

COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX

*Organisme de formation continue n°82 07 00551 07*

**31<sup>èmes</sup> Journées Nationales**

**Jeudi 26 et vendredi 27 janvier 2023**

hôtel Ibis Paris 17 Clichy-Batignolles

**DECLARATION D'INTERET  
DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION  
RÉALISÉES POUR LE CNBH**

Dr Roubille, exerçant au Laboratoire de Biologie Médicale du CH Pierre Oudot, Bourgoin-Jallieu

Dr Caspar-Bauguil, exerçant au Laboratoire de Biochimie, CHRU de Toulouse

Dr Plawecki exerçant au Laboratoire de Biochimie, CHU de Montpellier

Déclarent **ne pas avoir d'intérêt**, direct ou indirect (financier), avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le sujet et les DMDIV présentés.**

# Retour d'expérience

## Utilisation du gel Urine Profil(e) pour le typage des protéines urinaires

26/01/2023

Journées Nationales du Collège de Biochimie

Sylvie CASPAR-BAUGUIL Laboratoire de Biochimie, CHU Toulouse

Maëlle PLawecki, Laboratoire de Biochimie Hormonologie, CHU Montpellier

Martine ROUBILLE, Laboratoire de Biologie Médicale, Centre Hospitalier Pierre Oudot

# Contexte de ce travail

- La démarche d'accréditation des électrophorèses des protéines urinaires (EPU) a mis en évidence l'absence de CIQ et de CEQ pour cet examen biologique.
- Dans ce contexte, un CIL inter-laboratoire a été mis en place depuis 2019 regroupant 7 Laboratoires participants dont 4 utilisent les gels Urine Profil(e), Société SEBIA.
- Depuis, un CEQ a été mis en place (Asqualab).
- L'exploitation des résultats du CIL a fait ressortir un manque d'hétérogénéité dans les conclusions d'où l'idée de ce travail.

# Indications des EPU

- Orientation diagnostique devant une néphropathie aiguë ou chronique
- Dépistage et diagnostic de la maladie rénale chronique
- Diagnostic et suivi d'une tubulopathie
- Diagnostic d'une gammopathie monoclonale
- Suivi du myélome à CLL avec pic mesurable dans les urines, amyloïdose
- Dépistage et diagnostic d'une atteinte rénale au cours d'une gammopathie monoclonale

HAS / guide du parcours de soins, Maladie rénale chronique : Juillet 2021

HAS Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique Myélome multiple 2010

*Typage des protéinuries : comment, pourquoi et pour qui ?* Nicolas Pallet Jean-Philippe Bastard Sophie Claeysens Soraya Fellahi Pierre Delanaye Laurence Piéroni Elizabeth Caussé Pour le groupe de travail SFBC, SFNDT, SNP, Ann Biol Clin 2019 ; 77 (1) : 13-25

# Retour des cliniciens prescripteurs

**Demande très dépendante des pratiques des cliniciens .**

Principaux prescripteurs sur les 3 sites confondus

Par ordre décroissant : médecine interne > hématologie > néphrologie > cardiologie

## **Avis du néphrologue du CHPO :**

- Glomérulaire sélectif : si l'albumine > 80% (en pratique > 50%)
- Notion d'atteinte Mixte : peu utilisé en pratique sauf en cas d'atteinte tubulaire :
  - atteinte aiguë : > 80% de protéines d'atteinte tubulaire
  - atteinte chronique : tubulaire 60% / albumine 40%

# Retour des cliniciens prescripteurs

## Avis de l'hématologue du CHU de Montpellier

### 2 indications :

- Caractériser la protéinurie.
  - Seuil d'albumine  $\geq 50\%$  → atteinte glomérulaire (à confronter à la protéinurie des 24h)
- Identifier et suivre le composant monoclonal.
  - Protéinurie de surcharge à chaînes légères libres monoclonales

# Prélèvement urinaire : Recommandations SEBIA

- Recueil simple : urine fraîche de 24h, *ou 1ère ou 2ème miction du matin*
- Conservation :
  - Urines fraîchement émises : conservation 1 semaine à +4°C.
  - Congélation à -70°C 1 mois
  - Congélations-décongélation déconseillées : possible trace au point de dépôt (dénaturation des protéines ou en présence d'Ig, des fragments de chaînes lourdes sans correspondance avec des chaînes légères)
  - Centrifuger avant analyse (10 min rpm 3000)
  - Pas d'acide borique

# En pratique

- Pas d'échantillon prélevé sur tube boraté.
- Prélèvement sur une miction (peu importe l'heure ou première miction) ou échantillon urines de 24 h (rarement).
- Centrifugation avant ou après la bandelette.
- Pas de concentration des urines.
- Recherche éventuelle de GB,GR, nitrites par bandelette urinaire.
- GB/GR : Les GB/GR signent une infection urinaire possible qui peut interférer avec cet examen.

# Principe analytique

Électrophorèse sur gel d'agarose :

Piste ELP = dépôt des urines sans anti-sérum

Piste Tub = antisérum anti-protéines tubulaires (A1 $\mu$ , RBP, B2 $\mu$ )

*Seuil détection 6 mg/L*

Piste Alb = antisérum anti-albumine et A2M

*Détection 3 mg/L*

Piste GAM = antisérum anti-Ig trivalent (Ig GAM)

Piste K = antisérum anti-CLL kappa totales (libres + liées)

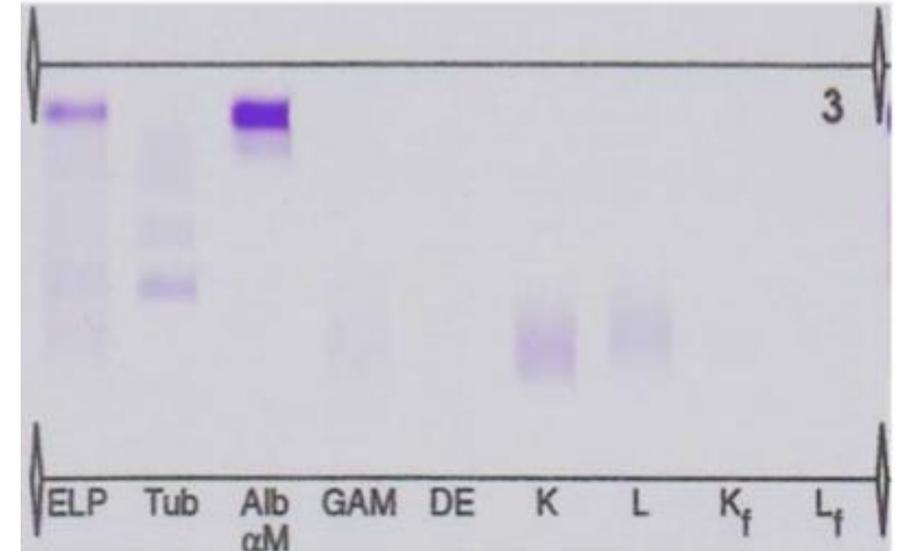
Piste L = antisérum anti-CLL lambda totales (libres + liées)

*Détection <10 mg/L*

Piste Kf = antisérum anti-CLL kappa libre

Piste Lf = antisérum anti-CLL lambda libre

*Détection 50 mg/L*



*La piste D,E n'est pas utilisé en routine*

*Les pistes Kf et Lf ne sont pas utilisées par tous les centres*

# Passage des CIQ

Absence de contrôle proposé par Sebia pour cette technique.

Différentes stratégies :

- Pool d'urines congelées de patients présentant tous les marquages des pistes avec les anti-sérums à chaque changement de lot d'antisérums.
- Contrôle sérique K et contrôle sérique L (1/10<sup>ème</sup>) à chaque changement de lot d'antisérums , de lot de gel et hebdomadaire.
- Sérum IT (1/10<sup>ème</sup>) à chaque changement de lot d'antisérums.

# Seuil pathologique de la protéinurie

- Nombreuses références pour le seuil pathologique d'une protéinurie.

**Protéinurie > 0,5 g/24h**

**A/C > 30 mg/mmol (300 mg/g)**

**P/C > 50 mg/mmol (500 mg/g)**

Société de Néphrologie  
HAS, 2011

A/C > 3 mg/mmol (30 mg/g)

P/C ≥ 30 à 70 mg/mmol (≥ 300-700 mg/g) *zone grise*

NICE guidelines, 2008, population non diabétique

Measure	Normal to mildly increased (A1)
AER (mg/24 hours)	< 30
PER (mg/24 hours)	< 150
ACR	
(mg/mmol)	< 3
(mg/g)	< 30
PCR	
(mg/mmol)	< 15
(mg/g)	< 150

KDIGO 2013

- Quel seuil retenu ?

P/C > 200 mg/g

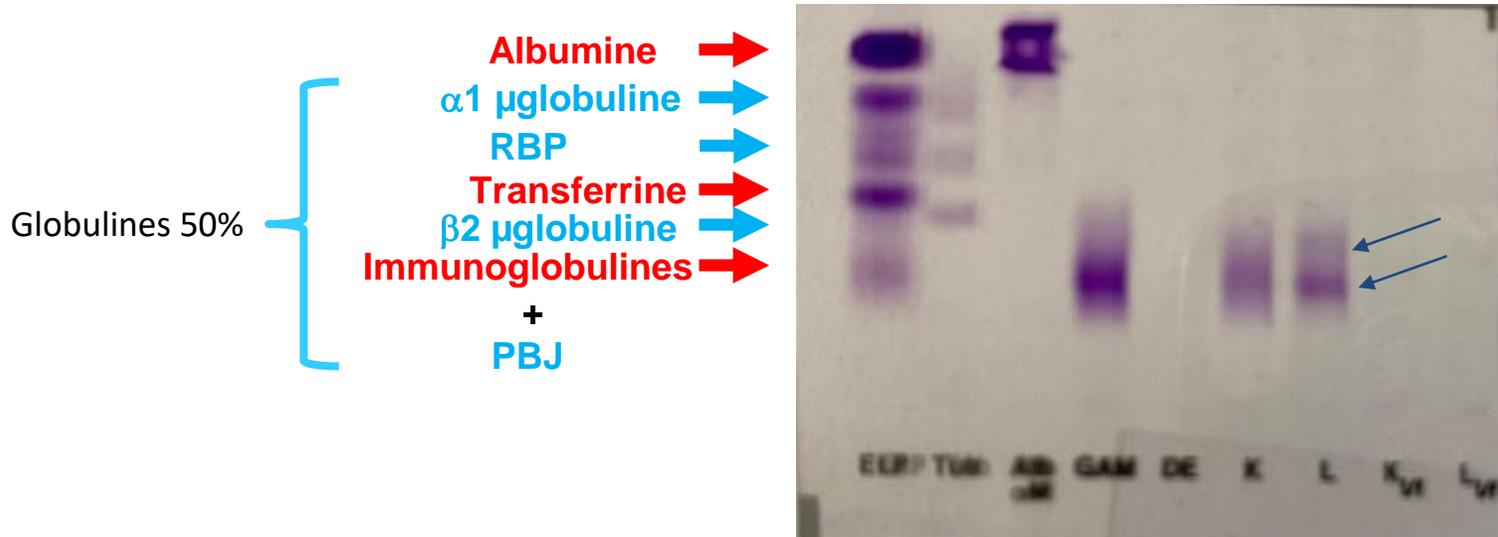
Protéinurie > 0,150 g/L (sauf hématologie ou à la demande du prescripteur)

Important pour l'annulation de l'examen biologique

# Difficultés d'interprétation du tracé

- Séparations des fractions : sebia préconise de séparer en 2 fractions, albumine et autres globulines

MAIS 2<sup>ème</sup> fraction : protéines tubulaires + transferrine + immunoglobulines + PBJ

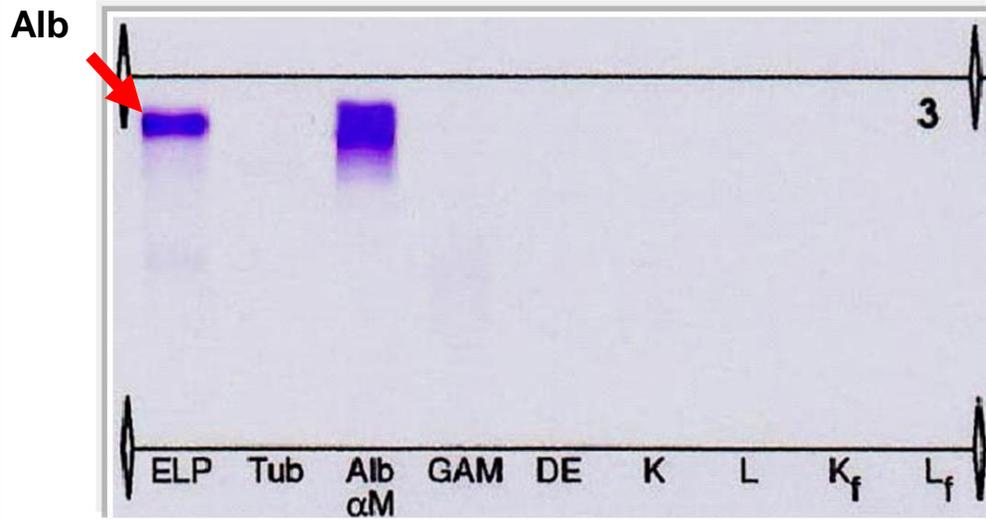


Protéinurie : 4.06 g/L

Albumine : 50% Globulines 50%

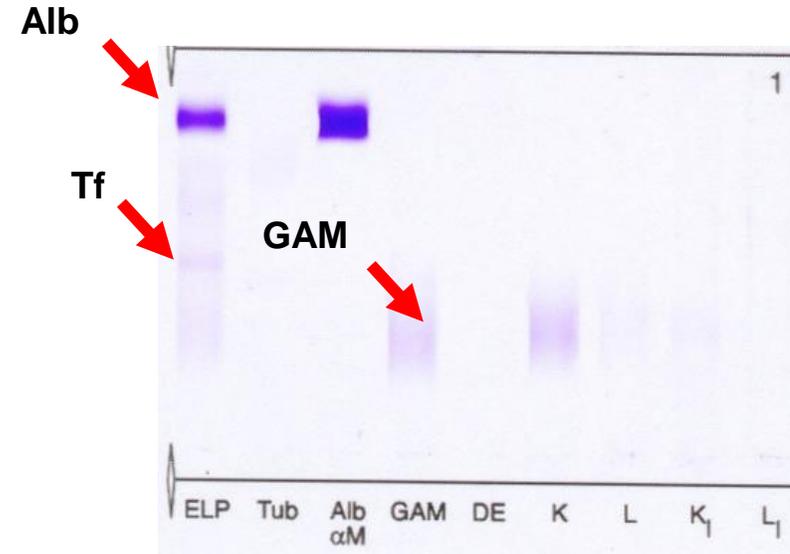
Ig complète lambda + CLL lambda de faible concentration (20 à 50 mg/L)

- Interprétation de la protéinurie glomérulaire classique: piste tubulaire vide => OK



Protéinurie: 0.6 g/L  
 Albumine: 87.9 %, absence de GAM  
 Absence de marquage sur la piste tubulaire

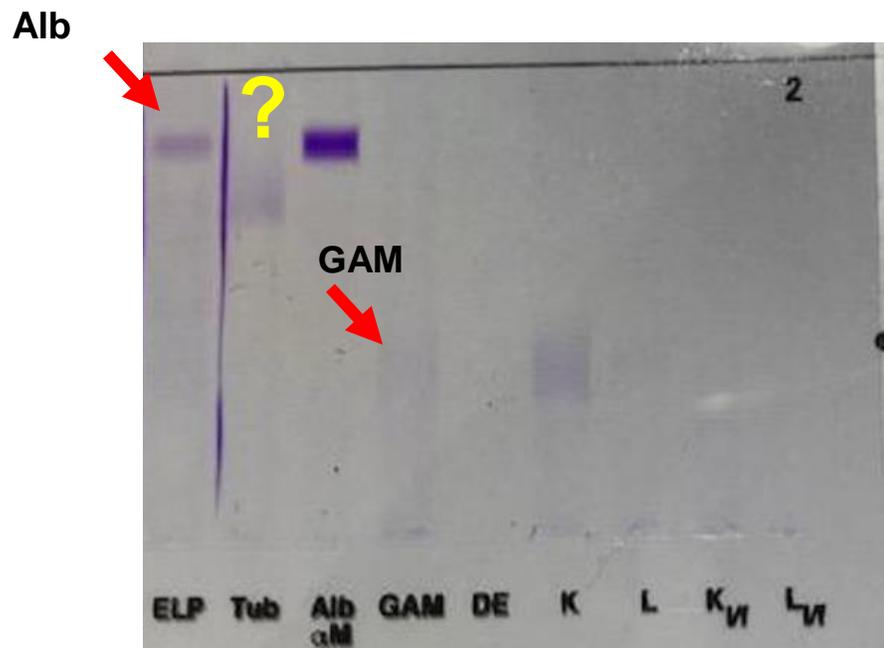
GLOMÉRULAIRE SÉLECTIVE



Protéinurie 0.6 g/L  
 Albumine < 80 %, présence de GAM (+ Tf)  
 Absence de marquage sur la piste tubulaire

GLOMÉRULAIRE NON SÉLECTIVE

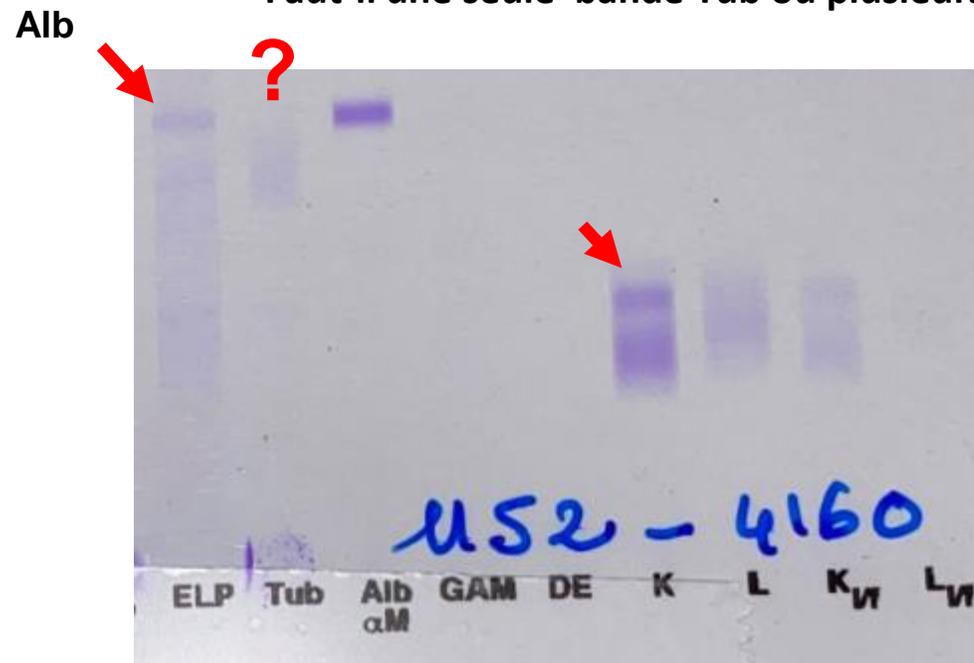
- La piste « Tub » contient souvent une bande faible et floue...  
=> protéinurie glomérulaire ou mixte?



Protéinurie 0,17 g/L .Albumine 55% Globulines 45%  
(1 marqueur tubulaire présent?, présence kappa libres?)

**GLOMERULAIRE ? Si oui NON SELECTIVE? MIXTE ? MIXTE A  
PREDOMINANCE GLOMERULAIRE?  
SE RAPPROCHE D'UNE PROTEINURIE PHYSIOLOGIQUE ?**

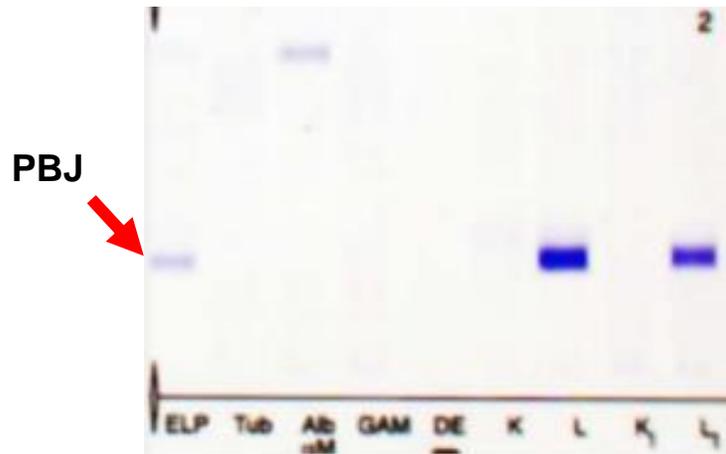
Faut-il une seule bande Tub ou plusieurs pour la définir ?



Concentration en g/L :0,12. Albumine 21% Globulines 79%  
(1 marqueur tubulaire présent?, présence kappa libres?)

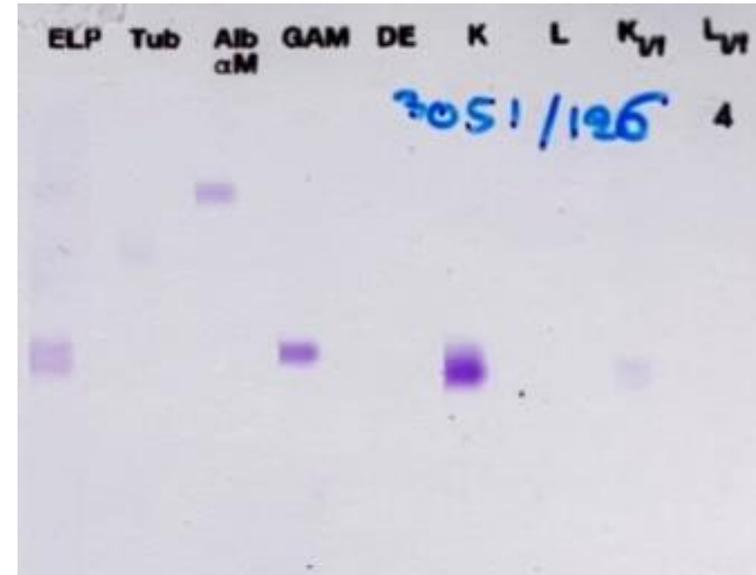
**GLOMERULAIRE? MIXTE ? MIXTE A PREDOMINANCE TUBULAIRE?  
SE RAPPROCHE D'UNE PROTEINURIE PHYSIOLOGIQUE ?**

- Protéinurie de surcharge



Protéinurie: 0,12 g/L  
 Albumine: 5 %, PBJ: 95 %, pas d'autres protéines  
 Absence de marquage sur la piste tubulaire

↓  
 DE SURCHARGE (que PBJ)



Protéinurie: 0,13 g/L  
 Albumine: 14 %, fraction monoclonale = Ig + PBJ: 65 %, pas d'autres protéines  
 Absence de marquage sur la piste tubulaire

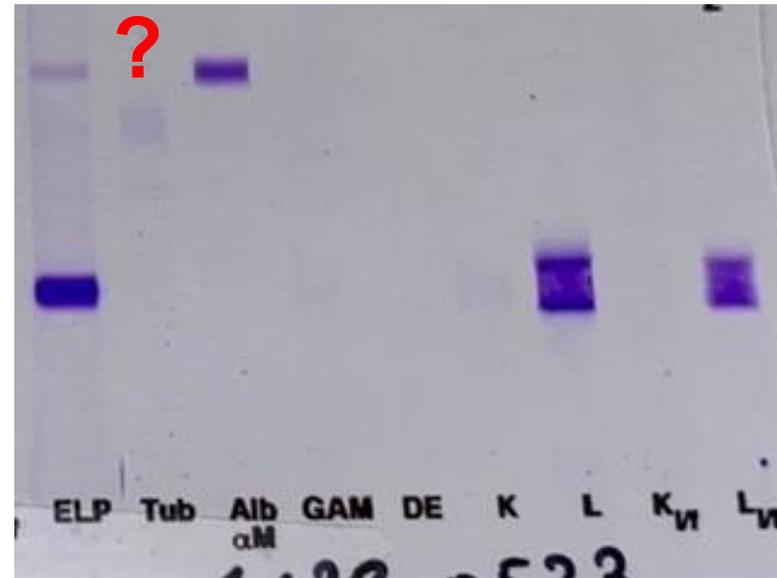
↓  
 DE SURCHARGE (Ig sérique + PBJ)

**+ Quantification de la PBJ : g/L et g/g de créat?**

▪ Surcharge ou mixte?



Protéinurie: 1,72 g/L  
 Albumine 11%, Globulines 89%  
 PBJ 82.6%



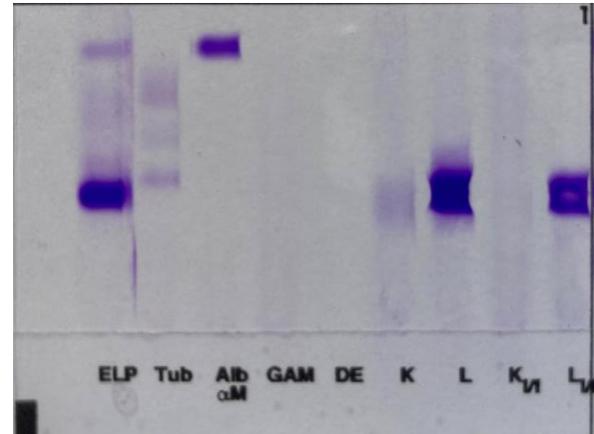
Protéinurie: 1,51 g/L  
 Albumine 4%, Globulines 96%  
 PBJ 90 %

zoom



- DE SURCHARGE ?
- DE SURCHARGE AVEC (FAIBLE) ATTEINTE TUBULAIRE ?
- MIXTE ?
- MIXTE DONT LA PROTÉINURIE GLOMÉRULAIRE EST SÉLECTIVE ?

- Surcharge ou tubulaire?



**TUBULAIRE ?  
DE SURCHARGE AVEC ATTEINTE TUBULAIRE ?  
MIXTE AVEC PBJ ?**

- Mixte (type glomérulaire à préciser ?)



Protéinurie 0.37 g/L

Albumine 57% Globulines 43%

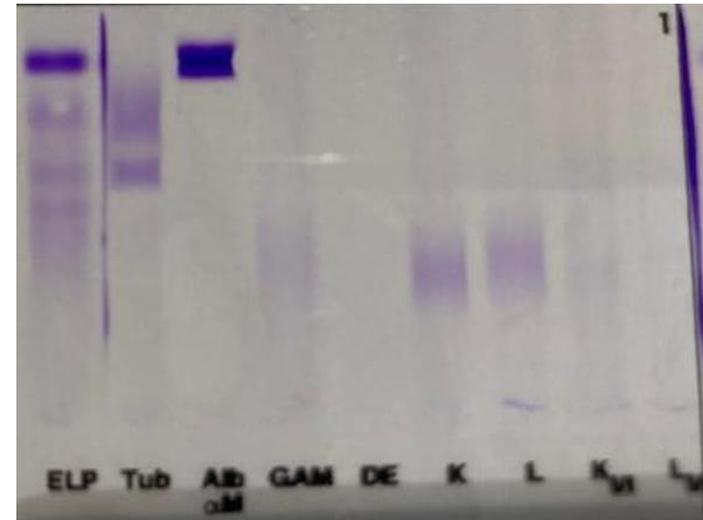
(3 marqueurs tubulaires + chaînes libres kappa)



**PROTÉINURIE MIXTE**

**MIXTE A PREDOMINANCE GLOMERULAIRE?**

**SELECTIVE? NON SELECTIVE?**



Protéinurie 0.43 g/L

Albumine 45% Globulines 55%

(2 marqueurs tubulaires + chaînes libres kappa)



**PROTÉINURIE MIXTE?**

**MIXTE À PRÉDOMINANCE GLOMÉRULAIRE ?**

**NON SÉLECTIVE ?**

**MIXTE A PREDOMINANCE TUBULAIRE?**

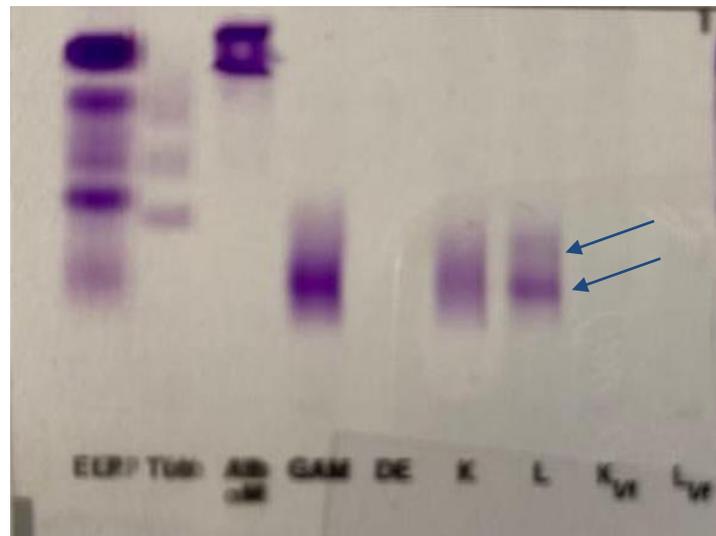
- Que fait-on de la présence du composé monoclonal?



Protéinurie : 2.67 g/L  
 Albumine : 25% Globulines 75%  
 Ig complète lambda + CLL lambda



**PROTÉINURIE MIXTE OU  
 GLOMERULAIRE NON SELECTIVE?**



Protéinurie : 4.06 g/L  
 Albumine : 50% Globulines 50%  
 Ig complète lambda + CLL lambda de faible  
 concentration (20 à 50 mg/L)

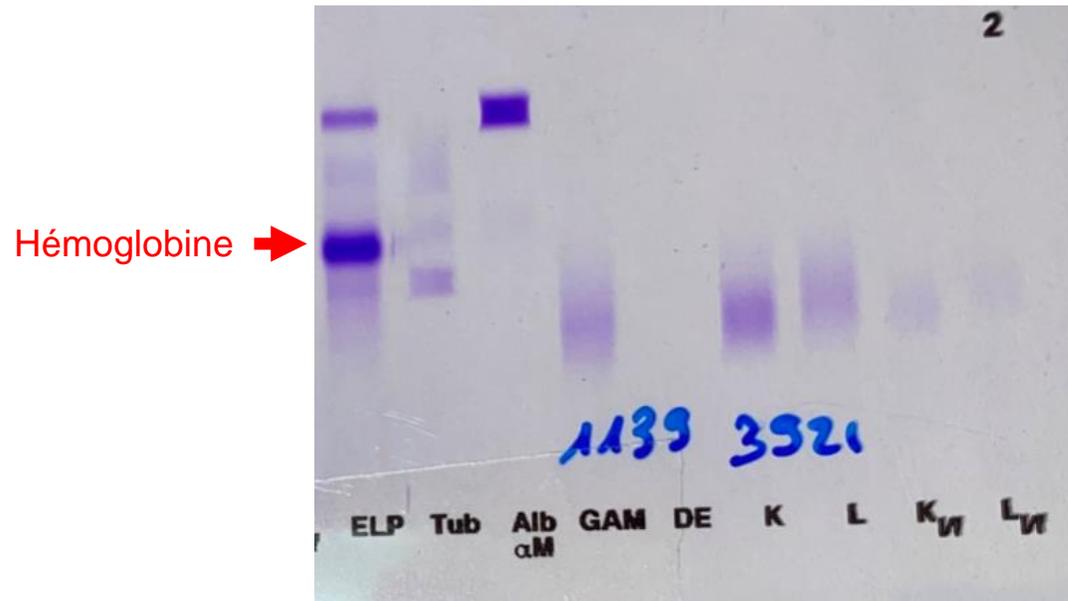


**PROTÉINURIE MIXTE**

- Présence de sang et alpha 2 macroglobuline ?

Rend-on un typage en présence d'une hémolyse? En présence de GR détecté par la centrifugation des urines et observation du culot ?

Sebia :  $\alpha 2$  macroglobuline est compatible avec une PU post-rénale.



Concentration en g/L :0,39

Sang urinaire : positif +++

Absence d' $\alpha 2$ -macroglobuline?

↓  
PROTÉINURIE MIXTE?

MIXTE DONT LA PROTEINURIE GLOMÉRULAIRE EST NON SELECTIVE?

# Difficultés d'interprétation

- A partir de quelle concentration protéinurie (en g/L ou g/g) réalise t-on l'EPU?
- Définition de la sélectivité de l'atteinte glomérulaire?  
Albumine > 80 % sur le tracé du scanner ou par calcul albuminurie sur protéinurie.
- Difficulté d'interprétation de la protéinurie mixte.  
Une seule bande ou plusieurs pour la définir.
- Si présence d'une Ig monoclonale : sélectif ou non.
- Prélèvement hémolysé, hémorragique ou hématique.

# Conclusions

- Nous avons présenté la problématique et nos interrogations.
- Pratique hétérogène sur l'interprétation et sur les examens à réaliser.
- Formation d'un groupe de travail pour proposer une CAT homogène et éventuellement proposer une banque d'image pour cette technique.

**Merci de votre attention**