



Original

Algoritmo para el cribado de la proteinuria de Bence Jones en el laboratorio

Algorithm for the screening of Bence Jones proteinuria in the laboratory

Juan-Manuel López Gómez¹, Beatriz Sacristán Enciso², Mercedes Rodríguez Hernández¹ y Sergio Gómez Vera¹

¹Laboratorio de Análisis Clínicos. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Badajoz. ²Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida. Badajoz

Recibido: 30/03/2020
Aceptado: 28/04/2020

Correspondencia: Beatriz Sacristán Enciso. Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida. Avda. Don Antonio Campos Hoyos, 26. 06800 Mérida, Badajoz
e-mail: beatriz.sacristan@salud-juntaex.es; bsacristane@gmail.com

Palabras clave:

Algoritmo. Bence Jones. Cociente cadena ligera Kappa/Lambda. Cribado orina.

Resumen

Introducción: la inmunofijación en orina (IFo) es el procedimiento de rutina más sensible y específico para la detección e identificación de la proteinuria de Bence-Jones (PBJ). El propósito de nuestro estudio fue establecer unos puntos de corte del cociente Kt/Lt para confirmar la existencia de PBJ y realizar un algoritmo para disminuir el número de IFo a realizar.

Material y métodos: se seleccionaron 763 IFo de las realizadas entre los años 2005 y 2017 en el Área de Salud de Badajoz.

Resultados: 225 orinas presentaron un cociente Kt/Lt $< 0,7$ o > 8 . En todas las IFo fue positiva. Con un cociente Kt/Lt comprendido entre 0,7 y 8, encontramos 495 orinas; en 59 de ellas, la IFo fue positiva; la mayoría (76,27 %) presentaron una electroforesis de proteínas séricas (EFs) sospechosa de proteína monoclonal (PM) e inmunofijación sérica (IFs) positiva.

Conclusiones: un cociente Kt/Lt $< 0,7$ o > 8 presenta un valor predictivo positivo (VPP) del 100 % para diagnosticar una PBJ. Un cociente Kt/Lt entre 0,7-8 y EFs no sospechosa de PM, IFs no detectable o una concentración de Kt en orina $< 7,1$ mg/l y de Lt $< 3,9$ mg/l, excluyen una PBJ con un valor predictivo negativo (VPN) del 98,2 %, 97,4 % y 96,4 % respectivamente.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00012

López Gómez JM, Sacristán Enciso B, Rodríguez Hernández M, Gómez Vera S. Algoritmo para el cribado de la proteinuria de Bence Jones en el laboratorio. Rev Med Lab 2020;1(1):4-9

Keywords:

Algorithm. Bence Jones. Kappa/Lambda light chain ratio. Screening urin.

Abstract

Introduction: immunofixation in urine (oIFE) is the most sensitive and specific routine procedure for the detection and identification of Bence-Jones proteinuria (BJP). The purpose of our study was taking into account the quotient Kt/Lt ratio in urine, establish some cut-off points to confirm the existence of BJP and perform an algorithm, to reduce the number of oIFE to be performed.

Material and methods: we selected 763 oIFE immunofixation in urine performed between 2005 and 2017 at the Health Area of Badajoz.

Results: 225 urine samples showed a Kt/Lt ratio < 0.7 or > 8 . All oIFE was positive. With a Kt/Lt ratio between 0.7 and 8, there were 495 urine, in 59 the oIFE was positive. Most of them (76.27 %) presented an SPE that were suspicious of monoclonal protein (MP) and serum immunofixation (sIFE) positive.

Conclusions: a Kt/Lt ratio < 0.7 or > 8 , predicts a BJP with a positive predictive value of 100 %. In the case of urine with a Kt/Lt ratio in urine between 0.7-8, an serum protein electrophoresis (SPE) nor suspicious of MP, a sIFE not detectable in case of suspicion of MP in, or a concentration of Kt and Lt in urine < 7.1 mg/L and < 3.9 mg/L, exclude a PBJ with a negative predictive value of 98.2 %, 97.4 % and 96.4 %, respectively.

INTRODUCCIÓN

La electroforesis de proteínas séricas (EFs) constituye, por norma general, el primer paso en la búsqueda de una proteína monoclonal (PM), seguida de la realización de una electroforesis de proteínas urinarias (EFo). En el caso de sospecharse una PM, se realiza una inmunofijación sérica (IFs) o urinaria (IFo) que permite identificar el isotipo de inmunoglobulina implicada, con su posterior cuantificación (1,2). La finalidad del estudio analítico de una PM en orina, radica en detectar e identificar la presencia de cadenas ligeras libres Kappa o Lambda (PBJ) de inmunoglobulinas monoclonales o sus fragmentos, de un clon que prolifera (3,4).

La excreción de PBJ tiene un significado tanto diagnóstico como pronóstico importante. Deben investigarse en el diagnóstico y seguimiento de las gammopatías monoclonales de significado incierto (GMSI) (5), mieloma múltiple (MM), especialmente en el mieloma de cadenas ligeras, macroglobulinemia de Waldenström, linfomas, amiloidosis AL y enfermedad por depósito de cadenas ligeras (4,6).

La concentración en orina de la PBJ varía ampliamente y depende esencialmente de la masa tumoral, la función renal, y las características moleculares de la proteína. Una concentración en orina de la cadena afectada superior a 0,2 g/L indica habitualmente una proliferación maligna de células B como el MM. Concentraciones inferiores a 0,1 g/L se pueden encontrar en MM tratados con respuesta parcial, en el 25 % de los casos de GMSI, amiloidosis AL, enfermedad por depósito de cadenas ligeras, neoplasias proliferativas de células B (especialmente en la leucemia linfocítica crónica), y en el linfoma no-Hodgkin (7).

La IFo es el procedimiento de rutina más sensible y específico para la detección e identificación de la PBJ (8-11). No obstante, debido a la laboriosidad, el coste del procedimiento y el moderado porcentaje de resultados positivos sobre la demanda, es conveniente la utilización de procedimientos de cribado de las peticiones (12).

Métodos inmunoquímicos como la nefelometría o turbidimetría pueden ser usados para la detección de PBJ como cribado inicial. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la cuantificación puede ser no fiable en los casos de elevadas concentraciones de antígenos, además de que los antisueros no identifican la clonalidad de las cadenas ligeras y frecuentemente la PBJ coexiste con cadenas ligeras libres policlonales, como ocurre en lesiones tubulares renales (13) y los métodos inmunoquímicos en fase líquida no permiten identificar la monoclonalidad de las cadenas ligeras. Sin embargo, como la cadena afectada estará elevada con respecto al componente policlonal, un cociente Kappa/Lambda en orina alterado permite sospechar la presencia de PBJ (7,12,14,15). Basándonos en un cociente (Kt/Lt) alterado, han sido propuestos diferentes puntos de corte en orina como cribado, para disminuir la realización de IFo (12,14,16).

Teniendo en cuenta que la EFs constituye el primer paso en la búsqueda de la PM, y que aproximadamente el 67 % de los pacientes con una PM en suero excretan PBJ en orina (17), el objetivo de nuestro estudio fue establecer un punto de corte y realizar un algoritmo basado en el cociente Kt/Lt en orina, EFs e IFs que pueda contribuir a mejorar el rendimiento diagnóstico del cribado de la PBJ, disminuyendo el número de IFo a realizar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población estudiada

Se trató de un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo donde se revisaron las IFo realizadas entre los años 2005 a 2017 en el Hospital Universitario de Badajoz y su Área de Salud. Se seleccionaron las IFo correspondientes a 763 pacientes a las que además se había solicitado EFs, IFs y cuantificación de cadenas Kt y Lt en orina. Para la realización de este estudio se obtuvo la aprobación del Comité Ético del Hospital.

Al 99,9 % de estos pacientes se les había solicitado una EFs o IFs en la misma petición que la IFo en días anteriores. Clasificamos estos 763 pacientes en 3 grupos:

1. EFs no sospechosa de PM (NSPM) (238).
2. EFs sospechosa de PM (SPM) (414).
3. Pacientes con MM diagnosticados que estaban en diferentes fases de respuesta al tratamiento (111).

Se consideró una EFS no sospechosa cuando se observó un patrón normal o un patrón policlonal perfectamente definido.

Se consideró una EFs sospechosa en los siguientes casos:

- Cuando se observó un pico alto y delgado de más o menos altura, en la región gamma o en la beta, y más rara vez, en la región de la globulina alfa 2 (18).
- Cuando coexisten pequeños picos semicultos coincidiendo en las fracciones beta o gamma globulinas (18,19).
- Cuando se objetiva hipogammaglobulinemia (20).

Obtención de las muestras

Las muestras séricas fueron extraídas entre las 8-10 horas de la mañana, obteniéndose el suero por centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos. La EFs se realizó la misma mañana. La IFs fue realizada tras conservar las muestras séricas 24 horas a 4 °C.

La cuantificación de Kappa y Lambda se realizó en orina de 24 horas, en la misma mañana de la recepción, tras centrifugarse a 3000 rpm durante 10 minutos (20,21). Se congeló una alícuota a -20 °C sin conservantes hasta el momento de la realización de la IFo. Debido a que el límite de detección mínimo de la IFo para las cadenas ligeras era de 3 mg/l con los antisueros anti-Kt y anti-Lt, todas las orinas con una concentración de Kt y Lt totales < 25 mg/l fueron concentradas 100 veces, con concentradores minicon B15 (Merck Millipore LTD).

Métodos analíticos

La EFs fue realizada usando un sistema de electroforesis capilar, CAPILLARYS 2 (Sebia, París-Francia). Las IFs e IFo se realizaron en el sistema semiautomático

Hydrasis (Sebia, París-Francia), siguiendo el protocolo de trabajo establecido por Sebia para la realización de las IFs e IFo en el gel de agarosa (Hydragel 2/4 IF e Hydragel 2/4 IF BJ).

La cuantificación de cadenas ligeras totales en orina se realizó por nefelometría en un autoanizador BN Prospec (Siemens, Marburg-Alemania), utilizando los reactivos *N Antisera to Human Immunoglobulin/K* y *N Antisera to Human Immunoglobulin/L* (Siemens), con una sensibilidad de 7,1 mg/l y de 3,9 mg/l respectivamente.

Métodos estadísticos

El análisis estadístico fue realizado usando la hoja de cálculo Excel (Microsoft Office Software) y el programa estadístico SPSS (20.0) para Windows.

Se utilizaron curvas de eficacia diagnóstica *receiver operating characteristic (ROC)* para establecer los puntos de corte más adecuados en función de la sensibilidad y especificidad.

RESULTADOS

El rango de normalidad calculado para el cociente Kt/Lt se situó entre 0,75-3,86.

Al realizar la curva ROC (Fig. 1), se eligió un cociente Kt/Lt > 8 para detectar una PBJ Kappa, y < 0,7 para detectar una PBJ Lambda, con una sensibilidad del 61 % y 100 % y una especificidad del 55 % y 34,8 % respectivamente.

De las 763 orinas, 225 presentaron un cociente Kt/Lt < 0,7 o > 8, todas con IFo positiva (68 de ellas correspondían al grupo de MM en diferentes fases de tratamiento). Este cociente detectó una PBJ con un valor predictivo positivo (VPP) del 100 % (Tabla I).

Con un cociente Kt/Lt comprendido entre 0,7-8, se encontraron 495 orinas, ninguna perteneciente a MM en tratamiento. De estas 495 orinas, 226 (45,45 %) mostraron una EFs NSPM, presentando todas IFs no detectable. Las 269 restantes (54,54 %), tuvieron una EFs SPM. De estas, 119 presentaron una IFs no detectable y en 150 la IFs objetivó una PM. De estas 495 orinas, 59 presentaron PBJ (Fig. 2).

De estas 59 orinas con PBJ, 45 (76,27 %), presentaron una EFs sospechosa de proteína monoclonal (PM), IFs positiva y Kt en orina > 7,1 mg/l y Lt > 3,9 mg/l (Tabla II).

En la tabla III podemos observar la probabilidad de diagnóstico de una PBJ teniendo en cuenta una EFS SPM, una EFs positiva o una concentración de kt en orina > 7,1 mg/l y Lambda total > 3,9 mg/l.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se propuso un algoritmo para cribar las posibles PBJ y disminuir el número de IFo a realizar (Fig. 3).

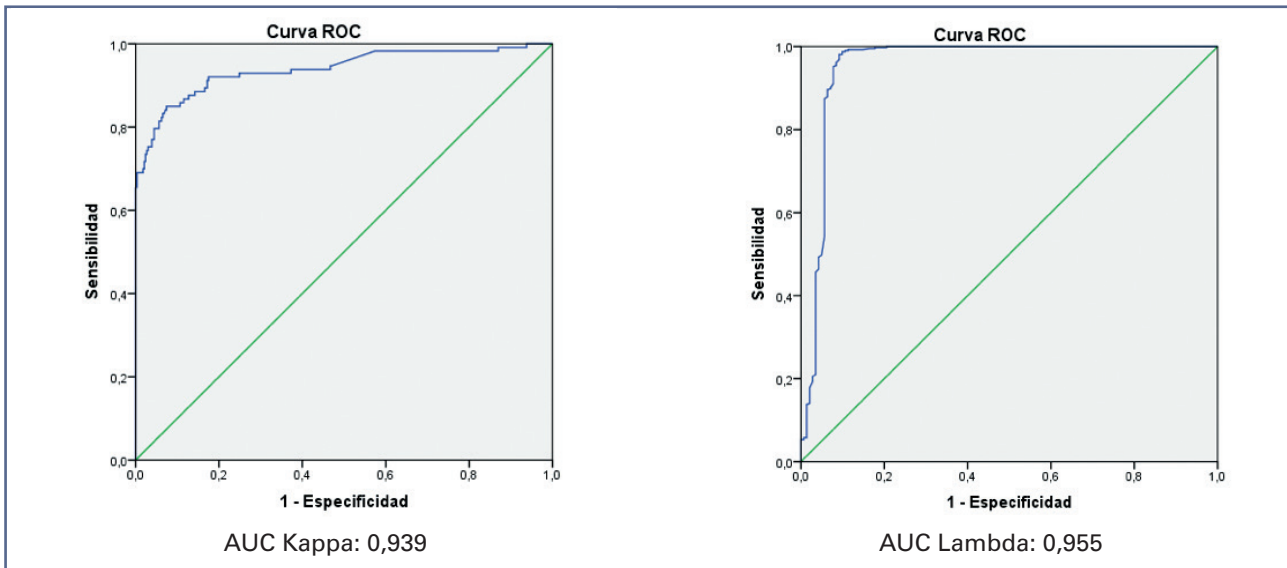


Figura 1 – Curvas de eficiencia diagnóstica (ROC) para el cociente Kappa total/Lambda total para la detección de proteinuria de Bence-Jones (AUC: área bajo la curva).

Tabla I.

Valor predictivo positivo (VPP) para detectar proteinuria de Bence-Jones (PBJ) con unos valores discriminantes para Kt/Lt en orina < 0,7 o > 8

	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP %	VPN %
Kt/Lt < 0,7 o > 8 identifica PBJ con respecto a la población total	66,5	100	100	85,7

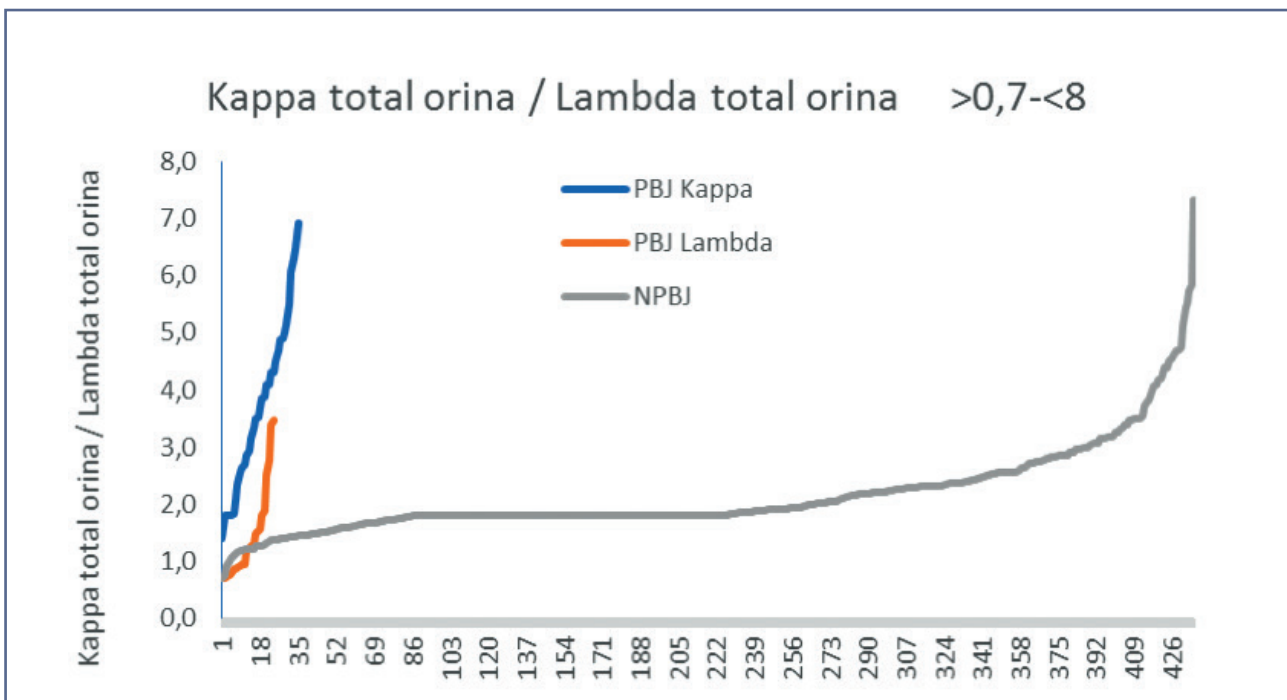


Figura 2 – Proteinuria de Bence Jones en orinas con cociente Kt/Lt 0,7-8 (PBJ Kappa: proteinuria de Bence Jones tipo Kappa; PBJ Lambda: proteinuria de Bence Jones tipo Lambda; NPBJ: no proteinuria de Bence Jones).

Tabla II.
Distribución de las 59 PBJ con cociente Kappa total/Lambda total 0,7-8

Orinas Kt/Lt 0,7 - 8				
Grupos	Total (495)	PBJ (59)	% PBJ respecto total de su grupo	% PBJ respecto total PBJ (59)
EFs NSPM	226	4	1,76	6,77
EFs SPM + IFs ND	119	5	4,2	8,47
EFs SPM + IFs positiva + Kt < 7,1 mg/l y Lt < 3,9 mg/l	67	5	7,4	8,47
EFs SPM + IFs positiva + Kt > 7,1 mg/l y Lt > 3,9 mg/l	83	45	54,2	76,27

PBJ: proteinuria de Bence Jones. EFs NSPM: electroforesis de proteínas séricas no sospechosa de proteína monoclonal. SPM: sospecha de proteína monoclonal. IFs: inmunofijación sérica. ND: no detectable. Kt: Kappa total orina. Lt: Lambda total orina.

Tabla III.
Probabilidad de diagnóstico de la PBJ (proteinuria de Bence-Jones), teniendo en cuenta una EFS SPM (electroforesis de proteínas séricas sospechosa de proteína monoclonal), IFs (inmunofijación sérica) o Kappa total en orina > 7,1 mg/l y Lambda total en orina > 3,9 mg/l

Kt/Lt > 0,7 - < 8	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
EFs SPM	92,9	50,6	19,6	98,2
IFs detectable	88 %	77,5	34,6	97,9
EFS SPM + IFs detectable	93,2	51,14	20,4	98,2
Kappa total > 7,1 mg/l y Lambda total > 3,9 mg/l	91,5	32,8	15,8	96,4
EFs SPM + Kt > 7,1 mg/dL y Lt > 3,9 mg/dL	100	17,8	14,1	100
IFs detectable + Kt > 7,1 mg/dL y Lt > 3,9 mg/dL	100	22,4	14,8	100
EFs SPM + IFs detectable + Kt > 7,1 mg/l y Lambda > 3,9 mg/l	100	17,8	14,1	100

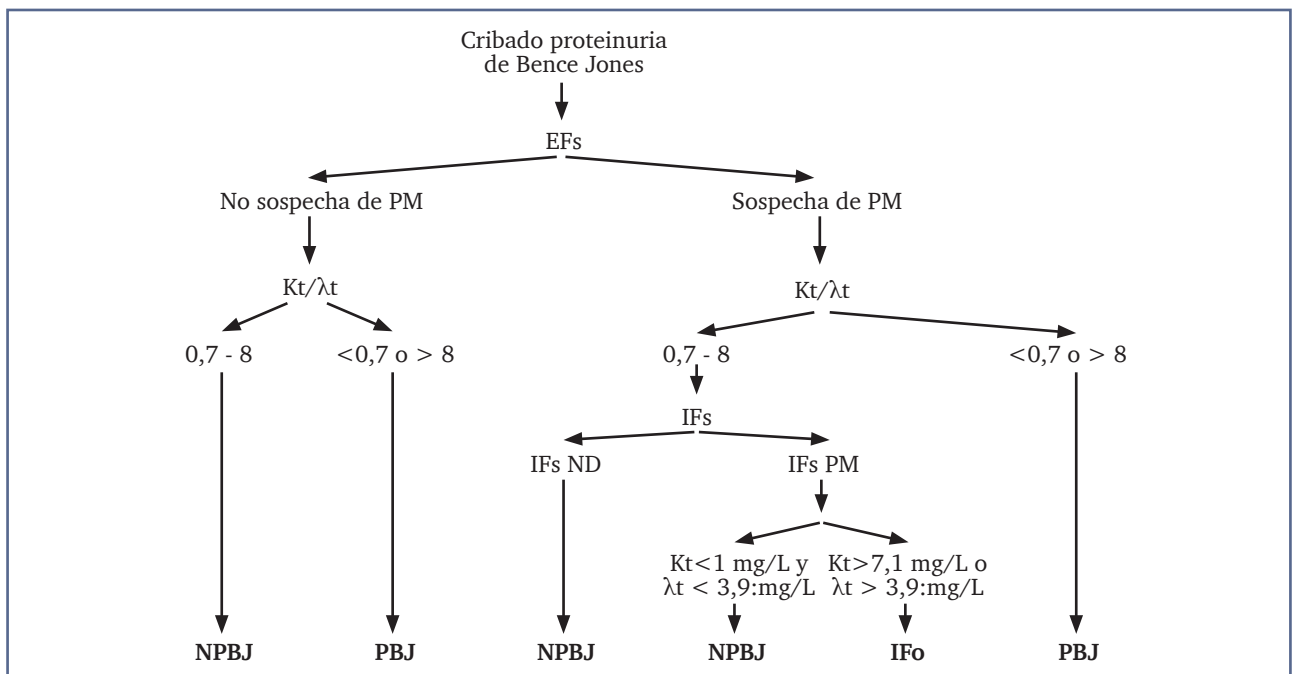


Figura 3 – Algoritmo para cribado de proteinuria de Bence Jones (PBJ) (EFS: electroforesis de proteínas séricas; Kt: Kappa total orina; λt: Lambda total orina. IFs: inmunofijación sérica; ND: no detectable; PM: proteína monoclonal; NPBJ: no proteinuria de Bence Jones).

DISCUSIÓN

Aunque en el laboratorio de análisis clínicos, la IFO es el método más sensible y específico para identificar una PBJ, en la práctica diaria, se utilizan diferentes puntos de corte para el cociente Kt/Lt con el objetivo de disminuir el número de IFO a realizar. Sin embargo, estos puntos de corte plantean problemas; con resultados obtenidos por encima o por debajo de ellos, encontramos falsos positivos, y de la misma forma, con valores obtenidos entre estos puntos de corte encontramos resultados falsos negativos.

Entre los diferentes autores, algunos se centran más en establecer unos puntos de corte a partir de los cuales se pueda diagnosticar una PBJ, como Boege y cols., que usando un punto de corte < 1 o $> 5,2$ refieren una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98,6 % para detectar MM con PBJ (16). Sin embargo, en nuestro estudio, para valores comprendidos entre 1-5,2 encontramos 479 orinas, 42 (8,76 %) de ellas con IFO positivas.

Otros autores, se centran más en descartar una PBJ. De esta forma, Levinson y cols. propusieron un punto de corte entre 0,75-3,1, no encontrando PBJ dentro de este intervalo (14). En nuestro estudio de 424 orinas con cociente entre 0,75-3,1, encontramos 32 (7,5 %) IFO positivas dentro de este intervalo.

También Bergón y cols. proponen que con un punto de corte entre 1-2,8, se descarta el 68,2 % de las investigaciones de PBJ en especímenes con proteinuria patológica (12). Entre 1-2,8 de 390 orinas, 22 (5,6 %) tuvieron IFO positiva, de ellas 7 presentaron microalbuminuria, 6 macroalbuminuria y 2 proteinuria en rango nefrótico.

En nuestro estudio, con un cociente Kt/Lt $< 0,7$ o > 8 , 59 orinas tuvieron PBJ.

Una EFS NSPM, una IFs no detectable en el caso de EFS SPM y una concentración de Kt y Lt $< 7,1$ mg/l y $< 3,9$ mg/l presentaron unos VPN del 98,2 %, 97,9 % y 96,4 % para descartar una PBJ, llegando al 100 % si estas orinas presentaban una concentración de Kt y Lt $< 7,1$ mg/l y $< 3,9$ mg/l junto a una EFS NSPM o IFs no detectable.

Por tanto, tal y como muestra el algoritmo, dentro del intervalo Kt/Lt entre 0,7 y 8, aquellas orinas que presentaran EFS SPM, IFs positiva y Kt $> 7,1$ mg/l y Lt $> 3,9$ mg/l sería necesario realizarles IFO para descartar PBJ, en nuestro estudio, al 15,9 % del total.

CONCLUSIONES

Un cociente Kt/Lt $< 0,7$ o > 8 nos permite poner de manifiesto una PBJ en el 100 % de orinas no diagnosticadas de MM.

Una EFS NSPM, una IFs no detectable en el caso de EFS SPM o una concentración de Kt $< 7,1$ mg/l y Lt $< 3,9$ mg/l, nos descarta una PBJ con unos VPN del 98,2 %, 97,9 % y 96,4 %, respectivamente.

La realización de IFO para realizar un cribado de PBJ en orinas con cociente Kt/Lt comprendido entre 0,7-8, se le debe de realizar a aquellas orinas que presenten una EFS SPM, IFs positiva y Kt $> 7,1$ o Lt $> 3,9$ mg/l.

BIBLIOGRAFÍA

- Martínez-Brú C, García Sanz R, Martínez-López J. Recomendaciones para el estudio de las gammopatías monoclonales. Documento de consenso. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) y Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (AEHH). Comité Científico. Comisión de Proteínas1 (SEQC) y Grupo Español de Mieloma2 (AEHH). Documento I. Fase 3. Versión 3. Documentos de la SEQC 2009.
- International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003;121:749-57.
- Merlini G, Aguzzi F, Wicher J. Monoclonal gammopathies. *JIFCC* 1997;9:171-6.
- Aguzzi F, Wicher JT, Johnson AM. Bence Jones protein. En: Ritchie RF, Navolotskaia O, editors. *Serum proteins in Clinical Medicine*, Scarborough, Maine. 1st ed. Foundation for Blood Research & Beckman Instruments Inc, 1996;1:11.04.
- Dammaco F, Waldestrom J. Serum and urine light chain levels in benign monoclonal gammopathies, multiple myeloma and Waldstrom's macroglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 1968;3:911-21.
- Beetham R. Detection of Bence Jones protein in practice. *Ann Clin Biochem* 2000;37:563-70.
- Viedma Contreras JA. Aspectos clínicos y de laboratorio de las proteínas de Bence Jones. *Ed Cont Lab Clín* 2005;8:27-32.
- Pascali E. Bence Jones proteins identified by immunofixation electrophoresis of concentrated urine. *Clin Chem* 1994;40:945-6.
- Matsuda K, Hiratsuka N, Koyama T, Kurihara Y, Hotta O, Itoh Y, et al. Sensitive method for detection and semiquantification of Bence Jones protein by cellulose acetate membrane electrophoresis using colloidal silver staining. *Clin Chem* 2001;47:763-6.
- Sheat JM, Lorier MA. A simple silver-staining technique for detecting Bence Jones proteins in unconcentrated urine. *Clin Chem* 1987;33:561-3.
- Aguzzi F, Gasparro C, Bergami R, Merlini G. High sensitivity electrophoretic method for the detection of Bence Jones protein and for the study of proteinuria in unconcentrated urines. *Ann Clin Biochem* 1993;30:287-92.
- Bergón E, Bergón M. Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones. *Quim Clin* 1999;18:266-70.
- Graziani M, Merlini G, Petrini C. Guidelines for the Analysis of Bence Jones Protein. IFCC Committee on Plasma Proteins; SIBioC Study Group on Proteins. *Clin Chem Lab Med* 2003;41(3):338-46.
- Levinson SS. An algorithmic approach using k/l ratios to improve the diagnostic accuracy of urine protein electrophoresis and to reduce the volume required for immunoelectrophoresis. *Clin Chim Acta* 1997;262:121-30.
- Martínez-Brú C, Cortés M. Protocolo de estudio de la proteinuria. Documento de la Comisión de Proteínas de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. *Química Clínica* 1998;17:389-91.
- Boege F, Koehler B, Liebermann. Identification and quantification of Bence-Jones proteinuria by automated nephelometric screening. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990;28:37-42.
- Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC, Lymp JF, Larson T, Kyle RA, et al. Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma. *Clin Chem* 2002;48(4):655-7.
- Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:108-13.
- Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology* 2003;121:749-57.
- Kyle RA. Sequence of testing for monoclonal gammopathies. Serum and urine assays. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:114-8.
- Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, Gorevic PD, Kyle RA, Tomar RH. Guidelines for clinical and laboratory evaluation of patients with monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:106-7.