Análisis de Orina

Aplicación de los diferentes kits Sebia

Nieves SANZ
Asesora Científica
nsanz@sebia.com

¿Qué información se obtiene a partir de la electroforesis en orina ?

✓ Tipificación de la proteinuria:
- Por sobrecarga
- Glomerular
- Tubular
- Mixta

✓ Detección y cuantificación de la proteína de Bence Jones

✓ Puesta en evidencia de proteinuria post-renal

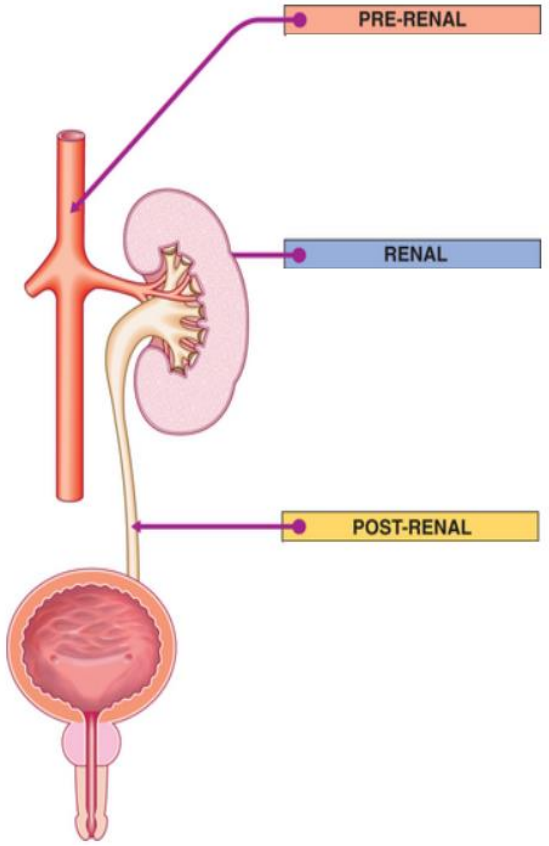
Tipos de PROTEINURIA

- **Fisiológica:** Intermitente (ortostática, postprandial, de esfuerzo, de stress)

- **Pre-renal:** Hipertensión arterial, hipertermia, insuficiencia hepática o cardíaca, etc. Concentración elevada de una proteína sérica (proteína por sobrecarga)

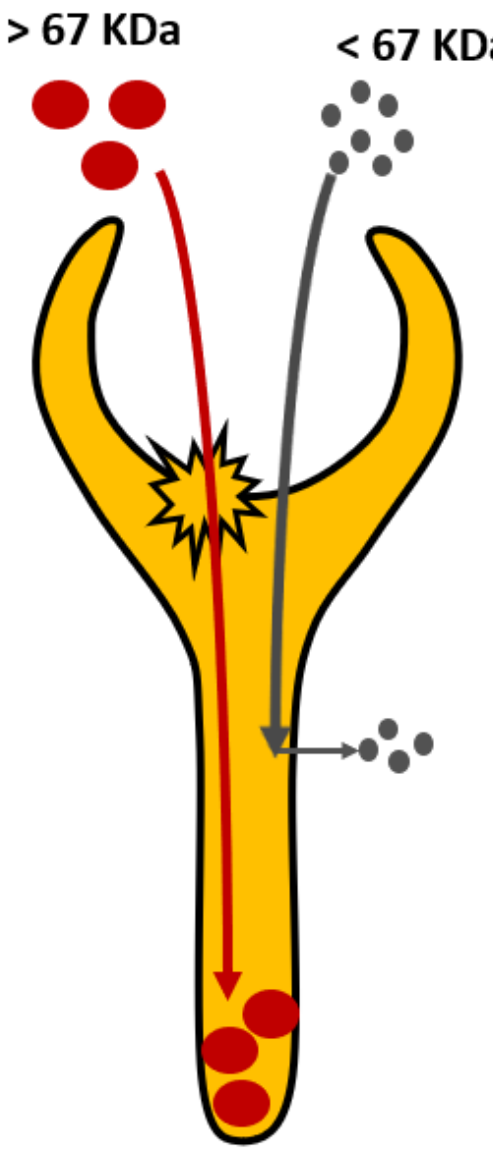
- **Renal:** Glomerular, Tubular, Mixta (glomerular + tubular)

- **Post-renal:** Lesión del tracto urogenital



Proteinuria GLOMERULAR

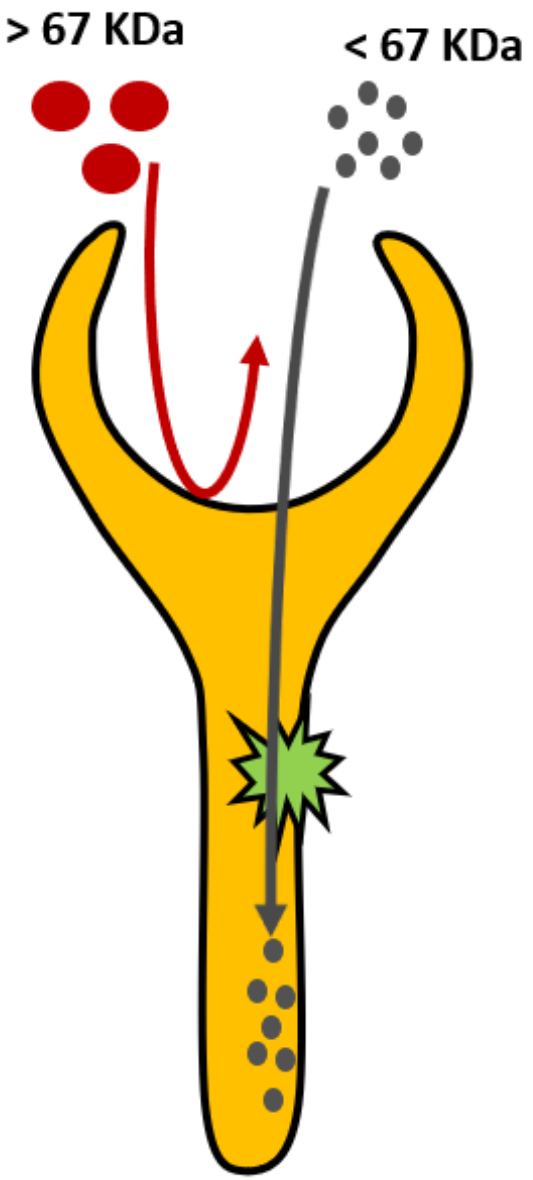
- Es la proteinuria más frecuente tanto en adultos como en niños
- En general, presencia de proteinuria elevada (> 1g/24h)
- Pérdida de proteínas de **alto peso molecular (>67 kDa):** albúmina, transferrina, inmunoglobulinas…
- Causas:
  - Diabetes
  - Enfermedades infecciosas (bacterianas, hepatitis B, varicela, sífilis,…)
  - Enfermedades sistémicas (autoinmunes, cánceres,…)
  - Intoxicaciones (medicamentos,…)
- **Proteinuria glomerular selectiva:** presencia de albúmina únicamente
- **Proteinuria glomerular no-selectiva:** presencia de albúmina + otras proteínas (Tf, Igs)



Proteinuria TUBULAR

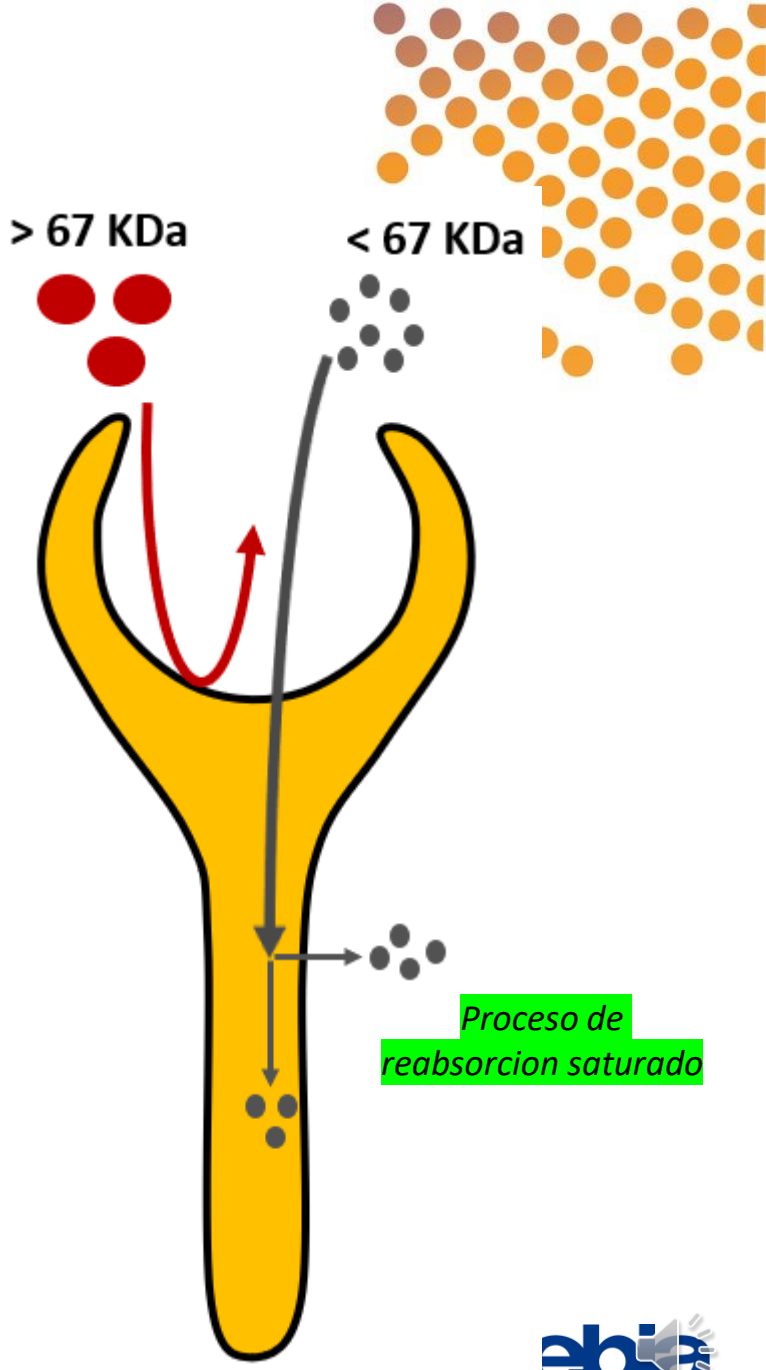
- Menos común y generalmente transitoria
- La proteinuria es inferior a 0,5 g/24h
- Ausencia o disminución de la reabsorción de las proteínas de **bajo peso molecular (<67 kDa)**

- <u>Causas:</u>
  - Síndrome de Fanconi, síndrome de Bartter
  - Enfermedades metabólicas (diabetes, oxalosis)
  - Gammopatía monoclonal (enfermedad de Waldenström, amiloidosis)
  - Medicamentos (aminoglucósidos, analgésicos,…)
  - Intoxicaciones (metales pesados, aminoglucósidos,…)



Proteinuria POR SOBRECARGA

- Aumento patológico de la concentración de **una sola proteína sérica**
- Saturación de la capacidad de reabsorción por parte de los receptores tubulares
- <u>Causas:</u>
  - Cadenas livianas libres, en las gammopatía monoclonales
  - Beta-2 microglobulina, en los síndromes linfoproliferativos
  - Lisozima, en ciertas leucemias mieloides agudas
  - Hemoglobina, en las hemólisis
  - Orosomucoide, en carcinomas bronquiales
  - Mioglobina, en rabdomiólisis
- La proteinuria por sobrecarga puede provocar una nefropatía (en particular la proteinuria de Bence Jones)



Proteinuria POST-RENAL

- Adición de proteínas a la orina final, en la vejiga o uréteres, luego de la formación de la orina en los riñones

- Las proteínas provienen de la linfa o del plasma

- <u>Causas:</u>
  - Hemorragia del tracto urogenital
  - Infección

- <u>Presencia de:</u>
  - Albúmina (predominante)
  - Otras proteínas séricas (macro y micro proteínas)
  - **Alfa-2 macroglobulina (720 kDa)**

Análisis de Orina: Diagnostico y seguimiento de gammopatías monoclonales

Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Meletios Dimopoulos,[1] Robert Kyle,[2] Jean-Paul Fermand,[3] S. Vincent Rajkumar,[2] Jesus San Miguel,[4] Asher Chanan-Khan,[5] Heinz Ludwig,[6] Douglas Joshua,[7] Jayesh Mehta,[8] Morie Gertz,[2] Hervé Avet-Loiseau,[9] Meral Beksaç,[10] Kenneth C. Anderson,[11] Philippe Moreau,[9] Seema Singhal,[8] Hartmut Goldschmidt,[12] Mario Boccadoro,[13] Shaji Kumar,[2] Sergio Giralt,[14] Nikhil C. Munshi,[15] and Sundar Jagannath,[16] on behalf of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Both serum and urine should be assessed for monoclonal protein. Agarose gel electrophoresis or capillary zone electrophoresis of serum and urine is preferred to screen for the presence of monoclonal protein. However, quantitation of serum immunoglobulins by nephelometry should also be performed. Measurement of monoclonal protein both by densitometer tracing and by nephelometric quantitation is recommended. These 2 tests are complemen-

BLOOD, 5 MAY 2011 • VOLUME 117, NUMBER 18

- Tanto el suero como la orina deben evaluarse para detectar proteínas monoclonales.
- Se prefiere la electroforesis en gel de agarosa o la electroforesis capilar de suero y orina para detectar la presencia de la proteína monoclonal.

Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Meletios Dimopoulos,[1] Robert Kyle,[2] Jean-Paul Fermand,[3] S. Vincent Rajkumar,[2] Jesus San Miguel,[4] Asher Chanan-Khan,[5] Heinz Ludwig,[6] Douglas Joshua,[7] Jayesh Mehta,[8] Morie Gertz,[2] Hervé Avet-Loiseau,[9] Meral Beksaç,[10] Kenneth C. Anderson,[11] Philippe Moreau,[9] Seema Singhal,[8] Hartmut Goldschmidt,[12] Mario Boccadoro,[13] Shaji Kumar,[2] Sergio Giralt,[14] Nikhil C. Munshi,[15] and Sundar Jagannath,[16] on behalf of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Table 2. Laboratory tests for multiple myeloma

History and physical examination
Complete blood count and differential; peripheral blood smear
Chemistry screen, including calcium and creatinine
Serum protein electrophoresis, immunofixation
Nephelometric quantification of serum immunoglobulins
Routine urinalysis, 24-hour urine collection for electrophoresis and immunofixation
Bone marrow aspirate and/or biopsy
Cytogenetics (metaphase karyotype and FISH)
Radiologic skeletal bone survey, including spine, pelvis, skull, humeri, and femurs; magnetic resonance imaging in certain circumstances
Serum β_2-microglobulin and lactate dehydrogenase
Measurement of serum-free light chains

- Electroforesis de proteinas sericas, inmunofijación.
- Análisis de orina de rutina, recolección de orina de 24 horas para electroforesis e inmunofijación.

BLOOD, 5 MAY 2011 • VOLUME 117, NUMBER 18

Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Meletios Dimopoulos,[1] Robert Kyle,[2] Jean-Paul Fermand,[3] S. Vincent Rajkumar,[2] Jesus San Miguel,[4] Asher Chanan-Khan,[5] Heinz Ludwig,[6] Douglas Joshua,[7] Jayesh Mehta,[8] Morie Gertz,[2] Hervé Avet-Loiseau,[9] Meral Beksaç,[10] Kenneth C. Anderson,[11] Philippe Moreau,[9] Seema Singhal,[8] Hartmut Goldschmidt,[12] Mario Boccadoro,[13] Shaji Kumar,[2] Sergio Giralt,[14] Nikhil C. Munshi,[15] and Sundar Jagannath,[16] on behalf of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Routine urinalysis is important in suspected myeloma. For screening, a random urine protein electrophoresis and urine immunofixation may be performed. Once a diagnosis of myeloma is suspected or established, all patients should undergo 24-hour urine collection to calculate the amount of proteinuria. An aliquot from an adequately concentrated 24-hour specimen should be sent for electrophoresis. A monoclonal protein appears as a homogeneous

- El análisis de orina de rutina es importante en caso de sospecha de mieloma.
- Para la detección, se puede realizar una electroforesis de proteínas en orina al azar y una inmunofijación de orina.
- Una vez que se establece el diagnóstico de mieloma, todos los pacientes deben someterse a una recolección de orina de 24 horas para calcular la cantidad de proteinuria.

BLOOD, 5 MAY 2011 • VOLUME 117, NUMBER 18

Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

Meletios Dimopoulos,[1] Robert Kyle,[2] Jean-Paul Fermand,[3] S. Vincent Rajkumar,[2] Jesus San Miguel,[4] Asher Chanan-Khan,[5] Heinz Ludwig,[6] Douglas Joshua,[7] Jayesh Mehta,[8] Morie Gertz,[2] Hervé Avet-Loiseau,[9] Meral Beksaç,[10] Kenneth C. Anderson,[11] Philippe Moreau,[9] Seema Singhal,[8] Hartmut Goldschmidt,[12] Mario Boccadoro,[13] Shaji Kumar,[2] Sergio Giralt,[14] Nikhil C. Munshi,[15] and Sundar Jagannath,[16] on behalf of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3

SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO:

follow-up of his disease. For patients with light chain myeloma, 24-hour urine collection with total protein and urine electrophoresis to quantify Bence Jones proteinuria is recommended. For

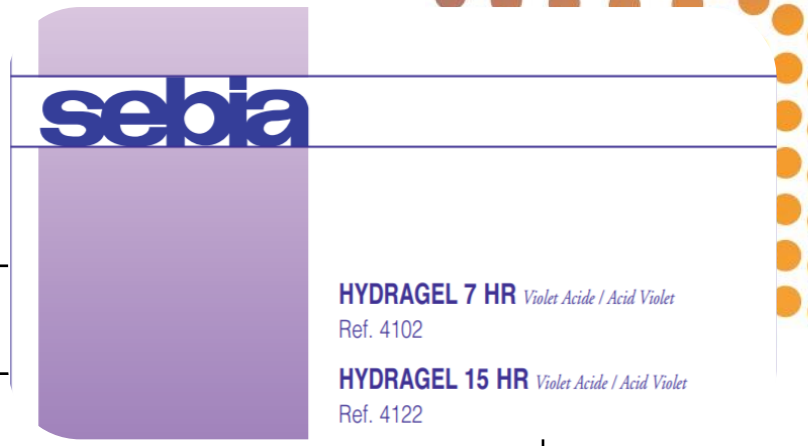
- Para los pacientes con mieloma de cadenas ligeras, se recomienda la recolección de orina de 24 horas con proteína total y electroforesis de orina para cuantificar la proteinuria de Bence Jones.

BLOOD, 5 MAY 2011 • VOLUME 117, NUMBER 18

Kits Sebia

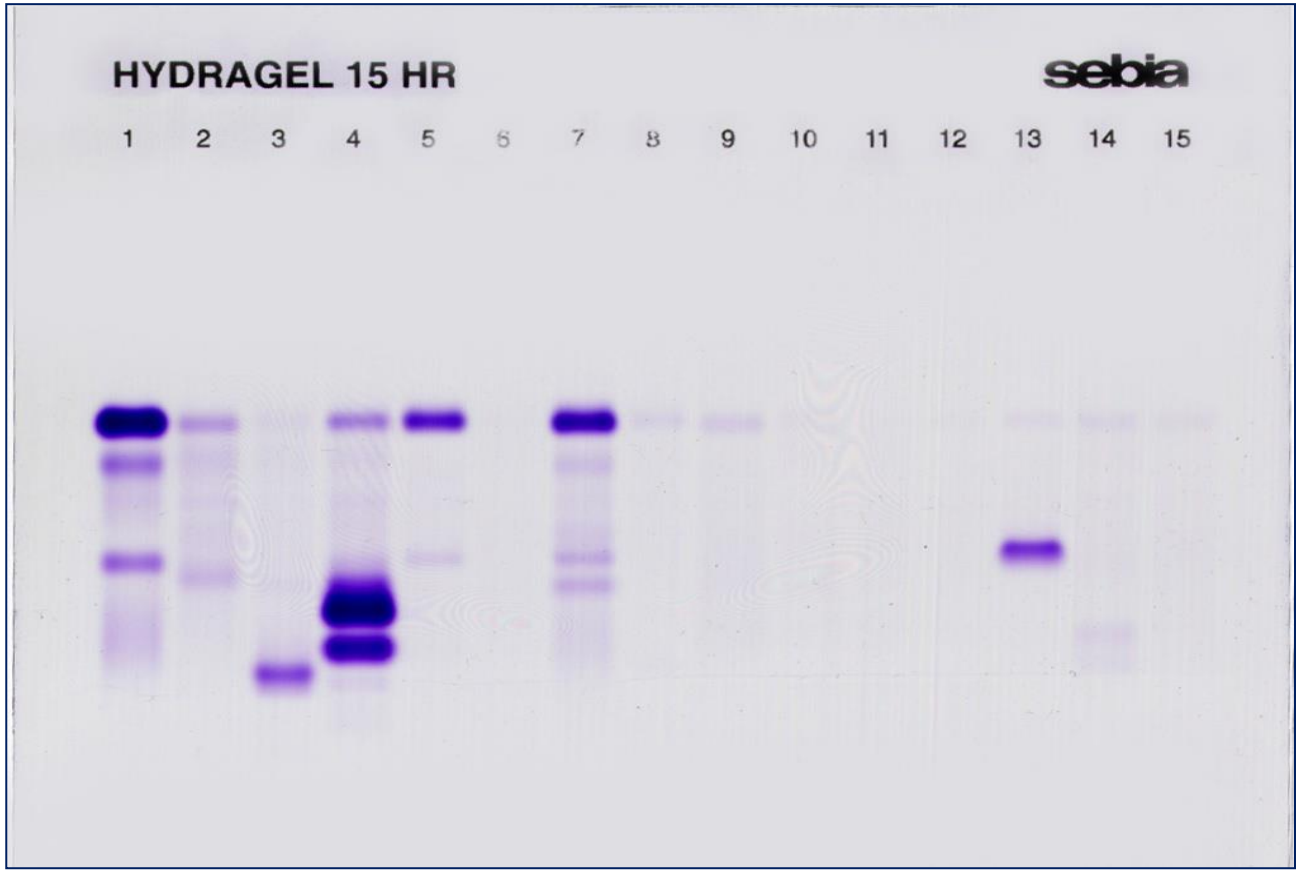
disponibles para el análisis de orinas

HYDRAGEL HR



N° de muestras	7 – 15
Tipo de muestra	• Orina sin concentrar → HR3 • Orina concentrada (5 g/L) → HR2
Principio	Separación de las proteínas según la carga
Objetivo de la prueba	• Detección de proteínas de origen glomerular y tubular • Detección de proteína de Bence Jones
Control de calidad	Suero diluido 1/40 en solución salina
Interpretacion de resultados	• Análisis cualitativo (inspección visual del gel) • Análisis cuantitativo (densitometría)
Sensibilidad	15-20 mg/L

HYDRAGEL HR (HR3)

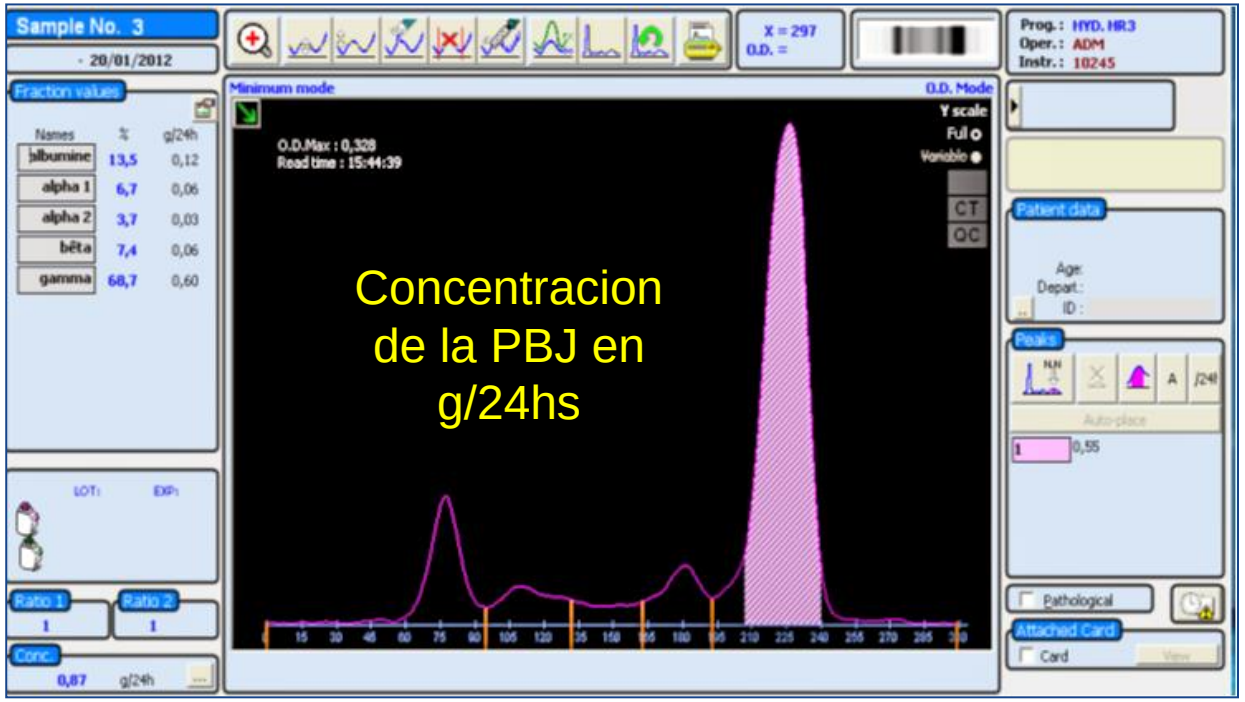


N° muestra	Proteína de Bence Jones	Proteinuria
1	Ausente	Glomerular mixta
2	Sospecha de presencia PBJ	Tubular
3	Sospecha de presencia PBJ	Por sobrecarga
4	Sospecha de presencia PBJ	Por sobrecarga
5	Ausente	Glomerular
6	Ausente	Fisiológica
7	Sospecha de presencia PBJ	Mixta
8-12	Ausente	Fisiológica
13	Sospecha de presencia PBJ	Por sobrecarga
14	Sospecha de presencia PBJ	Por sobrecarga
15	Ausente	Fisiológica

HYDRAGEL HR

METODO CUANTITATIVO

- Muestra: orina sin concentrar
- Programa de migración: 7/15 HR3
- Programa de lectura: HYDRAGEL HR3



METODO CUALITATIVO

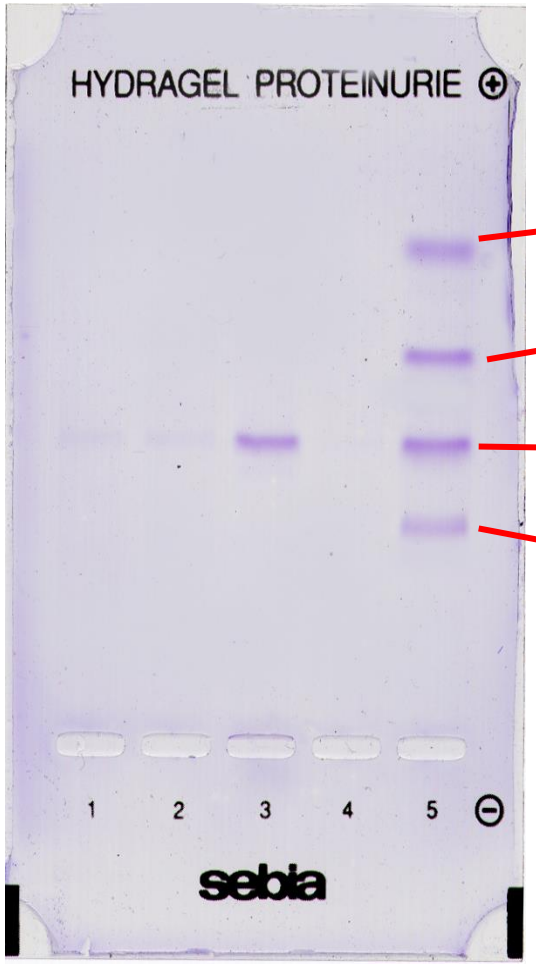
- Muestra: Orina concentrada
- Programa de migración: 7/15 HR2
- Programa de lectura: HYDRAGEL HR2

La cuantificacion de la PBJ no es posible

HYDRAGEL PROTEINURIE

N° de muestras	5
Tipo de muestra	Orina sin concentrar
Principio	Separación de las proteínas según su peso molecular en gel SDS-agarosa
Objetivo de la prueba	Clasificación de proteinurias
Control de calidad	Control de peso molecular (Ref 4781)
Interpretación de resultados	Comparación visual con marcador proteico de peso molecular
Sensibilidad	15 mg/L

Control de peso molecular (Ref 4781)



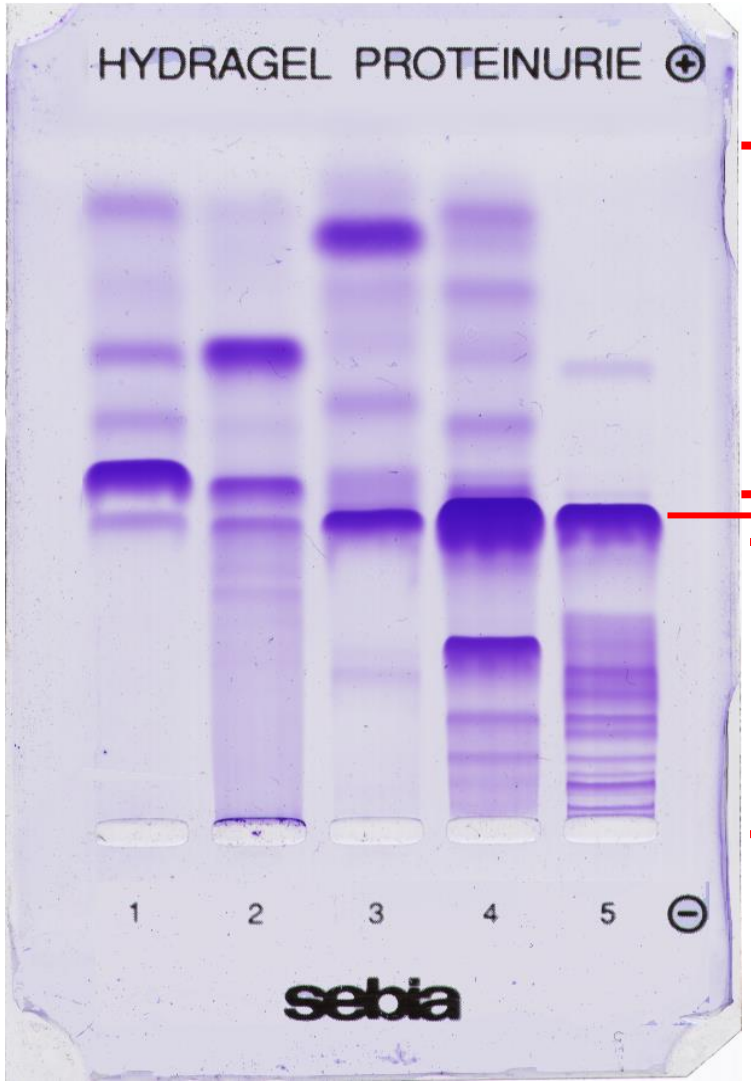
14 kDa (Lisozima)

27 kDa (Triosa fosfato isomerasa)

66 kDa (Albumina bovina)

150 kDa (IgG humana)

HYDRAGEL PROTEINURIE



Proteínas de origen tubular
PM < 67 kDa

Albúmina

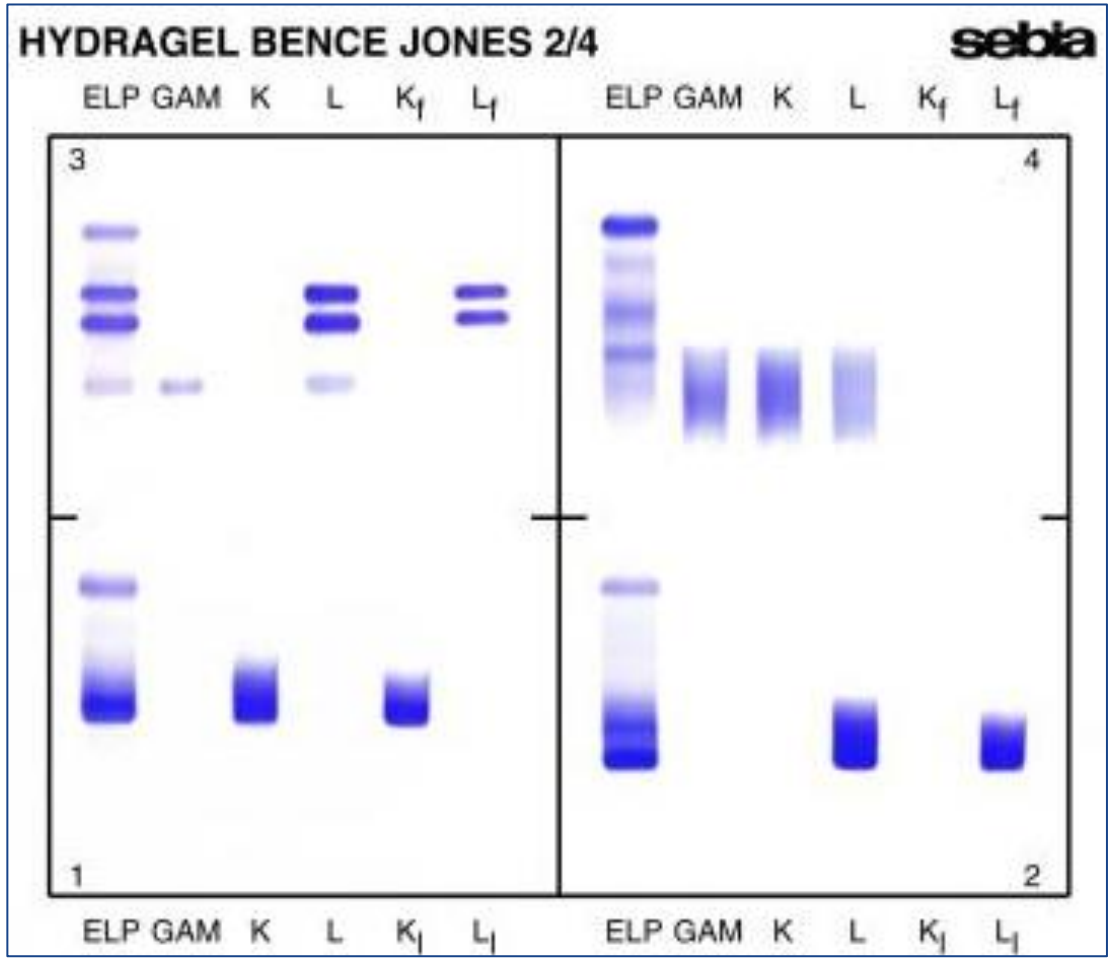
Proteínas de origen glomerular
PM > 67 kDa

N° muestra	Proteinuria
1	Tubular
2	Mixta
3	Tubular mixto
4	Mixta
5	Suero

HYDRAGEL BENCE JONES

N° de muestras	1-2-4-9
Tipo de muestra	Orina sin concentrar
Principio	Separación de las proteínas según su carga e inmunofijación utilizando antisueros específicos
Objetivo de la prueba	Deteccion y cuantificación de proteína de Bence Jones
Antisueros	ELP, anti-GAM, anti-Kappa, anti-Lambda, anti-Kappa libre, anti-Lambda libre
Aplicación antisueros	Mascara dinamica / Mascara estandar
Interpretacion de resultados	• Análisis cualitativo (inspección visual del gel) • Análisis cuantitativo (densitometría) → Hydrasys BJ-ELP
Sensibilidad	• 20 mg/L (GAM, Kappa, Lambda) • 50 mg/L (Kappa libre, Lambda libre)

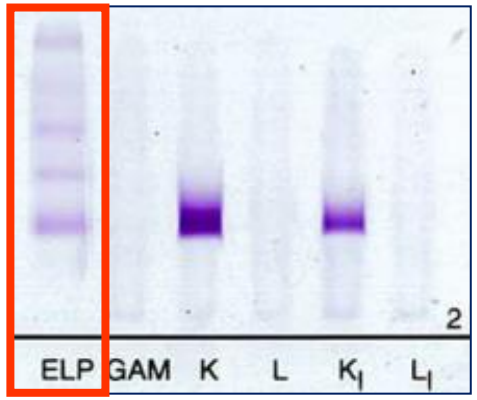
HYDRAGEL BENCE JONES



N° muestra	Proteína de Bence Jones	Proteinuria Presuntiva
1	PBJ Kappa	Por sobrecarga
2	PBJ Kappa (polimerizada?)	Por sobrecarga
3	IgGAM Lambda + PBJ Lambda (polimerizada?)	Glomerular
4	Ausente	Mixta

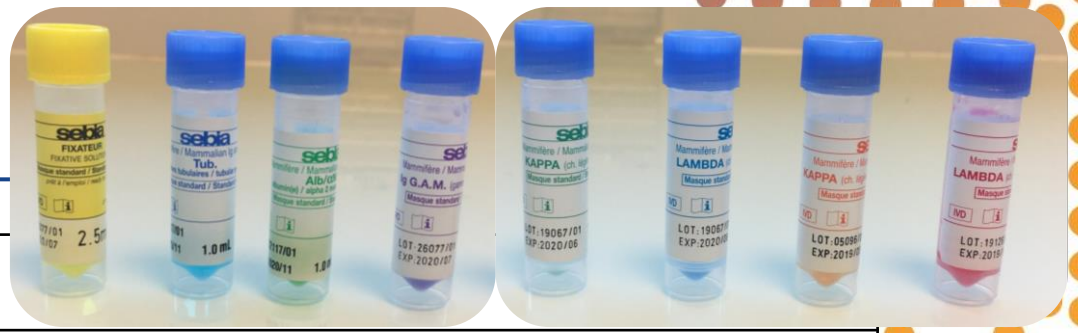
HYDRAGEL BENCE JONES

- Programa de lectura: HYDRASYS BJ-ELP



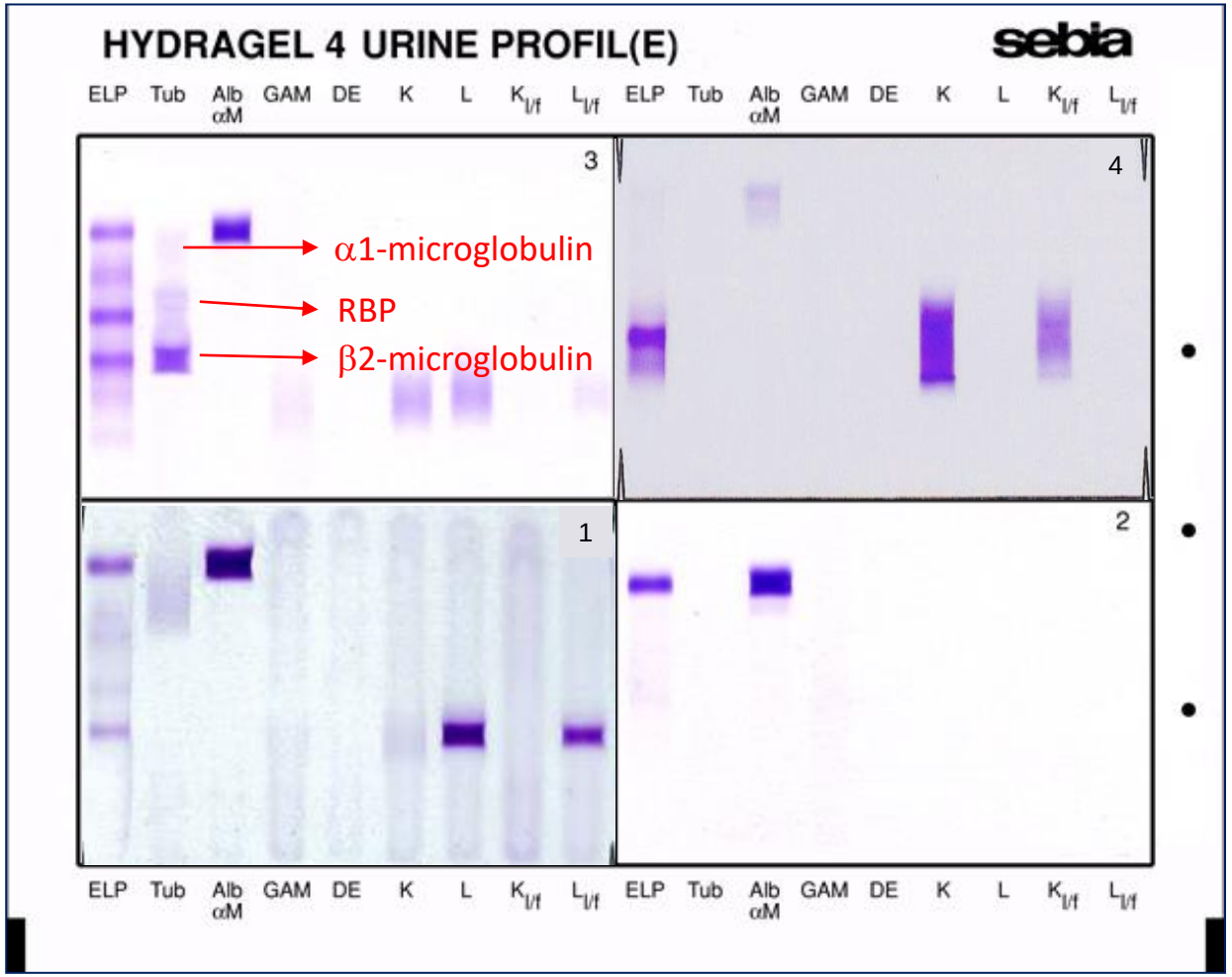
Lectura de la pista ELP

HYDRAGEL URINE PROFILE



N° de muestras	2-4
Tipo de muestra	Orina sin concentrar
Principio	Separación de las proteínas según su carga e inmunofijación utilizando antisueros específicos
Objetivo de la prueba	• Clasificación de la proteinuria • Deteccion y cuantificación de proteína de Bence Jones
Antisueros	ELP, anti-Tub, anti-Alb/αM - anti-GAM, anti-Kappa, anti-Lambda, anti-Kappa libre, anti-Lambda libre
Aplicación antisueros	Mascara dinamica / Mascara estandar
Interpretacion de resultados	• Analisis cualitativo (inspeccion visual del gel) • Analisis cuantitativo (densitometria) → Hydrasys UP-ELP
Sensibilidad	• 20 mg/L (GAM, Kappa, Lambda) • 50 mg/L (Kappa libre, Lambda libre)

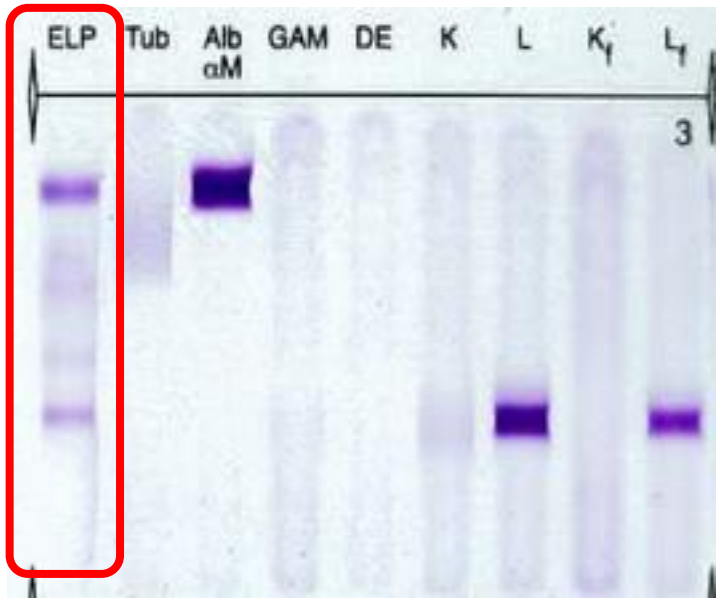
HYDRAGEL URINE PROFILE



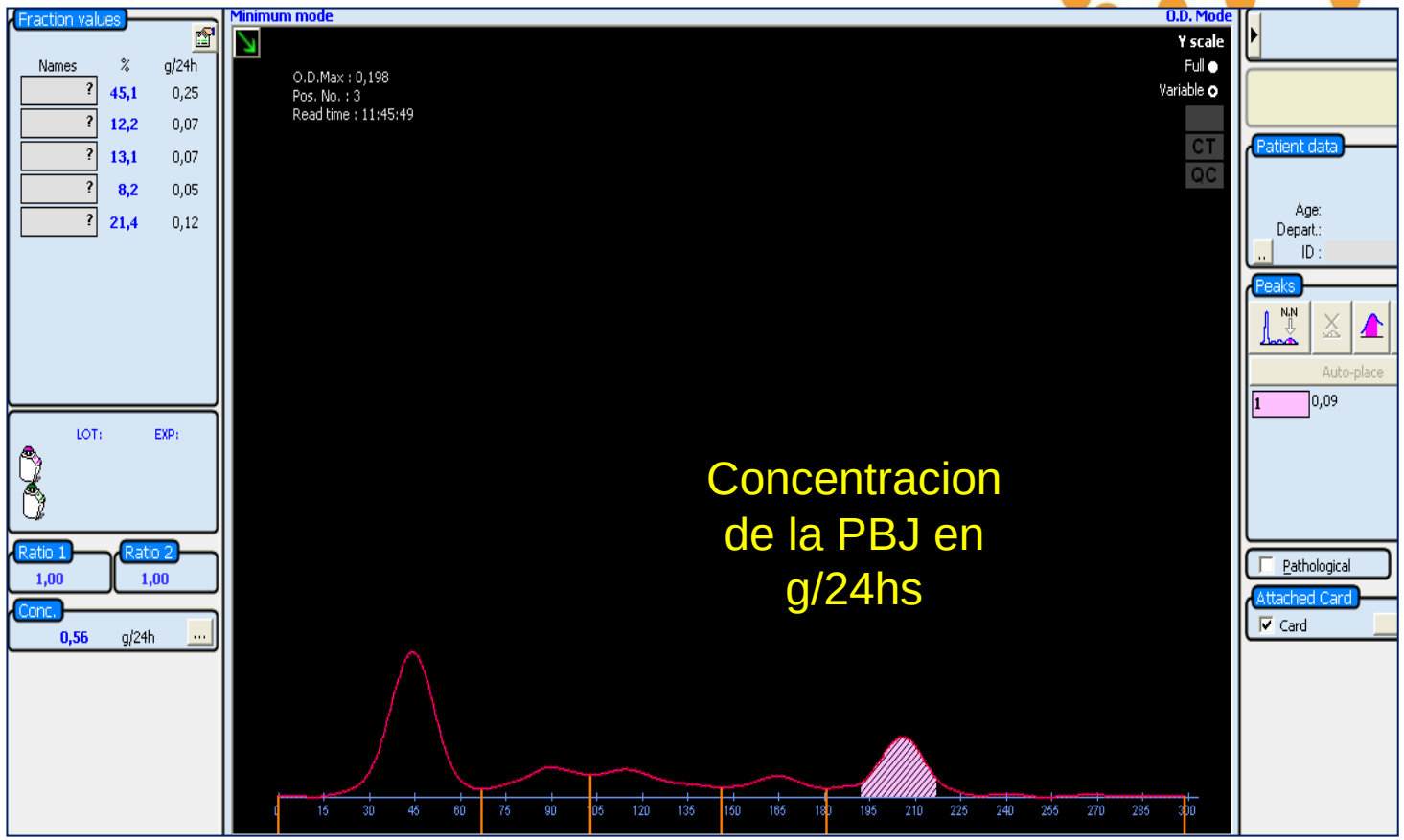
N° muestra	Proteinuria	Proteína de Bence Jones
1	Mixta	PBJ Lambda
2	Glomerular selectiva	Ausente
3	Mixta	Ausente
4	Por sobrecarga	PBJ Kappa polimerizada?

HYDRAGEL URINE PROFILE

- Programa de lectura: **HYDRASYS UP-ELP**



Lectura de la pista ELP

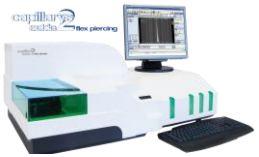


TECNICA « URINE »

Tipo de muestra	Orinas concentradas
Principio	Separación de las proteínas por electroforesis capilar según su carga
Objetivo de la prueba	Detección y cuantificación de proteína de Bence Jones
Interpretación de resultados	• Análisis cualitativo (inspección visual de la curva) • Análisis cuantitativo
Sensibilidad	20 mg/L

Sistema de dialisis
(Ref 9200)

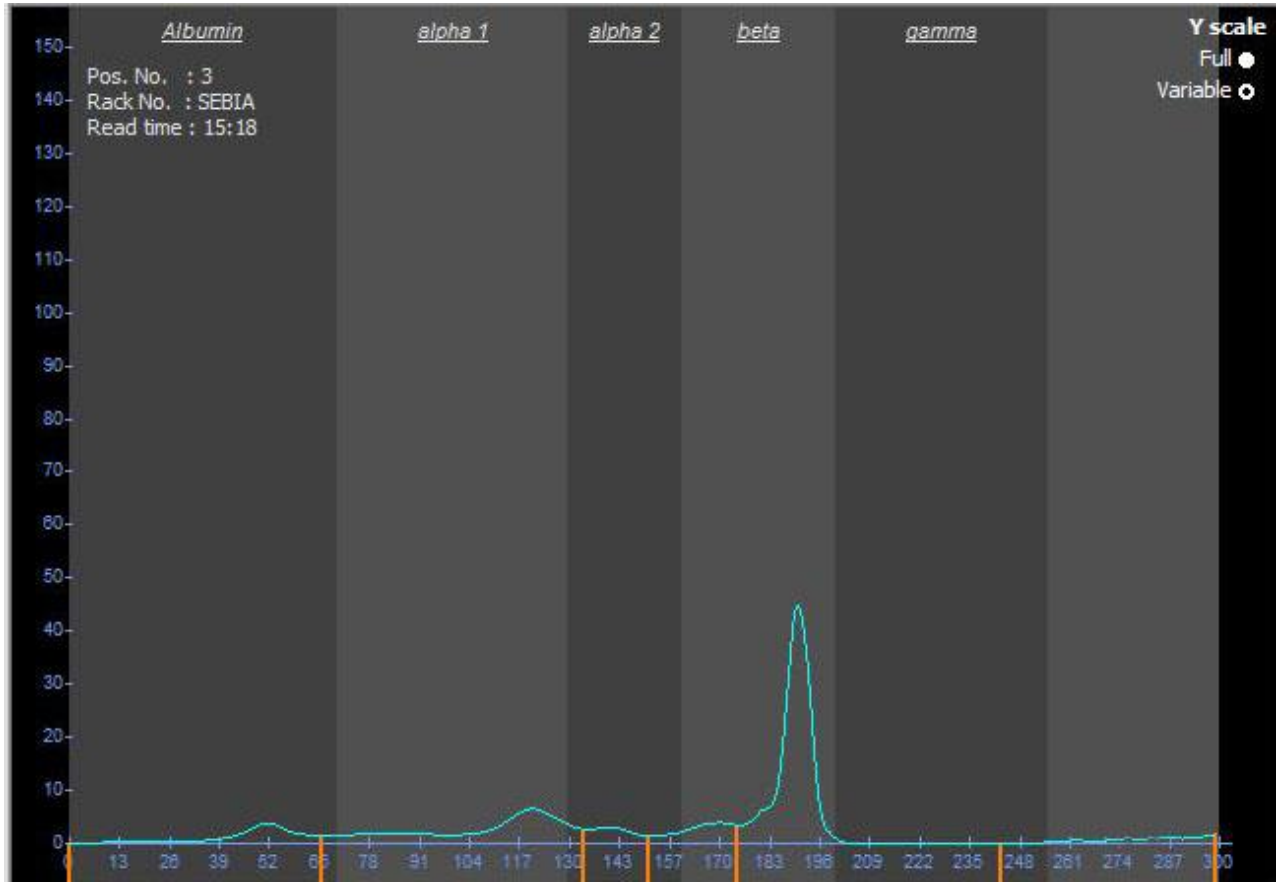
13 muestras/h



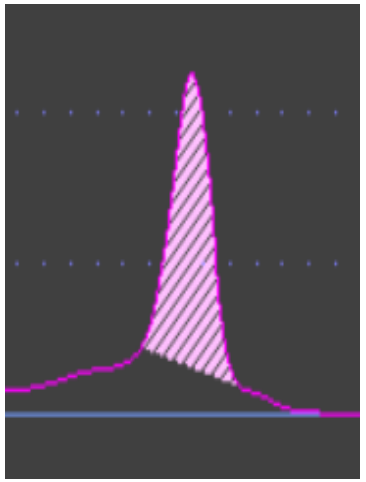
42 muestras/h

- 71 muestras/h
- 106 muestras/h

TECNICA « URINE »



- Cuantificación de la proteína de Bence Jones
- Concentración en g/24hs

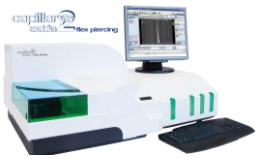


Proteinuria: 0.26 g/L

URINE IMMUNOTYPING

Tipo de muestra	Orinas concentradas
Principio	Separación de las proteínas por electroforesis capilar según su carga + inmunosustracción
Objetivo de la prueba	Detección de proteína de Bence Jones
Antisueros	ELP, anti-IgG, IgA, IgM, Kappa y anti-Lambda
Interpretación de resultados	• Análisis cualitativo (inspección visual de las curvas)

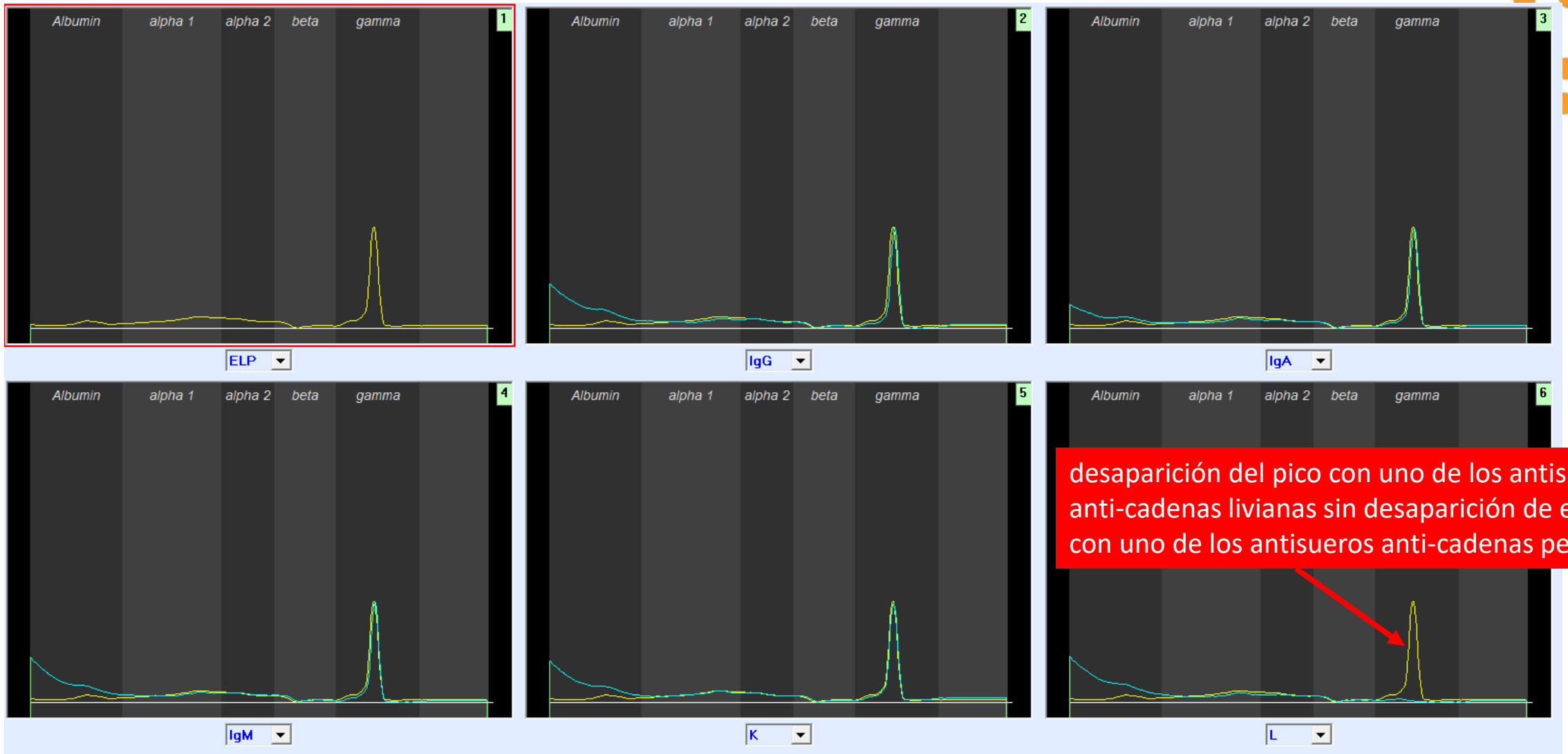
2 muestras/h



8 muestras/h

- 10 muestras/h
- 13 muestras/h

URINE IMMUNOTYPING



desaparición del pico con uno de los antisueros anti-cadenas livianas sin desaparición de ese pico con uno de los antisueros anti-cadenas pesadas

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCION !

Nieves SANZ
Asesora Científica
nsanz@sebia.com