

Université BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER II

Option : Génie Biologique

Thème

***Diagnostic immunologique des
patients atteints du Myélome
Multiple (Maladie de Kahler)***

Présenté par : CHAIB Amel

Soutenance prévu le : 25/09/2014

Devant le jury :

M ^{me} CHERRALLAH A.	MAA	Université Blida 1	Présidente
M ^{me} HARKATE S.	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
M ^{me} ANANE A.	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
M ^{me} SAYAD M.	MAA	Université Blida 1	Promotrice
M ^{me} CHAIB S.	Professeur	Hôpital Central de l'Armée	Co-promotrice

Promotion 2013/2014

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail ; je tiens a remercié en premier lieu, Dieu le Tout Puissant, de m'avoir illuminé et ouvert les portes du savoir et donné le courage et la volonté pour bien mener ce travail.

Je tiens a remercié chaleureusement M^{me} CHAIB, Professeur et chef de service d'immunologie de l'HCA de m'avoir bien accueillie au sein de son service et de m'avoir fourni les éléments nécessaires à la réalisation de mon projet. Je voudrais également lui témoigner ma profonde gratitude pour sa patience, son soutien et ses précieux conseils.

Je remercie vivement ma promotrice M^{lle} SAYAD, qui a bien voulu par son aimable bienveillance diriger et encadrer ce travail avec une grande rigueur scientifique. Je voudrais également lui témoigner ma profonde reconnaissance pour sa disponibilité, ses orientations judicieuses.

Je remercie M^{me} CHERALLAH d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Je remercie également M^{me} HARKAT et M^{me} ANANE d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Merci à tout le personnel du laboratoire d'immunologie de l'HCA, en particulier M^{lle} MOUHOUB et ceux qui ont contribué à la réalisation de se modeste travail.

Merci 

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail comme preuve de respect, de gratitude,
et de reconnaissance :*

*A toute ma famille, en particulier mes chers parents pour leur
dévouement et leur soutien tout au long de mes études. Sans oublier
mon frère et ma sœur à qui j'ai menée la vie durant la réalisation de
mon travail.*

*A toutes mes amies ; en particulier, Selma et Sarra ainsi qu'à
tous ceux qui m'ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces
longues années d'études.*



CHAIB Amel

Table des matières

Index des tableaux	
Index des figures	
Liste des abréviations	
Glossaire	
Résumé	
Introduction.....	1

CHAPITRE I : Généralité sur le myélome multiple

I.1.Historique.....	2
I.2. Définition	2
I.3. Epidémiologie	2
I.4. Etiologie	3
I.5. Manifestation clinique du MM.....	3
I.5.1. Atteinte osseuse	3
I.5.2. Anémie	3
I.5.3. Atteinte rénale	3
I.5.4. Amylose AL.....	4
I.5.5. Manifestations neurologiques	4
I.5.6. Les infections	4
I.6. Physiopathologie.....	5
I.6.1. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée	6
I.6.2. Oncogenèse	6
I.6.3. Interaction des cellules tumorales avec leur environnement	7
I.6.3.1. Rôle des cytokines et chemokines dans le MM.....	7
a. Interleukine-6 (IL-6).....	7
b. Interleukine-8 (IL-8).....	7
c. Interleukine-3 (IL-3).....	7
d. Interleukine-1B (IL-1B).....	8
e. Tumor Necrosis Factor α (TNF- α).....	8
f. Macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α).....	8

I.6.4. Mécanismes des lésions osseuses	9
I.7. Diagnostic.....	10
I.7.1 Bilan radiologique.....	10
a. La radiographie standard.....	10
b. Scintigraphie.....	11
c. Tomodensitométrie ou scanner.....	11
d. Imagerie par résonance magnétique (IRM).....	11
I.7.2. Bilan hématologique	12
a. Hémogramme.....	12
b. Myélogramme.....	13
c. Vitesse de sédimentation (VS).....	14
I.7.3. Bilan biochimique	14
a. Protéine C réactive (CRP).....	14
b. β 2-microglobuline sérique (β 2-m)	14
c. Albuminémie.....	15
d. Protidémie.....	15
e. Analyse des urines (protéinurie).....	15
I.7.4. Bilan immunologique	15
a. Dosage pondéral des immunoglobulines.....	15
b. Electrophorèse des protéines sériques (EPS).....	15
c. Immunofixation des protéines sériques (IFS).....	16
d. Electrophorèse des protéines urinaires (EPU).....	16
e. Immunofixation des protéines urinaires (IFU).....	16
I.8. Classification du myélome multiple.....	16
I.8.1 Myélome à chaîne légère libre	16
I.8.2 Myélome non sécrétant	16
I.8.3 Myélome multiple asymptomatique (indolent).....	17
I.8.4 Plasmocytome solitaire osseux (myélome solitaire).....	17
I.9. Traitement	17

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique.....	19
--------------------------------	----

II.1.1. Prélèvement sanguin.....	19
II.1.2. Prélèvement urinaire.....	19
II.3 Méthodes.....	19
II.3.1 Analyse quantitative	19
a. Dosage des protéines sériques par néphélométrie laser.....	19
b. Dosage des protéines sériques par la technique de Bradford (protidémie).....	21
c. Dosage des protéines urinaires par la technique de Bradford (protéinurie).....	22
II.3.2 Analyse semi quantitative	22
a. Electrophorèse des protéines sériques (EPS) sur gel d'agarose par SAS-3/SAS-4.....	22
b. Electrophorèse des protéines urinaires (EPU) sur gel d'agarose par SAS-3/SAS-4.....	23
II.3.3 Analyse qualitative	24
a. Immunofixation des protéines sériques (IFS) par SAS-3/SAS-.....	24
b. Immunofixation des protéines urinaire (IFU) sur gel d'agarose par SAS-3/SAS-.....	25

CHAPITRE III : Résultats et discussion

III.1. Répartition des patients atteints du MM en fonction du sexe.....	26
III.2. Répartition des patients atteints du MM en fonction de l'âge.....	26
III.3. Répartition des patients atteints du MM en fonction des classes d'âge et du sexe....	28
III.4. Répartition des patients atteints du MM en fonction de signes cliniques	28
III.5. Répartition des patients atteints du MM en fonction des services	29
III.6. Résultats de l'analyse quantitative.....	30
III.6.1. Résultats du dosage des protéines sériques par Néphélométrie laser.....	30
III.6.2. Résultats de la protidémie.....	32
III.6.3. Résultats du dosage des protéines urinaires.....	32
III.7. Résultats de l'analyse semi quantitative.....	32
III.7.1. Résultats de l'électrophorèse des protéines sériques.....	32
III.7.2. Résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires.....	34
III.8. Résultats de l'analyse qualitative.....	35
III.8.1. Résultats de l'immunofixation des protéines sériques.....	35
III.8.2. Résultats de l'immunofixation des protéines urinaires.....	36
Conclusion.....	38

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AC	Anticorps
Ag	Antigène
BCR	B Cell Receptor (Récepteur des cellules B)
β2-m	β 2-microglobuline
CLL	Chaînes Légères Libres
CM	Composant monoclonal
CRP	C reactive protein (protéine C réactive)
CSH	Cellule souche hématopoïétique
DKK1	Dickkopf
EPS	Electrophorèse des protéines sériques
EPU	Electrophorèse des protéines urinaires
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IFS	Immunofixation des protéines sériques
IFU	Immunofixation des protéines urinaires
LB	Lymphocyte B
GMSI	Gammopathies Monoclonales de Signification Indéterminée (ou MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance)
MIP-1α	Macrophage inflammatory protein-1 α (protéine-1 α inflammatoire des macrophages)
MM	Myélome multiple
MO	Moelle osseuse
OB	Ostéoblaste
OC	Ostéoclaste
OPG	Ostéoprotégérine
PBJ	Protéinurie de Bence Jones
RANK	Receptor Activator of Nuclear factor kappa B (Récepteur Activateur du facteur Nucléaire kappa B)
RANKL	Receptor Activator of Nuclear factor kappa B Ligand (Récepteur Activateur du facteur Nucléaire kappa B ligand)
TNF-α	Tumor Necrosis Factor α (Facteur α de nécrose tumorale)
VS	Vitesse de sédimentation

GLOSSAIRE

Albumine : Protéine présente dans le plasma sanguin, assure le transport de nombreuses substances.

Amylose AL : Affection caractérisée par le dépôt dans de nombreux organes, d'un matériel d'allure protéique appelé substance amyloïde tendant à envahir et détruire certains organes notamment le rein.

Anémie : Réduction du nombre des globules rouges (hématies) ou de la quantité d'hémoglobine par unité de volume de sang.

Anticorps : Protéine du sérum sanguin sécrétée par les lymphocytes B.

Antigène : Substance douée de la propriété de provoquer une réponse immunitaire.

Asthénie : Etat de faiblesse générale, se caractérisant par une diminution du pouvoir de fonctionnement de l'organisme.

β 2-microglobuline : Protéine intervenant dans la réponse immunitaire de l'organisme, et plus particulièrement, dans l'activation des lymphocytes T et les cellules du système immunitaire.

Confusion : Etat psychiatrique aigu, caractérisé par un ralentissement de la pensée et des troubles de la mémoire.

Créatinine : Protéine évacuée dans le sang par les reins, provenant de la dégradation de la créatine (substance azotée présente surtout dans les muscles).

CRP : Protéine synthétisée par le foie, joue un rôle important dans les réactions inflammatoires, et sert de marqueur biologique à celle-ci.

Déminéralisation : Elimination par l'organisme d'une quantité importante de substances minérales (calcium, phosphore, potassium, sodium etc).

Dysglobulinémie : ou gammopathie monoclonale, désigne une anomalie traduite par une quantité anormale dans le sérum et/ou les urines d'une Ig monoclonale en excès.

Erythropoïétine : Hormone qui stimule la formation et la croissance des globules rouges.

Fémur : Os long constituant le squelette de la cuisse.

Géode : Cavité osseuse pathologique donnant sur les clichés radiographiques une image radio transparente.

Gril costal : La côte est un os plat, se présentant sous la forme d'un arc. L'ensemble des cotes constitue le gril costal.

Hémodialyse : Technique d'épuration extrarénale, éliminant les déchets toxiques chez des sujets ayant une insuffisance rénale grave.

Hémogramme : Numération et formule sanguine (NFS), examen hématologique complet des cellules sanguines (globules blancs, rouges et les plaquettes).

Hémopathie : Affection des cellules du sang et/ou des organes hématopoïétiques (MO, ganglions, rate).

Humérus : Os long formant le squelette du bras.

Hypercalcémie : Présence d'un taux sérique de calcium élevé.

Interleukine : Molécule sécrétée par les lymphocytes ou par les macrophages et souvent de messenger dans la communication entre les cellules du système immunitaire.

Leucopénie : Baisse du nombre de leucocytes (globules blancs) dans le sang (moins de 4000 éléments/mm³).

Lymphome : Cancer lymphatique, caractérisé par des proliférations cellulaires malignes dans les organes lymphoïdes.

Maladie de Waldenström : Cancer hématologique, caractérisé par un envahissement médullaire par les lymphocytes B, produisant une IgM monoconale.

Morbidité : Caractéristique qui laisse apparaître des signes de maladie.

Myélogramme : Examen hématologique qui permet l'étude des différents éléments cellulaires de la MO.

Neutropénie : Trouble hématologique caractérisé par une baisse de neutrophiles dans le sang.

Normocytaire : une anémie est dite normocytaire si le volume globulaire moyen est normal.

Pancytopénie : Etat morbide dans lequel il ya réduction du nombre des cellules sanguines. Elle apparaît en général dans le cas de maladie affectant la MO.

Plasmocytes : Cellule lymphoïde, productrices d'anticorps.

Paraplégie : Paralysie des deux membres inférieurs et de la partie basse du tronc.

Pelvis : Bassin, partie du corps située sous l'abdomen.

Polyarthrite : Inflammation au niveau de différentes articulations.

Protéinurie des 24h : Correspond à la concentration de protéines dans les urines de 24h.

Protidémie : Concentration des protides du plasma.

Rachis : Colonne vertébrale qui constitue une colonne osseuse formée par la superposition de vertèbres.

Scintigraphie : Examen radiologique permettant d'étudier le squelette.

Splénomégalie : Augmentation de volume (mégalie) de la rate (spléno).

Thrombopénie : Diminution du nombre de plaquettes sanguines en dessous du seuil de 150 000 plaquettes par mm³.

Tomodensitométrie : Appareil radiographique, permet d'observer et d'étudier les organes du corps humain.

Tubulopathie : Terme générique désignant un ensemble d'affections rénales souvent congénitales et héréditaires, se traduisant par un défaut des systèmes de transfert du tube rénal.

Larousse médical, 2013.

Résumé

Résumé

Le myélome multiple (MM) est une affection caractérisée par une prolifération plasmocytaire maligne atteignant principalement la moelle osseuse (MO). Il se manifeste d'une part par la sécrétion d'une immunoglobuline (Ig) monoclonale entière dans les formes typiques et de chaînes légères libres (CLL) dans les MM à chaînes légères libre.

Nos résultats concernant 47 patients atteints de MM au sein de l'Hôpital Central de l'Armée, montre une légère prédominance masculine avec un pourcentage de 55% et une médiane d'âge située entre [50-70] ans correspond à un taux de 36,29%. Les manifestations cliniques sont très variées, mais les douleurs osseuses représentent le taux le plus élevé de 44,72%. La répartition des patients en fonction des services d'hospitalisation a montré une prédominance des services d'hématologie avec une fréquence de 36,17% et du service de rhumatologie de 27,65%. Le diagnostic immunologique par la néphélométrie laser a montré un taux important d'immunoglobuline IgG 57,45. L'électrophorèse sérique a mis en évidence le plus souvent le pic gamma suivi par l'immunofixation présentant un isotype IgG kappa le plus fréquent.

Mots clés : Myélome multiple (MM), plasmocyte, immunoglobuline (Ig) monoclonale, chaînes légères libres (CLL).

Summary

Multiple myeloma (MM) is an affection characterised by a malignant plasmatic proliferation reaching mostly the bone marrow. It manifests itself in part by the secretion of immunoglobulin (Ig) monoclonal whole in typical forms of free light chains (FLC) in the MM free light chains.

Our results on 47 patients with MM in healthy Central Hospital of the Army, shows a slight male predominance with a percentage of 55% and a median age between [50-70] years corresponds to a rate of 36,29%. The clinical manifestations are varied, but the bone pain is the highest rate of 44,72%. The distribution of patients according to hospital services showed a predominance of hematology with a frequency of 36,17% and the rheumatology department of 27,65%. The immunological diagnosis by the laser nephelometry showed a significant rate of IgG 57,45%. Serum electrophoresis showed mostly gamma peak followed by immunofixation having isotype IgG kappa most frequent rate.

Key words: Multiple myeloma, plasma cells, monoclonal immunoglobulin, free light chains.

ملخص

النقيوم المتعدد مرض يتميز بتكاثر المصورية الخبيثة التي تصيب النقي العظمي ، يتميز النقيوم بخاصية إفراز الغلوبين المناعي الوحيد النسلية الكامل في الأنواع النمطية و السلسلات الخفيفة الحرة في حالة النقيوم المتعدد ذو السلسلات الخفيفة الحرة.

لقد شملت نتائج دراستنا ل47 مريض مصابون بالنقيوم المتعدد بالمستشفى المركزي للجيش ، أظهرت هيمنة ذكورية طفيفة بنسبة 55% مع متوسط الأعمار ما بين [50-70] سنة ما يعادل 36,29%. المظاهر السريرية متنوعة، ولكن الإصابات العظمية هي الأكثر ترددا بنسبة 44,72%. أظهر توزيع المرضى وفقا لخدمات المستشفى هيمنة مبحث الدم بنسبة 36,17% وقسم الروماتيزم 27,65%. كما أظهر التشخيص المناعي عن طريق نفيليمتري بنسبة معتبرة من الغلوبين المناعي الوحيد النسلية الذي يمثل 57,45%. الهجرة الكهربائيّة لمصل الدم أبرزت أغلبية الذروة في مجال جاما يليها التثبيت المناعي الذي يمثل النمط IgG kappa في الأغلبية.

كلمات المفتاح : النقيوم المتعدد ، المصورية ، الغلوبين المناعي الوحيد النسلية ، السلسلات الخفيفة الحرة.

Chapitre I
Généralité

I.1 Historique :

Bien que la plus ancienne preuve de Myélome multiple (MM) date des momies égyptiennes, le premier cas décrit remonte très probablement à 1844, où une patiente dénommée Sarah Newbury décéda à Londres suite à de multiples fractures et tassements. L'autopsie montra une intense vascularisation médullaire et une abondance de cellules claires, aux contours distincts enveloppant un noyau central brillant. Le premier cas avéré de MM fut observé chez un autre patient, dont les urines furent examinées par le Dr Bence-Jones. Le Dr Otto Kähler, quant à lui, publiera en 1889 à Prague une description clinique détaillée du MM, encore appelé, maladie de Kahler (**Kyle, 1991**).

I.2. Définition :

Le myélome multiple (MM), également appelé maladie de Kahler, est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération d'un clone unique de plasmocytes tumoraux envahissant la moelle osseuse (MO). Le clone plasmocytaire produit une immunoglobuline (Ig) monoclonale, complète ou non, décelable dans le sérum et/ou dans l'urine (**Harouseau, 1992**).

I.3. Epidémiologie :

Le MM représente 1 % de l'ensemble des cancers et 10 à 12 % des hémopathies malignes. C'est la seconde hémopathie maligne après les lymphomes (**Rajkumar et al., 2005**).

Les taux d'incidence standardisés sur la population mondiale progressent de 1 à 2 % par an sur la période de 1980 à 2012. En France, 4888 nouveaux cas estimés en 2012 (**Monnereau et al., 2013**).

Aux Etats-Unis, l'incidence annuelle est de 4 pour 100 000 habitants. Le MM est un peu plus fréquent chez les hommes que chez les femmes. L'âge médian au moment du diagnostic est d'environ 65 ans, il peut également toucher les sujets jeunes car seulement 2 % des patients ont moins de 40 ans (**Rajkumar, 2013**).

En Algérie, près de 2000 Algériens souffrent de MM, avec une incidence de 1,1 pour 100 000 habitants par an (**Saïdi, 2013**). Le taux des patients a augmenté de 1515 patients à 1938 d'après une étude rétrospective, effectuée sur 6 ans (2006-2012) avec un âge médian au moment du diagnostic qui est de 60 ans (**Saïdi, 2013**).

I.4. Etiologie :

Les facteurs favorisant le MM sont encore mal connus. Des études japonaises et américaines démontrent un excès de MM dans les populations exposées aux radiations ionisantes. Les pesticides, le benzène, les solvants organiques, les dérivés du pétrole ou encore l'obésité sont évoqués comme facteurs de risque (**Moreau, 2009**).

I.5. Manifestation clinique du MM :

Les éléments cliniques qui caractérisent le MM comprennent des symptômes généraux, tels qu'une altération de l'état général. L'asthénie constitue un symptôme majeur trouvé chez environ 30% des patients, souvent liée à un syndrome anémique. Une perte de poids modeste est observée chez environ un quart des patients (**Morlon, 2010**).

À côté de cela, le MM se manifeste par des symptômes plus spécifiques tel que :

I.5.1. Atteinte osseuse :

Signe principal du MM, les douleurs osseuses sont présentes dans 70% des cas au moment du diagnostic. Ces douleurs sont d'intensité variables, localisées ou diffuses intéressant souvent le rachis, le gril costal et le bassin (**Gueye, 2001**). Les lésions ostéolytiques sont une cause majeure de morbidité chez les patients. Elles constituent des zones de fragilité qui peuvent aboutir à des fractures et des tassements vertébraux (**Morlon, 2010**). La diminution de l'activité ostéoblastique participe à la survenue d'une hypercalcémie (**Gertz et al., 2014**).

I.5.2. Anémie :

L'anémie est présente au moment du diagnostic chez environ 70% des patients (**Gertz et al., 2014**). Elle a souvent une origine multifactorielle: infiltration médullaire, insuffisance rénale, carence d'apport en fer. Cependant, une étude belge indique que le mécanisme de l'anémie dans le MM relève surtout d'un défaut de production de globules rouges. Ce défaut est consécutif à une baisse de la sécrétion d'érythropoïétine (**Gueye, 2001**).

I.5.3. Atteinte rénale :

Elle est présente chez environ 50% des patients au moment du diagnostic, mais à des degrés divers. Le recours à l'hémodialyse est requis dans 5 à 10 % des cas. La cause la plus fréquente reste la tubulopathie myélomateuse (63 à 87 % des atteintes rénales). Elle est caractérisée par la précipitation de cylindres, formés de CLL, dans les tubules distaux (**Manier et al., 2011**) (figure 1).

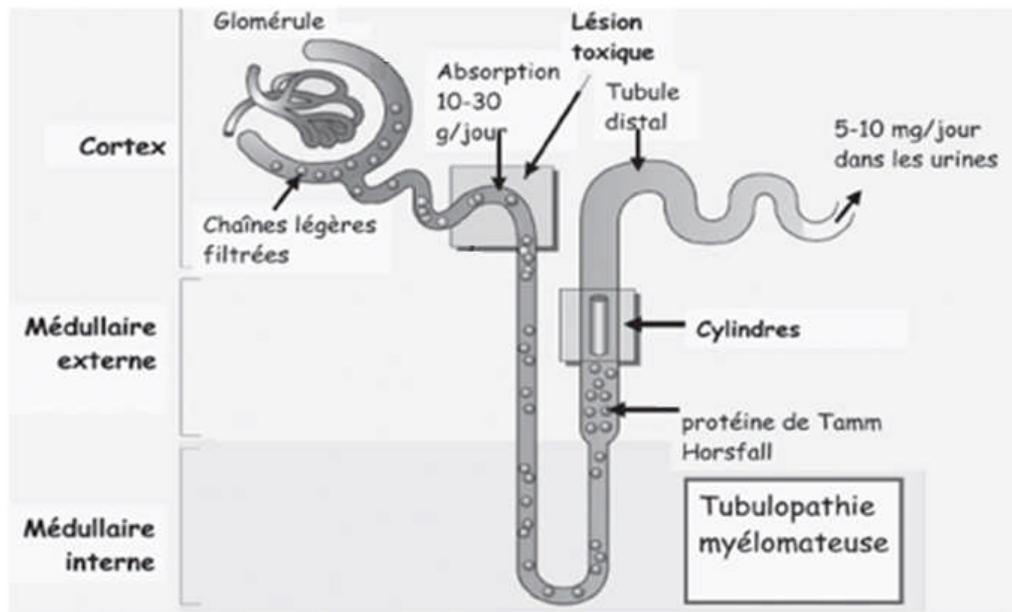


Figure 1 : Métabolisme des chaînes légères libres et complications rénales des dysglobulinémies (Schéma modifié, **Dracon et al., 2009**).

I.5.4. Amylose AL :

Elle se rencontre dans 10% des cas (surtout les MM à IgD et à chaînes légères Lambda λ). La substance amyloïde est composée de chaînes légères d'Ig. Elle peut entraîner des lésions rénales touchant la peau, le cœur, le tube digestif, les muscles et le système nerveux (**Morlon, 2010**).

I.5.5. Manifestations neurologiques :

Il s'agit le plus souvent de compression médullaire qui est la conséquence d'une compression nerveuse, par contiguïté avec l'atteinte osseuse et une vertèbre fracturée. La compression médullaire se traduit cliniquement par des signes radiculaires puis une paraplégie nécessitant, après IRM, un traitement chirurgical d'urgence. D'autres symptômes neurologiques comme des troubles de vision, des bourdonnements d'oreille ou une confusion peuvent accompagner le MM (**Morlon, 2010**).

I.5.6. Les infections :

Ce sont l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité. Les infections à *Streptococcus pneumoniae* et à bacilles gram négatif sont fréquentes. Les infections atteignent aussi les voies respiratoires (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*). Cette fragilité vis-à-vis

de l'infection est multifactorielle et résulte de la diminution de l'immunité, de la neutropénie et de l'insuffisance rénale (**Moreau, 2009**).

I.6. Physiopathologie :

Aux stades initiaux du myélome, la croissance tumorale se fait surtout par accumulation cellulaire et repose sur l'inhibition de l'apoptose. L'évolution de la maladie se traduit par une capacité croissante de prolifération du clone plasmocytaire (**Chaïbi et al., 2000**).

Le précurseur de ce clone est un lymphocyte B (LB), produit à partir des LB naïfs. Ces derniers sont sécrétés à partir d'une cellule souche hématopoïétique (CSH). Les LB naïfs transitent par le sang, vont dans les organes lymphoïdes secondaires et se différencient au contact de l'antigène (Ag) en LB mémoires ou en plasmocytes qui migrent ensuite vers la MO pour se différencier en plasmocytes matures synthétisant, en grande quantité, une protéine extrêmement spécialisée l'Ig, effecteur de la réponse immune humorale (**Le Bien et al., 2008**).

Les Ig sont des glycoprotéines possédant une activité anticorps (AC) qui peuvent être exprimées à la surface des LB, formant le récepteur à l'Ag B Cell Receptor (BCR) (**Gueye, 2001**). La structure des Ig est en forme de Y comportant quatre chaînes polypeptidiques groupées en deux paires de taille égale:

- deux chaînes lourdes H (heavy)
- deux chaînes légères L (light)

Les chaînes lourdes sont unies entre elles par un ou plusieurs ponts disulfures et les chaînes légères sont unies aux chaînes lourdes par un pont disulfure.

Chaque chaîne comporte deux parties: une partie constante C terminale et une partie variable N terminale (**Gueye, 2001**) (figure 2).

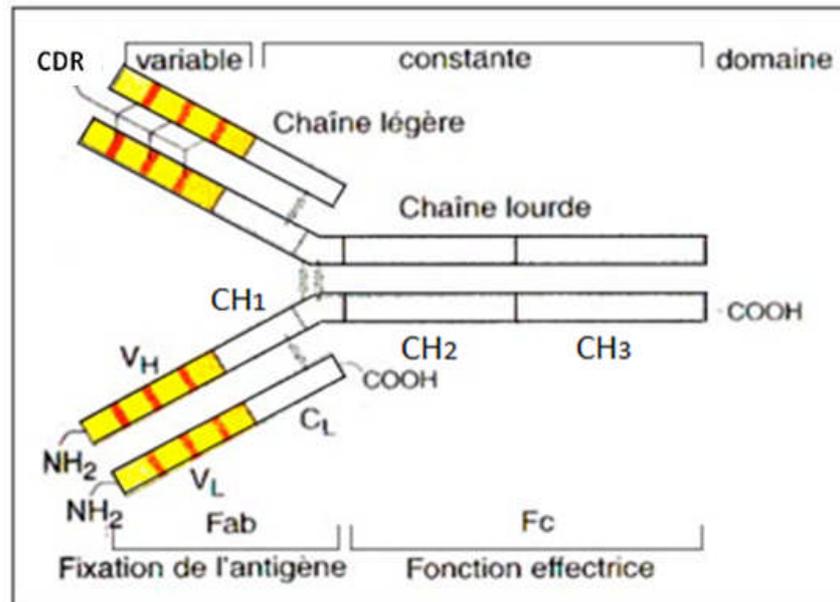


Figure 2 : Structure des immunoglobulines (Morlon, 2010).

CDR :Complémentary Determining Region ou région déterminant la complémentarité, Fab : Fragment fixant l'antigène, Fc : fragment cristallisable, VH/L : domaine variable de la chaîne lourde/légère, CH/L : domaine constant de la chaîne lourde/légère.

I.6.1. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) :

Les GMSI ou monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) correspondent à plus de 50 % des cas de gammopathies monoclonales, et leur fréquence dans la population générale est estimée à 3 % chez les adultes de plus de 50 ans (Grosbois *et al.*, 2005). Elles correspondent à de véritables états pré-tumoraux pouvant évoluer vers une hémopathie maligne. Pour les GMSI IgG et IgA, le principal risque évolutif est le MM. Le risque évolutif est estimé à 1 % par an et ne diminue pas avec le temps. (Kyle *et al.*, 2002).

I.6.2. Oncogénèse :

La cause de la prolifération plasmocytaire maligne reste obscure mais il serait l'étape ultime d'un processus impliquant des mutations génétiques successives (Sébahoun, 2005). La première étape serait la translocation du gène des chaînes lourdes des Ig situé sur le chromosome 14. En effet, au stade de la GMSI, on s'aperçoit que 50% des patients au diagnostic ont une translocation du chromosome 14 ou une délétion du chromosome 13. La maladie est totalement silencieuse et il n'y a pas de signes cliniques de MM. Ces proliférations monoclonales donnent naissance à un pic d'Ig qui est de faible intensité et

transitoire. Elles peuvent se voir au cours de certaines infections virales et chez des patients avec un déficit immunitaire (**Kuppers et al., 2001**).

Cet état de transition peut être stable ou évolutif vers le stade de MM (**Proulx, 2009**).

I.6.3. Interaction des cellules tumorales avec leur environnement :

L'interaction entre les cellules myélomateuses et l'environnement médullaire favorise la production de cytokines par les cellules tumorales elles-mêmes et par les cellules de l'environnement. Ces facteurs sont produits de façon autocrine ou paracrine, ils sont présents à de fortes concentrations dans la MO, qui vont permettre la progression du clone tumoral (**Descamps, 2006**).

I.6.3.1. Rôle des cytokines et chemokines dans le MM :

a) Interleukine-6 (IL-6) :

L'IL-6 a d'abord été décrite comme facteur de différenciation des LB en cellules productrices d'Ac. Elle joue le rôle d'un facteur de survie tumorale en stimulant la prolifération plasmocytaire et la résorption osseuse (**Chaïbi et al., 2000**). Bien que initialement, il a été suggéré que l'IL-6 est produite par les cellules tumorales elles mêmes, il est maintenant couramment admis que ce sont les cellules stromales médullaires, les ostéoblastes (OB) et les ostéoclastes (OC) qui sont les principales sources de l'IL-6 dans le MM (**Descamps, 2006**). La production d'IL-6 est augmentée de façon considérable chez les patients atteints de MM (**Klein, 1991**) (figure 3).

b) Interleukine-8 (IL-8) :

L'IL-8 est produite par les cellules stromales, elle stimule directement la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures (**Aggarwal et al., 2006**) (figure 3).

c) Interleukine- 3 (L'IL-3) :

L'IL-3 est une cytokine à grand effet inhibiteur sur la formation et la différenciation osseuse chez les patients porteurs de MM et elle stimule l'activité ostéoclastique (**Aggarwal et al., 2006**) (figure 3).

d) Interleukine-1 β (IL-1 β) :

L'interleukine-1 β est sécrétée par les plasmocytes myélomateux. Les plasmocytes ne produisent jamais d'IL-1 β à l'état normal, exceptionnellement lors des MGUS, donc son apparition semble être un événement initial de l'évolution d'une MGUS vers un MM (Arnulf et al., 1999). L'IL-1 β stimule la différenciation ostéoclastique et la sécrétion d'IL-6 par les cellules du stroma médullaire (Chaïbi et al., 2000).

e) Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) :

Le TNF- α stimule la production d'IL-6 par les cellules de l'environnement tumoral. Son taux est augmenté au cours de la maladie, c'est un facteur de croissance des cellules de MM, donc c'est un facteur de mauvais pronostic (Sprynski, 2009) (figure 3).

f) Macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α):

MIP-1 α est produite par les plasmocytes malins, se lie à son récepteur présent à la surface des précurseurs ostéoclastiques et cellules stromales induisant la libération de RANKL (Receptor Activator for Nuclear factor Kappa b Ligand : cytokine exprimée à la surface des OB) et par conséquent la différenciation ostéoclastique (Abe et al., 2002) (figure 3).

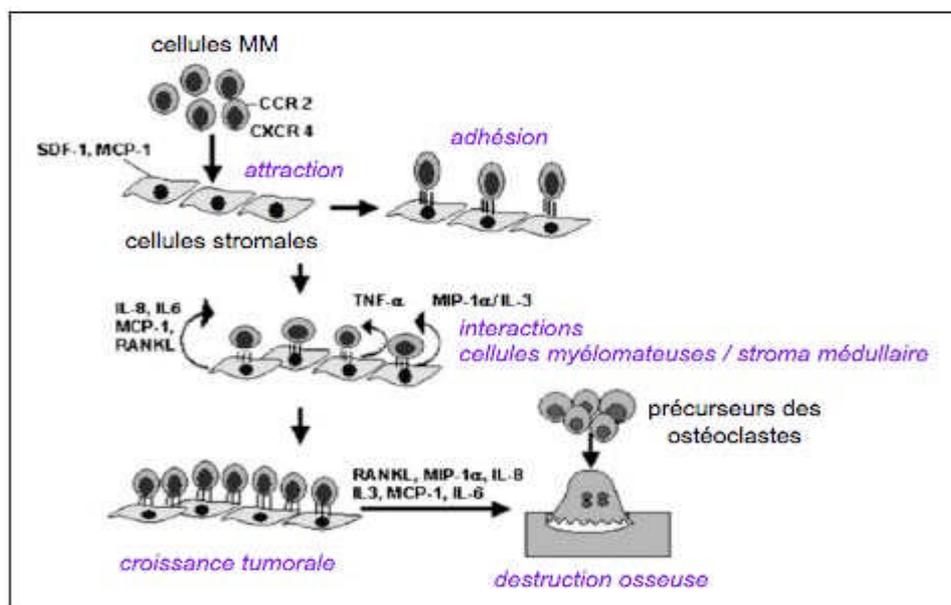


Figure 3: Rôle des principales cytokines et chemokines dans la physiopathologie du MM (Aggarwal et al., 2006).

MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein-1, MIP-1 α : Macrophage Inflammatory Protein-1 α , RANKL: Receptor Activator for Nuclear factor Kappa b Ligand, SDF-1: Stromal cell-Derived Factor-1, TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α .

I.6.4. Mécanismes des lésions osseuses :

La présence de cellules tumorales dans l'os entraîne un déséquilibre de RANKL/OPG (OPG : ostéoprotégérine sécrétée par les OB) (Clézardin, 2011).

L'expression de RANKL est augmentée dans le MM car les plasmocytes tumoraux qui envahissent la MO interagissent avec les cellules stromales et induisent l'expression de RANKL par ces cellules (Kearns *et al.*, 2008) (figure 3). De plus, l'expression de l'OPG est diminuée dans le MM car il se lie à la surface des cellules tumorales, ce qui entraîne son internalisation puis sa dégradation. Les plasmocytes tumoraux sécrètent aussi un inhibiteur naturel de la formation osseuse Dickkopf-1 (DKK-1) qui inhibe la production de l'OPG par les OB, il en résulte donc un déséquilibre du ratio RANKL/OPG en faveur de la résorption osseuse (Giuliani, 2008) (figure 4).

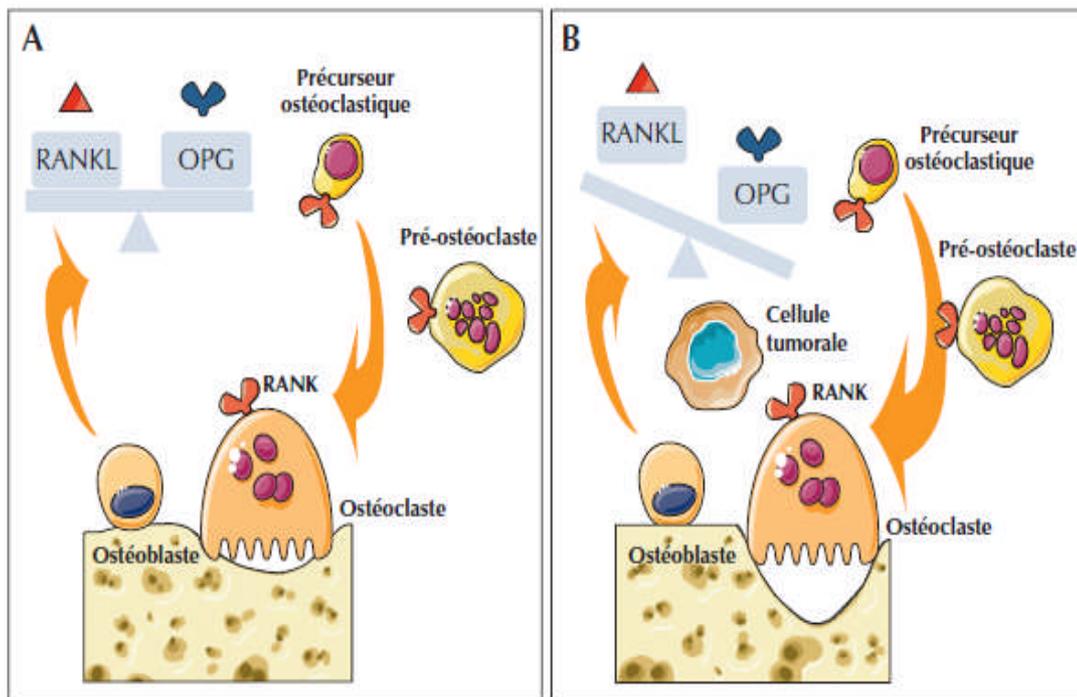


Figure 4 : Fonctions de la triade RANK/RANKL/OPG au cours du remodelage osseux (A); et lors de la formation des métastases osseuses (B) (Clézardin, 2011).

RANK: Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B, RANKL: Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B Ligand, OPG: Ostéoprotégérine.

I.7. Diagnostic :

Afin de diagnostiquer le MM chez les patients en suspicion, il est impératif d'effectuer différentes analyses représentées au niveau du tableau suivant :

Tableau I : Examens effectués pour le diagnostic du MM selon les recommandations de l'International Myeloma Workshop Consensus Panel 3 (Moreau, 2009) :

• Hémogramme avec frottis sanguin
• Examen biochimique complet sanguin et urinaire comprenant ionogramme sanguin, créatininémie, calciémie, albuminémie
• Électrophorèse des protéines sériques + immunofixation
• Dosage pondéral des immunoglobulines sériques
• Protéinurie avec recherche d'une protéinurie de Bence-Jones + électrophorèse et immunofixation sur les urines des 24 heures
• Myélogramme et/ou biopsie ostéomédullaire
• Analyse cytogénétique (caryotype standard et FISH)
• Dosage des LDH et de la β -2 microglobuline dans le sérum
• Dosage des chaînes légères sériques
• Bilan radiographique du squelette (rachis, crâne, pelvis, humérus, fémurs) + IRM selon les circonstances

FISH : hybridation *in situ* en fluorescence.

I.7.1 Bilan radiologique :

a. La radiographie standard:

les clichés du squelette entier montrent soit un os normal, soit la présence de géodes disséminés sur le crâne, le bassin, les os longs, ou encore une déminéralisation diffuse à l'origine d'un aspect radio transparent des vertèbres ou des côtes (Marolla et al.,2008) (figure 5).

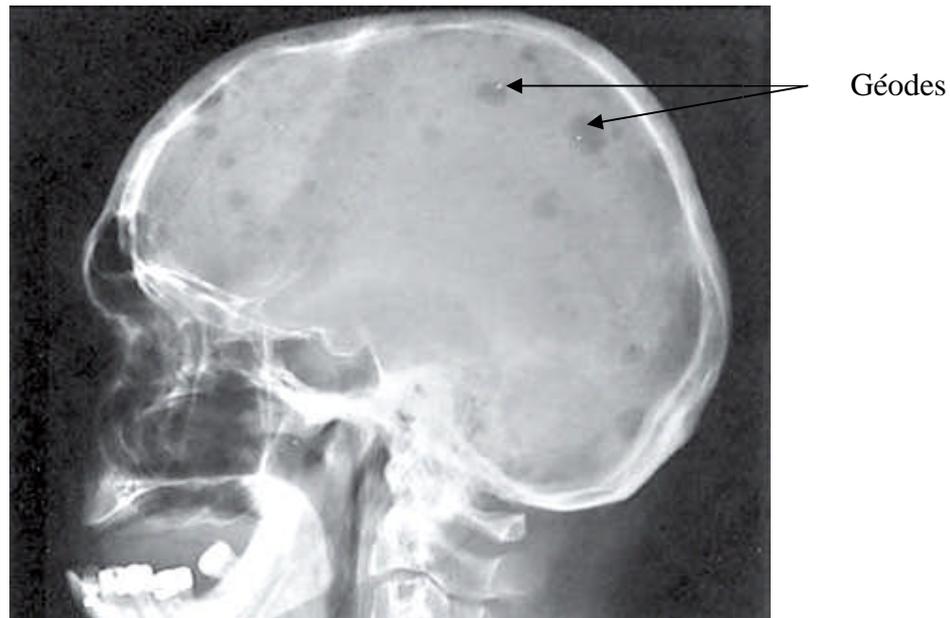


Figure 5: Radiographie du crâne montrant de multiples lésions lytiques (Rajkumar, 2013).

b. Scintigraphie :

La scintigraphie est peu utilisée pour le diagnostic du MM du fait de sa faible sensibilité (16 à 25% des cas). La spécificité est également faible, les zones de fixation pouvant correspondre à des dépôts amyloïdes et non à la prolifération plasmocytaire (Gueye, 2001).

c. Tomodensitométrie ou scanner :

Elle apprécie mieux les lésions osseuses et l'extension lésionnelle que les radiographies standards (Lütje et al., 2009). Elle permet de retrouver des lacunes osseuses lytiques de petite taille. Elle est inutile en cas de lésions osseuses typiques visibles sur les clichés standards (Adib et al., 2011).

d. Imagerie par résonance magnétique (IRM) :

Cette technique présente un grand intérêt en raison de sa sensibilité dans la détection des lésions de la MO. Elle permet l'évaluation de l'atteinte de la MO, du fait d'une perte des composants graisseux médullaires et de leur remplacement par une infiltration plasmocytaire. C'est l'un des examens de référence du myélome (Durie, 2006) (figure 6).

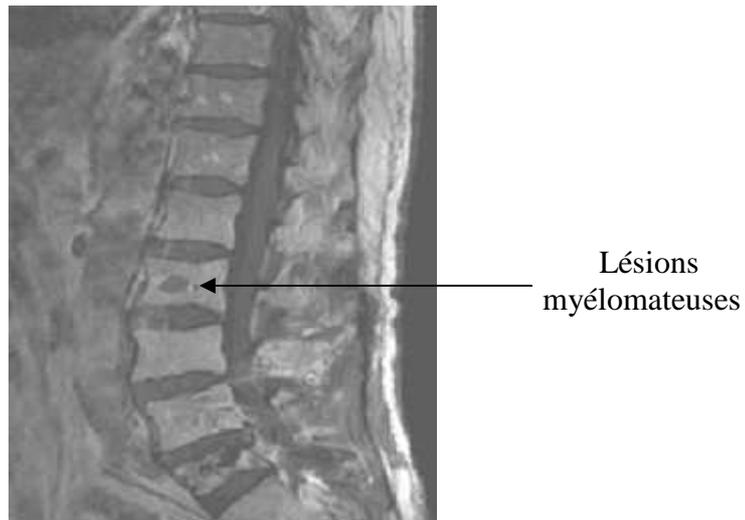


Figure 6: Imagerie par résonance magnétique rachidienne du rachis hétérogène (Lambrecht et al., 2011).

I.7.2. Bilan hématologique

a. Hémogramme :

Les résultats montrent de manière inconstante une anémie modérée, normochrome, arégénérative présente dans 50 à 60 % des cas (Facon et al., 2002). La leucopénie et la thrombopénie sont rares au début de la maladie mais apparaissent au cours de l'évolution. L'examen du frottis sanguin permet de mettre en évidence la présence d'hématies en rouleaux sur le frottis quand l'Ig monoclonale est à un taux élevé, ce qui est très évocateur d'une dysglobulinémie (Vaubourdolle, 2007) (Figure 7).

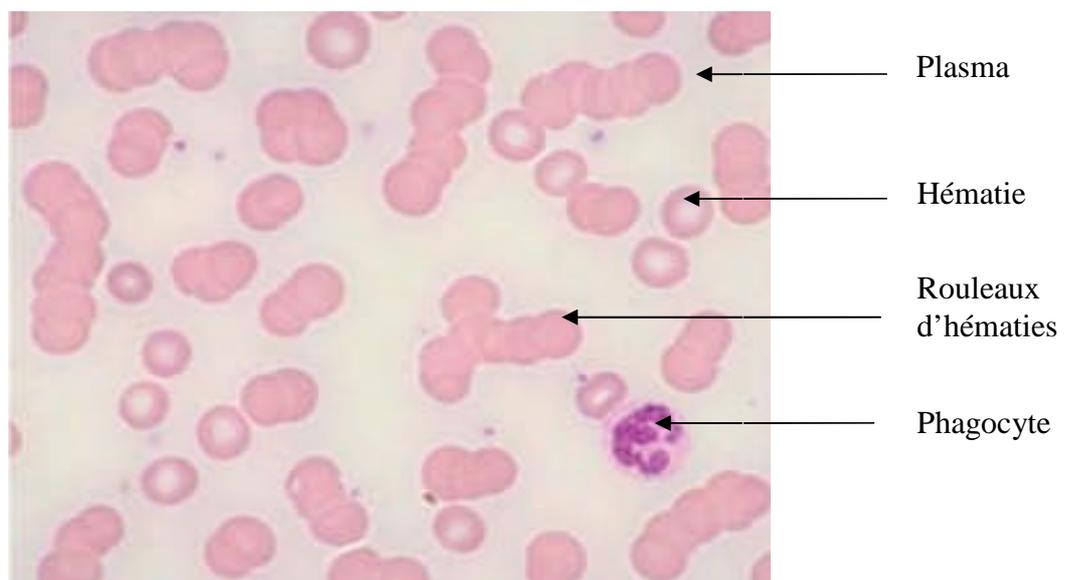


Figure 7 : Frottis sanguins : rouleau-formation des hématies (Morlon, 2010).

b. Myélogramme :

Le myélogramme par ponction médullaire est l'examen de référence, il est indispensable à la confirmation du diagnostic. En effet, il permet de mettre en évidence une infiltration plasmocytaire qui est plus de 10% de plasmocyte dans la MO (figure 8).

Dans la moitié des cas, les plasmocytes présentent des anomalies morphologiques, ils sont souvent à noyaux jeunes et binucléés, chromatine décondensée ou fine, à cytoplasme flammé et quelque fois bourrés de vacuoles (**Vaubourdolle, 2007**) (figure 9, 10).

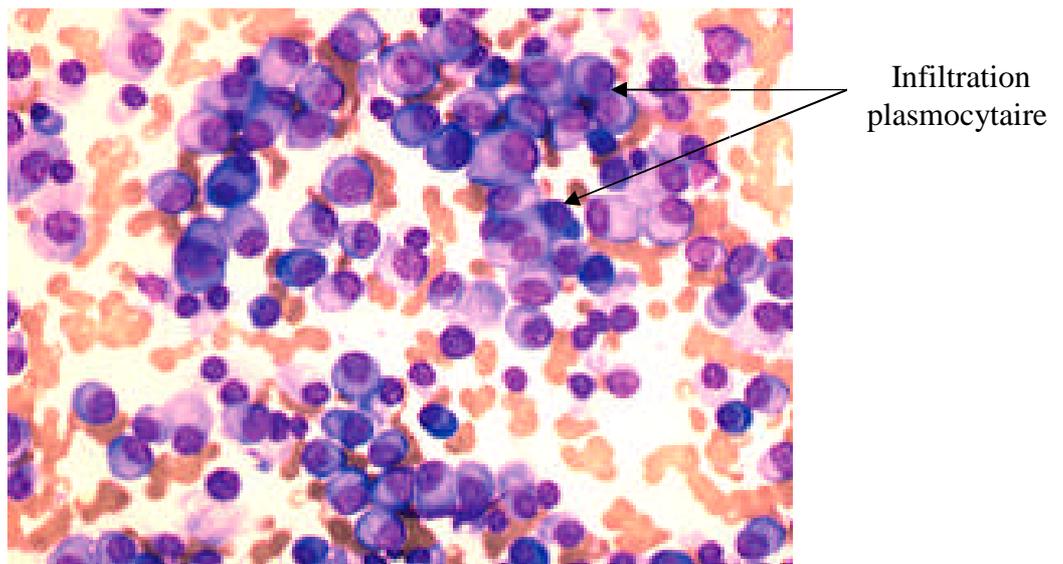


Figure 8 : Envahissement plasmocytaire médullaire (**Ferland et al., 2003**).

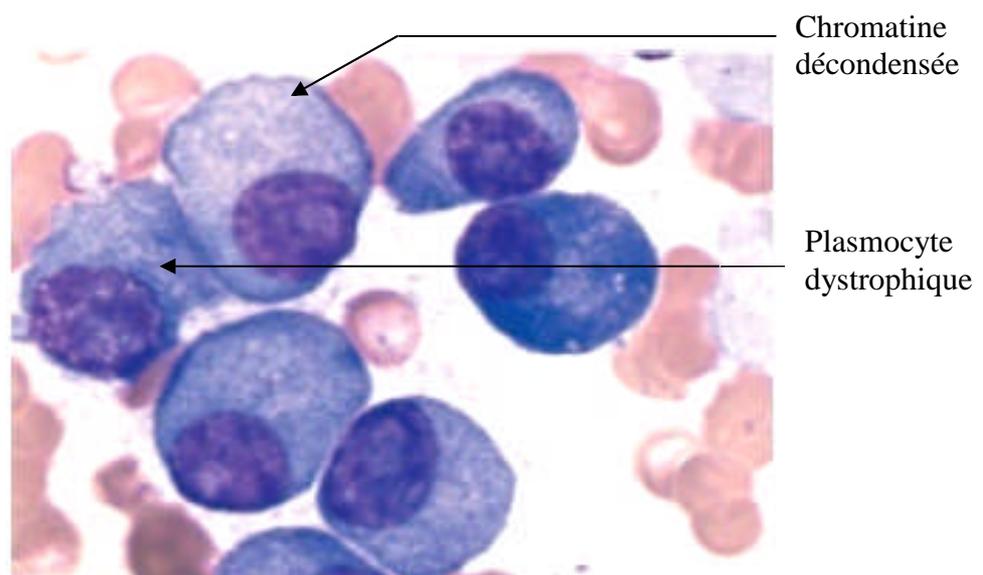


Figure 9 : Plasmocytes dystrophiques avec volumineux nucléoles (**Ferland et al., 2003**).

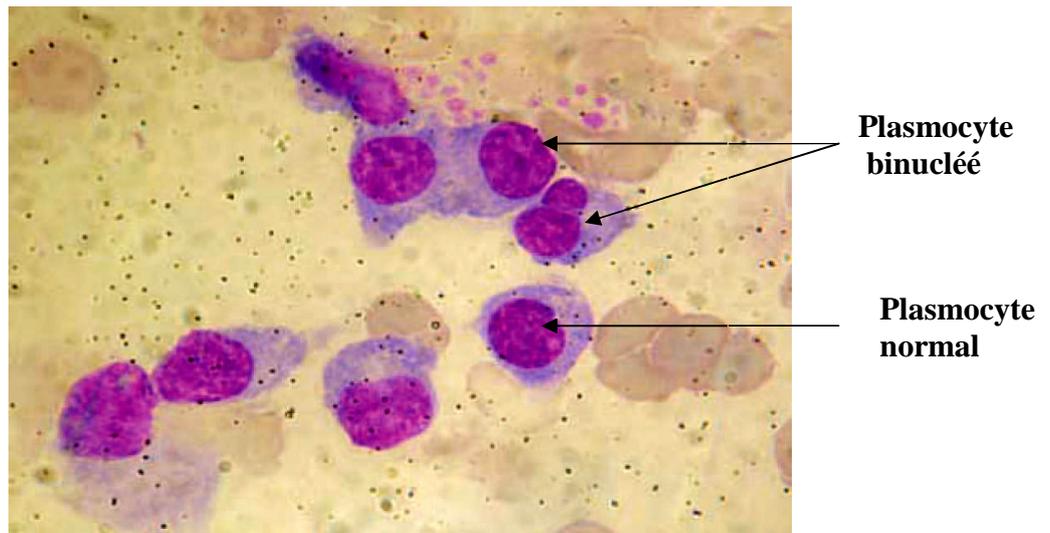


Figure 10 : Frottis médullaire montrant un plasmocyte normal et des plasmocytes binucléés (**Hassani et al., 2010**).

c. Vitesse de sédimentation (VS) :

La Vitesse de sédimentation (VS) est le plus souvent accélérée, liée à la présence de l'Ig monoclonale. Elle est parfois supérieure à 100 mm à la première heure (**Vaubourdolle, 2007**).

I.7.3. Bilan biochimique :

a. Protéine C réactive (CRP):

La protéine C réactive (CRP, C reactive protein) est un marqueur de l'activité du MM. Elle est synthétisée par les hépatocytes en réponse à l'IL-6. Indirectement, la CRP reflète le taux sérique d'IL-6 qui joue un rôle physiopathologique majeur dans le MM (**San-Miguel et al., 2006**).

b. β 2-microglobuline sérique (β 2-m) :

La β 2-microglobuline (β 2-m) sérique est un paramètre biologique capital dans le MM. C'est un marqueur de la prolifération lymphoplasmocytaire qui reflète l'importance de la masse tumorale (**Marolla et al., 2008**).

c. Albuminémie :

Le taux sérique d'albumine est généralement abaissé. Une hypoalbuminémie (moins de 35g/l) est constatée chez 40% des patients. Elle est la conséquence du syndrome inflammatoire et éventuellement d'insuffisance rénale. L'hypoalbuminémie est un facteur de pronostic important (Moreau, 2009).

d. Protidémie :

L'augmentation du taux des protéines est très fréquente chez les patients atteints du MM, pouvant dépasser 100g/l. Une hyperprotidémie reflète l'augmentation de la masse protéique circulante dans le MM (Vaubourdolle, 2007).

e. Analyse des urines (protéinurie) :

Un recueil des urines de 24 heures est le meilleur prélèvement, car une protéinurie significative, souvent supérieure à 1 g/24 h, peut évoquer l'existence d'un passage de CLL monoclonales dans les urines que l'on nomme protéinurie de Bence Jones (PBJ). Cependant, la protéinurie seule n'a pas de signification, elle doit être complétée par une immunofixation urinaire (Raidelet et al., 2013). La protéinurie permet également de caractériser le type d'atteinte rénale (Kyle et al., 2003). Elle est très dépendante des fonctions glomérulaires et tubulaires, souvent altérées chez le sujet âgé (Retornaz et al., 2010).

I.7.4. Bilan immunologique :**a. Dosage pondéral des immunoglobulines :**

Il s'agit d'un dosage quantitatif spécifique par l'immunonéphélométrie qui mesure la quantité d'Ig (Retornaz et al., 2010). La néphélométrie permet de révéler des taux sériques élevés de la CRP et de la B2-m, ainsi qu'une diminution du taux de l'albumine (Vaubourdolle, 2007).

b. Electrophorèse des protéines sériques (EPS) :

Le profil électrophorétique est obtenu grâce à l'électrophorèse des protéines sériques. Différentes fractions protéiques sont identifiées selon leur vitesse de migration (Lissoir et al., 2003). Sur le tracé, l'Ig monoclonale s'objective par une bande ou un pic étroit visible le plus souvent dans la zone des β ou γ globulines. L'EPS est une analyse qualitative et quantitative (Szymanowicz et al., 2006).

c. Immunofixation des protéines sériques (IFS) :

L'immunofixation est un outil clinique très utilisé lors de l'exploration des anomalies protéiniques. En effet, elle permet de confirmer la clonalité de la bande visualisée à l'EPS, de typer l'Ig monoclonale. Comme, elle permet parfois d'identifier et de caractériser une Ig monoclonale non détectée par l'EPS (**Guenet et al., 2007**).

d. Electrophorèse des protéines urinaires (EPU) :

Cette technique a pour but de séparer les protéines en fonction de leurs poids moléculaires sur gel d'agarose ou polyacrylamide, dont l'intérêt est la détection de PBJ. Comme elle peut détecter l'origine glomérulaire ou tubulaire de la protéinurie (**Le Bricon, 2002**).

e. Immunofixation des protéines urinaires (IPU) :

L'immunofixation ou recherche de protéinurie de Bence-Jones est une technique qualitative permettant d'identifier le composant monoclonal (CM) constitué de CLL. Cette technique combine une séparation des protéines classiques par électrophorèse, et une immunoprécipitation en gel par des antisérums (**Le Bricon, 2002**).

I.8. Classification du myélome multiple :**I.8.1 Myélome à chaîne légère libre :**

C'est une forme assez fréquente, l'Ig monoclonale est composée uniquement de chaînes légères d'isotype kappa (κ) ou lambda (λ), qui passent en quasi-totalité dans les urines sans être détectables dans le sang. L'électrophorèse des protéines urinaires est alors le meilleur examen pour les détectées (**Guillevin, 2014**).

I.8.2 Myélome non sécrétant :

Les patients atteints de myélome non sécrétant ont la particularité de n'avoir aucun CM sécrété. Ils ne représentent que 3 % des cas de myélome. Le traitement est le même que celui des patients atteints de myélome typique, la survie est également semblable (**Bidet et al., 2007**).

I.7.3 Myélome multiple asymptotique (indolent) :

Les patients atteints de MM indolent sont semblables à ceux atteints de MGUS, mais ils courent un risque beaucoup plus élevé de progression vers un myélome ou une tumeur maligne. En conséquence, les patients doivent être surveillés de plus près, mais ils ne devraient être traités qu'en cas de transformation en MM symptomatique (**Rajkumar, 2013**).

I.7.4 Plasmocytome solitaire osseux (myélome solitaire) :

Une protéine monoclonale peut être présente dans le sérum ou les urines au moment du diagnostic, mais sa persistance après radiothérapie est liée à un risque accru de transformation en MM (**Lambrecht et al., 2011**).

I.8. Traitement :

Un traitement n'est pas systématiquement débuté dès le diagnostic d'un MM. En effet, lorsque la maladie ne s'accompagne d'aucun symptôme, il a été montré au cours d'études qu'un traitement n'apporte pas de bénéfice sur l'évolution de la maladie. Une simple surveillance en consultation est alors suffisante, avec des bilans sanguins, urinaires et radiologiques réguliers (**Pasquier, 2006**).

Lorsque le myélome s'accompagne de symptômes, un traitement est nécessaire. Celui-ci prend en compte de nombreux paramètres, notamment l'âge et les antécédents du patient et les caractéristiques de la maladie (**Pasquier, 2006**).

Le traitement repose essentiellement sur la chimiothérapie.

Diverses associations et séquences de traitement sont utilisées, très schématiquement :

- Pour les malades de moins de 65 ans : font habituellement l'objet d'un traitement par une chimiothérapie d'induction, qui a pour but de faire régresser rapidement les signes de la maladie. Ensuite, un traitement intensif, supporté par une autogreffe de cellules souches sanguines. L'objectif d'administrer une chimiothérapie (un alkylant) à forte dose, afin de détruire le maximum de cellules cancéreuses mais l'inconvénient, une diminution très importante du nombre des cellules normales sanguines (ce que l'on appelle une aplasie) (**Janvier, 2008**).
- Pour les malades de plus de 65 ans : la chimiothérapie intensive avec autogreffe est rarement indiquée car trop risquée. Le traitement consiste à administrer une chimiothérapie classique sur une durée plus longue (douze à dix-huit mois) (**Stephens, 2009**).

Ces traitements permettent généralement d'obtenir une rémission, c'est-à-dire une absence de signes de la maladie, associée à une diminution de l'Ig monoclonale dans le sang et/ou les urines. Une surveillance régulière est mise en place, avec des examens sanguins, urinaires et radiologiques (**Armoiry et al., 2007**).

Les traitements actuels ne permettent pas, dans la grande majorité des cas, d'obtenir une guérison. Après un temps variable selon les personnes, le MM tend à réapparaître. Un nouveau traitement, le plus souvent différent du premier, devra alors être mis en œuvre (**Cairolì et al., 2013**).

Notre travail a été réalisé au sein du service d'Immunologie de l'Hôpital Central de l'Armée de Ain Naadja, durant une période allant du mois de Mars au mois de Mai 2014. Les différentes analyses ont été effectuées sur des prélèvements sanguins (sérum) et urines de 60 patients en suspicion du MM issus de différents services au sein de l'hôpital et d'autres services externes. Nous signalons cependant, que 13 de ces 60 patients ont été écartés de cette étude suite aux résultats négatifs obtenus. Donc notre série ne comporte finalement que 47 patients sur lesquels nous avons effectué un diagnostic immunologique dont 7 patients ont été préalablement diagnostiqués et sont sous contrôle médicale.

II.1 Matériel biologique :

II.1.1 Prélèvement sanguin :

Les prélèvements sanguins ont été réalisés par ponction veineuse au pli du coude dans des tubes secs (sans anticoagulant). Les sérums obtenus, après centrifugation à 2500 tours/minute pendant 10 minutes, ont été conservés à +4°C jusqu'à utilisation.

Comme témoin, nous avons pris un Pool de 47 sérums de sujets sains, préalablement testés en électrophorèse et par néphélométrie laser.

II.1.2 Prélèvement urinaire :

Les urines de 24h ont été adressées au laboratoire d'immunologie afin de détecter la présence ou la persistance d'une protéinurie de Bence Jones.

II.2 Matériel non biologique: voir annexe.

II.3 : Méthodes

II. 3.1 Analyse quantitative :

a. Dosage des protéines sériques par néphélométrie laser :

Principe :

Le BN ProSpec (Behring Nephelometer Protein Specialist) est un automate qui permet de doser les protéines dans le sérum et les urines. Il consiste à mesurer la déviation de la lumière obtenue, après avoir traversé un complexe Ag/Ac. La lumière dispersée est déviée par un ensemble de miroirs pour être dirigée sur le lecteur dans le but de mesurer l'intensité du signal lumineux.

L'intensité de la lumière est donnée en densité optique DO et les concentrations des protéines à doser sont obtenues par extrapolation de la valeur DO sur la courbe d'étalonnage.

La réaction immunochimique est effectuée en phase d'excès d'AC selon la courbe d'Heidelberger (Annexe : figure 11).

Intérêt : l'intérêt du dosage des protéines sériques par néphélométrie laser est le dosage quantitatif spécifique des immunoglobulines (**Retornaz., 2010**).

Courbe de calibration:

La courbe d'étalonnage est effectuée sur six points de dilution par rapport au flacon standard. Il se produira un passage d'un rayon laser dans chaque dilution, où une lumière sera réfractée, correspondant à la densité optique DO affiché par l'appareil.

Mode opératoire:

Le volume des échantillons, des antisérums et du tampon de réaction utilisé pour l'automate néphélométrie laser est précisé dans le tableau suivant :

Tableau II : Les différents volumes de solutions utilisés pour le dosage des sérums par néphélométrie laser :

Volume du sérum dilué	Volume de l'antisérum	Volume du tampon de réaction	Temps de réaction
100 μ l	40 μ l	60 μ l	6mn

Le dosage a été effectué par l'automate BN ProSpec qui est constitué de deux compartiments : un compartiment terminal et un compartiment analytique. Ce dernier est subdivisé en quatre compartiments : le porte échantillon (contient quatre segments), réactifs, dilution et réaction.

L'automate BN ProSpec est relié à des liquides externes : liquide de rinçage, le diluant phosphate salin) et le tampon de réaction.

Après avoir centrifugé les prélèvements sanguins, nous avons déposé les tubes de sérum dans l'un des segments du porte échantillon.

Au niveau du compartiment terminal, nous avons accédé au menu principal et introduit les références attribuées aux patients. Une sélection des différents paramètres a analysé

(Albumine, IgG, IgA, IgM, Kappa, Lambda, B₂microglobuline et CRP) est effectuée en validant sur la touche appliquer.

Au niveau du compartiment analytique, un volume bien précis de chaque sérum (pour un paramètre donné) est prélevé et déposé dans les cuvettes de dilution à l'aide d'une aiguille de pipetage (voir tableau III).

Tableau III : Les différents volumes des sérums utilisés pour dosage Albumine, IgG, IgA, IgM, Kappa, Lambda, B₂microglobuline et CRP par néphélométrie laser :

Protéine	Volume du sérum dilué (µl)	Dilution du sérum	Volume d'antisérum (µl)
IgG	100	1/400	40
IgA	100	1/20	40
IgM	100	1/20	40
CLk	100	1/20	40
CL λ	100	1/20	40
CRP	100	1/400	40
B2-m	100	1/400	40
Alb	100	1/400	40

Ensuite, les dilutions sont faites automatiquement grâce au N diluant (compartiment externe) suivi par un lavage.

Une fois les échantillons sont dilués, l'automate prélève un volume de sérum dilué et le dépose au niveau du compartiment de réaction, auquel le tampon de réaction est ajouté avec un volume d'antisérum. Le passage d'un échantillon à un autre nécessite un lavage de l'aiguille de pipetage.

Les résultats sont obtenus après extrapolation des densités optiques sur la courbe de calibration spécifique de chaque protéine et exprimés en g/L.

b. Dosage des protéines sériques par la technique de Bradford (protidémie) :

Principe :

Il s'agit d'un dosage colorimétrique, basé sur le changement de la coloration bleue en bleu foncé et ce, après fixation du réactif Bleu de Coomassie sur le liquide biologique (sérum). Le réactif présente une absorbance maximale à 595 nm. Ainsi, les concentrations des protéines sériques sont déterminées après extrapolation de la valeur des densités optiques (DO) sur une courbe étalon.

Intérêt : déterminer la concentration sérique des protéines.

Réalisation d'une courbe d'étalonnage :

Nous avons réalisé une gamme d'étalon à partir de concentrations croissantes (0.25-1.5 mg/ml) provenant d'une solution mère d'albumine bovine répartis sur 6 tubes :

E1=0 ; E2=0.25 ; E3=0.50 ; E4=0.75 ; E5=1 et E6=1.5 (mg/ml) (Annexe : figure 12).

Mode opératoire :

Les échantillons sériques à doser (dilués en un centième) ainsi que les solutions étalons sont testés en duplicate dans une microplaque selon le protocole suivant :

10µl de chaque étalon et des échantillons (sérum) sont ajoutés à un volume de 200µl du réactif de Bleu de Coomassie au fond des puits de la microplaque. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 5 minutes, la lecture de la densité optique est réalisée à l'aide d'un lecteur ELISA.

Comme résultat, un tracé d'une courbe d'étalonnage est effectué à partir de laquelle les concentrations des échantillons à doser sont déterminées.

c. Dosage des protéines urinaires par la technique de Bradford (protéinurie) :

Le même mode opératoire que celui de la protidémie a été appliqué, mais sans dilution préalable des urines.

C'est un dosage pondéral par colorimétrie des urines éliminées sur 24 heures, basé sur le changement de coloration identifiant la présence de protéines.

Intérêt : recherche d'une protéinurie de Bence Jones (PBJ) sur 24 heures (**Retornaz., 2010**).

II.3.2 Analyse semi quantitative :

a-Electrophorèse des protéines sériques (EPS) sur gel d'agarose par SAS-3/SAS-4 :

Le kit SAS-3 est composé de deux compartiments, le premier est un compartiment d'échantillons et le deuxième est un compartiment de migration.

Principe :

L'électrophorèse consiste à séparer les différentes classes de protéines sériques sous l'action d'un champ électrique par migration sur gel d'agarose. La distance de migration dépend de la taille des particules et de leur charge ionique (**Retornaz., 2010**).

L'électrophorèse par le SAS-3 permet la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (PH=9). Les protéines sériques sont séparées en 6 fractions.

Mode opératoire :

Le mode opératoire a été effectué comme suit :

- Placer la barrette dans le porte-échantillon correspondant appelé ergot ;
- Déposer 35 µl de HSN dans le 1^{er} puits de la cupule et 35 µl de chaque sérum dans les cupules numérotées de 2 à 60 d'une barrette ;
- Placer l'ergot dans le premier compartiment du SAS-3 avec 3 applicateurs dans les positions 2, 8 et 14 du porte-échantillon ;
- Etaler 2000 µl de solution Rep-Prep au centre de la chambre de migration ;
- Placer le gel d'agarose dans la chambre de migration, en respectant les polarités ;
- Sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard ;
- Fixer les électrodes sur les ponts d'agaroses ;
- Réaliser l'électrophorèse sérique à 21° et à 100volts ;
 - Prélèvement des sérums (durée 30 seconds).
 - Dépôt (durée 30 seconds).
 - Migration (durée 23 minutes) ;
- Après migration, nous avons retiré les électrodes et les ponts d'agarose ;
- Séchage 8 minutes à 54°C ;
- La lecture s'effectue après les étapes de : coloration avec le bleu acide (4mn), décoloration (2mn) avec une solution décolorante et séchage (12mn) qui sont réalisées par le SAS-4.

b-Electrophorèse des protéines urinaires (EPU) sur gel d'agarose par SAS-3/SAS-4 :

Principe :

L'EPU a été effectuée sur gel d'agarose par le SAS-3. Cette technique à permis de séparer les protéines urinaires en fonction de leurs poids moléculaires et de leurs charge électrique (Retornaz., 2010).

Mode opératoire :

Le même mode opératoire que celui de l'électrophorèse des protéines sériques on utilisant des échantillons urinaires, avec 10 applications nécessaires pour les urines.

II.3.3 Analyse qualitative :

a-Immuno-fixation des protéines sériques (IPS) par SAS-3/SAS-4 :

Principe :

L'immuno-fixation est une méthode de détection par précipitation. Cette technique est effectuée sur un gel d'agarose après migration des protéines. Elle est réalisée à l'aide d'antisérums monovalents : Anti IgG, Anti IgA, Anti IgM, Anti kappa et Anti lambda (**Jahn et al.,2008**).

Les sérums sont dilués afin d'optimiser la concentration d'immunoglobuline.

Intérêt : permet de confirmer la clonalité de la bande détectée à l'EPS et de typer l'Ig monoclonale (**Retornaz., 2010**).

Mode opératoire :

- Nous avons dilué les sérums selon le tableau ci-dessous.

Tableau IV : Dilution du sérum

N° du tube	Volume de solution diluante	Volume du Sérum
1	40 µl	20 µl
2	160 µl	40 µl

- Déposer 35 µl de chaque sérum dilué dans les cupules SP, G, A, M, K, L de l'ergot ;
- Placer l'ergot dans la première chambre de SAS-3 ;
- Déposer les applicateurs dans les positions 2, 8 et 14 ;
- Etaler 2000 µl de REP Prep sur la surface de la chambre de migration ;
- Placer le gel d'agarose ainsi les électrodes ;
- Sécher la surface du gel avec un Buvard C ;
- Lancer le programme d'immuno-fixation sérique (durée 6 minutes et 30 secondes à 650 volts) ;
- Après migration nous avons retiré les électrodes et les ponts d'agarose ;
- Placer le masque applicateur antisérums sur le gel ;
- Déposer un volume de 60µl de solution fixative et de chaque antisérum dans le

sillon correspondant T, G, A, M, K et L ;

- Incubation antisérums pendant 10 minutes à 21°C ;
- Après incubation, nous avons déposé un buvard peigne dans les trous supérieurs du masque antisérum pendant 2mn, ensuite on a retiré le peigne ainsi que le masque antisérum ;
- Sécher par un buvard D la surface du gel pendant 5 minutes à 40°C, un deuxième est effectué pendant 8 minutes à 54°C ;
- Effectuer la coloration au violet acide par le SAS-4 (4mn) ;
- L'interprétation se fait après lavage (10mn), décoloration (2mn) et séchage (12mn).

b-Immunofixation des protéines urinaire sur gel d'agarose par SAS-3/SAS-4 :

Principe :

Cette technique permet de typer les chaînes légères libres dans les urines détectées préalablement par EPU (**Jahn et al.,2008**).

Mode opératoire:

Le même mode opératoire que celui de l'immunofixation sérique en utilisant des échantillons urinaires, et pour les antisérums nous avons déposé un volume de 60µl de :

Antisérum total, anti-micro, anti-macro, anti GAM, anti-free κ et anti-free λ dans les sillons correspondants T, MIC, MAC, GAM, K et L.

La coloration est faite avec le violet acide par le SAS-4.

Chapitre III
Résultats et discussion

Nous avons réparti notre effectif selon : le sexe, l'âge, les signes cliniques et les services d'admission.

III.1. Répartition des patients atteints du MM en fonction du sexe :

Nous avons noté une légère prédominance masculine avec un taux correspondant à 55% et un sexe ratio est de 1,2 (Figure 13).

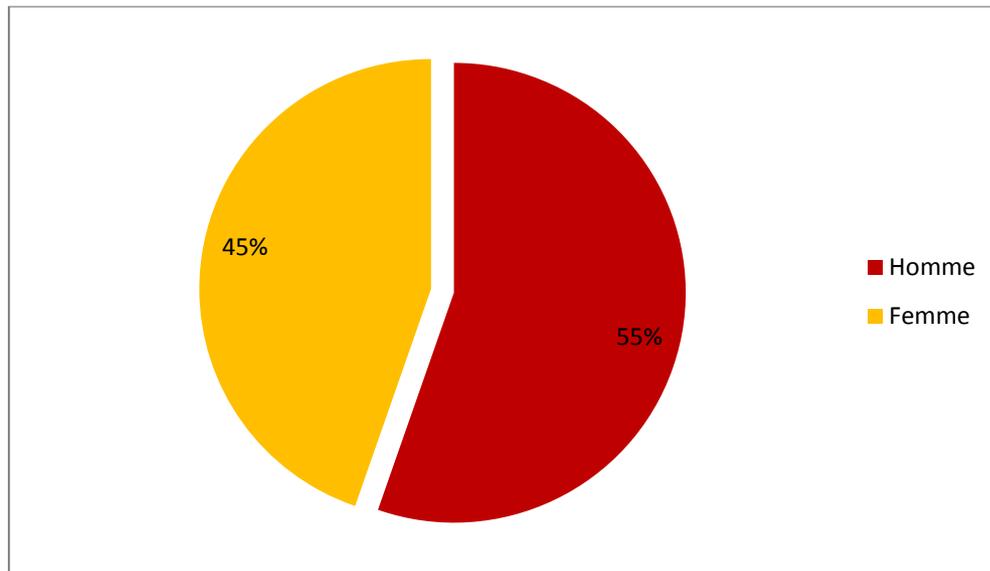


Figure 13 : Répartition des patients atteints du MM en fonction du sexe.

Ce résultat se rapproche de celui de **Saïdi (2013)** qui a retrouvé une prédominance masculine de la maladie en Algérie avec un sexe ratio (H/F) entre 1,1 et 1,5. Ce résultat peut être expliqué, du fait que les hommes sont plus exposés à cette maladie vu certains travaux qu'ils exercent, car les travailleurs de la terre sont les plus touchés avec 13%, les maçons viennent en deuxième place avec près de 9% **Saïdi (2013)**. Notre résultat est aussi en accord avec **Rajkumar (2013)** qui a rapporté que le MM est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes aux Etats-Unis, et **Le Carrer (2005)** qui a observé des taux masculins de la maladie de 59% avec un sexe ration de 1,5 dans le monde.

III.2. Répartition des patients atteints du MM en fonction des classes d'âge :

D'après les résultats de la répartition des patients atteints du MM, nous avons constaté que la pathologie touche plus la tranche d'âge supérieure à 70 ans avec une majorité de 40,42%, cela peut être expliqué par le fait du vieillissement, donc un système immunitaire plus faible

avec une susceptibilité aux infections ; alors que le nombre de cas recensés chez les plus jeunes (moins de 40 ans) est le plus faible correspond à un taux de 6,27%. La médiane d'âge se trouve entre [50-70] ans avec un pourcentage de 36,29% (figure 14).

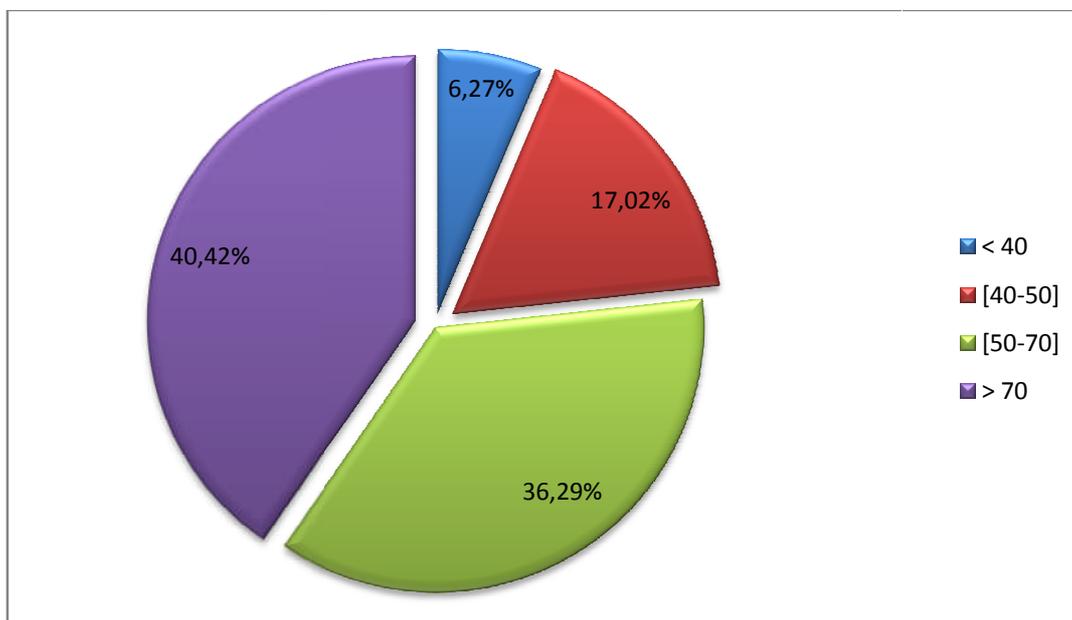


Figure 14 : Répartition des patients atteints du MM en fonction de l'âge.

Les résultats de la répartition de nos patients selon l'âge sont en accord avec celles de la littérature. En effet, **Kyle** et collaborateurs (2003) ont montré une prédominance de la maladie dans la tranche d'âge supérieure à 70 ans. Aussi, **Cairolì** et collaborateurs (2013) ont remarqué que cette maladie touche plus les sujets âgés.

Selon **Saïdi** (2013), la moyenne d'âge est de 60 ans en Algérie ; elle est de 65 ans dans la majorité des études publiées par **Rajkumar** (2013) aux Etats Unis. Ces résultats sont en accord avec les nôtres car celles-ci se trouvent dans la tranche d'âge médiane qui se situe entre [50-70] ans.

Le pourcentage le plus faible (6,27%) est observé chez les patients âgés de moins de 40 ans, donc on peut conclure que cette maladie qui est une hémopathie rare commence à apparaître chez ces patients et cela peut être expliqué par le changement du mode de vie.

En effet, **Rajkumar** (2013) a observé un faible pourcentage de patients ayant un âge inférieur à 40 ans.

III.3. Répartition des patients atteints du MM en fonction des classes d'âge et du sexe :

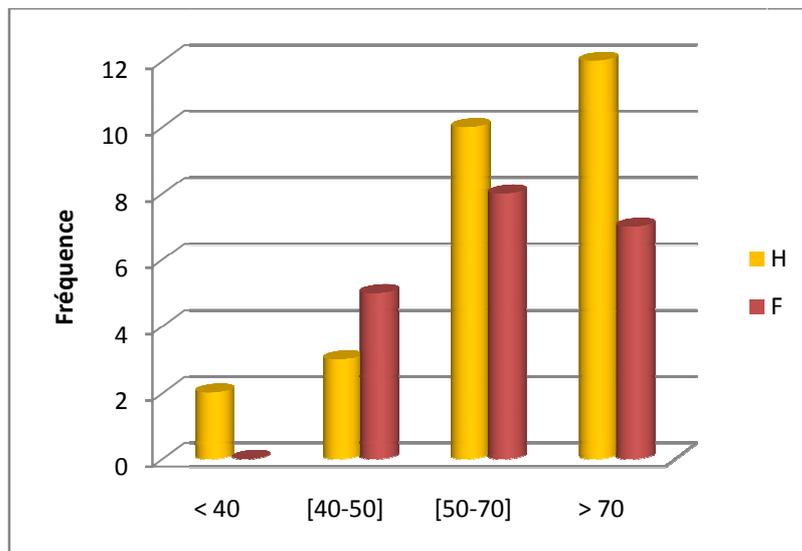


Figure 15 : Répartition des patients atteints du MM en fonction de l'âge et du sexe.

Nous avons constaté que les hommes sont majoritairement plus touchés par cette pathologie que les femmes dans les tranches d'âge inférieur à 40 ans, entre [50-70] ans et supérieur à 70 ans (figure 15), ceci peut être expliqué par le type de fonction des hommes dont les agriculteurs et les maçons sont les plus touchés **Saïdi (2013)**.

A contrario, la tranche d'âge de [40-50] ans montre une prédominance féminine de la maladie, fait nouveau qu'on ne retrouve nulle part dans la littérature, notamment que la femme subit durant cette tranche d'âge des étapes critiques comme la ménopause qui peuvent se manifester par des réactions pathologiques.

III.4. Répartition des patients atteints du MM en fonction des signes cliniques :

Il ressort de cette répartition, que la fréquence des signes cliniques de type douleurs osseuses est retrouvée chez la majorité des patients avec un pourcentage de 44,72%. En effet, les douleurs osseuses représentent le principal signe du MM (**Gueye, 2001**). Ensuite, vient l'anémie avec un taux de 34,04% ; qui est présente au moment du diagnostique selon **Gertz et collaborateurs (2014)** (figure 16).

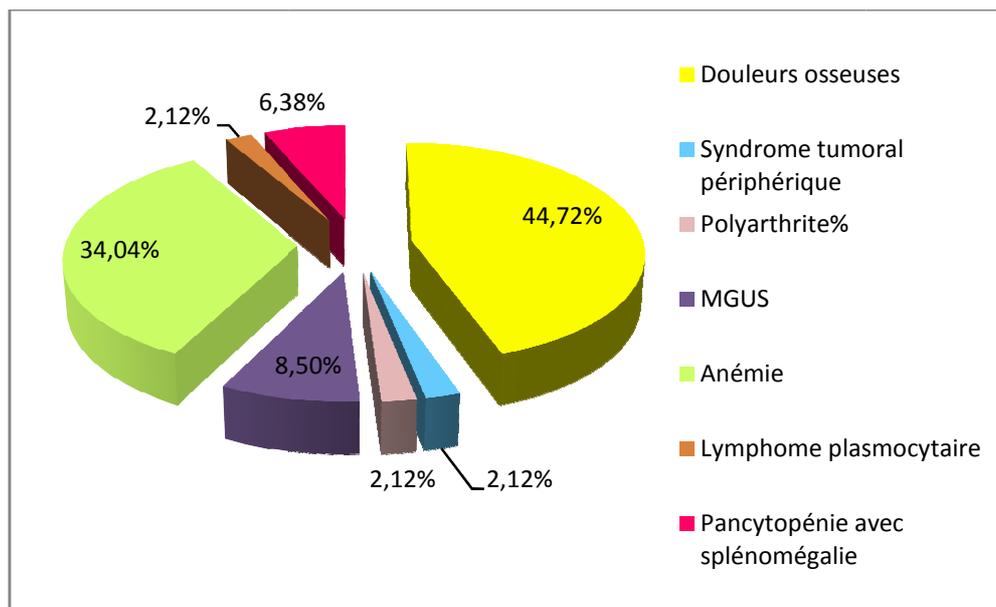


Figure 16 : Répartition des patients atteints du MM en fonction des signes cliniques.

Le MGUS représentant le stade pré tumoral est observé avec faible taux de 8,50%. En effet, la quasi-totalité des patients atteints du MM sont précédés d'un état pré-myélomateux qui est transitoire (**Oudart, 2012**), donc il va diminuer pour évoluer en MM.

Les autres manifestations cliniques sont rarement observées (pancytopenie avec splénomégalie de 6,38%, le syndrome tumoral périphérique et polyarthrite représentent 2,12%).

III.5. Répartition des patients atteints du MM en fonction des services de leurs provenances :

La répartition de nos patients a montré une diversité par rapport aux services d'admission. Nous avons constaté que les patients proviennent souvent du service d'hématologie avec un pourcentage de 36,17% alors que le signe clinique le plus représentatif est l'atteinte osseuse. Ceci se traduirait probablement par la présence des autres signes cliniques (syndrome tumoral périphérique, MGUS, Anémie, lymphome plasmocytaire et pancytopenie avec splénomégalie) qui sont majoritairement observés chez ces patients (54%), expliquant ainsi leurs orientations vers le service d'hématologie. D'autres services y sont impliqués également dans la prise en charge de ces patients, notamment les services de rhumatologie 27,65% due notamment aux manifestations cliniques de type douleurs osseuses et polyarthrite ; de médecine interne 14,89%, le service d'endocrinologie représente 8,50% (figure 17).

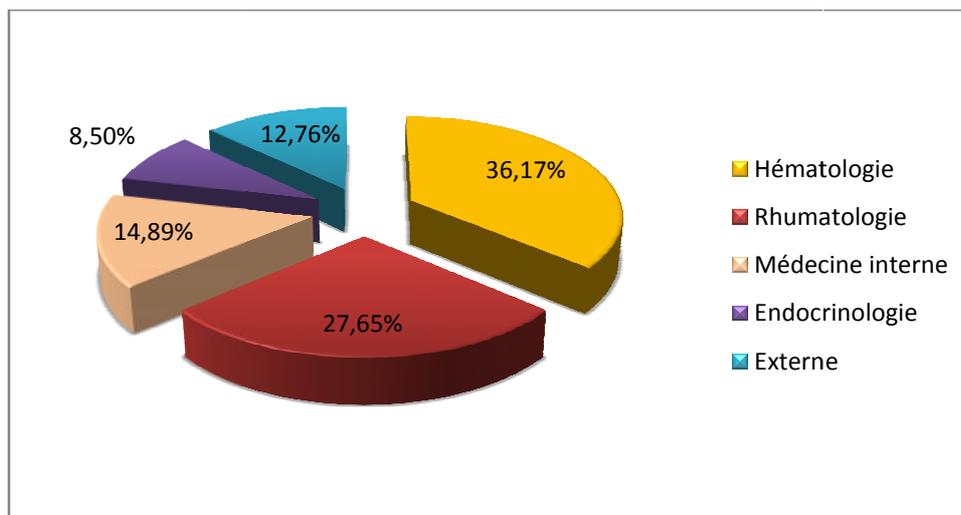


Figure 17 : Répartition des patients atteints du MM en fonction des services de leurs provenances.

III.6. Résultats de l'analyse quantitative :

III.6.1. Résultats du dosage des protéines sériques par Néphélométrie laser :

Le dosage pondéral a été réalisé par néphélométrie Laser chez les 60 patients, dont nous avons trouvé un bilan négatif chez 13 de nos sujets (la non existence d'Ig monoclonal dans leur sérum).

a- **Albumine** : les résultats obtenus ont montré qu'une minorité des patients présentent une hypoalbuminémie, donc inférieures à 37 g/l avec un taux de 10,64% (n=5) avec une concentration de [6,5-33] g/l ce qui signifie le passage de l'albumine dans les urines à travers le glomérule qui a été lésé (dysfonctionnement rénale). Ces résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Moreau (2009)** (40 % des cas). Ceci peut être expliqué par le faible effectif de notre série (n = 47).

b- **Immunoglobulines** : Les résultats des patients sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau V : Dosage pondéral des Ig par néphélométrie laser.

Type	IgG		IgA		IgM	CLL	
Isotype	K	λ	κ	λ	κ	κ	λ
%	44,68	12,77	21,27	10,64	4,25	4,26	2,13
Valeurs normales	8 - 17 g/l		0,8 - 4,9 g/l		0,5 - 3,7 g/l	0,8 - 4,9 g/l	
						2 - 4,4 g/l	

D'après ces résultats, nous avons noté d'une part, une importante augmentation des IgG avec un taux de 57,45%, en comparaison avec les deux autres classes IgA (31,91%) et IgM (4,25%) dont les concentrations sont comprises entre [18,3-50,4]g/l pour les IgG, et entre [7,79-35]g/l pour les IgA et [5,7-17,8]g/l pour les IgM. Ces résultats se rapprochent avec ceux rapportés par **Kyle, (1975)**. En effet, ce dernier auteur a observé des taux de 55% pour les IgG, 25% pour les IgA et 2% pour les IgM.

D'autre part pour les IgG, les IgA, l'isotype κ est plus fréquent que l'isotype λ .

Nos résultats ont montré également la présence de CLL, ceci explique que les concentrations sériques de CLL monoclonales augmentent parallèlement au développement tumoral, avec un taux de 4,26% pour l'isotype κ qui est deux fois plus fréquent que l'isotype λ 2,13% car à l'état physiologique les CLL d'isotype κ représentent 2/3 des chaînes légères totales et 1/3 pour l'isotype λ et ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Kyle, (1975)** selon lequel les chaînes légères libres sont présentes avec un taux de 15 % et une fréquence du type κ qui est deux fois plus grande que celle du type λ .

c- Rapport κ/λ : ce rapport permet de faire la différence entre une augmentation polyclonale (les concentrations des deux types des CLL sont élevées) et une production monoclonale des CLL. Nos résultats rapportent un rapport κ/λ anormal de 93,61% (n= 44) témoigne de la présence d'une CLL monoclonale dont l'isotype κ est le plus fréquent. Sachant que la majorité des valeurs du rapport observé sont comprises entre [0,59-1[et [2-7,1] elles sont donc en dehors de l'intervalle des valeurs normales du rapport comprise entre [1-1,5]. Pour les 7 patients qui sont sous traitements, nous avons constaté que le rapport κ/λ est toujours perturbé, cela peut être dû au fait que le traitement n'a toujours pas fait son effet.

d- β_2 microglobuline sérique : nos résultats s'accordent avec les données de la littérature. En effet, nous avons trouvé un taux sériques très élevé de 72,34% chez la plupart des patients dont les valeurs sont comprises entre [2,35-36] g/l, ce qui prouve que c'est un paramètre biologique capital dans le diagnostic du MM d'après **Marolla et collaborateurs (2008)**.

e- CRP : on a retrouvé peu de patients qui ont un taux élevé de CRP (29,78%) (n=14) avec une concentration entre [56,6-138] mg/l. Se que nous pouvons dire par rapport au taux de CRP est le fait qu'il reflète le taux sérique d'IL-6 qui joue, à son tour, un rôle majeur dans le MM ceci a été rapporté par **San-Miguel et collaborateurs (2006)**.

III.6.2. Résultats de la protidémie :

La protidémie est globalement augmentée chez la plupart des patients, elle dépasse les 80g/l requise chez une personne saine. Il est connu que l'augmentation des protéines est très fréquente chez les patients atteints de MM, ceci reflète l'augmentation de la masse protéique circulante dans ces patients (Vaubourdolle, 1997).

III.6.3. Résultats de la protéine de Bence Jones:

Les résultats du dosage des protéines urinaires réalisé chez les 47 patients sont obtenus après extrapolation de la DO sur la courbe d'étalonnage.

Selon les résultats du dosage colorimétrique des protéines urinaires réalisées par la technique de Bradford, nous avons constaté que la PBJ est présente chez seulement 9 patients (19,15%) dont le taux est supérieur à la valeur normale requise (< 0,15g/24h). Aussi, parmi les 7 patients qui sont sous traitement, seuls 3 cas ont une persistance de PBJ, nous confirmant ainsi un début de réponse de ces patients au traitement (figure 18).

Les valeurs de la protéinurie obtenues sont comprises entre 1,6 et 16,5g/l. Ce résultat suscite la recherche de la PBJ par immunotypage.

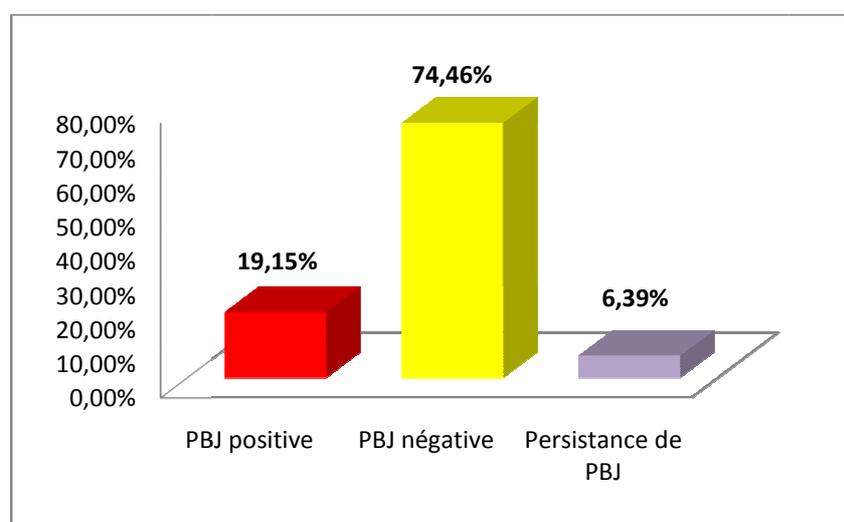


Figure 18 : Résultat du PBJ chez les patients atteints du MM.

III.7. Résultats de l'analyse semi quantitative :

III.7.1 Résultats de l'électrophorèse des protéines sériques :

L'EPS sur gel d'agarose réalisée par le SAS-3 a été effectuée pour tous les patients avec suspicion de MM, dont 13 patients ont été écartés de notre étude suite aux résultats négatifs

montrant la non présence d'Ig monoclonale dans leurs sérums.

Cette technique est basée sur la séparation des protéines en six fractions: Albumine, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 et γ .

Après révélation avec le bleu acide et en comparaison avec les témoins, nous avons constaté une hypoalbuminémie marquée chez 5 patients (pistes : 3, 13, 21, 26, 29) dont les bandes de l'albumine apparaissent avec une couleur plus claire que celle du témoin, et cela signifie le passage de l'albumine dans les urines du patients à travers le glomérule. Donc nous signalons que ces patients présentent une atteinte rénale.

Une albumine d'allure normale est observée chez 14 patients dont les valeurs sont comprises entre [37 - 53] g/l.

L'électrophorèse a également révélée la présence de bande homogène chez 27 patients traduisant probablement la présence d'un CM dans la zone des γ c'est la zone qui contient toutes les classes d'Ig avec un taux de 57,45% (pistes : 3, 7, 8, 13, 14, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 41, 43, 45, 46) et chez 17 patients dans la zone des β , zone qui contient une seule classe d'Ig (IgA) avec un pourcentage de 36,17% (pistes : 2, 4, 6, 9, 10, 11, 16, 17, 18, 22, 32, 35, 37, 42, 44, 47, 48), dont la densité est différente d'un patient à l'autre, traduisant la présence d'une Ig monoclonale dans le sérum des patients (figure 19). Ceci a été déjà rapporté par **Szymanowicz** et collaborateurs (2006).

Aussi, nous avons constaté la persistance du CM chez seulement 4 patients sous contrôle médical, traduisant ainsi la non réponse de ces patients au traitement.

Les pistes : 6, 12, 15 représentent des résultats négatifs des patients qui sont sous traitements ayant déjà présenté un CM d'après le bilan effectué en 2013, montrant la non présence de CM. Donc la non persistance d'Ig monoclonale, signifie que ces patients ont répondu au traitement.

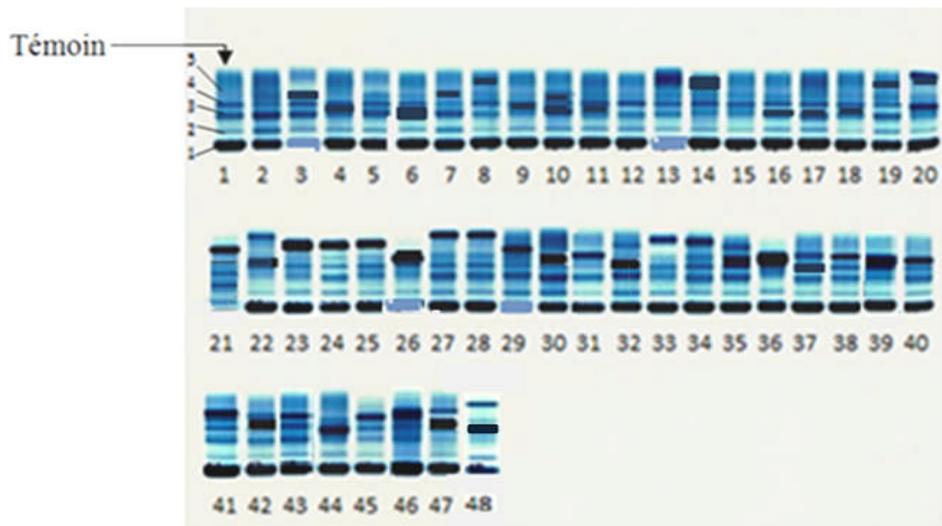


Figure 19 : Résultats de l'électrophorèse des protéines sériques des patients atteints du MM.

1 : Albumine, 2 : α 1 globuline, 3 : α 2 globuline, 4 : bêtas (β 1 et β 2) globuline, 5: gammaglobulines.

III.7.2 Résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires :

L'EPU a été effectuée chez les 12 patients présentant une PBJ, afin de dépister le CM dans les urines. L'interprétation du profil électrophorétique est basée sur la comparaison entre le profil électrophorétique des patients par rapport aux témoins, consistant à séparer les protéines en cinq fractions (MIC, MAC, GAM, CLL k, CLL λ). Nous avons détecté la présence de bande homogène dans les pistes du 1 au 12, qui pourrait correspondre aux micromolécules (MIC) et/ou macromolécules (MAC) et aux CLL (figure 20), cela signifie que ces patients souffrent d'une atteinte rénale qui est de deux types :

Atteinte rénale glomérulaire : c'est le passage des protéines principalement l'albumine, à travers la barrière glomérulaire qui est lésée, dont la fonction principale est d'empêcher le passage des protéines.

Atteinte rénale tubulaire : c'est une déficience de la réabsorption des CLL au niveau du tubule distal, ces derniers s'accumulent et se précipitent avec la protéine de Tamm Horsfall formant des cylindres et entraînant une insuffisance rénale qui est présente chez environ 50% des patients au moment du diagnostic d'après **Manier** et collaborateurs (2011).



Figure 20 : Résultats de l'électrophorèse des protéines urinaires des patients atteints du MM.

III.8. Résultats de l'analyse qualitative :

III.8.1. Résultats de l'immunofixation des protéines sériques :

L'immunofixation a été réalisée chez 44 patients présentant un CM (présence d'Ig monoclonale) dans leurs sérums. Cette technique a permis de typer le CM détecté par l'EPS, en utilisant des antisérums (anti-micro, anti-macro, anti GAM, anti-free κ et anti-free λ) formant ainsi des complexes immuns. Dont la plupart des cas, les patients présentent un CM de type IgG avec un isotype κ chez 21 patients (44,68%), c'est le type qui représente plus de 75% des immunoglobulines du sérum humain normal **Gueye, (2001)** (figure 21).



Figure 21 : Mise en évidence d'un CM d'isotype IgG k.

III.8.2. Résultats de l'immunofixation des protéines urinaires :

L'immunofixation urinaire est indispensable à la recherche et l'identification de la PBJ chez les 12 patients ayant présentés une PBJ.

Les résultats obtenus ont montré la présence de bande homogène, dans les pistes correspondant aux micromolécules (MIC) et à la chaîne légère (k) et (λ) et ce, après révélation avec les antisérums qui sont respectivement anti-micro, anti-free k et anti-free λ . Ces bandes correspondent respectivement au passage de l'albumine observées chez les patients n° 3, 6, 8, 9 et 11 et des chaînes légères libres k et λ dans les urines chez les patients n° 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11 et 12, reflèterait probablement une atteinte rénale, qui a été rapporté dans plusieurs études comme complication dans le MM par **Manier** et collaborateurs (2011). Il s'agit probablement d'une protéinurie de type tubulaire, plus fréquemment observé chez les patients atteints du MM d'après **Meier** et collaborateurs (2002).

Le typage de la PBJ a révélé que 19,14% (n= 9) de patients ont un isotype κ (figure 22) et 6,39% (n=3) ont un isotype λ (figure 23), donc l'isotype k est deux fois plus fréquent que l'isotype λ . Ceci est en accord avec la littérature (**Janvier, 2008**).

Nos résultats ont également mis en évidence une bande homogène dans la piste macromolécules (MAC) (patient n°=6) qui correspond au passage de la transferrine dans les urines, se qui confirme la présence d'une atteinte rénale chez ce patient de type glomérulaire.

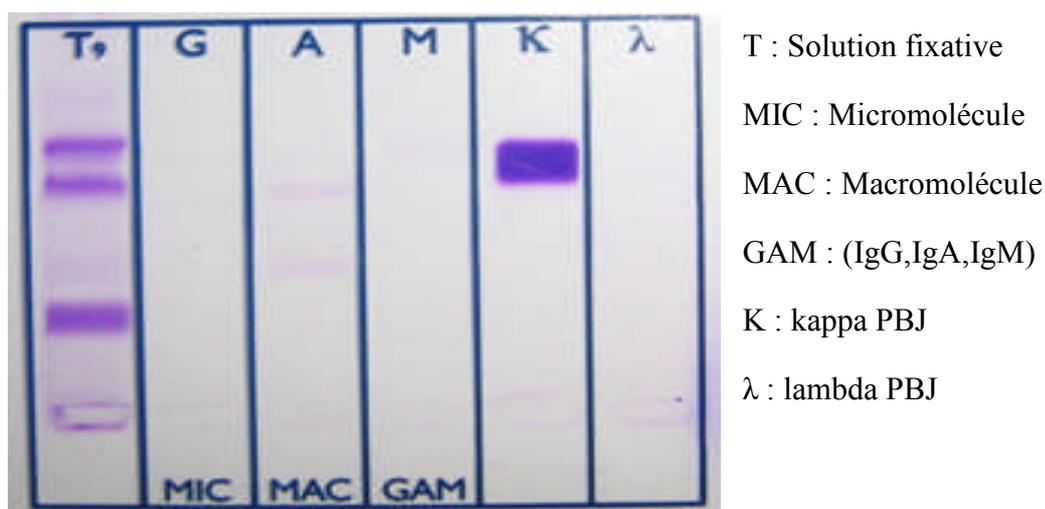


Figure 22 : Mise en évidence d'un CM d'isotype k.

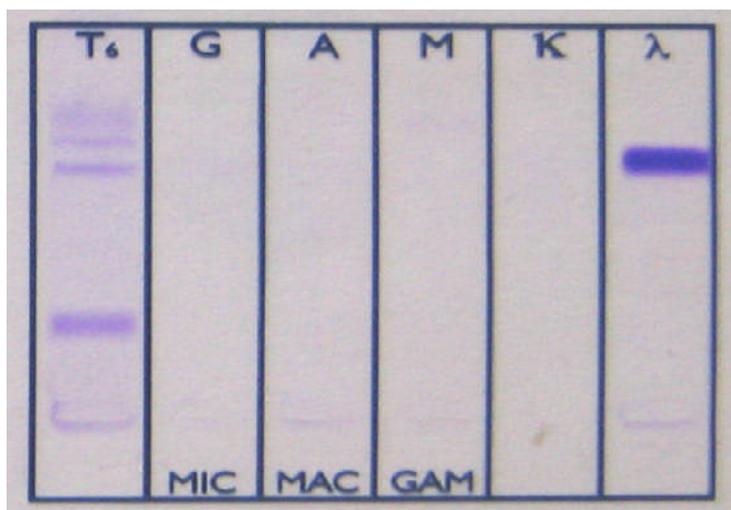


Figure 23 : Mise en évidence d'un CM d'isotype λ .

Conclusion

Nos résultats concernant l'étude rétrospective de 47 patients atteints du myélome multiple a confirmé, par rapport à la littérature, la prédominance du sexe masculin avec un sexe ration de 1,2. Les patients les plus atteints ont une classe d'âgés supérieur à 70 ans car cette maladie atteint plus les sujets âgés.

Sur le plan clinique, les douleurs osseuses sont les plus fréquemment retrouvées car elles représentent le principal signe du MM, suivit par l'anémie.

Le MM est une maladie caractérisée par la diversité des symptômes, reflétant ainsi l'implication de plusieurs services hospitaliers, dont les services hématologies et rhumatologies sont les plus dominants.

Le diagnostic du MM ne repose pas sur un seul paramètre, mais sur une stratégie raisonnée, utilisant les différents examens biologiques afin de mettre en évidence et d'identifier la nature du CM. Le dosage pondéral par néphélométrie laser repose principalement à quantifier les Ig, reste le meilleur examen sensible pour la quantification des Ig. Cependant, la différenciation des Ig monoclonales de l'Ig polyclonales a été réalisée qu'avec l'électrophorèse des protéines sériques et urinaires sur gel d'agarose qui a révélée la présence de bande homogène, suivit par l'immunofixation afin de typer le CM dont la plupart de nos patients présentent un CM de type IgG avec un isotype k.

Malgré les progrès thérapeutiques, le MM reste incurable avec une survie globale médiane faible. Cependant, il serait intéressant de compléter ces techniques par des études cytogénétiques permettant la révélation des anomalies génétiques qui ont des impacts majeurs sur la survie des patients.

A

Abe M., Hiura K., Wilde J., Moriyama K., Hashimoto T., Ozaki S., Wakatsuki S., Kosaka M., Kido S., Inoue D., Matsumoto T. (2002). Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1 alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood*, 100:2195-202.

Adib S., Leleu X., Robu D., Huglo D., Steinling M. (2011). La TEP au 18F-FDG dans le diagnostic et le suivi évolutif des plasmocytomes solitaires. *Médecine Nucléaire*, 34:88-95.

Aggarwal R., Ghobrial IM., Roodman GD. (2006). Chemokines in multiple myeloma. *Experimental Hematology*, 34:1289-1295.

Armoiry X., Moreau P., Aulagher G. (2007). Prise en charge du myélome multiple : traitement standard et nouveautés thérapeutiques, *J Pharm Clin*, 26(1):33-9.

Arnulf B. et Hermine O. (1999). Rôle du TGF- β dans les hémopathies malignes. *Hématologie*, 5(6):447-50.

Arnulf B. et Hermine O. (1999). Rôle du TGF- β dans les hémopathies malignes. *Hématologie*, 5(6):447-50.

Arock M., Chemla G., Chemla JP. (2008). Autoformation et aide au diagnostic en hématologie avec le logiciel ADH : Maladie de Kahler. Ed: Springer paris. p230, pp 89.

B

Béné MC., Faureg C. (1997). Exploration fonctionnelle de l'immunité humorale. Ed : Médicales intermatinales.

Bidet A., Marit G., Bérard AM. (2007). Intérêt du dosage des chaînes légères libres des immunoglobulines. *Technologie appliquée* N° 157:42-47.

C

Cairolì A., Duchosal MA. (2013). Myélome multiple: diagnostic et perspectives thérapeutique. *Forum Med Suisse*, 13(38):746–751.

Chaïbi P., Merlin L., Martin Y., Piette P. (2000). Myeloma and monoclonal gammopathy. *La revue de Geriatrie*, Tome 25 (4) : 251-261.

Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden N., Masson P. (2004). Immunologie clinique: De la théorie à la pratique, avec cas cliniques. Ed : De Boeck. p358, pp124-125.

Clézardin P. (2011). The role of RANK/RANKL/osteoprotegerin (OPG) triad in cancer induced bone diseases: physiopathology and clinical implications, *Bull Cancer*, 98(7):837-845.

D

Descamps G. (2006). Impact du CD45 sur la voie de signalisation de l'IGF-1R dans les cellules de myélome multiple. Thèse de Doctorat de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, Faculté de Médecine Paris-Sud, Spécialité : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie, p56.

Dracon M., Jouet JP., Noel C., Ronco P. (2009). Rein et hématologie : Aspects physiopathologiques des complications rénales des dysglobulinémies monoclonales. Ed : Gambro (Lille). p150, pp20.

Durie BG. (2006). The role of anatomic and functional staging in myeloma: description of Durie/Salmon plus staging system. *Eur J Cancer*, 42(11):1539 – 43.

E

Even J., LeGoubey C., Sudrat Y., Devoize L. (2013). Régression clinique complète d'une lésion gingivo-mandibulaire de myélome multiple après chimiothérapie exclusive associant dexaméthasone et lénalidomide : A propos d'un cas. *Journal of Oral Medicine and Oral surgery (Médecine Buccale Chirurgie Buccale)*, 19 (2):1-5.

F

Facon T., Yakoub-Agha I., Leleu X. (2002). Anémie du myélome multiple : incidence, mécanismes et prise en charge thérapeutique. *Oncologie*, 4:106-10.

Ferland JP., Daunizeau A., Pham BN., Intrator L., Bienvenu J., Preud'homme JL. (2003). Immunoglobulines monoclonales: Aspects cliniques, *Cahier de formation N° 28 (biologie médicale)*, p119.

G

Gertz MA., Rajkumar SV. (2014). Multiple Myeloma : Diagnosis and Treatment. Ed : Springer. p 311, pp 2-4- 28.

Giuliani N. (2008). Données actuelles sur la physiopathologie des lésions osseuses du myélome, *Hématologie*, 14 (3):218-27.

Grosbois B. (2005). Gammapathie monoclonale et myélome multiple : quelles nouveautés ? Quelles perspectives? *Rev Rhum*, 72:1299-305.

Guenet L., Decaux O., Lechartier H., Ropert M., Grosbois B. (2007). Intérêt du dosage des chaînes légères libres d'immunoglobulines sériques pour le diagnostic et le suivi des gammapathies monoclonales. *La revue de médecine interne*, 28 (10):689-698.

Gueye N. (2001). Myélome multiple aspects cliniques et évolutifs (A propos de 22 observations colligées à la Clinique Médicale-CHU Aristide Le Dantec).Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine, Université Cheikh Anta Diop de DAKAR, Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, p101.

Guillevin L. (2014). Médecine interne 2^{ème} édition : Conduite à tenir devant un myélome et une gammapathie monoclonale. Ed : Lavoisier, p 762, pp 63.

H

Harouseau JL. (1992). Myélomes: physiopathologie, diagnostic, principes du traitement. *Revue du praticien*, 42:907-911.

Hassani MA., Filali Baba A., Alami M., Lahlou H (2010). Eléments du diagnostic biologique et pronostique du myélome multiple : place d'une étude marocaine. *Cahiers Santé*, 20(4): 209-213.

J

Jahn I., Diez G., Goetz J. (2008). Apport de l'électrophorèse capillaire et du dosage des chaînes légères libres dans l'exploration des immunoglobulines : le point de vue de l'immunologiste. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 23:231-239.

Janvier M. (2008). Monoclonal gammopathy. New tools and new drugs for diagnosis and treatment in myeloma, *Revue du Rhumatisme*, 75:358–361.

K

Kearns AE., Khosla S., Kostenuik PJ. (2008). Receptor activator of nuclear factor kB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocrine Rev*, 29: 155-92.

Klein B. (1991). Interleukine 6 et myélome multiple chez l'homme. *Médecine et science*, 7(9):937-943.

Kuppers R., Dalla-Favera R. (2001). Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. *Oncogene*, 20: 5580-5594.

Kyle RA. (1975). Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clin Proc*, 50:29-40.

Kyle RA. (1991). History of multiple myeloma. In: Wiernik PH., Canellos GP., Kyle RA., Schiffer CA. In: *Neoplastic diseases of the blood*, 2nd Ed. New York: Churchill Livingstone. 325-32.

Kyle RA., Therneau TM., Rajkumar SV., Offord JR., Larson DR., Plevak MF., Melton LJ. (2002). A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med*, 346 (8):564-9.

Kyle RA., Gertz MA., Witzig TE., Lust JA., Lacy MQ., Dispenzieri A., Fonseca R., Rajkumar SV., Offord JR., Larson DR., Plevak ME., Therneau TM., Greipp PR. (2003). Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*, 78:21-33.

L

Lambrecht C., Salmon JH., Gagneux-Lemoussu L., Brochot P., Eschard JP. (2011). Myélome multiple. EMC - Appareil locomoteur, 1-12 [Article 14-027-B-10] : 1 - 12.

LeBien TW., Tedder TF. (2008). B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*, 112 : 1570-1580.

Le Bricon T. (2002). Identification et dosage des protéines urinaires au laboratoire d'analyses. *Ann Biol Clin*, 60(5):525-540.

Le Carrer D., Bach-Ngohou K. (2005). L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. *Spectra Biologie*, 146: 47-52.

Lissoir B., Wallemacq P., Maisin D. (2003). Electrophorèse des protéines sériques : comparaison de la technique en capillaire de zone Capillarys (Sebia) et de l'électrophorèse en gel d'agarose Hydrasys (Sebia). *Ann Biol Clin*, 61(5):557-62.

Lopez J., Dauwalder O., Joly P., Dimet I., Bienvenu J., Bernon H. (2006). Intérêt et limites des dosages sériques et urinaires des chaînes légères libres pour le diagnostic et le suivi des dysglobulinémies monoclonales, *Ann Biol Clin*, 64(3):287-297.

Lütje S., de Rooy JW., Croockewit S., Koedam E., Oyen WJ., Raymakers RA. (2009). Role of radiography, MRI and FDG-PET/CT in diagnosing, staging and therapeutical evaluation of patients with multiple myeloma. *Ann Hematol*, 88:1161-1168.

M

Manier S., Leleu X. (2011). Multiple myeloma: Clinical diagnosis and prospect of treatment. Recommendations of the International Myeloma Working Group (IMWG). *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 26 (3):125-136.

Marolla M., Lefrère F., Traineau R. (2008). Hématologie, transfusion sanguine et soins infirmiers : Myélome multiple. Ed : 4^{ème} Lamarre. p 200, pp118-119.

Meier P., Mougnot B., Aucouturier P., Ronco P. (2002). Plasma cell dyscrasia-related renal diseases. *La biologie médicale*, (John Libbey Eurotext) 8(2)

Monnereau A., Remontet L., Maynadié M., Binder-Foucard F., Belot A., Troussard X., Bossard N. (2013). Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1980 et 2012. Saint-Maurice (Fra). Ed: Institut de veille sanitaire. p88, pp40-41.

Moreau P. (2009). Myélome multiple : historique, incidence et clinique du myélome multiple. Ed : John Libbey Eurotext. p 59, pp3-6.

Morlon L. (2010). Intérêt de l'immunophénotypage plasmocytaire dans le myélome multiple. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré – Nancy I, Faculté de Pharmacie, 210 p.

O

Oudart JB., Maquart FX., Ramont Ramont L. (2012). Synthèse sur la prise en charge des gammopathies monoclonales en biochimie : des recommandations à la pratique quotidienne. *Ann Biol Clin*, 70(3):251-61.

P

Pasquier F., Moreau AD., Bignonb A., Yakoub-Aghaa I., Facona T., Leleu X. (2006). Therapeutic managements of multiple myeloma. *Réanimation*, 15:290-296.

Proulx M. (2009). Etude des effets de l'expression forcée de PAX 5 sur les cellules issues de myélome multiple. Thèse pour l'obtention du grade de maître en sciences, Université Laval de Québec, Faculté des sciences et de génie, p86.

R

Rajkumar SV., Kyle RA. (2005). Multiple myeloma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*, 80(10):1371-82.

Rajkumar SV. (2013). Dyscrasies plasmocytaires. In: Goldman L., Schafer AI. *Cecil Médecine oncologie*. Ed: Elsevier Masson. 126-140.

Raidelet L., Le Bricon T. (2013). Rein et pathologie : Exploration de la protéinurie au laboratoire. *Revue francophone des laboratoires* N° 451:75-81.

Retornaz F., Potard I., Franqui C., Benezech L., Halfon P., Rousseau F., Merlin M., Molines M. (2010). Diagnosis and management of monoclonal gammopathy detected on electrophoresis. *Annales de Gériatriologie*, 3(1):15-21.

Rivier D. (2012). Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies : Utilité du dosage dans le sérum. *Forum Med Suisse*, 12(29-30):585-592.

S

Saïdi M. (2013). Myélome multiple - anémie carencielle. *10th Maghrebian Congress of Hematology*. Magazine mensuel de santé N°18. Ed : Media Pub Santé. 2-48.

San- Miguel JF., Gutierrez NC., Mateo G., Orfao A. (2006). Conventional diagnostics in multiple myeloma. *European Journal of Cancer*, 42:1510-1519.

Sébahoun G. (2005). Hématologie clinique et biologique : myélome. Ed : 2 édition Arnette. p575, pp310.

Sprynski AC. (2009). Rôle du système IGF-1/insuline dans le Myélome Multiple .Thèse pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université Montpellier I, Université de Formation et de Recherche Pharmaceutique, p142.

Stephens M. (2009). Multiple myeloma : clinical update on a rare and treatable cancer. *The Australian Journal of Cancer Nursing*, 10(2):19-23.

Szymanowicz A., Cartier B., Couaillac JP., Gibaud C., Poulin G., Rivière H., Le Carrer D. (2006). Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques, *Ann Biol Clin*, 64(4):367-380.

V

Vaubourdolle M. (2007). Biochimie Hématologie : Maladie de Kahler. Ed.: wolters kluwer 3^{ème} édition (paris), p 1116, pp 958.

Annexes

ANNEXE 1

Fiche de renseignements

- Nom :
- Prénom :
- Age :
- Sexe : M F
- Service :
- Date d'établissement du diagnostic :
- Date du dernier bilan immunologique précédent :
- Date du bilan immunologique actuel :

II. Signes cliniques :

1. Syndrome osseux : Douleurs osseuses
Déminéralisation osseuse
Fractures pathologiques
Tuméfactions osseuses
2. Syndrome hématologique : Syndrome hémorragique
Syndrome anémique
Syndrome infectieux
3. Signes généraux :
4. Signes neurologiques :
5. Complications révélatrices : Atteinte rénale
Insuffisance médullaire
Complications osseuses
Autres.....

Diagnostic immunologique :

Résultats du bilan immunologique

- Nom : - Prénom :
- Age : - Sexe : M F

Dosage pondéral (néphélométrie) :

Paramètre	Résultat	Valeurs Normales	Paramètre	Résultat	Valeurs Normales
IgG		8 - 17 g/l	Rapport κ/λ		1 - 1,5 mg/l
IgA		0,8 - 4,9 g/l	Albumine		37 - 53 g/l
IgM		0,5 - 3,7 g/l	β 2 micro		0,7 - 1,8 g/l
CL κ		0,8 - 4,9 g/l	CRP		0,5 - 12,2 mg/l
CL λ		2 - 4,4 g/l			

Electrophorèse / Immunofixation

Techniques	Résultats
EPS (SAS-3)	
IFS (SAS-3)	
EPU/IFU (SAS-3)	

CONCLUSION :

Tableau VI : Composition de la Solution de Bradford

Réactifs	Concentration
Bleu de Comassie G250	125mg
Méthanol	4ml
Acide orthophosphorique	10ml
Eau distillée	80ml
Dodecylsulfate de sodium (SDS)	3mg

Tableau VII : Composition de N-Tampon de Réaction de BN Prospec:

Réactif	Volume
Polyéthylène glycol (PEG)	12 g/l
Chlorure de sodium	11,6 g/l
Tampon phosphate	0,05mmol/l
Azide de sodium	< 1g/l

Tableau VIII : Kit SAS-3 d'électrophorèse et d'immunofixation :

Composants fournis dans le Kit SAS-3	Firme
Gel d'agarose	HELENA
Anti-sérums monospécifiques (IgG, IgA, IgM, Kappa, Lamda)	
Buvards et buvard peignes	
Applicateurs	
Masque applicateur	
Colorant acide violet concentrée	

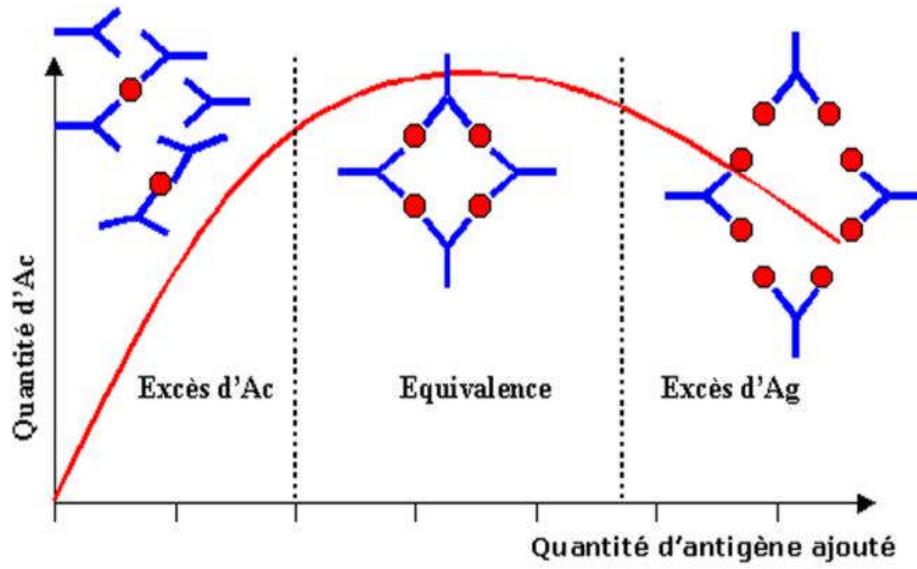


Figure 11 : Courbe d'Heidelberger (Béné et *al.*, 1997).

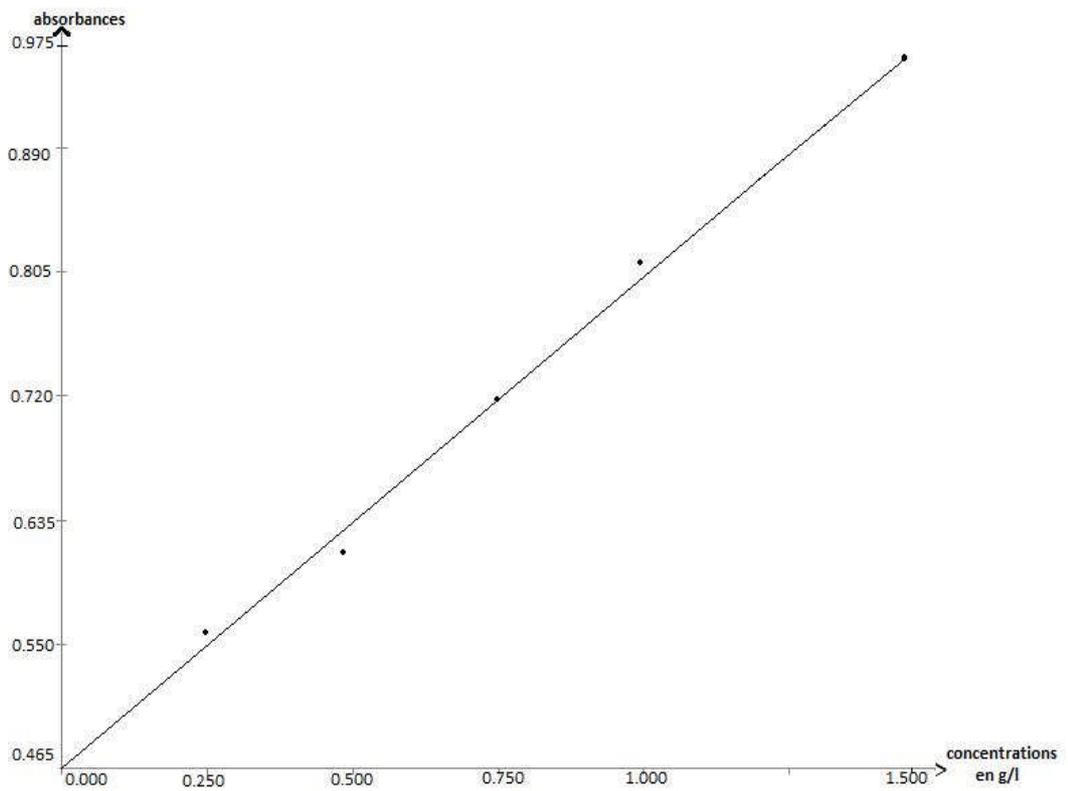


Figure 12 : Représentation de la courbe d'étalonnage

Résultats du dosage pondéral des patients atteints du MM

Patients	Résultats de néphélogéométrie laser	
N° 1	IgG = 21,03 g/l IgM = 0,6 g/l IgA = 3,76 g/l Albumine = 38,41 g/l	CL κ = 1,79 g/l β_2 microglobuline = 7,49 g/l CL λ = 2,75 g/l κ/λ = 0,65 CRP = 12 mg/l
N° 2	IgG = 23 g/l IgM = 0,9 g/l IgA = 0,9 g/l Albumine = 34,58 g/l	CL κ = 1,98 g/l β_2 microglobuline = 2,35 g/l CL λ = 2,71 g/l κ/λ = 0,56 CRP = 56,6 mg/l
N° 3	IgG = 18,3 g/l IgM = 3,1 g/l IgA = 0,8 g/l Albumine = 32,11g/l	CL κ = 8,74 g/l β_2 microglobuline = 7.49 mg/l CL λ = 2 g/l κ/λ = 4,37 CRP = 12,04 mg/l
N° 4	IgG = 17g/l IgM = 2 g/l IgA = 7,54 g/l Albumine = 53 g/l	CL κ = 1,98 g/l β_2 microglobuline = 1,2 g/l CL λ = 2,57 g/l κ/λ = 0,77 CRP = 0,7 mg/l
N° 5	IgG = 16,23g/l IgM = 1,3 g/l IgA = 5,78 g/l Albumine = 44,86 g/l	CL κ = 3,7 g/l β_2 microglobuline = 0,6 g/l CL λ = 2,5 g/l κ/λ = 1,52 CRP = 0,43 mg/l
N° 6	IgG = 19,67 g/l IgM = 0,5 g/l IgA = 4 g/l Albumine = 51,02 g/l	CL κ = 11,04 g/l β_2 microglobuline = 34 g/l CL λ = 3,8 g/l κ/λ = 2,91 CRP = 60 mg/l
N° 7	IgG = 22 g/l IgM = 0,9 g/l IgA = 3,2 g/l Albumine = 38,61 g/l	CL κ = 4,6 g/l β_2 microglobuline = 41,54 g/l CL λ = 2,6 g/l κ/λ = 1,76 CRP = 13,06 mg/l
N° 8	IgG = 19,96 g/l IgM = 0,6 g/l IgA = 0.408 g/l Albumine = 50,11 g/l	CL κ = 4,95 g/l β_2 microglobuline = 6 g/l CL λ = 8,31 g/l κ/λ = 0,59 CRP = 11 mg/l
N° 9	IgG = 36 g/l IgM = 2,5 g/l IgA = 3 g/l Albumine = 48,26 g/l	CL κ = 1,77 g/l β_2 microglobuline = 7,49 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 0,59 CRP = 11 mg/l
N° 10	IgG = 16,5g/l IgM = 0,7 g/l IgA = 17,11 g/l Albumine = 44 g/l	CL κ = 1,76 g/l β_2 microglobuline = 7,43 g/l CL λ = 2,5 g/l κ/λ = 0,704 CRP = 4.84 mg/l
N° 11	IgG = 9,06 g/l IgM = 3,7 g/l IgA = 12,34 g/l Albumine = 49 g/l	CL κ = 2,2 g/l β_2 microglobuline = 1,5 g/l CL λ = 2 g/l κ/λ = 1,05 CRP = 4,42 mg/l
N° 12	IgG = 15 g/l IgM = 2 g/l IgA = 7,8 g/l Albumine = 31,33 g/l	CL κ = 4,6 g/l β_2 microglobuline = 0,9 g/l CL λ = 3,03 g/l κ/λ = 1,51 CRP = 3,06 mg/l

N° 13	IgG = 45,12 g/l IgM = 2,1 g/l IgA = 4,1 g/l Albumine = 18,54 g/l	CL κ = 2,99 g/l β_2 microglobuline = 56,04 g/l CL λ = 3,01 g/l κ/λ = 1 CRP = 4.84 mg/l
N° 14	IgG = 23,54 g/l IgM = 0,9 g/l IgA = 3,6 g/l Albumine = 52 g/l	CL κ = 5,21 g/l β_2 microglobuline = 7,11 g/l CL λ = 0,74 g/l κ/λ = 7,1 CRP = 74,04 mg/l
N° 15	IgG = 7,31 g/l IgM = 0,8 g/l IgA = 25,11 g/l Albumine = 47 g/l	CL κ = 4 g/l β_2 microglobuline = 1,2 g/l CL λ = 2,7 g/l κ/λ = 1,48 CRP = 3,7 mg/l
N° 16	IgG = 19,38 g/l IgM = 3,1 g/l IgA = 2,1 g/l Albumine = 39,77 g/l	CL κ = 4,51 g/l β_2 microglobuline = 4,2 g/l CL λ = 6 g/l κ/λ = 0,75 CRP = 50,4 mg/l
N° 17	IgG = 18,79 g/l IgM = 2,4 g/l IgA = 0,8 g/l Albumine = 41,33 g/l	CL κ = 1,74 g/l β_2 microglobuline = 2,11 g/l CL λ = 3,02 g/l κ/λ = 0,58 CRP = 61 mg/l
N° 18	IgG = 8,5 g/l IgM = 4 g/l IgA = 21 g/l Albumine = 31 g/l	CL κ = 1,70 g/l β_2 microglobuline = 1,8 g/l CL λ = 2,98 g/l κ/λ = 0,57 CRP = 0,34 mg/l
N° 19	IgG = 19,56 g/l IgM = 4,2 g/l IgA = 0,9 g/l Albumine = 53 g/l	CL κ = 4,7 g/l β_2 microglobuline = 5,6 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 1,57 CRP = 0,7 mg/l
N° 20	IgG = 32,11 g/l IgM = 4,1 g/l IgA = 1,3 g/l Albumine = 50,11 g/l	CL κ = 1,84 g/l β_2 microglobuline = 4,4 g/l CL λ = 2 g/l κ/λ = 0,92 CRP = 81,04 mg/l
N° 21	IgG = 20 g/l IgM = 3 g/l IgA = 1 g/l Albumine = 32,04 g/l	CL κ = 1,65 g/l β_2 microglobuline = 3 g/l CL λ = 2,11 g/l κ/λ = 0,78 g/l CRP = 62 mg/l
N° 22	IgG = 12,13 g/l IgM = 2,8 g/l IgA = 4,1 g/l Albumine = 51,22 g/l	CL κ = 3 g/l β_2 microglobuline = 43 g/l CL λ = 4,5 g/l κ/λ = 0,67 CRP = 0,92 mg/l
N° 23	IgG = 32,04 g/l IgM = 3 g/l IgA = 4,9 g/l Albumine = 37 g/l	CL κ = 4,9 g/l β_2 microglobuline = 1,1 g/l CL λ = 2,75 g/l κ/λ = 1,78 CRP = 1,32 mg/l
N° 24	IgG = 31,01 g/l IgM = 0,9 g/l IgA = 2 g/l Albumine = 37,99 g/l	CL κ = 1,79 g/l β_2 microglobuline = 0,78 g/l CL λ = 2 g/l κ/λ = 0,89 CRP = 4,84 mg/l
N° 25	IgG = 19,32 g/l IgM = 3,4 g/l IgA = 1,5 g/l Albumine = 44,78 g/l	CL κ = 1,79 g/l β_2 microglobuline = 6,4 g/l CL λ = 2,5 g/l κ/λ = 0,716 CRP = 0,7 mg/l

N° 26	IgG = 5,78 g/l IgM = 11,01 g/l IgA = 3,8 g/l Albumine = 21,11 g/l	CL κ = 4 g/l β_2 microglobuline = 12,04 g/l CL λ = 3,54 g/l κ/λ = 1,12 CRP = 0,64 mg/l
N° 27	IgG = 7,4 g/l IgM = 0,8 g/l IgA = 11,05 g/l Albumine = 43,11 g/l	CL κ = 1,88 g/l β_2 microglobuline = 4 g/l CL λ = 2,75 g/l κ/λ = 0,68 CRP = 0,89 mg/l
N° 28	IgG = 19 g/l IgM = 0,6 g/l IgA = 4 g/l Albumine = 52,01 g/l	CL κ = 4 g/l β_2 microglobuline = 2,5 g/l CL λ = 2 g/l κ/λ = 2 CRP = 1,32 mg/l
N° 29	IgG = 21 g/l IgM = 3 g/l IgA = 4,5 g/l Albumine = 19,67 g/l	CL κ = 1,98 g/l β_2 microglobuline = 1,4 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 0,66 CRP = 73 mg/l
N° 30	IgG = 14 g/l IgM = 4,12 g/l IgA = 4,7 g/l Albumine = 50,22 g/l	CL κ = 2,6 g/l β_2 microglobuline = 2,7 g/l CL λ = 4 g/l κ/λ = 0,65 CRP = 0,42 mg/l
N° 31	IgG = 21,11 g/l IgM = 2,7 g/l IgA = 2 g/l Albumine = 39 g/l	CL κ = 4,3 g/l β_2 microglobuline = 3 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 1,44 CRP = 51 mg/l
N° 32	IgG = 21 g/l IgM = 2 g/l IgA = 2,3 g/l Albumine = 48 g/l	CL κ = 2 g/l β_2 microglobuline = 3,54 g/l CL λ = 2,11 g/l κ/λ = 0,652 CRP = 83,01 mg/l
N° 33	IgG = 18,53 IgM = 2,4 g/l IgA = 3 g/l Albumine = 38,4 g/l	CL κ = 2,44 g/l β_2 microglobuline = 5,11 g/l CL λ = 3,06 g/l κ/λ = 0,79 CRP = 67,04 mg/l
N° 34	IgG = 16,04 g/l IgM = 0,8 g/l IgA = 8,6 g/l Albumine = 47,43 g/l	CL κ = 2,99 g/l β_2 microglobuline = 0,89 g/l CL λ = 3,79 g/l κ/λ = 0,79 CRP = 0,11 mg/l
N° 35	IgG = 36 g/l IgM = 0,6 g/l IgA = 4 g/l Albumine = 41 g/l	CL κ = 1,99 g/l β_2 microglobuline = 31 g/l CL λ = 2,04 g/l κ/λ = 0,97 CRP = 93 mg/l
N° 36	IgG = 13 g/l IgM = 0,6 g/l IgA = 14 g/l Albumine = 40 g/l	CL κ = 3,5 g/l β_2 microglobuline = 1,1 g/l CL λ = 2,75 g/l κ/λ = 1,27 CRP = 0,18 mg/l
N° 37	IgG = 43,02 g/l IgM = 3 g/l IgA = 1 g/l Albumine = 51,40 g/l	CL κ = 4,5 g/l β_2 microglobuline = 3,4 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 1,5 CRP = 138 mg/l
N° 38	IgG = 11,46 g/l IgM = 3,4 g/l IgA = 19,32 g/l Albumine = 38,64 g/l	CL κ = 4,2 g/l β_2 microglobuline = 4,8 g/l CL λ = 2,1 g/l κ/λ = 2 CRP = 4,64 mg/l

N° 39	IgG = 10 g/l IgM = 2,1 g/l IgA = 21 g/l Albumine = 38,4 g/l	CL κ = 2,9 g/l β_2 microglobuline = 3 g/l CL λ = 3,8 g/l κ/λ = 0,76 CRP = 3,6 mg/l
N° 40	IgG = 44,01 g/l IgM = 3 g/l IgA = 0,9 g/l Albumine = 37,65 g/l	CL κ = 1,57 g/l β_2 microglobuline = 7,49 mg/l CL λ = 2 g/l κ/λ = 0,785 CRP = 92,01 mg/l
N° 41	IgG = 17 g/l IgM = 2,6 g/l IgA = 6,7 g/l Albumine = 38 g/l	CL κ = 1,78 g/l β_2 microglobuline = 6,79 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 0,60 CRP = 0,77 mg/l
N° 42	IgG = 18,21 g/l IgM = 2,8 g/l IgA = 1,8 g/l Albumine = 44 g/l	CL κ = 3 g/l β_2 microglobuline = 3,2 mg/l CL λ = 2,5 g/l κ/λ = 1,2 CRP = 12 mg/l
N° 43	IgG = 19,32 g/l IgM = 3,5 g/l IgA = 1,4 g/l Albumine = 42,06 g/l	CL κ = 4,6 g/l β_2 microglobuline = 2,19 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 1,54 CRP = 0,8 mg/l
N° 44	IgG = 16,11 g/l IgM = 3,05 g/l IgA = 3,9 g/l Albumine = 48 g/l	CL κ = 4,5 g/l β_2 microglobuline = 3,06 g/l CL λ = 2,7 g/l κ/λ = 1,67 CRP = 0,18 mg/l
N° 45	IgG = 10,22 g/l IgM = 2,06 g/l IgA = 2,6/l Albumine = 46,11 g/l	CL κ = 1,5 g/l β_2 microglobuline = 3,85 g/l CL λ = 2,55 g/l κ/λ = 0,59 CRP = 0,74 mg/l
N° 46	IgG = 14 g/l IgM = 3 g/l IgA = 4,3 g/l Albumine = 47 g/l	CL κ = 4,9 g/l β_2 microglobuline = 4,11 g/l CL λ = 3 g/l κ/λ = 1,64 CRP = 4,69 mg/l
N° 47	IgG = 14,52 g/l IgM = 0,7 g/l IgA = 3 g/l Albumine = 49 g/l	CL κ = 2,98 g/l β_2 microglobuline = 0,62 g/l CL λ = 2,5 g/l κ/λ = 1,192 CRP = 7,56 mg/l

Annexe 2

Matériel non biologique :



Figure 24 : Représentation du néphélémètre laser.



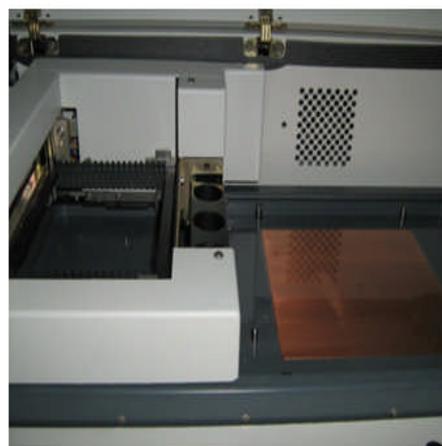
Figure 25 : Spectrophotomètre de type BioTek.



Figure 26 : Centrifugeuse type
UNIVERSAL 320 R.



A



B

Figure 27 : Kit SAS-3 de l'électrophorèse et de l'immunofixation
A : Compartiment d'échantillons, B : Compartiment de migration.

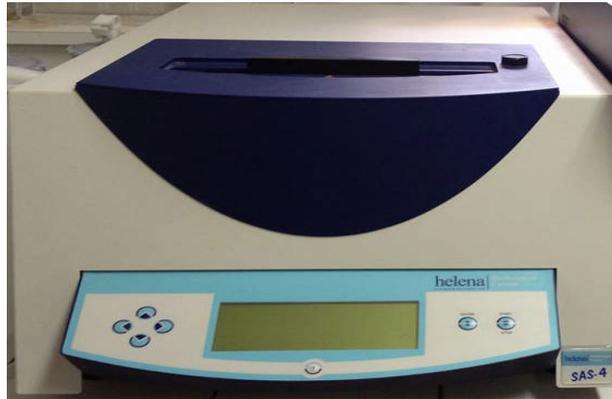


Figure 28 : Kit SAS-4 de l'électrophorèse.

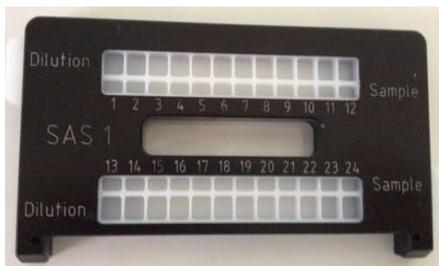


Figure 29 : ergot.



Figure 30 : buvard peigne.



Figure 31 : buvard.



Figure 32 : Solution REP PREP.



Figure 33 : Micropipettes.



Figure 34 : Antisérums d'IFS.



Figure 35 : Antisérums d'IFU.



Figure 36 : Applicateur.



Figure 37 : Masque d'antisérum.