeling CE eiwitspectrum:

1 x negatief

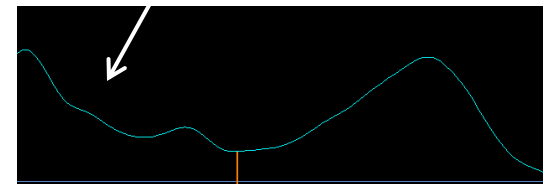
2 x positief



# Discussie: discrepanties in beoordeling



IgG-K, 2-3 g/l



# Voor- en nadelen CE

Voordelen:

- Snel
- Lage foutgevoeligheid bij inzetten

Nadelen:

- Grotere spreiding in beoordeling. (ook ervaren personen wisselend)
- Typeringen kleine bandjes niet eenduidig
- IgD(E) en Vrije lichte ketens niet nader te typeren

# Conclusies: Detectie M-proteïne m.b.v. CE

- Veel discrepanties:
  - Onafhankelijk van ervaring.
  - Onafhankelijk van M-proteïne type.
  - Afhankelijk van plaats (alfa 2- beta gebied).
- AGE Eiwitspectrum kan vervangen worden door CE eiwitspectrum
- Alleen eiwitspectrum is niet voldoende; extra screeningstest (PENTA) blijft belangrijk voor detectie van M-proteïne.

# Vergelijking kosten

inzetten (hands-on time) en beoordelen

		Materiaal prijs/monster	Personeel min./monster
AGE	ESP	€ 0,75	0,9
	Penta	€ 3,55	2,1
	IF	€ 9,83	13
CE	ESP	€ 0,69	1,2
	IT	€ 16,00	3

# Met dank aan:

sebia



Maria van Boekholt

Inge van der Holst

3e jaar Medische Biologie



Vragen ?