

ARTÍCULO ORIGINAL

INTERFERENCIA POR IOPAMIDOL EN EL PROTEINOGRAMA POR ELECTROFORESIS CAPILAR Y SU RELACIÓN CON LA FUNCIÓN RENAL

IOPAMIDOL INTERFERENCE IN PROTEIN SEPARATION BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS AND ITS CONNECTION TO RENAL FUNCTION

Benjamín Federico Barakian¹, Verónica Jimena Martínez¹, Clara Alderete Tommasi², Natalia Gorino¹, Alida Borgonovo¹, Pablo Diego Bresciani¹, Leticia Madalena¹

1) Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina

2) Departamento de Farmacia y Esterilización, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina

Rev Nefrol Dial Traspl. 2019; 39 (2): 93-100

RESUMEN

Introducción: Las interferencias en el proteinograma electroforético por electroforesis capilar incluyen la aparición de picos con concentraciones y movilidades electroforéticas, que podrían simular la presencia de un componente monoclonal. **Objetivos:** Ante la aparición de un pico adicional con movilidad $\text{inter}\alpha_2\text{-}\beta$ por electroforesis capilar (Minicap®-Sebia), el objetivo fue identificar el interferente y evaluar su relación con la funcionalidad renal. **Material y métodos:** Se estudiaron muestras de suero que presentaron dicha interferencia en un período de un año mediante proteinograma en soporte sólido, electroinmunofijación e inmunolectroforesis. Se adicionó *in vitro* el probable interferente para confirmar su movilidad electroforética. Se evaluó el impacto de la corrección de la interferencia con la herramienta “eliminación de artefactos” (Phoresis®-Sebia) y la correlación de la concentración del pico a línea de base del interferente con la estimación de la tasa de filtrado glomerular (CKD- EPI). **Resultados:** La integración a la línea de base

de los picos fue de 0,07-0,36 g/dL. No se observaron particularidades al realizar los estudios complementarios. Se evidenció, en todos los casos, la administración de iopamidol como medio de contraste, confirmándose su movilidad electroforética por su adición *in vitro*. Mediante la herramienta “eliminación de artefactos” se recuperaron los niveles basales de las fracciones. Se demostró la existencia de una correlación entre la concentración del pico a línea de base del interferente y la estimación de la tasa de filtración glomerular por CKD-EPI ($r=-0.534$, $p<0.0001$). **Conclusiones:** Se identificó al interferente como Iopamidol y se demostró su relación con la disminución de la tasa de filtración glomerular.

PALABRAS CLAVE: electroforesis de las proteínas sanguíneas; electroforesis capilar; medios de contraste; laboratorios de hospital; tasa de filtración glomerular

ABSTRACT

Introduction: Interferences in the electrophoretic proteinogram by capillary electrophoresis include

the appearance of peaks with concentrations and electrophoretic mobilities, which could simulate the presence of a monoclonal component. **Objectives:** In the light of an additional peak with inter α_2 - β mobility by capillary electrophoresis (MINICAP®-Sebia), the aim was to identify the interferent and evaluate its connection to renal functionality. **Methods:** Serum samples that presented this interference over a period of one year were studied by proteinogram on solid support, electroimmunofixation and immunoelectrophoresis. The probable interferent was added *in vitro* to confirm its electrophoretic mobility. The impact of the interference correction with the “artifact removal” tool (Phoresis®-Sebia) and the correlation of the baseline peak concentration of the interferent with the estimation of the glomerular filtration rate (CKD-EPI) were evaluated. **Results:** The integration to the baseline of the peaks was 0.07-0.36 g/dL. No particularities were observed when performing the complementary studies. In all cases, the administration of Iopamidol as a contrast medium was demonstrated, confirming its electrophoretic mobility due to its *in vitro* addition. Using the “artifact removal” tool, the basal levels of the fractions were recovered. The existence of a correlation between the concentration of the baseline peak of the interferent and the estimation of the glomerular filtration rate by CKD-EPI was shown ($r=-0.534$, $p < 0.0001$). **Conclusions:** The interferent was identified as Iopamidol and its connection to the decrease in the glomerular filtration rate was demonstrated.

KEYWORDS: electrophoresis of blood proteins; capillary electrophoresis; contrast media; hospital laboratories; glomerular filtration rate

INTRODUCCIÓN

La electroforesis de proteínas séricas es una determinación de laboratorio de rutina cuya principal indicación es la detección y cuantificación de componentes monoclonales (CM)

y de perfiles proteicos asociados a situaciones clínicas variadas, tales como pérdidas proteicas selectivas o no selectivas, respuestas infeccioso-inflamatorias agudas o crónicas, hepatopatías, etc. Estos CM son la expresión de una proliferación clonal asociada a discrasias de células plasmáticas o procesos linfoproliferativos.⁽¹⁾ Las metodologías disponibles para la realización del proteinograma electroforético (PRE) en la actualidad se diferencian en el soporte utilizado (acetato de celulosa, agarosa y electroforesis capilar) y en la forma de detección (unión a colorantes o detección al ultravioleta). Las ventajas de la utilización de la electroforesis capilar (EC) son su completa automatización, resolución y sensibilidad.⁽¹⁻²⁾

Su principal desventaja es la posibilidad de la aparición de picos monoclonales relacionados con interferencias iatrogénicas, lo cual ha sido descrito desde la introducción en la práctica clínica de la EC.⁽³⁻⁷⁾ Cualquier sustancia que posea un espectro de absorción en 214 nm potencialmente podría llevar a la evaluación errónea del perfil seroproteico, simulando incluso la presencia de un componente monoclonal (CM) con distintas movilidades electroforéticas.⁽⁸⁻⁹⁾ Los interferentes más comúnmente reportados se circunscriben a medios de contraste iodados no iónicos, tales como iohexol, iopamidol e iomeprol, y, con menor frecuencia, a ciertos antibióticos en altas dosis tales como piperacilina-tazobactam, ampicilina-sulbactam, trimetoprima-sulfametoxazol, con tiempos de eliminación de circulación que van desde horas hasta días.⁽¹⁰⁻¹¹⁾

El aumento en la utilización de estos compuestos de uso cotidiano en el ámbito hospitalario, puede impactar en la frecuencia de aparición de estas interferencias, siendo causales de potenciales interpretaciones erróneas.

Según el prospecto del fabricante, en pacientes con función renal normal, los tiempos de permanencia de iomeprol en circulación luego de una angiografía cardíaca son de 109 minutos, mientras que se ha reportado que la permanencia de la interferencia en el perfil electroforético por

EC se mantiene por 12 horas, con ausencia total de la misma a las 24 horas.⁽¹²⁻¹³⁾ En pacientes con función renal alterada, dicha eliminación se encuentra afectada y podría prolongar dicha interferencia más allá de las 24 horas.

Ante la aparición de un pico adicional con movilidad inter α_2 - β por electroforesis capilar (Minicap®-Sebia) en una serie de casos, el objetivo del presente trabajo fue descartar la presencia de un CM, identificar el interferente, estudiar su relación con la funcionalidad renal y diseñar un protocolo de acción para resolver dicha interferencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en muestras de suero de 45/3757 (1.20%) pacientes internados con solicitud de PRE que presentaron un pico adicional con movilidad inter α_2 - β en un período de un año en el Servicio de Proteínas del Hospital de Clínicas José de San Martín.

Con el objetivo de corroborar o descartar la naturaleza proteica del pico adicional hallado por EC, en un subgrupo de 6 casos índices observados en un período de un mes, se realizó PRE por EC (Minicap®- Sebia), PRE en soporte sólido (acetato de celulosa gelatinizado - coloración con Amido Schwartz), electroinmunofijación (IF) con antisueros mono-específicos anti- $\gamma/\alpha/\mu/\kappa/\lambda$ (Sebia) con coloración argéntica (técnica “*in house*”)⁽¹⁴⁾ e inmuno-electroforesis (IEF) utilizando antisuero anti-humano total (Biocientífica) para evaluar la reacción del pico con las coloraciones y los

antisueros utilizados en las determinaciones clínicas habituales.

Se analizó bibliografía sobre interferencias en EC y se registraron antecedentes e intervenciones farmacológicas de los pacientes.

Se adicionó *in vitro* el probable interferente (iopamidol, Iopamiron®370 Gobbi Novag S.A.) a un pool de sueros de pacientes con cuadros seroproteicos normales para confirmar su movilidad electroforética (ME). Se tomó en cuenta para el volumen de medio de contraste a adicionar, la cantidad de frascos promedio indicados por paciente y la volemia normal, resultando en una dilución óptima de 1/400.

Se evaluó el impacto de la corrección de la interferencia con la herramienta “eliminación de artefactos” (Phoresis®-Sebia).

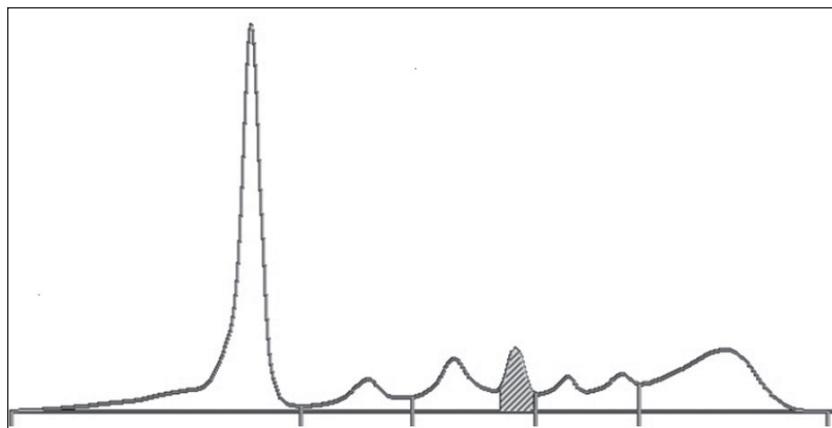
Se analizó la correlación de la concentración del pico a línea de base del interferente con la estimación de la tasa de filtrado glomerular por CKD-EPI. Para dicho cálculo se utilizó la concentración de creatinina obtenida por el método Jaffé cinético con compensación y blanco de muestra (Cobas®c501, Roche), trazable al método de referencia.

Se utilizó el software GraphPad in Stat (GraphPad Software - CA USA) para el análisis estadístico. Un p-valor <0.05 fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS

La integración a la línea de base de los picos adicionales hallados con movilidad inter α_2 - β fue de 0,07- 0,36 g/dL (**Imagen 1**).

Imagen 1. Visualización de un perfil electroforético con un pico adicional con movilidad inter α_2 - β . La muestra corresponde a un paciente masculino de 72 años con antecedentes previos recientes donde no se encontraba dicho pico adicional. La concentración del mismo a línea de base es de 0,35 g/dL.



La presencia de los mismos no coincidía con registros analíticos previos ni con sospecha clínica o de laboratorio de gammapatía monoclonal. Los pacientes provenían de distintos servicios (UCO: 8; Clínica Médica, provenientes de 10 salas distintas: 30; UTI: 4; otros: 4) con una mediana de edad de 74 años (entre 25-92 años) y una relación mujeres/hombres de 62% vs. 38%.

Al realizar el PRE en soporte sólido, no se registró visualización de una banda con movilidad similar ni el aumento por superposición de otras bandas en comparación

con la electroforesis de un pool de sueros (**Imagen 2.a.**). Se observó precipitación policlonal ante los antisueros ensayados por IF (**Imagen 2.b.**). La IEF no mostró aparición de arcos de precipitación adicionales. (**Imagen 2.c.**) Se evidenció la coincidencia en la administración de iopamidol (IO) los días previos a la toma de muestra en todos los casos, a la vez que se evidenció un incremento en el número de pacientes por mes a los que les fue indicado dicho medio de contraste. (**Imagen 3.**)

Imagen 2. Estudio del pico adicional para corroborar o descartar su naturaleza proteica.

a. Electroforesis en soporte sólido (acetato de celulosa gelatinizado) y coloración con Amido Schwartz (unión a proteínas): no se observa ninguna banda adicional.

b. Electroinmunofijación (IF) con antisueros monoespecíficos anti- $\gamma/\alpha/\mu/\kappa/\lambda$ con tinción argéntica (técnica “*in house*” de alta sensibilidad): se observa precipitación policlonal frente a todos los antisueros ensayados.

c. Inmunolectroforesis (IEF) con antisuero anti-humano total: no se observa ningún arco de precipitación adicional respecto a un pool normal.

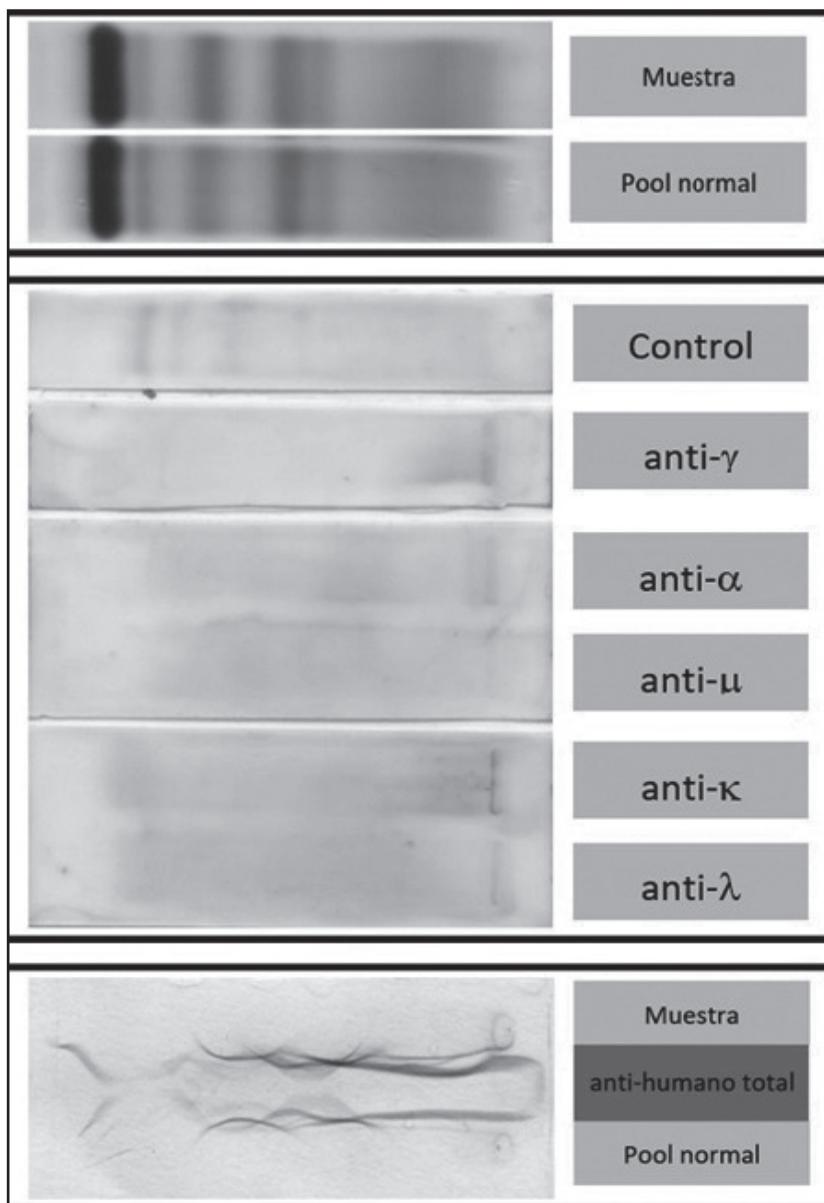
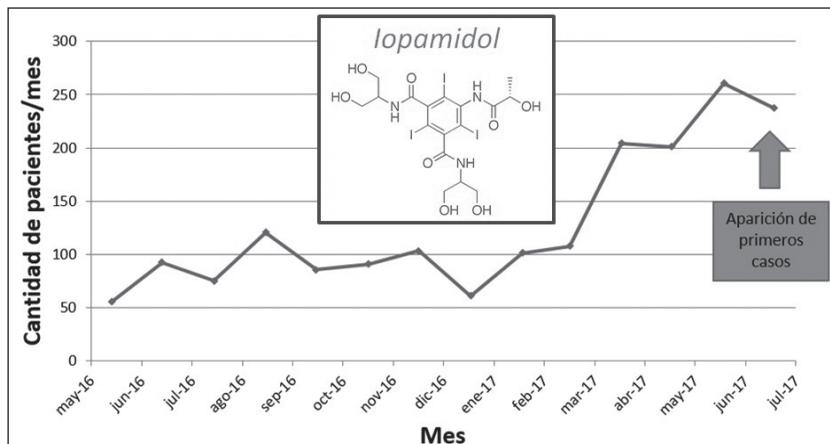


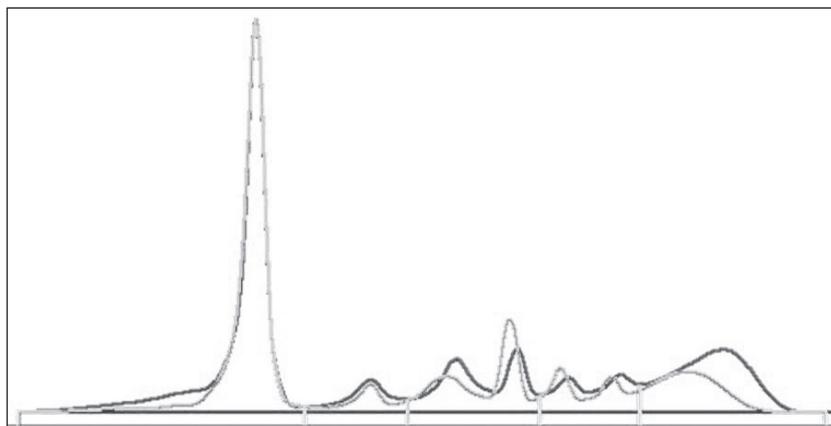
Imagen 3. Estimación de la cantidad de pacientes por mes que recibieron iopamidol (según los registros de movimientos del medio de contraste del Servicio de Farmacia).



Al adicionar *in vitro* IO en un pool de sueros, se confirmó su movilidad electroforética por su-

perposición de las curvas. (**Imagen 4**).

Imagen 4. Estudio de adición *in vitro* del probable interferente (iopamidol, Iopamiron®). La curva continua corresponde a la muestra del paciente índice de la imagen 1, mientras que la curva punteada corresponde a una muestra de pool adicionada con el interferente en una dilución 1/400. La superposición de las curvas permite evidenciar que la movilidad del interferente agregado se corresponde con la del pico adicional hallado en la muestra de suero del paciente.



Para evaluar el impacto de la corrección de la interferencia, se trabajó con una muestra de pool (cuadro seroproteico normal con valores de todas las fracciones dentro del rango referencial) (**Imagen 5.a**) a la que se le adicionó *in vitro* iopamidol en una dilución 1/400, observándose la aparición de un pico adicional con movilidad α_2 - β cuya concentración a línea de base fue de 0,56 g/dL. Dicha presencia conlleva a un aumento de la fracción α_2 , así como a una disminución del resto de las fracciones (**Imagen 5.b**). Al corregir la interferencia con la herramienta “eliminación de artefactos”, se visualiza el trazado original de la muestra manteniéndose los valores basales de las fracciones. (**Imagen 5.c**)

Se determinó la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre la concentración del pico a línea de base del interferente y la estimación de la tasa de filtración glomerular por CKD-EPI ($r=-0.534$, $p<0.0001$). (**Gráfico 1**). De los 45 casos registrados, cuatro ingresaron con solicitud de PRE en dos días consecutivos (+1 y +2 del procedimiento con medio de contraste). En los cuatro casos se detectó la persistencia de la interferencia con una disminución promedio del 35% de la concentración del pico a línea de base en el día +2. En 3 de estos casos, se verificó un CKD-EPI menor a 60 mL/min*1.73m² (promedio: 18 mL/min*1.73m²), mientras que, en el cuarto paciente, el resultado fue de 73 mL/min*1.73m².

Imagen 5. Evaluación del impacto de la corrección de la interferencia con la herramienta “eliminación de artefactos” (Phoresis®-Sebia).

- a. Muestra de pool cuyo perfil y valores de las fracciones corresponden a la de un cuadro seroproteico normal.
- b. Muestra de pool adicionada con iopamidol en una dilución 1/400: se observa la aparición de un pico adicional con movilidad inter α_2 - β cuya concentración a línea de base es de 0,56 g/dL. Dicha presencia conlleva a un aumento de la fracción α_2 así como a una disminución del resto de las fracciones. Las líneas verticales delimitan la zona seleccionada para la corrección mediante la herramienta “eliminación de artefactos”
- c. Resultados luego de la corrección: se recupera el perfil proteico basal y los valores de las fracciones.

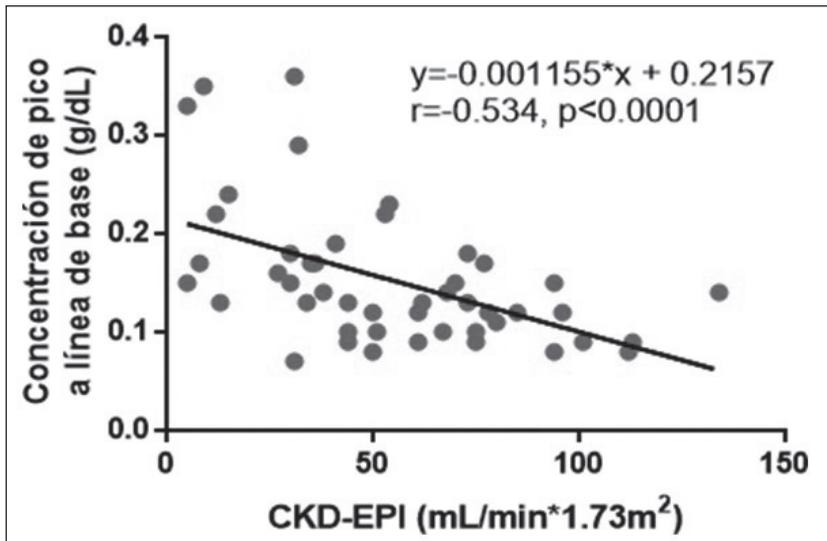
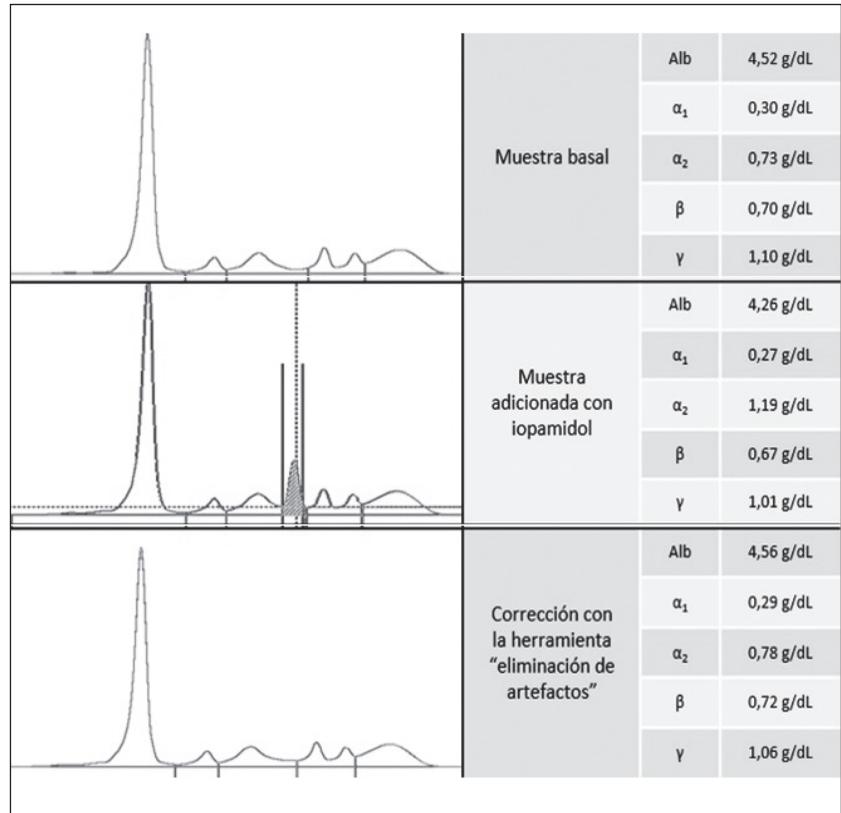


Gráfico 1. Análisis de la correlación entre la concentración del pico a línea de base (g/dL) y la estimación de la tasa de filtrado glomerular por CKD-EPI (mL/min*1.73m²).

DISCUSIÓN

El pico adicional observado en el proteograma electroforético por EC en este grupo de pacientes podría llevar a la interpretación errónea de la presencia de un componente monoclonal

de baja concentración. La complejidad de la evaluación post-analítica del PRE-EC se debe a que las posibles interferencias pueden presentarse como picos desde la región alfa-2 hasta la zona gamma, por lo que antes de interpretarse deben

utilizarse técnicas de especificidad adecuada para su caracterización inmunológica en caso de tratarse de proteínas que podrían imitar un CM (fibrinógeno, variantes de C3, complejos hemoglobina-haptoglobina, proteína C reactiva); o, de sustancias iatrogénicas, que conllevarían a la necesidad de otro tipo de procedimientos (salar la muestra, tratarla con carbón activado).⁽¹⁾

Se comprobó que el pico observado en el PRE por EC en las muestras no es una proteína a través del estudio de su capacidad de unión a colorantes y de no ser reconocida por los antisueros utilizados en la práctica clínica habitual, postulándose la presencia de una interferencia no proteica. En base al registro de intervenciones farmacológicas, se identifica la coincidencia en la administración de Iopamidol en todos los casos. El ensayo de adición *in vitro* permitió comparar la movilidad electroforética del pico adicional hallado en las muestras a la del pico obtenido por adición del medio de contraste a un pool de sueros. La coincidencia por superposición de las curvas identificó al interferente como Iopamidol.

El valor de las fracciones en g/dL del proteinograma sérico proviene de la repartición del valor de proteínas totales en función del área bajo la curva obtenida en la electroforesis, por lo que la presencia de un pico extra no proteico en el trazado interfiere aumentando el valor de la fracción en la cual se encuentra en detrimento del resto. La herramienta de “eliminación de artefactos” brinda la posibilidad de corregir dicho trazado y restituir los valores de las fracciones correctos.

Dado que el catabolismo del iopamidol es en su totalidad por depuración renal, en aquellos pacientes con una disminución de su funcionalidad renal, es esperable que la permanencia del medio de contraste en circulación así como su potencial interferencia en el PRE-EC se prolongue en el tiempo como pudo observarse en nuestra serie de casos.

Es de notar que, por un lado, se ha cuestionado que la cantidad de contraste administrado influiría en la concentración del pico detectado en el PRE-EC dado que estaría

estrechamente relacionado con el lugar donde se realizó la extracción de sangre periférica, en especial si hubiese sido obtenida de la misma vía en que se utiliza para la inyección del contraste; y, que, por el otro lado la bibliografía acerca del tema, no ha reportado cinéticas de eliminación homogéneas en cuanto a la desaparición de la interferencia del suero en condiciones de función renal alterada.^(13,15-17)

La identificación de picos de baja concentración es un juicio cualitativo que es difícil de estandarizar. Distintos autores coinciden en que anomalías sutiles tienen la misma importancia que un componente de franca concentración para identificar una enfermedad potencialmente grave, por lo que estos picos no deben dejar de estudiarse.⁽¹⁸⁻¹⁹⁾

El plan de acción a futuro ante la aparición de un pico adicional con las características previamente descritas involucra, en primera instancia, estudiar los antecedentes de laboratorio de proteínas del paciente y superponer la curva de referencia del interferente para corroborar la coincidencia en su movilidad electroforética e inferir de este modo su identidad. En segunda instancia, comprobar que el paciente haya recibido iopamidol como medio de contraste como máximo en las últimas 48 horas, con especial atención a su “*status renal*”. En tal sentido, se recomienda al plantel médico reportar la administración de iopamidol ante la solicitud de PRE-EC y se establece el uso de la herramienta “eliminación de artefactos” para corregir los valores de las fracciones y evitar una posible interpretación errónea.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no poseer ningún interés comercial o asociativo que presente un conflicto de intereses con el trabajo presentado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Keren DF, Humphrey RL. Clinical indications and applications of serum and urine protein electrophoresis. En: *Manual of molecular and clinical laboratory*

- immunology*. Edited by Barbara Detrick, John L. Schmitz and Robert G. Hamilton. 8th ed. Washington, DC: ASM Press, 2016. Chap. 8.
- 2) Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54(6):947-61.
 - 3) Bossuyt X, Mewis A, Blanckaert N. Interference of radio-opaque agents in clinical capillary zone electrophoresis. *Clin Chem*. 1999;45(1):129-31.
 - 4) Arranz-Peña ML, González-Sagrado M, Olmos-Linares AM, Fernández-García N, Martín-Gil FJ. Interference of iodinated contrast media in serum capillary zone electrophoresis. *Clin Chem*. 2000;46(5):736-7.
 - 5) Bossuyt X. Separation of serum proteins by automated capillary zone electrophoresis. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41(6):762-72.
 - 6) Bossuyt X. Interferences in clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. *Electrophoresis*. 2004;25(10-11):1485-7.
 - 7) Jin Park Y, Hoon Rim J, Yim J, Lee S-G, Kim J-H. Effects of two types of medical contrast media on routine chemistry results by three automated chemistry analyzers. *Clin Biochem*. 2017; 50(12):719-25.
 - 8) van der Watt G, Berman W. Pseudoparaproteinemia after iopamidol infusion for coronary angiography. *Clin Chem*. 2005;51(1):273-4.
 - 9) Siede D, Möller H, Siede WH, Regeniter A. Effect of ampicillin-sulbactam on clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(10):1468-9.
 - 10) Bossuyt X, Peetermans WE. Effect of piperacillin-tazobactam on clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. *Clin Chem*. 2002;48(1):204-5.
 - 11) Bossuyt X, Verhaegen J, Mariën G, Blanckaert N. Effect of sulfamethoxazole on clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. *Clin Chem*. 2003;49(2):340-1.
 - 12) Vermeersch P, Mariën G, Bossuyt X. Pseudoparaproteinemia related to iomeprol administration after angiocardigraphy: Detection in the beta fraction by capillary zone electrophoresis. *Clin Chem*. 2006;52(12):2312-3.
 - 13) Samson E, Allouche S. Iohexol interference in the α 2-globulin fraction of the serum protein capillary electrophoresis. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):e337-8.
 - 14) García MD, Madalena LB, Bragantini GC, Bresciani PD, Pizzolato MA. Electroinmunofijación de orinas sin concentrar por coloración con metales pesados. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 1996;30(3):215-20.
 - 15) Lorusso V, Taroni P, Alvino S, Spinazzi A. Pharmacokinetics and safety of iomeprol in healthy volunteers and in patients with renal impairment or end-stage renal disease requiring hemodialysis. *Invest Radiol*. 2001;36(6):309-16.
 - 16) Carballo Silva L, Carballeira Pol L, Calvo Comella M, Rentería Obregón I, García-Moll X, Martínez- Brú C. Interferencias por contrastes yodados en la electroforesis capilar. *Rev Lab Clín*. 2010;3(3):129-35.
 - 17) Cho SY, Kim Y, Anbok Lee, Park TS, Lee HJ, Suh JT. Three cases showing false results in the detection of monoclonal components using capillary electrophoresis. *Lab Med*. 2011;42(10):602-6.
 - 18) Katzmann JA, Stankowski-Drengler TJ, Kyle RA, Karen SL, Snyder MR, Lust JA, et al. Specificity of serum and urine protein electrophoresis for the diagnosis of monoclonal gammopathies. *Clin Chem*. 2010;56(12):1899-900.
 - 19) Rajkumar SV. Updated Diagnostic Criteria and Staging System for Multiple Myeloma. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2016;35:e418-23.

Recibido en su forma original: 26 de febrero de 2019

En su forma corregida: 10 de mayo de 2019

Aceptación final: 15 de mayo de 2019

Bioq. Benjamín Federico Barakian

Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina
e-mail: benjaminbarakian@gmail.com