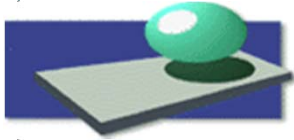


**Urines du matin comme alternative aux urines de 24 heures ?
Evaluation des lésions rénales, comparaison de la détection
du pic monoclonal et de sa quantification**

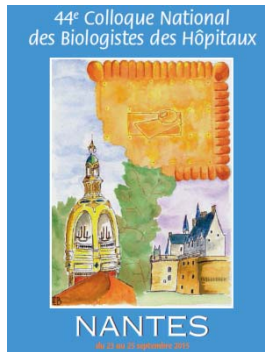


**P. BOULARD,
EVOLAB
*Thionville, France***

ACNBH



ODPC N°1495



44^{ème} Colloque National
des Biologistes des Hôpitaux
Nantes, 23-25 septembre 2015



**DECLARATION D'INTERET
DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION
REALISEES POUR L'ACNBH**

Dr Pascal Boulard,
Exerçant à Evolab, Thionville
déclare sur l'honneur

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 DMDIV et/ou le sujet présenté.**

Introduction



- L'électrophorèse des protéines urinaires (**EPU**) et leur immunofixation (**IFu**) sont centrales dans le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales. Elles permettent :
 - Le dépistage de la protéinurie,
 - Le typage du pic urinaire,
 - La quantification du pic urinaire,
 - Le typage de la lésion rénale.

La quantification du pic urinaire est un critère important utilisé :

- pour le suivi des patients,
- pour la stratification des patients
(*Classification Durie-Salmon*).

Durie-Salmon Classification			
A serum creatinine < 2 mg/dL	Stage I <ul style="list-style-type: none">• Hb > 10 g/dL• normal calcium• normal or single plasmacytoma or osteoporosis	Stage II <ul style="list-style-type: none">• neither I nor III	Stage III <ul style="list-style-type: none">• Hb < 8.5 g/dL• high calcium > 12 mg/dL• 3 or more lytic bone lesions
B serum creatinine > 2 mg/dL	<ul style="list-style-type: none">• SPEP & UPEP (peak quantitation)• IgG < 5 g/dL• IgA < 3 g/dL• BJP < 4 g/24h*		<ul style="list-style-type: none">• SPEP & UPEP (peak quantitation)• IgG > 7 g/dL• IgA > 5 g/dL• BJP > 12 g/24h*

Introduction



Selon les recommandations du groupe de travail international pour le myélome multiple (IMWG) l'évaluation de la réponse au traitement nécessite les urines de 24h.

Urines de 24h:

- difficultés de collection,
- fiabilité du recueil

Table 5 International Myeloma Working Group uniform response criteria

<i>Response</i>	<i>Response criteria^a</i>
sCR	CR as defined below plus Normal FLC ratio and Absence of clonal cells in bone marrow ^b by immunohistochemistry or immunofluorescence ^c
CR	Negative immunofixation on the serum and urine and Disappearance of any soft tissue plasmacytomas and ≤5% plasma cells in bone marrow ^b
VGPR	Serum and urine M-protein detectable by immunofixation but not on electrophoresis or 90% or greater reduction in serum M-protein plus urine M-protein level <100 mg per 24 h
PR	≥50% reduction of serum M-protein and reduction in 24-h urinary M-protein by ≥90% or to <200 mg per 24 h If the serum and urine M-protein are unmeasurable, ^d a ≥50% decrease in the difference between involved and uninvolved FLC levels is required in place of the M-protein criteria If serum and urine M-protein are unmeasurable, and serum free light assay is also unmeasurable, ≥50% reduction in plasma cells is required in place of M-protein, provided baseline bone marrow plasma cell percentage was ≥30% In addition to the above listed criteria, if present at baseline, a ≥50% reduction in the size of soft tissue plasmacytomas is also required
SD	Not meeting criteria for CR, VGPR, PR or progressive disease

Comparaison urines du matin vs urines de 24h?

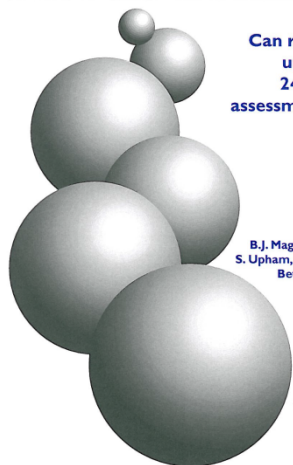
Introduction



- A notre connaissance, une seule étude a comparé les 2 modes de recueil et leur contenu en protéine de Bence Jones → Poster AACC 2001.
- Etude non publiée et faible nombre d'urines comparées (n=27).

Of the 27 urines studied 40% had monoclonal free light chains only, 26% had no abnormal bands, 19% had intact monoclonal immunoglobulin only and 15% had monoclonal free light chain and monoclonal intact immunoglobulin.

AACC POSTER PRESENTATION



Can random or first morning urines be used in place of 24-hour collections in the assessment of monoclonal light chain proteinuria?

B.J. Magnani, D. Morosini, G.L. Horowitz and S. Upham, Boston Medical Center: Boston MA
Beth Israel Deaconess Medical Center: Boston MA

Presented
August 2001

A total of 26 patients submitted a random urine: 23 of these had the same IFE result as the 24-hour urine, 1 additional BJP was picked up, but 2 M-proteins were missed (1 BJP, 1 questionable intact immunoglobulin). A total of 20 patients submitted a first morning urine: 18 of these had the same IFE result as the 24-hour urine, but 2 BJP were missed. On review, all of the M-proteins that were discordant were extremely low in concentration (<5 mg/dL) and were of doubtful clinical significance.

Bonne concordance entre urines du matin et 24h.

Discordances: certains pics non détectés dans les urines du matin/ou sur échantillon et d'autres non détectés dans les urines de 24h → toutes ces discordances concernent de faibles pics (<50mg/L) avec signification clinique douteuse.

Objectif de l'étude



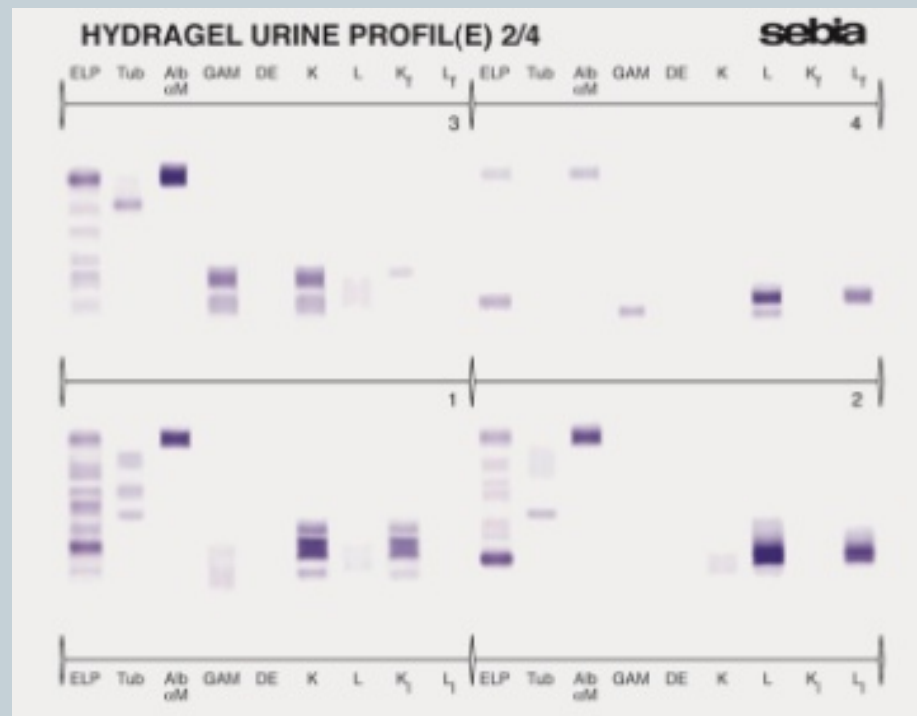
- Comparer à plus grande échelle les urines du matin versus urines de 24h (n>280 patients),
- Point comparés:
 - Typage de l'atteinte rénale (Glomérulaire, Tubulaire, Mixte),
 - Typage du pic monoclonal,
 - Quantification du pic monoclonal.

Matériel & Méthodes

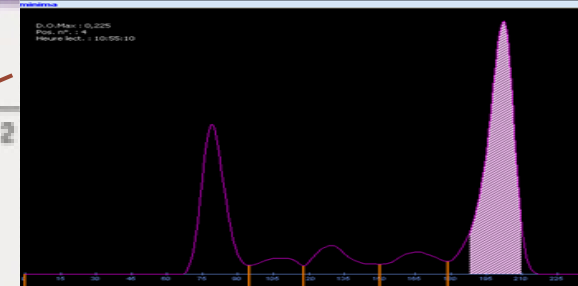
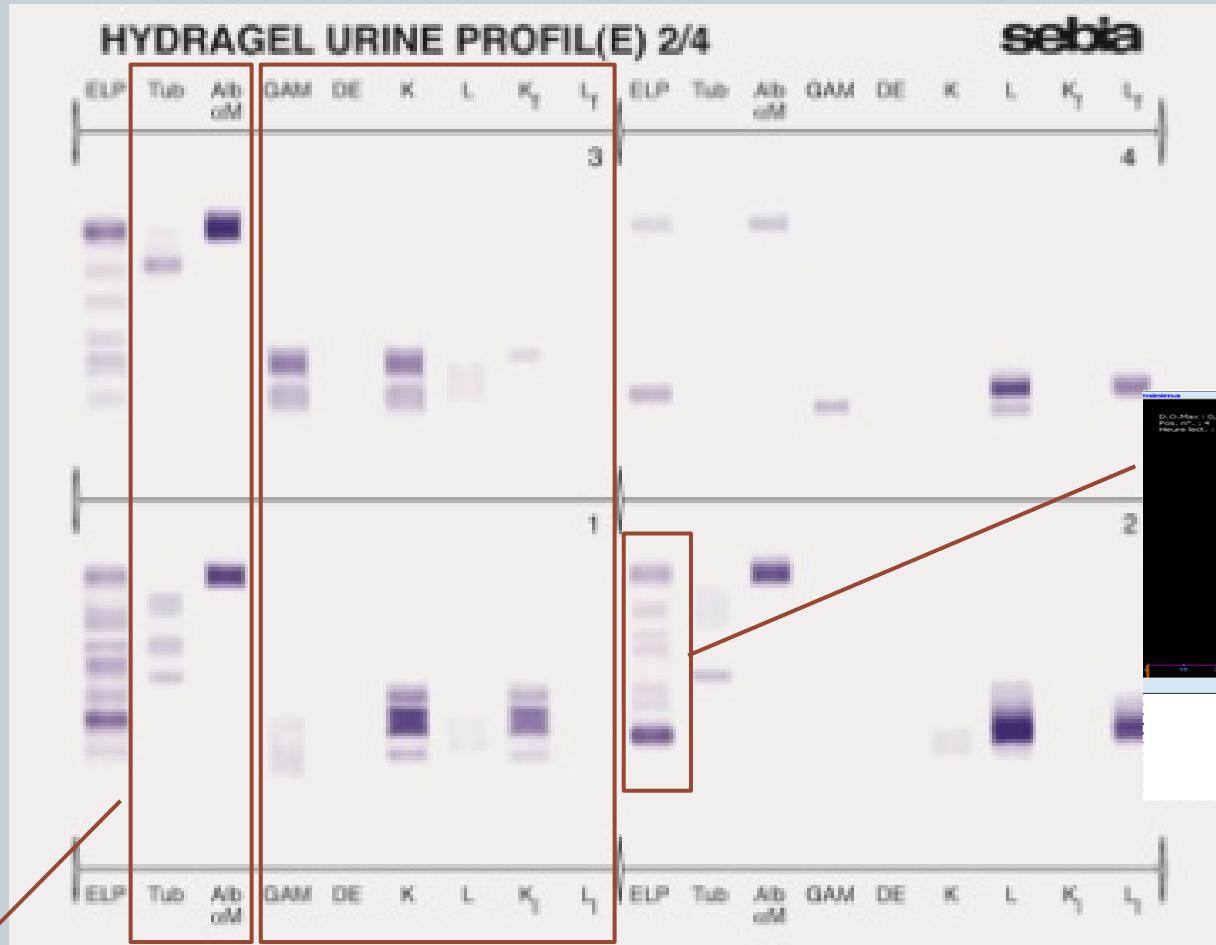


Gel d'IF urinaire:

Hydragel 4 Urine Profile en masque standard (Sebia, ref. 4832),
+ Antisérums pour Urine Profile (Sebia, ref. 4838).



Gel Urine Profile



Quantification pic sur la piste ELP

Typage de la lésion rénale

Typage du pic monoclonal

Matériel & Méthodes



1

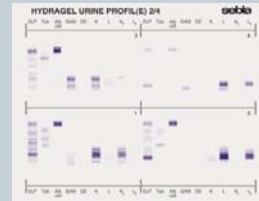
1 aliquote:
Analyse en Urine Profile
+ Quantification des protéines totales

Urines du matin



2

Reste des urines du matin versées dans le bidon de 24h



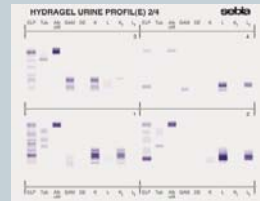
Electrophorèse des urines du matin



3

1 aliquote:
Analyse en Urine Profile
+ Quantification des protéines totales

Urines de 24h



Electrophorèse des urines de 24h

Analyses quantitatives (pic) et qualitatives (atteinte rénale et typage du pic).

284 patients on été analysés sur l'Hydrasys 2 Scan.

Résultats: Typage de la protéinurie



- Dans l'étude, chaque urine a été classifiée selon son contenu en protéines en:
 - **Protéinurie physiologique:** Présence de traces d'albumine,
 - **Protéinurie tubulaire:** Présence d' α 1 microglobuline, de RBP et/ou de β 2 microglobuline +/- CLL,
 - **Protéinurie glomérulaire:** Présence de protéines de haut poids moléculaire comme l'albumine ou les Ig (monoclonales ou polyclonales),
 - **Protéinurie mixte:** Présence de protéines d'origine tubulaire et glomérulaire,
 - **Protéinurie de surcharge:** Présence de protéine de Bence Jones uniquement.

		Urines de 24-heures (n= 284)				
		Physiologique	Tubulaire	Glomérulaire	Mixte	Surcharge
Urines du matin (n=284)	Physiologique	185	0	0	0	0
	Tubulaire	0	10	0	0	0
	Glomérulaire	1	0	33	1	0
	Mixte	0	2	0	20	0
	Surcharge	0	0	0	0	32

Excellente Concordance pour le typage de l'atteinte rénale= 98.6%

4/284 discordances pour la classification de la protéinurie.

Ces 4 échantillons sont caractérisés par une très faible protéinurie (sensiblement normale).

Résultats: Typage du pic monoclonal



- Parmi le **284** patients analysés, **58** présentaient un pic monoclonal.
- Pour chaque type de collecte, les échantillons sont classés selon le contenu en composant monoclonal:
 - **CLL Kappa**: présence d' une CLL de type Kappa ,
 - **CLL Lambda**: présence d'une CLL de type Lambda ,
 - **Ig complète K** : présence d'une immunoglobuline monoclonale IgG, A ou M de type Kappa ,
 - **Ig complète L** : présence d'une IgG monoclonal d'immunoglobuline , A ou M Lambda ,
 - **Absence** : Absence de composant monoclonal dans l'urine.

		Urine de 24 heures (n=284)				
		CLL Kappa	CLL Lambda	Ig complète K	Ig complète L	Absence
Urines du matin (n=284)	CLL Kappa	33	0	0	0	2
	CLL Lambda	0	13	0	0	0
	Ig complète K	0	0	8	0	0
	Ig complète L	0	0	0	4	0
	Absence	0	0	1	0	223

Excellente concordance pour le typage du pic 98.9%

3/284 urines discordantes: 2 BJ détectées dans les urines du matin

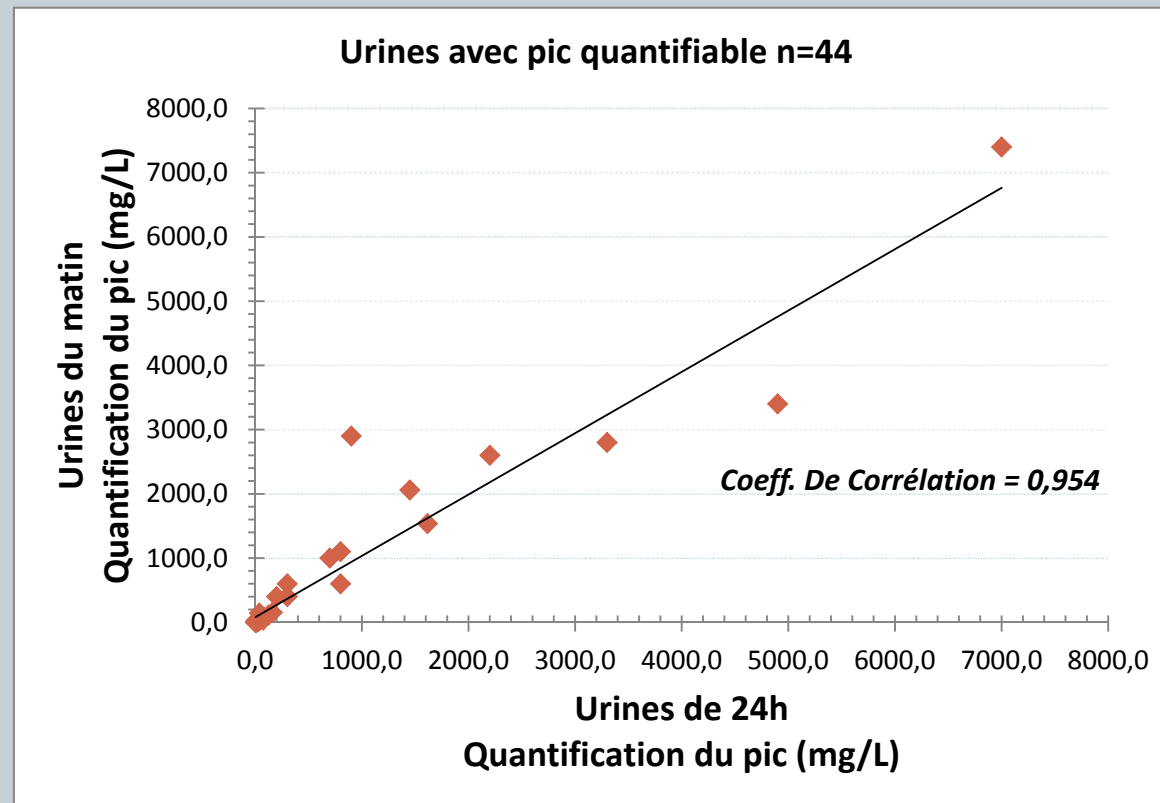
1 Ig complète détectées dans les urines de 24h

*Pic à la limite de
détection dans les 3 cas*

Résultats: Quantification du pic monoclonal



- Lorsqu'un pic mesurable est détecté, il est quantifié à l'aide du Gelscan.
- Sur les 58 patients présentant un pic urinaire, 44 avaient des pics quantifiables.



Excellente corrélation entre les deux modes de collection pour la quantification du pic (gamme de concentration testée 0.01 à 7.5g/L).

Conclusion



- A notre connaissance, 1ère étude qui compare les urines de 24h aux urines du matin pour un nombre de patient important (**n=284**),
- **Excellente concordance** entre les 2 modes de recueil pour le **typage de l'atteinte rénale (98.6%)** et pour le **typage de la monoclonale urinaire (98.9%)**,
- **Excellente corrélation** entre les 2 modes de recueil pour la **quantification du pic monoclonal (Coeff corrél. 0.95)**,
- Ces résultats montrent clairement que **les urines du matin représentent un bon candidat pour le remplacement des urines de 24h** pour le typage de l'atteinte rénale, du pic monoclonal ainsi que pour la quantification de ce dernier.

Remerciements



- **Bernard Capolaghi**
CH de Metz Thionville