

Protéinuries

Evaluation externe de la qualité

Laurence Piéroni

COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX

Organisme de formation continue n°82 07 00551 07

31^{èmes} Journées Nationales

Jeudi 26 et vendredi 27 janvier 2023

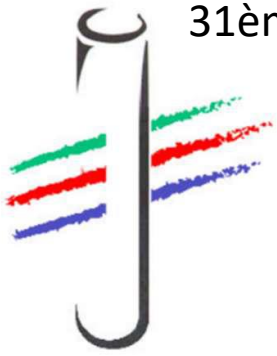
hôtel Ibis Paris 17 Clichy-Batignolles



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

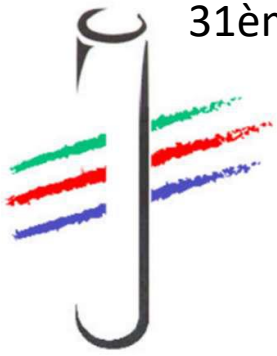
Dr Piéroni Laurence
Exerçant à l'Hôpital Tenon-Unité de Biochimie
déclare sur l'honneur

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 sujet et les DMDIV présentés.**



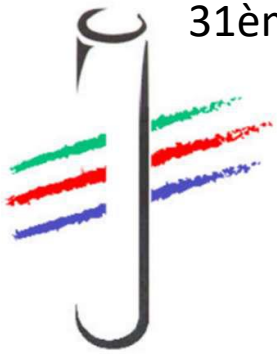
Contexte

- L'évaluation externe de qualité (EEQ) est une exigence technique de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon le référentiel ISO 15189. C'est une procédure d'évaluation de l'exactitude d'une méthode par comparaison inter laboratoires réalisée par un organisateur externe.
- (Exactitude : Etroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie d'un mesurande ; SH GTA 04).
- L'EEQ permet de détecter l'existence d'un biais. Le biais est la différence entre la valeur observée et la valeur cible établie. Il se calcule par rapport à une méthode de référence ou à la moyenne des valeurs mesurées par les méthodes disponibles sur le marché.
- Lorsqu'il n'existe pas de contrôle externe de qualité, les biologistes peuvent organiser une comparaison inter laboratoires (CIL).



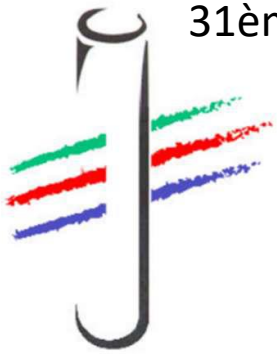
Introduction

- Le programme « exploration des protéinuries », proposé par ASQUALAB depuis 2022 comporte l'évaluation des méthodes de dosage des protéines spécifiques et les électrophorèses des protéines urinaires.
- Ce programme comporte 3 enquêtes par an, incluant deux échantillons, préparés à partir d'urines fraîches sélectionnées selon des critères particuliers, poolées selon le protocole CLSI EP 37A, puis lyophilisées pour assurer leur stabilité. Un contrôle après lyophilisation est réalisé avant l'envoi des échantillons aux laboratoires participants.



Résultats

- En 2022, 30 laboratoires ont participé au programme
 - Le dosage de la protéinurie totale était renseigné par
 - 100% des participants
 - Les résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires par
 - 50% des participants
 - Le dosage de l'albuminurie par
 - 50% des participants
 - Le dosage des protéines spécifiques (IgG, Transferrine, Retinol binding Protein, Alpha1 μ globuline, beta2 μ globuline) par
 - 7 à 20% des participants selon les protéines
- 100% des participants ont rendu un commentaire, choisi parmi 18 propositions.
- Les commentaires étaient considérés appropriés s'ils correspondaient à ceux du laboratoire référent, acceptables s'ils ne modifiaient pas le diagnostic ou la prise en charge thérapeutique et inappropriés s'ils pouvaient modifier le diagnostic ou la prise en charge thérapeutique.



Dosage de la protéinurie

Analyse (Limite acceptable)	Technique	Code	EPU 2022-01				EPU 2022-02				EPU 2022-03				EPU 2022-04							
			Nb.	moyenne (mg/l)	CV (%)	mg/mmol créatinine	CV (%)	Nb.	moyenne (mg/l)	CV (%)	mg/mmol créatinine	CV (%)	Nb.	moyenne (mg/l)	CV (%)	mg/mmol créatinine	CV (%)	Nb.	moyenne (mg/l)	CV (%)	mg/mmol créatinine	CV (%)
Protéines totales (+/-20%)	Toutes techniques confondues		29	786	13,7	73,5	15,3	29	4398	9,5	271,0	10,0	29	2143	11,8	338,0	15,3	29	1325	15,5	158,0	17,5
	Rouge de pyrogallol	A_	7	931	3,5	88,1	1,9	7	4834	8,8	297,0	6,9	7	2497	10,0	410,4	10,6	7	1580	3,5	191,0	6,0
	Chlorure de Benzéthonium	G_	22	730	4,2	67,9	4,6	22	4219	4,6	260,0	5,7	21	2011	4,1	313,5	5,3	21	1202	2,3	141,0	3,4
Créatinine (mmol/l) (+/-20%)	Toutes techniques confondues		22	10,59	3,1			22	16,17	2,8			20	6,31	4,2			20	8,38	3,2		

Comme prévu, les résultats obtenus avec le rouge de pyrogallol sont supérieurs à ceux obtenus avec le chlorure de benzéthonium:
 +28% pour EPU2201, +15% pour EPU2202, +26% pour EPU2203 et +32% pour EPU2204.

Electrophorèse des protéines

Analyse (Limites acceptables)	Technique	EPU 2022-01				EPU 2022-02				EPU 2022-03				EPU 2022-04				
		N	Moyenne (%) (CV)	Rouge Pyrogallol Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	Chlorure de Benze- thonium Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	N	Moyenne (%) (CV)	Rouge Pyrogallol Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	Chlorure de Benze- thonium Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	N	Moyenne (%) (CV)	Rouge Pyrogallol Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	Chlorure de Benze- thonium Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	N	Moyenne (%) (CV)	Rouge Pyrogallol Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	Chlorure de Benze- thonium Nombre Moyenne (mg/l) (CV)	
Albumine (+/- 20%)	Toutes techniques	17	74,4 (6,9%)	11 696 (12,1%)	6 541 (9,4%)	17	75,5 (6,7%)	3743 3098 (10,6%)	4 1817 (14,9%)	8 1356 (9,0%)	16	69,7 (4,5%)	4 1743 (14,9%)	8 1404 (9,0%)	16	69,6 (3,5%)	4 1125 (7,5%)	9 881 (16,9%)
	Agarose HR (JK + JW = JZ*)	7	74,5 (3,1%)	694	544	7	76,9 (4,7%)	3717	3244	6	69,8 (4,1%)	1743	1404	6	69,3 (3,2%)	1095	833	
	Urine Profile (JY)	4	73,3 (0,6%)	682	535	4	75,6 (3,1%)	3655	3190	5	68,7 (0,8%)	1715	1382	5	68,5 (1,2%)	1082	823	
	Hydragel Protéinurie (JS)	3	80,5 (11,5%)	749	588	3	74,9 (24,0%)	3621	3160	2	72,5 (20,3%)	1810	1458	2	73,8 (3,9%)	1166	887	
	Capillarys (GC)	3	68,0 (8,9%)	633	496	3	72,8 (2,3%)	3519	3071	3	71,9 (7,5%)	1795	1446	3	71,4 (8,4%)	1128	858	
Alpha-globulines (+/- 20%)	Toutes techniques	9	11,9 (26,3%)	4 95 (13,2%)	5 128 (36,8%)	9	17,0 (32,7%)	4 661 (30%)	4 712 (26,5%)	9	13,9 (12,9%)	3 334 (15,1%)	5 269 (19,5%)	9	17,7 (27,1%)	3 205 (3,9%)	5 184 (10,2%)	
	Agarose HR (JK + JW = JZ*)	5	11,0 (18,0%)	102	80	5	12,3 (17,2%)	595	519	4	14,2 (12,7%)	355	286	4	13,4 (13,8%)	212	161	
	Urine Profile (JY)	2	-	-	-	1	-	-	-	2	12,4 (6,5%)	310	249	2	14,7 (5,5%)	232	177	
	Hydragel Protéinurie (JS)	-	-	-	-	-	-	-	-	3	14,5 (13,1%)	362	292	3	20,7 (17,3%)	327	249	
	Capillarys (GC)	2	21,3 (13,2%)	198	155	3	20,6 (1,0%)	996	869	8	10,4 (17,1%)	3 285 (7,4%)	4 223 (9,3%)	8	9,3 (13,5%)	3 143 (25,3%)	4 115 (7,5%)	
Béta-globulines (+/- 20%)	Toutes techniques	8	7,4 (30,2%)	4 73 (12,8%)	4 41 (30,7%)	9	6,4 (0,8%)	4 294 (6,3%)	4 - -	8	10,4 (17,1%)	3 285 (7,4%)	4 223 (9,3%)	8	9,3 (13,5%)	3 143 (25,3%)	4 115 (7,5%)	
	Agarose HR (JK + JW = JZ*)	5	7,7 (3,7%)	72	56		6,3 (4,3%)	305	266	4	10,1 (14,5%)	252	203	4	7,8 (33,6%)	123	94	
Gamma-globulines (+/- 20%)	Toutes techniques	10	5,9 (9,2%)	4 54 (10,0%)	5 15 (32,1%)	11	2,2 (22,3%)	4 108 (17,8%)	5 - -	9	6,8 (21,4%)	3 123 (19,0%)	5 137 (19,6%)	9	6,3 (29,5%)	3 67 (3,6%)	5 85 (0,9%)	
	Agarose HR (JK + JW = JZ*)	6	5,9 (8,8%)	55	43	6	2,2 (19,6%)	106	93	5	4,2 (15,3%)	105	84	5	6,4 (34,2%)	101	77	

17 laboratoires quantifient l'albumine à partir du tracé électrophorétique mais seulement 9 quantifient les autres fractions.

La variabilité liée à l'analyse visuelle des fractions est cumulée avec la variabilité des méthodes de dosage de la protéinurie totale si l'on souhaite quantifier les fractions.

Dosage des protéines spécifiques

Analyse (LA = +/- 20%)	Technique	EPU 2022-01					EPU 2022-02					EPU 2022-03					EPU 2022-04				
		Nb.	M (mg/)	CV (%)	mg/mmol créat.	CV (%)	Nb.	M (mg/L)	CV (%)	mg/mmol créat.	CV (%)	Nb.	M (mg/L)	CV (%)	mg/mmol créat.	CV (%)	Nb.	M (mg/L)	CV (%)	mg/mmol créat.	CV (%)
Albuminurie		17	566	11,1	53,4	10,3	15	3863	8,6	234,6	11,5	13	1684	7,9	261,7	14,0	14	938	11,6	112,8	12,7
α1-microglobuline		7	23,1	19,4	2,17	22,8	7	25,8	18,3	1,57	22,2	7	68,5	27,5	11,00	23,9	7	57,1	20,8	6,81	19,8
Transferrine		3	33,5	1,4	3,22	1,6	3	251	11,0	15,43	9,9	3	104	7,4	16,39	9,7	3	52,6	8,6	6,98	16,3
IgG	Toutes techniques	5	39,6	12,8	3,84	14,0	5	161,4	12,4	10,17	13,2	5	192,8	16,5	31,36	18,7	5	54,2	14,1	6,52	16,7
β2-microglobuline	GK (Beckman)	2	0,31	15,3	0,023	15,3	2	0,32	29,2	-	-	4	10,14	15,8	1,608	12,0	4	6,44	11,1	0,771	8,5
α2-macroglobuline	GK (Beckman)	2	1,9	-	-	-	2	2,0	-	-	-	4	6,4	43,8	0,93	54,9	3	< 3,3	-	-	-
RBP urinaire	GK (Beckman)	1	<	-	-	-	1	< 0,6	-	-	-	3	13,0	27,5	2,06	30,6	3	10,3	20,5	1,25	28,1

Selon les enquêtes, 13 à 17 participants mesurent l'albumine dans les échantillons, 7 l'alpha1 microglobuline, 5 les IgG et entre 1 et 3 les autres protéines.

Commentaires

Liste des choix proposés	EPU22-01		EPU22-02	
	Résultats attendus	Observés n = 32	Résultats attendus	Observés n = 29
	Rapport albuminurie/protéinurie totale < 80%		Rapport albuminurie/protéinurie totale > 80%	
Absence de bande	Acceptable	6/32	Acceptable	6/29
Protéinurie physiologique				
Présence d'albumine	Acceptable	19/32	Acceptable	16/29
Présence de trace de chaînes légères		1/32		
Présence de chaînes légères (monomères et dimères)				
Protéinurie de surcharge				
Protéinurie glomérulaire sélective		3/32	ATTENDU Protéinurie glomérulaire sélective	5/29
Protéinurie glomérulaire non sélective	ATTENDU Protéinurie glomérulaire non sélective	18/32		17/29
Protéinurie glomérulaire avec présence de chaînes légères		1/32		
Protéinurie tubulaire				
Protéinurie tubulaire avec présence de chaînes légères				
Protéinurie mixte	Acceptable			1/29
Protéinurie mixte avec présence de chaînes légères		1/32		
Protéinurie mixte à prédominance glomérulaire	ATTENDU Protéinurie mixte à prédominance glomérulaire	11/32		3/29
Protéinurie mixte à prédominance tubulaire				
Présence de sang				4/29

Liste des choix proposés	EPU 2022-03		EPU 2022-04	
	Résultats attendus	Observés n = 30	Résultats attendus	Observés n = 30
	Rapport albuminurie/protéinurie totale < 80%		Rapport albuminurie/protéinurie totale < 80%	
Absence de bande	Acceptable	8/30	Acceptable	7/30
Protéinurie physiologique		0		0
Présence d'albumine	Acceptable	12/30	Acceptable	13/30
Présence de trace de chaînes légères		2/30		5/30
Présence de chaînes légères (monomères et dimères)		0		1/30
Protéinurie de surcharge		0		0
Protéinurie glomérulaire sélective		2/30		1/30
Protéinurie glomérulaire non sélective	ATTENDU Protéinurie glomérulaire non sélective	9/30	ATTENDU Protéinurie glomérulaire non sélective	7/30
Protéinurie glomérulaire avec présence de chaînes légères		1/30		2/30
Protéinurie tubulaire		3/30		2/30
Protéinurie tubulaire avec présence de chaînes légères		0		0
Protéinurie mixte		6/30	Acceptable	8/30
Protéinurie mixte avec présence de chaînes légères		1/30		5/30
Protéinurie mixte à prédominance glomérulaire		18/30	ATTENDU Protéinurie mixte à prédominance glomérulaire	18/30
Protéinurie mixte à prédominance tubulaire		0		0
Présence de sang	ATTENDU Présence de sang	10/30		1/30

Les commentaires étaient appropriés pour 56%, 17%, 26% et 59% des participants pour les échantillons 2201, 2202, 2203 et 2204, respectivement.

Conclusions

- Les résultats de ce programme montrent une grande hétérogénéité des commentaires pour l'interprétation des résultats de l'exploration des protéinuries.
- Cela peut être expliqué par le grand nombre de méthodes (par rapport au nombre de participants) et par le grand nombre de références controversées par manque de recommandations officielles.

Références:

Caussé E. Électrophorèse des protéines urinaires, quel choix analytique ? Interprétation simplifiée. Ann Biol Clin 2013, 71(6), 667-78

Andreani M, Esnault V. Néphropathie glomérulaire. La revue du praticien, 2018;68:e3-12

N. Pallet, JP. Bastard, S. Claeysens, S. Fellahi, P. Delanaye, L. Pieroni, E. Caussé. Groupe de travail SFBC, SFNDT, SNP. Typage des protéinuries : comment, pourquoi et pour qui ? Ann. Biol. Clin. 2019, 77, 13-25.

Remerciements

- Anne Vassault et Ingrid Anglard, ASQUALAB
- Anaëlle Lorin, Fatima Aboualla, Sophie Moua, Aurélie Cadiou,
Laboratoire de Biochimie, Hôpital Tenon, APHP-SU

- Merci pour votre attention