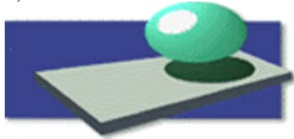


**Urines du matin comme alternative aux urines de 24 heures ?  
Evaluation des lésions rénales, comparaison de la détection  
du pic monoclonal et de sa quantification**

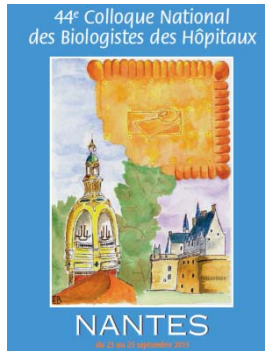


**P. BOULARD,  
EVOLAB  
*Thionville, France***

ACNBH



ODPC N°1495



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

# 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<sup>a</sup></i>
sCR	CR as defined below plus Normal FLC ratio and Absence of clonal cells in bone marrow <sup>b</sup> by immunohistochemistry or immunofluorescence <sup>c</sup>
CR	Negative immunofixation on the serum and urine and Disappearance of any soft tissue plasmacytomas and ≤5% plasma cells in bone marrow <sup>b</sup>
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, <sup>d</sup> 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?

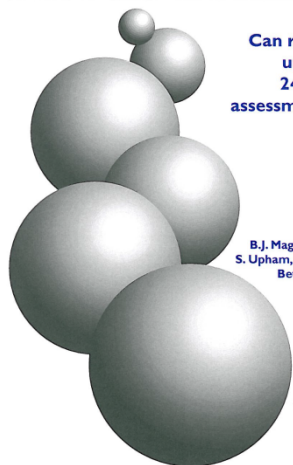
# Introduction



- 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



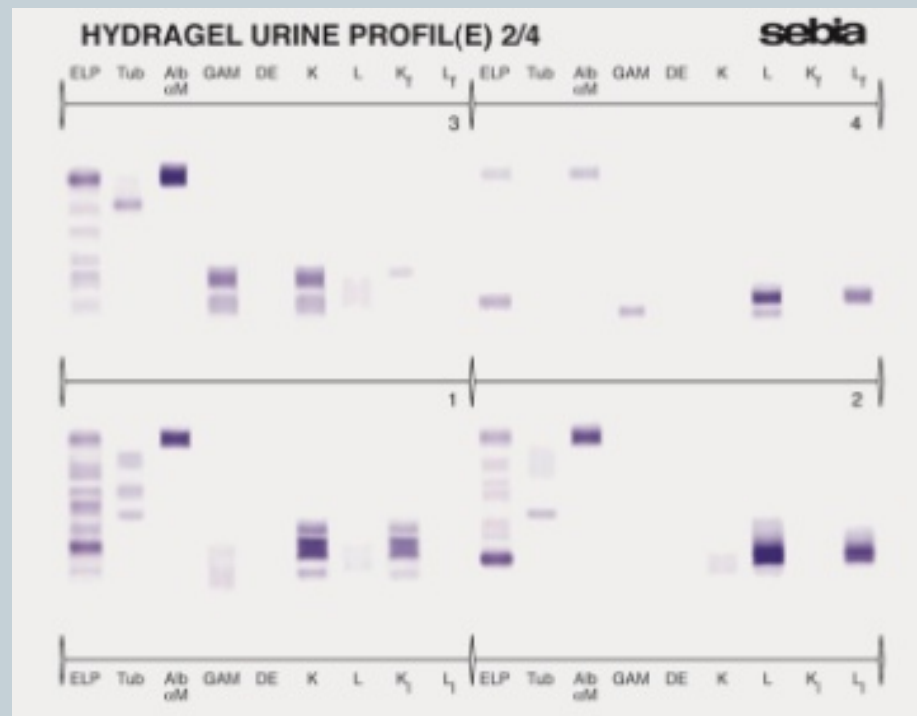
- Comparer à plus grande échelle les urines du matin versus urines de 24h (n>280 patients),
- Point comparés:
  - Typage de l'atteinte rénale (Glomérulaire, Tubulaire, Mixte),
  - Typage du pic monoclonal,
  - Quantification du pic monoclonal.

# Matériel & Méthodes

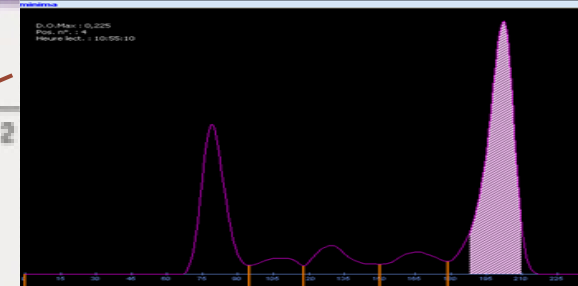
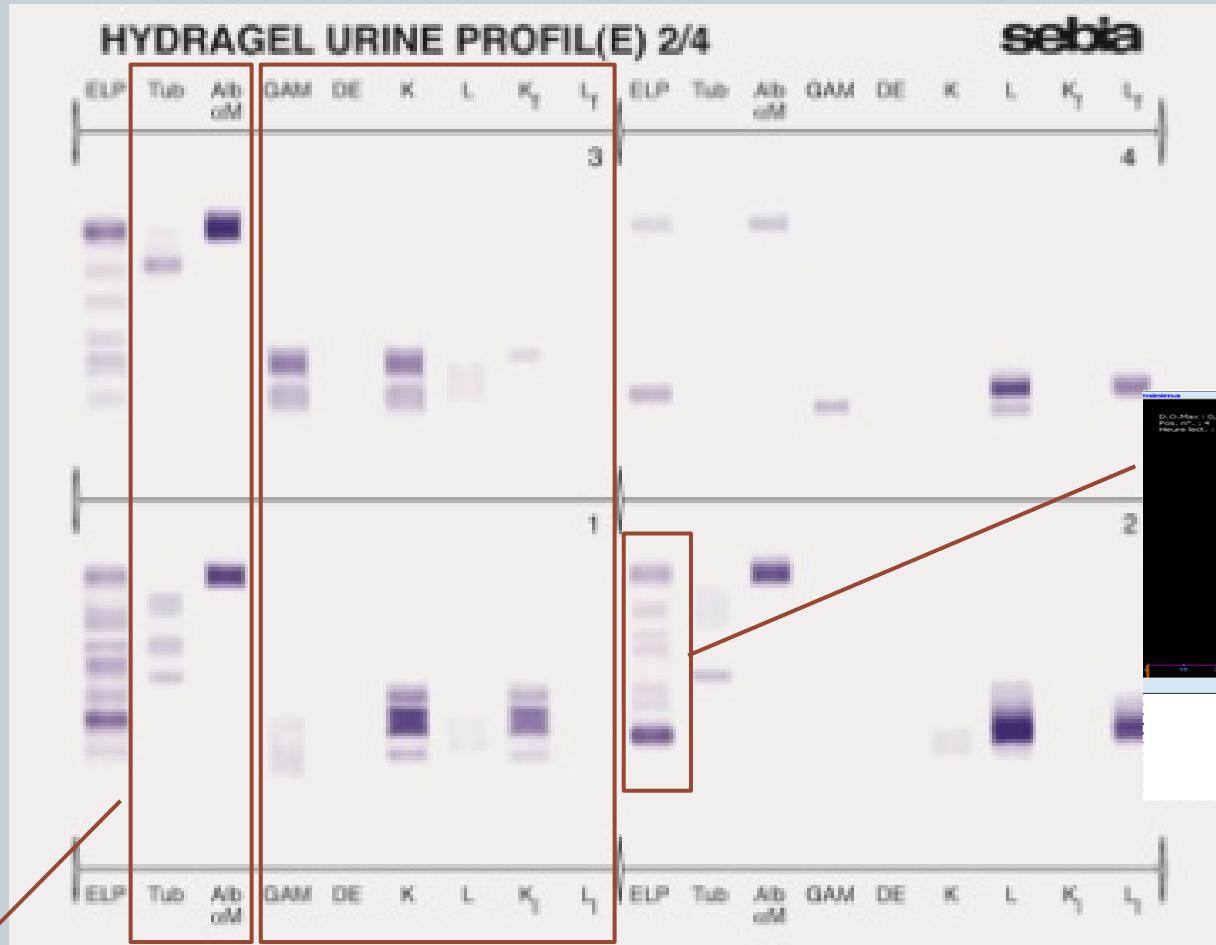


## Gel d'IF urinaire:

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

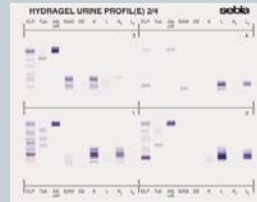
**1 aliquote:**  
**Analyse en Urine Profile**  
**+ Quantification des protéines totales**

**Urines du matin**



2

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



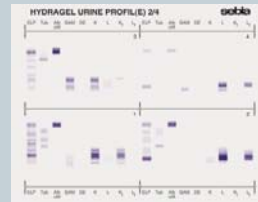
**Electrophorèse des urines du matin**



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' $\alpha$ 1 microglobuline, de RBP et/ou de  $\beta$ 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

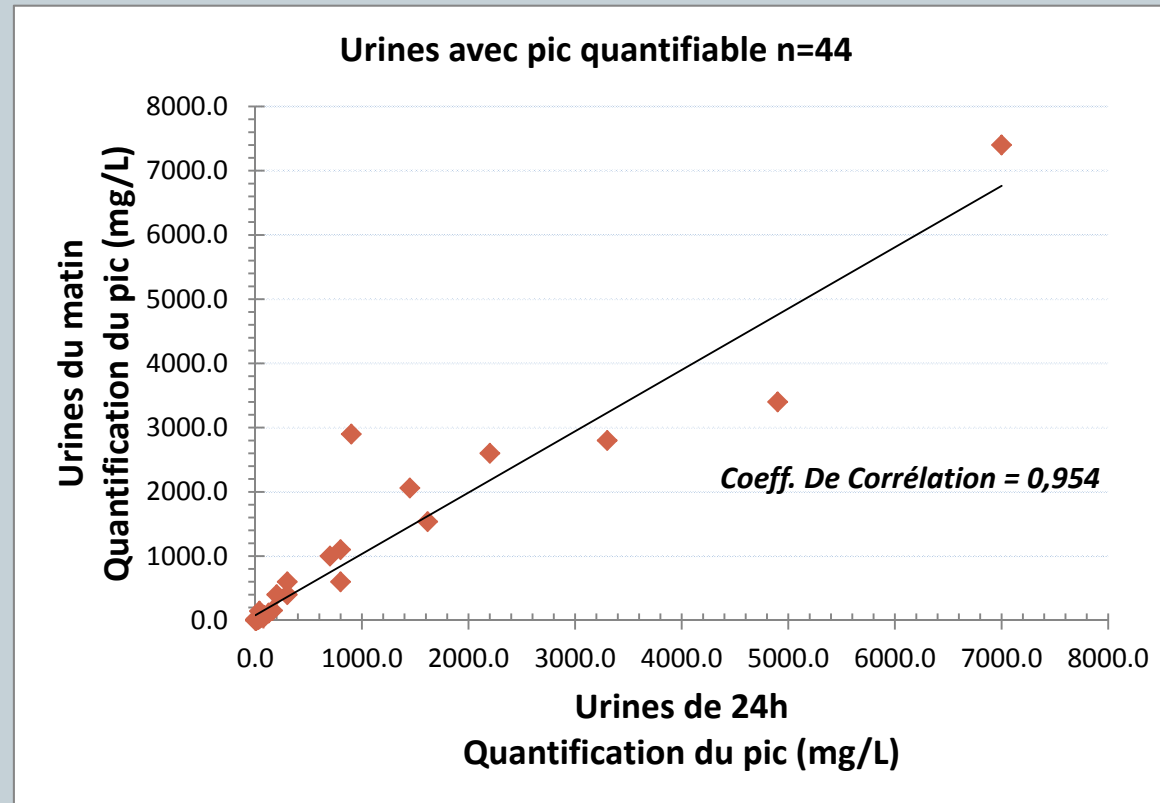
1 Ig complète détectées dans les urines de 24h

*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