

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère De L'enseignement Supérieur et De La Recherche Scientifique

Université Blida – 1

**Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**



**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master 2**

**Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire – Immunologie**

## **Thème**

**Etude épidémiologie et immunochimique de Gammopathies  
monoclonales à IgM**

**Présenté par :**

**Nemdil Rania**

**Amalou Saida**

**Soutenu le :** Septembre 2017 devant le jury composé de :

<b>-Mme Aissani Radia</b>	<b>Maitre de conférence B</b>	<b>Université de Blida – 1</b>	<b>Présidente</b>
<b>-Mme Eddaikra Atika</b>	<b>Maitre – Assistante A</b>	<b>Université de Blida – 1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>-Mr Belouni Rafik</b>	<b>Maitre – Assistant A</b>	<b>CHU Beni messous</b>	<b>Promoteur</b>
<b>-Mme Zerouti Khadjidja</b>	<b>Maitre – Assistante A</b>	<b>Université de Blida – 1</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Année Universitaire 2016 – 2017**

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout d'abord 'ALLAH 'pour le peu de savoir que nous avons acquis A travers ce modeste travail. Nous adressons nos très sincères remerciements, À Mr «Belnoui

Rafik» et à Mlle Zerouti Khadidja pour leur encadrement pendant tout cette période ; les conseils qu'ils nous ont prodigués et ces nombreux encouragements furent très précieux pour l'accomplissement de ces travaux. Ils n'ont jamais compté le temps qu'ils nous ont accordé.

Nos plus vifs remerciements s'adressent à la présidente du jury Mme Aissani Radia et à Mme Eddaikra Atika a d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

Ensuite, nous remercions tous les professeurs et Enseignants qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.

Enfin, nous remercions nos familles infiniment et plus particulièrement nos parents, nos Amis et toutes ces personnes qui ont un jour nous ont toujours encouragés

*Rania et Saida*

## **DEDICACE**

Avant toute chose, nous remercions Allah, Le tout puissant, pour nous avoir donnée la force, la volonté, et la patience durant toutes nos années d'étude. A nos chers parents qui sont la source éternelle de notre bonheur, Qui nous ont aidé à être ce que nous sommes aujourd'hui, avec tant d'amour et d'affection. Que Dieu les gardes en bonne santé toujours. A nos chères soeurs pour leur Aide et leur soutien moral. A nos frères adorés pour leur compréhension. A toute nos familles, nos amis, et à tous ceux qui ont contribué un jour à notre éducation.

## Résumé

Les gammopathies monoclonales sont associées à un groupe très hétérogène de pathologies connues bénignes ou malignes, ces derniers sont représentés par la maladie de Waldenström 12% et de myélome multiple 16% mais elle contient également un large éventail de maladies.

L'objectif de notre étude est de décrire les caractéristiques épidémiologiques, étiologiques, et immunochimiques trouvées chez une population de patients atteints d'une gammopathies monoclonales à IgM recrutés au niveau du service d'immunologie médicale de CHU beni messous.

Il s'agit d'une étude rétrospective effectuée durant la période allant du février 2017 jusqu'à juin 2017 sur 69 patients. Dans cette étude tous les patients ont présenté le pic monoclonal de l'isotype IgM détecté et visualisé par la technique d'électrophorèse et d'immunofixation des protéines sériques ou urinaires. L'âge moyen obtenu dans notre population est de 65 ans ce qui corrobore avec les études épidémiologiques déjà faite montrant une prédominance de ces pathologies chez les sujets âgés du sexe masculin.

**Mots clés :** gammopathies, gammopathies monoclonales à IgM,

## **Abstract**

The aim of our work is to write the epidemiological, etiological, clinical and immunochemical characteristics of a population of patients with an IgM monoclonal gammopathies provided from the medical immunology department of CHU Beni messous.

A retrospective study carried out during the period from february 2017 to June 2017 on 69 patients. all patients showed the characteristic peak of isotype IgM detected and visualized by the technique of electrophoresis and the immunofixation of the serum or urinary proteins.

The average age of our population was 65 years, majority of them (95.65%) over forty. Epidemiological studies have shown that the monoclonal gammopathies are pathologies of the elderly with a predominance of male sex. In fact, these pathologies are associated with a very heterogeneous group of diseases known as benign or malignant. In these latter, they are consisting of Waldenström (12%) and multiple myeloma (16%) but also, a wide range of diseases.

## **Abréviation**

**BCR** : B-Cell Receptor.

**CCL** : Chaînes Légères Libres.

**EPP** : Electrophorèse des Protéines Plasmatiques.

**IF** : Immunofixation

**Ig** : Immunoglobuline.

**IL6** : Interleukine6.

**ITP** : Thrombocytopénie Immunitaire.

**GM** : Gammopathie Monoclonale.

**LPD** : Syndrome Lymphoprolifératif de Lymphocytes Distinct B.

**LZM** : Lymphome de la zone marginale.

**MALT** : Mucosa Associated Lymphoide Tissue.

**MGUS** : Gammopathie de Signification Indéterminé.

**MM** : Myélome multiple.

**MW** : Maladie Waldenström.

**TP** : Taux de Protéine.

**PBG** : Protéines de Bence Jones.

**XBP1-ERN1** : X-Box Protein- Endoplasmic Reticulum to Nucleus Signaling1.

**ZM** : Zone Marginale.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Les critères de diagnostic.....	15
<b>Tableau II.</b> Données épidémiologique de notre série de 76 patients.....	17
<b>Tableau III.</b> Les pathologies associées à une GM à IgM.....	21

## La liste des figures

<b>Figure 1.</b> Structure des immunoglobulines.....	2
<b>Figure 2.</b> Structure tridimensionnelle d'une Ig G.....	3
<b>Figure 3.</b> Structure d'une immunoglobuline monoclonale.....	4
<b>Figure 4.</b> Evaluation des fréquences des hémopathies malignes en Algérie.....	9
<b>Figure 5.</b> Physiopathologie du myélome Interactions plasmocyte - stroma médullaire.....	10
<b>Figure 6.</b> Profil électrophorétique sérique normal.....	21
<b>Figure 7.</b> Profil électrophorétique sérique anormal (pic monoclonal dans la zone $\beta$ ).....	21
<b>Figure 8.</b> Mode opératoire de l'immunofixation sérique.....	24
<b>Figure 9.</b> Résultat d'une immunofixation (IgM $\lambda$ ).....	25
<b>Figure 10.</b> Répartition graphique des patients selon le sexe.....	26
<b>Figure 11.</b> Représentation graphique des patients par tranches de 10 années.....	26
<b>Figure 12.</b> Représentation graphique des patients selon le sexe et les tranches d'âge.....	27
<b>Figure 13.</b> Représentation graphique des patients selon le service de provenance.....	28
<b>Figure 14.</b> Répartition des patients selon le taux de protéines totales.....	29
<b>Figure 15.</b> Répartition selon l'isotype kappa/lambda.....	29
<b>Figure 16.</b> Répartition selon le taux d'albumine.....	30
<b>Figure 17.</b> Répartition selon la position de composant monoclonal.....	31



## Sommaire :

### Chapitre I : Revue bibliographique

Introduction .....	1
I.1.les immunoglobulines .....	2
1.1.1. Définition .....	2
1.1.2. Structure .....	2
1.1.3. Anomalies immunoglobulines .....	3
1.1.4. Protéine monoclonal ou immunoglobulinem monoclonal .....	4
I.2. Gammopathies monoclonales à IgM .....	5
I.2.1. Gammopathies monoclonales maligne .....	5
I.2.1.1. Maladie de waldenstöm .....	5
I.2.1.2. Myélome multiple .....	8
1.2.1.3. Lymphome de la zone marginale .....	10
I.2.1.4. Leucémie lymphoïde chronique .....	11
I.2.2. gammopathies monoclonales bénigne .....	12
I.3. Le diagnostic des gammopathies monoclonales .....	15

### Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel .....	16
II.1.1. Matériel biologique .....	16
II.1.2. Matériel non biologique .....	17
II.2. Méthodes .....	18
II-2-1- Electrophorèse des protéines sériques .....	19
II-2-2- Electrophorèse des protéines urinaire.....	21
II.2.3. L'immunofixation des protéines sériques .....	22
II.2.4. L'immunofixation des protéines urinaires .....	25

### Chapitre III : Résultats et Discussion

Résultats .....	26
III.1. Répartition des patients selon l'âge et le sexe .....	26
III.2. Répartition selon les paramètres immunochimiques .....	28
III.3. Etiologie gammopathies monoclonale à IgM .....	31
Discussion .....	32
Conclusion .....	33
Référence .....	

# **Chapitre I**

## **Recherche bibliographique**

## Introduction

Une gammopathie monoclonale appelée aussi dysglobulinémie monoclonale se caractérise par l'augmentation sélective d'une seule espèce moléculaire d'immunoglobuline sérique, causée par la prolifération incontrôlée d'un clone unique de lymphocytes B, soit d'une seule classe de chaîne lourde et d'un seul type de chaîne légère, soit de chaînes légères isolées d'un seul type et beaucoup plus rarement de fragments de chaînes lourdes d'une seule classe. Cette immunoglobuline est présente dans le sérum et/ou les urines de patients atteints (**Beauvillain et al., 2011**).

Les gammopathies monoclonales présentent une prévalence élevée dans la population âgée, elles regroupent deux grandes formes d'affections : les formes malignes de gammopathies dont les principales sont la maladie de Waldenström et le myélome multiple, et les formes bénignes de signification indéterminée (GMSI) (**Beauvillain et al., 2011, Andrès., 2013**).

La maladie de Waldenström est un trouble lymphoprolifératif chronique caractérisé par l'infiltration de la moelle osseuse par une population mixte de lymphocytes, de cellules lymphoplasmocytaires et de plasmocytes associés à l'immunoglobuline IgM (**Owen et al., 2000**).

Le myélome multiple (MM) ou la maladie de Kahler est caractérisé par une prolifération monoclonale de plasmocytes envahissant la moelle osseuse et sécrétant une immunoglobuline monoclonale (**Bouatay et al., 2013**).

La gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) est définie par la présence d'une immunoglobuline (Ig) monoclonale dans le sérum à une valeur inférieure à 30 g/l en l'absence de lésions osseuses, d'anémie, d'hypercalcémie ou d'insuffisance rénale liée à une prolifération de plasmocytes monoclonaux et moins de 10% de plasmocytes médullaires monoclonaux (**Vekmens et al., 2013**).

L'objectif de cette étude est de décrire les caractéristiques épidémiologiques, étiologiques, cliniques et immunochimiques chez des patients atteints d'une gammopathie monoclonale à IgM dont le diagnostic est effectué par des examens cliniques, radiologiques, hématologiques et confirmé par des examens biologiques, ce derniers sont représentées par une électrophorèse des protéines sériques ou urinaires complété par la technique d'immunofixation des protéines afin de déterminer l'isotype.

## I.1. Les immunoglobulines

### I.1.1. Définition

Les Immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines dont la fonction principale c'est la reconnaissance de l'antigène (Immunité humorale). Elles sont synthétisées tout au long de la lymphopoïèse B, sécrétées par les plasmocytes ou présentent à la surface cellulaire et réparties en 5 classes: IgA, IgG, IgM, IgE, IgD (Roitt., 2002).

### I.1.2. Structure

Les immunoglobulines sont des molécules symétriques formées de quatre chaînes polypeptidiques homologues 2 à 2 et reliées par des ponts disulfures: deux chaînes lourdes (H pour heavy) et deux chaînes légères (L pour light), avec une partie Fab et Fc (Figure 1).

- **Chaînes lourdes**

Il existe cinq types de chaînes lourdes, désignées par les lettres grecques  $\gamma$  (gamma),  $\alpha$  (alpha),  $\mu$  (mu),  $\delta$  (delta),  $\epsilon$  (epsilon) définissant les cinq classes d'immunoglobulines, respectivement IgG, IgA, IgM, IgD, et IgE. Certaines classes sont subdivisées en sous classes comme pour les IgG (IgG1 à IgG4) et les IgA (IgA1 et IgA2).

- **Chaînes légères**

Il existe deux types de chaînes légères, appelées  $\kappa$  (kappa) et  $\lambda$  (lambda) qui peuvent se combiner avec n'importe quel type de chaîne lourde. Pour une immunoglobuline donnée, les deux chaînes légères sont toujours identiques pour une même Ig (Batteux et al., 2007).

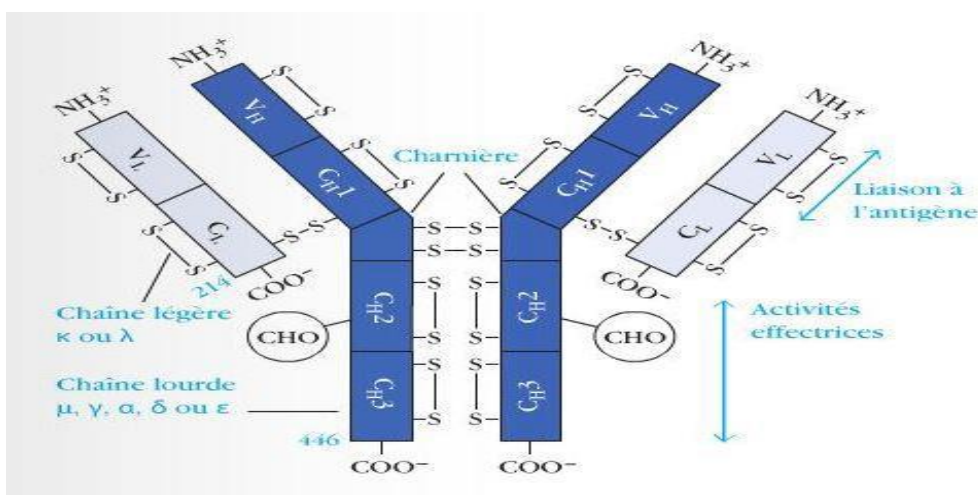
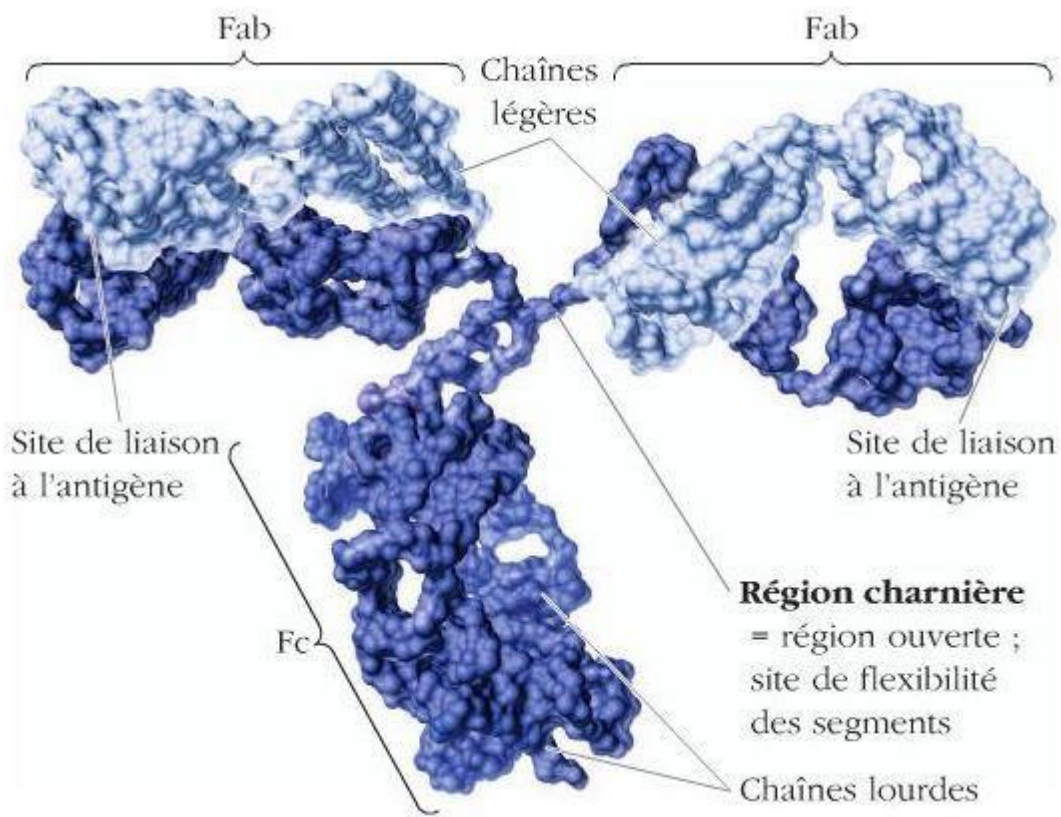


Figure 1. Structure des immunoglobulines (Kuby et al., 2014)

- **Parties Fab et Fc**

L'association VH-VL constitue le site de fixation de l'anticorps pour l'antigène. L'association entre les domaines VH-VL-CH1-CL est appelée Fab (Fragment antibody). Chaque monomère d'immunoglobuline comporte donc deux Fab.

la partie constante des deux chaînes lourdes associées comportant les domaines CH2-CH3 constitue le fragment Fc, cet acronyme désigne historiquement la capacité de cette structure à cristalliser lorsque des immunoglobulines sont digérées par de la papaine (**Figure 2**) (**Batteux et al., 2007**).



**Figure 2.** Structure tridimensionnelle d'une IgG (**Kuby et al., 2014**).

### I.1.3. Anomalies des Immunoglobulines

Le taux d'immunoglobulines du sérum est constitué de l'association des produits de multiples clones. Il existe un équilibre fortement régulé de ces taux d'Ig sous l'action combinée d'une synthèse de *novo* d'immunoglobulines et d'un catabolisme. Dans différentes circonstances, il existe un dérèglement de cet équilibre à l'origine de différentes situations :

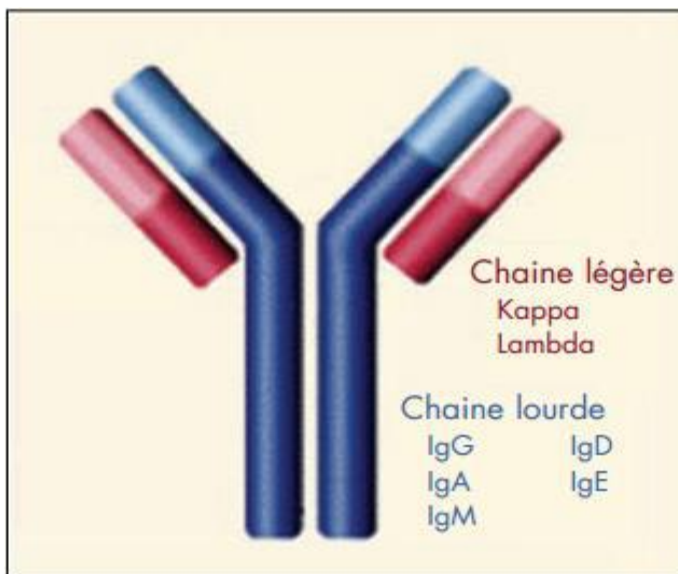
- Stimulation de la production de très nombreux clones responsable d'une hypergammaglobulinémie polyclonale.

- Stimulation de la production de quelques clones, c'est l'oligoclonalité.
- Production excessive d'un seul clone, immunoglobuline monoclonale (Roitt., 2002).

#### I.1.4. Protéine monoclonale ou Immunoglobuline monoclonale

Les Igs monoclonales sont des anticorps homogène issus d'une seule lignée de cellules. Les protéines monoclonales sont des immunoglobulines ou une partie d'immunoglobuline représentée par un pic étroit lors de l'électrophorèse (Sebia., 2011).

Les plasmocytes normaux produisent des Igs nécessaires à la réponse immunitaire humorale. Cependant, les plasmocytes anormaux présents chez les patients atteints de gammopathie, ne produisent pas d'anticorps en réponse à une infection, mais ils produisent une immunoglobuline monoclonale qui ne fonctionne pas comme un anticorps. Cette immunoglobuline peut être composée de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères, de chaînes légères uniquement ou de fragments/combinaisons de cette molécule d'immunoglobuline qui est unique chez chaque patient atteint de gammopathie (Figure 3).



**Figure 3.** Structure d'une immunoglobuline monoclonale (Sebia., 2011).

Dans cet état pathologique, les plasmocytes produisent une quantité plus importante de chaînes légères que de chaînes lourdes, ainsi après l'assemblage de l'immunoglobuline complète, quelques chaînes légères restent en excès. Ces chaînes sont appelées chaînes légères libres ou CCL (les chaînes légères qui entrent dans la composition de l'immunoglobuline complète sont appelées chaînes légères liées, car elles sont associées aux chaînes lourdes) (Sebia., 2011).

L'excès des CCL passe dans la circulation sanguine et sera par la suite filtré par les reins (CCL filtrées à travers le glomérule rénal puis réabsorbées par le tubule proximal) (**Rivier et al., 2012**). Les reins sont ensuite capables de réabsorber ces CCL et de les recycler en acides aminés. Cependant, en présence d'une protéine monoclonale dans le sérum, la quantité de CCL devient trop importante pour que les reins puissent en réabsorber la totalité. Dans ce cas, les chaînes légères libres monoclonales peuvent être présentes dans les urines ; elles sont alors appelées Protéines de Bence Jones (PBJ) (du nom du médecin qui les a décrit pour la première fois) (**Sebia., 2011**).

### **I.2. Gammopathies monoclonales à IgM**

Une gammopathie monoclonale (GM) est définie par la présence dans le sérum et/ou les urines d'une immunoglobuline monoclonale caractérisée par un seul type de chaîne lourde IgM, et un seul type de chaîne légère (Kappa ou Lambda) parfois incomplète. La présence d'une GM témoigne de la prolifération d'un clone de plasmocytes producteur d'une Ig monoclonale. Elle peut être révélatrice d'une hémopathie maligne, mais le caractère monoclonal n'est pas synonyme de malignité (**Andrès., 2013**).

#### **I.2.1. Gammopathies monoclonales malignes**

L'affection la plus fréquemment observée des gammopathies malignes est le myélome et plus rarement elles sont observées dans des syndromes lymphoprolifératif comme la maladie de Waldenström (MW), la leucémie lymphoïde chronique et certains lymphomes non hodgkiniens comme les lymphomes des zones marginales (**Andrès., 2013**).

##### **I.2.1.1. Maladie de Waldenström**

- **Définition**

La macroglobulinémie de MW est un syndrome lymphoprolifératif de lymphocytes distinct B (LPD) caractérisé par une sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale à IgM et l'infiltration des lymphocytes, des cellules lymphoplasmocytaires et de plasmocytes dans la moelle osseuse (**Owen et al., 2000**).

La paraprotéïnémie à IgM est considérée comme la principale caractéristique de MW, elle est responsable de plusieurs caractéristiques cliniques observées comme le syndrome hyperviscosité, lacryoglobulinémie et l'amylose, bien que ce dernier symptôme semble être rare (**Owen et al., 2000**).

La paraprotéinémie à IgM peut également avoir une activité auto-anticorps, qui peut entraîner une neuropathie périphérique, une hémolyse à agglutinine froide, une thrombocytopenie immunitaire (ITP), une glomérulonéphrite, une maladie de von Willebrand acquise et une cryoglobulinémie mixte (Owen et al., 2000).

- **Epidémiologie**

MW est une maladie maligne rare, ne représentant que 1 à 2% de toutes les tumeurs hématologiques, avec une incidence de 3-4 par million de personnes (Steingrímsson et al., 2016). Elle prédomine chez les personnes âgées avec un âge moyen d'environ 70 ans (Wang et al., 2008).

Selon le genre, la MW est deux fois plus fréquente chez les hommes, et la prédominance masculine est cohérente dans toutes les catégories d'âge, cette constatation est rapportée dans plusieurs pays asiatiques, aux États-Unis, Suède et en France (Steingrímsson et al., 2016).

Elle représente 1 à 2 % des hémopathies malignes et 6% des syndromes lymphoprolifératifs B. C'est une affection du sujet âgé, l'âge médian est de 72 ans. Cette étude représente une approche épidémiologique de cette affection en Algérie (Annexe 1) (Djouadi-lahlou et al., 2016).

L'incidence globale est estimée à 0,24 par 100 000 habitants. Cette incidence augmente avec l'âge, en effet, le taux d'incidence spécifique chez les sujets de plus de 60 ans est de 2,19 / 100 000 habitants. L'âge médian des patients est de 62 ans avec des extrêmes allant de 39 à 95 ans (Djouadi-lahlou et al., 2016).

- **Physiopathologie et étiologie**

L'origine de la cellule tumorale (du clone malin) de la MW pourrait être un lymphocyte B arrêté dans son processus de développement après son passage dans le centre germinatif, mais avant le stade de plasmocyte. La MW pourrait ainsi avoir pour origine une cellule mémoire IgM<sup>+</sup> et/ou IgM<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup> qui présenterait un déficit dans le processus d'initiation du switch isotypique. En effet :

- L'analyse du statut mutationnel des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines (Vh) a montré dans 90 % des cas une hypermutation des gènes Vh (avec une prédominance des réarrangements de la famille Vh3 et en particulier Vh3-23) suggérant l'existence d'un processus de sélection antigénique.



- Il n'est pas retrouvé dans les cellules de MW d'immunoglobuline (Ig) G ni A, traduisant l'absence d'initiation du switch isotypique.
- Il semble que la machinerie du switch soit fonctionnelle.
- Des anomalies dans l'expression de gènes impliqués dans la différenciation terminale des lymphocytes B en plasmocytes, en particulier XBP1-ERN1 (ont été récemment décrites) (**Poulain et al., 2010**).

Les études de protéomique ont confirmé, dans une certaine mesure, la dérégulation de nombreuses voies de signalisation intracellulaire, telles que les voies Ras/MAPK, PI3K/Akt/mTOR, PKC, NFkB et mis en évidence une dérégulation de l'expression de protéines de la famille Rho/rac/cdc42 (très impliquées dans le homing et la migration), de différentes cyclines (impliquées dans la régulation du cycle cellulaire) et d'histones désacétylases (impliquées dans la régulation de l'accessibilité de facteurs de transcription dans le nucléosome lors du processus de transcription). Plus récemment, l'analyse des profils d'expression des micro-ARN (miARN appartenant à la famille des ARN non codant dont un des rôles est de réguler l'expression de gènes en agissant au stade post-transcriptionnel) a également identifié une signature des MW qui se caractérise par une dérégulation de l'expression du miARN155, qui contribuerait *in vitro* et *in vivo* à la régulation de la prolifération et de la croissance cellulaire dans la MW (**Poulain et al., 2010**).

Le niveau élevé d'expression de l'IL6 paraît particulièrement intéressant pour mettre au point une thérapie ciblée. Il en est de même de l'expression augmentée de BLyS/BAFF (TNFSF13B, localisé en 13q33.3) membre de la famille des TNF, stimulateur des lymphocytes B qui augmente la viabilité et l'expression des cellules B malignes de la MW et stimule la production des immunoglobulines (**Berger et al., 2008**).

L'étiologie reste inconnue mais il existe une forme familiale où 20 % des patients présentent des antécédents familiaux de MW ou de syndromes lymphoprolifératifs B dans la famille (**Leblond et al., 2013**).

De plus, la prévalence d'une IgM monoclonale est augmentée dans les familles de patients ayant une MW ; étant estimée à 0,25-0,64 % dans la population normale et à 3,2-6,3 % dans les familles de patients ayant une MW (**Leblond et al., 2013**).

Une incidence augmentée de secondes tumeurs a été également rapportée dans plusieurs cas, les patients développent soit des tumeurs hématologiques soit non hématologiques (mélanome, cancers du côlon, utérus, poumon et rein) (**Leblond et al., 2013**).

### **I.2.1.2. Myélome multiple**

- **Définition**

Le myélome multiple (MM) ou maladie de Kahler, est une affection caractérisée par la prolifération maligne de cellules plasmiques d'un clone plasmocytaire dans la moelle osseuse, s'accompagnant de la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale intacte ou de l'un de ses fragments qui sont détectables dans le sérum ou l'urine. Cette atteinte se manifeste par les signes de CRAB (hypercalcémie ; insuffisance rénale, anémie et lésions osseuses) (**Decaux et al., 2009**).

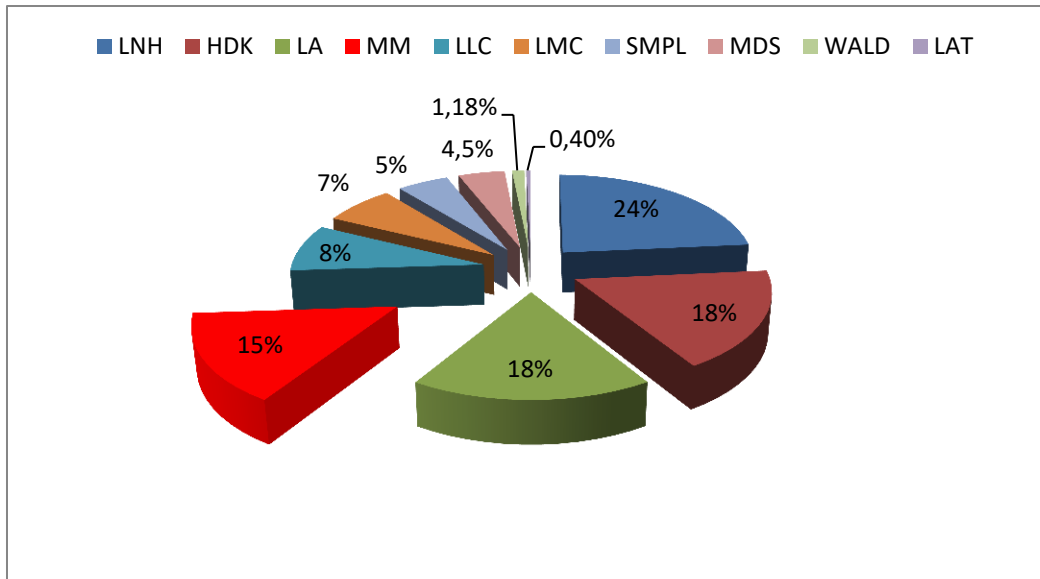
Le myélome à IgM est rare, il associe une prolifération tumorale exclusivement plasmocytaire et une gammopathie monoclonale à IgM, il n'y a pas de prolifération lymphocytaire, les lésions ostéolytiques osseuses sont fréquentes et adénopathies exceptionnelles, ce qui permet de le distinguer de la maladie de Waldenström typique avec sa prolifération de petits lymphocytes (**De Gramont et al., 1990**).

- **Epidémiologie**

Cette atteinte représente 2 % à 3.3 % des causes de gammopathies monoclonales à IgM et dont l'incidence augmente rapidement avec l'âge avec une fréquence plus élevée chez les hommes par rapport aux femmes (**De Gramont et al., 1990**).

En Algérie le myélome multiple représente 15% des hémopathies malignes (**Djouadi-lahlou et al., 2016**).

Selon les statistiques de l'année 2013, près de 2.000 Algériens souffrent du myélome multiple, avec une incidence de 1.1% pour 100.000 habitants, selon les résultats d'une enquête nationale à Oran (**Djouadi-lahlou et al., 2016**).



**Figure 4.** Evaluation des fréquences des hémopathies malignes en Algérie (Djouadi-lahlou et al., 2016).

- **Physiopathologie et étiologie**

L'activation des plasmocytes monoclonaux est provoquée par des interactions entre certains de leurs antigènes membranaires, en particulier le CD 40, et leurs ligands présents dans le stroma médullaire. Cette activation aboutit à l'expression membranaire de molécules d'adhésion qui vont renforcer le contact entre plasmocytes et cellules du stroma médullaire et favoriser leurs interactions. Ces interactions mettent en jeu de nombreuses cytokines dont les plus importantes sont :

- L'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) sécrétée par les plasmocytes myélomateux. Les plasmocytes ne produisent jamais d'IL-1  $\beta$  à l'état normal et exceptionnellement lors des GMSI. L'apparition d'une production d'IL-1  $\beta$  par les plasmocytes semble être un événement initial et essentiel de l'évolution d'une GMSI vers un myélome (Chaïbi et al., 2000).

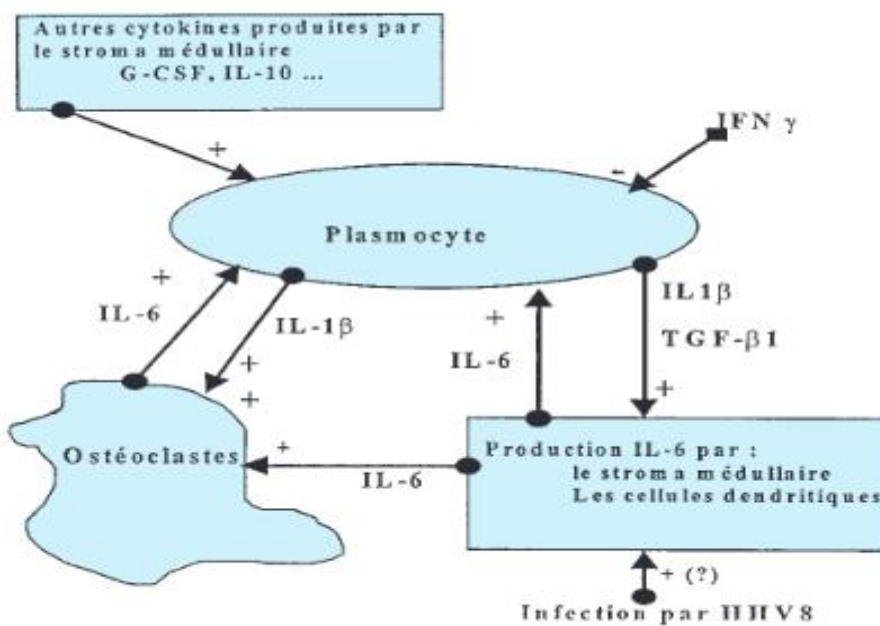
L'IL-1  $\beta$  est le principal facteur activant les ostéoclastes. Elle stimule la différenciation ostéoclastique des CFU-GM médullaires et la production d'enzymes ostéolytiques par les ostéoclastes. Elle joue aussi un rôle essentiel dans l'expression des molécules d'adhésion par les plasmocytes. Enfin, l'IL-1  $\beta$  stimule la sécrétion d'IL-6 par les cellules du stroma médullaire (Chaïbi et al., 2000).

- L'interleukine-6 (IL-6) est principalement sécrétée par les cellules du stroma médullaire. Sa sécrétion est activée par l'adhésion des plasmocytes à celles-ci. L'IL-6 joue le rôle d'un

facteur de survie tumorale en inhibant l'apoptose des plasmocytes monoclonaux. Elle stimule aussi la prolifération plasmocytaire et constitue un véritable facteur de croissance tumorale.

L'hypothèse d'une sécrétion autocrine d'IL-6 semble aujourd'hui écartée.

- Le TGF-β1 est synthétisé par les plasmocytes myélomateux. Il joue un rôle dans l'immunodéficience humorale et cellulaire des patients atteints de myélome en inhibant les cellules immunitaires normales (lymphocytes B, T et natural-killer) et les macrophages. De plus, il stimule la production d'IL-6 par les cellules du stroma médullaire (Chaïbi et al., 2000).



**Figure 5.** Physiopathologie du myélome Interactions plasmocyte - stroma médullaire (Chaïbi et al., 2000).

Le seul facteur de risque clairement identifié est l'exposition aux radiations ionisantes, les études ont prouvé aussi l'importance de facteurs environnementaux comme l'exposition à des toxiques (pesticides, herbicides, engrais, colorants, , pétrole et dérivés de pétrole) liant ainsi les professions agricoles et les expositions correspondantes à un grand risque pour le MM (Manier et al., 2011).

En plus, Il existe des cas familiaux faisant discuter des facteurs génétiques et d'autres cas plaidant pour un lien possible avec l'herpès virus HHV-8 ou certaines pathologies, vaccinations ou traitements, le plus souvent ces études manquent de résultats convaincants (Manier et al., 2011).

### I.2.1.3. Lymphome de la zone marginale

La zone marginale (ZM) se situe autour des centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires, regroupant les ganglions lymphatiques, la rate et dans les tissus lymphoïdes non ganglionnaires associés aux muqueuses, tels que les plaques de Peyer au niveau de l'intestin grêle. La zone marginale est surtout développée dans la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, mais peu dans les ganglions (Droz et al., 2011).

Les cellules B des ZM offrent une réponse immunitaire rapide T-indépendante et contribuent efficacement à l'éradication urgente d'une bactériémie par production IgM spécifiques. Les antigènes reconnus par les lymphocytes B de la zone marginale sont les Ag polysaccharidiques des capsules bactériennes (Droz et al., 2011).

L'origine cellulaire du lymphome de la zone marginale (LZM) est une cellule B issue d'un lymphocyte B mémoire de la zone marginale du follicule secondaire participant à la réponse antigénique (Droz et al., 2011).

Ces lymphomes représentent un groupe de lymphomes subdivisé selon la localisation en trois groupes :

- Lymphomes extra-ganglionnaires de la ZM ou lymphomes de MALT (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue*)
- Lymphomes spléniques de la zone marginale.
- Lymphomes ganglionnaires.

Les lymphomes de MALT sont les plus fréquents (50 % à 70 % des LZM) tandis que les lymphomes spléniques de la ZM et les lymphomes ganglionnaires représentant respectivement 20 % et 10 % des LZM (Jaffe et al., 2008).

Dans certains cas, les LZM peuvent être associés à une stimulation antigénique chronique d'origine endogène ou exogène ayant un lien avec le récepteur BCR. Dans ce sens, les infections les mieux décrites jusqu'à présent sont l'infection par le virus de l'hépatite C et l'infection à *Helicobacter pylori* (Droz et al., 2011).

### I.2.1.4. Leucémie lymphoïde chronique

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une hémopathie chronique définie par l'accumulation dans le sang (lymphocytose  $> 4.10^9/L$ ) et la moelle osseuse de petits

lymphocytes B d'aspect mature et d'origine monoclonale, qui présentent un phénotype caractéristique, au sein des lymphopathies B (**Travade et al., 2000**).

Les LLC se caractérisent par une dysrégulation de l'apoptose conduisant à une accumulation de cellules accompagnée par des phénomènes auto-immuns dirigés contre ces dernières (**Travade et al., 2000**).

### I.2.2. Gammopathies monoclonales bénignes

- **Définition**

Sont des gammopathies de formes bénignes représentées par les formes dites gammopathies de signification indéterminée ou GMSI. Le plus souvent elles marquent un état précédant potentiellement l'apparition d'un myélome ou d'un syndrome lymphoprolifératif. Alors sont une pathologie bénigne qui peut évoluer vers une hémopathie lymphoïde avérée, principalement un myélome (**Glavay et al., 2015**).

Les GMSI sont une affection asymptomatique définie par l'association d'un taux de protéine monoclonale inférieur à 30 g/L et d'une plasmocytose médullaire inférieure à 10% en absence d'atteinte organique ; c'est-à-dire aucun des signes cliniques ou biologiques du myélome multiple ou d'une lymphoprolifération maligne tel que les lésions osseuses lytiques, anémie, hypercalcémie ou insuffisance rénale en rapport avec la dysglobulinémie (**Vekemans et al., 2013**).

- **Epidémiologie**

L'incidence moyenne est estimée à 3.2% dans la population générale. Elle augmente avec l'âge, passant de 1.7% entre 50 et 59 ans à 6.6% au-delà de 80 ans avec un âge médian au diagnostic de 74 ans (**kyle et al., 2006**).

En effet, les GMSI à IgM évolue principalement vers une maladie de Waldenström ou un lymphome (risque de 46 fois). Le risque actuariel de transformation estimé selon une étude française était à 10, 18 et 24 % respectivement aux dernières 5, 10 et 15 ans, soit environ 1,5% par an (**Amouzou et al., 2013**).

- **Physiopathologie et étiologie**

Ces formes de gammopathies dérivent d'un dysfonctionnement de la prolifération clonale d'un lymphocyte B qui peut être bénigne ou à évolution maligne. Plusieurs facteurs de risque ont été étudiés et peuvent être incriminés dans le développement des GMSI :

### - L'ethnicité

La prévalence de la GMSI chez les populations noires américaines et africaines est deux fois plus élevée que chez les populations blanches. En 2007, un groupe de chercheurs a étudié la prévalence de la GMSI parmi des hommesghanéens en comparaison de la prévalence parmi des hommes blancs de Minnesota, il en est ressorti que la prévalence était deux fois plus élevée chez les ghanéens (Lefebvre et al., 2013).

### - L'obésité

la GMSI est 2 fois plus fréquente parmi les femmes obèses et ceci indépendamment de leur origine ethnique, Il montre également que des facteurs connus pour participer à la prolifération de clones plasmocytaires malins, tels que des taux élevés d'interleukine 6 (IL-6) et des facteurs de croissance tel que le facteur de croissance-1 ressemblant à l'insuline (IGF-1) sont surreprésentés chez les patients obèses et pourraient donc être impliqués dans la survenue d'une GMSI (Landgren et al., 2010).

### - La prédisposition familiale

L'existence d'une prédisposition génétique est également suggérée par une étude familiale concernant 247 parents au premier degré de 97 patients atteints de GMSI, qui a montré un risque 2fois plus élevé de développer une GMSI chez les parents du premier degré (Vachon et al., 2009).

### - Les facteurs environnementaux

L'exposition aux rayonnements atomiques, comme dans les suites de l'explosion aux bombes de Hiroshima et Nagasaki a été un facteur prédisposant au développement de GMSI ; la prévalence de GMSI était supérieure chez les sujets de 20 ans et moins, exposés à 1,5 km de la zone d'explosion, qu'au-delà de 3 km (Neriishi et al., 2003).

Selon l'intensité de rayonnements, la prévalence était plus importante quand la dose reçue était plus de 0,1 Gray que moins de 0,01 Gray, Cependant il n'a pas été démontré que le risque de transformation en myélome était supérieur (Iwanaga et al., 2009).

Dans le même sens, une étude a démontré que certains les pesticides organophosphorés (dieldrine, chlorothalonil) avaient un impact sur la myélopoïèse et peuvent être corrélé à une forte prévalence des GMSI (**Landgren et al., 2009**).

### - Les facteurs infectieux et immunitaires

Les gammopathies monoclonales sont aussi fréquemment retrouvées en cas d'infections bactériennes, parasitaires et surtout virales. En effet, 68% des patients ayant une GMSI avait une infection à *Helicobacter pylori*, l'éradication de cette infection a permis la disparition de cette gammopathie) (**Vekemans et al., 2013**).

Les GMSI ont été aussi retrouvées en cas de pathologies rhumatismales (pseudo-polyarthrite rhizomélique), de maladies auto-immunes (Sjögren, lupus, polyarthrite rhumatoïde, sclérodermie), d'hépatopathies chroniques et dans certains déficits immunitaires (allogreffe de cellules souches, transplantation d'organes) (**Vekemans et al., 2013**).

La découverte d'une immunoglobuline monoclonale s'observe dans 12 % des cas de syndromes myélodysplasiques et l'incidence de découverte d'un pic est également non négligeable au cours des affections auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux aigu disséminé, les polymyosites, la sclérodermie, l'hépatite chronique active (**Zandecki at al., 2000**).

Un pic monoclonal est également décrit de manière beaucoup plus occasionnelle dans le sida, la maladie de Gaucher, la maladie de Willebrand acquise, les aplasies médullaires, diverses affections dermatologiques, les transplantations d'organes (rein, foie, moelle osseuse) (**Zandecki at al., 2000**).

### - Les facteurs cytogénétiques

La GMSI pourrait être associée à une instabilité génomique avec des translocations primaires chez la moitié des patients et une hyperploidie chez la majorité restante (**Avet-Loiseau at al., 1999**).

Dans une autre étude la translocation était mise en évidence dans 73% des myélomes et 48% des GMSI, La délétion du bras long du chromosome 13 est plus fréquente dans le myélome (36% à50%) que dans la GMSI (21%) (**Avet-Loiseau at al., 1999**).



Des translocations des locus des chaînes lourdes d'immunoglobuline (14q32) sont mises en évidence dans environ 60% des myélomes (kyle et al., 2006, Bergsagel et al., 2001).

L'hypothèse selon laquelle cette délétion jouerait un rôle dans la progression de la GMSI en myélome reste débattue. Ces données confirment l'existence d'un lien entre GMSI et le myélome mais le lien entre le type d'anomalie génétique et le risque d'évolution maligne n'est pas clairement établi (Lefebvre et al., 2013).

### I.3. Le diagnostic des gammopathies monoclonales

Le diagnostic biologique de gammopathie monoclonale ne repose pas sur un seul dosage, mais sur une stratégie raisonnée, utilisant les différents outils diagnostiques que sont l'électrophorèse, qu'elle soit sur gel ou capillaire, l'immunoélectrophorèse ou immunofixation et les dosages d'immunoglobulines et de leurs chaînes légères libres.

**Tableau I.** Les critères de diagnostic (Rajkumar et al., 2014).

La maladie	Les critères
Maladie de Waldenstrom	-lymphoplasmocytose médullaire  -la sécrétion d'une IgM monoclonale
Myélome multiple	- une plasmocytose médullaire  - au moins un critère CRAB
GMSI	-protéine monoclonale sérique <30g/L  -lymphoplasmocytose médullaire <10%  -pas de dommage d'organe en lien avec la dyscrasie plasmocytaire (anémie, hyperviscosité, lymphadénopathie, hépatosplénomégalie).

## Matériel et méthodes

Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie de l'hôpital de Beni messous sur une période de 6 mois allant du mois de février au mois de juillet 2017. Il s'agit d'une étude rétrospective ayant pour objectif de décrire les caractéristiques épidémiologiques, étiologiques, cliniques et immunochimiques d'une série de gammopathie monoclonale à IgM.

Quelles qu'en soient les circonstances, la découverte d'une immunoglobuline monoclonale justifie une démarche de diagnostic passant par les quatre étapes suivant :

- 1- Bilan préliminaire :
- 2- Révélation des composants monoclonaux
- 3- La cytologie
- 4- Imagerie

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Matériel biologique

Le travail a porté sur 69 patients récemment diagnostiqués, c'est à dire avant l'instauration de la chimiothérapie et ceci durant la période allant de l'année 2006 à l'année 2017 et suivis au sein du service d'Immunologie Médicale du CHU Beni-Messous. La majorité des patients ont présentés un pic en isotype IgM.

L'étude a été menée en collaboration avec le service d'hématologie du CHU Beni-Messous qui nous ont permis de recueillir les renseignements cliniques et biologiques nécessaires à la réalisation de cette étude.

- **Les caractéristiques des patients**

La série comprend 69 patients, dont 40 sujets de sexe masculin (57,97%) et 29 sujets de sexe féminin (42,03%), Le sexe ratio global (H/F) est de 1,38. on note une légère prédominance masculine.

L'âge moyen de nos patients est de 65,28 ans avec des extrêmes allant de 28 à 84 ans. Le choix des patients a été réalisé à partir d'une fiche de renseignements cliniques

Les données épidémiologiques sont représentées dans le tableau III :

**Tableau II.** Données épidémiologique de notre série de 76 patients.

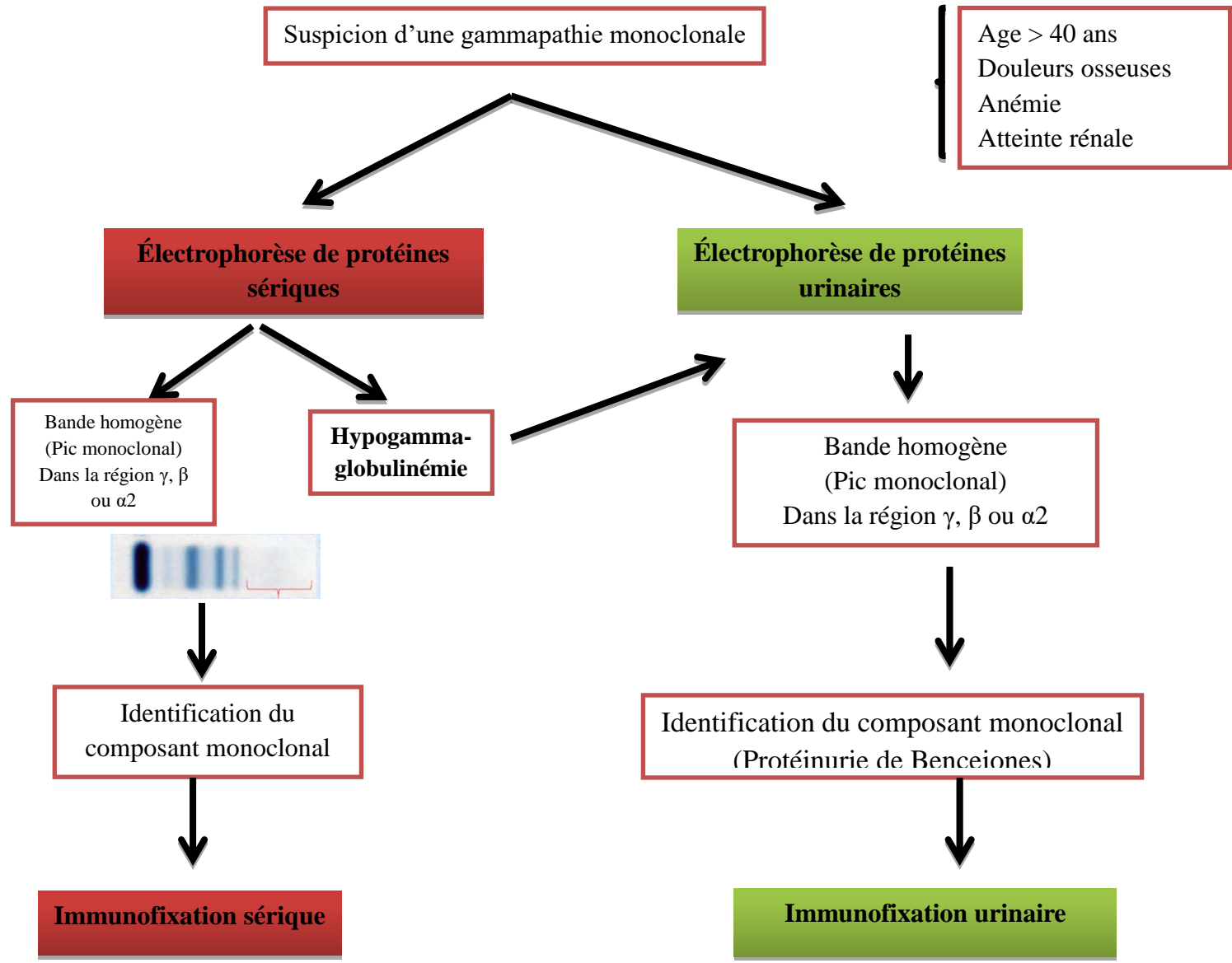
<b>Caractéristiques</b>	<b>Patients</b>
<b>Nombre</b>	69(100%)
<b>Hommes</b>	40 (57,97%)
<b>Femmes</b>	29 (42,03%)
<b>Moyenne d'âge</b>	65,27
<b>Agés extrêmes</b>	[28-84]
<b>Sexe Ratio</b>	1.38

### **II.1.2. Matériel non biologique**

Le matériel non biologique est illustré dans l'annexe 2

• **Le protocole de diagnostic**

Devant une suspicion d'une gammopathie monoclonale, une électrophorèse des protéines sériques et urinaires sont lancées en parallèle, la présence d'une bande ou un pic monoclonal dans la position  $\gamma$ ,  $\beta$  ou  $\alpha_2$  nécessite de faire une immunofixation sérique et /ou urinaire pour identifier l'isotype.



**II.2. Méthodes**

Pour chaque patient adressé au service d'immunologie (unité d'immunochimie), est réalisé un bilan immunochimique. Soit sérique et/ou urinaire

**a) Sérum :** Le prélèvement est effectué à partir du sang veineux, chez des patients à jeun. Le sang est recueilli sur un tube sec en verre et le sérum est récupéré après centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 minutes.

**b) Urines :** Les analyses sont effectuées sur les urines de 24H récoltées dans un récipient stérile après centrifugation 3000 tours/min pendant 5 minutes.

Les paramètres immunologiques étudiés sont :

- Electrophorèse des protéines sériques et urinaires.
- Immunofixation sérique.
- Immunofixation urinaire.

### II.2.1. Electrophorèse des protéines sériques

- **Principe de l'électrophorèse**

C'est la migration des particules chargées (protéines, ADN...etc.) selon leur charge et leur poids moléculaire sous l'effet d'un champ électrique.

- **Principe de l'électrophorèse capillaire en milieu liquide**

C'est une technique basée sur la migration différentielle sous l'effet d'un champ électrique des espèces neutres ou chargées dans un capillaire étroit de silice rempli de tampon, le déplacement des substances est régit par deux phénomènes :

- Le flux électro-endosmose ; qui est à la base du mouvement global des liquides à l'intérieur du capillaire, une interaction se produit entre les groupes de silanol ionisables du capillaire et les ions chargés positivement du tampon.
- Le second phénomène est la migration électrophorétique qui permet la séparation des composants protéiques de l'échantillon dans un tampon avec un niveau de pH supérieur au point isoélectrique des protéines.

Lorsque la tension est appliquée, la circulation des fluides transporte les protéines vers la cathode étant donné que le flux électro-osmotique est supérieur à la migration électrophorétique (Annexe 3).

- **Techniques**

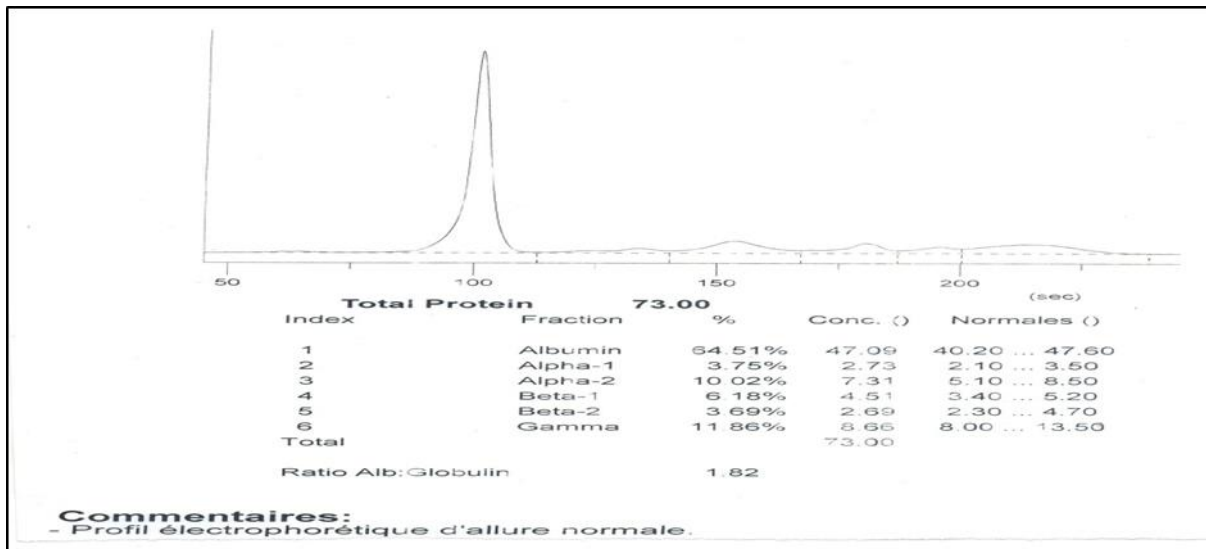
L'électrophorèse sur milieu liquide est réalisée par une technique automatisée utilisant l'automate de l'électrophorèse capillaire de zone en veine liquide, on citera :

- Le Capillarys®(Sebia) (Annexe 4).
- le V8 SerumProtein SPE Kit.

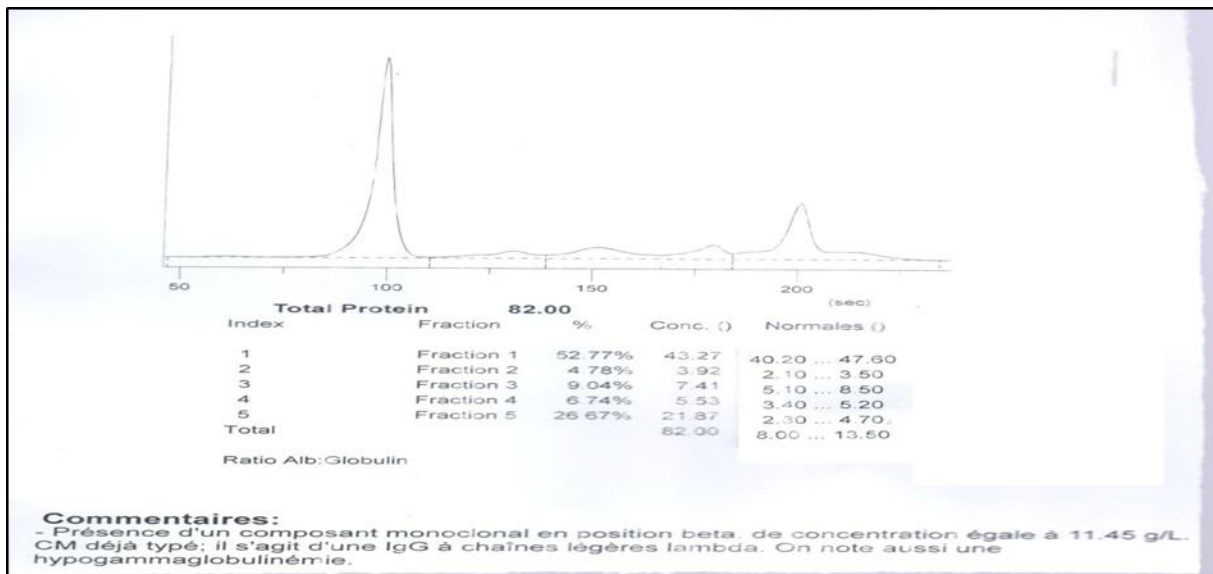
- **Mode opératoire**

- La technique utilisée est automatisée, le système comprend 8 capillaires permettant 8 analyses simultanées.
- Mettre l'appareil et l'ordinateur de contrôle sous tension et démarrer le logiciel, après sélectionner le programme d'analyse des protéines sériques, ensuite Placer jusqu'à 8 tubes primaires sur chaque portoir en prenant bien soin de laisser le code-barres de chaque tube en face de sa fenêtre de lecture, puis Placer une barrette de dilution sur chaque portoir, une fois terminé on va faire la lecture des codes-barres du tube primaire d'échantillon et du portoir.
- Dilution des sérums dans le tampon d'analyse, avec le rinçage de l'aiguille de prélèvement entre chaque dilution.
- Lavage des capillaires.
- Injection des échantillons dilués dans les capillaires.
- Migration à voltage constant en température régulée pendant environ 5 minutes.
- Lecture à 200 nm et apparition simultanée du profil protéique sur l'écran de l'ordinateur.
- Dès la fin de l'analyse, la quantification relative des fractions est automatiquement effectué et les profils peuvent être analysés, à partir de la concentration totale des protéines, il est possible de calculer les concentrations de chaque fraction.
- Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies.

-Les figures 06 et 07 montrent les types des profils électrophorétique :



**Figure 06.** Profil électrophorétique sérique normal.



**Figure 07.** Profil électrophorétique sérique anormal (pic monoclonal dans la zone  $\beta$ ).

## II.2.2. Electroforèse des protéines urinaire

- **Principe**

L'électrophorèse des protéines est une méthode de séparation des protéines présentes dans les urines. Pendant le test, un courant électrique déplace les protéines à travers une fine couche de

gel d'agarose. La distance de déplacement de chacune des protéines dépend de sa taille, de sa forme et de sa charge électrique.

- **Technique**

L'électrophorèse des protéines urinaires sur gel est réalisée par une technique semi-automatisée utilisant l'automate **HELENA SAS3** Urine analysis.

- **Mode opératoire**

- Placer les cupules jetables sur le porte échantillon, après pipeter 35 µl d'échantillon dans les puits correspondants du porte échantillon, ensuite Mettre en place le porte échantillon avec précaution à l'aide des ergots de guidage de l'embrase, s'assurer qu'il est solidement mis en place, puis placer le guide d'alignement sur les picots et déposer 400 µl de REP-prep au centre de la chambre, après ça sortir le gel de son emballage, sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C (la surface rugueuse vers le bas), jeter le buvard, placer le gel dans la chambre, agarose vers le haut, en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel et placer les électrodes sur les plots de telle sorte qu'elles soient en contact avec les ponts d'agarose, une fois terminé on va mettre en place deux applicateurs dans l'instrument : en coches A et 10.
- Faire migrer : sélectionner le programme : utilisateur 2, selon les étapes décrites dans l'annexe 6

Nb : enlever les ponts d'agarose à l'aide d'une raclette avant de procéder au séchage.

- La coloration : fixer le gel sur le support de la chambre de coloration comme montre l'annexe 7.
- Une fois le cycle de coloration terminé, enlever le gel du support de la chambre de coloration, il est prêt alors pour être examiné.



➤ **II.2.3. L'immunofixation des protéines sériques**

• **Principe**

L'immunofixation est une technique réalisée en deux étapes combinant l'électrophorèse à l'immunoprécipitation : L'électrophorèse réalisée en premier temps sur gel d'agarose permet de séparer les protéines selon leur taille et leur charge. L'immunoprécipitation permet l'identification du composant monoclonal à l'aide d'anti-sérums spécifiques anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa et anti-lambda. Les immun-complexes formés sont révélés par coloration.

• **Technique**

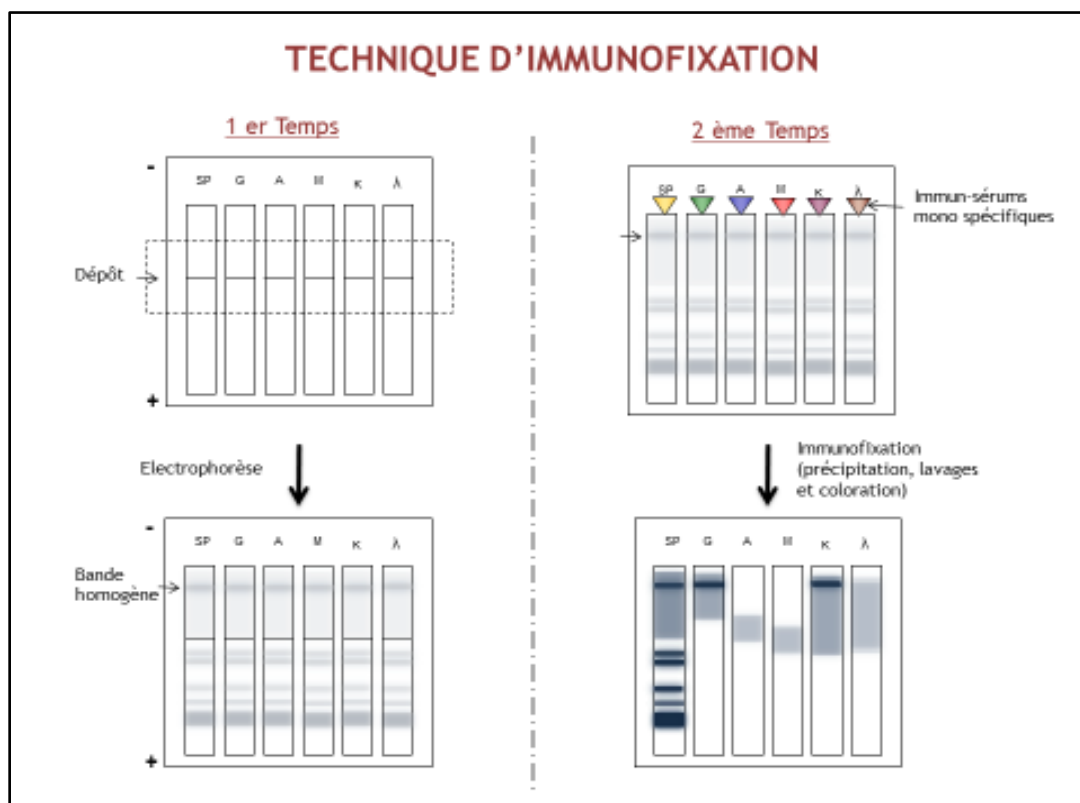
L'immunofixation sérique est réalisée par une technique semi-automatisé utilisant les deux automates HELENA SAS3 et SAS4 dont le matériel fourni est :

- Plaque SAS-3 (gel d'agarose prêt à l'emploi).
- Colorant violet Acide.
- Solution décolorante.
- Solution de lavage.
- Antisérums IFE.

• **Mode opératoire** (Figure 07)

- Préparer les fiches et la feuille de travail, après reporter les volumes de dilutions sur la fiche de travail.
- La dilution des sérums se fait selon les indications de l'annexe 8.
- Déposer 35 µl d'échantillon dans les cupules jetable, ensuite placer les cupules jetables sur le porte échantillon, puis mettre en place le porte échantillon avec précaution à l'aide des ergots de guidage de l'embase, s'assurer qu'il est solidement mis en place, après ça déposer 2 ml de REP-prep au centre de la chambre, une fois terminé on va sortir le gel de son emballage, sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C (la surface rugueuse vers le bas, jeter le buvard).

- Placer le gel dans la chambre, agarose vers le haut, en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel, après Placer les électrodes sur les plots de telle sorte qu'elles soient en contact avec les ponts d'agarose, puis Mettre en place trois applicateurs dans l'instrument : en coches 2,8 et 14.
- Faire migrer : sélectionner le programme : utilisateur IEF et lancer l'IFX
- A la fin de l'EPP, retirer les électrodes et retirer les ponts en utilisant une raclette, après placer le masque applicateur anti-sérum sur le gel et déposer 60 µl de solution fixative dans le trou supérieur de la case SP et 60 µl dans le trou supérieur de chaque case immunoglobulines, ensuite incuber le gel.
- A la fin du temps d'incubation, déposer un buvard peigne dans les trous supérieurs du masque, laissé 2 min afin que l'excès d'antisérum soit absorbé puis retirer les mèches ainsi que le masque.



**Figure 08.** Mode opératoire de l'immunofixation sérique.

- Déposer le buvard D (face lisse vers le bas) sur le gel et repositionner le masque applicateur par-dessus, laisser le buvard et retirer le masque et le buvard, sécher le gel et fixer le gel sur le portoir de coloration, une fois terminé sélectionner le programme

IFE sur le module de coloration sur le module de coloration SAS-3 et suivre les étapes : coloration- décoloration et séchage.

- A la fin du cycle de coloration, sortir le gel de la chambre de coloration.

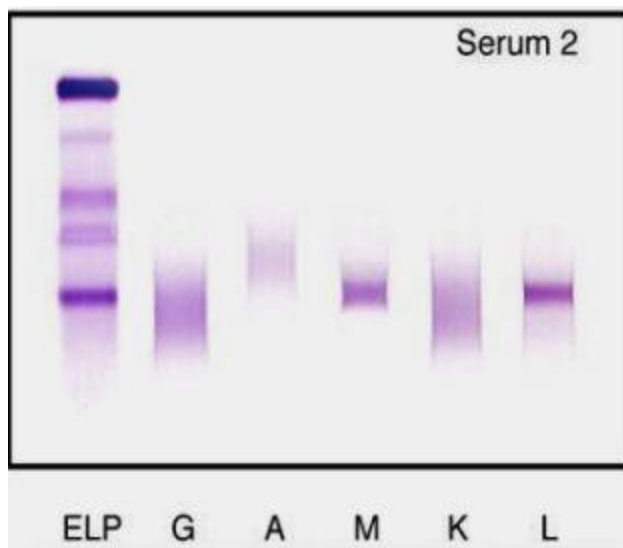
#### II.2.4. Immunofixation des protéines urinaires

- **Principe**

Elle est recommandée pour la détermination de l'isotype de la protéine de Bence Jones et/ou du composant monoclonal entier s'il y a une protéinurie non sélective.

Les urines non concentrées sont utilisées selon la même technique que celle des protéines sériques avec l'utilisation des antisérums : anti-chaînes légères kappa libres et liées, anti-lambda libres et liées, anti-chaînes légères kappa libres, anti-lambda libres associés à l'anti-sérum anti-chaînes lourdes alpha, gamma et mu (Figure 08).

Une gammopathie est caractérisée par une bande étroite détectée avec l'anti-chaîne lourde (mu) et avec l'une des anti-chaînes légères (kappa ou lambda). La fraction monoclonale mise en évidence, généralement étroite et bien visible, doit être située au même niveau de migration que la bande détectée sur la piste de référence (Figure 09)



**Figure 09.** Résultat d'une immunofixation (IgM  $\lambda$ )

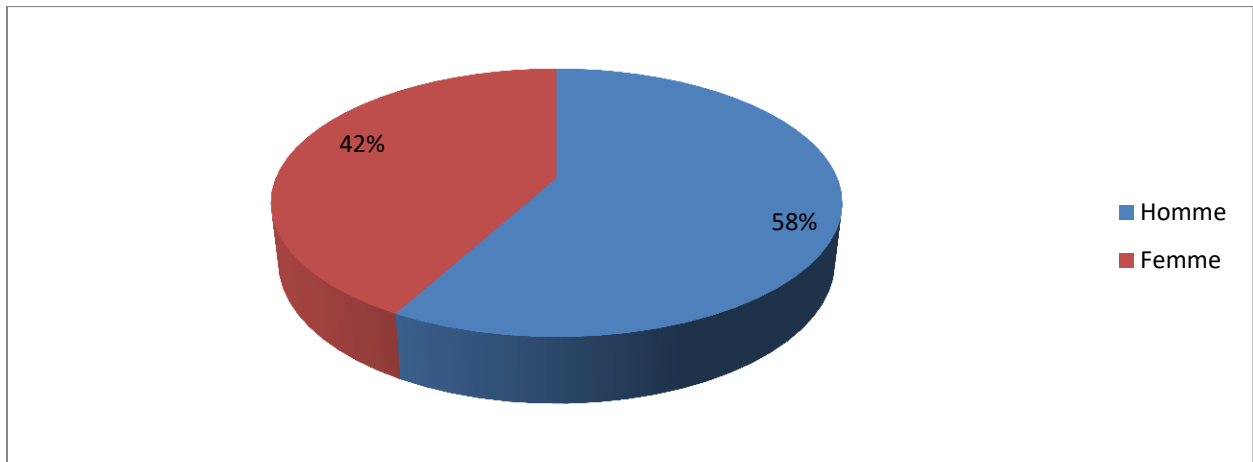
# **Résultats et Discussion**

## Résultats

### III.1. Répartition des patients selon l'âge et le sexe

- Répartition selon le sexe

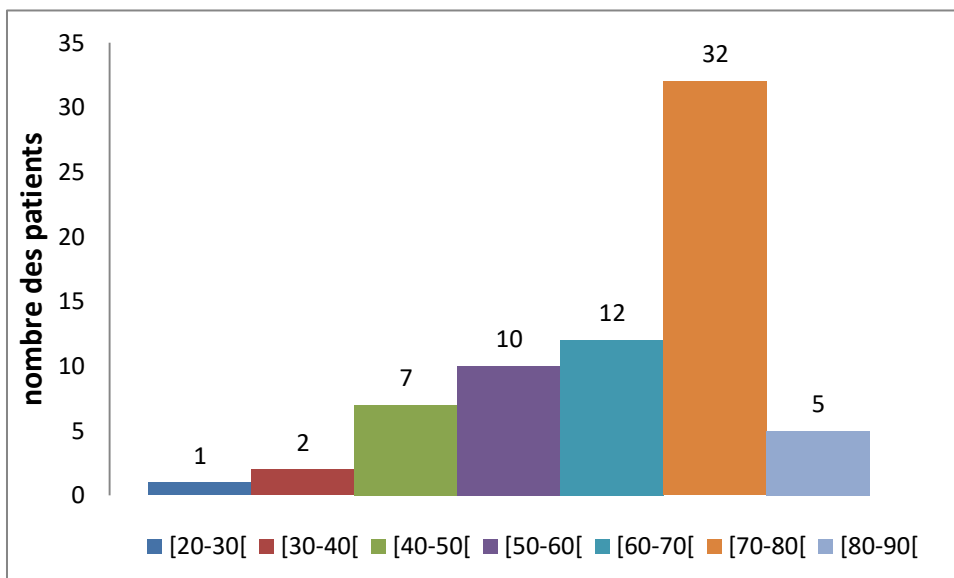
La répartition selon le sexe est représentée dans le tableau II et illustré dans la figure 09:



**Figure 10.** Répartition graphique des patients selon le sexe.

Nous avons inclus 69 patients dans notre étude. Il y a 40 hommes (57.97%) et 29 femmes (42.03%).

La répartition selon les tranches d'âge est représentée dans l'annexe 09 et illustré dans la figure10 :



**Figure 11.** Représentation graphique des patients par tranches de 10 années.

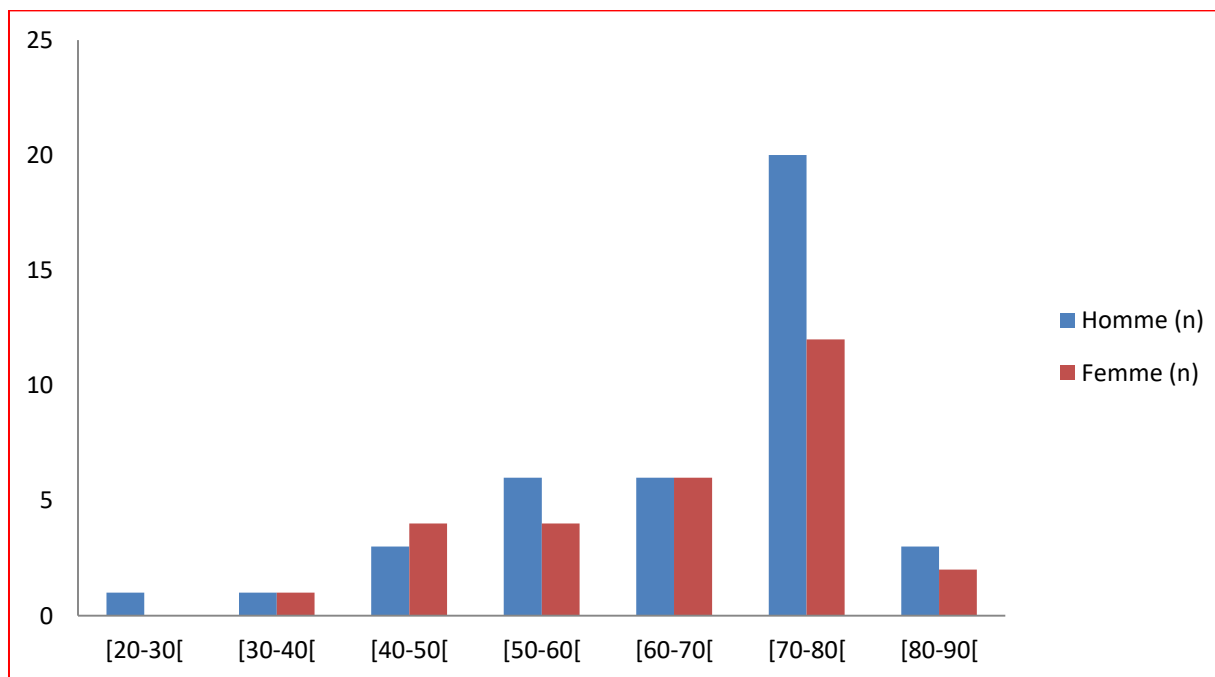
Nous avons réparti la série des 69 patients étudiés sur 7 tranches d'âge de 10 années. La majorité d'entre eux (95,65%) ont dépassé la quarantaine, alors que le pourcentage des personnes qui n'ont pas encore atteint la quarantaine est de 4,35 %.

La tranche d'âge majoritaire est de [70–80 ans] avec un pourcentage de 46.38%.

La moyenne d'âge à la première consultation des patients inclus est de 65.28 ans et la médiane d'âge est 70 ans, l'âge minimum étant de 28ans et l'âge maximum étant de 84 ans. La majorité des patients étaient des externes (55 ,07%).

- **Répartition selon le sexe et les tranches d'âge :**

La répartition combinée selon le sexe et les tranches d'âge est représentée dans l'annexe 10 et illustré dans la figure 11 :

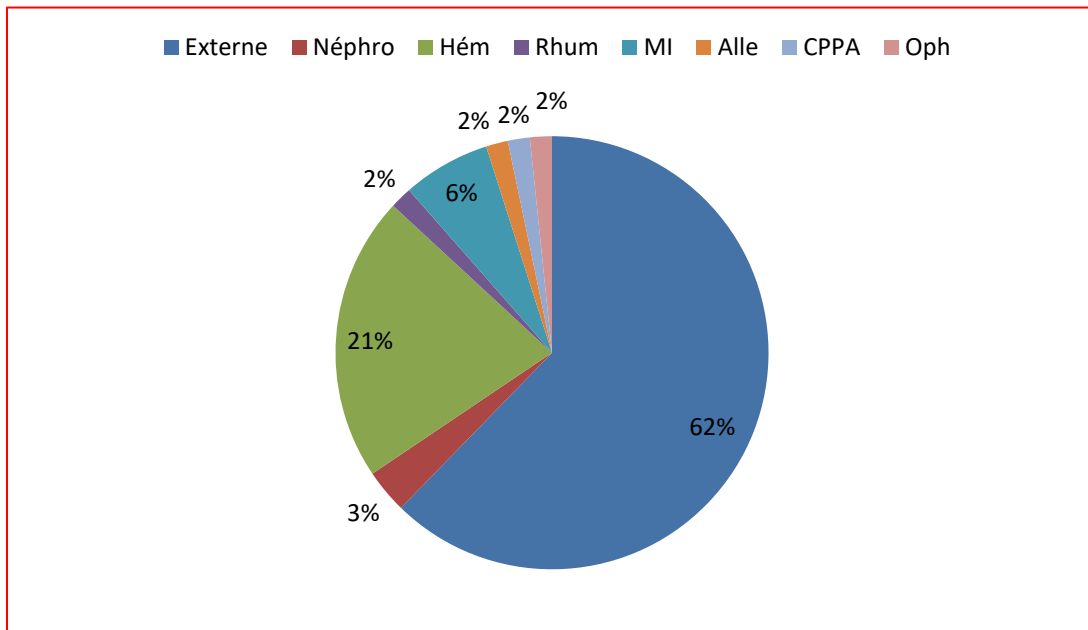


**Figure 12.** Représentation graphique des patients selon le sexe et les tranches d'âge

La distribution en fonction du sexe et des groupes d'âge fait apparaître:

- Un pic de fréquence chez les hommes dans la tranche d'âge [7-80[.
- Un pic de fréquence chez les femmes dans la tranche d'âge [70-80[.
- Une prédominance masculine dans la plus part des tranches d'âge.

• Répartition des patients selon le service de provenance



**Figure 13.** Représentation graphique des patients selon le service de provenance.

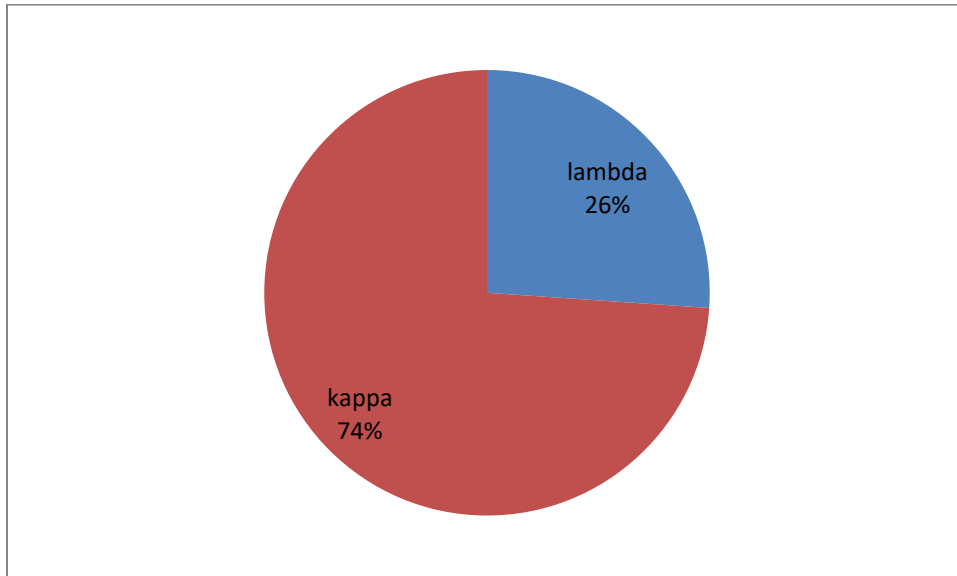
Comme montre l'annexe 11 et la figure 12, tous les patients dans notre étude étaient diagnostiqués au niveau du CHU de BENI-MESSOUS, à savoir 38 d'entre eux étaient des externes (55,07%) alors que 31 patients étaient hospitalisés (44,93 %) réparties sur 6 services :

- 2 patients au niveau du service de Néphrologie (2,90 %)
- 13 patients au niveau du service de Hématologie ( 18,84 %)
- 1 patient au niveau du service de Rhumatologie (1,45 %)
- 4 patients au niveau du service de Médecine interne (5.80%)
- 1 patient au niveau du service de Allergologie (1,45 %)
- 9 patients au niveau du service de CPPA (13,04 %)

### III.2. Répartition selon les paramètres biochimique :

#### III.1.2. Répartition selon l'isotype kappa/lamda :

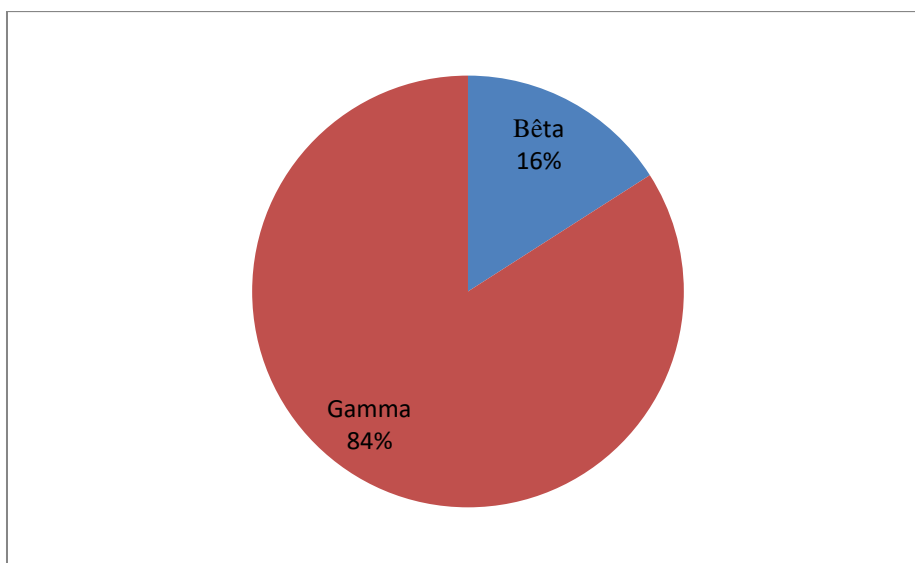
La répartition selon l'isotype est illustrée dans la figure ci-dessous :



**Figure 14.** Répartition selon l'isotype kappa/lambda

Concernant la distribution selon l'isotype kappa / lamda, on remarque la prédominance de l'isotype kappa avec 74% suivi par l'isotype lambda avec 26%.

#### III.1.4. Répartition selon la position de composant monoclonal :



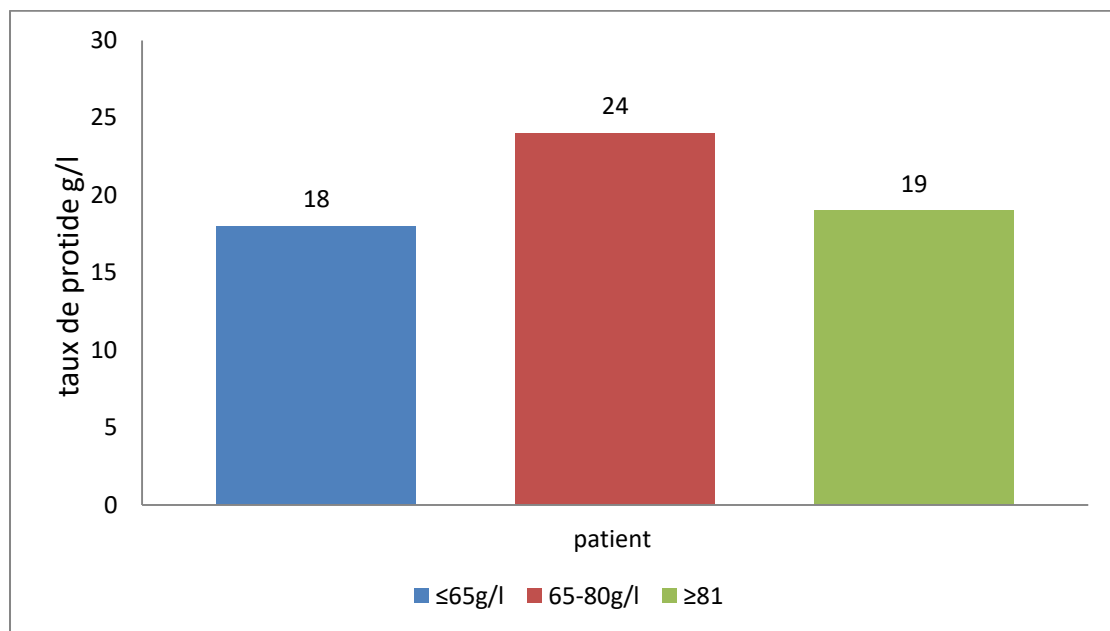
**Figure 15.** Répartition selon la position de composant monoclonal



Le composant monoclonal (IgM) se trouve dans la position Gamma chez 58 patients (85%) patients et dans la position bêta chez 11 patients (16%).

### III.2.1. Répartition selon le taux de protéines totales :

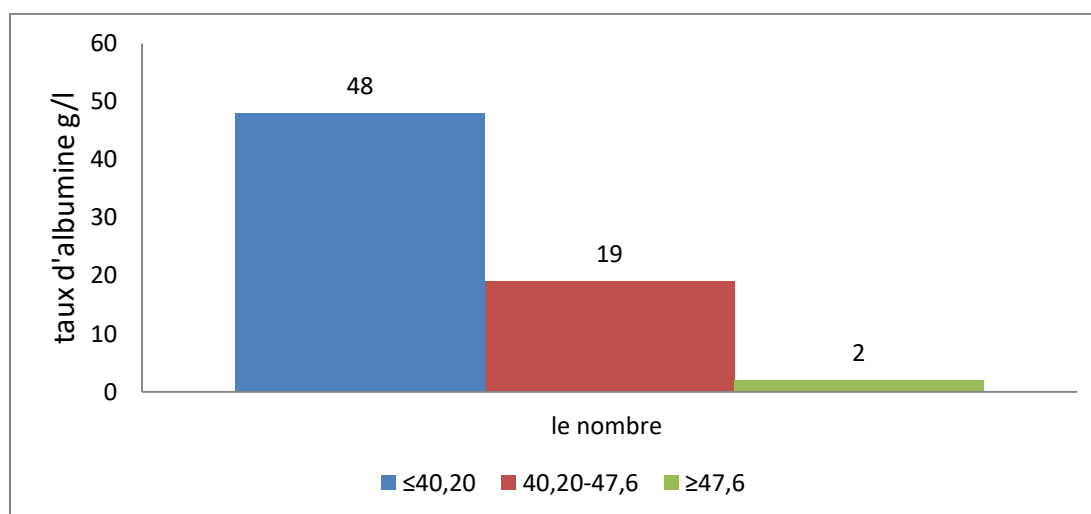
La répartition selon le TP est illustrée dans la figure ci-dessous :



**Figure 16.** Répartition des patients selon le taux de protéines totales.

Comme montre la figure13, le taux des protéines totales de la majorité des patients est entre les normes (65-80 g/l), 19 patients avaient un taux de protéines supérieur de la normal (>80 g/l) et 18 patients avaient un taux de protéines inférieurs des normes.

### III.1.3. Répartition selon le taux d'albumine :



**Figure 17.** Répartition selon le taux d'albumine

La figure 15 montre que 19 patients avaient un taux d'albumine entre les norme (40,20-47,6g/l) et la majorité des patients (48 cas) avaient un taux d'albumine inférieurs de les normes ( $\leq 40,20$ ) et 2 patients avaient un taux d'albumine supérieurs de les norme ( $\geq 47,6$ ).

La moyenne de concentration d'albumine est de 35,33 et la médiane est de 35,975g/l. la concentration minimale étant de 9,66 g/l et maximale étant de 59,9 g/l.

### III.2.1. Caractéristiques du composant monoclonal :

La moyenne de concentration du composant monoclonal à la première consultation chez 62 patients est de 12,94 g/l et la médiane est de 8,42 g/ Une concentration très faible a été mentionnée chez 7 patients, la concentration minimale étant de 1,2 mg et maximale étant de 61,26 mg

**Tableau III.** Les pathologies associées à une GM à IgM

	MW (12%)	MM (15%)	GMSI (19%)	LNH (6%)
Moyenne du CM	29.58	19.09	9.03	8.50
Moyenne d'albumine	33.09	37.98	37.77	30.56
Moyenne de B2m	12.36	3.21	2.28	5.22
Moyenne du TP	75.25	82	74	62.25

Le tableau VIII représente la moyenne des paramètres biochimiques des sujets atteints des pathologies associées à une gammapathie à IgM .

Dans notre série de gammapathie à IgM nous avons trouvé 8 cas (12%) présentant la MW dont la moyenne du composant monoclonal est de 29.58g/l, l'albumine est de 33.09g/l, B2m 12.36g/l et le TP 75.25g/l.

Le myélome multiple est diagnostiqué chez 10 patients (15%) dont la moyenne du CM est de 19.09g/l, l'albumine est de 37.98g/l, B2m 3.21g/l et le TP 82g/l.

13 patients (19%) présentant GMSI dont la moyenne du CM est de 9.03 g/l, l'albumine est de 37.77g/l, B2m est de 2.28g/l, et le TP 74g/l.

4 patients (6%) présentant LNH dont la moyenne du CM est de 8.50g/l, l'albumine est de 30.56g/l, B2m 5.22g/l et le TP 62.25g/l.

## Discussion

L'analyse de nos résultats montre une prédominance masculine avec un taux de 58%. Le sexe ratio homme/femme est de 1.38. Nos données concordent avec l'étude de **Mseddi-Hdiji et al., 2005** qu'il s'agissait de 182 hommes et 62 femmes et l'étude de **Coa et al., 2016** réalisé sur une population de 377 patients présentant une gammopathie à IgM avec une prédominance masculine de 62%.

La répartition des patients selon la tranche d'âge de 10 ans est représentée dans l'annexe 01 et la figure 06. Nous avons constaté une prédominance de la classe d'âge 70-80 ans, tout sexe confondu, soit 46%. Ce qui montre que les GM sont des maladies du sujet âgé. Ceci converge avec l'étude rétrospective de **Mseddi-Hdiji et al., 2005** en Tunisie, réalisée sur une série de 288 patients présentant des GM dont l'âge moyen et la médiane d'âge des patients de leur série se situent aux alentours de 65 ans témoignant, l'étude de **Coa et al., 2016** sur une série des cas de GM à IgM dont l'âge moyen et la médiane est de 65 ans et aussi que les GM sont des maladies du sujet âgé (**Decaux et al., 2007, Bouatay et al., 2012, Amouzou et al., 2013**).

Nous avons observé une prédominance de la chaîne légère kappa  $\kappa$  2/3 par rapport à la chaîne légère lambda  $\lambda$  dans les gammopathies à IgM. Ceci peut être expliqué par le fait que la chaîne légère kappa  $\kappa$  est majoritaire à l'état physiologique  $\kappa$  (2/3) par  $\lambda$  (1/3) car leurs éliminations est moindre (**kyle et al., 2010**).

L'électrophorèse des protéines retrouve un taux moyen de l'IgM à 12,94g/l et la médiane est de 8,42 g/l avec des extrêmes allant de 1,12 à 61,26 g/l. Nos données concordent avec l'étude de **Cao et al., 2016** ayant inclus 377 patients présentant des gammopathies à IgM dont la médiane est de 8,3g/l avec des extrêmes allant de 0,24-150g/l. Contrairement de l'étude de **Owen et al., 2000** réalisé sur 106 patients présentant des gammopathies à IgM dont la médiane est de 13g/l (extrêmes 2-54g/l) et l'étude de **Djouadi-Lahlou et al., 2013** fait sur 91 patients dont l'immunofixation retrouve une IgM monoclonale avec un taux moyen à 45g/l avec des extrêmes allant de 4,01 à 77 g/l.

La moyenne de CM des patients présentant des MM à IgM est de 19,09g/l, **Boutay et al., 2012** a étudié une série de 54, 2,9% des patients présentant des MM à IgM dont la moyenne de CM est 81,62 g/l.

La moyenne de notre série de GMSI est de 9.03 g/l, ceci converge avec l'étude de **Amouzou et al., 2013** réalisé sur 190 patients présentant des GMSI, 22.6% des patients ont des GMSI à IgM dont la moyenne du CM se situe aux alentours de 7,1g/l.

La moyenne des patients atteints la maladie de Waldenström est de 29,58g/l. l'étude de **Owen et al., 2000** réalisé sur 106 cas de Waldenström dont la moyenne de CM est de 13g/l. Le taux d'IgM n'est pas un critère diagnostique mais un taux élevé est le plus souvent associé à une MW.

On note que le taux de protéines totales de la majorité des patients est dans les normes (65-80 g/l) et 19 patients avaient un taux de protéines supérieur de la normal (>80 g/l).Ce que explique la présence d'une hypergammaglobulinémie monoclonale dans le sérum des patients et 18 patients avaient un taux de protéines inférieurs des normes.

Ces résultats montrent que même si le taux de protéines sérique est dans les normes ou inférieur, on peut avoir un composant monoclonal dans le sérum car le patient peut avoir une hypogammaglobulinémie ou hypoalbuminémie due à une fuite protéique.

la majorité des patients (48 cas) avaient un taux d'albumine inférieurs de les normes ( $\leq 40,20$ ) ceci explique que l'IL6 sécrétée par les plasmocytes provoque la diminution de l'albumine (**Guillot-Maachi et al., 1999**).

# **Conclusion**

## Conclusion

Les gammopathies monoclonales sont un problème fréquent en pratique clinique en Algérie et au niveau international. A l'Hôpital de Beni messous et dans le laboratoire d'immunologie, des cas de gammopathie monoclonales à IgM sont découvertes avec le temps.

Le diagnostic biologique de gammopathie monoclonale ne repose pas sur un seul examen, mais sur une démarche raisonnée, utilisant les différents outils diagnostiques que sont l'électrophorèse, qu'elle soit sur gel ou capillaire et l'immunofixation.

L'électrophorèse des protéines nous a permis de révéler la présence des pics monoclonaux chez les patients, et puis d'identifier l'isotype du composant monoclonal et la chaîne légère correspondante grâce à l'immunofixation.

Nos évaluations statistiques de 2006 à 2017 montrent que les GM à IgM sont des pathologies du sujets âgés (65ans) avec une certaine prédominance masculine ( 60 %) avec une nette prédominance de la chaîne légère kappa ( 74%).

Avec le vieillissement de la population et la modernisation des techniques de révélation des composants monoclonaux et ses maladies associées, qui deviennent de plus en plus sensibles, le nombre de cas de gammopathies monoclonales devrait continuer à croître régulièrement dans les années à venir. On espère qu'au futur proche, les techniques de révélation de ce genre de pathologie vont être améliorées de plus en plus pour un dépistage plus rapide et plus précoce.

## Références

1. **Alix, L., Decaux, O., Moreau, C., Viel, J. F., Schmitt, F., Seguret, F., & Jego, P.** (2016). Répartition et épidémiologie des gammopathies monoclonales en France: prévalence plus importante d'IgM et de maladie de Waldenström dans l'Ouest de la France. *La Revue de Médecine Interne*, 37, A62-A63.
2. **Amouzou, K.** (2013). *Quand adresser le patient atteint d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée à l'hématologue* (Doctoral dissertation).
3. **Andrès, E.** (2013). Conduite à tenir devant une gammopathie monoclonale (gm), 1-6.
4. **Avet-Loiseau, H., Facon, T., Daviet, A., Godon, C., Rapp, M. J., Harousseau, J. L., ... & Bataille, R.** (1999). 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. *Cancer Research*, 59(18), 4546-4550.
5. **Batteux F, Garraud O, Prin L et al.** (2017). Les Immunoglobulines : structures et fonctions, 3-10.
6. **Beauvillain, C., Jeannin, P., Renier, G., & Chevaller, A.** (2011). Immunoglobulines monoclonales: méthodes diagnostiques en 2011. *Revue francophone des laboratoires*, (433), 55-62.
7. **Berger, R., Nguyen-Khac, F.** (2008). Anomalies chromosomiques et macroglobulinémie de Waldenström. *Pathologie Biologie*, 56, 400-406.
8. **Bergsagel, P. L., & Kuehl, W. M.** (2001). Chromosome translocations in multiple myeloma. *Oncogene*, 20(40), 5611.
9. **Bouatay, A., Hizem, S., Youssef, Y. B., Sayari, F., Braham, N., Khélif, A., & Kortas, M.** (2013). Myélome multiple: aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28(1), 30-35.
10. **Cao, X., Meng, Q., Mao, Y., Su, W., Zhen, J., Shen, K.** (2016). The clinical spectrum of IgM monoclonal gammopathy: A single center retrospective study of 377 patients. *Leukemia research*, 85-88.
11. **Chaïbi, P., Merlin, I., Martin, Y., Piette, F.,** (2000). Myélome et dysglobulinémie monoclonale. *La revue de Geriatrie*, 4, 251-261.
12. **Chaubert, A.B., Delacretaz, F., & Schmidt, P. M.** (2005). Myélome multiple. In *Schweizerische Medical Forum* (Vol. 5, pp. 309-316).



13. **Decaux, O., & Karras, A.** (2009). Update in multiple myeloma: international criteria for treatment response and renal complications. *La Revue de medecine interne*, 30(12), 1080-1083.
14. **De Gramont, A., Grosbois, B., Michaux, J. L., Peny, A. M., Pollet, J. P., Smadja, N., ... & Monconduit, M.** (1990). Myélome à IgM: 6 observations et revue de la littérature. *La Revue de médecine interne*, 11(1), 13-18.
15. **Denis, R.** (2012). Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies ; Utilité du dosage dans le sérum. *Forum Med Suisse*, 12(29-30), 585-592.
16. **Djouadi-lahlou, k., Belhadri, F., Hamladji, R.M., Ahmed-Nacer, R., Oukid, S., Abad, M.T., ... & Mesli, N.** (2016). Approche Épidémiologique De La Leucémie À Tricholeucocytes En Algérie. Travail Coopératif Et Multicentrique A Propos De La 34 Cas (2009-2013). *Revue Algérienne d'Hématologie*, 12, 34-37.
17. **Djouadi-lahlou, k., Belhadri, O., Ahmed-Nacer, R., Hamladji, R.M., Rahali, M.C., Ardjoun, F.Z., Ghrzlanem, C., ... & Zeroual, Saidi, N.** (2016). Approche Épidémiologique De la Maladie De Waldenström En Algérie. Etude Nationale, Multicentrique A Propos De 91 Cas Sur Une Période De 05 Ans (2009-2013). *Revue Algérienne d'Hématologie*, 12, 34-37.
18. **Dimopoulos, M. A., Merlini, G., Leblond, V., Anagnostopoulos, A., & Alexanian, R.** (2005). How we treat Waldenström's macroglobulinemia. *haematologica*, 90(1), 117-125.
19. **Droz, J. P., Ray-Coquard, I., & Peix, J. L.** (2011). *Tumeurs malignes rares*. Springer Science & Business Media, 85-89.
20. **Glavey, S. V., & Leung, N.** (2016). Monoclonal gammopathy: The good, the bad and the ugly. *Blood reviews*, 30(3), 223-231.
21. **Guillot-Maachi, S., Martin, A., Pourieux, V., Philip, M. C.** (1999). Saux Biocompatibilité des membranes de dialyse. *Journal de Pharmacie Clinique*, 17(4), 195-200.
22. **Kyle, R. A., Durie, B. M. G., Rajkumar, S. V.** (2010). Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia*, 24, 1121-1127
23. **Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V., Larson, D. R., Plevak, M. F., Offord, J. R., ... & Melton III, L. J.** (2006). Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *New England Journal of Medicine*, 354(13), 1362-1369.

24. International Myeloma Foundation .Comprendre l'électrophèse avec le support de la société Sebia .2011.
25. **Issa, G. C., Ghobrial, I. M., & Roccaro, A. M.** (2011). Novel agents in Waldenström macroglobulinemia. *Clinical investigation*, 1(6), 815.
26. **Iwanaga, M., Tagawa, M., Tsukasaki, K., Matsuo, T., Yokota, K. I., Miyazaki, Y., ... & Taguchi, J.** (2009). Relationship between monoclonal gammopathy of undetermined significance and radiation exposure in Nagasaki atomic bomb survivors. *Blood*, 113(8), 1639-1650.
27. **Jaffe, E. S., Harris, N.L, Stein, H.** (2008). World Health Organization classification of tumours. *Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*.Lyon, France.
28. **Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V., Larson, D. R., Plevak, M. F., Offord, J. R., ... & Melton III, L. J.** (2006). Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *New England Journal of Medicine*, 354(13), 1362-1369.
29. **Kuby,J., Owen,J., Punt,J., Stranford, S.A.** (2014).*Immunologie*. 7th ed.Paris: Dunod, 65-90.
30. **Landgren, O., Kyle, R. A., Hoppin, J. A., Freeman, L. E. B., Cerhan, J. R., Katzmann, J. A., ... & Alavanja, M. C.** (2009). Pesticide exposure and risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance in the Agricultural Health Study. *Blood*, 113(25), 6386-6391.
31. **Landgren, O., Gridley, G., Turesson, I., Caporaso, N. E., Goldin, L. R., Baris, D., ... & Linet, M. S.** (2006). Risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and subsequent multiple myeloma among African American and white veterans in the United States. *Blood*, 107(3), 904-906.
32. **Landgren, O., Rajkumar, S. V., Pfeiffer, R. M., Kyle, R. A., Katzmann, J. A., Dispenzieri, A., ... & Blot, W. J.** (2010). Obesity is associated with an increased risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance among black and white women. *Blood*, 116(7), 1056-1059.
33. **Leblond, V., Maloum, K., Le Garff-Tavernier, M., Davi, F., & Nguyen-Khac, F.** (2013). La maladie de Waldenström ou macroglobulinémie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(452), 73-82.
34. **Lefebvre, O.** (2013). *Prise en charge d'une découverte d'une gammopathie monoclonale en ville par le médecin généraliste* (Doctoral dissertation).

35. **Manier, S., & Leleu, X.** (2011). Myélome multiple: diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 26(3), 125-136.
36. **Neriishi, K., Nakashima, E., & Suzuki, G.** (2003). Monoclonal gammopathy of undetermined significance in atomic bomb survivors: incidence and transformation to multiple myeloma. *British journal of haematology*, 121(3), 405-410.
37. **Owen, R. G., Parapia, L. A., Higginson, J., Misbah, S. A., Child, J. A., Morgan, G. J., & Jack, A. S.** (2000). Clinicopathological correlates of IgM paraproteinemias. *Clinical lymphoma*, 1(1), 39-43.
38. **Poulain, S., Wemeau, M., Balkaran, S., Hivert, B., Hautecoeur, A., Rossignol, J., Fernandez, J., Daudignon, A., Roumier, C., Soenen, V., Lepelley, P., Lai, J.L., Morel, P., Leleu, X.** (2010). Macroglobulinémie de Waldenström. *La Revue de médecine interne*, 31, 385-394.
39. **Rajkumar, S. V., Dimopoulos, M. A., Palumbo, A., Blade, J., Merlini, G., Mateos, M. V., ... & Landgren, O.** (2014). International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The lancet oncology*, 15(12), e538-e548.
40. **Roitt I.** (2002). *Immunologie Médicale*. Paris: Maloine, 33-46.
41. **Séve, P.** (2012). Diagnostiquer une immunoglobuline monoclonale, 10-12.
42. **Steingrímsson, V., Landgren, O., & Kristinsson, S. Y.** (2017). Epidemiology of Waldenström Macroglobulinemia. In *Waldenström's Macroglobulinemia* (pp. 97-109). Springer International Publishing.
43. **Travade, P.** (2000). Leucémie lymphoïde chronique. *La Revue de médecine interne*, 21, 108s-111s.
44. **Vachon, C. M., Kyle, R. A., Therneau, T. M., Foreman, B. J., Larson, D. R., Colby, C. L., ... & Rajkumar, S. V.** (2009). Increased risk of monoclonal gammopathy in first-degree relatives of patients with multiple myeloma or monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 114(4), 785-790
45. **Vekemans, M. C., CAERS, J., Doyen, C., & Michaux, L.** (2013). Gammopathies monoclonales de signification indéterminée. *Louvain Medical*, 132(2), 51-62.
46. **Wang, H., Chen, Y., Li, F., Delasalle, K., Wang, J., Alexanian, R., ... & Wang, M.** (2012). Temporal and geographic variations of Waldenstrom macroglobulinemia incidence. *Cancer*, 118(15), 3793-3800.

47. **Zandecki, M., Genevieve, F., Jago, P., & Grosbois, B.** (2000). Les gammopathies monoclonales de signification indéterminée. *La Revue de médecine interne*, *21*(12), 1060-1074.

## Annexes

**Annexe I.** Répartition des nouveaux cas sur la période allant de 2009 à 2013 en Algérie (Djouadi-lahlou et al., 2016).

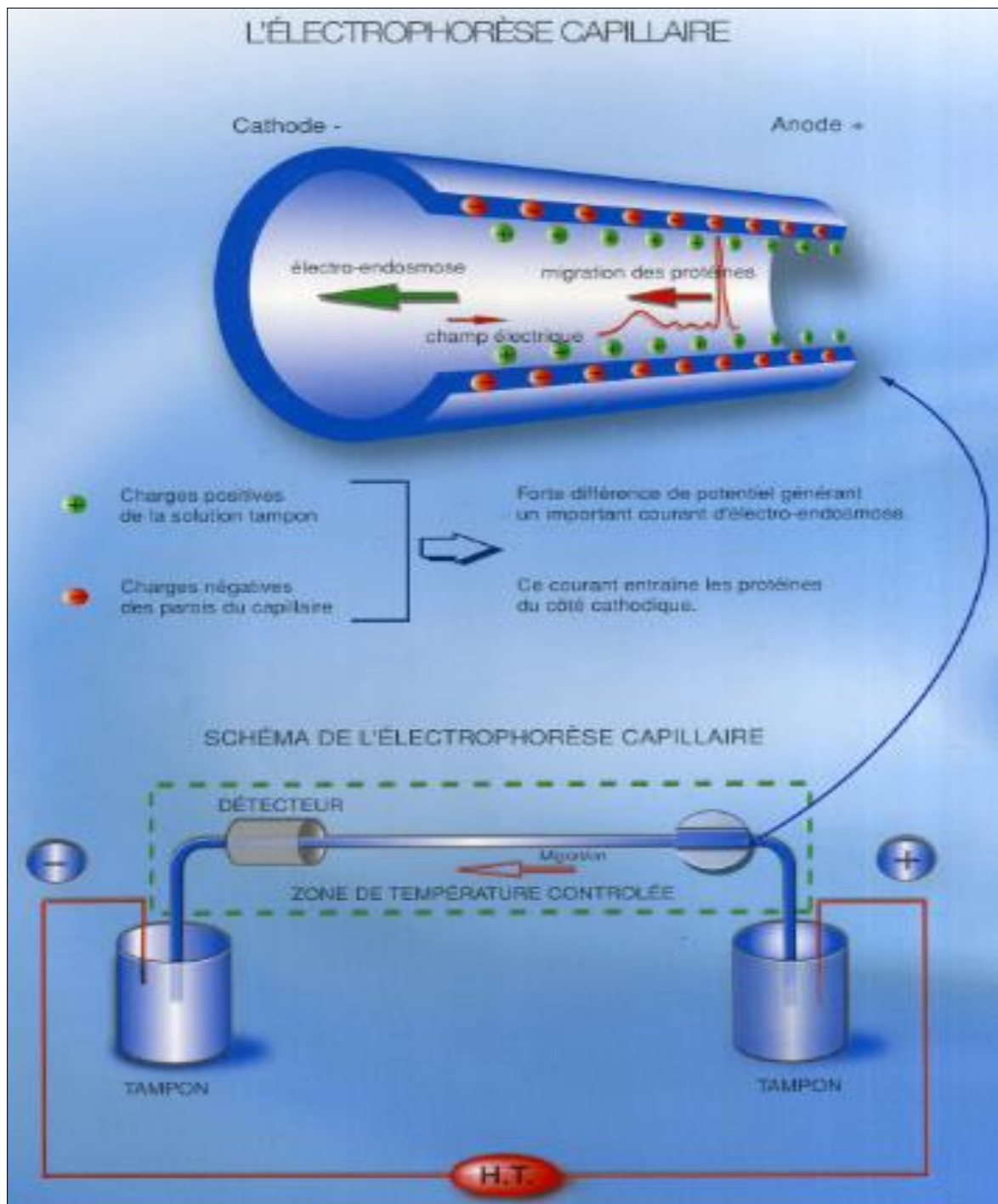
Année	Nombre	Nombre par million	Taux d'incidence par 100000 habitants
2009	10	35,1	0,0028
2010	16	37,063	0,043
2011	17	37,8	0,044
2012	20	37,9	0,053
2013	28	39,21	0,071
<b>Total</b>	91	37,41	0,248

### Annexe 2. Matériel non biologique

- Micropipette (100-20-1000  $\mu$ L).
- Agitateur.
- Tubes coniques.
- Burette.
- Fiolejaugée.
- Becher.
- Bain marie.
- Vortex.
- Membranes d'immunofixation.
- Membranes de PBJ.

- Electrodes.
- Appicateurs.
- Papier buvard.
- Les kits de réactifs
- SAS-3
- Helena V8

### Annexe 3. Principe de l'électrophorèse capillaire.



#### Annexe 4. Le Capillarys



#### Annexe 5. Valeurs de références des protéines sériques.

Fraction de protéines	Moyenne (%)	Moyenne (g/L)
Albumine	55,8-66,1	40,20-47,60
Alpha 1	2,9-4,9	2,10-3,50
Alpha 2	7,1-11,8	5,10-8,50
Béta 1	4,7-7,2	3,40-5,20
Béta 2	3,2-6,5	2,30-4,70
Gamma	11,1-18,8	8,00-13,50

#### Annexe 6. Etapes de migration des protéines urinaires.

Étapes	Durée	T°	Tension
Charger échantillon	10 s	21 °c	
Déposer échantillon	10 s	21 °c	
Répéter l'opération X10			
Electrophorèse	18 min	20 °c	100 v
Sécher	8 min	54 °c	



**Annexe 7.** Coloration et décoloration.

<b>Étapes</b>	<b>Durée</b>	<b>T°</b>
<b>Colorer</b>	04 :00	
<b>Décolorer</b>	02 :00	
<b>Décolorer</b>	02 :00	
<b>Sécher</b>	12 :00	64 C

**Annexe 8.** Dilution des sérums selon les concentrations du composant monoclonale.

<b>Concentrations</b>	<b>Dilutions</b>		<b>Volumes</b>	
	<b>SP</b>	<b>Autres</b>	<b>SP</b>	<b>Autres</b>
<b>≤ 3g/L</b>	1/2	1/2	120/120	/
<b>4 g/l—7.5 g/l</b>	1/3	1/4	15/30	50/150
<b>7.5 g/l—9 g/L</b>	1/3	1/5	15/30	40/160
<b>9 g/L – 11 g/l</b>	1/4	1/5	20/60	40/160
<b>11 g/l – 13 g/l</b>	1/5	1/7	10/40	30/180
<b>13 g/L – 18 g/l</b>	1/5	1/10	10/40	20/180
<b>18 g/l – 25 g/l</b>	1/6	1/12	10/50	20/220
<b>25 g/l – 35 g/l</b>	1/8	1/15	10/70	20/280
<b>35 g/l – 45 g/l</b>	1/8	1/18	10/70	10/170
<b>45 g/l – 55 g/l</b>	1/10	1/20	5/45	10/190
<b>&gt;55 g/l</b>	1/15	1/25	5/70	10/240

**Annexe 9.** Répartition numérique des patients selon les tranches d'âge de 10 années

Tranches d'âge (ans)	[20-30[	[30-40[	[40-50[	[50-60[	[60-70[	[70-80[	[80-90[
Nombre de patients (n)	1	2	7	10	12	32	5
Fréquence (%)	1,45	2,90	10,14	14,49	17,39	46,38	7,25

**Annexe 10.** Répartition numérique des patients selon le sexe et les tranches d'âge.

Tranches d'âges sexes	[20-30[	[30-40[	[40-50[	[50-60[	[60-70[	[70-80[	[80-90[
	Homme (n)	1	1	3	6	6	20
Fréquence (%)	2,50	2,50	7,50	15	15	50	7,50
Femme (n)	0	1	4	4	6	12	2
Fréquence (%)	0	3,45	13,80	13,80	20,69	41,38	6,90
Total (n)	1	2	7	10	12	32	5

**Annexe 11.** Répartition numérique des patients selon le service de provenance.

Service	Externe	Hospitalisé						
		Néphrologie	Hématologie	Rhumatologie	Médecine interne	allergologie	CPA	Ophtalmologie
Nombre	38	2	13	1	4	1	9	1
Fréquence %	55,07	2,90	18,84	1,45	5,80	1,45	13,04	1,45

### **Annexe 12. Répartition selon le taux de protéines totales**

<b>TP (g/l)</b>	<b>≤65</b>	<b>65-80</b>	<b>≥81</b>
<b>patient</b>	<b>18</b>	<b>24</b>	<b>29</b>

### **Annexe 13. Répartition selon le taux d'albumine**

<b>Albumine (g/l)</b>	<b>≤40,20</b>	<b>40,20-47,6</b>	<b>≥47,6</b>
<b>patient</b>	<b>48</b>	<b>19</b>	<b>12</b>