

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA-1-
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master II
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire
Thème

**Intérêt de la recherche de protéinurie de Bence
Jones dans le diagnostic et le pronostic des
Gammopathies Monoclonales**

Soutenue le 15/09/2021

Présenté par :

M^{me} Attia Widad

M^{me} Ouserir Akida

Devant le jury composé de :

M^{me} Aissani R.	MCB	USDB1	Présidente
M^r BenYahya N.	MAA	USDB1	Examineur
M^r Charglaine K.	Docteur	USDB1	Promoteur
M^{me} HAMZI W.	MCB	USDB1	Co-promotrice

Année Universitaire : 2020-2021



Remerciements



Nous tenons tout d'abord à remercier A tous ceux qui ont fait l'honneur de composer le jury chargé d'examiner le travail :

*Notre sincères remerciements à notre chère enseignante **M^{me} AISSANI R** à l'université de Saad Dahleb Blida 1, d'avoir bien voulue nous faire l'honneur de présider ce jury.*

*Nous remercions également notre enseignant **Mr BENYAHYIA N**, pour l'intérêt qu'elle est bien voulue manifester en acceptant de participer à ce jury en tant qu'examineur.*

*Nous voudrions présenter nos sincères remerciements à vice-recteur **M^{me} SAADI L.***

*Nous remercions aussi notre promoteur **Mr charglaine K** maitre-assistant en immunologie à l'université du Blida1 qui a bien voulu accepter de nous prendre en charge pour réaliser ce modeste travail dont le mérite lui revient grâce à ses conseils précieux et sa gratitude.*

*Nous remercions vivement notre Co-promotrice **HAMZI W** Pour son aide précieuse, ses orientations judicieuses et ses conseils qui méritent beaucoup de considération, pour sa gentillesse.*

*Nous n'oublierons pas de remercier tous les membres du laboratoire de l'immunologie de l'hoptal Hassiba Benboali de Blida essentiellement **Dr Salah K** pour l'aide permanente qu'il nous a apporté tout au long de notre pratique et qui nous a permis d'accéder au laboratoire. Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*



Dédicace

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

La protéine de Bence Jones est une protéine particulière (chaînes légères d'immunoglobulines) qui est éliminée dans les urines en cas de gammopathie monoclonale.

L'objectif de notre étude a porté sur l'intérêt de la recherche de protéinurie de Bence Jones dans le diagnostic et le pronostic des gammopathies Monoclonales.

Nous avons réalisé une étude rétrospective et analytique effectuée durant la période allant de 21 janvier jusqu'à 16 octobre 2020 chez 418 patients ; Les patients sont pris en charge pour le diagnostic de gammopathies monoclonale dont l'âge variait entre 24 et 98 ans. Nous avons inclus dans notre étude les patients présentant à l'électrophorèse des protéines urinaire de Bence Jones.

Les résultats obtenus montrent une prédominance féminine avec un taux de 52%. Le sexe ratio homme/femme est de 0.94 ; Nous avons trouvé une prédominance de la tranche d'âge 70-80 ans. Ce qui montre que les GM sont des maladies de sujet âgé. Nous avons constaté un pic à l'électrophorèse dans la zone β chez les 74 patients (17.70 % des cas) et dans la zone γ chez 82,30% des cas. L'isotype IgG caractérisait plus de la moitié des cas des gammopathies monoclonales (64%) dans notre série. L'isotype IgA ne concernait que 20% des cas. Nos résultats de la protéinurie de Bence Jones (PBJ) relèvent que la PBJ était absente chez 123 patients soit 29 % et présente chez 61 cas soit 15%. Nous avons mis en évidence l'existence d'un myélome multiple à chaîne légère (MLC) chez 4 patients avec absence de pic monoclonale typique sur l'électrophorèse de sérum (hypogammaglobulinémie) de notre série (deux MLC de type κ et deux MLC de type λ).

Mots clé : gammopathie monoclonale, protéinurie de Bence Jones, immunoglobuline monoclonale, électrophorèse, immunofixation, myélome multiple.

Abstract

Bence Jones protein is a special protein (light chains of immunoglobulins) that is eliminated in the urine in cases of monoclonal gammopathy.

The objective of our study was the research interest of Bence Jones proteinuria in the diagnosis and prognosis of monoclonal gammopathies.

We performed a retrospective and analytical study from January 21 to October 16, 2020 in 418 patients; Patients are treated for the diagnosis of monoclonal gammopathies ranging in age from 24 to 98 years. We included patients with electrophoresis of urinary Bence Jones proteins in our study. The results obtained show a female predominance with a rate of 52%. The male / female sex ratio is 0.94; we found a predominance of the 70-80 age group. This shows that GMs are diseases of the elderly. We observed a peak on electrophoresis in the β zone in 74 patients (17.70% of cases) and in the γ zone in 82.30% of cases. The IgG isotype characterized more than half of the cases of monoclonal gammopathies (64%) in our series. The IgA isotype affected only 20% of cases. Our results for Bence Jones proteinuria (PBJ) show that PBJ was absent in 123 patients, that is 29% and present in 61 cases, that is 15%. We demonstrated the existence of a light chain multiple myeloma (MLC) in 4 patients with absence of a typical monoclonal peak on serum electrophoresis (hypogammaglobulinemia) in our series (two MLC type κ and two MLC of type λ).

Key words: monoclonal gammopathy, Bence Jones proteinuria, electrophoresis, immunofixation, monoclonal immunoglobulin, multiple myeloma.

ملخص

بروتين بنس جونس هو بروتين خاص (سلاسل خفيفة من الغلوبين المناعي) يتم التخلص منه في البول في حالات الاعتلال الجائمي احادي النسيلة كان الهدف من دراستنا هو الاهتمام البحثي للبيبة البروتيني بنس جونس في تشخيص اعتلالات وحيدة النسيلة.

أجرينا دراسة استرجاعية وتحليلية من 21 جوان الى 16 أكتوبر 2020 على 418 مريضا يتم علاج المرضى من اجل تشخيص اعتلالات احادي النسيلة التي تتراوح أعمارهم من 24 الى 98 عاما. قمنا بتضمين المرضى الذين لديهم الرحلان الكهربائي بنس جونس في دراستنا.

أظهرت النتائج اقلية للإناث بنسبة 52%. نسبة الذكور إلى الإناث 0.94؛ وجدنا غلبة للفئة العمرية 70-80. هذا يدل على أن المعدلات وراثيا هي أمراض كبار السن. لاحظنا ذروة في الرحلان الكهربائي في المنطقة β في 74 مريضا (17.70% من الحالات) وفي المنطقة γ في 82.30% بأكثر من نصف حالات الاعتلال الجائمي وحيد النسيلة. على 20% فقط من IgA بأكثر من نصف حالات الاعتلال الجائمي وحيد النسيلة (64%) في سلسلتنا. أثرت نظائر تميز النمط المتماثل IgG الحالات.

تظهر نتائجنا الخاصة بالبيبة البروتينية لبنس جونس أن PBJ كان غائبا في 123 مريضا، أي 29% وكان موجودا في 61 حالة، أي 15%. لقد أظهرنا وجود سلسلة خفيفة من المايلوما المتعددة (MCL) في 4 مرضى مع عدم وجود ذروة أحادية النسيلة نموذجية في الرحلان الكهربائي في الدم (نقص غاما غلوبولين الدم) في سلسلتنا (نوعان من MLC κ واثنان من MLC من النوع λ).

الكلمات المفتاحية: الاعتلال الجائمي أحادي النسيلة، بيبة بنس جونس البروتينية، الرحلان الكهربائي، التثبيت المناعي، الغلوبولين المناعي وحيدة النسيلة، المايلوما المتعددة.

REMERCIEMENTS

DÉDICACE

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

INTRODUCTION.....1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1. Généralité	2
2. Historique	3
3. Rappel sur les immunoglobulines.....	4
3.1. Différenciation, prolifération et fonction des lymphocytes B.....	4
3.2. Structure et fonction des immunoglobulines.....	5
3.2.1. Définition.....	5
3.2.2. Variabilité des immunoglobulines	5
3.2.3. Classe des immunoglobulines.....	8
3.2.4. Rôle des immunoglobulines	8
3.2.5. Biosynthèse des Ig.....	8
3.3. Les immunoglobulines monoclonale.....	9
3.3.1. Définition.....	9
3.3.2. Caractéristique.....	9
4. Protéine de Bence Jones	
4.1. Définition.....	10
4.2. Métabolisme du la protéinurie de Bence Jonce.....	10
4.3. Physiopathologie	10
5. Gammopathie Monoclonale	
5.1. Notion terminologique	11
5.2. Niveau d'expression des gammopathies	12
5.3. Classification.....	12
5.3.1 Gammopathies monoclonales dites « bénigne »	13

5.3.1.1. Gammapathie monoclonale de signification indéterminé.....	13
5.3.1.2. Gammapathies monoclonales associées à une pathologie non lymphoïde.....	13
5.3.2. Gammapathies malignes	14
5.3.2.1. Myélome multiples.....	14
5.3.2.1.1. Définition	14
5.3.2.1.2. Physiopathologie.....	15
5.3.2.1.3. Oncogenèse	16
5.3.2.1.4. Les différents types du MM	16
5.3.2.1.5 Circonstance de découverte.....	16
5.3.2.1.6 Diagnostic	18
5.3.2.2. Les variantes de myélome multiple.....	19
5.3.2.2.1. Syndrome POEMS.....	19
5.3.2.2.2. Plasmocytome plasmocytaire.....	19
5.3.2.2.3. Amylose AL	20
5.3.2.2.4. Macroglobulinémie de Waldenström.....	21
5.3.3. Autres hémopathies	21
5.4. Diagnostic biologique d'une immunoglobuline monoclonale.....	22
6. Technique de dosage	
6.1. Principe de dosage.....	24
6.2. Électrophorèse.....	24
6.3. Immunofixation.....	25
6.4. Indication et intérêt.....	26

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Patients.....	28
2. Matériel.....	28
2.1. Matériel non biologique.....	28
2.2. Matériel biologique.....	29
3.MÉTHODES.....	29
3.1. Électrophorèse des protéines urinaires.....	29
3.1.1. Principe.....	29
3.1.2Technique.....	29
3.1.3 Mode opératoire.....	30
3.2. Immunofixation urinaire	31

3.2.1 Principe.....	31
3.2.2 Technique.....	32
3.2.3 Mode opératoire.....	33

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Aspects épidémiologique de la population étudiée.....	34
1.1. Répartition des patients selon le sexe	34
1.2. Répartition des patients selon l'âge.....	35
1.3. Répartition des patients selon le service de recrutement	36
1.4. Evaluation selon l'isotype du composant monoclonale	37
1.5. Répartition des CM selon la zone de migration	38
1.6. Répartition des patients selon la présence ou l'absence de la protéinurie de BPJ.....	39
1.7. Diagnostic par protéinurie de Bence Jones.....	41
Conclusion et perspectives.....	42

Références bibliographiques

Annexe

Liste des Abréviations

Ac: Anticorps.

Ag: Antigène.

AAL: l'amylose AL.

BCR : BCR-cellreceptor.

PBJ : protéinurie de Bence Jones.

CD4 : Cluster de différenciation 4.

CFU-GM : Colony-Forming Unit – Granulocyte Macrophage.

CLL : Chaines légères libres.

CLL κ : Chaines légères kappa.

CLL λ : Chaines légères lambda.

CM : Composant monoclonal.

CRP : C-réactive protéine.

EPP : Electrophorèse des protéines sériques.

EPU : Electrophorèse des protéines urinaires.

GM : Gammopathie monoclonale.

GMSI : Gammopathie monoclonale de signification indéterminée.

H: Heavy (chaîne lourde).

IMWG: international myeloma working group.

IF: Immunofixation.

IFU: Immunofixation urinaire.

Ig: Immunoglobuline.

ISS: international scoring system.

IL : Interleukine.

MM : myélome multiple.

MW : maladie de waldenstrom.

L : Light (chaîne légère).

Liste des figures

Figure 1 : Processus de formation d'un plasmocyte.....	5
Figure 2 : Structure générale d'une immunoglobuline.....	6
Figure 3 : Protéinogramme d'un profil de gammopathie monoclonale.....	11
Figure 4 : Mécanisme général de synthèse d'une Ig monoclonale.....	12
Figure 5 : Plasmocytes (Cellules Myélomateuses)	14
Figure 6 : Physiopathologie du myélome	15
Figure 7 : Résultat d'une électrophorèse des protéines sériques.....	24
Figure 8 : résultat d'une immunofixation sérique.	25
Figure 9 : électrophorèse sur SAS-1 des protéines urinaires.....	30
Figure 10 : la membrane de 24 échantillons.....	31
Figure 11 : Répartition des patients en fonction de sexe.....	34
Figure 12 : Répartition des patients selon l'âge.....	35
Figure 13 : Répartition selon les services de recrutements.....	36
Figure 14 : Répartition des CM selon la zone de migration.....	38
Figure 15 : Répartition de BPJ.....	39
Figure 16 : répartition de résultat de PBJ des 4 patients.....	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des différentes classes des Ig humaines.....	7
Tableau 2 : Caractéristiques des différentes classes des Ig humaines.....	8
Tableau 3 : Principaux oncogènes impliqués dans le myélome multiple et leur localisation et Incidence.....	16
Tableau 4 : Critères CRAB et fréquence au diagnostic de chaque critère.....	19
Tableau 5 : Répartition des patients selon les résultats de l'immunotypage.....	37

Liste des annexes

Annexe1 : Des antisérums polyclonaux monospécifiques.

Annexe 2 : Différents types de pipettes.

Annexe 3 : Scanner d'électrophorégramme.

Annexe 4 : répartition des cas de GM selon les tranche d'âge.

Annexe 5 : HELENA SAS-1 Urine analysis

Annexe 6 : Appareil d'EP et d'IFx, SAS 1(à gauche), SAS 2 (à droite) pour coloration et décoloration.

Annexe 7 : la coloration.

Annexe 8 : Résultat de la protéinurie de Bence Jones.

Annexe 9 : répartition des cas de GM selon les tranches d'âge.

Annexe10 : la répartition des patients selon les services de recrutement.

Annexe11 : répartition des CM selon la zone de migration.

Annexe12 : résultat de la protéinurie de Bence Jones .



Introduction générale

Les immunoglobulinopathies monoclonales, improprement appelées gammopathies monoclonales (GM), sont fréquentes dans la population générale, constituant un problème de santé publique, à l'échelon mondial. **(Asma, B.2021)**

Le diagnostic biologique d'une immunoglobulinopathie monoclonale repose sur la réalisation d'une analyse conjointe du sérum et des urines afin d'affirmer son homogénéité de charge et d'isotype d'Ig. Dans les gammopathies monoclonales malignes, la protéinurie de Bence Jones peut être mise en évidence dans les urines concentrées.

Les gammopathies monoclonales sont relativement fréquentes au niveau mondiale, elles touchent environ 3% des sujets de plus de 50 ans et constituent un groupe très hétérogène de maladies d'étiologies différentes. **(Bouatay A et al., 2015)**

Les gammopathies monoclonales (GM) représentent un groupe de pathologies variées dont la majorité est asymptomatique. Dans plus de 60 % des cas, il s'agit d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée(GMSI). Le myélome multiple (MM) ou le MM asymptomatique représentent environ 20 % des cas de GM, et l'amylose de type AL environ 10 %. Les autres gammopathies sont plus rares, comme les plasmocytomes (qu'ils soient médullaires ou extra-médullaires), la maladie de Waldenström et les pathologies apparentées. **(Jean Baptiste Oudart et al., 2014)**

Le myélome multiple (MM) est un cancer hématologique qui affecte les plasmocytes dans la moelle osseuse. **(L. Furchtgott et al.,2017)** C'est la quatrième maladie du sang la plus fréquente. **(M. Saidi et al.,2017)** qui représente 2% de tous les cancers et 10% des cancers hématologiques avec 159 985 nouveaux cas en 2018. **(J. Ferlay et al.,2019)** En Algérie, on dénombre 665 nouveaux cas pour 42 millions d'habitants en 2018. En effet, au service d'hématologie du Centre de cancérologie de Tlemcen. **(R. GUILAL et al.,2019)**

L'objectif principal de notre étude est d'établir un profil biologique (immunologique) des patients atteints des gammopathies monoclonales explorés au niveau du laboratoire de l'immunologie du Hassiba Ben Bouali à Blida, et d'établir un diagnostic par le dosage de protéinurie de Bence Jones.

Notre travail s'articule sur deux parties principales à savoir : Une première partie est consacrée à une revue de la littérature, recueil bibliographique sur les gammopathies monoclonales et une seconde partie présente notre mode opératoire, ainsi que les résultats de l'analyse d'une cohorte de 418 patients atteints des gammopathies monoclonales explorés au Laboratoire de l'immunologie à l'hôpital de Hassiba Ben Bouali.



Chapitre I :

Partie

Bibliographique

1. Généralité

Une gammopathie qu'on appelle également dysglobulinémie désigne une anomalie qualitative ou quantitative des globulines, et aussi une maladie bénigne ou maligne, produisant de façon clonale une Ig identique. Elles ont tendance à augmenter en fréquence avec l'âge et sont souvent asymptomatiques. **(Glavey,2016)**

Les Gammopathies monoclonales, est définie par la présence dans le sérum et/ou les urines d'une immunoglobuline monoclonale caractérisée par un seul type de chaîne lourde surtout IgG et IgM, plus rarement IgA voire IgD et IgE, et un seul type de chaîne légère (Kappa ou Lambda) parfois incomplète. **(Andrès,2013)** Ils sont fréquents dans la population générale. Ces pathologies sont le plus souvent associées aux dyscrasies plasmocytaires caractérisées par l'expansion d'un clone de plasmocytes localisée le plus souvent au niveau de la moelle osseuse.

Ces désordres comprennent divers sous-groupes comme la MGUS, le MM, les plasmocytomes et la maladie de Waldenström (MW). **(Nadia LAKHOUAJA,2020)**

La protéinurie de Bence Jones (PBJ) a longtemps été le seul dosage permettant une mesure des chaînes légères, de manière indirecte dans les urines.

Le dosage des chaînes légères libres sériques (CLLs) est disponible depuis 2001. Initialement, il permettait de mettre en évidence une gammopathie monoclonale de façon très sensible en cas d'anormalité du ratio des chaînes légères κ/λ . Depuis, de multiples applications se sont développées, essentiellement dans le domaine de l'onco-hématologie et de la néphrologie, et d'autres sont en cours, notamment dans les maladies auto-immunes. **(Jean-Philippe Martellosio et al., 2019)**

2. HISTORIQUE

Bence Jones a commencé à donner des cours de chimie médicale à l'hôpital Middlesex et a poursuivi ses recherches sur la composition de l'urine et la corrélation avec la santé physique et la maladie. En 1845 L'échantillon d'urine de McBean a été analysé par Watson, MacIntyre et Bence Jones.

En 1847 Le Dr Bence Jones publie un article décrivant les découvertes de la nouvelle protéine trouvée dans l'urine.

En 1873 Le terme « myélome multiple » utilisé pour la première fois par vonRustizky lorsque, au cours de l'autopsie, plusieurs tumeurs distinctes de la moelle osseuse ont découvert et qu'il les a désignées comme myélome multiple.

En 1880 Le terme « Bence Jones Protein » est utilisé pour la première fois par le Dr Fleischer

En 1917 Jacobson découvrit la BJP dans le sang et postula que la protéine était « endiguée » dans la circulation sanguine en raison d'une insuffisance rénale.

En 1939 Tiselius et Kabat ont montré une activité d'anticorps dans la fraction de gamma globuline en utilisant des techniques d'électrophorèse. Longsworth a identifié des pics hauts et étroits de type « clocher d'église » dans le sérum des patients atteints de myélome multiple.

En 1956 Korngold et Lippari ont utilisé le test d'Ouchterlony pour démontrer différentes classes de BJP. Ils ont également démontré que la protéine du myélome dans le sang réagissait avec des antisérums contre la BJP. Les classes BJP ont été étiquetées kappa et lambda, en hommage aux deux scientifiques. (Sheromna et al., 2020)

3. Rappel sur les immunoglobulines

3.1. Différenciation, prolifération et fonction des lymphocytes

La cellule B ou lymphocyte B est un acteur clé de la réponse immunitaire adaptative responsable de l'immunité humorale chez les mammifères. La production de cellules B chez l'homme est un processus permanent qui commence dans le foie du fœtus intra-utérin et dans la moelle osseuse après la naissance. Leur développement est à partir de cellules souches hématopoïétiques. Le développement des lymphocytes B constitue toutes les étapes de la différenciation précoce en l'absence d'interaction antigénique jusqu'à la maturation, l'interaction antigénique et, finalement, la synthèse des anticorps.

Un répertoire correct d'immunoglobulines est nécessaire pour une protection efficace de l'hôte contre les différents agents pathogènes. Les immunoglobulines (Ig) sont secrétées par les plasmocytes qui représentent le stade final de différenciation des lymphocytes. Ces derniers se développent à partir des cellules souches hématopoïétiques (précurseurs lymphoïdes) de la moelle osseuse où ils subissent une série de différenciations durant lesquelles survient le réarrangement des gènes du récepteur des lymphocytes B (BCR -B cellreceptor). Ces BCRs sont représentés par un complexe de signalisation associé à une molécule d'IgM membranaire. Ces BCRs sont capables de reconnaître une grande variété d'antigènes. L'expression réussie de la première chaîne lourde Mu et ultérieurement de la chaîne légère (Kappa ou Lambda) sur la surface de la cellule B immature permet la poursuite de la différenciation du stade pré-B au stade de cellule B mature naïve. Cette cellule quitte la moelle osseuse et rejoint le pool des lymphocytes B circulantes.

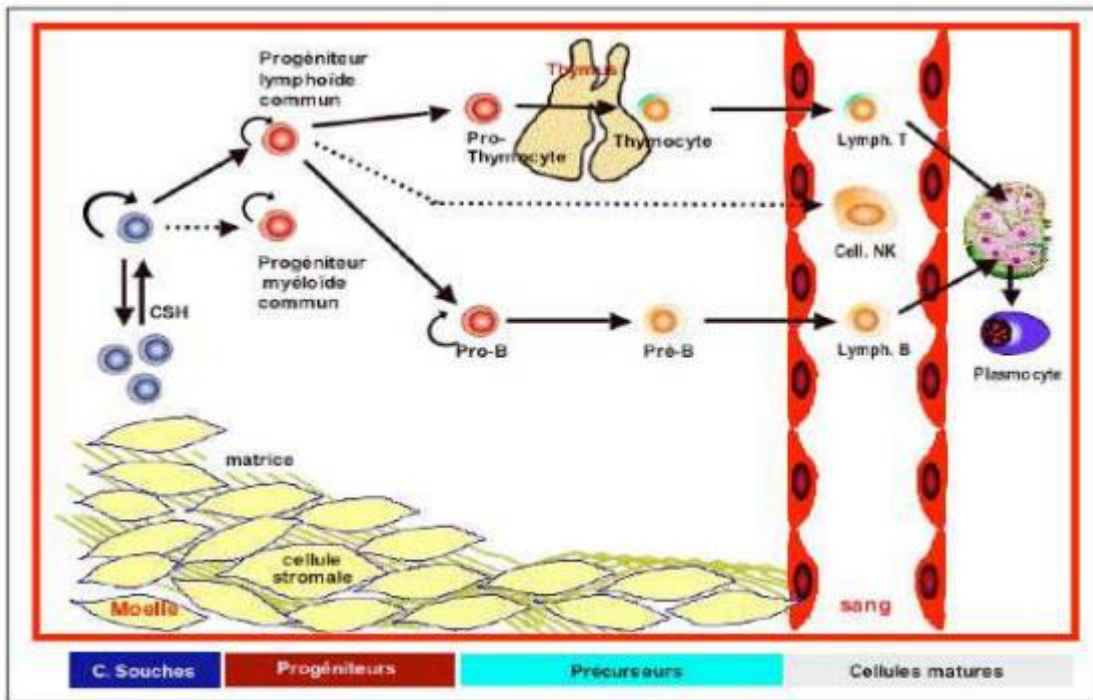


Figure 1 : Processus de formation d'un plasmocyte (Diawara. C, 2014)

Après avoir quitté la moelle osseuse, la rencontre du lymphocyte B avec l'antigène, dans les ganglions lymphatiques régionaux, initie une série supplémentaire de différenciations de lymphocytes B aboutissant à la production des immunoglobulines. En effet, suite à l'interaction entre le lymphocyte B et le lymphocyte T spécifique à l'antigène, la commutation isotypique mène à la substitution des IgM initiaux par des IgG, IgA ou des IgE de haute affinité. Le rôle initial fondamental des IgM réside dans la liaison avec les agents pathogènes intravasculaires et dans l'activation du complément, tandis que la réponse immunitaire secondaire, caractérisée par la production des immunoglobulines type IgG, IgA et IgE, est nécessaire pour une protection continue et efficace contre les agents pathogènes invasifs. Les IgA accomplissent de multiples fonctions dans la défense des muqueuses. Dans le milieu extravasculaire, les IgG constituent la clé effectrice du processus d'opsonisation et d'activation du complément. Les IgE sont impliquées dans la défense contre les parasites. La production des IgG de haute affinité constitue un pilier dans la réussite de la vaccination ainsi qu'une composante capitale de la mémoire immunitaire contre différents agents infectieux. Les troubles résultant d'un déficit dans chacune des étapes citées antérieurement ont des conséquences cliniques plus ou moins graves (Jalila el bakkouri,2014)

3.2. Structure et fonction des immunoglobulines

3.2.1. DEFINITION

Les immunoglobulines, également appelées anticorps, sont des protéines créées contre des antigènes étrangers. Ils forment une partie vitale du système immunitaire car ils favorisent l'élimination des molécules et des organismes étrangers. Ils sont produits par des cellules B différenciée, composée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères

3.2.2. Structure des immunoglobulines

Les Ig possèdent en commun, une structure de base symétrique en "Y" et pluricaténaire comprenant 4 chaînes polypeptidiques :

- 2 Chaînes polypeptidiques dites légères ou L ("Light") identiques. Il existe 2 types de chaînes L : Kappa κ ou Lambda λ .
- 2 Chaînes polypeptidiques dites lourdes ou H ("Heavy") identiques

Les chaînes polypeptidiques H et L sont reliées par des ponts disulfure intrachaînes et inter-chaînes

Les chaînes lourdes et les chaînes légères peuvent être divisées en deux régions basées sur la variabilité des séquences en acides aminés. Ce sont :

1. Les régions Variables (V) ou Fab ("fragment, anti body binding") : (environ 100 - 130 acides aminés) qui reconnaissent l'antigène.
2. Les régions Constantes (C) ou Fc ("fragment, crystalline") : (environ 100 - 130 acides aminés) qui interagissent avec les récepteurs à la surface des cellules. (Marshall et Bangert, 2005).

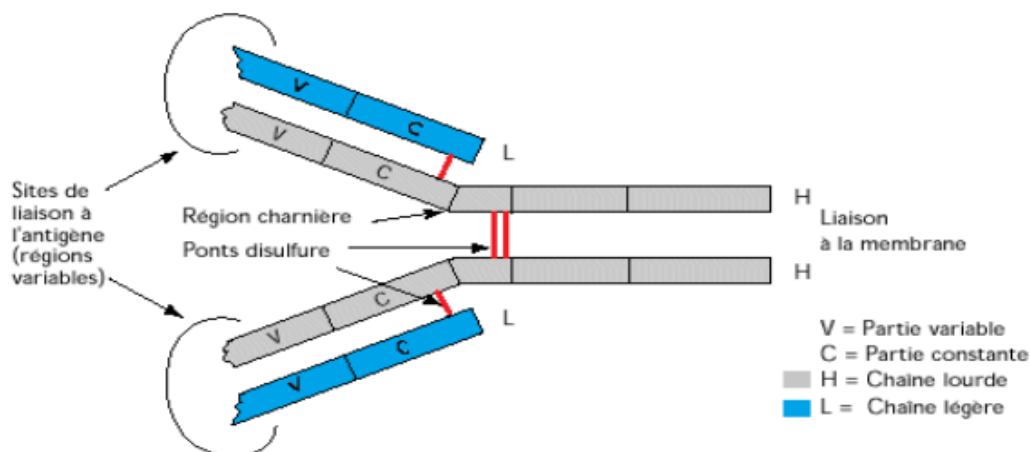


Figure2 : Structure générale d'une immunoglobuline (Bailleux Camille,2016)

• **Domaines constants :**

Les domaines constants sont caractérisés par une séquence en acides aminés très proche d'un Ac à l'autre. Chaque chaîne légère en possède un exemplaire noté CL. Les chaînes lourdes comportent, selon la classe d'Ac, trois ou quatre domaines constants CH1, CH2, CH3 et CH4. Les domaines constants ne sont pas impliqués dans la reconnaissance de l'Ag, mais interviennent dans l'activation du système du complément. Ils possèdent également des sites de liaison aux cellules immunitaires.

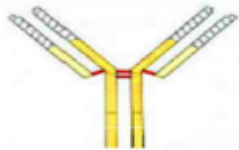
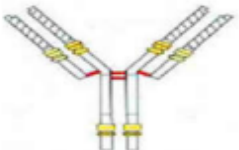
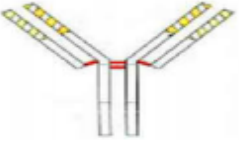
• **Domaines variables :**

Une Ig possède quatre domaines variables situés aux extrémités des deux « bras ». L'association entre un domaine variable porté par une chaîne lourde (VH) et le domaine variable adjacent porté par une chaîne légère (VL) constitue le site de reconnaissance (ou paratope) de l'Ag. Ainsi, une molécule d'Ig possède deux sites de liaison à l'Ag, un au bout de chaque bras. Ces deux sites sont identiques, d'où la possibilité de lier deux molécules d'Ag par l'Ac (Ferrand-poulain,2017)

3.2.3. Variabilité des Immunoglobulines

Les immunoglobulines présentent trois niveaux de diversité illustrés dans le (Tableau 1)

Tableau 1 : Hétérogénéité des immunoglobulines (variations antigéniques) (Bakri, 2012)

Variation isotypique	Variation allotypique	Variation idiotypique
		
<p>Les isotypes correspondent aux déterminants antigéniques des Ig présents chez tous les individus d'une même espèce. Ils sont présents au niveau des parties constantes des chaînes lourdes et des chaînes légères. Ils permettent de définir les classes et sous classes d'Ig.</p>	<p>Les allotypes sont caractéristiques d'un groupe d'individus au sein d'une même espèce et sont transmis héréditairement. Ils correspondent à des déterminants antigéniques portés par les parties constantes des chaînes lourdes et légères.</p>	<p>Les idiotypes sont spécifiques d'un individu. Ils sont spécifiques à un anticorps donné dirigé contre un antigène donné. Les motifs idiotypiques se trouvent au niveau des régions variables. Soit au niveau du site anticorps soit à sa proximité.</p>
Inter-intra-espèces	Intra-espèces	Intra-espèces


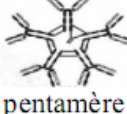
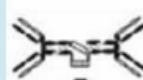


3.2.4. Les classes des Immunoglobulines

Les Ig humaines sont réparties en cinq classes principales qui sont déterminées par le type de chaîne lourde que contient la molécule, on distingue : IgG, IgM, IgA, IgD et IgE.

Dans le cas des IgG et des IgA, il existe en outre des sous-classes : IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4

Ainsi que IgA1 et IgA2. La structure de l'IgG sert de référence structurale (**HORN et al., 2005**).

Tableau 2 : Caractéristiques des différentes classes des Ig humaines (MARSHALL et BANGERT, 2005).

Classe	Poids moléculaire (kDa)	Concentration sérique moyenne (g/l)	Structure	Rôle biologique
IgG (γ)	146	14	 monomère	- Ac principal des RI secondaires - protection du nouveau-né
IgM (μ)	970	1.5	 pentamère	- Ac principal de la RI primaire - reste dans le compartiment vasculaire
IgA (α)	160	3.5	 dimère	- Ac principal des sécrétions séromuqueuses (la salive, le mucus bronchique)
IgD (δ)	184	0.03	 monomère	- à la surface des LB impliquée dans la reconnaissance de l'Ag
IgE (ε)	188	traces	 monomère	- à la surface des mastocytes et des basophiles - rôle dans les réactions d'hypersensibilité immédiate

3.2.5. Rôle des immunoglobulines

Au cours de la réponse immunitaire, les Anticorps ont trois fonctions principales :

- Reconnaître des Ags à la surface de corps étrangers tels que bactéries et virus ou à la surface de cellules tumorales.
- Activer le système du complément.
- Recruter des cellules immunocompétentes.

La présence de domaines extrêmement variable aux extrémités des Ac confère une spécificité aux Igs permettant la reconnaissance et fixation sur un Ag (**Ferrand-poulain, 2017**)

3.2.6. Biosynthèse des immunoglobulines

Les lymphocytes B (LB) naïfs expriment deux classes d'anticorps liés à la membrane, les IgM et les IgD, qui servent de récepteurs d'antigène.

Le contact du LB avec l'Ag se traduit par le phénomène de « transformation lymphoblastique » ; les LB se différencient alors très rapidement en grandes cellules d'aspect blastique qui subissent de nombreuses mitoses et s'enrichissent en réticulum et en ARN cytoplasmiques, donc leur morphologie se modifie et évolue par étapes vers un autre type cellulaire : le plasmocyte ; véritable cellule effectrice de l'immunité à médiation humorale qui synthétise, Stocke et excrète les molécules effectrices de ce type d'immunité : les immunoglobulines (HILLMAN et al., 2007)

3.3. Immunoglobulines monoclonales

3.3.1. Définition

Les immunoglobulines monoclonales constituent une population homogène d'immunoglobulines identiques entre elles, synthétisées par un seul clone de plasmocytes malins, elle est constituée soit d'une seule classe de chaîne lourde et d'un seul type de chaîne légère, soit de chaînes légères isolées d'un seul type, soit beaucoup plus rarement de fragments de chaînes lourdes d'une seule classe (ROITT et al., 1986).

3.3.2. Caractéristiques des Ig monoclonales

a) L'identité structurale

Les immunoglobulines de surface, intracytoplasmiques des cellules du clone et les Ig sécrétées sont identiques et partagent le même domaine variable. Elles sont constituées d'un seul type de chaîne lourde et de chaîne légère (BOULARAN, 2004).

b) L'identité immunologique

Les Ig monoclonale ont les mêmes déterminants isotypiques, allotypiques et idiotypiques. Elles possèdent donc la même activité anticorps (BOULARAN, 2004).

c) L'identité de la configuration des gènes

La biologie moléculaire indique que les gènes codant pour les Ig sont réarrangés de façon identique (BOULARAN, 2004).

d) L'identité de la mobilité électrophorétique

A l'électrophorèse, l'Ig monoclonale se manifeste par un pic étroit correspondant à une homogénéité de charge de l'immunoglobuline à la différence des Ig polyclonales donnant une large bande au niveau des gammaglobulines. Le pic peut être discret ou absent si l'Ig a un PM suffisamment faible pour être éliminé par le rein (chaînes légères)

e) Leur localisation

On les recherche dans le sérum, les urines (chaînes légères : protéine de Bence Jones, et ou Ig entière), associées aux surfaces membranaires des lymphocytes B ou dans le cytoplasme des plasmocytes du clone anormal (**BOULARAN, 2004**).

4. Protéine de Bence Jones

4.1. Définition

Les « protéines de Bence Jones » sont constituées de chaînes légères libres (CLL) monoclonales d'immunoglobulines (Ig), d'isotype Kappa (κ) ou Lambda (λ), de poids moléculaire (PM) 23 000 Da ; elles peuvent être détectées dans le sang et/ou dans les urines (on parle alors de protéinurie de Bence Jones). Ces CLL peuvent ou non se polymériser sous forme de dimères (surtout les CLL λ) voire de multimères (et atteindre ainsi des poids moléculaires élevés jusqu'à 900 kDa) ; elles peuvent également interagir avec d'autres protéines (albumine, α_1 et α_2 globulines).

Toutes ces caractéristiques physicochimiques particulières rendent délicates les techniques à notre disposition pour les rechercher/quantifier dans le sérum et/ou les urines (grande variabilité de migration électrophorétique et/ou de reconnaissance antigénique). (**Journal biomnis,2016**)

4.2. Métabolisme de la protéine de Bence Jones

Les Gènes humains codant pour les chaînes d'immunoglobuline κ et λ sont présentes dans les chromosomes 2 et 22, respectivement, alors que les gènes de toutes les chaînes lourdes sont regroupés sur le chromosome 14. Les chaînes légères et lourdes sont synthétisées indépendamment sur des ribosomes séparés et unies par des liaisons disulfures pendant ou peu de temps après la synthèse des chaînes lourdes, formant une immunoglobuline intacte qui est ensuite sécrétée. (**Journal biomnis,2016**)

4.3. Physiopathologies

Lors de la synthèse d'Ig par les plasmocytes, les chaînes légères (κ ou λ) sont synthétisées en excès (+ 40 %) par rapport aux chaînes lourdes (μ , α , γ , δ , ϵ) pour permettre une conformation correcte de l'Ig complète. La proportion de CLL κ et CLL λ produites est dans un rapport de deux pour un. (**Journal Biomnis,2016**)

Chez l'individu sain, les chaînes légères libres ont une demi-vie sérique de deux à six heures. Elles sont rapidement filtrées et métabolisées par le rein. Les CLL filtrées par le glomérule sont ensuite réabsorbées au niveau du tubule proximal. La capacité de réabsorption tubulaire proximale est estimée entre 10 et 30 g/j. Finalement, 1 à 10 mg de CLL sont sécrétés

quotidiennement au niveau du tubule distal puis éliminées dans les urines. (L. Guenet *et al.*, 2007)

Dans le cadre d'une insuffisance rénale, il va y avoir une accumulation des 2 isotypes de CLL ; dans le cadre d'une hémopathie à sécrétion de CLL monoclonales, il n'y aura accumulation que d'un seul des 2 isotypes.

Ces CLL produites en excès vont alors précipiter au niveau du tube distal et entraîner une insuffisance rénale ou une aggravation de cette dernière. L'excès de CLL circulantes va parfois avoir un effet délétère en se déposant au niveau tissulaire, entraînant un risque important de complications multiviscérales (amylose AL, maladies de dépôts de CLL, neuropathies ...). (Journal Biomnis,2016)

5. Gammopathies monoclonales

4.1. Notion terminologique

Les immunoglobulinopathies monoclonales sont de façon générale improprement nommées gammopathies monoclonales, en raison de la migration sélective de la majorité des Ig en zone γ (figure 3). En effet, certaines Ig peuvent migrer en zone β ou α_2 , etc. Par ailleurs dans la zone γ , on peut retrouver des protéines qui ne sont pas des Ig comme la protéine C-réactive (CRP) par exemple.

Il s'agit des pathologies pouvant être bénignes ou malignes. Leur dénominateur commun est la présence d'une protéine dite M pour monoclonale dans le sang ou dans l'urine. (J. MUHANOKA,2017)

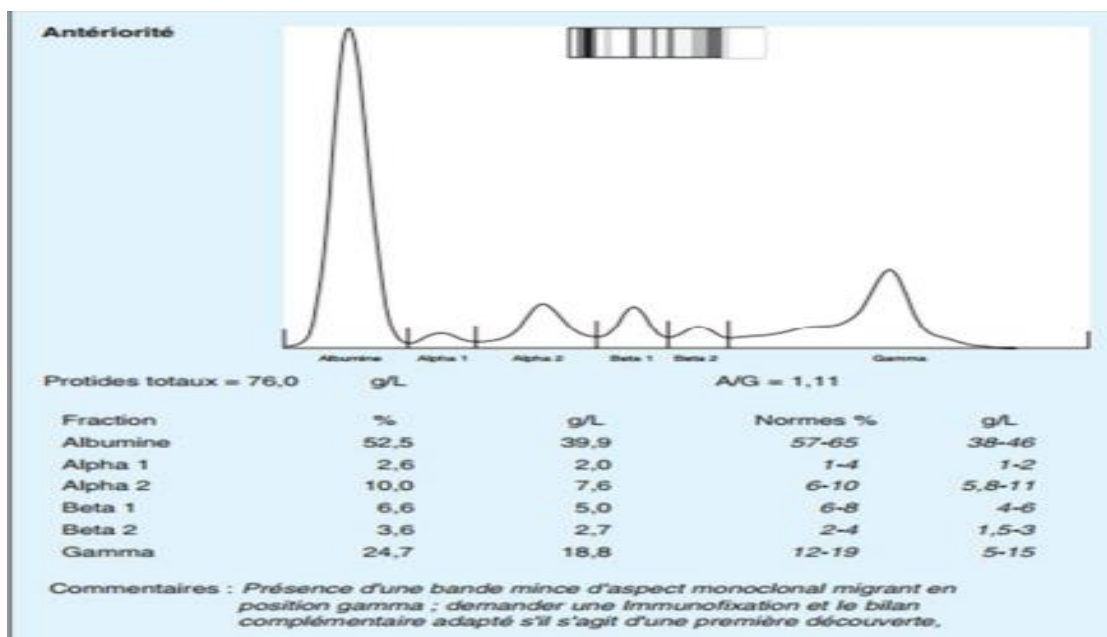


Figure 3 : Protéinogramme illustrant un profil de gammopathie monoclonale avec une IgM migrant en position gamma

5.2. Différents niveaux d'expression des gammopathies

Les termes « gammopathie monoclonale » ou « immunoglobulinopathie monoclonale » font référence à la notion de présence au niveau périphérique d'Ig dites « monoclonales ».

En réalité, il s'agit d'une appellation par déduction d'un mécanisme physiopathologique complexe. A partir de l'apparition d'un clone cellulaire malin, plasmocyte voire lymphocyte B, on observe une conséquence au niveau périphérique qui est la présence d'Ig produite par ce clone malin (figure4)

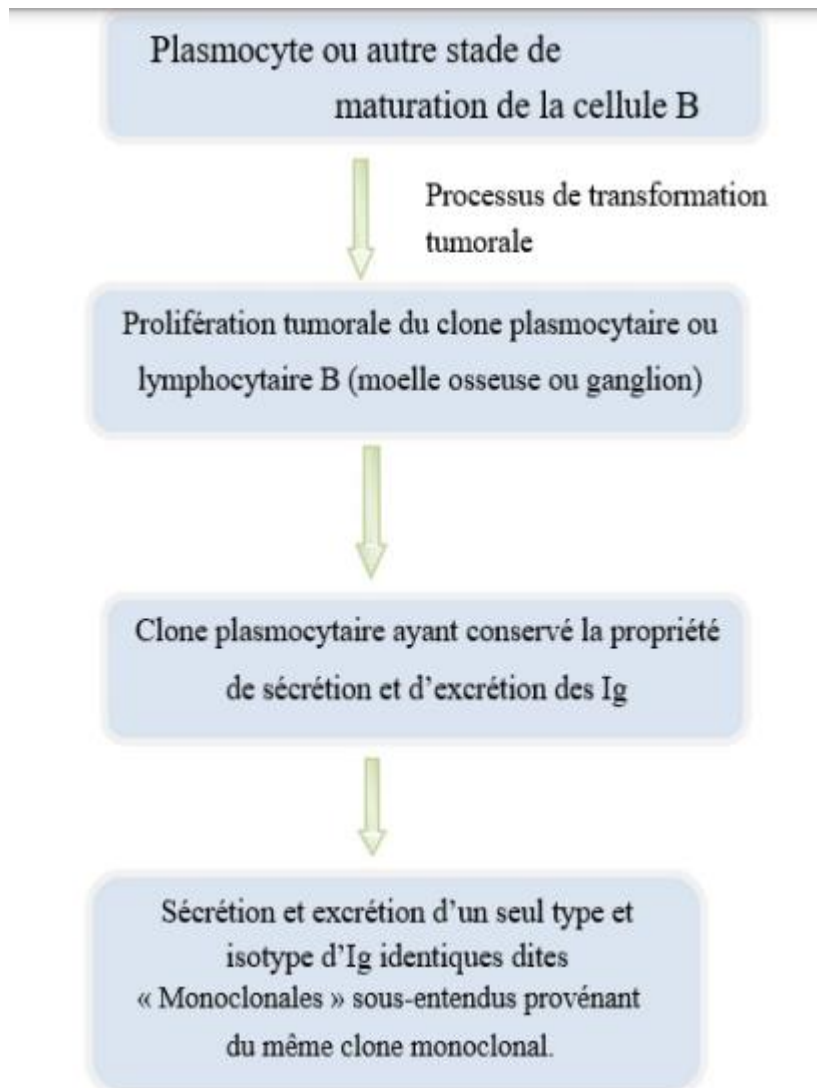


Figure 4 : Mécanisme général de synthèse d'une Ig monoclonale

5.3. Classification

La présence de signes cliniques évocateurs ou la découverte fortuite d'un pic monoclonal à l'électrophorèse des protéines impose la réalisation d'examens complémentaires afin de classer la gammopathie monoclonale, qui peut être « bénigne » ou maligne.

5.3.1. Gammopathies monoclonales dites « bénignes »

5.3.1.1. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI)

La gammopathie monoclonale de signification indéterminée ou Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) pour les anglo-saxons est la plus fréquente des gammopathies monoclonales (**Pham BN et al., 2003**). Elle est caractérisée par une protéine monoclonale sérique à taux relativement faible ; une faible plasmocytose médullaire et l'absence stricte de signes cliniques (**Vekemans MC et al., 2013**).

La prévalence des MGUS augmente avec l'âge et est rencontrée dans 3 % de la population générale de plus de 50 ans et jusque 5 à 10 % chez les personnes de plus de 80 ans. (**N. Meuleman et al., 2018**)

La GMSI doit être considérée non pas comme une maladie authentiquement bénigne mais comme une situation pré-maligne (**Pham BN et al., 2003**) dont l'évolution vers une pathologie maligne peut apparaître après parfois de très nombreuses années, le risque de transformation maligne est estimé à 15% à 10 ans et 30% à 20 ans (**Janvier M,2008**). Cela impose l'instauration d'une surveillance clinique au long cours.

On doit distinguer trois types de MGUS :

- MGUS à IgM : Il faudra en plus s'assurer de l'absence d'anémie, de symptômes constitutionnels, d'hyperviscosité, de lymphadénopathie, d'hépatosplénomégalie, ou d'autre dommage d'organe pouvant être attribué à un désordre lymphoprolifératif sous-jacent.
- MGUS non IgM
- MGUS à chaînes légères : On retrouvera un ratio des chaînes légères anormales κ/λ ($<0,26$ ou $>1,65$), et un taux augmenté de la chaîne légère libre impliqué. (**Rajkumar SV et al.,2010**)

5.3.1.2. Gammopathies monoclonales associées à une pathologie non lymphoïde

Maladies infectieuses : infections virales aiguës Bénignes (cytomégalovirus, virus d'Epstein-Barr, rougeole, etc.) ou infection à VIH qui s'accompagne d'une gammopathie monoclonale dans 3 à 5% des cas (**P. Chaïbi et al., 2002**).

Maladies auto-immune : Polyarthrite rhumatoïde, lupus Érythémateux aigu disséminé, les polymyosites, la sclérodermie, l'hépatite chronique active (**Zandecki M et al., 2000**).

Néoplasie (carcinome des voies biliaires, de la vessie, du Sein, du foie, du poumon, de l'ovaire, de la prostate, de l'utérus, mélanome malin, angiosarcome).

5.3.2. Gammopathies malignes (liées à une hémopathie)

5.3.2.1. Myélome multiple

5.3.2.1.1. Définition

Le myélome multiple (MM) ou Maladie de Kahler est une affection maligne caractérisée par la prolifération clonale de plasmocytes tumoraux envahissant la moelle osseuse, Avec souvent la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale ou un fragment d'immunoglobuline monoclonale (chaîne légère libre) (Y. EL KHALIFA ,2017)

Cette maladie doit son nom au médecin autrichien Otto Kahler qui l'a décrite pour la première fois il ya une centaine d'années. Le myélome multiple représente 80 % des gammopathies monoclonales malignes et environ 10 % à 15% des cancers hématologiques, ce qui le situe au deuxième rang par ordre de fréquence après les lymphomes. (**International Myeloma Foundation.,2008/2009**)

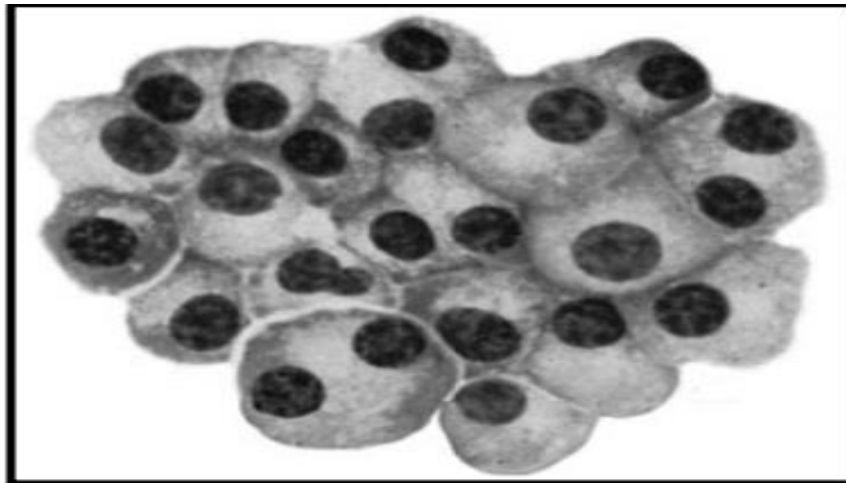


Figure 5 : Plasmocytes (Cellules Myélomateuses)

5.3.2.1.2. Physiopathologie

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

L'interleukine-1 β (IL-1 β) sécrétée par les plasmocytes myélomateux. Les plasmocytes ne produisent jamais d'IL-1 β à l'état normal et exceptionnellement lors des GMSI.

L'apparition d'une production d'IL-1 β par les plasmocytes semble être un événement initial et essentiel de l'évolution d'une GMSI vers un myélome (Chaïbi et al., 2000).

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

L'interleukine-6 (IL-6) est principalement sécrétée par les cellules du stroma médullaire. Sa sécrétion est activée par l'adhésion des plasmocytes à celles-ci. L'IL-6 joue le rôle d'un facteur de survie tumorale en inhibant l'apoptose des plasmocytes monoclonaux. Elle stimule aussi la prolifération plasmocytaire et constitue un véritable facteur de croissance tumorale. L'hypothèse d'une sécrétion autocrine d'IL-6 semble aujourd'hui écartée.

Le TGF- β 1 est synthétisé par les plasmocytes myélomateux. Il joue un rôle dans l'immunodéficience humorale et cellulaire des patients atteints de myélome en inhibant les Cellules immunitaires normales (lymphocytes B, T et natural-killer) et les macrophages. De plus, il stimule la production d'IL-6 par les cellules du stroma médullaire (Chaïbi et al., 2000).

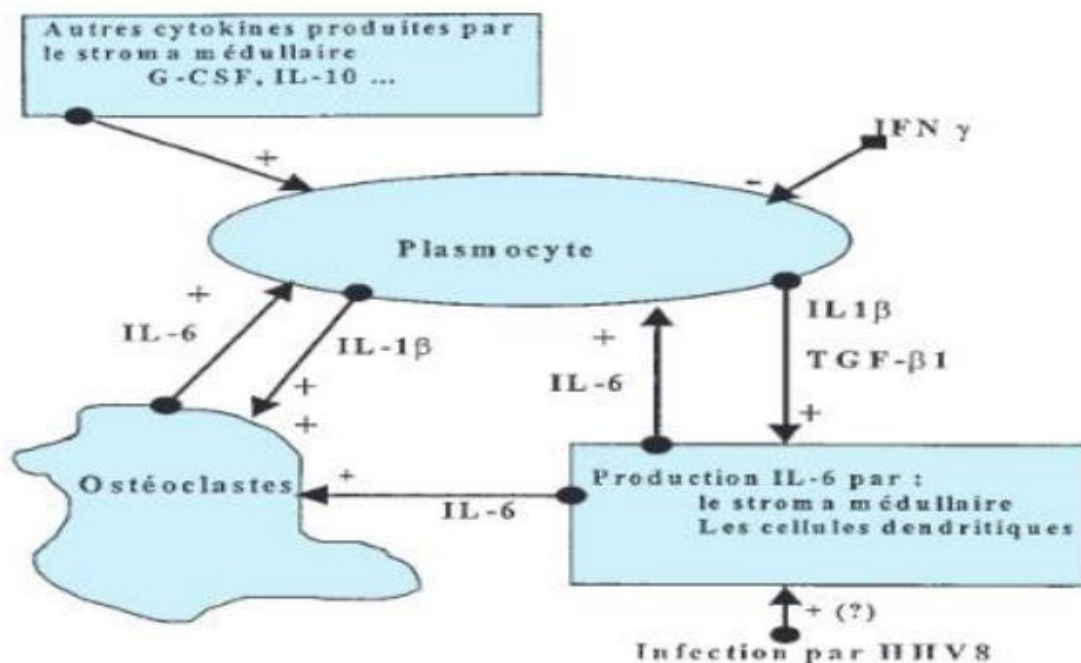


Figure 6 : Physiopathologie du myélome Interactions plasmocyte - stroma médullaire (Chaïbi et al., 2000).

5.3.2.1.3. Oncogenèse

Le myélome multiple résulte de la survenue de plusieurs événements oncogéniques au niveau de la lignée lymphocytaire B. L'Il-6 y joue un rôle crucial car elle induit la différenciation des cellules B en plasmocytes tumoraux et inhibe leur apoptose.

Cette hémopathie se caractérise par l'existence de très nombreuses anomalies cytogénétiques (Tableau 3). Celles-ci sont d'ailleurs incriminées dans les phénomènes de résistance aux traitements.

Tableau 3 : Principaux oncogènes impliqués dans le myélome multiple et leur localisation et Incidence (Sundar J et al.,2014)

Locus	Oncogene	Incidence
11q13	CCND1	15%–20%
6p21	CCND3	5%
4p16.3	FGFR3 and WHSC1	12%
16q23	MAF	5%–10%
8q24	MYC	< 10%
6p25	MUM1/IRF4	5%
20q11	MAFB	5%
1q21-34	BCL9, IL6R, MCL1	Frequent

5.3.2.1.4. Les différents types du MM

a. Formes immunochimique

a.1. Myélome non sécrétant

Chez certaines personnes atteintes d'un myélome multiple, les cellules myélomateuses ne libèrent pas suffisamment de protéines M ou de chaînes légères dans le sang ou l'urine pour être détectées par électrophorèse des protéines (TOUAOUSSA, 2015). Le myélome non sécrétant est le plus trompeur biologiquement (WEILL, 2013).

Par contre, ils ont un taux élevé de plasmocytes monoclonaux dans la moelle osseuse. Ils présentent en outre des plaintes liées au myélome multiple.

Le diagnostic ne peut en être fait que par l'analyse en immunofluorescence directe du frottis médullaire (CHEVAILLER et al., 2001)

a.2. Myélome sécrétant

L'immunoglobuline monoclonale est détectée dans 99% des cas de myélome multiple : IgG 50–60%, IgA environ 20%, chaînes légères 15%, IgD 2%, gammopathie biclonale 1%. Une protéinurie de Bence-Joncs est présente dans 75% des cas. Les myélomes multiples à IgE sont exceptionnels (BAUR CHAUBERTA et al., 2005).

➤ **Myélome à chaînes légères**

Le myélome à chaînes légères (10 à 20 % des cas) (WEILL, 2013). Cette entité clinique se définit par une augmentation de la concentration de CLL (κ ou λ), un rapport κ/λ perturbé et une absence d'expression de chaîne lourde monoclonale (RIVIER, 2012).

➤ **Myélobes à isotype d'immunoglobuline rare**

Il s'agit, des myélobes à IgD (2 % des cas) et d'exceptionnels myélobes à IgM ou IgE. Il existe aussi des MM biclonaux. Dans certains cas, l'immunoglobuline monoclonale précipite ou forme un gel au froid, correspondant à une cryoglobuline de type I (immunoglobuline monoclonale isolée) ou de type II (immunoglobuline monoclonale et IgG polyclonales) (WEILL, 2013).

b. Formes cliniques

➤ **Myélome multiple indolent**

Le MM latent ou indolent est aussi appelé myélome asymptomatique puisqu'il n'engendre pas du tout de signes cliniques (TOUAOUSSA, 2015), (pas d'atteinte d'organe selon les critères CRAB) (ZANDECKI, 2006). Ce type de myélome se situe entre la MGUS et le MM symptomatique.

Le myélome multiple latent ou indolent peut être classé comme un myélome multiple de stade I si les caractéristiques sont les mêmes (TOUAOUSSA, 2015).

➤ **Myélome multiple symptomatique**

Nécessite une plasmocytose médullaire $\geq 10\%$, un pic Ig > 30 g/l, et l'atteinte d'au moins un organe, selon les critères CRAB (ZANDECKI, 2006).

5.3.2.1.5. Evolution et complications

Le myélome est une maladie grave. Il existe cependant des formes avec une faible masse tumorale, pouvant rester asymptomatiques (sans signe apparent) pendant des années.

Le myélome peut se compliquer :

- d'infections ; en effet, la présence d'une immunoglobuline en très grande quantité inhibe la synthèse normale des autres immunoglobulines, ce qui ne permet plus au corps de faire face aux agents infectieux, qui sont une cause majeure de mortalité.
- de troubles osseux : douleurs, fractures, tassement vertébral, etc.
- d'insuffisance rénale, surtout en cas de protéines à chaînes légères .
- de troubles neurologiques : compression de la moelle épinière après un tassement vertébral, atteinte des nerfs, épidurite.

- d'anémie microcytaire et de thrombopénie (diminution du nombre de plaquettes sanguines pouvant causer des hémorragies), par de multiples mécanismes, dont insuffisance médullaire : déficit de la production par la moelle.
- Une gammopathie monoclonale bénigne ne comporte ni anémie, ni lésion osseuse, ni complication viscérale (**Br J Haematol,2003**). Comme son nom l'indique, elle n'a pas du tout le même caractère de gravité que le myélome et ne requiert qu'une simple surveillance.

La stratification de la maladie peut être faite suivant différents critères. Celle de Durie et Salmon a été employée jusqu'en 2005. Elle a été remplacée alors par une classification internationale (**Greipp PR et al., 2005**).

5.3.2.1.6. Circonstances de découverte

Le myélome multiple est une maladie très « polymorphe », et toutes les disciplines médicales peuvent être confrontées aux manifestations d'un myélome non connu :

- Signes ostéoarticulaires : douleurs osseuses, fractures, etc
- Complications neurologiques : radiculalgies symptomatiques, compressions médullaires, syndrome de la queue de cheval, etc.
- Signes hématologiques : anémie.
- Insuffisance rénale aigue.
- Infections bactériennes récurrentes, hypercalcémie symptomatique, VS accélérée ou anomalie à l'électrophorèse des protéines sériques (EPS)
- Altération de l'état général : asthénie, amaigrissement, fébricule. (**Cofer 2016**)

Le diagnostic est posé chez un patient asymptomatique, par le biais d'une électrophorèse des protéines sériques (EPS) pratiquée de routine ou lors de l'investigation d'une anémie, d'une vitesse de sédimentation (VS) élevée ou d'une insuffisance rénale.

Le myélome peut également être suspecté : lors d'un examen d'imagerie (radiographie, scanner, IRM), réalisé pour une autre affection suggérant des lésions ostéolytiques ou d'allure tumorale. (**Charlot-Lambrecht I et al., 2011**)

5.3.2.1.7. Diagnostic

Il est nécessaire lors du diagnostic de myélome multiple de distinguer les formes Symptomatiques des formes asymptomatiques. Cette distinction est cruciale puisqu'à ce jour seul le myélome multiple symptomatique est pris en charge par un traitement spécifique.

Un myélome est considéré comme symptomatique dès lors qu'il y a présence d'au moins un des critères CRAB, sont des paramètres indépendants de la symptomatologie clinique et permettent de définir les atteintes organiques causées par la maladie. (Manier S et al., 2011)

Tableau 4 : Critères CRAB et fréquence au diagnostic de chaque critère

C	Hypercalcémie (taux sérique de calcium $\geq 2,75$ mmol/L ou plus de 0,25 mmol/L au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle de référence)
	Fréquence au diagnostic : 13%
R	Insuffisance rénale (créatininémie ≥ 177 μ mol/L)
	Fréquence au diagnostic : 19%
A	Anémie (taux sérique d'hémoglobine ≤ 100 g/L ou plus de 20 g/L en dessous de la limite inférieure de l'intervalle de référence)
	Fréquence au diagnostic : 72%
B	Lésions osseuses : lésions osseuses lytiques ou ostéoporose avec fractures et compression
	Fréquence au diagnostic : 80%
Autres	Infections bactériennes récurrentes (plus de 2 épisodes en 2 mois), amyloïdose, hyperviscosité symptomatique

Evolution et Pronostic :

Evolution

- ✓ La réponse aux traitements : critères de réponse IMWG
- ✓ La survenue du décès en précisant les circonstances
- ✓ Le nombre de perdus de vue.

Pronostic

- ✓ Facteur de mauvais pronostic : masse tumorale élevée, taux élevé de la β_2 microglobuline, du LDH et de la CRP, et un taux bas de l'albumine.
- ✓ Score ISS
- ✓ Existence d'anomalies cytogénétiques (EL KHALIFA YOUSSEF, 2017)

5.3.2.1.8. Traitement

Pour le MM asymptomatique aucun traitement n'est recommandé, et seule une surveillance est préconisée : une surveillance clinique et biologique régulière (EPS, IF dans les urines, NFS, calcémie, créatininémie) tous les deux à trois mois puis de manière semestrielle pendant un an puis annuelle si les résultats restent stables.

Pendant des années, le traitement du MM était basé sur des agents alkylants(Melphalan) et la corticothérapie. Le MM reste encore une maladie incurable, toute fois, sa prise en charge a connu ces dernières années de progrès thérapeutiques par le développement de nouveaux agents (Thalidomide, Lénalidomide, Bortézomide, Pomalidomide) qui ont amélioré nettement le pronostic de la maladie. **(Leleu X et al., 2013)**

Le traitement par Melphalan+ Prednisone (MP) est le traitement de première ligne et de référence du myélome chez les sujets de plus de 65 ans avec 53 % de patients répondeurs.

Pour les patients âgés de moins de 65ans, l'autogreffe de cellules souches périphériques suivi d'une chimiothérapie myéloablative est actuellement le traitement de référence et elle est souvent précédée par un traitement d'induction par le VAD : vincristine-adriamycine-dexaméthasone (60% de réponses avant greffe). **(Foiquet G et al., 2015)**

5.3.2.2. Les variantes de myélome multiple

5.3.2.2.1. POEMS syndrome

C'est une affection multi-systémique. POEMS syndrome pour Polyneuropathie, organomégalie, endocrinopathie, composant monoclonal, atteinte cutanée. D'autres symptômes sont rapportés : Œdème papillaire, anasarque, fièvre, sueur, hippocratismes digital, atteinte rénale, oblitération artérielle, hypertension artérielle pulmonaire, thrombocytose, polyglobulie. Il s'agit d'une maladie rare mais fortement évolutive, avec comme principal signe la présence d'une neuropathie sensitivo-motrice accompagnée d'une I monoclonale le plus souvent IgG L ou IgA L, généralement en quantité faible et sans activité anticorps ni dépôt au niveau des tissus **(Anthony-Charles NZEPA thèse,2020)** L'Ig monoclonale est une MGUS, soit lié à un myélome ou un plasmocytome On retrouverait également constamment une augmentation du facteur VEGF. Les Interleukines IL-1 / IL-6 seraient également possiblement impliqués dans la physiopathologie sans grande certitude. On la retrouve souvent chez les hommes entre 40-50 ans avec un délai diagnostique qui est assez long (14 mois). Au niveau biologique, sachant que la dyscrasie plasmocytaire est constante dans cette pathologie, on retrouve un pic étroit à l'électrophorèse des protéines, souvent constitué de chaînes légères. L'analyse par Immunotypage/immunofixation + recherche de chaînes légères dans les urines révèle l'Ig monoclonale quasiment toujours de type L, associée ou non à une Ig complète. **(Dispenzieri et al., 2003).**

5.3.2.2.2. Plasmocytomes solitaire

Le plasmocytome solitaire est une forme rare de tumeur plasmocytaire qui concerne moins de 10% des cas d'hémopathies plasmocytaires. Une évolution, dans un délai de 5 ans en moyenne, vers le myélome multiple est fréquente.

Deux types de lésions peuvent être distingués dans le plasmocytome solitaire :

Celles qui sont osseuses et qui touchent majoritairement les hommes à un âge médian de 55 ans. Lors du diagnostic, il est retrouvé une lésion ostéolytique unique, trabéculaire, sans prolifération clonale en dehors du site osseux. Les signes biologiques sont rares, voire absents, et l'immunoglobuline monoclonale s'élève à un taux inférieur par rapport au myélome multiple. Le diagnostic repose sur l'étude de la biopsie de la lésion. Une évolution vers le myélome multiple a lieu dans un délai allant de 2 à 15 ans après le traitement par radiothérapie dans 50 à 60% des cas (**Charlot-Lambrecht et al,2011**). On considère que les plasmocytomes solitaires osseux sont une forme précoce de myélome multiple. La médiane de survie est faible puisqu'elle n'excède pas, en moyenne, les 10 ans.

Et celles qui sont extra-osseuses. Il s'agit de formes tumorales se développant au niveau du système respiratoire supérieur (fosses nasales, amygdales, nasopharynx, sinus) ou du système digestif. Le pronostic est meilleur que pour les lésions osseuses et le traitement repose sur l'utilisation d'une radiothérapie localisée. (**Facon T et al., 2003**)

5.3.2.2.3. Amylose AL

a. Définition

L'amylose AL (AAL), A pour amylose et L pour chaîne légère d'Ig, représente une prolifération monoclonale touchant des cellules B bloquées à un stade de différenciation plasmocytaire avec sécrétion d'IgM au niveau médullaire. Il s'agit de toute ou partie de la structure d'IgM capable de précipiter au niveau extracellulaire dans différents organes sous forme fibrillaire insoluble : on parle de substances amyloïdes. Cette dernière, une fois déposée, engendre une toxicité des tissus. (**Bradwell A,2006**) (**Jaccard A,2015**)

L'extension des dépôts permet également de distinguer deux formes de l'AAL. L'AAL localisée résulte du dépôt pathologique des protéines fibrillaires à chaînes légères produites par une prolifération lymphoplasmocytaire monoclonale. En revanche, l'AAL systémique du type AL résulte de la production intramédullaire d'immunoglobulines pathologiques qui sont déposées dans différents tissus (**Haddad F et al., 2010**).

L'AAL est principalement causée par l'accumulation des CLL λ qui sont : 2 à 4 fois plus fréquentes que celle des CLL κ demeurant l'apanage de la maladie de Randall (**Jaccard A et al.,2004**)

b. Manifestations cliniques

Les signes cliniques sont nombreux et variés. Loin d'en faire un rapport exhaustif, tous les organes peuvent être atteints. Les atteintes cardiaques et rénales sont au premier rang de l'AAL. Leurs taux respectifs sont de 67% et de 60 % des patients avec AAL au diagnostic.

(Estelle Desport et al., 2011). D'autres manifestations typiques telles que la macroglossie, l'hématome périorbitaire et la pseudo-hypertrophie musculaire sont relativement rares. Une atteinte des nerfs périphériques ou du système nerveux est présente chez environ 20 % des patients. Les atteintes cutanées (purpura, ecchymoses...), gastro-intestinales (motilité digestive, malabsorption...), spléniques et hépatiques sont également observées. Les dépôts pulmonaires sont souvent associés à une Igm d'isotype IgM (Estelle Desport et al., 2011)

c. Signes biologiques

Au point de vue biologique, l'AAL avec insuffisance rénale est caractérisée par une protéinurie glomérulaire quasi-constante, avec un syndrome néphrotique dans plus de la moitié des cas, habituellement sans hématurie microscopique. Il existe une protéinurie de Bence-Jones chez 70 % des patients, le plus souvent de type λ (Jourde-Chiche N et al., 2010). Si l'AAL est associée au MM, on peut observer une hyperprotidémie accompagnée d'une VS élevée, d'une hypo- γ -globulinémie et d'un pic monoclonal à l'électrophorèse (Roca F et al., 2011).

L'étude anatomo-pathologique est basée sur la biopsie non invasive de glandes salivaires accessoires ou de la graisse abdominale positives à la coloration du Rouge-Congo (Bridoux F et al., 2012). La biopsie rénale démontre des dépôts amyloïdes prédominant dans le glomérule, au niveau du mésangium, le long de la membrane basale glomérulaire et des vaisseaux.

5.3.2.2 Maladie de Waldenström

a. Définition

La maladie de Waldenström (MW) est un syndrome lymphoprolifératif chronique caractérisé par une infiltration lymphoplasmocytaire de la moelle osseuse et une immunoglobuline monoclonale sérique de type IgM.

La MW est considéré comme un lymphome lymphoplasmocytaire (LPL) dans la classification de l'OMS. La plupart des cas de LPL sont des MW, moins de 5 % des cas sont associés à une immunoglobuline monoclonale de type IgG, IgA ou sont non sécrétants. (Véronique. L et al., 2013)

b. Critères de diagnostic

Les critères diagnostiques de la maladie de Waldenström sont la présence de :
L'infiltration de la moelle osseuse par une population monoclonale de lymphoplasmocytes constituée de lymphocytes, de lymphoplasmocytes à différenciation plasmocytaires ou plasmocytoides et de plasmocytes.

L'infiltration intratrabéculaire sur biopsie de la moelle osseuse.

L'expression des marqueurs de surface membranaire : IgM +, CD19 +, CD20 +, CD22 +, FMC7+, CD38+, CD25+, CD27+, CD5 ±, CD23±, CD10-, CD103-, CD138-. (Asma BELLOUCH.2021)

c. Classification

Il existe 3 types des macroglobulinémies de Waldenström :

1. Les macroglobulinémies de Waldenström avérées et symptomatique à traiter, pour limiter les complications, non seulement de la prolifération lymphoïde (insuffisance médullaire, compression)
2. Les macroglobulinémies de Waldenström symptomatique et dans la concentration d'IgM est faible, en n'envisage de traité 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 monoclonale sans prolifération lymphoïde décelable, « de signification indéterminée » (**Jaccard.B et al.,2002**)

d. Traitement

La macroglobulinémie de Waldenström (MW) est un lymphome lymphoplasmocytaire rare. L'objectif principal du traitement est de réduire les symptômes liés à l'infiltration directe de la moelle osseuse et de diminuer les complications associées aux IgM monoclonales. Les agents alkylant ses premières thérapies utilisées dans le traitement de la MW•ils sont limités par leurs profils de toxicité et leurs effets néfastes sur la récolte future de cellules souches, les thérapies basées sur les inhibiteurs du protéasome et les thérapies basées sur les inhibiteurs de la tyrosine kinase de Bruton.MYD88L265P et CXCR4 le statut génétique sont essentiels pour adapter les options de traitement. L'ibrutinib est une option de traitement appropriée pour les patients naïfs de traitement et les patients MW en rechute. Les progrès récents dans les voies de signalisation des cellules B intracellulaires et des cytokines ont contribué au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. (**Christophe N et al.,2021**)

5.3.2.3. Autres hémopathies

D'autres hémopathies peuvent s'accompagner d'une Ig monoclonale comme certains types de lymphomes non Hodgkiniens, notamment le lymphome de Burkitt et les lymphomes de MALT et de la zone marginale, ainsi que la leucémie à tricholeucocytes (**Pham BN et al., 2003**).

5.4. Diagnostic biologique d'une immunoglobuline monoclonale

Le diagnostic biologique d'une Ig monoclonale repose sur l'analyse conjointe des protéines dans le sérum et les urines afin d'affirmer son homogénéité de charge et d'isotype.

- **Électrophorèse des protéines sériques L'EPS**

Est une étape indispensable pour le diagnostic d'une GM. L'Ig monoclonale est représentée sur le tracé électrophorétique par un pic à base étroite symétrique et homogène migrant le plus souvent dans la zone des gamma globulines parfois dans la zone des bêta globulines et plus rarement dans la zone des alpha 2 globulines. **(Janvier M, 2008)**

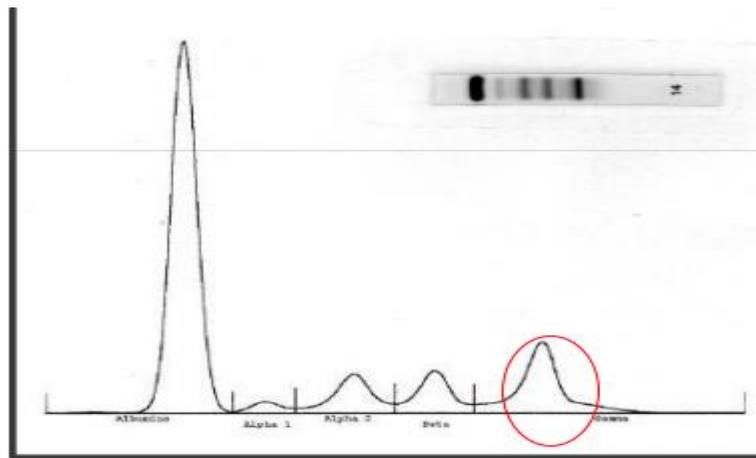


Figure 7 : Résultat d'une électrophorèse des protéines sériques montrant un pic étroit au niveau de la zone gamma (entourée)

- **Immunotypage**

L'IEP est la technique de référence. Elle permet d'identifier les constituants d'un mélange en fonction de leur mobilité électrophorétique et leur spécificité antigénique. En effet, l'IEP permet de confirmer la clonalité de la bande visualisée à l'EPS et de typer l'Ig monoclonale pour sa chaîne lourde et pour sa chaîne légère. **(Retornaz F et al., 2010)**

L'IF est actuellement la technique la plus utilisée. La présence d'une Ig monoclonale se traduit par une bande étroite révélée avec un antisérum anti-chaînes lourdes, associée à une bande étroite révélée avec un antisérum anti-chaînes légères (Figure1). L'IF est une technique rapide, d'exécution simple et automatisable. La résolution de cette méthode permet de mettre en évidence des Ig monoclonales en petites quantités dans le sérum, difficiles à repérer en IEP mais elle ne permet pas de quantifier le composant monoclonal contrairement à l'EPS **(Manier S et al., 2011)**

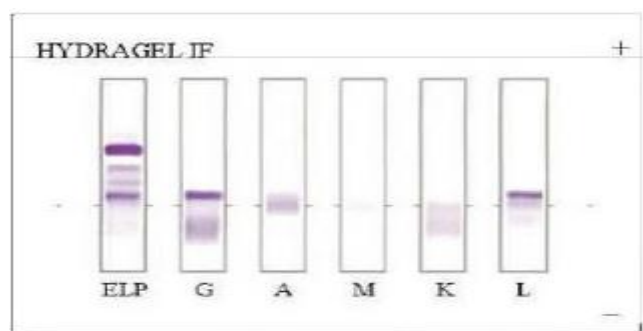


Figure 8 : résultat d'une immunofixation sérique montrant la présence d'une bande homogène migrant au même niveau dans la piste ELP (électrophorèse), G (anti-chaine gamma), L (anti-chaine lambda). Il s'agit donc d'une immunoglobuline monoclonale complète IgG à chaîne légère lambda

1. Technique de dosage

Lors de toute suspicion de gammapathie monoclonale il est impératif de coupler l'analyse immunoélectrophorétique des urines à celle du sérum. Seule cette analyse conjointe permet d'identifier avec certitude la présence d'une protéine de Bence Jones (chaîne légère libre monoclonale de même type que l'immunoglobuline monoclonale sérique, qu'elle soit complète ou uniquement composée de chaîne légère), qui peut n'être détectable que dans les urines.

La recherche d'une protéinurie, surtout avec la technique des bandelettes, n'est pas un moyen valable de dépistage d'une anomalie monoclonale des Ig (PBJ). La quantité de protéines due à une PBJ est souvent modérée, mais surtout le principe de la mise en évidence des protéines dans les urines par les bandelettes (mesure du pouvoir tampon des protéines) est pris en défaut par certaines PBJ. (Retornaz F et al., 2010)

1.1. Principe de dosage de Protéinurie de Bence-Jones

On travaille sur des urines concentrées de 24 heures pour améliorer les conditions techniques de recherche de protéinurie de Bence-Jones. Après avoir réalisé une électrophorèse des protéines urinaires, le typage du composant monoclonal est effectué par immunofixation, le niveau de détection de l'immunofixation étant particulièrement intéressant pour l'analyse immunochimique des urines. Cependant, l'interprétation de l'immunofixation est parfois délicate. Les chaînes légères libres polyclonales sont sans signification pathologique. Aussi ne faut-il pas confondre chaînes légères libres polyclonales et chaînes

légères libres monoclonales (protéinurie de Bence-Jones) (**HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ – 2006**)

1.2. Électrophorèse des protéines urinaires

L'électrophorèse des protéines urinaires (EPU) est encore actuellement la technique de référence pour l'étude d'une protéinurie pathologique (**Dejoie. T et al.,2016**)

Il est recommandé de réaliser cet examen sur un échantillon d'urines de 24 heures. Un échantillon urinaire obtenu sur une miction pourrait être utilisé pour le dépistage d'un CM dans les urines. Elle repose sur la séparation des protéines urinaires en fonction de leur charge électrique (en gel d'agarose ou par EC) ou de leur poids moléculaire (gel d'agarose hautement réticulé avec dénaturation au SDS). Dans les deux cas, les résultats obtenus doivent être confrontés à ceux du sérum pour une interprétation correcte (**Raidelet.L et al.,2013**)

Dans le cadre d'une suspicion de GM, l'EPU permet de mettre en évidence la présence d'une Igm et/ou de chaînes légères libres (CLL) monoclonales (**Nel. I et al.,2017**)

Cette technique présente un intérêt dans le diagnostic du myélome multiple à chaînes légères (MCL). En effet, ces MM secrètent exclusivement des chaînes légères monoclonales qui sont rapidement éliminées dans les urines. Ainsi, il est plus difficile de caractériser, de façon exhaustive, les chaînes légères par l'analyse isotypique des Ig du sérum. De plus, dans le cadre de ces maladies lymphoplasmocytaires, l'interprétation du profil électrophorétique fournira des informations importantes sur la fonction rénale glomérulaire mais particulièrement tubulaire. La toxicité des CLL sur le tubule proximal est très importante et conduit rapidement à l'IR (**Asma BELLOUCH, 2021**)

1.3. Immunofixation des protéines urinaires

L'IF urinaire est principalement utilisé pour identifier les Igm dans les urines, Igm complète et/ou CLLm (PBJ) K ou λ . Cette technique est également applicable pour la recherche et le typage d'une PBJ avec ou sans concentration préalable.

Le principe de l'IF urinaire est similaire à celui de l'IF des protéines sériques. Les protéines sont séparées en tampon alcalin (pH=9,1) puis immuno-précipitées par les antisérums des différentes spécificités : antisérum trivalent anti-chaînes lourdes (GAM), anti-chaînes légères totales kappa et lambda (libres et liées) et anti-chaînes légères libres K et λ .

Après immunofixation, les protéines sont colorées par une solution de violet acide. L'excès de colorant est éliminé en milieu acide (**Asma BELLOUCH,2021**)

Les avantages de l'IF sont nombreux : c'est une technique résolutive, simple, pratique, rapide (délai de réponse en 3h), très sensible (0.5 à 1 g/l), spécifique et d'interprétation facile (**Asma BELLOUCH ,2021**)

L'immunofixation ne permet cependant pas la quantification du composant monoclonal. Par conséquent, les deux techniques sont complémentaires et sont utilisées en même temps : l'électrophorèse pour détecter et quantifier une protéine monoclonale et l'immunofixation pour la typer. (International Myeloma Foundation. Comprendre L'électrophorèse des protéines. (**International Myeloma Foundation,2011**))

1.4. Intérêt et indication

L'étude de la protéinurie constitue une aide précieuse au diagnostic des atteintes rénales. La protéinurie pouvant résulter de nombreuses conditions pathologiques, il est indispensable d'identifier les principales protéines urinaires afin de typer une atteinte tubulaire, glomérulaire ou mixte, ou de dépister une protéine de Bence Jones.

Avec cette technique, les protéines urinaires et les immunoglobulines monoclonales, marqueurs d'une gammopathie, sont détectées lors de l'électrophorèse des protéines suivie d'une immunofixation, effectuée à l'aide d'anticorps, qui permet l'identification des protéines et des bandes monoclonales dépistées par électrophorèse. (**BrunoBaudin,2020**)

L'IFPU permet de détecter la présence des CLL monoclonales dans les urines (protéines de Bence-Jones) ainsi que des Ig monoclonales complètes

Il s'agit d'un test biologique sensible, reproductible, disponible dans de nombreux laboratoires hospitaliers et un critère biologique utile pour l'exploration, le suivi et la prise en charge des myélomes à chaînes légères, des myélomes peu ou non sécrétant et de l'amylose AL , Leur dosage permet de suivre l'efficacité du traitement et le diagnostic des formes non sécrétrices ou peu sécrétrices ; la rémanence des chaînes légères ou leur réapparition montre l'activité du clone producteur (marqueur sensible de la masse tumorale) ; c'est un facteur pronostique dans les formes indolentes et les MGUS (gammopathies monoclonales de signification indéterminée).(**BrunoBaudin,2020**)



Chapitre II :

*Matériels et
Méthodes*

1. Patients

Lieu et durée du stage

Notre étude rétrospective et analytique établie sur une année de 21 janvier jusqu'au 16 octobre 2020, a été réalisée au sein du laboratoire de l'immunologie cellulaire de l'unité « Hasiba ben Bouali ».et notre stage pratique sur une période de 4 mois allant du mois de mars au mois de juin 2021.

La population étudiée était composée de 418 Sujets. Les patients sont pris en charge pour le diagnostic de gammopathies monoclonale dont l'âge variait entre 24 et 98ans.

Nous avons inclus dans notre étude les patients présentant à l'électrophorèse des protéines urinaire de Bence Jones, une anomalie à l'EPS et/ou l'EPU sous forme de pic monoclonale et/ou hypogammaglobulinémie susceptible d'évoquer une GM.

➤ Les données épidémiologiques:

- Âge.
- Sexe.
- Les données biologique.
- Les composants monoclonal.
- La position beta et gamma.
- PBJ : positive/négative. (**Voir annexe 8**)

2. Matériel

2.1. Matériel non biologique

Le travail a porté sur 418 dossiers de patients durent l'année 2020 suivis au laboratoire de l'immunologie cellulaire de l'unité « Hasiba ben Bouali » La majorité des patients ont présentés un pic monoclonal.

Le matériel utilisé est :

- HELENA SAS-1 Urine analysis
- Appareil d'EP et d'IFx, SAS 1, SAS 2
- Scanner d'électrophorégramme
- Des antisérums polyclonaux monospécifiques
- Différents types de pipettes.

2.2. Matériel biologique

Urine

L'envoi au laboratoire d'un échantillon d'urine issue d'une miction ou de préférence d'un recueil de 24h (impérativement accompagné de valeur de la diurèse) devrait être systématique.

Les urines sont collectées de préférence sur un antiseptique afin d'éviter l'altération des protéines par prolifération bactérienne.

Ces échantillons urinaires sont acheminés au laboratoire puis centrifugés avant d'être analysés.

3.MÉTHODES

Les prélèvements des patients de type urinaire sont adressés au niveau de l'unité d'immunochimie

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

Les paramètres immunologiques étudiés sont :

- Electrophorèse des protéines urinaires.
- Immunofixation urinaire.

3.1. Electrophorèse des protéines urinaires (EPU) :

3.1.1. Principe

Le protocole suivis au niveau de laboratoire d'immunologie de Hassiba ben Bouali, l'électrophorèse permet la séparation des protéines présentes dans les urines. Pendant le test, un courant électrique déplace les protéines à travers une fine couche de gel d'agarose. La distance de déplacement de chacune des protéines dépend de sa taille, de sa forme et de sa charge électrique.

3.1.2 Technique

L'électrophorèse des protéines urinaires sur gel est réalisée par une technique semi automatisée utilisant l'automate HELENA SAS-1 Urine analysis. **(Voir annexe 5)**

L'électrophorèse par le SAS - 1 permet la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (PH=8) sur un gel d'agarose prêt à l'emploi « Electrophoresis Gel ».

HELENA SAS-1 sépare les protéines sériques selon leur charge moléculaire en gel d'agarose.

3.1.3 Mode opératoire

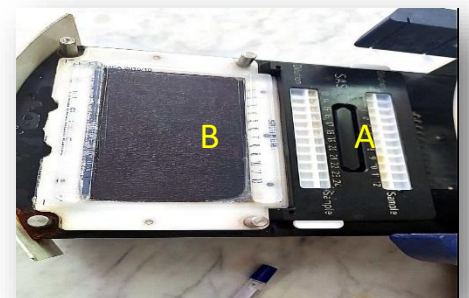
- Pipeter 35µl d'échantillon dans les puits correspondants sur le porte échantillon du SAS1 ou dans les cupules échantillons jetables ;
- Placer avec précaution le porte-échantillon sur le chariot applicateur du SAS-1 ou à l'aide des ergots de guidage de l'embase du SAS-1. S'assurer qu'il est solidement mis en place ;
- Sortir le gel de son emballage protecteur, retirer le film en plastique ;
- Placer le guide d'alignement sur les picots de SAS-1 ;
- Déposer 2 ml de REP-prep au centre de la chambre SAS1 ;
- Placer le gel dans la chambre agarose vers le haut en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel
- Sortir le gel de son emballage protecteur, retirer le film en plastique ;
- Placer le guide d'alignement sur les picots de SAS-1 ;
- Déposer 2 ml de REP-prep au centre de la chambre SAS1 ;
- Placer le gel dans la chambre agarose vers le haut en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel ;
- Sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C, jeter le buvard ;
- Fixer les électrodes sur la partie supérieure des plots de sorte qu'elles soient en contact avec les ponts d'agarose.



a. 35 µl du l'urine



b. porte échantillon



c. Emplacement du Porte Échantillon (A) et le gel (B)

Figure 9 : électrophorèse sur SAS-1 des protéines urinaires

- Mettre en place 2 applicateurs dans l'instrument SAS-1 : encoche A et B

- Réaliser l'électrophorèse
- Une fois la migration terminée enlever les électrodes et les ponts d'agarose à l'aide de la raclette
- Fixer le gel sur le support de la chambre de coloration SAS-2 ou SAS-4
- Sélectionner le programme protéine sérique du module de coloration puis, en suivant les messages, colorer, décolorer et sécher le gel ;(voir annexe 7)
- Une fois le cycle de coloration terminé, enlevé le gel du support de la chambre de Coloration.
- Sécher dans une étuve ventilée entre 60 et 70°C ;
- La membrane est alors prête pour être examiné

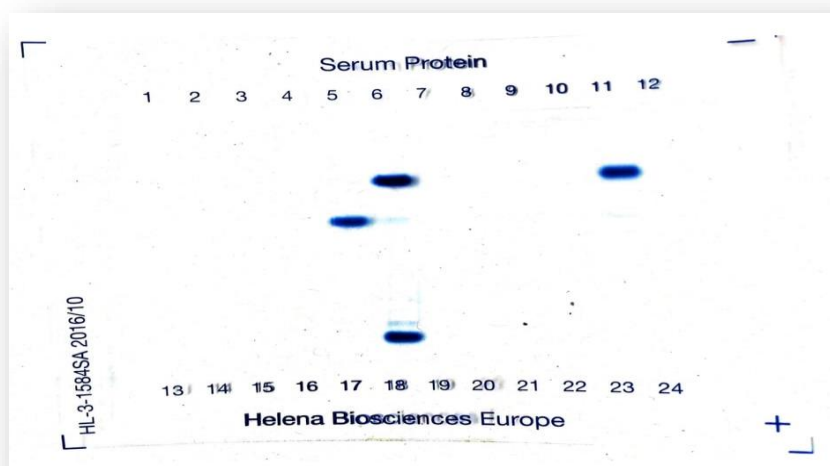


Figure 10 : La membrane de 24 échantillon

3.2. Immunofixation des protéines urinaires

3.2.1. Principe

Elle est recommandée pour la détermination de l'isotype de la protéine de Bence Jones et/ou du composant monoclonal entier s'il y a une protéinurie non sélective. L'immunofixation est une technique réalisée en deux étapes combinant l'électrophorèse à l'immunoprécipitation : L'électrophorèse réalisée en premier temps sur gel d'agarose permet de séparer les protéines selon leur taille et leur charge. L'immunoprécipitation permet l'identification du composant monoclonal à l'aide

d'anti-sérums spécifiques anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa et anti-lambda. Les immun-complexes formés sont révélés par coloration.

3.2.2. Technique

L'immunofixation urinaire est réalisée par une technique semi-automatisé utilisant les deux automates HELENA SAS-1et SAS-2 (**voir annexe 6**)

Dont le matériel fourni est :

- Plaque SAS-1 (gel d'agarose prêt à l'emploi).
- Colorant violet Acide.
- Solution décolorante.
- Solution de lavage.
- Antisérum IFE.

3.2.3. Mode opératoire

Technique semi-automatisé comprenant :

- 1- L'application d'échantillons,
- 2- la migration électrophorétique,
- 3- l'immunofixation, effectuée à l'aide d'anticorps afin d'identifier de façon précise la nature de la fraction protéique ou de la bande monoclonale, l'échantillon est testé sur huit pistes.

Après électrophorèse, la piste ELP donne le profil global des protéines urinaires à l'aide de la précipitation par le fixateur.

Les huit autres pistes permettent de caractériser les protéines urinaires ou les bandes monoclonales à l'aide des antisérums des différentes spécificités :

- Anti-protéines tubulaires (anti- β 2 microglobuline, anti-Retinol Binding Protein (RBP) et anti- α 1 microglobuline),
- Anti-protéines glomérulaires (anti-albumine et anti- α 2 macroglobuline),
- Anti-sérum trivalent anti-chaînes lourdes [γ , α et μ (Ig G, A et M)],
- Anti-chaînes légères Kappa et Lambda (libres et liées) et,
- Anti-chaînes légères libres Kappa et Lambda.

Cette technique simple et rapide donne une image claire et très facilement interprétable

- 4- la coloration,
- 5- la décoloration,
- 6- Et la numérisation, connecté au logiciel PHORESIS pour la gestion des données et des résultats.

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

8- Intérêt médical et scientifique :

L'étude de la protéinurie constitue une aide précieuse au diagnostic des atteintes rénales. La protéinurie pouvant résulter de nombreuses conditions pathologiques, il est indispensable d'identifier les principales protéines urinaires afin de typer une atteinte tubulaire, glomérulaire ou mixte, ou de dépister une protéine de Bence Jones.

○ **Analyse et traitement des données**

Les données ont été saisies et traitées par les logiciels Excel 2016.

Les résultats sont reportés dans des tableaux, ou représentés sous formes d'histogrammes, de secteurs ou de barre.



Chapitre III :

***Résultats et
Discussions***

Nous avons réalisé une étude rétrospective et analytique, concernant les patients sont pris en charge pour le diagnostic de gammopathies monoclonale chez les patients présentant l'électrophorèse des protéines urinaire BenceJones. Dont les résultats de plusieurs paramètres ont été étudiés, selon une démarche bien établie. Durant une période d'une année (2020)

1. Aspects épidémiologiques de la population étudiée

Notre étude épidémiologique est réalisée sur 418 dossiers de patients qui représentent des gammopathies monoclonales, ces patients sont âgés de 24 à 98 ans. On a évalué nos résultats selon 4 paramètres : l'âge, sexe, type du CM et la présence ou l'absence de PBJ.

1.1. Répartition des patients selon le sexe

La répartition de notre série de 418 patients en fonction du sexe a révélé que 218 cas, soit 52% étaient de sexe féminin alors que 200cas, soit 48%étaientde sexe masculin, avec un sexe ratio H/F globale de 0.94. Nous avons donc noté une légère prédominance féminine. Nos résultats sont représentés dans la **figure 11**. Ci-dessous :

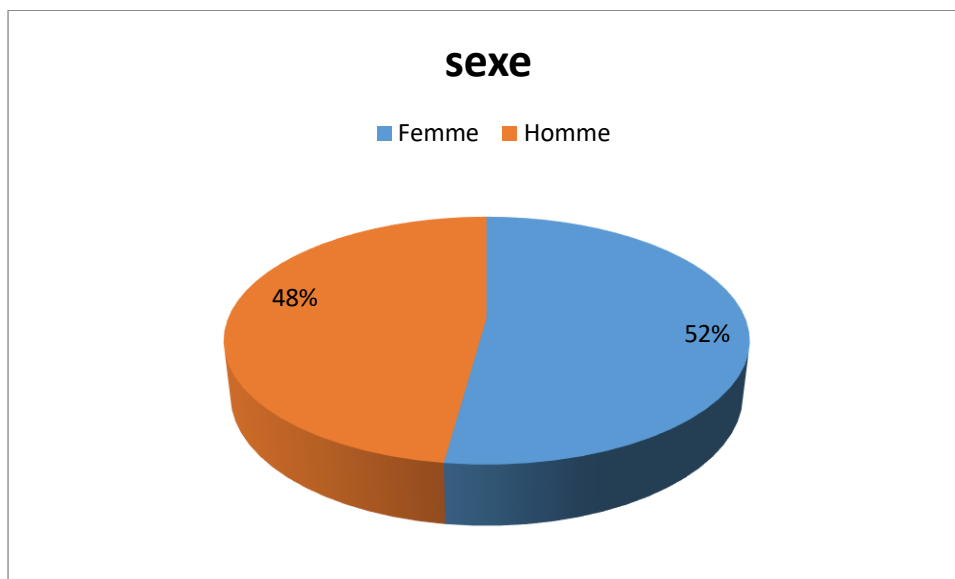


Figure 11 : Répartition des patients en fonction de sexe.

Sur le plan épidémiologique, des études sont montrés que le GM est plus fréquent chez les femmes que chez les hommes.

L'analyse de nos résultats montre une légère prédominance féminine avec un taux de 52%. Le sexe ratio homme/femme est de 0.94. Nos données concordent avec des études qui ont montré que le GM est plus fréquent chez les femmes que chez les hommes.

1.2. Répartition des patients selon les différentes tranches l'âge

L'âge au moment du diagnostic des cas des GM de la population étudiée varie entre 2 et 98 ans, avec moyenne d'âge 67.17

Un maximum de fréquence est observé dans la tranche d'âge comprise entre 70 et 80

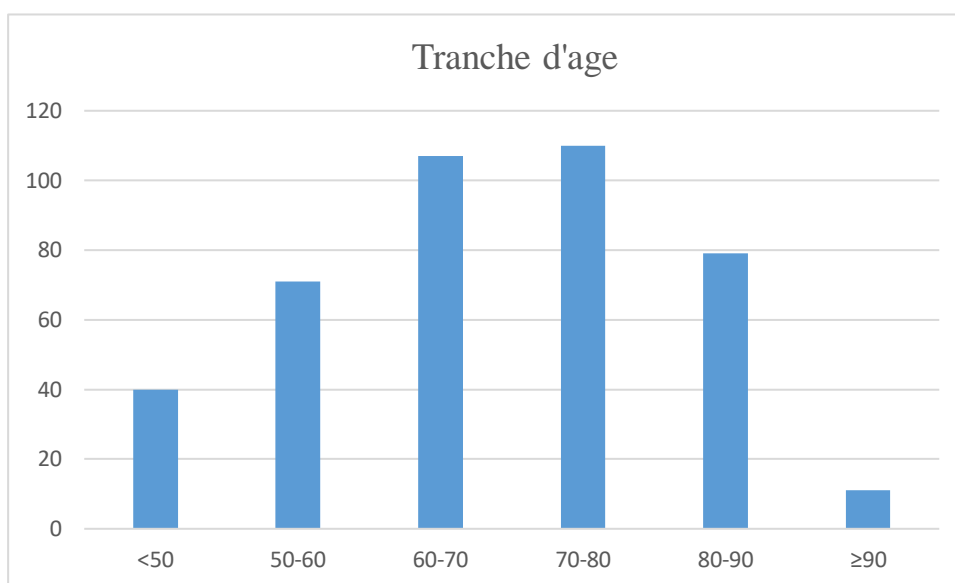


Figure 12 : répartition des patients selon l'âge

Les extrêmes d'âge de notre série allant de 24 à 98 ans. Nous avons constaté une dominance dans la classe d'âge 70-80 ans. Ce qui montre que les GM sont des maladies du sujet âgé.

Ceci est convergent avec l'étude rétrospective de **Mseddi-Hdiji et al., (2005)** en Tunisie, réalisée sur une série de 288 patients présentant des GM dont l'âge moyen et la médiane d'âge des patients de leur série se situent aux alentours de 65 ans témoignant aussi que les GM sont des maladies du sujet âgé. (**Mseddi-Hdiji et al., 2005**)

1.3. Répartition selon les services de recrutement

Nous avons recruté 189 patients à partir du service cancéreux, et 222 patients externes, 4 patients de service neurologie, et 3 patients de service rhumatologie.

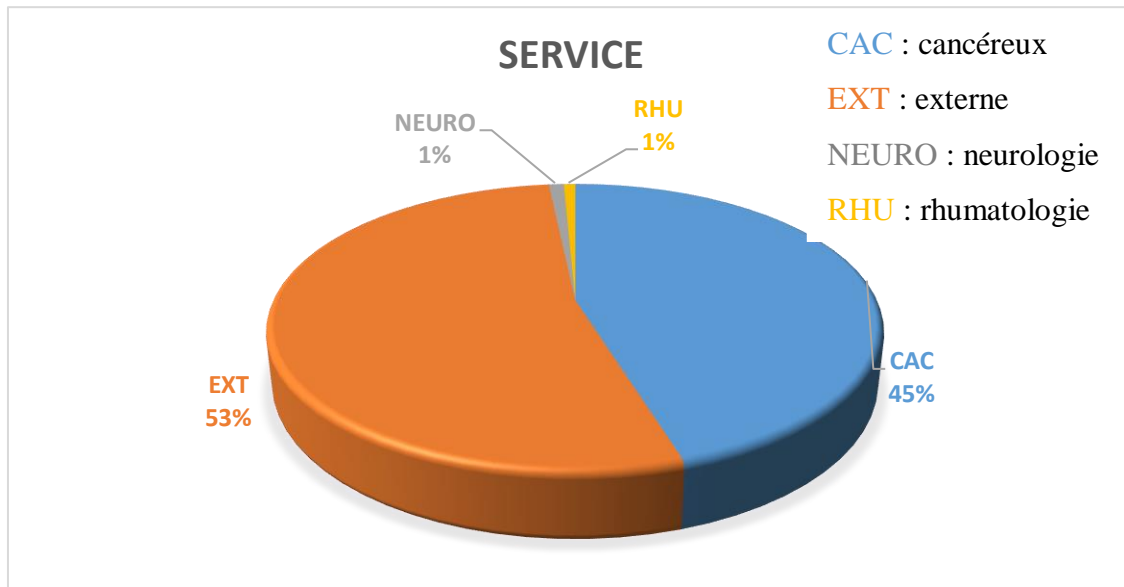


Figure 13 : Répartition selon les services de recrutement.

- 189 patients au niveau de service cancéreux « **CAC** » (45%)
- 222 patients externe « **EXT** » (53%)
- 4 patients au niveau de service neurologie « **NEURO** » (1%)
- 3 patients au niveau de service rhumatologie « **RHU** » (1%)

1.4. Evaluation selon les isotypes du CM

Tableau 5 : Répartition des patients selon les résultats de l'immunotypage.

Type du CM	Nombre de patients	Pourcentage %
IgG	267	64%
IgA	82	20%
IgM	32	8%
CLL κ	16	4%
CLL λ	6	1%
Biclonal	15	3%
Totale	418	100%

Concernant la distribution isotypique des GM de notre série, on remarque la prédominance de l'isotype IgG qui représente 64%, suivi par l'isotype IgA avec 20%, puis IgM avec 8% et les gammopathies à chaînes légères libres λ et κ qui représentent 5% des cas et les composants biclonaux représentent 3%.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Asma BELLOUCH .2021**, la place prépondérante qu'occupent les IgG de leur série de 58%. Les IgA occupent la 2ème place avec plus de 14 % des cas. Alors que dans la plupart des séries internationales les IgM occupent la seconde place avec une proportion allant de plus de 11%. Suivis des CLL (9%), des biclonaux qui représentent 2%, et enfin des IgD (1%).

La découverte systématique d'une IgM est une situation médicale fréquente (1 % de la population générale), notamment chez le sujet âgé. Sa présence n'est pas systématiquement synonyme de malignité (**Bachir H et al, 2014**)

En ce qui concerne le type de chaînes légères, environ 4% des chaînes légères sont d'isotype kappa et 1% sont d'isotype lambda. Or, physiologiquement, les chaînes κ sont synthétisées en excès par rapport aux chaînes λ , le ratio κ/λ est approximativement 2. Il paraît donc tout à fait cohérent de retrouver une telle proportion au sein des GM.

1.5. Répartition des CM selon la zone de migration

Le graphique ci-après montre la répartition des composants monoclonaux selon la zone de migration.

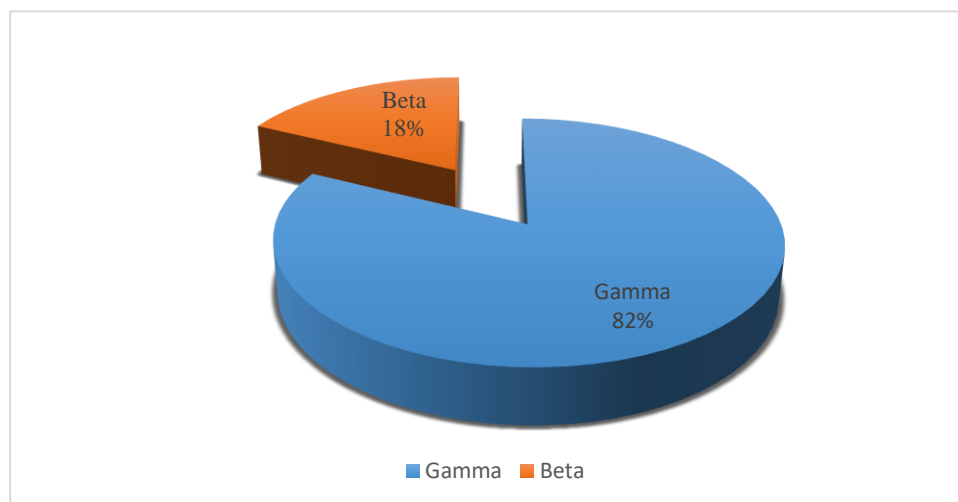


Figure 14 : Répartition des CM selon la zone de migration.

Dans notre étude, on a trouvé que les immunoglobulines migrent le plus souvent dans la zone des γ -globulines (82%) et un peu moins dans la zone des β -globulines (18%).

D'après les résultats de l'EPP, on note que les CM migrent le plus souvent dans la zone des γ -globulines, un peu moins dans la zone des β -globulines, rarement dans la zone des α_2 -globulines.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Asma BELLOUCH .2021**, Dans leur série, 71% des Igm sont révélées par un pic dans la zone des γ -globulines et 29% le sont dans la zone des β -globulines.

1.6. Résultats de protéinurie de Bence Jones

Une électrophorèse des urines son été effectuée pour les 418 patients, dans le but de détecter la présence de la protéinurie de Bence Jones (chaîne légère libre monoclonale dans les urines).

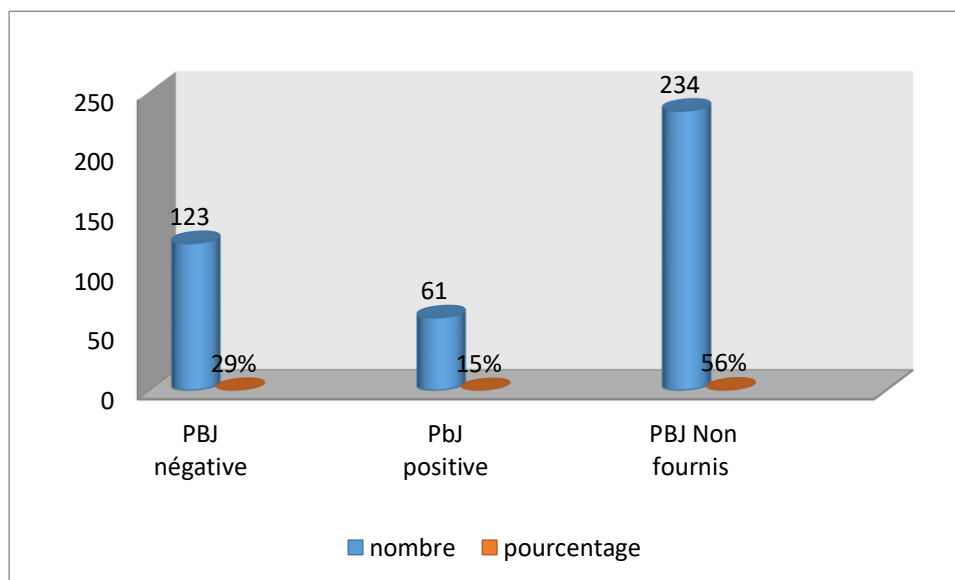


Figure 15 : Répartition des patients selon la présence ou l'absence de la protéinurie de Bence Jones au niveau des urines (n=418)

Les résultats du test urinaire sont représentés dans la **figure 15** et révèlent que la PBJ était absente chez 123 patients soit 29 % et présente chez 61 cas soit 15%.

Les résultats du test de PBJ étaient négatifs chez 123 patients soit 29 % et positifs chez 61 cas soit 15%, donc moins d'un quart de nos patients avaient un test de Bence Jones positif ce qui pourrait expliquer que le myélome multiple symptomatique est la cause la plus fréquente de la protéinurie de Bence Jones.

La présence de cette protéine constitue un argument pour un diagnostic en faveur d'un myélome. Dans un myélome déjà diagnostiqué, le taux de la protéinurie de Bence Jones permet d'évaluer l'évolution de la maladie et l'efficacité du traitement. Elle présente une valeur péjorative en ce qui concerne la fonction rénale. Cependant, elle peut être présente dans les urines au cours d'autres maladies.

1.7. Diagnostic par protéinurie de Bence Jones

Dans notre série on a trouvé 4 patients avec absence de pic monoclonale typique sur l'électrophorèse de sérum (hypogammaglobulinémie) donc on a passé au PBJ.

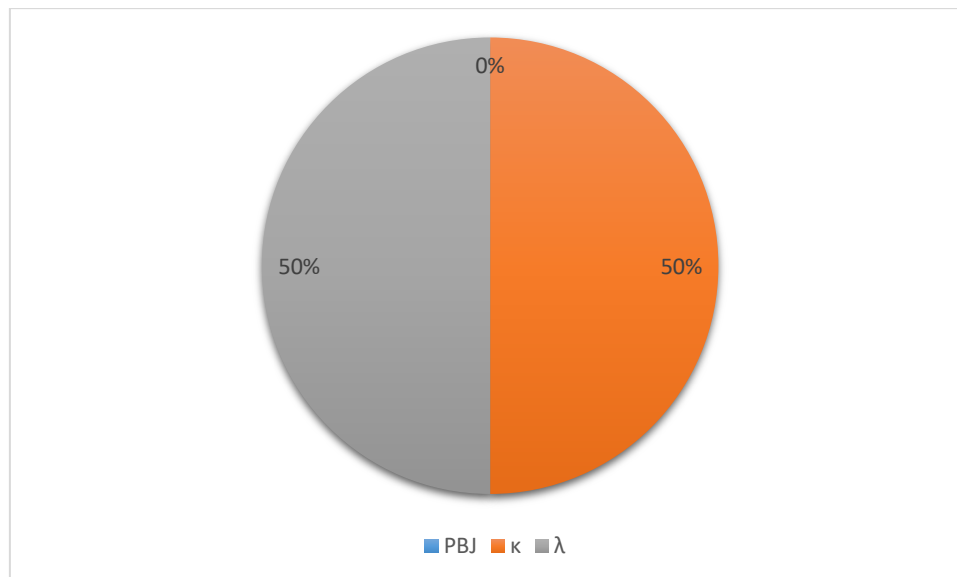


Figure 16 : répartition de résultat de PBJ des 4 patients.

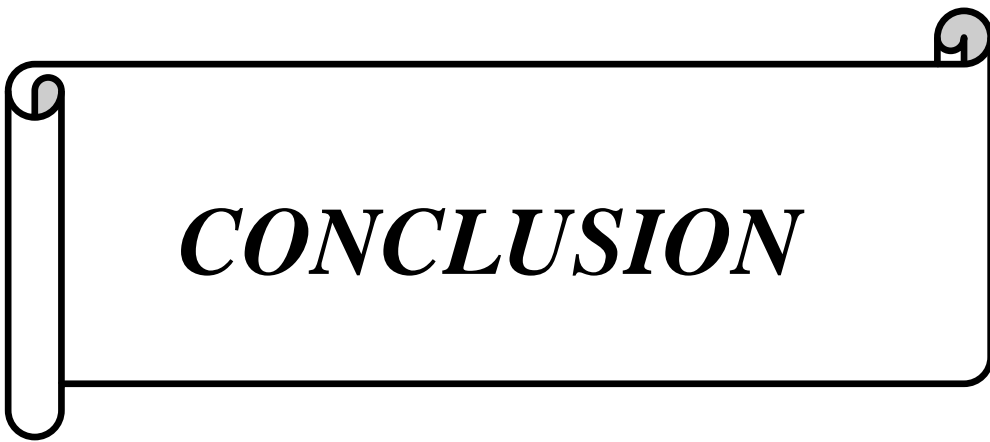
La recherche de protéinurie de Bence Jones fait partie de la démarche diagnostique d'une GM, particulièrement dans le myélome à chaînes légères car, elle est généralement positive et reste un des moyens de détection les plus simples. Il est plus souvent possible de les détecter dans les urines que dans le sang.

Physiologiquement, on ne retrouve pas de CLL dans l'urine puisque près de 99% sont réabsorbées par le tube proximal. En revanche dans les GM malignes, elles sont synthétisées en excès, s'accumulent au niveau sérique et commencent à être éliminées dans l'urine lorsque le seuil de réabsorption est dépassé, ce qui constitue la PBJ. (SADOUK, 2008).

Dans notre série, la PBJ caractérisée par la technique d'IF chez 4 patients s'est révélée positive, (2 chaînes légères κ et 2 chaînes légères λ), qui nous ont permis de poser le diagnostic de myélome à chaîne légère (MCL) et d'exclure le diagnostic de myélome multiple à IgD et à IgE après la réalisation de la 2^{ème} technique de résolution, ou on a utilisé l'antichaine légère trouvée ou concernée et l'anti-IgD. Ces résultats relèvent que 1% des cas ils ont le myélome à chaîne légère, cette observation confirme les données classiques selon le

quelle le myélome a chaîne légère est exceptionnelle et était en accord avec l'étude de **KOFFI K.G et al., (2000)**

On remarque qu'il y a une équivalence entre le MCL de type kappa et le MCL de type lambda et ces résultats sont en accord avec l'étude de **P. BURNAT et al., (1993)**, la fréquence des MCL de type kappa est équivalente à celle des MCL de type lambda, cet équilibre est originale face à la prépondérance habituelle des chaînes légères kappa (2/1) retrouvée dans le myélome IgG et celles des chaînes lambda dans les myélomes a IgA et surtout à IgD (90% de lambda).



CONCLUSION

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

L'électrophorèse des protéines urinaire nous a permis de révéler la présence de la protéine de Bence Jones chez plusieurs patients, alors que l'immunofixation urinaire nous a identifié la nature et l'isotype du composant monoclonal.

Les gammopathies monoclonales sont un problème fréquent en pratique clinique en Algérie et au niveau international. A l'Hôpital de « Hasiba ben Bouali » et dans le laboratoire d'immunologie, des cas de gammopathies monoclonales sont découvertes tardivement.

L'étude rétrospective que nous avons menée a permis de mieux cerner les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, biologiques des gammopathies monoclonales. Comme rapporté dans la littérature, la maladie atteint surtout les sujets âgés. Le moyenne d'âge dans notre série était de 67,17 avec une prédominance féminine.

Sur le plan immunochimique, le pic monoclonal dans notre cohorte, migrait le plus souvent dans la zone γ globuline avec une prédominance des IgG. Ainsi que la protéinurie de Bence Jones, présente chez 15 % des patients avec une prépondérance des CLL κ par rapport aux CLL λ .

Bien que le test BJP dans l'urine soit utile pour surveiller la réponse au traitement et chez certains groupes d'individus pour le diagnostic, mais sa large utilisation comme test de dépistage des troubles monoclonaux est d'une valeur limitée en raison de sa faible sensibilité, problèmes de quantification, problèmes d'échantillonnage (urine concentrée ou non concentrée, ou collections de 24 h urines – collections souvent encombrantes et inadéquates), la variabilité entre les différents laboratoires et la dégradation bactérienne de ces protéines.

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

“A”

AMY J. H, CHRISTINE.S.(2007). ORGANIZATIONAL PREDICTORS OF WOMEN ON CORPORATE BOARDS4, 941–952.

Andrès, E. (2013). Conduite à tenir devant une gammopathie monoclonale (gm), 1-6.

Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. Clin Chem 2000 ; 46 (8 Pt 2) : 1230-8.

“B”

Bachir H, Maamar M, Harmouch H, Tazi Z, Adnaoui M. Conduite à tenir devant la découverte d'une gammopathie monoclonale à l'électrophorèse des protéines. Journal Marocain des Sciences Médicales. 2014 ;19(2).

BAKRI, Y. (2012). Immunologie fondamentale. L'Immunité Adaptative (spécifique) : Les mécanismes moléculaires et cellulaires de la réponse immunitaire. Université Mohammed V-Agdal - Rabat : s.n., 2012

Baur Chaberta, Audrey, Delacrétaza, Françoise et Schmidtc, Pierre-Michel. (2005). Myélome multiple. Institut Universitaire de Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), Lausanne ; Institut Central des Hôpitaux Valaisans, Sion ; Service

Benchekroun L, Ouzzif Z, Bouabdillah M, Jaouhar N, Aoufir F, Aoufi F, et al. Association maladie de Kaposi et immunoglobuline monoclonale : un nouveau cas. Ann Biol Clin (Paris). 2013;71(2):199202

Bradwell A. Serum Free Light Chain Analysis. 4 th Edition. Birmingham: The Binding Site Ltd.;2006. 285 p.

Bridoux F, Delbes S, Sirac C, Pourreau F, Puyade M, Desport E, et al. Atteintes rénales des dysglobulinémies : avancées diagnostiques et thérapeutiques. Presse Médicale.2012 ;41(3) :276–89

Bruneau J, Canioni D, Jo Molina T. Révision 2016/2017 de la classification OMS des hémopathies lymphoïdes matures : ce qui va changer dans la pratique quotidienne. Revue Francophone des Laboratoires. 2017 ; 2017(488) :39-48.

Bouataya A. Braham-jmilia N. Hassineb M. Kortasa M. Gammopathies monoclonales. Revue Tunisienne de Biologie Clinique. 2015 ; 21(01) :5-15

Binet C, Domenech J, Herault O, 2004. Cellules souches hématopoïétiques : propriétés, description des différents types, schéma de l'hématopoïèse : 2.

“C”

Chaïbi, P., Merlin, I., Martin, Y., Piette, F., (2000). Myelome et dysglobulinemie Monoclonale. La revue de Geriatrie, 4, 251-261.

Charlot-Lambrecht I, Salmon J-H, Gagneux-Lemoussu L, et al. Myélome multiple. EMC - Appareil locomoteur 2011 ; 6 : 1–12.

COFER, Collège Français des Enseignants en Rhumatologie. Cofer. [Online]. : Université Médicale Virtuelle Francophone ; 2010-2011 [cited 2016 Mar 22. Available from: <http://www.lecofer.org/index.php?rub=2cycle&ssrub=items>.

CHEVAILLER, A et IFRAH, N. (2001). Spectre des affections s'accompagnant d'une Immunoglobuline monoclonale. [En ligne] août 2001.

Christophe. N, Natalia. E, Castillo. A. (2021). Traitements actuels et émergents de la macroglobulinémie de Waldenstrom ;144 :146-157

“D”

Dejoie T, Lakomy D, Caillon H, Pegourié B, Decaux O. Recommandations de l'IFM (Intergroupe francophone du myélome) pour l'harmonisation de l'analyse des électrophorèses des protéines sériques et urinaires dans le diagnostic et le suivi du myélome multiple. Annales de biologie clinique.2016 ; 74(4) :429-41.

“F”

Facon T., Yakoub-Agha I., Leleu X. Myélome multiple. Encyclopédie Médico-Chirurgicale.s.l. : Editions Scientifiques et Médicales Elsevier, 2003.

Ferrand-poulain. Immunoglobulines, L'essence de la vie "

<http://docslide.fr/documents/immunoglobulines-lessnesse-de-la-vie-patruno-elodiebio-2-04102006.html> 2006 04/10/2006 [consulté le 11/10/2017].

Foiquet G, Macro M, Decaux O, Foher C, Guidez S, Demarquette H, Le Grand C, Prodhomme C, Renaud L, Bories C, Herbaux C, KARlin L, Roussel M, Benboukher L, Hulin C, Arnulf B, Leleu X. Le pomalidomide dans le myélome multiple. *Rev Med Interne* 2015 ;36 ;9 :613-80.

“H”

harlot-Lambrecht, J.-H Salmon, L. Gagneux-Lemoussu, P. Brochot, J.-P Eschard. Appareil locomoteur : Myélome multiple. s.l. : EMC (Elsevier Masson), 2011. 14-027-B-10.

Haddad F, Jammal M, Azar H, Mallat S, Nasr F, Dabar G, et al. Amylose systémique découverte par une atteinte trachéobronchique. *Rev Médecine Interne*. 2010 ;31(4) : e4–6.

Haute Autorité de santé/Service évaluation des actes professionnels/décembre 2006 : Dosage sérique des chaînes légères libres

“J”

Jaccard A, Desport E, Mohty D, Bridoux F. Amylose AL. *Rev Médecine Interne*. 2015 ;36(2) :89–97.

Jaccard A, Femand JP. Amyloses. EMC - Hématologie. 2004 ;1(2) :46–58

Diagnostic 40

Estelle Desport, Eric Lacotte-Thierry, Guy Touchard, et al. Traitement actuel de l'amylose AL. *Néphrologie Thérapeutique*. 2011 ;7 :467–473

Jalila El B, Zahra A, Fatima. A, Hanane S.A, Ahmed A. Le déficit immunitaire humoral : mieux le connaître pour mieux le prendre en charge. 2014 ;0 :1-14.

Jaccard, A, Rooyer, B Bordessoule, D. (2002) high-dose therapy and autologous blood stem cell transplantation in POEMS syndrom blood. 96,3560-3568

Janvier M. Immunoglobuline monoclonale et myélome. Devenir et suivi des immunoglobulines monoclonales, nouveaux aspects diagnostiques et thérapeutiques du myélome. *Rev Rhum* 2008 ;75 :358-61.

Jean-Philippe M, Xavier L, Pascal R, Mickaël M, Mathieu P. 2019, Free light chains assay: indications and methods;

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0248866319300451>

Jourde-Chiche N, Dussol B, Daniel L. Les atteintes rénales au cours des hémopathies malignes. Stratégie diagnostique. Rev Médecine Interne. 2010 ;31(10) :685–96.

Journal Biomnis : chaînes légères libres d'immunoglobulines ou « protéines de Bence Jones 2016. <https://www.eurofins-biomnis.com/ressources/autres-ressources/actualites-du-journal-officiel/>

J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram, C. Mathers, D. Parkin, M. Piñeros, A. Znaor et F. Bray, « Estimation de l'incidence et de la mortalité mondiales par cancer en 2018 : sources et méthodes de Globocan », International journal of cancer, vol. 144, non. 8, pp. 1941-1953, 2019

Jean Baptiste Oudart, Anne Quinquenel, Emmanuelle Lavalard, Nathalie Schneider; Julien Fromonot; Laurent Ramont; François Xavier Maquart: Urinary investigations in the diagnosis and monitoring of monoclonal gammopathies in daily practice Ann Biol Clin 2014; 72 (2): 147-52

“K”

Kolopp, Sarda ; Marie, Nathalie. (2009). Les immunoglobulines et leurs fonctions. Laboratoire d'Immunologie Centre de Biologie Lyon Sud : s.n., octobre 2009.

Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma: emphasis on risk factors for progression. Br J Haematol. 2007 ;139(5) :730–43

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

KOFFI K.G*, SANOGO I.*, TRAZO D.*, TOURE A H*, TOLO A.* , N'GUESSAN K.* , DANHO NC*, KOUAKOU N.* , SANGARE A* : CARACTERISTIQUES DU MYELOME MULTIPLE DU NOIR AFRICAINE EXPERIENCE DE LA COTE D'IVOIRE ; Médecine d'Afrique Noire : 2000, 47 (10)

“L”

Leleu X, Facon T. Traitement du myélome multiple. Rev Med Interne 2013 ;34S: A11-A15.

L. Furchtgott, A. Bolomsky, F. Gruber, MK Samur, JJ Keats, J. Yesil, K. Stangelberger, M. Attal, P. Moreau, H. Avet-Loiseau, K. Runge, D. Wuest, K. Rich, I. Khalil, B. Hayete, H. Ludwig, N. Munshi et D. Auclair, (2017) « Plusieurs moteurs du myélome à haut risque et réponse à la transplantation de cellules souches identifiés par l'apprentissage machine causal : validation hors cohorte et expérimentale » ; 130 : 3029-3029

L. Gueneta, O. Decauxb, *, H. Lechartiera, M. Roperta, B. Grosboisb Usefulness of a free light chain immunoassay in serum for the diagnosis and the follow-up of monoclonal gammopathy La Revue de médecine interne 28 (2007) 689–697

“M”

MARSHALL J. W. et BANGERT K. S. (2005). Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostic. Ed. Elsevier, Paris, 231-235

Manier S, Leleu X. Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). Immunol Biol Spéc 2011; 26:125-36.

Mazzucchelli M, Frustaci AM, Deodato M, Cairoli R, Tedeschi A. Waldenstrom's macroglobulinemia: an update. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases. 2018 ;10(1). doi: 10.4084/MJHID.2018.004

Mseddi-Hdiji S, Haddouk S, Ben Ayed M et al. Gammopathies monoclonales en Tunisie: analyse épidémiologique, immunochimique et étiologique d'une série de 288 cas. Pathologies Biologie. 2005 ;53(1) :19-25

Manier S, Leleu X. Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). Immunol Biol Spéc 2011; 26:125-36.

M. Saidi, M. Abad, S. Taoussi, C. Ghezlane, R. Hamladji, R. AhmedNacer, F. Belhadri, H. Moussaoui, H. Ait Ali, H. Aftisse, F. Ardjoun, S.Étrelakehal, C. Rahali, M. Belhani, N. Boudjerra, Y. Berkouk, M. Ramaoun, H. Ahmidatou, M. Bekadja, S. Talhi, H. Ouldjeriouat,

F. Grifi, S. Boughrira, K. Smaili, N. Mesli, F. Bendahmane, S. Hamdi, F. Belkhodja, A. Amoura, H. Menia, H. Rechache, Z. Zouaoui, A. El mestari, H. Touhami, R. Mrabet, N. Lakhdari, Z. Brahim, S. Zeghouati, N. Sidi Mansour, M. Benhalilou, N. Mehalhal, B. Bendjabellah, W. Chehili, A. Bachiri, S. Abderahmani, Y. Ouarhlent, H. Zidani, S. Nekkal, Y. Bouchakor, H. Hamouda, F. Mehdid, D. Saidi, F. Baichi et M. Benakli, « Les données épidémiologiques de l'Algérie : Registre du myélome multiple (AMMR) sur 2 ans (juin 2014-juin 2016) : Rapport du groupe d'étude algérien sur le myélome multiple (GETMA) », *Blood* ; 130 : 5385–5385, 2017

“N”

Nel I, Thiolières J-M, Ghillani-Dalbin P, Jacquiau C, Piéroni L. Migrations inattendues des chaînes légères libres d'immunoglobulines à l'électrophorèse des protéines urinaires. *Annales de biologie clinique*. 2017 ; 75(1) : 75-82.

N. Meuleman et M. Vercruyssen Monoclonal gammopathy of undetermined significance : when and why to look for them? *Service d'Hématologie, Institut Jules Bordet, ULB Rev Med Brux* 2018 ; 39 : 302-6

“P”

P. Chaïbi, L. Merlin, C. Thomas, F. Piette. Les gammopathies monoclonales de signification indéterminée. *Ann. Med. Interne*, 2002 ; 153(7) : 459-466.

Pham BN, Femand JP, Daunizeau A, Intrator L, Bienvenu J, Preud'homme JL. IMMUNOGLOBULINES MONOCLONALES. *Cahier de Formation Biologie médicale*. 2003.

P. BURNAT, C. LE BRUMANAT-PAYEN, P. VEST ; le myélome à chaîne légère : diagnostic biologique ; *Janvier 1993*.

“R”

Rajkumar SV, Kyle RA, Buadi FK. Advances in the Diagnosis, Classification, Risk Stratification, and Management of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance: Implications for Recategorizing Disease Entities in the Presence of Evolving Scientific Evidence. *Mayo Clin Proc*. 2010 Oct, Vol. 85(10), 945-948.

Retornaz F, Potard I, Franqui C, Benezech L, Halfon P, Rousseau F, et al. Conduite à tenir devant la découverte d'un pic monoclonal à l'électrophorèse des protéines. *Ann Gerontol* 2010 ;3 :15-21.

Raidelet L, Bricon TL. Exploration de la protéinurie au laboratoire. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2013 ;2013(451) :75-82.

RIVIER, Denis. (2012). Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies Utilité du dosage dans le sérum. 2012, Vol. (29–30), 12, pp. 585–592.

Roitt, Ivan, Brostoff, Jonathan et Male, David. (1986). *Immunologie fondamentale et appliquée*. Paris : MEDSI médecine et science internationale, mars 1986.

Retornaz F, Potard I, Franqui C, Benezech L, Halfon P, Rousseau F, et al. Conduite à tenir devant la découverte d'un pic monoclonal à l'électrophorèse des protéines. *Ann Gerontol* 2010 ;3 :15-21.

R. GUILAL, A. Fouad, BENDAHMANE. N; SETTOTI.A, BENZAOUZ. M.Amine CHIKH.2019, Sélection de facteurs cliniques et paracliniques pour diagnostic de myélome multiple ;1 :7281-222

“S”

S. Manier, X. Leleu. *Immuno-analyse et biologie spécialisée. Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG)*. s.l.: Elsevier Masson, 2011.

Sundar Jagannath, Paul Richardson et Nikhil Munshi. *Multiple Myeloma and Other Plasma Cell Dyscrasias*. Cancer Network, home of the journal *Oncology*. [En ligne] 01 mai 2014. [Citation : 15 avril 2016.] <http://www.cancernetwork.com/cancer-management/multiple-myeloma-and-other-plasma-cell-dyscrasias>.

Sheromna.S, Tahir S.P.2020.Historical perspectives in clinicalpathology: Bence Jones protein—early urine chemistry and the impact on modern day diagnostics; 0:1–4.

“V”

Vekemans MC, Caers J, Doyen C, Michaux L. GAMMAPATHIES MONOCLONALES DE SIGNIFICATION INDETERMINEE. Louvain Medical. 2013 : p. 51-62

“W”

Weill, B. (2013). Chapitre 13 : diagnostic d'une immunoglobuline monoclonale.
file:///C:/Users/user/Desktop/myelomee/myel/Chapitre%2013.html. [En ligne] 2013.

Witzig, T.E., Basu, R., Suarez, G.A., Fonseca, R., Lust, J.A., Gertz, M.A., 2003. POEMS syndrome: definitions and long-term outcome Presented in abstract form at the 41st annual meeting of the American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2299Pr> Christian Berthou Myélome multiple, 6 décembre 2004.
file:///L:/MM/Mylomemultiple.htm.

“Z”

Zandecki M, Genevieve F, Jego P, Grosbois B. Gammopathies monoclonales de signification indéterminée. Rev Med Interne 2000 ; 21(12) :1060-74.

Zandecki, Marc. (2006). Myélome multiple (maladie de Kahler) (et gammopathies monoclonales idiopathiques). Hématologie biologique. Faculté de Médecine – CHU 49000 Angers France : s.n., decembre 2006.

Thèses :

SADOUKE K, OUZZIF Z. Les Immunoglobulinopathies monoclonales. Etude épidémiologique, biochimique et étiologique d'une cohorte de 214 cas [Thèse Pharm]. [Rabat] : UNIVERSITE MOHAMMED V ; 2009.

Thèse : Myélome multiple des Os : Analyse épidémiologique et biochimique d'une cohorte de 144 cas (Étude rétrospective, HMIMV-Rabat) 2011

Thèse BAILLEUX Camille Actualités sur le myélome multiple et conseils à l'officine 143 page 2016

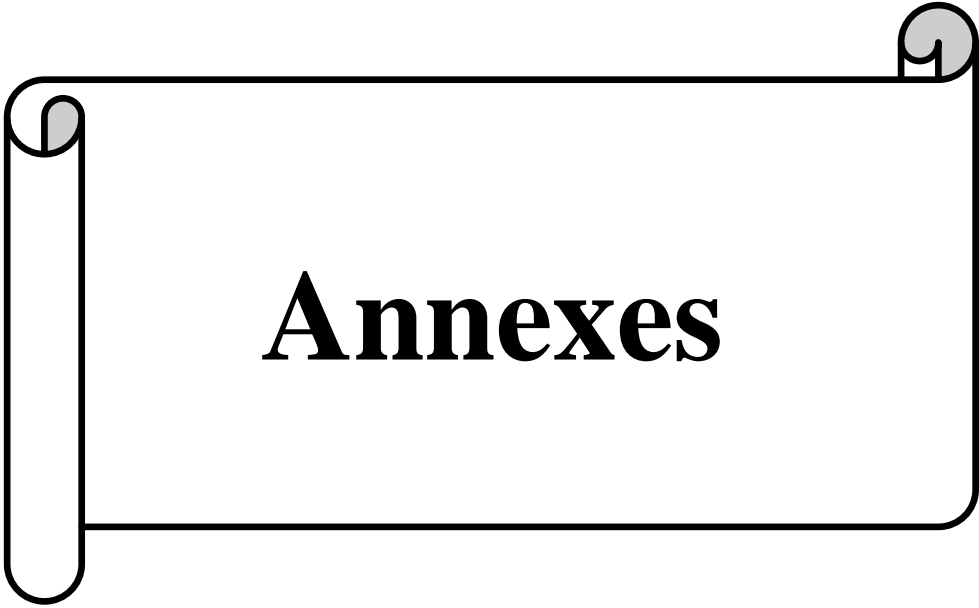
Anthony-Charles, N. (2020). Exploration des chaînes légères libres des immunoglobulines : comparaison de deux méthodes de dosage.

Nadia, L. (2020). Gammopathies monoclonales et atteintes rénales : profil clinique et évolutif à partir d'une étude prospective sur une année.

EL KHALIFA, Y. (2017). MYELOME MULTIPLE EXPERIENCE DU SERVICE MEDECINE INTERNE HMA HOPITAL MILITAIRE AVICENNE MARRAKECH.

Asma, B. (2021). Gammopathies monoclonales malignes (myelome multiple et MacroglobulineMie de Waldenström) : Aspects épidémiologiques, cliniques et biologiques des cas colligés, sur une période de 19 ans, au laboratoire de Biochimie-Toxicologie de l'HMIMV de Rabat.

Diawara constance dite Manian, épidémiologique et clinique dans le Service de Rhumatologie au CHU du Point-G.2013/2014.



Annexes



Annexe 1 : Des antisérums polyclonaux monospécifiques



Annexe 2 : Différents types de pipettes



Annexe 3 : Scanner d'électrophorégramme

age	<50	50-60	60-70	70-80	80-90	≥90
Frequence	40	71	107	110	79	11
Pourcentage	9%	17%	26%	26%	19%	3%

Annexe 4 : répartition des cas de GM selon les tranche d'âge



Annexe 5 : HELENA SAS-1 Urine analysis



Annexe 6 : Appareil d'EP et d'IFx, SAS 1(à gauche), SAS 2 (à droite) pour coloration et décoloration



Annexe7 : coloration

	PBJ négative	PBJ positive	PBJ Non fournis	Total
Nombre	123	61	234	418
Pourcentage	29%	15%	56%	100%

Annexe 8 : Résultat de la protéinurie de Bence Jones.

Caractéristiques	Patients
Nombre	418
Hommes	200
Femmes	218
Moyenne d'âge	67,17
Sexe Ratio	0,94

Annexe 9 : Données épidémiologique de notre série de 418 patients.

Service	CAC	EXT	NEURO	RHU
Nombre	189	222	4	3
Pourcentage %	45%	53%	1%	1%

Annexe 10 : représente la répartition des patients selon les services de recrutement.

Zone	Nombre de CM		%
Gamma	344	82,30%	
Beta	74	17,70%	

Annexe 11 : Répartition des CM selon la zone de migration.

	PBJ négative	PBJ positive	PBJ Non fournis	Total
Nombre	123	61	234	418
Pourcentage	29%	15%	56%	100%

Annexe12 : Résultat de la protéinurie de Bence Jones.