

Dosage de l'albumine urinaire (microalbuminurie): urines de 24 heures ou échantillon urinaire?

Pr Sanae Bouhsain

Service de Biochimie

Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat

Journées AMBM, El Jadida, 5 Avril 2014

Terminologie

- « Microalbuminurie »: Naissance concept années 80
 - Faibles concentrations d'albumine urinaire
 - Non détectées par méthodes mesure de la protéinurie
 - Excrétion albumine urinaire:
 - 20 à 200 μ g/mn ou 30 à 300 mg/24 heures
 - Prédit le développement futur d'une protéinurie
 - Terme pourrait faire penser à une albumine faible MM
- Albumine urinaire : terme actuellement adopté

Intérêts mesure albumine urinaire

- Albuminurie: biomarqueur de risque
 - Rénal et Cardiovasculaire
 - Perte de greffon chez les transplantés rénaux
- Études cliniques interventionnelles:
 - Relation continue entre albuminurie (protéinurie) et complications
 - Réduction albuminurie : objectif thérapeutique

Primary Prevention

Secondary Prevention

Tertiary Prevention

Albuminuria

Microalbuminuria

Proteinuria

ESRD

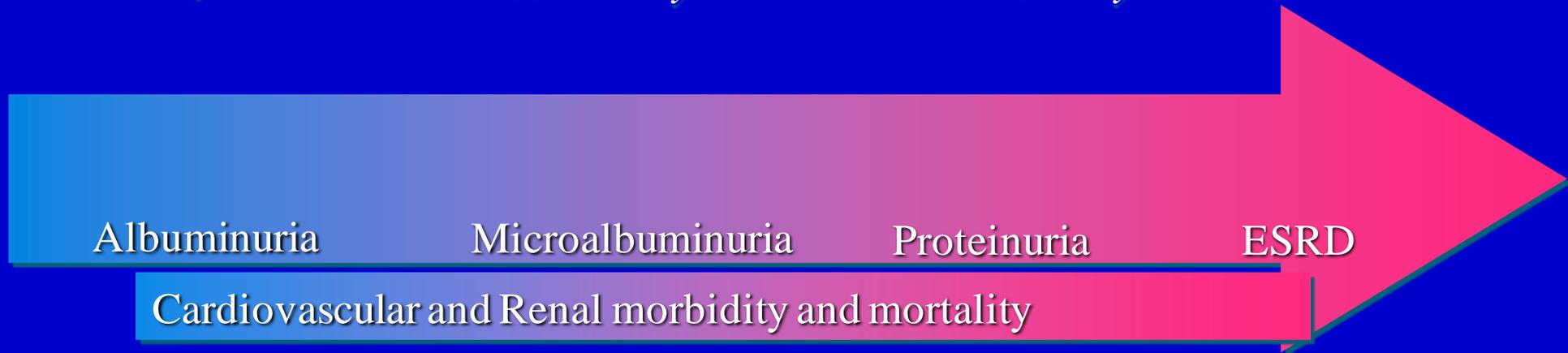
Cardiovascular and Renal morbidity and mortality

Pre- Stage

Early Stage

Late Stage

End Stage



Albuminurie et Guidelines internationales de pratique clinique

- Diabète : ADA 2013
- Hypertension: AHA 2010
- Maladie rénale chronique: KDIGO 2010

Critères de définition maladie rénale chronique

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) 2010

Criteria for CKD (either of the following present for >3 months)

Markers of kidney damage (one or more)

Albuminuria (AER ≥ 30 mg/24 hours; ACR ≥ 30 mg/g [≥ 3 mg/mmol])

Urine sediment abnormalities

Electrolyte and other abnormalities due to tubular disorders

Abnormalities detected by histology

Structural abnormalities detected by imaging

History of kidney transplantation

Decreased GFR

GFR < 60 ml/min/1.73 m² (GFR categories G3a-G5)

Abbreviations: CKD, chronic kidney disease; GFR, glomerular filtration rate.

Classification de la maladie rénale chronique

KDIGO 2012

Catégories	eGFR (ml/min/1.73m ²)	AER (mg/j)	ACR (mg/g)	Description
eGFR				
G ₁	≥ 90	-	-	Normal ou augmenté
G ₂	60- 89	-	-	Légèrement ↓
G _{3a}	45- 59	-	-	Légèrement à modérément ↓
G _{3b}	30- 44	-	-	modérément à sévèrement ↓
G ₄	15- 29	-	-	Sévèrement ↓
G ₅	<15	-	-	Insuffisance rénale terminale
Albuminurie				
A ₁	-	< 30	< 30	Normal ou légèrement augmenté
A ₂	-	30-300	30-300	Modérément augmenté
A ₃	-	> 300	>300	Sévèrement augmenté

Risque relatif d'évolution vers une néphropathie chronique en fonction valeurs DFG et Albuminurie (méta-analyse sur 45 cohortes avec 1,55 millions de personnes)

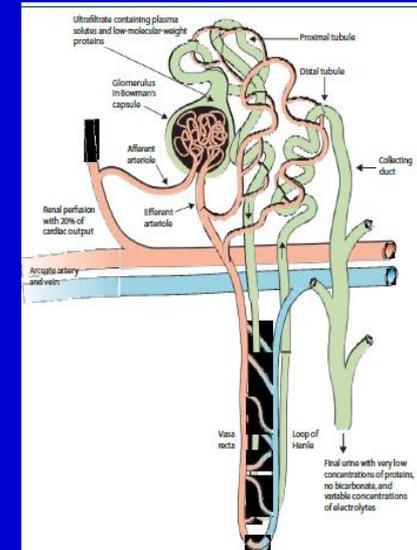
				Albuminuria stages, description, and range (mg/g)				
				A1		A2	A3	
				Optimum and high-normal		High	Very high and nephrotic	
				<10	10-29	30-299	300-1999	≥2000
GFR stages, description, and range (mL/min per 1.73m ²)	G1	High and optimum	>105	No CKD	No CKD	Moderate-risk CKD	High-risk CKD	Very high-risk CKD
			90-104	No CKD	No CKD	Moderate-risk CKD	High-risk CKD	Very high-risk CKD
	G2	Mild	75-89	No CKD	No CKD	Moderate-risk CKD	High-risk CKD	Very high-risk CKD
			60-74	No CKD	No CKD	Moderate-risk CKD	High-risk CKD	Very high-risk CKD
	G3a	Mild-moderate	45-59	Moderate-risk CKD	Moderate-risk CKD	High-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD
	G3b	Moderate-severe	30-44	High-risk CKD	High-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD
	G4	Severe	15-29	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD
G5	Kidney failure	<15	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	Very high-risk CKD	

Excrétion urinaire de l'albumine

Physiologie et physiopathologie

Métabolisme rénal des protéines urinaires

- Néphron: unité fonctionnel du rein
 - Filtration glomérulaire
 - Réabsorption, catabolisme et sécrétion tubulaire
- Paramètres conditionnant filtration glomérulaire
 - Poids, taille et charge des protéines
 - Structures glomérulaires
 - Hémodynamiques
- Paramètres conditionnant réabsorption tubulaire:
 - Liées aux protéines: T_m
 - Liées aux structures tubulaires



Protéinurie physiologique

- Protéinurie physiologique
 - Quantitative: 50 à 100 mg/24h
 - Qualitative: 1/3 albumine et 2/3 globulines
- Albuminurie physiologique
 - Coefficient de filtration glomérulaire: 0.6%
 - Réabsorption tubulaire: 99% albumine filtrée
 - Concentration urinaire <30 mg/24h
- Augmentation de l'excrétion urinaire de l'albumine:
 - Atteinte barrière filtration glomérulaire
 - Défaut de réabsorption tubulaire
 - Augmentation pression intra-glomérulaire

Albumine urinaire

Variabilité biologique intra-individuelle

- Variabilité intra-individuelle: **25 à 60%+++**
- Facteurs de variations les plus importants:
 - Conditions de santé du sujet
 - Concentrations de l'albumine dans l'urine
 - Rythme circadien
 - Type d'échantillon urinaire: 24h, urines matin....
- Albuminurie pathologique:
 - Deux dosages sur trois sont pathologiques
 - Sur une période de 3 mois

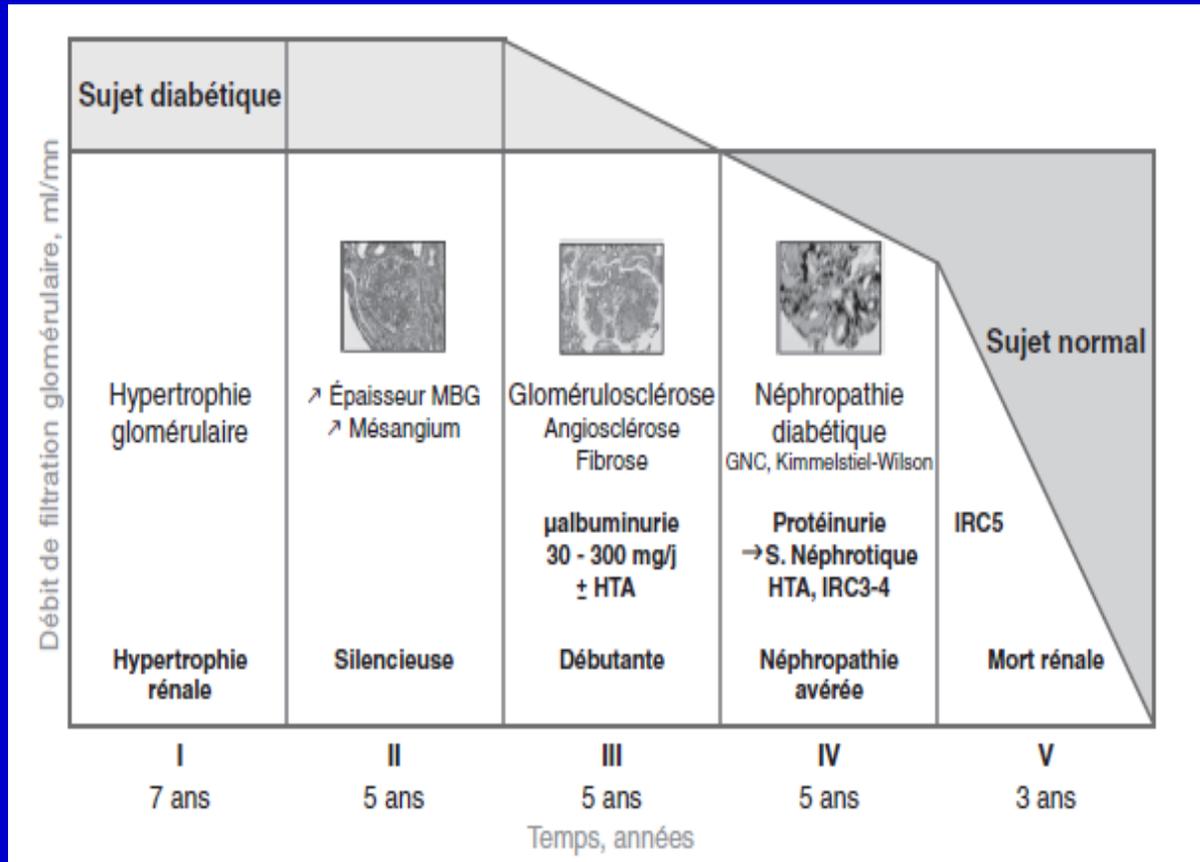
Albumine urinaire

Antigénicité et hétérogénéité des formes moléculaires

- Antigénicité de l'albumine urinaire:
 - Fractions immunoréactives: native, polymérisée, fragments >12KDa
 - Fractions non immunoréactives
- Fragmentation par protéolyse au cours du passage dans le tractus urinaire
- Modifications de conformation liées à la nature des urines:
 - pH < 4 ou pH > 8 (pH usuel entre 5 et 8)
 - Présence agents oxydants, ligands, radicaux libres
 - Dimérisation, polymérisation (ponts disulfures entre monomères)
 - Présence de protéases: fragmentation, dénaturation

Albumine urinaire

Physiopathologie de la néphropathie diabétique

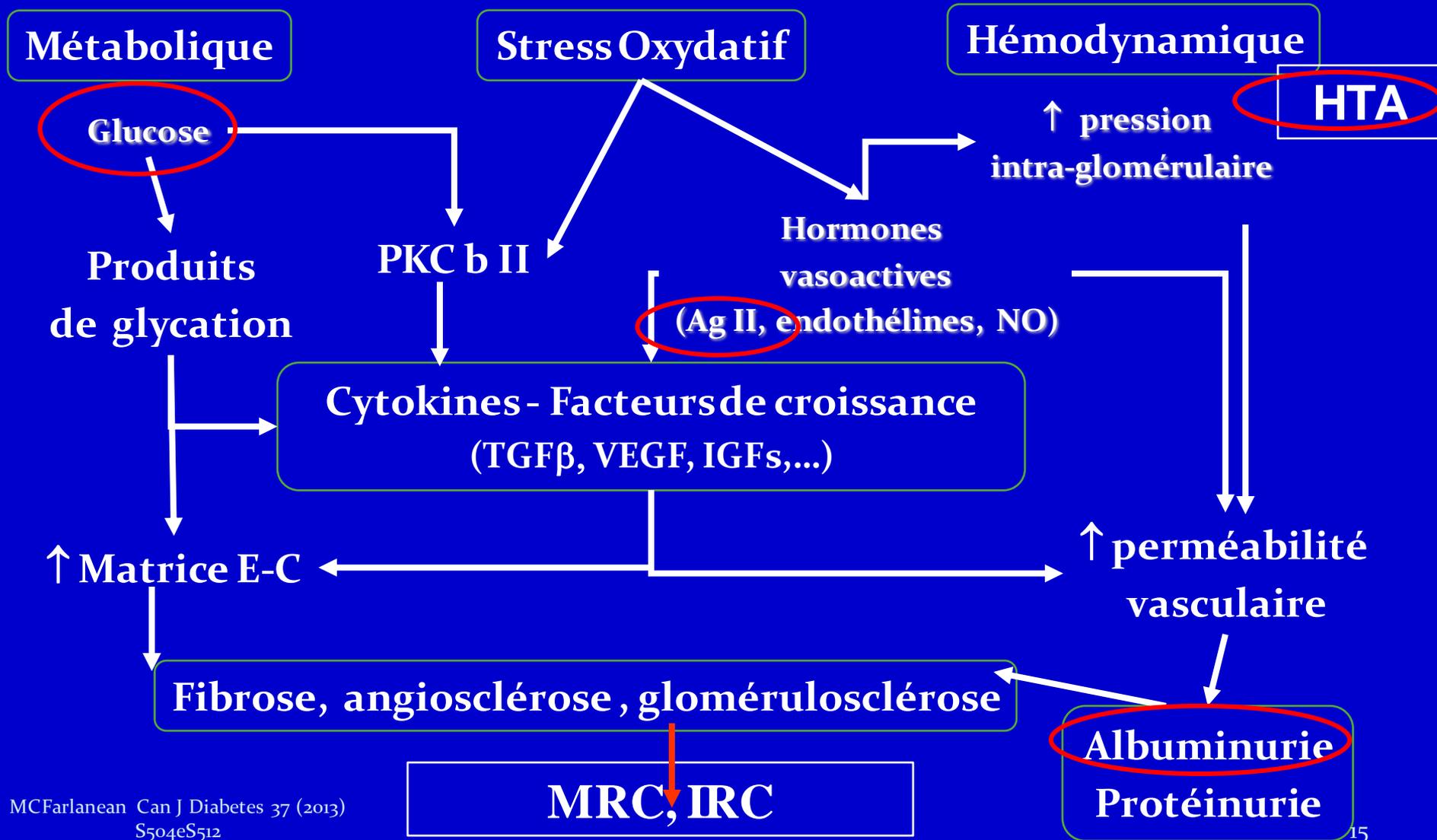


Histoire naturelle de la néphropathie diabétique non traitée

Mogensen et al; Diabetes 1990

Physiopathologie de l'excrétion urinaire de l'albumine

Néphropathie diabétique



Phase pré-analytique

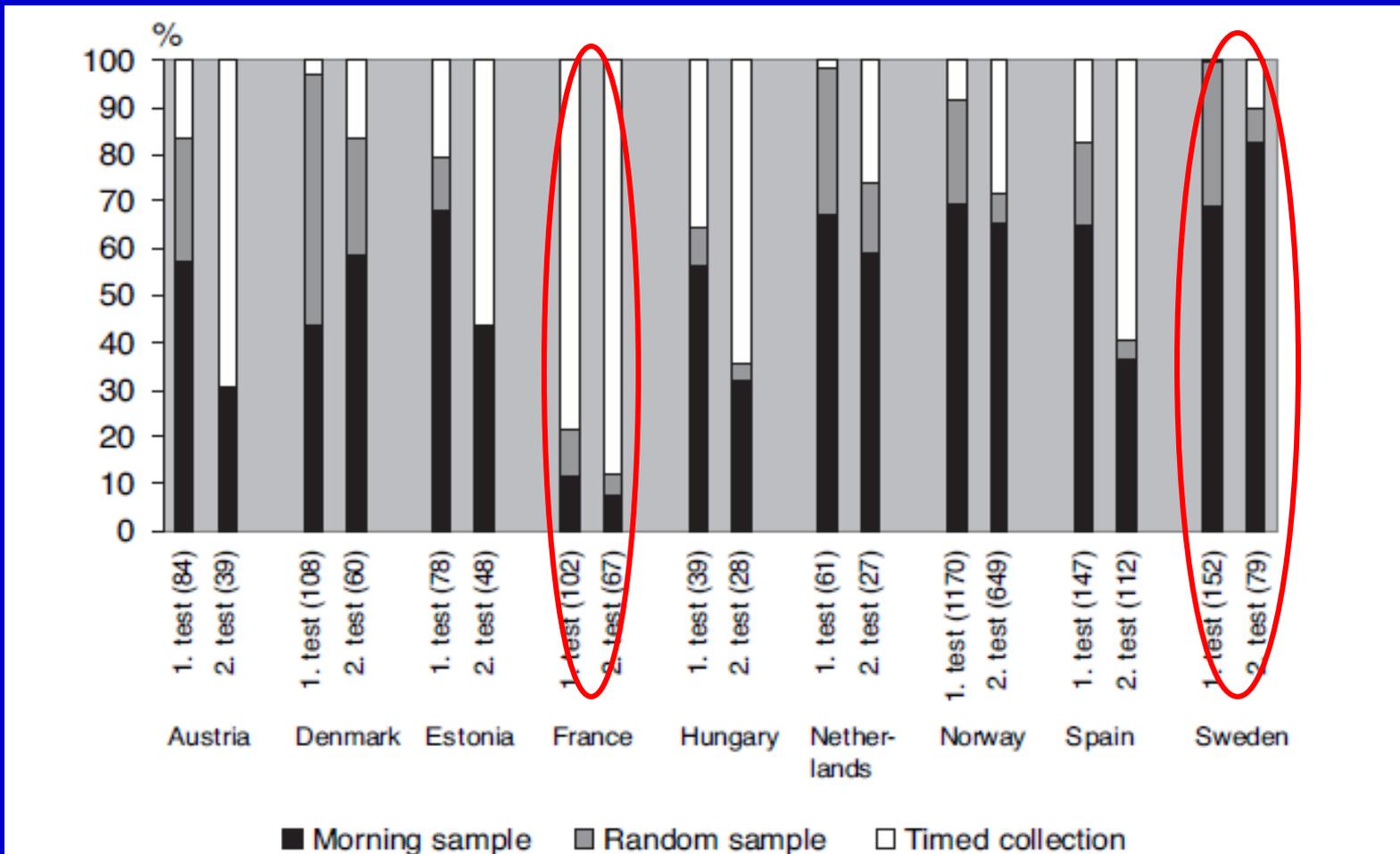
Patient

- Pas de préparation spécifique
- Éviter facteurs faussant positivité albuminurie
 - Fièvre, affections aiguës
 - Insuffisance cardiaque, HTA sévère
 - Infection urinaire, hématurie, menstruation
 - Exercice physique intense dans les 24 heures précédant le recueil

Types de recueil urinaire

- Totalité des urines de 24h
- Recueils minutés
- Échantillon unique:
 - Échantillon matinal: 1^{ière} ou 2^{ième} miction matinale
 - Prélèvement aléatoire

Résultats étude internationale d'évaluation des pratiques de prescription de l'albuminurie par médecins généralistes



Aakre et al. Clin Chem, 54, 2008
 Schneider N. et al. Ann Biol Clin, 67, 2009: 47- 53

Urines de 24 heures: modalités

- Vider sa vessie à une heure précise , jeter ces urines
- À partir de ce moment, toutes les mictions seront recueillies et ce jusqu'à la même heure du lendemain.
- Importance: information , observance du patient

Urines de 24 heures: avantages et limites

- Avantages:
 - Tient compte fluctuations nyctémérales albuminurie
 - Méthode utilisée dans études cliniques
 - Qualité recueil urinaire: créatininurie
 - Perçue comme « gold standard »
- Limites
 - Recueil long, difficile à obtenir (incontinence, personnes en activité, enfants , personnes âgées)
 - Problème de justesse des résultats rendus

Autres types de recueil urinaire

- Moins contraignants que les urines de 24 h
- **Recueils minutés:**
 - Différents temps proposés: 1 h, 3h, 4h ou 8h
- **Échantillon de miction:**
 - Miction matinale ou échantillon aléatoire
 - Avantage: prélèvement facile et pratique
 - Inconvénient: sensible à la dilution des urines

Conditions de conservation des urines

- Type flacon: propre, capacité suffisante, hermétique
- Albumine stable:
 - 7h à température ambiante
 - 7 jours entre 2° et 8°c++++
 - Longue période si congélation à – 80°c
 - **Congélation -20° à éviter: fragmentation de l'albumine**
- Si présence de précipité ou si urine trouble
 - Centrifugation avant dosage

Phase analytique

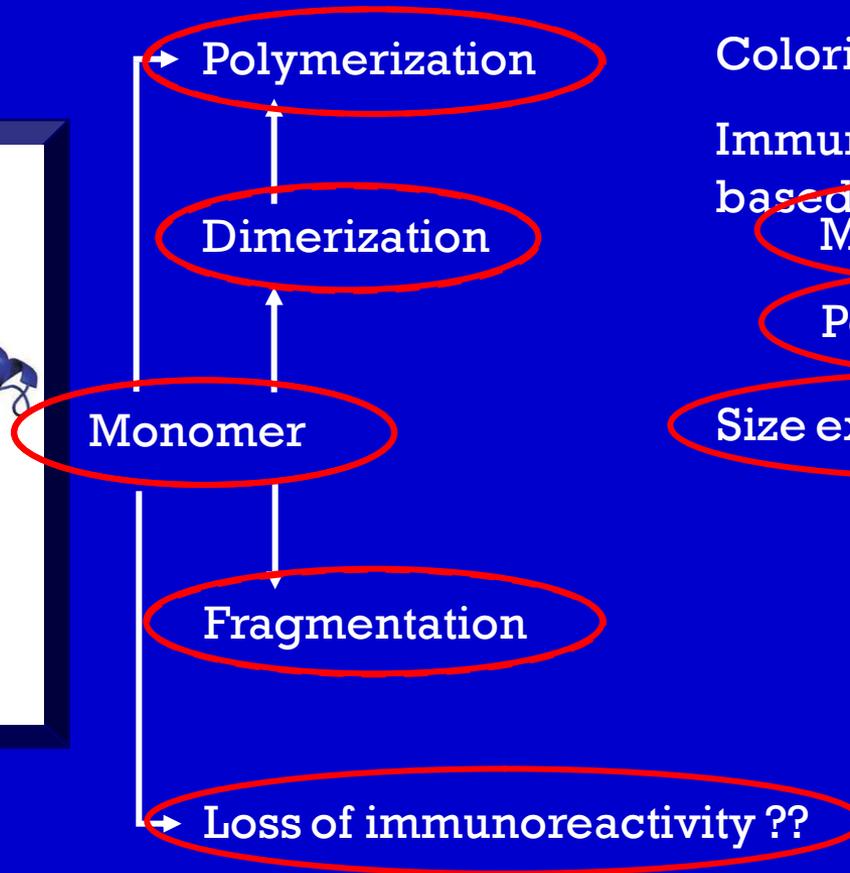
Dépistage et dosage des protéines urinaires

- Méthodes semi- quantitatives (dépistage)
 - Bleu de tetrabromophénol
 - Résultat visuel ou automatisé: 0 à 4 croix
 - VPP: 93,7% et VPN: 73,7%
- Méthodes quantitatives: Absence de standardisation
 - Turbidimétriques, Colorimétriques
 - Sensibilité: 60 à 100mg/l
- Protéinurie positive: dosage albuminurie?

Méthodes de dosage de l'albumine urinaire

- Méthodes immunologiques: Albumine immunoréactive
 - Néphélémétriques (limite de détection: 2 mg/l)
 - Turbidimétriques (Ld: 6 mg/l), moins onéreuse
 - Autres: RIA, ELISA, bandelettes spécifiques
 - Type anticorps: monoclonal, polyclonal
 - Problème de standardisation, transférabilité résultats
- Méthodes chromatographiques: Albumine totale
 - CLHP exclusion–diffusion: autres protéines urinaires?
 - CL-SM: proposée comme méthode de référence

Méthodes de dosage de l'albumine urinaire



Type of assay

Colorimetric test strips

Immunochemistry
based

Monoclonal AB

Polyclonal AB

Size exclusion (HPLC)

Méthodes de dosage de l'albumine urinaire

- Méthodes immunologiques: Albumine immunoréactive
 - Néphélémétriques (limite de détection: 2 mg/l)
 - Turbidimétriques (Ld: 6 mg/l), moins onéreuse
 - Autres: RIA, ELISA, bandelettes spécifiques
 - Problème de standardisation, transférabilité résultats
- Méthodes chromatographiques: Albumine totale
 - CLHP exclusion–diffusion: autres protéines urinaires?
 - CL-SM: proposée comme méthode de référence

Méthodes de dosage de l'albumine urinaire

- Méthodes immunologiques: Albumine immunoréactive
 - Néphélométriques (limite de détection: 2 mg/l)
 - Turbidimétriques (Ld: 6 mg/l), moins onéreuse
 - Autres: RIA, ELISA, bandelettes spécifiques
 - Problème de standardisation, transférabilité résultats
- Méthodes chromatographiques: Albumine totale
 - CLHP exclusion–diffusion: autres protéines urinaires?
 - CL-SM: proposée comme méthode de référence

Phase post-analytique

Unité d'expression des résultats fonction du type échantillon

- En débit protéique par unité de temps :
 - mg/24h (g/ 24h): échantillon des urines de 24 h
 - $\mu\text{g}/\text{mn}$: prélèvement minuté
- En résultat pondéral: échantillon de miction
 - mg/l (g/l): concentration
 - mg/mmol ou mg/g: ratio (rapport) si créatininurie
 - Rapport albuminurie/ créatininurie (ACR)
 - Rapport protéinurie / créatininurie (PCR)

ACR et PCR: avantages et limite

- Avantages:+++
 - Éviter recueil urinaire sur 24 h
 - Absence influence état d'hydratation
 - ↓variation intra-individuelle : 11% ACR versus
 - 25 à 50% pour albuminurie sur diurèse
 - 61% pour albuminurie sur miction
 - Performances diagnostiques
- Limite: biais musculature (âge , ethnie, sexe)

Martin H. Clin Biochem Rev, 32, 2011: 97-102
Miller W.G. Ann Bio Clin, 68, 2010: 9-23
Shneider N et al. Ann Biol Clin, 67, 2009: 47-53

Performances diagnostiques ACR versus albuminurie 24 h ou 8h

Études	Patients	Seuil (référence)	Seuil (test)	AUC [IC-95]	Corrélation
Guy 2009	IRC	30 mg/24h	3 mg/mmol	0,98 (2 ^e M) 0,99 (3 ^e M) 0,98(UM)	0,97 (2 ^e M)
Guy 2009		300 mg/24h	30mg/mmol	1.00 (2 ^e M) 1.00 (3 ^e M) 1.00 (UM)	0,96 (3 ^e M) 0,97(UM)
Hutchisn 1988	Diabète	30µg/min	3 mg/mmol	0.96	0.92
Gatling 1988	Diabète	30µg/min	2 mg/mmol	0.96	-
Chaiken 1997	Diabète	30µg/min	-	-	0.96
Marshall 1986	Diabète	30µg/min	3.5 mg/mmol	0.98	0.95

Performances diagnostiques PCR versus protéinurie 24 h

Étude Année	Patients	Seuil référence	Seuil test	AUC [IC-95]	Corrélation
Methven et al 2010 Étude rétrospect.	1696 IRC	0.5 g/24h	50 mg/mmol	0.97	0.91
		1g/24h	100 mg/mmol	0.97	
Guy et al 2009 Étude transversale	83 IRC	0.15 g/24h	15 mg/mmol	0,91 (2 ^e M) 0,92 (3 ^e M) 0,90 (UM)	0,97 (2 ^e M) 0,96 (3 ^e M) 0,97(UM)
		0.3 g/24h	30 mg/mmol	0,91 (2 ^e M) 0,92 (3 ^e M) 0,90 (UM)	
		0.5 g/24h	50 mg/mmol	1,00 (2 ^e M) 0,99 (3 ^e M) 0,99 (UM)	
		1 g/ 24h	100 mg/mmol	0,99 (2 ^e M) 0,99 (3 ^e M) 0,98 (UM)	
Ruggementi et al 1998	1777 Non diab.	1g/24h	-	-	0.91
Mac grégor 2007	1696 IRC	>1g/24h	-	-	0,91

Résumé recommandations guides de pratique clinique

Auteur/ organisation	Méthode	Miction
American Diabetes Association 2007	ACR	Aléatoire
International Diabetes Federation 2008	ACR	Echantillon matin Echantillon quelconque
Renal Association Clinical Practice Guidelines 2008	ACR (PCR)	Première du matin
National Institute for Clinical Excellence 2008	ACR	Première du matin lorsque cela est possible
NICE 2008	ACR	Echantillon
American Diabetes Association 2008	ACR	Échantillon

Résumé des recommandations de pratique clinique (2)

Recommandations	Méthode	Miction
Société de Néphrologie 2009	ACR (PCR)	Echantillon
Guidelines and audit implementation network (GAIN) 2010	ACR	Aléatoire
Renal association 2011	ACR (PCR)	Première du matin
HAS 2011 ET 2012	ACR (PCR)	Echantillon aléatoire
Kidney Disease improving global outcomes (KDIGO) 2012	ACR	Première du matin Sinon aléatoire
American Diabetes Association 2013	ACR	Échantillon (spot)
Diabetes Australia 2013	ACR	Première du matin

Seuils ACR : Recommandations KDIGO 2010

- Pour sujets adultes: albuminurie optimale
 - ACR : < 10 mg/g (1,13mg/mmol)
- Approche catégorielle : considérations pratiques
 - A1 (normale haute): 10 à 29 mg/g
 - A2 (pathologique faible débit): 30 à 300 mg/g
 - A3 (pathologique haut débit) : >300 mg/g
- Correspondance approximative entre catégories albuminurie et protéinurie

Catégories Albuminurie (Protéinurie)

Albuminurie physiologique « optimale » Catégorie A1	ACR < 1.13 mg/mmol (< 10 mg/g) PCR < 5 mg/mmol (< 50 mg/g)
albuminurie physiologique « normale haute » Catégorie A1	ACR: 1.13 à 3 mg/mmol (10 à 29 mg/g) PCR: 5 à 15 mg/mmol (50 à 150 mg/g)
Albuminurie pathologique de faible débit Catégorie A2	ACR: 3 à 30 mg/mmol (30 à 300 mg/g) PCR: 15 à 50 mg/mmol (150 à 500 mg/g)
Albuminurie pathologique à haut débit Catégorie A3	ACR: 30 à 220 mg/mmol (> 300 à 2200 mg/g) PCR: 50 à 350 mg/mmol (> 500 à 3500 mg/g)
Albuminurie pathologique <u>Syndrome néphrotique</u> Catégorie A3	ACR > 220 mg/mmol (> 2200 mg/g) PCR > 350 mg/mmol (> 3500 mg/g)

Conclusion

Albuminurie

- Marqueur précoce de risque rénal et cardiovasculaire
 - Atteinte de l'ensemble de l'endothélium vasculaire
- Réduction de son excrétion urinaire : meilleur pronostic
 - Intérêt de santé publique
- Harmonisation et Standardisation des pratiques: priorité
 - Généralistes, endocrinologues, cardiologues, néphrologues
 - Biologistes médicaux
- Dépistage de qualité

Les messages

- Prescrire: Albuminurie et non microalbuminurie
- Urines de 24 heures: pas nécessaire
- Échantillon urinaire: première miction ou aléatoire
- Travailler sur urine fraîche
- Ne jamais congeler à -20°

Les messages

- Doser simultanément: Albuminurie et Créatininurie
- Associer un rapport ACR (PCR) à tous les résultats de dosage d'albumine (protéine) urinaire
- Uniformiser les unités (mg/mmol, ou mg/g)
- Confirmer un résultat pathologique
 - Deux dosages positifs sur trois
 - Mêmes conditions (prélèvement, méthode , laboratoire)

Merci