

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 Physiologique Cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master2
Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire –Immunologie du cancer

Thème

Recherche et identification de l'immunoglobuline monoclonale de classe M dans la maladie de waldenström et le myélome multiple.

Présenté par :

Larit Romaiassa et Hamri Zakaria

Soutenu le : 19 septembre 2015 devant le jury composé de :

-Mme AMOKRANE. A	Maître-Assistante A	Université de Blida-1	Présidente
-Mr BENYAHIA. N	Maître-Assistant A	Université de Blida-1	Examineur
-Mme EDDAIKRA.A	Maitre-Assistante A	Université de Blida-1	Co-Promotrice
-Mme MOUHOUB. S	Ingénieure	CHU Ain Naâdja	Promotrice

Année Universitaire 2014-2015

Remerciements

Nous tenons avant tout à exprimer notre profonde gratitude à madame Samia MOUHOUB de nous avoir encadrée brillamment, pour ses précieux conseils et sa qualité scientifique et pédagogique, nous la remercions aussi pour son soutien et son sourire y compris lors des résultats décevants.

*Nous remercions **Dr SAADI LEILA** chef de département de Biologie*

*Nous remercions **Mme EDDAIKRA** notre co-promotrice et enseignante, nous remercions aussi l'ensemble de nos professeurs, qui ont partagé avec nous leurs connaissances théoriques et techniques.*

Nous remercions aussi les membres du jury : Mme Amokrane et Mr Benyahya de nous avoir fait l'honneur d'accepter et de juger ce travail

Nous remercions professeur Chaïb chef service du laboratoire d'immunologie de l'hôpital central de l'armée « HCA Mohamed Saghir Nekkache , Ain Naaja » de nous avoir accepté dans son laboratoire d'immunologie.

Nous témoignons de notre grande reconnaissance à tous les biologistes et techniciens du laboratoire d'immunologie du CHU Ain Naadja, et spécialement BOUCHRA d'avoir partagé avec nous ses connaissances et son expérience, et de nous avoir aidé à maîtriser les techniques que nous ne connaissons pas.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents :

La réussite de vos enfants a toujours été un souci permanent. Vous nous avez éduquées dans le sens de la dignité, de l'honnêteté et du courage.

Vous n'avez jamais reculé devant aucun sacrifice pour que nous puissions bénéficier d'une bonne éducation et d'une bonne formation.

A mon grand frère : LAMINE ... Oussama , Abd El Ouadoude

A mes sœurs : Asma et khansa et leurs adorables enfants et à ma cousine Rofaïda

A mes oncles et tantes ...

A mes ami(e)s : Fatiha , Fadila, Hafsa, Hanane, Meriem, Wissem, ...

Je le dédie à mon binome qui m'a aidé à réaliser ce travail

Merci enfin pour tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail et les efforts déployer de près ou de loin, je les remercie du fond

du cœur.

Romaïssa...



Dédicace :

A mes chers parents,

Je dédie ce fruit de fin d'étude à vous, vous qui m'ont toujours encouragé, qui m'ont toujours soutenus et m'ont réconforter dans mes pires moments... merci PAPA , merci MAMAN.

A mes sœurs ;Salima, Meriem, Sirine, Lina et notre petite Hala, qui ne m'ont jamais oublié dans leur Dou'aâ.

A ma binome « Mayssa », je te remercie pour ta patience avec moi, pour ta volonté de travail, Hamdoullah, on est arrivé à notre objectif

A mon cousin, Sofiane, un cousin, mais pour moi tu es mon frère.

A mes amis ; Yassine, Abdelhamid, Ali, Salim, Nabil, El hadi, Mohamed.

Zakaria ...

SOMMAIRE

REMERCIEMENT

LISTE DES FIGURES

RESUME

GLOSSAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION 1

Chapitre I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1 définition..... 3

I.2 classification 3

I.3 signes cliniques : myélome multiple..... 5

I.4 signes cliniques : waldenström 6

I.5 facteurs génétiques..... 6

I.6 physiopathologie..... 7

I.7 les complications 9

I.8Diagnostic 12

I.9 traitement 15

Chapitre II : MATERIEL ET METHODE

1. Matériel et méthodes..... 17

1.1. Matériel 17

1.1.1. Matériel biologique 17

1.1.2. Matériel non biologique 17

1.2. Méthodes..... 17

1.2.1. Analyse quantitative..... 17

1.2.2. Analyse semi quantitative 19

1.2.3. Analyse qualitative..... 21

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Caractéristique de la population	23
1.1. Répartition à l'admission	23
1.2. Description de la population selon l'âge	24
1.3. Description de la population selon le sexe	24
2- Résultats de l'analyse quantitative	25
2.1. Résultats du dosage des protéines urinaires	25
2-2. Résultats du dosage pondéral	25
3. Résultats de l'analyse semi-quantitative.....	26
3.1 Résultats de l'EPS.....	26
3.2 Résultats de l'EPU.....	28
4 Résultats de l'analyse qualitative.....	30
4.1 Immunofixation des protéines sériques.....	30
4.2 Immunofixation des protéines urinaires.....	32
5. Discussion	34
CONCLUSION	39

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

<i>Figures</i>	<i>Titre</i>	<i>page</i>
Figure 01 :	Aspect des cellules myélomateuses	04
Figure 02 :	Les évènements oncogéniques impliqués dans le développement du MM	07
Figure 03 :	Le rôle principal des cytokines et chimokines impliqués dans la physiopathologie du MM	09
Figure 04 :	A :Radiographie du crâne, B : IRM du rachis et	10
Figure 05 :	Principe de la néphélométrie laser	12
Figure 06 :	Electrophorèse des protéines sur gel d'agarose	13
Figure 07 :	Représentation du néphélomètre laser.	18
Figure 08 :	Représentation du spectrophotomètre	18
Figure 09 :	La courbe d'étalonnage	19
Figure 10 :	Le kit SAS-3 de l'électrophorèse	20
Figure 11 :	Répartition des patients selon les services d'admission	23
Figure 12 :	Répartition selon les tranches d'âge	24
Figure 13 :	Répartition selon le sexe	24
Figure 14 :	Résultat de l'électrophorèse protéique pour le témoin pool.	26
Figure 15 :	Représentation des résultats de l'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose	27
Figure 16 :	Représentation des résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires sur gel d'agarose.	29
Figure 17 :	Résultats de la protéine de Bence Jones.	29
Figure 18 :	Immunofixation des protéines sériques du témoin.	30
Figure 19 :	immufixation des protéines sériques des sujets malades	31
Figure 20 :	Résultats du traitement des sérums par le réducteur β -mercapto éthanol	32
Figure 21 :	immunofixation des protéines urinaires d'un témoin pool.	33
Figure 22 :	immufixation des protéines sériques des sujets malades	33

Résumé

Le myélome multiple à IgM et la macroglobulinémie de Waldenström sont deux affections hématologiques, dues à une prolifération plasmocytaire ou lympho-plasmocytaire maligne atteignant principalement la moelle osseuse. Ces deux maladies se manifestent par la présence d'une immunoglobuline monoclonale de type M dans le sérum et/ou les urines des patients atteints.

Notre travail a porté sur une étude rétrospective et une étude prospective chez 60 patients, dont 41 sont admis pour une suspicion de gammopathie monoclonale, et 19 patients ayant un diagnostic avéré (14 Waldenström et 05 myélome multiple à IgM).

Les résultats des différentes techniques immunologiques ont mis en évidence la présence d'une IgM monoclonale chez 24 patients, dont 17 patients présentent la macroglobulinémie de Waldenström et 07 patients présentent le myélome multiple à IgM.

Mots clés :

myélome multiple, la macroglobulinémie de Waldenström, immunoglobuline monoclonale, IgM,

Summary

IgM myeloma and Waldenström's macroglobulinemia are both hematological diseases, caused by malignant proliferation of plasma cells or lymphoplasmacytic cells, mainly reaching the bone marrow. Both diseases are manifested by the presence of a monoclonal immunoglobulin M in serum and/or urine of patients.

Our work has focused on a retrospective and a prospective study of 60 patients, of which 41 are admitted for suspected monoclonal gammopathy, and 19 patients with a proved diagnosis (14 Waldenström's and 05 of IgM myeloma).

The immunological techniques results have demonstrated the presence of an IgM monoclonal in 24 patients, of which 17 presents Waldenström's macroglobulinemia and 07 patients had IgM myeloma.

Keywords:
multiple myeloma, Waldenström's macroglobulinemia, monoclonal immunoglobulin, IgM,

ملخص

يعتبر مرض النقيوم المتعدد ومرض فالدينستروم من الأمراض الدموية, سببه تكاثر المصورية الخبيثة أو الخلايا الالامفامصورية الخبيثة في نخاع العظام. يتجلى كلا المرضين من خلال وجود الغلوبين المناعي الوحيد النسيلة من نوع "م", في مصل المريض, أو في المصل و البول معا.

ركز عملنا على دراسة استطلاعية ودراسة رجعية لستون مريض, حيث 41 مريض تم استشفائهم لأنه يشتبه لديهم مرض من أمراض الغاما الوحيدة النسيلة, أما 19 الآخرين فلديهم تشخيص مثبت للمرض (14 يحملون مرض فالدينستروم, و05 مرضى لديهم النقيوم المتعدد من صنف "م")

نتائج مختلف التقنيات المستعملة في مجال المناعة اكدت وجود الغلوبين المناعي الوحيد النسيلة من نوع "م" عند 24 مريض, حيث 17 منهم يحملون مرض فالدينستروم, اما البقية وهم 07 مرضى, فإنهم يحملون مرض لديهم النقيوم المتعدد من صنف "م".

الكلمات المفتاحية:

مرض فالدينستروم, النقيوم المتعدد, الغلوبين المناعي الوحيد النسيلة من نوع "م".

Glossaire :

-Albumine: Protéines simples hydrosolubles présentes dans le sérum sanguin et le sérum de nombreux autres tissus animaux.

-Anémie : diminution du taux d'hémoglobine sanguin (<13 g/dl chez l'homme, <12 g/dl chez la femme). Elle peut ou non s'accompagner d'une diminution du nombre des globules rouges. Son mécanisme est soit central, soit périphérique.

-Chaînes légères libres: Partie de la protéine monoclonale de faible poids moléculaire pouvant être mesurée par un test sensible, le test Freelite®.

-Cytaphérèse : Technique consistant à prélever le sang d'un donneur pour en extraire un type de cellules (globules blancs, globules rouges ou plaquettes) et à restituer le reste.

-Électrophorèse: Test effectué en laboratoire, dans lequel le sérum (sang) du patient ou les molécules de l'urine du patient sont soumis à une séparation en fonction de leur taille et de leur charge électrique. Pour les patients atteints de myélome, l'électrophorèse sérique ou urinaire permet à la fois d'évaluer la quantité de la protéine du myélome (protéine M) et d'identifier la caractéristique du «pic monoclonal» de chaque patient.

-Fracture pathologique: Lésion d'un os généralement causée par le cancer ou un état dû à une maladie. Se produit sur les os affaiblis par le myélome, ne pouvant pas supporter un poids ou un stress normaux.

-Macroglobulinémie de Waldenström: Type rare de lymphome indolent affectant les plasmocytes et produisant des taux excessifs de protéine IgM. Il ne s'agit pas d'un type de myélome.

-MGUS (Gammopathie Monoclonale de Signification Indéterminée): État bénin dans lequel la protéine M est présente, sans maladie sous-jacente.

-Moelle osseuse : Tissu spongieux présent dans les cavités osseuses et qui joue un rôle dans la production des leucocytes, des globules rouges et des plaquettes.

-Myélome Multiple : Type de cancer qui attaque les plasmocytes de la moelle osseuse. Les plasmocytes des patients atteints de myélome multiple forment des anticorps anormaux, affectant probablement les os, la moelle osseuse et d'autres organes.

-Protéine Monoclonal (protéine M) : Protéine particulière sécrétée par les cellules myélomateuses et qui s'accumule puis affecte les os et la moelle osseuse. Un taux élevé de protéines monoclonales signifie que les cellules myélomateuses sont nombreuses. La protéine M peut se composer d'immunoglobulines intactes, de chaînes légères libres ou des deux.

Abréviations

CLL : chaîne légère libre

CRP : protéine c réactive

EPS : électrophorèse des protéines sériques

EPU : électrophorèse des protéines urinaires

IF :immunofixation

Ig :immunoglobuline

IL :interleukine

ISS :International Staging System

MGUS :monoclonalgammopathy of undetermined significance

MM :myélome multiple

MW :maladie de Waldenström

NF- κ B :nuclear factor-kappa B

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBJ : protéinurie de Bence Jones

POEMS :Polyneuropathy Organomegaly Endocrinopathy Monoclonal protein Skin changes

RANKL :*receptor activator for nuclear factor kappa b ligand*

VEGF :*vascularendothelial growth factor*

VS : vitesse de sédimentation

Introduction

Les gammopathies monoclonales sont des affections hématologiques. Elles sont dues à une prolifération d'un clone plasmocytaire ou lympho-plasmocytaire produisant une immunoglobuline monoclonale identique entière, immunoglobuline tronquée ou chaînes légères libres (**Landgren, 2009**).

Cette immunoglobuline monoclonale est présente dans le sérum et/ou les urines du patient atteint.

Les gammopathies monoclonales se subdivisent en gammopathies monoclonales de signification indéterminée MGUS (prolifération bénignes) et malignes, dont les principales sont la macroglobulinémie de Waldenström et le myélome multiple (**Kyle, 2006**).

La maladie de Waldenström (MW) est un syndrome lymphoprolifératif B caractérisé par une infiltration médullaire par des cellules lymphoplasmocytaires et une sécrétion d'une IgM monoclonale; traduite généralement par une hépatomégalie, une splénomégalie et une anémie (**Owen, 2003**).

Le myélome multiple ou maladie de Kahler à IgM est une affection hématologique maligne, caractérisée par une prolifération d'un seul clone de plasmocytes infiltrant la moelle osseuse. Cette maladie se manifeste par des lésions osseuses, hypercalcémie, anémie et insuffisance rénale (**Kyle, 2006**).

La prolifération plasmocytaire et lymphoplasmocytaire maligne retentit sur le plan hématologique, biochimique et rhumatologique, avec des conséquences graves puisque, malgré les progrès thérapeutiques réels de ces dernières années, la rechute de ces maladies est toujours inéluctable, et ils sont incurable à l'heure actuelle. Ainsi, les patients atteints nécessitent une lourde prise en charge

L'incidence annuelle du myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenström varie en fonction de la race et la localisation géographique. Elle est d'environ 5-6 /100 000 habitants / an représentant ainsi 1% de l'ensemble des cancers (*IMF revue de la Mal et option ther, 2011*). Ces deux pathologies touchent en grande majorité les sujets âgés, ce qui explique l'augmentation de l'incidence avec le vieillissement de la population, ainsi que les hommes sont plus souvent atteints que les femmes.

Le diagnostic biologique du myélome multiple à IgM et la macroglobulinémie de Waldenström repose sur l'analyse conjointe du sérum et des urines qui vise à affirmer l'homogénéité de l'isotype de l'immunoglobuline monoclonale. Le diagnostic biologique ne se limite pas à un seul dosage mais dépend de différents outils immunologiques qui sont l'électrophorèse, l'immunofixation, et enfin le dosage pondéral qui est représenté principalement par le dosage d'immunoglobulines et de leurs chaînes légères associées et libres (CLL).

Le réducteur β -mercapto-éthanol joue un rôle très important dans la distinction entre une macroglobulinémie de Waldenström et un myélome multiple à IgM dans une immunofixation sérique.

Notre travail a porté sur une étude rétrospective et une étude prospective réalisées au sein du service d'immunologie de l'hôpital central de l'armée Dr Mohamed Seghir Nekkache chez une population de 60 malades hospitalisés dans différents services (service d'hématologie, de rhumatologie, d'infectieux et de gastrologie) pour une suspicion de MM et MW.

L'objectif de notre travail est d'affirmer la présence de l'immunoglobuline M dans le myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenström en se reposant sur différentes techniques immunologiques et biochimiques.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1 DEFINITIONS

Gammopathie monoclonale

Une gammopathie monoclonale (GM) est définie par la prolifération incontrôlée d'un seul clone lymphoplasmocytaire ou plasmocytaire au niveau du tissu hématopoïétique, caractérisée par la présence dans le sérum et/ou les urines d'une immunoglobuline (Ig) monoclonale constituée d'un seul type de chaîne lourde « H » et un seul type de chaîne légère « L ». Cette Ig est parfois incomplète, représentée seulement par sa chaîne « H » ou « L ».(**Mseddi-Hdiji et al.,2005**).

I.2 Classification

Les gammopathies monoclonales constituent un groupe hétérogène de maladies avec des formes malignes et bénignes :

Les gammopathies malignes :ce sont des affections malignes comme : le myélome multiple, la macroglobulinémie de Waldenström, le plasmocytome solitaire, les leucémies lymphoïdes chroniques. Des affections également malignes, mais avec une faible masse tumorale, comme l'amylose AL, la maladie des dépôts de chaînes légères, le syndrome POEMS .

Les gammopathies bénignes : les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS), considérées comme des situations pré-malignes. (**Berenson,2010**).Les patients présentant un MGUS ont davantage de risques de développer un myélome multiple (MM) ou une autre hémopathie lymphoïde B. Le risque d'évolution vers un MM de ces patients est en moyenne de 1% des cas par an .(**Dispenzieri et al .,2009**).

Myélome multiple :

Le Myélome multiple, ou maladie de Kahler, est une hémopathie maligne due à la prolifération tumorale des plasmocytes monoclonaux dans la moelle osseuse. Les plasmocytes tumoraux produisent une immunoglobuline monoclonale ou un fragment d'immunoglobuline monoclonale (chaîne légère libre) qui peuvent être décelés dans le sang et/ou dans les urines.(**Ophelie, 2013**).

Les plasmocytes anormaux, encore appelés cellules myélomateuses (**Figure 1**) peuvent entraîner un fonctionnement anormal des autres cellules de la moelle osseuse . (**Gahrton, 2004**).

Le MM fait partie d'un groupe nosologique qui porte la dénomination de néoplasies plasmocytaires (plasma cell neoplasms) dans la classification OMS des hémopathies malignes lymphoïdes (**Kyle et al., 2007**). Ce groupe d'affections comprend également les plasmocytomes solitaires, osseux et extra-osseux, les maladies avec dépôts d'immunoglobuline (Ig) monoclonale, dont l'amyloïdose primaire (amyloïdose AL), et les maladies des chaînes lourdes (**Audrey B.C et al, 2005**).

Il existe cinq types possibles de composantes de chaînes lourdes, caractérisés par les lettres G, A, D, E et M et deux types possibles de composantes de chaînes légères kappa (k) et lambda. Chaque immunoglobuline ne peut contenir que l'un des cinq types de chaînes lourdes possibles et l'un des deux types possibles de chaîne légère, on parle alors d'une CLL de type K ou L (**Greipp, 2005**).

Le myélome à **IgM** est rare ,il doit être différencié de la macroglobulinémie de Waldenström sur la morphologie de l'infiltration lymphoïde B médullaire : l'infiltration est de type plasmocyttaire dans le myélome, lymphoplasmocyttaire dans la maladie de Waldenström. Le myélome s'associe à des lésions ostéolytiques ou des tassements vertébraux. (**Berthou, 2006**).

C'est une maladie rare qui représente environ 80% des gammopathies monoclonales malignes et 15% des hémopathies malignes. (**Bouatay ,2013**) .

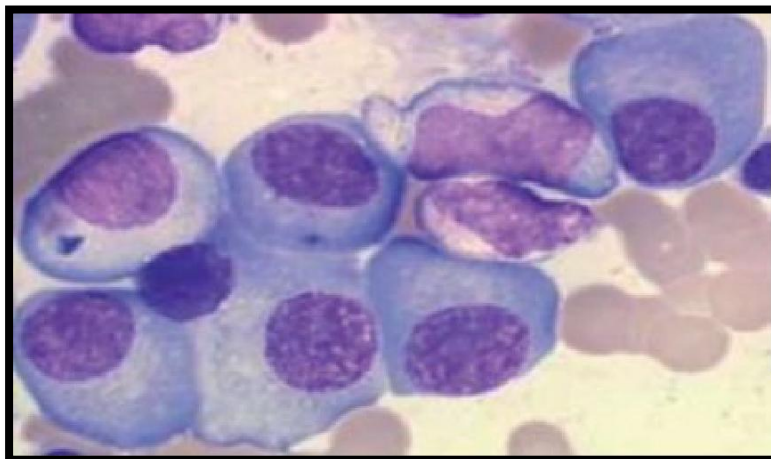


Figure 1: Aspect des cellules myélomateuses. (Bouatay ,2013) .

I.3 Signes cliniques

Dans les stades précoces, le myélome multiple est souvent asymptomatique et les symptômes n'apparaissent qu'à un stade plus avancé de la maladie. Les principaux symptômes sont l'anémie, les lésions ostéolytiques, la diminution de la fonction rénale et l'hypercalcémie. Ces symptômes sont regroupés sous l'appellation «CRAB symptoms». (Raab MS et al., 2009).

L'anémie, présente chez 73% des patients au diagnostic, est due à une infiltration de plasmocytes dans la moelle osseuse et à des problèmes de la fonction rénale. Les lésions osseuses, que développent près de 60% des patients au diagnostic, est à mettre en relation avec un déséquilibre entre la formation et la destruction osseuse.

Elles constituent la cause majeure de morbidité dans le myélome en raison de douleurs osseuses, de l'hypercalcémie, de l'ostéopénie et de fractures pathologiques. (Kyle et al., 2003).

On peut également citer comme éléments débilissants fréquents, la compression vertébrale et ses conséquences neurologiques néfastes. Les problèmes de la fonction rénale résultent de dégâts directs aux structures tubulaires dus à un excès de charges protéiques (Ig), une déshydratation, une hypercalcémie et l'utilisation de médicaments néphrotoxiques. De plus, l'hyperviscosité du sang, les infections répétées et des signes d'amyloïdose peuvent également être considérés comme des symptômes du myélome. (Raab et al., 2009).

Maladie de waldenstrom

La maladie de Waldenström est une gammopathie monoclonale maligne, liée à la prolifération excessive de cellules lymphoplasmocytaires B caractérisée par l'accumulation des cellules monoclonales dans la moelle osseuse et dans les tissus lymphoïdes périphériques, et associée à la production d'immunoglobulines M (IgM) monoclonales sériques, Produite en quantité parfois très importante.

L'étiologie exacte de la MW est inconnue. Des facteurs liés à l'immunité pourraient être impliqués et la maladie a clairement une composante familiale puisque les membres au premier degré des patients ont un risque élevé de développer la maladie. Aucun gène de susceptibilité n'a encore été identifié, mais des loci de susceptibilité ont été cartographiés sur les chromosomes 6p21.3 et 4q, et la moitié des patients ont des délétions 6q dans les cellules tumorales. Une mutation (L265P) somatique hautement récurrente de *MYD88* a été identifiée récemment chez 80 à 85% des patients. (Véronique , 2015).

Classification

Il existe 03 types de macroglobulinémie de waldenström :

- 1- Les macroglobulinémies de Waldenström avérées et symptomatiques à traiter, pour limiter les complications, non seulement de la prolifération lymphoïde (insuffisance médullaire, compression)

Les macroglobulinémies de Waldenström menaçant de devenir symptomatiques à bref délai, en particulier, celles où la concentration de l'IgM est supérieure à 30 g/L, appartiennent à ce groupe.

2- Les macroglobulinémies de Waldenström non symptomatiques (et dont la concentration d'IgM est faible), en n'envisageant de traiter que devant l'évidence d'une augmentation du syndrome tumoral, le suivi de la concentration de l'immunoglobuline monoclonale représentant, là encore, un marqueur privilégié de la masse tumorale.

3- Les IgM monoclonales sans prolifération lymphoïde décelable, « de signification indéterminée ».(**Jaccard et al.,2002**).

I.4 Les signes cliniques

Le plus souvent, la découverte est fortuite car une majorité de personnes atteintes de MW ne ressent aucun signe de la maladie.

Les principaux signes cliniques sont une hépato splénomégalie, un syndrome d'hyperviscosité et une cytopénie. La fatigue liée à l'anémie normochrome normocytaire est le symptôme le plus fréquent. Une infiltration viscérale est rare mais peut atteindre l'estomac, l'intestin grêle, les poumons, les glandes exocrines ou la peau, avec comme symptômes une diarrhée, une stéatorrhée et un purpura cutané. Tous ces symptômes et troubles ne sont pas systématiques. Ainsi, lorsque la maladie est découverte, la moitié des personnes ne présente aucun signe (elles sont « asymptomatiques ») et elles ne ressentent aucun effet de la maladie. (**Véronique , 2015**).

I.5 Facteurs génétiques

La première étape serait la translocation du gène des chaînes lourdes des Ig situé sur le chromosome 14. En effet, au stade de la gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS), on s'aperçoit que 50% des patients au diagnostic ont une translocation du chromosome 14. La maladie est totalement silencieuse et il n'y a pas de signes cliniques de MM. Ces proliférations monoclonales donnent naissance à un pic d'Ig qui est de faible intensité.

L'évolution du stade MGUS à celui de MM est la conséquence de mutations successives des cellules tumorales :

- Une translocation du gène des chaînes lourdes des Ig situé sur le chromosome 14.
- Une dérégulation des gènes N-ras et K-ras, et Rb.
- Délétion totale ou partielle du chromosome 13.
- Enfin, la translocation du gène c-myc et la délétion du bras court du chromosome 17 Del17p.

L'ensemble de ces anomalies, la translocation du chromosome 14 ou une délétion du chromosome 13, conduit à un état d'instabilité génomique. Cet état de transition peut être stable ou évoluer vers le

stade de MM. Un suivi à long terme (de 30 ans et plus) de patients a montré un taux de transformation en MM de 1% par an.

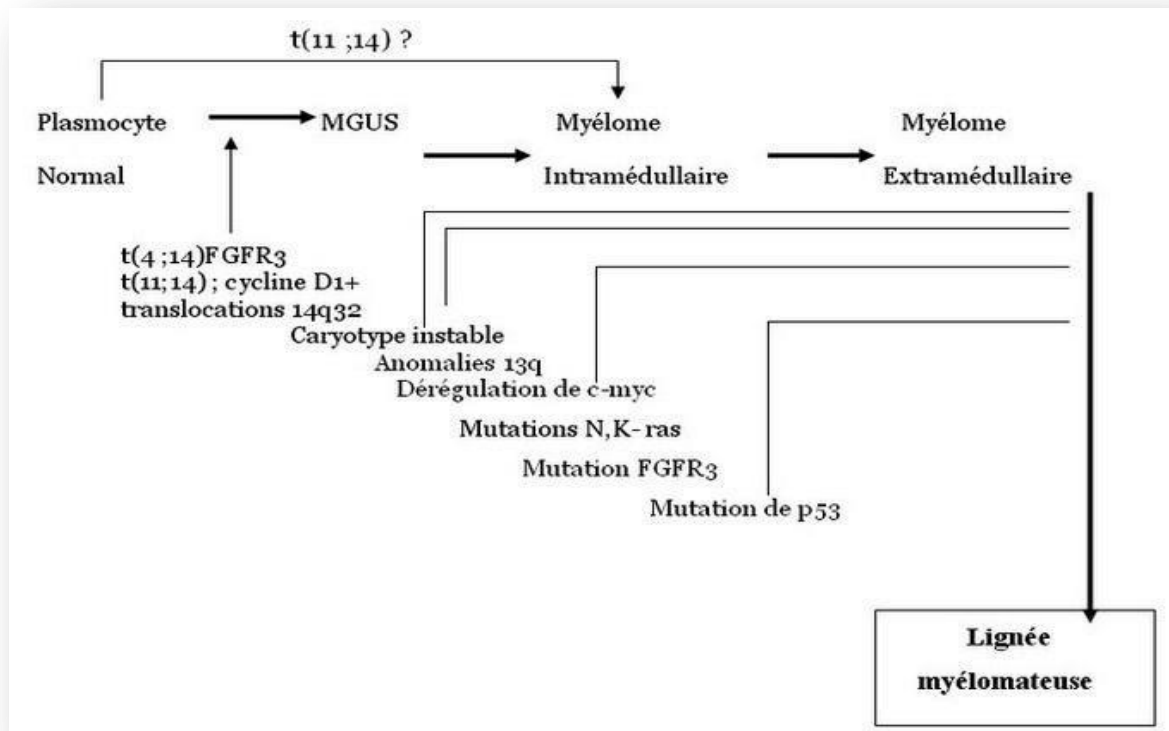


Figure 2: Les évènements oncogéniques impliqués dans le développement du MM (El Mezouar, 2010)

I.6. Physiopathologie

Les données sur les facteurs de risque du myélome multiple à IgM ou la maladie de Waldenström sont controversées. Seules les radiations ionisantes, liées à des expositions accidentelles, sont reconnues comme facteur de risque avéré. Les facteurs de prédisposition génétique sont en cours d'évaluation. (Guislain, 2011). Des aberrations numériques ou structurelles peuvent être observées dans presque tous les échantillons de cellules myélomateuses. (Kuehl et Bergsagel, 2002).

L'atteinte osseuse au cours du myélome se caractérise par un déséquilibre entre la résorption osseuse ostéoclastique qui est active et la formation osseuse ostéoblastique, qui est inhibée (Bonvard, 2010).

Il existe une phase précancéreuse qu'est le MGUS, où se manifestent les anomalies cytogénétiques, qui sont subdivisées en deux événements.

Premier événement oncogénique : Consiste à la translocation du gène des chaînes lourdes des immunoglobulines sur le locus **14q32**.

Ce réarrangement de chaînes lourdes entraîne d'autres translocations notamment, la translocation t(11 ;14) (q13; q32) qui engendre la dérégulation de la cycline D .

La translocation t(4 ;14) (p16 ;q32) et t(14 ;16) (q22 ; q32), entraînent respectivement la surexpression de protéine FGFR3 et c-maf.

Les translocations de l'IgH créent une dérégulation directe de :

La cycline D1 t(11q13) impliquée dans la transition G1/S du cycle cellulaire .

La cycline D3 t(6p21) par surexpression de l'ARN messager de la cycline D3 ou indirecte via MAF(16q23) ou MAFB(20q11) codant pour le facteur de transcription du gène de la cycline D2.

Aussi, la mutation de la cycline D est à l'origine d'une hyper-phosphorylation de Rb et une libération excessive d'E2F, mécanisme impliqué dans la prolifération de la cellule.

Deuxième événement oncogénique : marqué par une anomalie du chromosome 13 dont la translocation du locus 13q14 ou la délétion du bras long du chromosome 13, conduit à une instabilité génomique.

D'autres réarrangements surviennent tels que les translocations : t(8 ;14) (q24 ;q32) et t(14 ;22)

(q32 ; q11) entraînant la dérégulation de c-myc, des mutations de KRAS et FGFR, l'inactivation de la p53 ou délétion du bras court du chromosome 17.

L'inactivation par mutation du gène Rb (p16 et p18) entraîne une prolifération incontrôlée de la cellule.

Les plasmocytes malins se localisent au sein de la moelle osseuse, coexistent et interagissent avec les protéines de la matrice extracellulaire et le compartiment non hématopoïétique caractérisé par les cellules stromales.

Les cellules du microenvironnement communiquent entre elles par contact cellulaires via des cytokines et des facteurs de croissance ; ces derniers sont produits de façon autocrine par les cellules myélomateuses ou de façon paracrine par les cellules du microenvironnement. Les cellules tumorales influencent l'environnement en leur faveur pour assurer une survie et une prolifération optimales.

Par des mécanismes de homing, les plasmoblastes vont se localiser dans la moelle osseuse, les cellules myélomateuses expriment des molécules d'adhésion et des cytokines pour renforcer l'adhésion. Ces cellules adhèrent ensuite aux protéines de la MEC et aux cellules stromales grâce à l'expression des molécules d'adhésion, parmi ces molécules :

VLA-4 et VLA-5 se lient à la fibronectine et à la laminine de la MEC ou à VCAM-1 des cellules stromales : LFA-1 se lie à ICAM1 présent sur la cellule stromale, Syndécan1 se lie au collagène de type1 de la MEC.

Cette infiltration plasmocytaire entraîne des perturbations de l'ensemble des RANK/RANKL, d'où une activité ostéoclastique.

De nombreuses cytokines interviennent également dans l'activation des ostéoclastes notamment IL-6, qui est un facteur de croissance essentiel du myélome multiple.

En effet, l'IL-6 induit par l'action de l'IL-1 β et le TNF- α , est un facteur de croissance de plasmocyte malins et des ostéoclastes, elle est synthétisée par les cellules du microenvironnement et par les cellules plasmocytaires elles-mêmes. Ainsi, les taux circulants d'IL-6 sériques sont augmentés.

Les facteurs angiogéniques sont également impliqués dans cette croissance tumorale.

En effet, le VEGF sécrété par les plasmocytes malins est responsable de la néo-vascularisation et de la production d'IL-6.

Le pool cytokénique impliqué dans la prolifération tumorale, conduit à la résorption osseuse qui est responsable de lésions osseuses et de l'hypercalcémie.

D'autres facteurs de croissance apparaissent, capables de stimuler la prolifération plasmocytaire et agissent sur les ostéoclastes, en activant leur prolifération tels que : TNF α et L'IL1 β (le puissant facteur ostéolytique), IL-10, IL-11, CNTF et LIF.

Par ailleurs, ces cellules malignes ont la capacité d'inhiber directement les cellules T et B par le biais d'une sécrétion de TGF β , induisant une immunodéficience humorale et cellulaire chez les patients atteints.

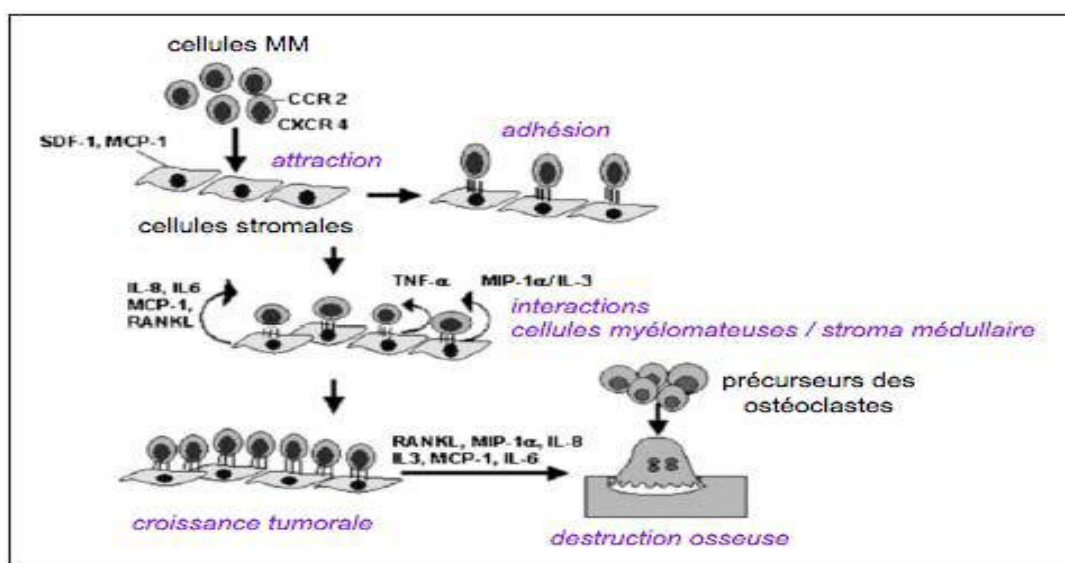


Figure 3 : Le rôle principal des cytokines et chemokines impliqués dans la physiopathologie du MM (Harousseau JL et al, 2004). MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; MIP-1 α , macrophage inflammatory protein-1 α ; MM, myeloma multiple; RANKL, receptor activator for nuclear factor kappa b ligand; SDF-1, stromal cell-derived factor-1; TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α .

I.7. Les complications

Le MM à IgM partage des caractéristiques cliniques communes avec la MW, comme une asthénie, souvent liée à un syndrome anémique, la survenue d'un syndrome d'hyperviscosité, lié à la présence de l'Ig pentamérique, ou encore des lymphadénopathies.

Les éléments cliniques qui caractérisent le MM peuvent être présents dès le diagnostic, ou apparaître au cours de l'évolution de la maladie.

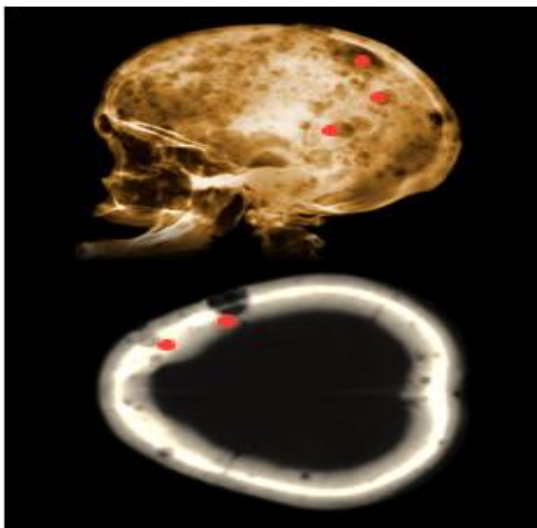
Ils comprennent des symptômes généraux, non spécifiques mais habituels et précoces, tels qu'une altération de l'état général. L'asthénie constitue un symptôme majeur, souvent liée à un syndrome anémique.

À côté de cela, le MM se manifeste par des symptômes plus spécifiques, notamment osseux et Réniaux. (Morlon, 2010).

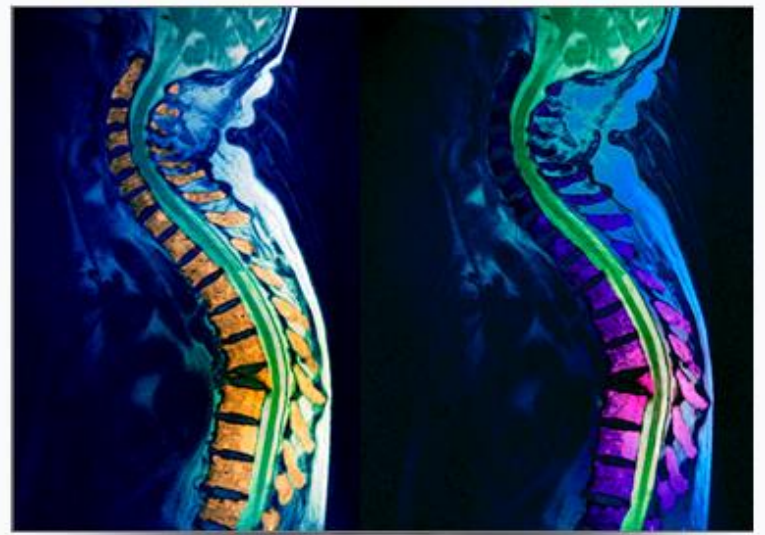
Les douleurs osseuses

La symptomatologie du MM est dominée par les signes osseux. Les lésions ostéolytiques sont une cause majeure de morbidité chez les patients atteints de cette hémopathie. Les lésions d'ostéolyse forment des foyers à différents endroits, particulièrement aux sites de l'hématopoïèse. Elles constituent des zones de fragilité qui peuvent aboutir à des fractures et des tassements vertébraux, parfois compliqués de compression médullaire.

La radiologie standard est la technique de référence pour l'exploration de l'atteinte osseuse associée au MM. (Kyle et al.,2009).



A



B

Figure 04 :A :Radiographie du crâne, lacune osseuse dans le myélome

B : imagerie par résonance magnétique (IRM) du rachis d'un malade ayant un myélome avec tassement vertébral .

L'atteinte rénale

Comme l'ostéopathie, l'insuffisance rénale est une cause majeure de morbidité et également de mortalité chez les patients atteints de MM.(**Hutchison et al., 2007**).

L'atteinte rénale est due à la production excessive de chaînes légères d'Ig monoclonales, réalisant deux types anatomocliniques de néphropathie: Atteinte tubulaire et atteinte glomérulaire.

Atteinte tubulaire :

La tubulopathie myélomateuse est la plus fréquente des atteintes rénales. Elle est directement liée à la présence de CLL dans les urines. Elle se manifeste par une insuffisance rénale aiguë. La tubulopathie myélomateuse est caractérisée par la précipitation de cylindres, formés de chaînes légères d'immunoglobulines, dans les tubules distaux (**Manier et al., 2011**).

Insuffisance médullaire

La prolifération plasmocytaire médullaire entraîne une raréfaction de l'hématopoïèse normale associant à des degrés divers anémie, thrombopénie, neutropénie.

L'absence de plasmocytes normaux, secondaire à l'envahissement tumoral médullaire, peut entraîner une baisse de la synthèse des Ig normales.

Manifestations neurologiques

L'atteinte neurologique majeure dans le myélome reste l'atteinte médullaire centrale, le plus souvent par compression liée à une fracture vertébrale mais aussi à une épidurite tumorale ou un plasmocytome. La symptomatologie d'apparition brutale se manifeste par un syndrome rachidien, un syndrome lésionnel avec radiculalgie et d'un syndrome sous-lésionnel.

Les atteintes du nerf périphérique ne sont pas à négliger.

Enfin il est possible d'observer des neuropathies périphériques d'origine métabolique dans le cadre d'une insuffisance rénale chronique.(**Manier et al., 2011**).

L'Amylose AL

La substance amyloïde est composée de chaînes légères d'Ig. Elle peut entraîner des lésions rénales isolées ou être diffuse, touchant la peau, le cœur, le tube digestif, la langue, les muscles, le système nerveux.(**Morlon, 2010**).

Le syndrome d'hyperviscosité

Le syndrome d'hyperviscosité survient lorsque le taux de l'IgM dans le sang est très important. Ce syndrome peut donc être observé dans le MM, plus particulièrement dans les MM à IgA, puisque ces molécules ont tendance à polymériser, ou dans les rares MM à IgM (pentamériques). Cependant, il s'agit d'un événement très rare dans le MM.

Il survient plus fréquemment dans la maladie de Waldenström, caractérisée par une très forte production d'IgM monoclonale. Cliniquement, l'hyperviscosité se manifeste par une asthénie, des étourdissements, des symptômes neurologiques, des troubles de la vision, des bourdonnements d'oreilles et des saignements muqueux.(Morlon,2010).

I.8. Diagnostic

Face à une suspicion d'une gammapathie monoclonale le diagnostic est confirmé à l'aide des différents examens :

Examens biologiques

Examen immunologique

□ Dosage pondéral des Ig sériques ou des chaînes légères sériques :

Il s'agit d'un dosage quantitatif spécifique des immunoglobulines G, A et M par néphélémétrie ou immunodiffusion radiale qui mesure la quantité d'immunoglobulines de même isotype.

Il ne permet pas de quantifier le composant monoclonal car il mesure la totalité des immunoglobulines de même classe, monoclonales et polyclonales (Frédérique R et al, 2010). Il évalue la présence ou non d'une diminution des autres classes d'immunoglobulines (observée dans 90% des cas) (Kyle et al, 2003).

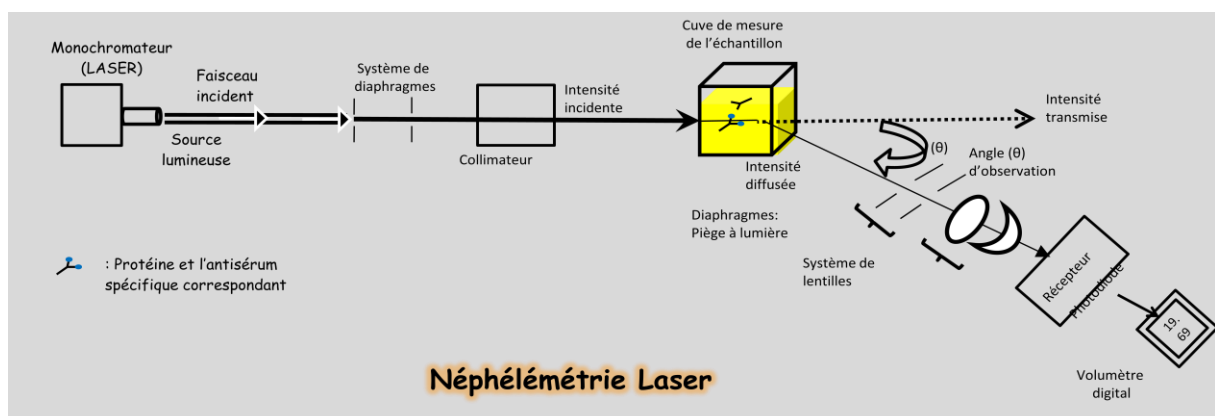


Figure 05: Principe de la néphélémétrie laser.

□ **Électrophorèse des protéines plasmatiques et urinaire :**

Afin d'affirmer la présence d'une Ig monoclonale sérique ou urinaire on doit procéder à l'électrophorèse des protéines où la bande homogène du composant monoclonal est identifiée. (Valérie, 2015).

C'est un examen biologique qui permet une appréciation quantitative des principales composantes protéiques du plasma. Les protéines sont analysées par migration dans un champ électrique et dépôt en fonction de leur poids et de leur charge électrique. (Cofer, 2012).

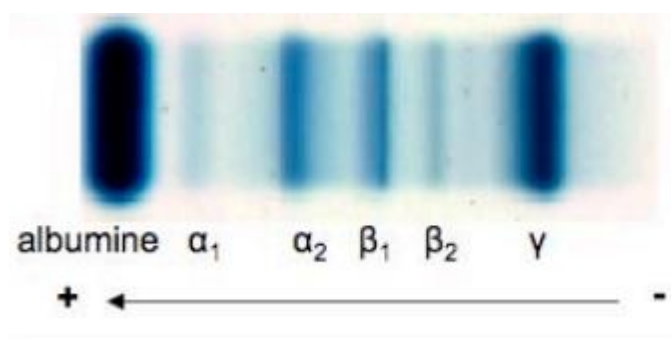


Figure 06 : Electrophorèses des protéines sur gel d'agarose.

Le profil électrophoretique présente différentes fractions protéiques, correspondant aux :

Albumine : C'est la fraction la plus importante (environ 60 %). Elle est homogène et pure (ne contient que l'albumine).

α_1 -globulines : Cette fraction représentant environ 3 % comprend notamment l' α_1 -antitrypsine et l'orosomucoïde (également appelé α_1 -glycoprotéine acide).

α_2 -globulines : L'haptoglobine, l' α_2 -macroglobuline et la céruléoplasmine font partie des α_2 -globulines (environ 10 % d'un protéinogramme).

β -globulines : La fraction des β -globulines (environ 11 %) contient la transferrine et la protéine C réactive. Une augmentation est observée lors d'un syndrome néphrotique. La formation d'un « pont » entre les fractions β et γ est typique d'une cirrhose hépatique.

γ -globulines : Représentant environ 17 %, la fraction γ comprend les immunoglobulines G, M, A, D et E. Une diminution marque une hypogammaglobulinémie ou un syndrome néphrotique. À l'inverse, une augmentation avec un pic étroit signale une gammopathie monoclonale.

□ Immunofixation des protéines sériques et urinaires

L'immunofixation est un test immunologique réalisé sur les protéines sériques ou urinaires. Elle confirme la bande homogène visualisée dans l'électrophorèse en déterminant l'isotype de la chaîne lourde (G, A, M, D, E, rare pour les deux derniers) et/ou de la chaîne légère (kappa ou lambda). (Amouzou, 2013).

Examen biochimique

□ Protéinurie des 24 heures

Dans 15 % des cas les plasmocytes ne sécrètent que des chaînes légères d'immunoglobuline et l'électrophorèse des protéines sérique ne décèle pas de pic mais une hypogammaglobulinémie portant sur les immunoglobulines polyclonales. On retrouve alors des chaînes légères dans les urines sous forme d'une protéinurie dite de Bence-Jones. On procède donc à la recherche des protéines sur les urines de 24 H. Il faut savoir que la protéinurie est mal détectée par les bandelettes réactives, en cas d'anomalie, elle est complétée, par une électrophorèse des protéines urinaires et immunofixation (recherche de la protéine de Bence-Jones) qui peut être, dans certains cas, le seul signe pathologique. Cette Ig peut-être complète:

IgG, IgA, IgM, (IgD, IgE exceptionnellement).

– incomplète, sous la forme :

- d'une chaîne légère kappa ou lambda (15 à 20 % des cas) ;
- de chaînes légères en excès (15 à 20 % des cas) dans les urines ;

– non sécrétée (très rare, < 1 % des cas) dans le cas de myélome non sécrétant. (Valérie, 2015).

Examen hématologique

Hémogramme : NFS et frottis sanguin :

L'hémogramme met en évidence une anémie normochrome, normocytaire, arégénérative et plus rarement une leucopénie et/ou une thrombopénie. Sur le frottis sanguin, on peut observer des hématies en rouleaux ou encore une plasmocytose discrète est possible. (Valérie, 2015).

□ Vitesse de Sédimentation (VS)

La VS est un examen très sensible mais peu spécifique qui est influencé par l'anémie ou encore un contexte inflammatoire ou infectieux. (Valérie, 2015).

I.9. Traitement

En l'absence de symptômes, l'indication de traitement n'est pas requise, une surveillance clinique biologique et radiologique tous les 3 à 6 mois doit cependant être mis en place.

La prise en charge thérapeutique se trouve être uniquement chez les patients présentant un myélome multiple symptomatique : c'est-à-dire avec atteinte de la fonction de certains organes (critères CRAB : l'hypercalcémie, l'insuffisance rénale, l'anémie et l'atteinte osseuse).

Le meilleur choix pour chaque patient va dépendre de facteurs individuels comme :

l'âge, le stade, les facteurs génétiques, la fonction rénale et l'acceptation du patient.

Les options thérapeutiques comprennent :

- ✓ la chimiothérapie d'induction
- ✓ , les traitements intensifs
- ✓ les traitements de support.

Depuis l'introduction en 1962 du melphalan, médicament historique dans le traitement du myélome, de nombreuses options thérapeutiques ont été utilisées. Les chimiothérapies conventionnelles les plus courantes furent l'association des corticoïdes et des produits alkylants. Le MP melphalan/prednisone fut la première combinaison pour le traitement initial du myélome. Puis des protocoles de chimiothérapie intensive ont été mise en place avec autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Désormais de nouveaux agents comme la thalidomide, le lénalidomide et le bortezomib permettent une nouvelle approche de la prise en charge du patient. **.(Valérie ,2015).**

▪ Chimiothérapie :

Elle doit être débutée uniquement chez les patients présentant un myélome multiple à IgM symptomatique c'est-à-dire avec atteinte de la fonction de certains organes (critères CRAB : l'hypercalcémie, l'insuffisance rénale, l'anémie et l'atteinte osseuse).

Cette chimiothérapie est utilisable aussi bien dans le cas d'une macroglobulinémie de Waldenström.

Les molécules les plus utilisées : incluent la dexaméthasone, la prednisone, le melphalan, le thalidomide, le lénalidomide et le bortezomib.

- **Autogreffe de cellules souches sanguines**

La procédure d'autogreffe permet d'administrer une chimiothérapie à doses beaucoup plus fortes. Pour cette autogreffe les cellules souches sont recueillies au cours d'une cytophérèse avant la chimiothérapie intensive puis sont congelées et sont réinjectées une fois le traitement intensif terminé.

- **Traitement symptomatique :**

Le myélome multiple à IgMs'accompagne de symptômes et de complications fréquentes dont certaines nécessitent une prise en charge en urgence.

D'autres structures de soins peuvent être impliquées dans la prise en charge des traitements symptomatiques : service de soins de suite et de réadaptation (SSR), hospitalisation à domicile (HAD), réseau de santé, consultation antidouleur, avec des prestataires de services (nutrition, matériel médical), services et/ou unités mobiles de soins palliatifs.(**Guislain, 2011**).

La maladie reste à l'heure actuelle incurable mais les progrès thérapeutiques ont permis d'allonger l'espérance de vie de 3 à plus de 6 ans.

L'apparition de nouveaux agents tels que l'inhibiteur du protéasome bortézomib et les immuno-modulateurs thalidomide et lénalidomide constitue un réel progrès dans la prise en charge du myélome multiple à IgM.

Il n'y a pas de traitement pour la MW. Les patients au stade asymptomatique sont simplement surveillés. Les traitements pour les patients symptomatiques dépendent de plusieurs facteurs (âge, progression de la maladie) et peuvent inclure des agents alkylants, des analogues des nucléosides purines (PNA), le rituximab (RT) et le bortézomib. Le traitement initial fait appel au RT. Le RT associé à la cyclophosphamide, la doxorubicine, la vincristine et la prednisone (R-CHOP), ou la combinaison de la dexaméthasone, du RT et de la cyclophosphamide (DRC), ou le bortézomib sont utilisés lorsqu'un contrôle rapide de la maladie est nécessaire, ou pour les patients candidats à une transplantation autologue de cellules souches (ASCT). Pour les patients ayant une cytopénie sévère, les thérapies DRC ou RT sont préférables. Des traitements de rattrapage peuvent impliquer l'utilisation des agents initiaux ou d'agents d'une classe différente, seuls ou combinés. Un régime basé sur les PNA ou une ASCT peut parfois convenir comme option de traitement de rattrapage.

Le temps de survie médian est de 5 à 6 ans après le début du traitement, mais la MW peut se stabiliser ou progresser lentement pendant plusieurs années avant de nécessiter un traitement.(**Véronique , 2015**)

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel biologique

Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie de l'hôpital central de l'armée « HCA Mohamed Saghir Nekkache , Ain Naaja », sur une période de quatre mois allant du mois de **Février** au mois de **Mai** 2015.

Le travail porte sur 60 patients et comporte deux études : une étude rétrospective allant du Janvier 2006 au Aout 2014, et une étude prospective allant du Février 2015 au mois de Mai 2015.

Les échantillons de sang reçus de différents services de l'HCA sont prélevés dans des tubes secs (sans anticoagulant). Parmi les 60 patients, 19 patients avaient un diagnostic établi, Pour le sérum témoin, nous avons utilisé un pool de sérums de sujets sains préalablement testés en électrophorèse et par néphélométrie.

Les sérums obtenus après centrifugation à 3000 tours/minute pendant 4 minutes sont conservés à +4°C pour une analyse ultérieure .Les sérums sont obligatoirement accompagnés des urines de 24h.

1.1.2. Matériel non biologique

- Automate de type SAS-3 SAS-4.
- Néphélomètre laser.
- Spectrophotomètre de type BioTek.

1.2. Méthodes

1.2.1. Analyse quantitative

○ Dosage des protéines sériques par néphélométrie laser

C'est une technique d'immunoprécipitation en milieu liquide. Lorsqu'on met dans la cuve de mesure une protéine et l'antisérum spécifique correspondant, et, dans certaines conditions opératoires (milieu réactionnel, nature et concentration des réactifs...), l'intensité des rayons dispersés est proportionnelle à la quantité de complexes immuns(Ag/Ac) formés.

Cette proportionnalité permet de quantifier les protéines et ce, à partir d'une courbe d'étalonnage établie grâce à une série de standards de concentrations connues.



Figure 07 : Représentation de la néphélémètre laser

○ **Dosage des protéines urinaires par la technique de Bradford (Protéinurie)**

Il s'agit d'un dosage colorimétrique décrit par Bradford , en utilisant le colorant de bleu de coomassie (colorant photosensible). Cette technique colorimétrique permet de quantifier les protéines dans les urines à l'aide d'un spectrophotomètre avec une absorbance de 630 nm. Les concentrations protéiques sont extrapolées à partir d'une courbe standard d'albumine.

Réalisation d'une courbe d'étalonnage

Une gamme étalon réalisée à partir de concentrations croissantes (0.2- 0,26 - 0,54 – 1,05g/l .)

Mode opératoire

- Déposer en duplicate 10 μ l les étalons en ordre croissant .
- Déposer dans les autres puits en duplicate 10 μ l d'échantillons urinaires .
- Ajouter un volume de 200 μ l du colorant de bleu de coomassie dans tout les puits.



Figure08 :Spectrophotomètre.

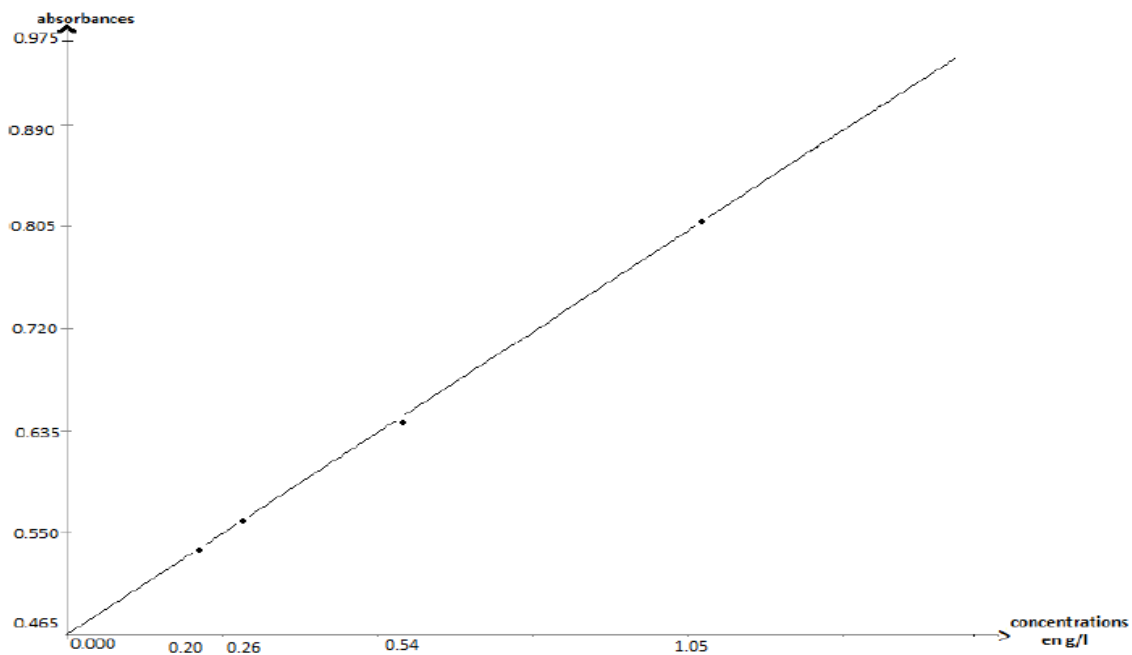


Figure 09: Représentation de la courbe d'étalonnage

1.2.2. Analyse semi quantitative

➤ Electrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose par SAS3/SAS4

Electrophorèse des protéines sériques est une technique immunologique, qui consiste à révéler dans le sérum la présence d'un composant monoclonal suite à la migration et la séparation des protéines sériques.

La recherche d'une immunoglobuline monoclonale se réalise et s'analyse sur le film de migration des protéines sériques.

Sur le tracé de migration des protéines sériques, l'immunoglobuline monoclonale s'objective par une bande étroite visible dans la zone des gammaglobulines, sauf pour les IgA monoclonales qui ont tendance à migrer dans une zone proche des béta 2-globulines.

La technique de l'Electrophorèse est réalisée sur un automate appelé : SAS3.

Le kit SAS3 est composé de deux compartiments, compartiment échantillons et compartiment migration.

L'électrophorèse par le SAS 3 permet la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (PH=9.9) sur un gel d'agarose prêt à l'emploi « Electrophoresis Gel ».

Le kit SAS 3 sépare les protéines sériques selon leur charge moléculaire en gel d'agarose.

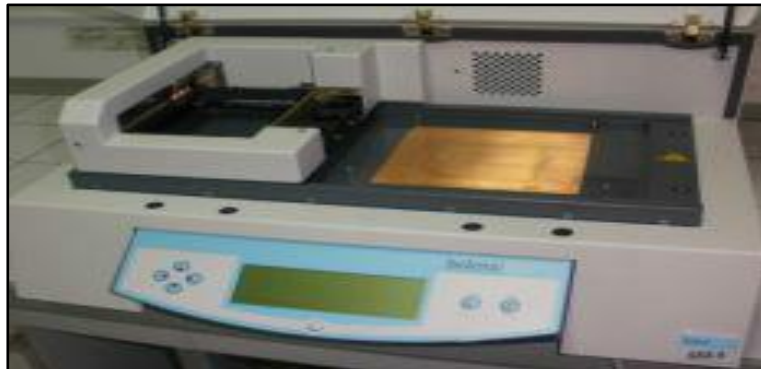


Figure 10 : Le kit SAS3 de l'électrophorèse

Mode opératoire

- Mise en marche de l'automate pour stabiliser la température de migration (20°C).
- Sur une barrette porte échantillon numérotés de 1 à 24, on dépose 35µl du témoin pool dans les puits (1 et 13) .
- On dépose 35 µl du sérum dans les autres puits
- Placer la barrette des échantillons sur le support correspondant.
- Mettre le support des échantillons sur sa place dans le compartiment échantillons.
- Mise des applicateurs dans les positions A et 10 , s'assurer qu'il est solidement mis en place .
- Étaler 200µl du REP PREP sur la surface de migration (compartiment migration).
- Placer le gel et effectuer l'absorption d'humidité de sa surface, à l'aide d'un papier Buvard C.
- Fermeture du capot et lancement de l'électrophorèse sérique.
 - o Prélèvement des sérums (durée 30 seconds).
 - o Dépôt (durée 30 seconds)
 - o Migration (durée 23 minutes à 100 volts).
- Après migration, les ponts d'agarose sont retirés à l'aide d'une raclette.
- Séchage 8 minutes à 54°C.
- La coloration se fait manuellement en trois étapes :
 - ✓ 1ere : coloration avec le Bleu Acide pendant 4 minutes
 - ✓ 2eme : première décoloration avec une solution de décoloration pendant 2 minutes.

- ✓ 3eme : deuxième décoloration avec la même solution pendant 2 minutes.

➤ **Electrophorèse des protéines urinaires sur gel d'agarose par SAS3/SAS4**

Les protéines urinaires sont principalement dérivées de la filtration des protéines plasmatiques par le rein. L'apparition de protéines plasmatiques anormales dans les urines est d'une grande valeur dans l'évaluation de la fonction rénale.

La présence des Immunoglobulines ou des fragments des immunoglobulines dans les urines reflète l'état d'avancement de la maladie, et ces protéines sont appelées : Protéinurie de Bence Jones

PBJ.

Mode opératoire

Le même mode opératoire que celui de l'électrophorèse des protéines sériques. La coloration est réalisée avec le bleu acide.

1.2.3. Analyse qualitative

➤ **Immunofixation des protéines sériques**

Principe

La population d'Ig monoclonale ne possède qu'un seul type de chaîne lourde et un seul type de chaîne légère. Cette identité structurale est à la base du typage immunochimique par immunofixation.

L'immunofixation est réalisée sur un gel d'agarose « electrophoresisGel ». Après migration des protéines, une immunofixation est réalisée à l'aide d'antisérums monospécifiques : anti IgG, anti IgA, anti IgM, anti kappa, anti lambda.

L'immunofixation est visualisée sous forme de bande homogène.

Mode opératoire

- D'abord les sérums sont dilués en deux dilutions, la 1ere dilution en 1/3 (20µl du sérum + 40µl de diluant) et la 2eme dilution en 1/5 (40µl du sérum + 160 µl de diluant)
- Sur une barrette, on utilise 6 puits pour chaque patient, dont, on dépose dans le 1^{er} puits « SP » 35µl du sérum dilué en 1/3, et dans les 5 autres puits (G, A, M, κ, λ) on dépose 35µl du sérum dilué en 1/5.
- Mise en marche de l'automate pour stabiliser la température de migration (20°C).
- Mettre le support de l'échantillon sur sa place dans le compartiment échantillons.
- Mettre les applicateurs dans les positions A, 10.
- Etaler 400 µl de REP PREP sur la surface de migration (compartiment migration).

- Placer le gel et effectuer l'absorption d'humidité de sa surface à l'aide d'un papier Buvard C.
- Fermeture du capot et lancement de l'immunofixation sérique.
 - o Prélèvement des sérums (durée 30 seconds).
 - o Dépôt durée (30 secondes).
 - o Migration (durée 17 minutes à 150 volts).
- Mettre un masque des anti-sérums sur le gel.
- Un volume de 53µl de chaque antisérum est déposé dans le sillon correspondant G, A, M, K et L, et dans le SP on met 53µl d'un « antisérum total ».
- Incubation pendant 10 minutes à 21°C.
- Retirer l'excès des antisérums en utilisant le Buvard peigne pendant 2 minutes à 21°C.
- Séchage buvard D pendant 5 minutes à 40°C.
- les ponts d'agarose sont retirés.
- Séchage pendant 8 minutes à 54°C.
- La coloration se fait en trois étapes :
- 1ere : mettre le gel dans une solution de lavage pendant quelque secondes, puis, une deuxième fois pendant 10 minutes
- 2eme : mettre le gel dans un colorant « violet acide » pendant 4 minutes
- 3eme : mettre le gel dans un décolorant pendant 2 minutes, puis, on change le décolorant mais en utilisant la même solution, et on laisse le gel pendant 2 minutes.

➤ Immunofixation avec le réducteur β -mercaptoéthanol

1- Principe :

Le réducteur β -mercapto-éthanol est un composé chimique. À la température ordinaire, c'est un liquide à l'odeur nauséabonde. La présence de la fonction thiol -SH fait du β -mercaptoéthanol un réducteur très utilisé en biochimie pour réduire les ponts disulfures présents dans les protéines.

Il joue un rôle très important dans la distinction entre une macroglobulinémie de Waldenström et un myélome multiple à IgM dans une immunofixation sérique.

Cette technique est réalisée en deux étapes :

2- Dilution

Avant d'utiliser le réducteur β -mercaptoéthanol, il faut d'abord faire une dilution.

A l'aide d'une micropipette, on prélève une quantité de 10µl de β -mercaptoéthanol pur, et on la mélange avec 90µl d'eau distillée, pour obtenir une solution diluée à un dixième.

3- L'immunofixation

- On mélange 05µl du β-mercaptoéthanol dilué avec 50 µl du sérum du patient.
- on laisse le mélange dans un réfrigérateur pendant 10 minutes à 37°.

On réalise une immunofixation normale, dont :

- sur une barrette, on utilise 05 puits, dont on dépose dans le 1^{er} puits « SP » 35µl du sérum dilué en 1/3, dans le 2^{eme} et 3^{eme} puits on dépose 35µl du sérum dilué en 1/5 et dans le 4^{eme} et 5^{eme} puits, on dépose 35µl du mélange (5µl du β-mercaptoéthanol + 50 µl du sérum).

Ensuite, on suit les mêmes étapes de l'immunofixation sérique, jusqu'à la mise des antisérums :

- on rajoute un volume de 53µl de l'antisérum anti IgM dans le 2^{eme} et 4^{eme} puits, et 53µl de l'antisérum anti λ dans le 3^{eme} et 5^{eme} puits.

Puis on poursuit la technique (voir la technique d'immunofixation sérique).

➤ Immunofixation des protéines urinaire

Principe

L'immunofixation urinaire sert à typer la protéine de Bence Jones présente dans les urines.

L'immunofixation est réalisée sur un gel d'agarose « electrophoresis Gel ». Après migration des protéines, une immunofixation est réalisée à l'aide d'antisérums monospécifiques : anti GAM, anti Kappa, anti Lambda, anti free kappa, anti free lambda.

Mode opératoire

Le même mode opératoire que celui de l'immunofixation sérique en utilisant des échantillons urinaires, la coloration est faite avec le violet acide au niveau du SAS-4.

RESULTATS ET DISCUSSION

Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie de l'hôpital central de l'armée « HCA Mohamed Saghir Nekkache , Ain Naaja », sur une période de quatre mois allant du mois de **Février** au mois de **Mai** 2015.

Le travail porte sur 60 patients et comporte deux études : une étude rétrospective allant du **Janvier 2006** au **Aout 2014**, dont 41 patients sont admis pour une suspicion de gammopathie monoclonale, et une étude prospective allant du **Février 2015** au mois de **Mai 2015** comporte 19 patients ayant un diagnostic avéré dont 14 sont de Waldenström et 05 de myélome multiple à IgM.

Nous avons également introduit dans cette étude, un témoin pool correspondant à un effectif de 30 sujets sains.

❖ 1. Caractéristiques de la population :

1.1: Répartition à l'admission :

Parmi les soixante patients recrutés, 37% étaient hospitalisés au service de rhumatologie. Les patients provenant du service d'hématologie correspondent à un taux de 35%. 20% et 8% des patients restant proviennent respectivement des services infectieux et de gastrologie (Figure 11).

Nous observons que le signe clinique le plus prédominant est les douleurs osseuses.

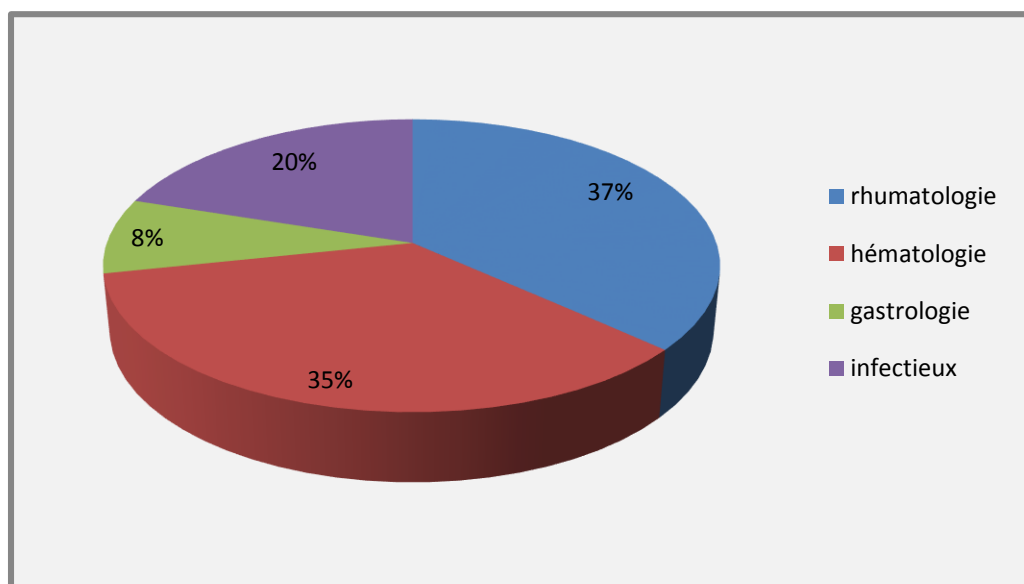


Figure11 : Répartition des patients selon les services d'admission

1.2:Description de la population selon l'âge

L'âge des patients de notre série varie entre 27 ans et 87 ans, avec un âge moyen de 57 ans. Cette répartition montre deux tranches qui prédominent, dont l'une est comprise entre 70 - 80 ans représente la tranche la plus touchée (35 %). Cependant 60 et 70 ans(20%), (Figure12).

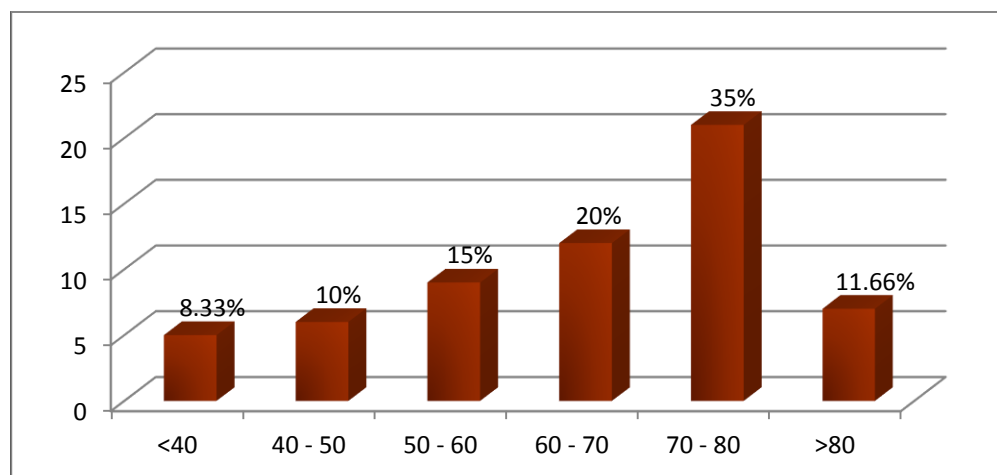


Figure12 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

1.3 : Description de la population selon le sexe:

Le sexe ratio(H/F) est de 1,83. Ainsi, la distribution des patients étudiés montre une prédominance masculine avec un taux de 65% (Figure13).

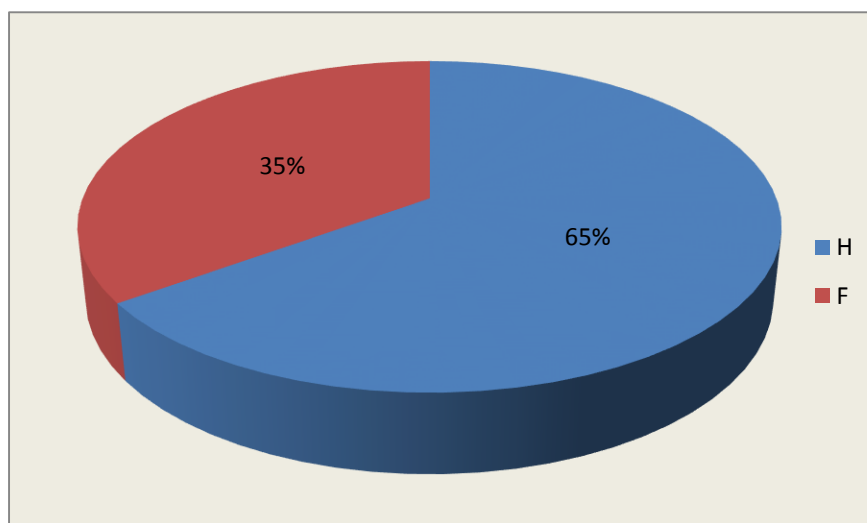


Figure 13 : Répartition des patients selon le sexe

❖ 2. Résultats de l'analyse quantitative :**2.1 : Résultats du dosage des protéines urinaires par la technique de Bradford :**

Le dosage des protéines urinaires par la technique de Bradford, a été réalisé chez les soixante patients ainsi que le témoin pool. Les résultats obtenus sont représentés dans l'annexe N°6.

La protéinurie retrouvée chez le témoin pool est négative ; $< 0,25$ g/l.

Les résultats de la protéinurie chez les patients étudiés montrent une positivité chez 11,66% (N=10) avec des concentrations comprises entre 0,28 – 7,5g/l. Vu l'obtention de ces résultats, une recherche de la protéine de Bence Jones est indispensable par les deux techniques ; électrophorèse et immunofixation urinaire.

Cependant, un résultat négatif en protéine est retrouvé chez 88,34% des patients étudiés.

2.2: Résultats du dosage pondéral par néphélométrie laser :

Le dosage pondéral par néphélométrie laser, a été réalisé chez les soixante patients ainsi que le témoin pool. Les résultats obtenus sont représentés dans l'annexe (tableau N°3).

Les résultats obtenus du dosage des immunoglobulines, albumine et CRP chez le témoin pool ont montré des valeurs normales (tableau N° 03).

Pour une meilleure illustration des résultats, nous avons subdivisé notre population en 2 groupes, selon la présence de l'immunoglobuline IgM dans le sérum et les urines des patients:

- **Groupe 01 : N=24**

Les résultats de la néphélométrie ont montré que 24 sur 60 patients ont présenté un taux élevé en immunoglobuline M, où les valeurs sont comprises entre 4.48- 87.5 g/l, en comparaison avec les valeurs normales : 0,5 - 3,7 g/l. Parallèlement, le rapport des chaînes légères κ/λ (0.02- 9.93) pour ces mêmes patients montre un déséquilibre, traduisant probablement la présence d'un composant monoclonal. Les taux du ratio montrent un pourcentage de 66,66% et 33,33% pour les chaînes légères Kappa et Lambda respectivement.

En comparaison avec les valeurs normales des IgG et IgA respectives : 7-18 g/l et 0,8-3,5 g/l, les concentrations sont revenues normales pour ces patients.

Par rapport aux normes (37 – 53g/l), Les valeurs obtenues de l'albumine sérique montrent une hypoalbuminémie avec des taux compris entre 9,54 et 32,2 g/l chez 10 patients.

De ces résultats, nous avons constaté une hypoalbuminémie marquée chez 02 patients

(N° 04 et N° 35) avec des taux respectifs de 9,54 et 18,3 g/l.

Le reste des patients (N= 14)est caractérisé par un taux normal d'albumine.La néphélométrie laser nous a également permis de doser la CRP qui a montré une augmentation chez 19 patients seulement, avec des valeurs comprises entre 6- 168 mg/l.

- **Groupe 02 : N=36**

Dans ce groupe, aucune augmentation du taux de l'immunoglobuline M n'a été retrouvée. Cependant, nous avons observé une hypergammaglobulinémie chez 12 patients, touchant les deux classes G et A,avec des taux compris entre 20,2 et 66,83 g/l, et 10,92 - 52,3 g/l respectivement (tableau N° 03). En comparaison avec les valeurs normales, le reste des patients (N=23) a présenté des concentrations normales de l'ensemble des immunoglobulines(voir annexe).Le rapport k/λ obtenu chez ces 35 patients a révélé un taux normal compris entre 1.01 et 1.45.

Cependant, le patient N°= 15 de ce groupe est caractérisé par hypogammaglobulinémie très marquée, touchant les trois classes d'immunoglobulines G, A et Mavec des taux respectifs de 3,5 ;0,7 et 0,09 g/l, associée à un rapport k/λ perturbé de 0,88.Ce dernier marque la présence probable d'une malignité.

3. Résultats de l'analyse semi quantitative :

3.1 :Résultats de l'électrophorèse des protéines sériques :

Nous avons effectué une électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose par l'automate SAS -3 ; SAS-4, chez les 60 patients ainsi que chez le témoin pool.

Les résultats de l'électrophorèse ont montré un profil protéique d'allure normale chez le témoin pool (figure14).

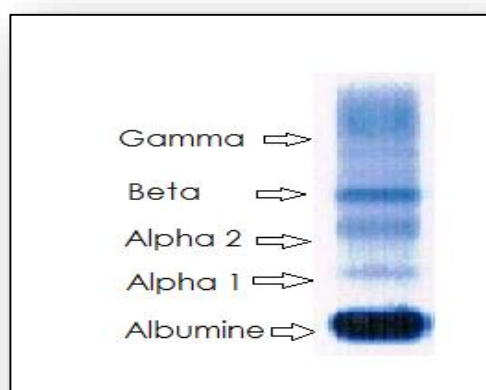
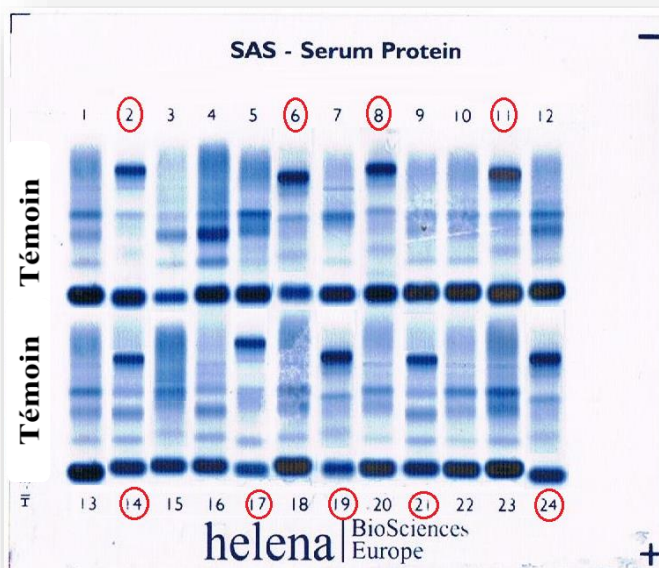


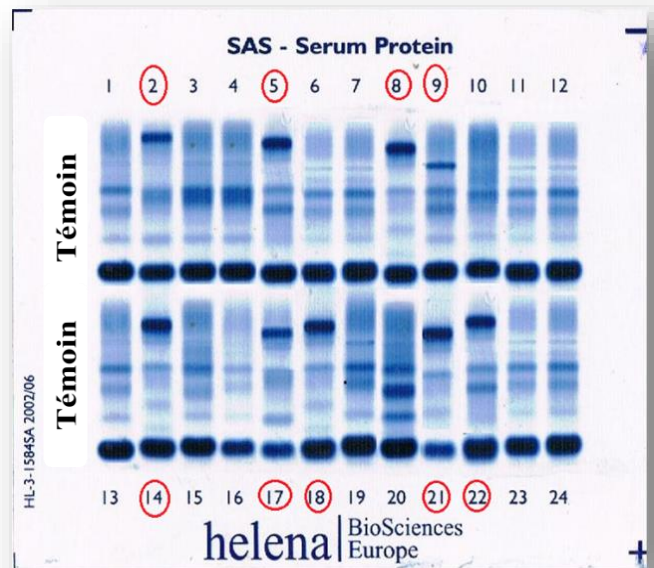
Figure 14: Résultats de l'électrophorèse des protéines sériqueschez le témoin pool.

• Groupe 01 : N=24 :

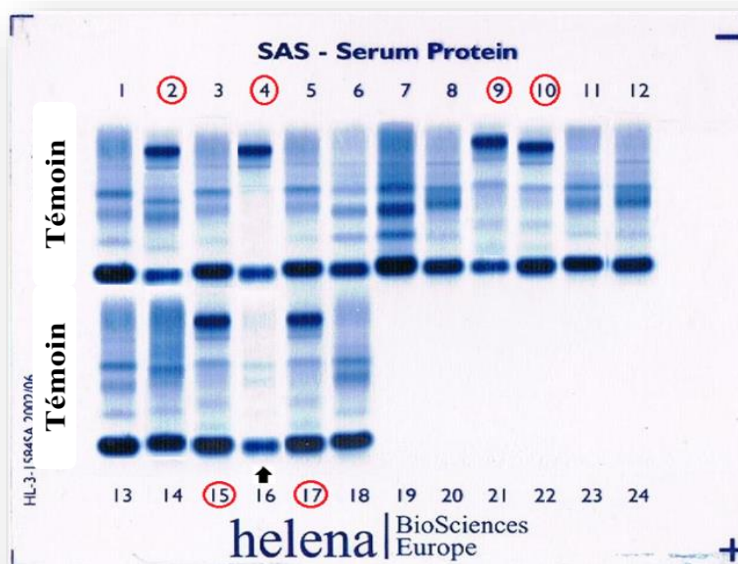
Les résultats de la technique de l'électrophorèse ont montré la présence d'une bande homogène dans la zone des gammaglobulines. Cette homogénéité traduit la présence d'un composant monoclonal dans le sérum de ces patients (figure 15). Ainsi, ces patients nécessitent un immunotypage par immunofixation sérique dans le but d'identifier la classe du CM.



Gel N°1



Gel N°2



Gel N°3

Figure 15: Représentation des résultats de l'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose, par SAS3/SAS4.

- **Groupe 02 : N=36**

Chez les patients de ce groupe, aucune bande homogène n'a été observée, traduisant ainsi l'absence d'un composant monoclonal.

Cependant, 12 patients ont présenté un profil protéique révélant une forte densité de la coloration au niveau de la zone des gammaglobulines. Cette dernière traduit une hypergammaglobulinémie (figure 15). Ces résultats rejoignent ceux du dosage par néphélométrie laser.

Deux patients N°=4 (gel n°1) et N°=7 (gel n°3) ont montré une hyperaugmentation touchant les immunoglobulines ainsi que les protéines Alpha et Béta. Ceci traduit la présence d'une réaction inflammatoire chronique évolutive.

Les autres patients (N=10) sont caractérisés par une augmentation des immunoglobulines, reflétant une réaction inflammatoire chronique.

Dans ce groupe, nous avons également constaté chez le patient N°=16 (gel N°3) ; un profil protéique d'allure anormal montrant une hypogammaglobulinémie très marquée.

Ceci est reflété par la faible densité de coloration au niveau de la zone gamma. Les fractions protéiques α et β ainsi que l'albumine sont nettement diminuées.

- ❖ **Résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires :**

Les résultats obtenus par l'électrophorèse des protéines urinaires, montrent un profil protéique urinaire d'allure normal chez 50 patients (88.33%). Les patients N°3, 32 et 55 (figure 16), sont caractérisés par un profil électrophoretique montrant la présence de protéines urinaires. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par la technique de Bradford.

Cependant, nous avons observé une bande homogène dans la zone des gammaglobulines chez 07 patients, soit 11.66%, ce qui indique la présence probable de la protéine de Bence Jones (figure 16). Ainsi, il est nécessaire de compléter par la technique d'identification de l'isotype de la chaîne légère par IFX urinaire.

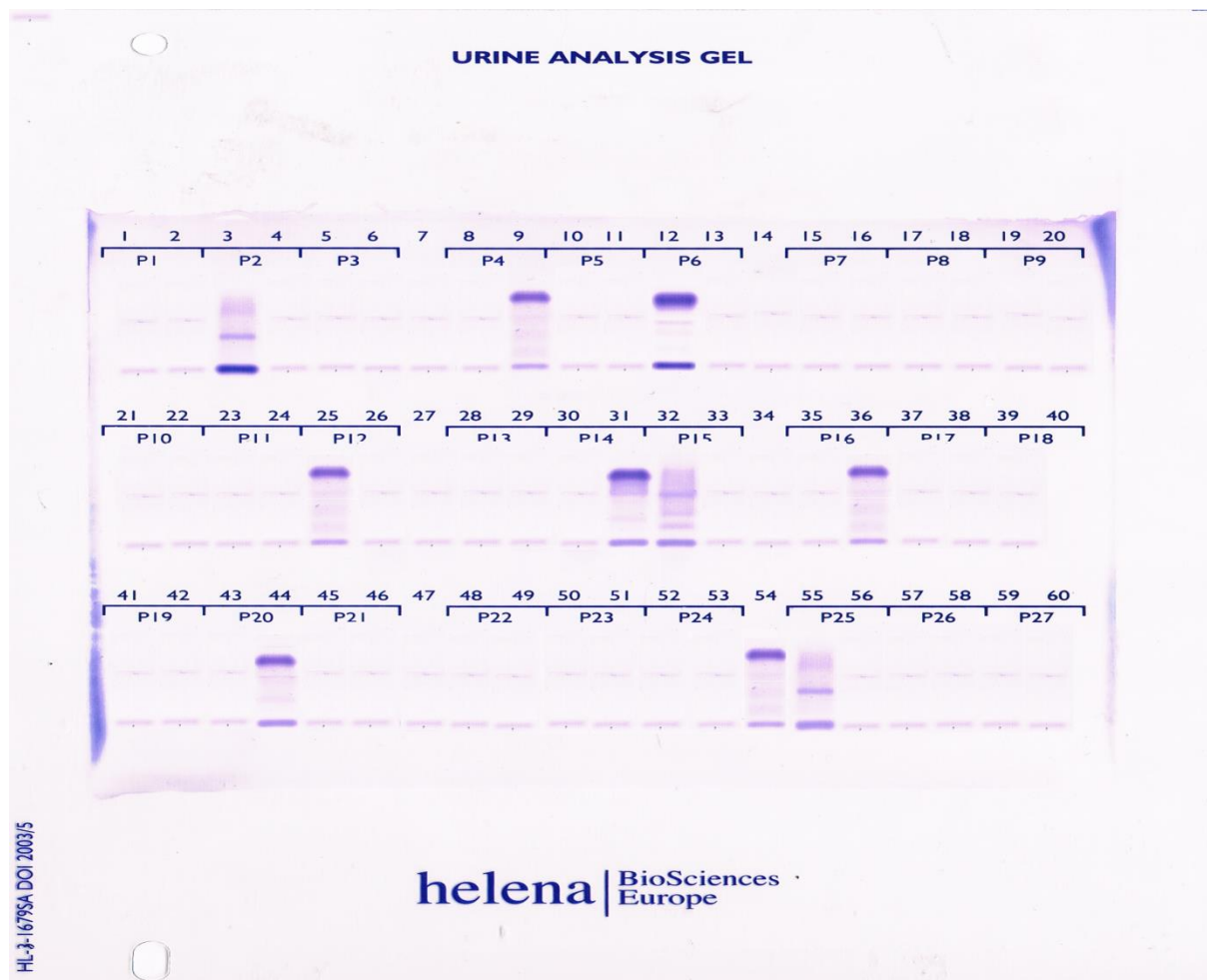


Figure 16 :Représentation des résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires sur gel d'agarose par SAS3/SAS4.

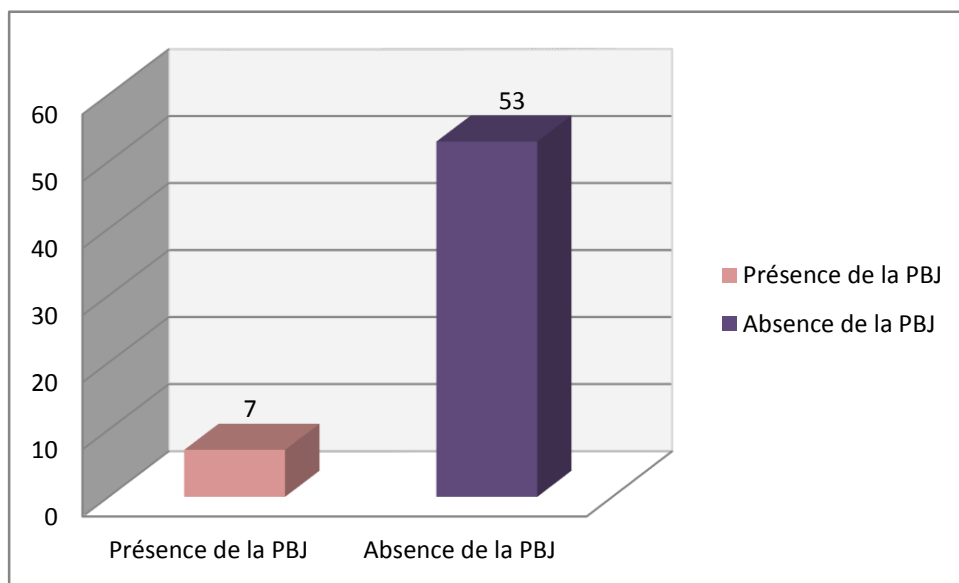


Figure 17 : Résultats de la protéine de Bence Jones

❖ 4 : Résultats de l'analyse qualitative

4.1 : Immunofixation des protéines sériques

L'immunotypage sur gel d'agarose, en présence d'antisérums Anti-G,A,M,k,λ , nous a permis d'identifier la bande homogène retrouvée par électrophorèse sérique (figure 18).

L'immunofixation est réalisée chez 05 patients hospitalisé pour une suspicion de gammopathi monoclonale , ayant présenté des résultats positifs en néphélométrie laser et en électrophorèse des protéines sériques, en comparaison avec le témoin pool.

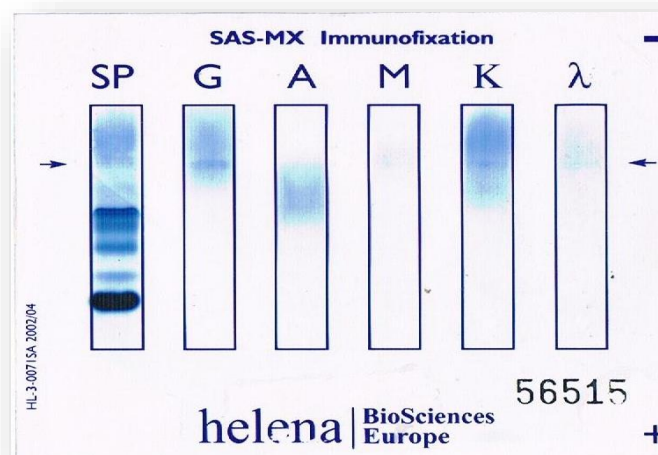


Figure18 :Immunofixation des protéines sériques du témoin pool .

La figure N°18 représente les résultats négatifs de l'immunofixation chez le témoin pool, révélant un aspect hétérogène des protéines en présence d'antisérums.

Les résultats obtenus montrent la présence d'un composant monoclonale de classe IgM. Chez les 05 patients étudiés, à chaînes légères k et λ avec des pourcentages respectifs de 60% et 40%.

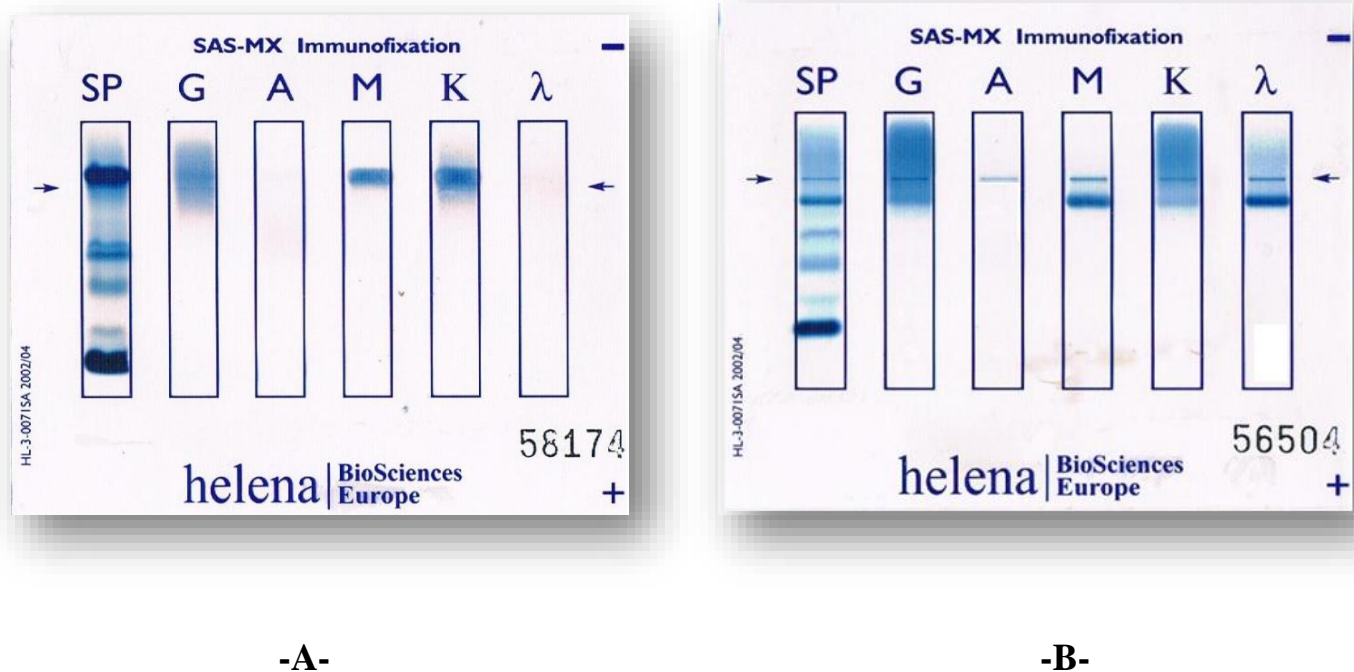


Figure 19 : Résultats de l'immunofixation des protéines sériques des sujets atteints (N=5)

A : Présence d'une immunoglobuline monoclonale de classe IgM à chaîne légère kappa.

B : Présence d'une immunoglobuline monoclonale de classe IgM à chaîne légère lambda.

L'immunoglobuline monoclonale de classe IgM peut être présentée dans les deux cas cliniques : maladie de Waldenström et de Kahler.

Afin de pouvoir confirmer le diagnostic, nous avons eu recours au paramètre physico-chimique de l'immunoglobuline qui est la vitesse de sédimentation. En effet, l'IgM dans le Waldenström est marqué par une VS de 19 (19S) et de 7S dans le cas du myélome multiple.

Pour cela, nous avons utilisé le test de β -mercapto éthanol.

Les résultats ont permis de confirmer une IgM 19S chez 03 patients, (N=2, 10, 17) et une IgM 7S chez 02 patients (N=4, 9), (gel N°3) (figure 15).

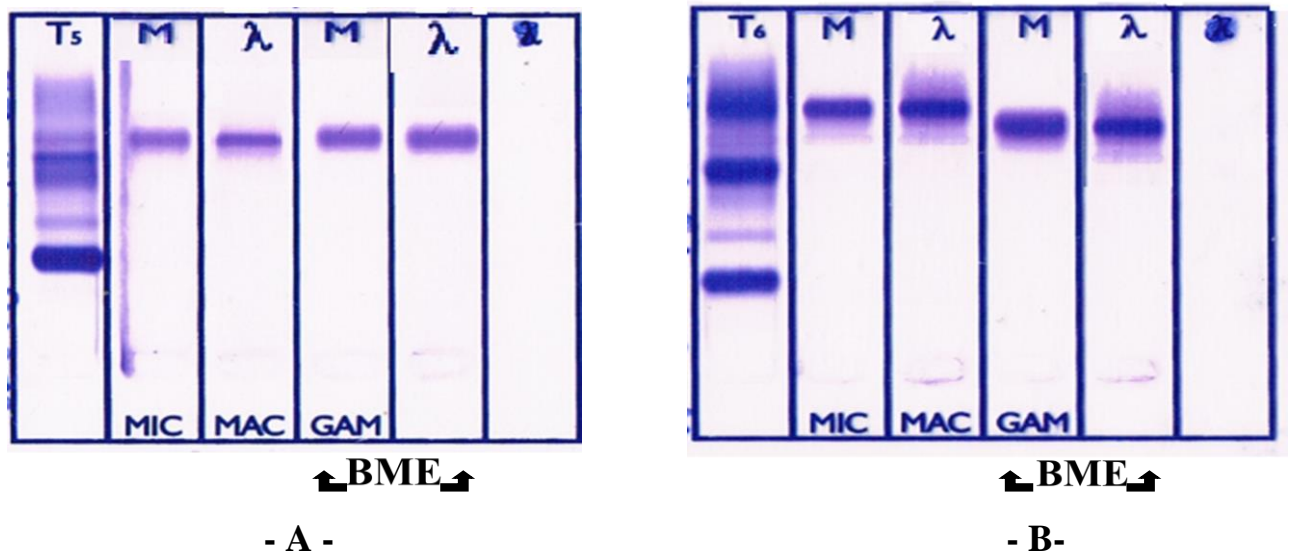


Figure 20: Résultats du traitement des sérums par le réducteur β -mercapto éthanol.

A: Composant monoclonal de type IgM à 19S (MW) chez le patient n°2,

B : Composant monoclonal de type IgM à 7S (MM) chez le patient n°9.

4.2 : Immunofixation des protéines urinaires

L'immunofixation des protéines urinaires est réalisée chez le témoin pool et les 7 patients qui ont présenté une bande homogène par électrophorèse urinaire (Figure 21).

L'immunofixation urinaire réalisée chez le témoin pool est revenue négative (absence de protéine de Bence Jones).

Les résultats de l'immunofixation des protéines urinaires obtenues chez les 7 patients montrent la présence d'une protéine de Bence Jones d'isotype k et λ avec des taux respectifs de 71.42 % et 28.58%.

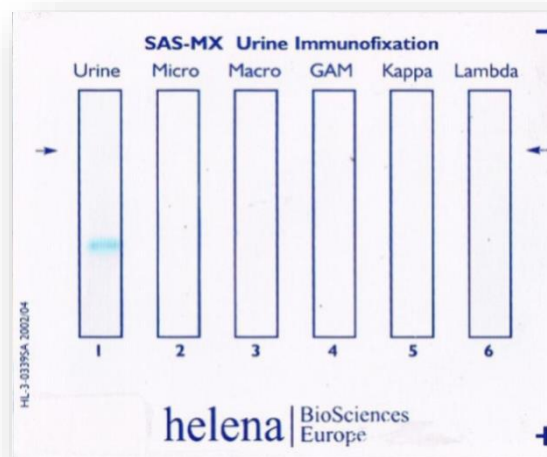
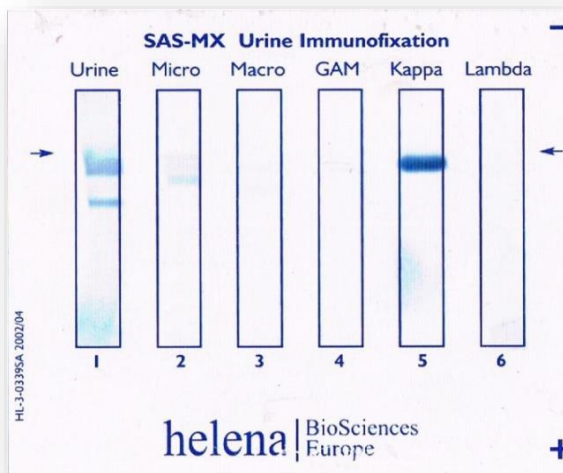
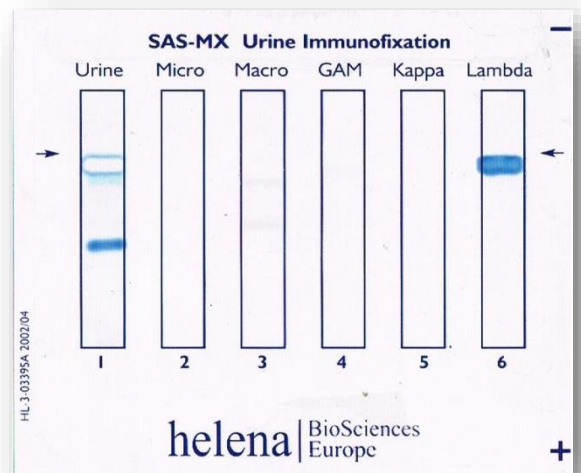


Figure 21 : immunofixation des protéines urinaires d'un témoin pool.



A



B

Figure 22: immunofixation des protéines urinaires des sujets malades,

A : Protéine de Bence Jones d'isotype kappa,

B : Protéine de Bence Jones d'isotype lambda.

5 .Discussion

Les données obtenues dans notre population concernant l'âge ,sont concordantes avec celles de la littérature , où la médiane d'âge est de 60 ans dans la majorité des études publiées avec une tranche d'âge prédominante comprise entre 70-80 ans selon les séries de Kyle et ses collaborateurs (2003) et Jean-Baptiste et ses collaborateurs (2012).

Dans la population étudiée, les patients âgés de plus de 80 ans représentent un taux de 11.66%. Le pourcentage est en corrélation avec celui retrouvé dans les études de Kyle et ses collaborateurs (2003).

Dans cette étude, nous avons constaté que la population masculine est nettement supérieure à la population féminine, ce qui concorde avec les données de la littérature. En effet la majorité des études s'accordent sur le fait que le MM et la MW sont plus fréquents chez les hommes que chez les femmes avec un sexe ratio de 1.5 (*Greipp et al.,2005 ; Kyle et al.,2003*).

Dans un premier temps, nous avons effectué une analyse quantitative portée sur le dosage de la protéinurie et le dosage des immunoglobulines (G,A et M), κ/λ , CRP et albumine respectivement par les deux techniques ; technique de Bradford et néphélométrie laser.

Les résultats de la protéinurie par le dosage colorimétrique de Bradford montrent une valeur négative chez le témoin pool (< 0.25 g/l).

Le taux de positivité en protéinurie est de 11.66% chez les patients étudiés (N=10), traduisant d'une part, probablement la présence d'une protéinurie de Bence Jones d'où la nécessité de rechercher cette dernière par électrophorèse urinaire et d'autre part, une atteinte tubulaire.

Nos résultats sont proches de celles de *Dispenzieri Angela, et de Robert Kyle*, qui ont trouvé une protéinurie positive chez 10% des malades de leur série.

Pour une meilleure illustration des résultats, nous avons subdivisé notre population en deux groupes.

En comparaison avec la valeur normale : $0.5 - 3.7$ g/l, les patients du 1^{er} groupe (N=24) ont présenté une augmentation de la concentration de l'IgM allant de 4.48 à 87.5 g/l, associée à un rapport κ/λ perturbé, dont les valeurs sont comprises entre $0.02 - 9.93$. Les taux du ratio montrent un pourcentage de 66.66% et 33.33% pour les chaînes légères kappa et lambda respectivement.

Ces résultats traduisent probablement la présence d'une IgM monoclonale. De plus, ces patients sont caractérisés par des signes cliniques évocateurs d'une gammopathie monoclonale maligne tels que ; fracture, ostéoporose, VS élevée et anémie, comme certains d'entre eux ont présenté une splénomégalie, caractérisant une macroglobulinémie de Waldenström.

Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté la présence d'une IgM monoclonale aussi bien dans la maladie de Kahler que dans la Macroglobulinémie de Waldenström. **(Roger Owen et Steven Treon, 2003 ; Dimopoulos et al, 2009).**

En comparaison avec les valeurs normales respectives d'IgG et d'IgA : 7-18 g/l et 0.8 – 3.5 g/l, les concentrations obtenues en ces deux immunoglobulines sont revenues normales dans ce groupe n°01. Ces résultats reflètent une production normale des immunoglobulines polyclonales.

Les valeurs de l'albumine sérique obtenues montrent une hypoalbuminémie avec des taux compris entre 9.54 et 32.2 g/l chez 10 patients et ce, en comparaison avec les valeurs normales : 35 - 53 g/l. Une hypoalbuminémie marquée est retrouvée chez deux patients (n°02 et n°16) avec des taux respectifs de 9.54 et 18.3 g/l. cette hypoalbuminémie, un des critères de classification des gammopathies, pourrait refléter une insuffisance rénale. **(Kyle et al, 2003).**

Cependant, le reste des patients (N=14) est caractérisé par une concentration normale d'albumine.

Nous avons également dosé une protéine de l'inflammation non spécifique qui est la CRP.

Les résultats montrent une augmentation chez seulement 19 patients avec des valeurs comprises entre 6 et 168 mg/l. Cette augmentation pourrait traduire une prolifération maligne des lymphocyte B, puisqu'elle est synthétisée par les hépatocytes sous l'action notamment de l'IL-6 ; cytokine de prolifération et de différenciation du lymphocyte B. ces résultats sont en corrélation avec la littérature **(Yves Levy et al., 1990) (Anri Tienhaara et al, 1994)** De plus, la CRP est marquée par une cinétique rapide d'où son intérêt dans le suivi thérapeutique. ces résultats sont concordantes avec celles de Aboukrat patrick *et ses collaborateurs (1992)*. Vu l'obtention de ces résultats, il est nécessaire de compléter par une électrophorèse des protéines sériques dans le but de confirmer la présence du composant monoclonal.

En ce qui concerne le groupe 2 (N=36), les résultats du dosage néphélométrique de l'immunoglobuline M ont montré une concentration normale chez 35 patients.

Cependant, une diminution importante des trois classes d'immunoglobulines (G, A et M) est retrouvée chez le patient n°42 avec des concentrations respectives de : 3.5, 0.7 et 0.09 g/l, avec un rapport κ/λ perturbé (0.88). Ceci pourrait suggérer la présence d'une chaîne légère libre monoclonale, nécessitant ainsi le dosage des free light et ce dans le but de pouvoir confirmer une gammopathie monoclonale à chaînes légères libres.

Par ailleurs, cette hypogammaglobulinémie a été rapportée dans la maladie de Kahler et dans la macroglobulinémie de Waldenström. (Kyle et al, 2003).

Nous avons observé une hypergammaglobulinémie chez 12 patients touchant les deux classes G et A. Cette augmentation marque une réaction inflammatoire chronique.

Le reste des patients (N=23) est caractérisé par un taux normal en immunoglobuline et en chaînes légères (κ et λ). Vu le tableau clinique, ces patients nécessitent un contrôle ultérieur.

Les taux d'albumine et CRP sont revenus normales pour les patients de ce groupe à l'exception d'un seul patient (N°15) qui marque une hypoalbuminémie.

En ce qui concerne l'analyse semi-quantitative, nous avons réalisé une électrophorèse des protéines sériques et urinaires.

L'électrophorèse des protéines sériques réalisée chez le témoin pool a permis de montrer le fractionnement des protéines sériques en 05 fractions : albumine, protéines alpha1 (orosomucoïde, α 1 anti trypsine) ; alpha2 (haptoglobine, α 2 macroglobuline) ; bêta (transferrine, C3 et C4 du complément) et gamma (Ig G, A, M, D, E).

Les résultats de l'électrophorèse des protéines sériques chez les 24 patients (1^{er} groupe) montrent une bande homogène au niveau de la zone gamma, traduisant la présence d'un composant monoclonal. Ces résultats s'associent à ceux précédemment trouvés par la néphélométrie laser qui a permis de révéler des taux augmentés de l'immunoglobuline M chez ces mêmes patients. Vu les signes cliniques que présentent ces patients comme atteintes osseuses, anémies et VS élevés ; ces résultats ne pourraient que confirmer le diagnostic d'une gammopathie monoclonale maligne; macroglobulinémie de Waldenström ou myélome multiple à IgM. Ainsi, cette technique nécessite d'être complétée par une immunofixation pour typer l'immunoglobuline monoclonale.

Le profil électrophorétique des protéines urinaires a permis de révéler la présence d'une bande homogène chez 07 patients de ce groupe, avec des traces des autres protéines (albumine, alpha/bêta). Cette homogénéité traduit la présence d'une protéine de Bence Jones, nécessitant une identification par immunofixation urinaire.

Chez les 36 patients du 2^{ème} groupe, l'électrophorèse des protéines sériques montre l'absence d'une bande homogène, ce qui indique l'absence du composant monoclonal. Par contre, 12 patients parmi ces 36 ont présenté un profil révélant une forte densité de la coloration au niveau de la zone des gammaglobulines. Cette dernière traduit une hypergammaglobulinémie polyclonale.

Ces résultats rejoignent ceux de la néphélométrie qui ont montré des concentrations élevées des Immunoglobulines G et A avec un rapport κ/λ normal, traduisant une réaction inflammatoire chronique, à l'exception de 02 patients (n°4/gel01 et n°7/gel 03) ayant montré non seulement une hypergammaglobulinémie, mais une hyper augmentation touchant les groupes protéiques α et β , révélant ainsi la présence d'une réaction inflammatoire chronique évolutive.

Nous avons remarqué un profil électrophorétique particulier montrant une diminution de l'albumine ainsi que les autres groupes protéiques chez le patient n°16 (gel n° 3). Cette diminution est également retrouvée par néphélométrie. Il se pourrait que ce patient développe un myélome multiple à chaîne légère libre d'isotype lambda, puisque le rapport κ/λ est inférieur à un (0.88).

L'électrophorèse des protéines urinaires réalisée chez les patients de ce groupe a montré un profil urinaire d'allure normale chez 33 patients. Nous avons constaté la présence de protéines dans les urines des 03 patients n°03, n°32 et n°55 ; albumine, alpha, bêta et gamma, reflétant des lésions au niveau tubulaire et glomérulaire. Ces résultats sont en corrélation ceux de la protéinurie dosée par la technique de Bradford.

Nous avons eu recours à l'immunofixation sérique pour identifier le composant monoclonal trouvé par électrophorèse des protéines sériques seulement chez 05 patients hospitalisés pour une suspicion d'une gammapathie monoclonale, et à une immunofixation urinaire pour typer l'isotype de la protéine de Bence Jones trouvée par électrophorèse des protéines urinaires.

Les résultats obtenus montrent la présence d'un composant monoclonale de classe IgM chez les 05 patients étudiés, à chaînes légères κ et λ avec des pourcentages respectifs de 60% et 40%.

Ces résultats confirment que ces patients présentent une gammapathie monoclonale de type

IgM, qui peut être soit la macroglobulinémie de Waldenström, soit un myélome multiple à IgM.

De ce fait, nous avons eu recours au test de beta-mercaptoéthanol qui est un agent réducteur permettant de provoquer des cassures au niveau des ponts disulfures qui relient les monomères de l'IgM pentamérique et ce dans le but de distinguer entre une IgM 19S qui marque le Waldenström, et une IgM 7S dans le myélome multiple .

Les résultats du test beta-mercaptoéthanol ont révélé la présence d'une IgM 19S qui traduit la maladie de Waldenström chez 03 patients, (N=°1, 3, 7), et une IgM 7S qui marque le myélome multiple à IgM chez 02 patients (N=°4, 6).

L'immunofixation urinaire a été réalisée seulement pour les 07 patients qui ont présenté une bande homogène par électrophorèse urinaire. Les résultats ont confirmé la présence de la protéine de Bencejones avec la prédominance des chaînes légères libres kappa, avec un taux de 71.42 % (05 patients), et un taux de 28.58% (02 patients) pour les chaînes légères libres Lambda.

Ces patients doivent suivre le traitement adéquat à leur état général, et une visite médicale chez le médecin chaque 06 mois est indispensable.

Enfin, l'ensemble de nos résultats montre l'intérêt de l'utilisation de ces différentes techniques immunologiques et biochimiques d'une part, et l'utilisation du test de beta-mercaptoéthanol dans la recherche de l'IgM 19S / 7S, apportant un intérêt primordial dans la différenciation du diagnostic de la macroglobulinémie de Waldenström et le myélome multiple à IgM.

Conclusion

La recherche d'immunoglobuline monoclonale est un examen biologique primordial face à une suspicion d'une gammopathie monoclonale principalement dans la macroglobulinémie de Waldenström et le myélome multiple à IgM, ces deux hémopathies malignes se caractérisent par la présence d'une IgM monoclonale sérique et par leur infiltration médullaire. Malgré les traitements de plus en plus efficace et qui ont permis l'amélioration de la qualité de vie et l'augmentation de la médiane de survie, ces deux affections restent actuellement des maladies incurables.

L'objectif de notre travail est de rechercher et identifier l'immunoglobuline monoclonale de type M dans la maladie de Waldenström et le myélome multiple à IgM. Nous avons entrepris une étude rétrospective et prospective sur une durée de 04 mois. Pendant cette période, notre étude a porté sur un échantillonnage de 60 prélèvements sanguins et urinaires de malades, dont 19 chez lesquels le diagnostic a été déjà confirmé.

L'analyse des différentes données a montré les résultats suivants : sur le plan épidémiologique: comme ce qui a été rapporté par la littérature, ces deux maladies touchent les sujets âgés, avec une prédominance masculine.

Sur le plan clinique : les patients ont présentés des signes cliniques variés, et ils se sont recrutés de différents services, dont la majorité étaient hospitalisés aux services de Rhumatologie et d'Hématologie.

Ainsi, nous avons étudié la démarche du diagnostic immunologique du myélome multiple à IgM et de la Macroglobulinémie de Waldenström. Ce diagnostic repose sur plusieurs paramètres, utilisant les différents outils diagnostiques que sont : Néphélométrie, Protéinurie électrophorèse et une immunofixation.

Les résultats de notre étude nous ont permis de diviser nos patients en 02 groupes : un groupe de 24 patients et un deuxième de 36 patients. Le 1^{er} groupe comprend les 19 sujets chez lesquels le diagnostic a été déjà confirmé, plus 05 nouveaux malades .

Les patients du 1^{er} groupe ont présentés des taux élevés de l'IgM accompagnés d'un taux anormal du rapport κ/λ .

Les résultats de l'électrophorèse révèlent une bande homogène dans la zone des gammas dans les profils protéiques de ces patients. Cela confirme la monoclonalité des immunoglobulines M retrouvés dans les sérums de ces sujets.

Les résultats de l'immunofixation des 05 patients ont montré que 03 patients présentent une IgM κ et 02 patients présentent une IgMλ.

Afin de distinguer entre le Waldenström et le myélome multiple à IgM, nous avons opté à la technique de béta-mercaptoéthanol, qui nous a permis de confirmer une IgM 19S chez 03 patients, et une IgM 7S chez 02 patients.

L'importance de l'étude des urines (recherche d'une protéine de Bence Jones) a été également démontrée, vu la complexité des maladies néphrologiques associées.

Finalement, l'ensemble de ces résultats montrent l'intérêt de ces techniques aussi bien dans la recherche et l'identification de l'IgM monoclonale et dans le diagnostic différentiel de la macroglobulinémie de Waldenström et le myélome multiple à IgM via l'utilisation du test du β-mercaptoéthanol.

Malgré les fiables résultats obtenus par l'ensemble de ces techniques immunologiques et biochimiques, les patients atteints d'une macroglobulinémie de Waldenström ou de myélome multiple à IgM nécessitent un nouveau moyen pour diagnostiquer leur maladie dans un état précoce.

La cytogénétique ouvre des perspectives très prometteuses, en effet le développement des techniques d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) sur cellules interphasiques a rendu possible l'analyse de cellules plasmocytaires non proliférantes, ainsi d'identifier de nouvelles translocations récurrentes dans ces pathologies, ces études ont montré que certaines de ces anomalies pouvaient se rencontrer dès le stade préclinique, dans les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (GMSI).

Le traitement du myélome multiple a considérablement changé dans la dernière décennie, avec un allongement très important de la survie des patients, dans toutes les tranches d'âge, grâce à l'utilisation de nouveaux agents thérapeutiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références :

1- Aggarwal , R., Ghobrial , IM., Roodman , G. (2006)

Chemokines in multiple myeloma. *Experimental Hematology*. 34:1289-1295.

2-Audrey BC, Françoise D, Schmidt P.M. (2005)

Myélome multiple (Das Multiple Myelom). *Schweiz Med Forum*. 2005 ; 5 : 309-316.

3- Barille , S. (2003) .

Advances in biology and therapy of multiple myeloma . *Hematology, American Society of Hematology Education Program Book*, p248-278 .

4- Bharti , A *et al.* (2003) .

Suppression of Nuclear factor-kappaB and STAT3 in multiple myeloma. *Blood* . 101 :1053-1062.

5- Bouatay Amina *et al.* (2012) .

Myélome multiple : aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic. *ImmunolBiolSpec*.

7-Chiecchio Laura *et al.*, (2006)

“Deletion of chromosome 13 detected by conventional cytogenetics is a critical prognostic factor in myeloma. *Leukemia* . 20: 1610-1617.

8- Christian Berthou

Myélome multiple, 6 décembre 2004. <file:///L:/MM/Myelomemultiple.htm>

9- Cockwel , P *et al.*(2007).

”Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. *Journal of the American Society of Nephrology*. 18:8 86- 895.

10- Dao , DD., Sawyer , JR., Epstein , J., Hoover , RG. (1994) .

Deletion of the retinoblastoma gene in multiple myeloma. *Leukemia*”. 8:1280-1284.

11-Dispenzieri *et al.* (2009).

International Myeloma working group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*,.

12- Dimopoulos , MA *et al.* (2009) .

Update on treatment recommendations from the Fourth International Workshop on Waldenström’s macroglobulinemia”. *J Clin Oncol* . 27(1):1206.

13-Dispenzieri , A., Kyle , RA., Lacy , MQ., et al. (2003).

POEMS syndrome: definitions and long-term outcome. *Blood*.;101(7):2496–506.

14-Fonseca, R., Barlogie , B., Bataille , R. (2004) .

Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report". *Cancer Research* . 64:1546-1558.

15- Gahrton G, Durie BGM, Samson DM. (2004)

Multiple myeloma and Related Disorders Oxford University Press ISBN: 0-89603-706-1.

16- Herve , A ., Michel , A ., Philippe , M . (2007) .

Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma. *Blood*". 109:3489-3495.

17- Heinrich , PC et al. (2000).

Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem.*

18- Hsu , J., Shi , Y., Krajewski , S.(2001).

The AKT kinase is inactivated in multiple myeloma tumor cells. *Blood* .2853-2855.

19- Hyun , T et al., (2000) .

Loss of PTEN expression leading to high Akt activation in human multiple myelomas. *Blood* .96, 3560-3568.

20- Jaccard , A., Royer , B., Bordessoule , D. (2002).

High-dose therapy and autologous blood stem cell transplantation in POEMS syndrome. *Blood* . 99:3057-3059.

21-James , B. (2010) .

Monoclonal gammopathy of undetermined significance: a consensus statement". *British Journal of Haematology*,.

22- Lucharousseau , J et al. (2004) .

« Multiple myeloma ». *Hematology, American Society of Hematology Education Program Book*, , p237-256.

23- Kuehl , WM., Bergsagel , PL. (2002).

Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions". *NatRev Cancer*. 2: 175-187.

24- Kyle RA et al. (2007)

Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 2582-90

25- Kyle , R., Vincent , R. (2009).

Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma". *Leukemia*. 23:3 - 9.

26- Manier , S., Leleu , X. (2011).

« Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique ». Myélome multiple diagnostic clinique et perspective de traitement.26 : 125— 136.

27- Marcellic ,C., Aboukrat , P. (1992).

« Intérêt du dosage de la protéine C-réactive pour la surveillance de l'évolution du myélome multiple traité ». *La Presse Médicale* . 21 (20) : 951-952.

28-Moreaux , J., Legouffe , E., Jourdan, E. (2004).

BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin 6 deprivation and dexamethasone. *Blood*.103, 3148-3157.

29- Pellat de ceunynck, C et al. (2008).

CD117 (c-kit) is aberrantly expressed in a subset of MGUS and multiple myeloma with unexpectedly good prognosis. *Leukemia Research*. 32:379-382.

30- Priscilla , S., Esteban , B. (2011).

Genetic Markers Used for Risk Stratification in Multiple Myeloma". 1-4.

31- Sfiridaki , et al. (2011).

Angiogenesis-Related Cytokines, RANKL, and Osteoprotegerin in Multiple Myeloma Patients in Relation to Clinical Features and Response to Treatment." *Mediators of Inflammation*. 1–7.

32-Tienhaara , A., Pulkki , K., Mattila , K., Irjala , K.,(1994).

Serum immunoreactive interleukin-6 and C-reactive protein levels in patients with multiple myeloma at diagnosis. *Br J Haematol* , ;86: 391–3.

33-Véronique Leblond , « Macroglobulinémie de Waldenström »

http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=33226, 13 octobre 2015.

34- Wulleme , S.(2005) .

"Ploidy, as detected by fluorescence in situ hybridization, defines different subgroups in multiple myeloma". *Leukemia*. 19:275-278.

35- Yves Levy., Jean , P, Stbastien , N., Christian , S. (1990) .

Interleukin6 dependence of spontaneous in vitro differentiation of B cells from patients with IgM gammopathy “. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 87, pp. 3309-3313 Medical Sciences.

Thèses :

1-S. Mseddi-Hdiji, S. Haddouk, M. Ben Ayed.Gammopathies monoclonales en Tunisie: analyse épidémiologique , immunochimique et étiologique d'une série de 288 cas .

2-Ophélie, L .Prise en charge d'une decouverte d'une gammopathie monoclonale en ville par le Médecin généraliste.

3-Morlon, L.(2010).Intérêt de l'immunophénotypage plasmocytaire dans le myélome multiple Nancy,. 210 p.

4- Valérie P.Étude du myélome multiple au travers de l'imagerie médicale“ : HAL Id: dumas-01020645 .

<http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01020645>.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau 01 : Critères diagnostiques internationaux

Stade	Définition
MGUS	Les 3 critères suivants sont présents : <ul style="list-style-type: none">- Immunoglobuline monoclonale sérique <30g/l si IgG- Plasmocytose médullaire < 10%- Absence de lésions organiques attribuables aux plasmocytes dystrophiques (évaluées par l'absence de critères CRAB)
MM asymptomatique	<ul style="list-style-type: none">- Immunoglobuline monoclonale sérique $\geq 30\text{g/l}$ si IgG ou IgA- Et/ou plasmocytose médullaire $\geq 10\%$- Absence de lésions organiques attribuables aux plasmocytes dystrophiques (présence de critères CRAB)
MM symptomatique	<ul style="list-style-type: none">- Immunoglobuline monoclonale détectée dans le sérum et/ou dans les urines- Et/ou plasmocytose médullaire $\geq 10\%$- Présence de lésions organiques attribuables aux plasmocytes dystrophiques (présence de critères CRAB)

ANNEXE 2 :

Tableau 02 : Critères CRAB

Atteintes organiques attribuables au processus de prolifération plasmocytaire <i>ROTI, Related Organ or Tissue Impairment</i>
Critères « CRAB » : <ul style="list-style-type: none">- hyperCalcémie: calcémie > 2,75 mmol/L (soit 110 mg/L) ou > 0,25mmol/L au-dessus de la limite supérieure normale- atteinte Rénale : créatininémie > 175µmol/L (soit 20 mg/L)- Anémie : hémoglobine < 10 g/dL ou > 2 g/dL en-dessous de la limite inférieure normale- lésions osseuses (<i>Bone</i>) : lésions lytiques ou ostéopénie sévère ou fractures pathologiques Autres : <ul style="list-style-type: none">- hyperviscosité symptomatique- amylose- infections bactériennes récurrentes (> deux épisodes en 12 mois)

ANNEXE 3 :

Tableau 03 : Dosage des protéines sériques par néphélométrie laser

A : le dosage néphélométrique selon le nombre de patients

Paramètres		Nombre de patients
IgG	< 7 g/l	01
	7 <IgG< 18 g/l	46
	> 18 g/l	13
IgA	< 0.8 g/l	01
	0.8 <IgA< 3.5 g/l	47
	> 3.5 g/l	12
IgM	< 0.5 g/l	01
	0.5 <IgM< 3.7 g/l	35
	> 3.7 g/l	24
Rapport k/λ	< 1	07
	1 – 1.5 g/l	35
	> 1.5	18
CRP	0 – 3 mg/l	33
	>3 mg/l	27
Albumine	< 37 g/l	17
	37 <Alb< 53 g/l	40
	> 53 g/l	03

B : Le dosage par néphélométrie laser :

Patients	IgG	IgA	IgM	κ/λ	CRP	Albumine
Patient N° 01	9.01	1.04	12.5	0.77	168	27.2
Patient N° 02	9.02	2.4	2.38	1.07	1.24	40.87
Patient N° 03	13.8	1.69	3.14	1.42	2.7	50.2
Patient N° 04	5.95	0.22	40.8	9.54	22.7	9.54
Patient N° 05	13.4	3.6	10	2.6	48	52.5
Patient N° 06	7.54	3.1	1.9	1.32	0.7	38.1
Patient N° 07	8.27	0.55	40.3	9.93	2.18	37.8
Patient N° 08	10.2	2.3	18.6	1.79	24	40
Patient N° 09	38.54	10.92	3.6	1.43	7.46	40.2
Patient N° 10	17.21	1.2	0.9	1.02	2.85	47.61
Patient N° 11	20.2	1.19	42.7	3.28	6	24.6
Patient N° 12	13.5	2.1	1.7	1.08	2.36	46.21
Patient N° 13	4.28	23.3	25.4	0.02	16.7	35
Patient N° 14	8.82	2.82	12.6	3.38	47.9	33.7
Patient N° 15	15.1	1.09	2.11	1.2	2.29	29.7
Patient N° 16	46.4	23.1	2.7	1.41	16.7	40
Patient N° 17	37.29	2.183	33.65	1.93	12	47
Patient N° 18	9.95	0.98	1.8	1.22	47.9	41
Patient N° 19	54.48	32.5	1.29	4.33	2.5	38
Patient N° 20	8.27	0.95	2.3	1.25	1.6	45

Patient N° 21	4.73	0.23	4.48	2.75	2.32	45.7
Patient N° 22	15.2	1.23	1.22	1.44	3	38.5
Patient N° 23	9.01	1.36	31.5	5.8	6.33	38.7
Patient N° 24	8.31	3.13	49.2	0.25	18.5	23.6
Patient N°25	10.2	1.23	5.39	2.14	66.1	41.78
Patient N°26	20.2	1.19	2.69	1.49	2.66	48.2
Patient N°27	61.8	22.36	0.91	3.55	54	35
Patient N°28	9.51	1.45	2.96	1.24	2.6	45.9
Patient N°29	9.44	1.19	46.2	0.38	24	40.5
Patient N°30	39.28	52.3	2.14	2.14	2.2	53
Patient N°31	10.5	0.43	34.3	1.97	10.3	34
Patient N°32	8.82	2.82	1.6	1.03	0.85	41.3
Patient N°33	10.32	0.87	0.99	1.3	3	40.5
Patient N°34	47.08	51.11	1.14	3.6	12	56
Patient N°35	5.06	6.15	87.5	0.45	68.7	18.3
Patient N°36	60.7	43.4	1.54	5.01	2.6	46.2
Patient N°37	5.24	0.26	7.32	3.31	0.81	42.1
Patient N°38	11.75	1.61	1.56	1.28	1.9	39.7
Patient N°39	8.55	2.28	6.63	1.45	2.5	55.2
Patient N°40	6.507	1.912	16.7	4.43	48	36.83
Patient N°41	16.9	3.23	2.7	1.01	48	45
Patient N°42	10.2	1.23	0.68	1.4	22.6	51

Patient N°43	9.29	0.445	16.7	2.73	2.6	41.7
Patient N°44	28.01	41.36	1.5	0.54	36.5	39.1
Patient N°45	66.83	22.4	2.98	0.41	2.2	37.4
Patient N°46	16.54	3.31	13.72	2.23	20	35.51
Patient N°47	5.3	1.37	64.4	9.007	1.09	28.4
Patient N°48	8.54	2.45	1.86	1.28	1.04	50.5
Patient N°49	64.23	39.02	3.12	1.41	1.4	33
Patient N°50	8.8	1.19	14.49	3.97	107.6	32.2
Patient N°51	14.27	1.34	1.74	0.4	2.3	56
Patient N°52	17.4	1.22	0.8	1.4	2.94	45
Patient N°53	12.7	2.31	1.04	1.02	0.8	37.8
Patient N°54	14.18	2.03	16.11	2.04	18.9	39.48
Patient N°55	27.2	43.3	0.694	4.6	12	37.5
Patient N°56	12.3	2.03	1.44	1.2	2.7	48
Patient N°57	11.65	2.74	52.4	0.42	18.6	29.7
Patient N°58	16.29	2.183	2.65	1.42	2.5	43
Patient N°59	49.7	32.2	2.48	0.62	0.8	32
Patient N°60	7.93	2.96	1.44	1.3	1.5	47
Témoin pool	10.5	2.05	2.3	1.3	1.5	45

ANNEXE 04

Tableau 04 :Résultats de l'électrophorèse des protéines sériques

Electrophorèse des protéines sériques	Patients
-Présence de la bande homogène	24
-Absence de la bande homogène	36

ANNEXE 05

Tableau05 : Résultats de Bence Jones

Protéinurie de Bence Jones	Nombre de patient	pourcentage
Présence de la PBJ	07	11.66%
Absence de la PBJ	53	88.33%

ANNEXE N°6

Tableau 06 : Résultats de la protéinurie de Bradford

Patients	Protéinurie de Bradford	patients	Protéinurie Bradford
Patient N° 01	0.13	Patient N°32	0.06
Patient N° 02	0.10	Patient N°33	0.19
Patient N° 03	0.07	Patient N°34	0.15
Patient N° 04	3.2	Patient N°35	0.18
Patient N° 05	0.09	Patient N°36	4.8
Patient N° 06	0.12	Patient N°37	0.21
Patient N° 07	0.14	Patient N°38	0.04
Patient N° 08	0.1	Patient N°39	0.16
Patient N° 09	0.28	Patient N°40	0.15
Patient N° 10	0.05	Patient N°41	3.6
Patient N° 11	0.13	Patient N°42	0.12
Patient N° 12	0.11	Patient N°43	0.06
Patient N° 13	0.16	Patient N°44	0.18
Patient N° 14	0.18	Patient N°45	0.1
Patient N° 15	5.2	Patient N°46	0.23
Patient N° 16	0.2	Patient N°47	0.08
Patient N° 17	0.22	Patient N°48	0.13
Patient N° 18	0.16	Patient N°49	0.15
Patient N° 19	0.11	Patient N°50	0.32
Patient N° 20	0.19	Patient N°51	0.11
Patient N° 21	7.5	Patient N°52	0.07

Patient N° 22	0.23	Patient N°53	0.13
Patient N° 23	0.25	Patient N°54	7.1
Patient N° 24	6.3	Patient N°55	0.23
Patient N°25	0.22	Patient N°56	0.22
Patient N°26	0.14	Patient N°57	0.14
Patient N°27	0.05	Patient N°58	0.17
Patient N°28	0.24	Patient N°59	0.09
Patient N°29	0.10	Patient N°60	0.24
Patient N°30	1.96	Patient N° 61	0,15
Patient N° 31	0.12		

ANNEXE N°7

Tableau N°7 : Les manifestations cliniques

Patients	Manifestations osseuses	Manifestations neurologiques	Manifestations hématologiques	Syndrome infectieux	autres
Patient N° 01	/	/	/	/	Hépatosplénomgalie
Patient N° 02	Douleurs osseuses	/	anémie	/	/
Patient N° 03	Douleurs osseuses	/	/	/	/
Patient N° 04	/	/	Anémie normocytaire normochrome	/	Insuffisance rénale
Patient N° 05	/	/	Asthénie et Anémie	/	/
Patient N° 06	Ostéoporose	/	/	/	/
Patient N° 07	/	/	Anémie	/	/
Patient N° 08	Douleurs osseuses	/	/	/	/
Patient N° 09	/	/	VS élevé	Polyarthralgie	/
Patient N° 10	Douleurs osseuses diffuses	/	/	/	/
Patient N° 11	/	/	Anémie et asthénie	/	/
Patient N° 12	/	Troubles neurologiques	/	/	/
Patient N° 13	/	/	/	/	Splénomégalie
Patient N° 14	/	/	VS élevé	/	/
Patient N° 15	/	/	Forte anémie VS élevée	/	/
Patient N° 16	/	/	/	Infection urinaire	/
Patient N° 17	/	/	Anémie avec asthénie progressive	/	/
Patient N° 18	Tassements vertébrales	/	/	/	/

Patient N° 19	Douleurs osseuses	/	/	Cutaneo-digestive	/
Patient N° 20	Tassement vertébrale	/	/	Polyarthralgie	/
Patient N° 21	/	/	Anémie	/	/
Patient N° 22	ostéoporose	/	anémie	/	/
Patient N° 23	Ostéoporose	/	VS élevé	/	/
Patient N° 24	/	Adénopathie cervicale	/	/	/
Patient N°25	/	Neuropathie périphérique	Anémie	/	/
Patient N°26	/	Trouble neurologiques	/	/	/
Patient N°27	Tassements vertébrales	/	Anémie	Infection urinaire	/
Patient N°28	/	/	VS élevée	Polyarthralgie	/
Patient N°29	/	/	/	/	syndromes hémorragiques rétiniens
Patient N°30	Douleurs osseuses diffuses. fracture	/	Anémie	polyarthralgie	/
Patient N°31	/	/	Anémie avec asthénie progressive	/	/
Patient N°32	/	/	VS élevée anémie	/	/
Patient N°33	/	/	anémie	polyarthralgie	/
Patient N°34	Fracture Ostéoporose	/	/	Pleuro pulmonaire	/
Patient N°35	/	Neuropathie périphérique	/	/	Insuffisance rénale
Patient N°36	Tassement vertébrales	Atteinte neurologique	/	/	/
Patient N°37	Douleurs osseuses	/	VS élevé + Anémie	/	/
Patient N°38	Douleurs diffuses	/	/	Polyarthralgies	/
Patient N°39	/	/	/	Polyarthralgie	/

Patient N°40	/	/	Anémie	/	/
Patient N°41	/	Atteintes neurologiques	/	/	/
Patient N°42	Ostéoporose	/	anémie	/	/
Patient N°43	/	/	/	/	Splénomégalie
Patient N°44	/	/	VS élevée	Polyarthralgie	/
Patient N°45	Douleurs diffuses	/	anémie	polyarthralgie	/
Patient N°46	Fractures	/	Anémie	/	/
Patient N°47	/	/	/	/	syndromes hémorragiques cutanés
Patient N°48	/	Troubles neurologiques	/	/	/
Patient N°49	fracture	/	anémie	polyarthralgie	/
Patient N°50	Douleurs diffuses	/	/	/	Splénomégalie modérée
Patient N°51	Douleurs osseuses	/	/	/	/
Patient N°52	Douleurs osseuses diffuses	/	/	/	/
Patient N°53	/	Atteinte neurologique	VS élevée	/	/
Patient N°54	Tassement vertébrale	/	Anémie	/	/
Patient N°55	Tassements vertébrales	Atteintes neurologique	/	/	/
Patient N°56	Douleurs articulaires	/	/	/	/
Patient N°57	/	/	Anémie	/	/
Patient N°58	/	/	Anémie VS élevée	/	/
Patient N°59	Ostéoporose	/	/	polyarthralgie	/
Patient N°60	/	/	anémie	Polyarthralgie	/

Patient N° 61	/	/	/	/	/
--------------------------	---	---	---	---	---

Résumé

Les gammopathies monoclonales sont des affections hématologiques. Elles sont dues à une prolifération d'un clone plasmocytaire ou lympho-plasmocytaire produisant une immunoglobuline monoclonale.

Le myélome multiple à IgM et la maladie de Waldenström sont deux hémopathies malignes appartenant à la famille des gammopathies monoclonales. Ces deux maladies se traduisent cliniquement par un syndrome osseux, un syndrome hématologique ainsi que par des manifestations viscérales essentiellement rénales.

Le travail porte sur 60 patients et comporte deux études : une étude rétrospective allant du Janvier 2006 au Août 2014, et une étude prospective allant du Février 2015 au mois de Mai 2015. Cette étude a comme but de rechercher et identifier l'immunoglobuline monoclonale de type M dans la maladie de Waldenström et le myélome multiple à IgM.

Le pic de fréquence d'âge est observé entre 70-80 ans, avec prédominance masculine. Les manifestations cliniques sont très variées, mais les atteintes osseuses sont les plus fréquemment retrouvées. L'électrophorèse et l'immunofixation des protéines sériques et urinaires ont montré la présence d'une immunoglobuline monoclonale de type M.

Mots clés :

Myélome multiple, La macroglobulinémie de Waldenström, immunoglobuline monoclonale, IgM.

Summary

The monoclonal gammopathies are hematologic affections. They are due to a proliferation of a clone plasmocytair or lymphoplasmocytair producing a monoclonal immunoglobuline. The multiple myeloma with IgM and the disease of Waldenström are two malignant blood diseases belonging to the monoclonal family of the gammopathies. These two diseases result clinically in an osseous syndrome, a hematologic syndrome like by primarily renal visceral demonstrations.

The work concerns 60 patients and comprises two studies: a retrospective study of the January 2006 to August 2014, and an exploratory study of the February 2015 in the month of May 2015. This study has like drank to search and identify the monoclonal immunoglobuline of type M in the disease of Waldenström and the multiple myeloma with IgM.

The peak off requery of age is observed between 70 80 years, with male prevalence. The clinical demonstrations are very varied, but the osseous attacks are most frequently found. The electrophoresis and the immunofixation of serum and urinary proteins showed the monoclonal presence of a immunoglobuline of type M.

Keywords:

Multiple myeloma , monoclonal macroglobulinemy of Waldenström , immunoglobuline, IgM.

المخلص

المابيلوما المتعددة من نوع "م" ومرض الفالدنستروم هما مرضان دمويان خبيثان ينتميان الى عائلة الأورام الخبيثة الدموية " الغامباتي وحيدة النسيلة". . ينعكس كلا المرضين سريريا بوجود اضطراب العظام و متلازمة الدموية وكذا اضطراب كلوي . العمل يركز على 60 مريضا، ويتضمن دراستين: دراسة أثر رجعي اعتبارا من كانون الثاني/يناير 2006 إلى آب/أغسطس 2014، ودراسة مستقبلية من فبراير 2015 في أيار/مايو عام 2015. هذه الدراسة تهدف إلى بحث وتحديد نوع الغلوبولين المناعي الوحيد النسيلة من نوع" م " في مرض المابيلوما المتعددة من نوع "م" ومرض الفالدنستروم على حد سواء.

لوحظ سن ذروة الإصابة بين 70-80 عاما مع تفوق نسبة الذكور . المظاهر السريرية متنوعة ولكن تم العثور على آفات العظام في معظم الأحيان. التقنيات التي اجريت على بروتينات المصل و البول معا أظهرت وجود الغلوبولين المناعي الوحيد النسيلة من نوع" م " .

الكلمات المفتاحية :

المابيلوما المتعددة , مرض الفالدنستروم , الغلوبولين المناعي الوحيد النسيلة من نوع" م " .