

Csv/S-IEF (Isoelektrisk fokusering)

Bakgrund, indikation och tolkning

Isoelektrisk fokusering (IEF) är en kvalitativ separationsmetod med mycket hög upplösningsförmåga. Proteinerna i provet separeras efter isoelektrisk punkt (pI) och IgG-fördelningen detekteras med hjälp av immunfixation. Metoden har en god förmåga att påvisa oligoklonala IgG-mönster i likvor och serum [1].

Genom jämförelse av bandmönstren i likvor och serum kan man avgöra om det finns IgG-band unika för likvor vilket talar för att IgG-banden härrör från det intratekala rummet och indikerar således intratekal immunglobulinsyntes. Det ses hos nästan alla patienter med kroniska CNS infektioner som neurosyfilis, hiv-encefalit och neuroborrelios. Vid akuta meningiter och encefaliter med duration <1 vecka ses däremot oftast inte någon intratekal immunglobulinsyntes. Vid inflammatoriska/autoimmuna sjukdomar såsom multipel skleros (MS), subakut skleroserande panencefalit och cerebral SLE är det också mycket vanligt med intratekal immunglobulinsyntes [1].

I ett fåtal fall ses även intratekal immunglobulinsyntes vid cerebrovasculära sjukdomar, hjärntumörer och ALS [1].

Intratekal immunglobulinsyntes är ett icke sjukdomsspecifikt fynd [1].

Ibland påvisas väldigt tydliga/kraftiga oligoklonala band både i likvor och plasma. Detta inger främst misstanke om IgG M-komponent eller oligoklonal IgG fördelning i plasma. En serumproteinprofilundersökning kan verifiera eller utesluta eventuell IgG M-

komponent-misstanke som uppkommit vid den isoelektriska fokuseringen [1].

Vid beställning av Csv/S-IEF utförs samtidigt analys av albumin och immunglobulin G på serum och likvor. Därefter beräknas Albuminkvot (Csv/S-Albumin), IgG-kvot (Csv/S-IgG) och IgG index (IgGkvot/Albuminkvot).

Albuminkvoten är en markör för barriärskada och IgG-index är tillsammans med IEF-mönstret en markör för intratekal immunglobulinsyntes. En samlad bedömning av de ingående analyserna görs och utlåtande skrivs.

Svar/Tolkning/Bedömning

Vid beställning av Csv/S-IEF erhålls svar på:

- Csv-Albumin IEF, Albumin (imm), Csv-Immunglobulin G och S-Immunglobulin G;
- Csv-Albuminkvot, Csv-IgG-kvot och Csv-IgG-index;
- Csv-IEF utlåtande (en bedömning av huruvida barriärskada och/eller intratekal immunglobulinsyntes föreligger).

Referensintervall

Csv-Albumin IEF Csv-Albuminkvot	se Csv-Albuminkvot i Analysportalen
Csv-Ig G	12–56 mg/L
Csv-IgG kvot	saknas
Csv-IgG-index	1,5 år till <15 år: <0,80 ≥15 år: <0,63
S-Albumin(imm)	se S-Albumin (imm) i Analysportalen
S-Ig G	se S-IgG (Immunglobulin G) i Analysportalen
Csv/S-IEF-IF	saknas (kvalitativ analys, utlåtande lämnas)

Ackrediterade analyser

Csv-Albumin IEF och Csv-Albuminkvot	Ja
Csv-IgG, Csv-IgG kvot och Csv-IgG index	Ja
S-Albumin (imm)	Ja
S-Immunoglobulin G	Ja
Csv/S-IEF-IF	Nej

Csv/S-IEF-IF (isoelektrisk fokusering med immunfixation)

Analysprincip

I en agarosgel med låg endosmos används amfolyter som skapar en pH-gradient från 3 till 10,5 (förstärkt i intervallet 7–10 för att optimera separationen av IgG). Tillförda proteiner vandrar anodalt eller katodalt till det pH-värde, som motsvarar deras respektive isoelektrisk punkt (pI). De separerade IgG-molekylerna immunfixeras med hjälp av ett peroxidas-märkt antiserum mot IgG och efter tvätt påvisas de immunfixerade IgG-molekylerna genom att antiserumets peroxidasaktivitet detekteras [2].

Interferenser och felkällor

På grund av upplösnings- och sensitivitetsbegränsningar hos elektrofores är det möjligt att vissa oligoklonala komponenter inte blir upptäckta med denna metod.

Olika gelbatcher kan medföra skillnader i hur de elektroforetiska mönstren blir centrerade. Detta ska dock inte ha någon inverkan på prestandan [2].

Mätområde

Ej relevant. Proverna späds innan analysen baserat på nefelometrisk/turbidimetriska IgG-mätningar så att alla prover, såväl serum som likvor, har ungefär samma IgG-koncentration.

Detektionsgräns

Vid IgG koncentration av 10 mg/L eller mer, kan IgG detekteras och dess fördelning urskiljas utan koncentrerings av likvorprovet [2].

Mätosäkerhet

Kvalitativ undersökning. Reproducerbarheten utvärderad av tillverkaren. Kvantitativ siffra för löpande mätosäkerhetsskattning saknas.

Spårbarhet

Ej relevant.

Csv-Immunoglobulin G, Csv-IgG kvot och Csv-IgG index

Analysprincip

Nefelometri. IgG bildar immunkomplex i en immunkemisk reaktion med specifika antikroppar. Dessa komplex sprider en ljusstråle som passerar genom provet. Det spridda ljusets intensitet är proportionellt mot koncentrationen av IgG i provet [3].

$$\text{Csv-IgG kvot} = (\text{Csv-IgG} / \text{S-IgG})$$

$$\text{Csv-IgG index} = (\text{Csv-IgG} / \text{S-IgG}) / (\text{Csv-Albumin} / \text{S-Albumin})$$

Interferenser och felkällor

Lägre nivåer än nedan påverkar ej analysen [3]:

- Hemolys: H-index 1000 (Hb upp till 10 g/L)
- Ikteri: I-index 60 (Bilirubin upp till 0,6 g/L)
- Lipemi: L-index 1900 (Triglycerider upp till 19 g/L).

Mätområde

IgG: 3,6–115 mg/L [4]. Instrumentet späder till svar erhålls.

Detektionsgräns

IgG: 3,6 mg/L [3].

Mätosäkerhet

Utvärdering från inkörning av metoden på BNII 2020-02 [5].

Nivå (mg/L)	Imprecision (CV%)	n
14	3,1	50
37	3,0	50

Spårbarhet

Kalibratorn är spårbar till referensmaterialet ERM-DA470k/IFCC [6].

Csv-Albumin, S-Albumin och S-Immunoglobulin G

Nefelometri. Protein i provet bildar immunokomplex med specifika antikroppar. Immunokomplexen sprider en ljusstråle som passerar genom provet. Det spridda ljusets intensitet är proportionellt mot koncentrationen av proteinet i provet. Resultatet värderas genom jämförelse med en standard av en känd koncentration.

Se 'Läs mer' under respektive flik i Analysportalen för metodkaraktäristika data för följande analyser:

- [Csv-Albuminkvot](#)
- [S-Albumin \(imm\)](#)
- [S-IgG \(Immunoglobulin G\)](#)

Referenslitteratur

1. Nilsson-Ehle P, red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Studentlitteratur AB, Lund 2012, 10:e upplagan sid 594-599.
2. Produktblad Hydragel 3 & 9 CSF Isofocusing, ref. 4353 & 4355, Sebia. 2021-03.
3. N Antiserum till humant IgG, 11540124, Rev 07, 2021-06.
4. BNII System Assay Protocols, V. 03, 2016-10.
5. Verifiering av Proteinanalyser BNII, 20-763. V. 2, 2023-12.
6. N Protein Standard SL OQIMG13C33, Rev 08, 2019-10.