



HAL
open science

Exploration des chaînes légères libres des immunoglobulines : comparaison de deux méthodes de dosage

Anthony-Charles Nzepa

► **To cite this version:**

Anthony-Charles Nzepa. Exploration des chaînes légères libres des immunoglobulines : comparaison de deux méthodes de dosage. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03110671

HAL Id: dumas-03110671

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03110671v1>

Submitted on 14 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Faculté des sciences
médicales et paramédicales**
Aix-Marseille Université

**Exploration des chaînes légères libres des immunoglobulines: comparaison
de deux méthodes de dosage.**

T H E S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

DE MARSEILLE

Le 17 Décembre 2020

Par Monsieur Anthony-Charles NZEPA

Né le 17 septembre 1989 à Montpellier (34)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de BIOLOGIE MÉDICALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur MEGE Jean-Louis

Président

Monsieur le Docteur (MCU-PH) BOUCRAUT Joseph

Directeur

Madame le Docteur (MCU-PH) GELSI-BOYER Véronique

Assesseur

Monsieur le Docteur DELMONT Emilien

Assesseur

FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

Doyen	:	Pr. Georges LEONETTI
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI

Assesseurs :

➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

Chargés de mission :

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

ÉCOLE DE MEDECINE

Directeur	:	Pr. Jean-Michel VITON
------------------	---	------------------------------

Chargés de mission

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marie-Aleth RICHARD
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON

ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

Directrice : **Madame Carole ZAKARIAN**

Chargés de mission

- 1^{er} cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2^{ème} cycle : Madame Cécile NINA

ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

Directeur : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

Chargés de mission

- Masso- kinésithérapie 1^{er} cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2^{ème} cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

Directeur : **Monsieur Sébastien COLSON**

Chargés de mission

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	DUFOUR Michel
	ALDIGHERI René		DUMON Henri
	ALESSANDRINI Pierre		ENJALBERT Alain
	ALLIEZ Bernard		FAVRE Roger
	AQUARON Robert		FIECHI Marius
	ARGEME Maxime		FARNARIER Georges
	ASSADOURIAN Robert		FIGARELLA Jacques
	AUFFRAY Jean-Pierre		FONTES Michel
	AUTILLO-TOUATI Amapola		FRANCES Yves
	AZORIN Jean-Michel		FRANCOIS Georges
	BAILLE Yves		FUENTES Pierre
	BARDOT Jacques		GABRIEL Bernard
	BARDOT André		GALINIER Louis
	BERARD Pierre		GALLAIS Hervé
	BERGOIN Maurice		GAMERRE Marc
	BERLAND Yvon		GARCIN Michel
	BERNARD Dominique		GARNIER Jean-Marc
	BERNARD Jean-Louis		GAUTHIER André
	BERNARD Pierre-Marie		GERARD Raymond
	BERTRAND Edmond		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BISSET Jean-Pierre		GIUDICELLI Roger
	BLANC Bernard		GIUDICELLI Sébastien
	BLANC Jean-Louis		GOUDARD Alain
	BOLLINI Gérard		GOUIN François
	BONGRAND Pierre		GRILLO Jean-Marie
	BONNEAU Henri		GRISOLI François
	BONNOIT Jean		GROULIER Pierre
	BORY Michel		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BOTTA Alain		HASSOUN Jacques
	BOURGEADE Augustin		HEIM Marc
	BOUVENOT Gilles		HOUEL Jean
	BOUYALA Jean-Marie		HUGUET Jean-François
	BREMOND Georges		JAQUET Philippe
	BRICOT René		JAMMES Yves
	BRUNET Christian		JOUVE Paulette
	BUREAU Henri		JUHAN Claude
	CAMBOULIVES Jean		JUIN Pierre
	CANNONI Maurice		KAPHAN Gérard
	CARTOUZOU Guy		KASBARIAN Michel
	CAU Pierre		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CHABOT Jean-Michel		LACHARD Jean
	CHAMLIAN Albert		LAFFARGUE Pierre
	CHARPIN Denis		LAUGIER René
	CHARREL Michel		LE TREUT Yves
	CHAUVEL Patrick		LEVY Samuel
	CHOUX Maurice		LOUCHET Edmond
	CIANFARANI François		LOUIS René
	CLAVERIE Jean-Michel		LUCIANI Jean-Marie
	CLEMENT Robert		MAGALON Guy
	COMBALBERT André		MAGNAN Jacques
	CONTE-DEVOLX Bernard		MALLAN- MANCINI Josette
	CORRIOL Jacques		MALMEJAC Claude
	COULANGE Christian		MARANINCHI Dominique
	DALMAS Henri		MARTIN Claude
	DE MICO Philippe		MATTEI Jean François
	DESSEIN Alain		MERCIER Claude
	DELARQUE Alain		METGE Paul
	DEVIN Robert		MICHOTEY Georges
	DEVRED Philippe		MIRANDA François
	DJIANE Pierre		MONFORT Gérard
	DONNET Vincent		MONGES André
	DUCASSOU Jacques		MONGIN Maurice

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	MONTIES Jean-Raoul	VANUXEM Paul
	NAZARIAN Serge	VERVLOET Daniel
	NICOLI René	VIALETES Bernard
	NOIRCLERC Michel	WEILLER Pierre-Jean
	OLMER Michel	
	OREHEK Jean	
	PAPY Jean-Jacques	
	PAULIN Raymond	
	PELOUX Yves	
	PENAUD Antony	
	PENE Pierre	
	PIANA Lucien	
	PICAUD Robert	
	PIGNOL Fernand	
	POGGI Louis	
	POITOUT Dominique	
	PONCET Michel	
	POUGET Jean	
	PRIVAT Yvan	
	QUILICHINI Francis	
	RANQUE Jacques	
	RANQUE Philippe	
	RICHAUD Christian	
	RIDINGS Bernard	
	ROCHAT Hervé	
	ROHNER Jean-Jacques	
	ROUX Hubert	
	ROUX Michel	
	RUFO Marcel	
	SAHEL José	
	SALAMON Georges	
	SALDUCCI Jacques	
	SAN MARCO Jean-Louis	
	SANKALE Marc	
	SARACCO Jacques	
	SARLES Jacques	
	SASTRE Bernard	
	SCHIANO Alain	
	SCOTTO Jean-Claude	
	SEBAHOUN Gérard	
	SERMENT Gérard	
	SOULAYROL René	
	STAHL André	
	TAMALET Jacques	
	TARANGER-CHARPIN Colette	
	THOMASSIN Jean-Marc	
	UNAL Daniel	
	VAGUE Philippe	
	VAGUE/JUHAN Irène	

EMERITAT

2008		
M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011
2009		
M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012
2010		
M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
2011		
M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015
2012		
M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015
2013		
M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016
2014		
M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017
2015		
M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

EMERITAT

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETTES Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019

2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHOSSEGROS Cyrille	GUEDJ Eric
ALBANESE Jacques	COLLART Frédéric	GUIEU Régis
ALIMI Yves	COSTELLO Régis	GUIS Sandrine
AMABILE Philippe	COURBIERE Blandine	GUYE Maxime
AMBROSI Pierre	COWEN Didier	GUYOT Laurent
ANDRE Nicolas	CRAVELLO Ludovic	<i>GUY Jean-Michel Surnombre</i>
ARGENSON Jean-Noël	CUISSET Thomas	HABIB Gilbert
ASTOUL Philippe	<i>CURVALE Georges Surnombre</i>	HARDWIGSEN Jean
ATTARIAN Shahram	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
AUDOUIN Bertrand	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	<i>HOFFART Louis Disponibilité</i>
AUQUIER Pascal	DANIEL Laurent	HOUVENAEGHEL Gilles
AVIERINOS Jean-François	DARMON Patrice	JACQUIER Alexis
AZULAY Jean-Philippe	D'ERCOLE Claude	JOURDE-CHICHE Noémie
BAILLY Daniel	D'JOURNO Xavier	JOUVE Jean-Luc
BARLESI Fabrice	DEHARO Jean-Claude	KAPLANSKI Gilles
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel	KARSENKY Gilles
BARTHET Marc	<i>DELPERO Jean-Robert Surnombre</i>	<i>KERBAUL François détachement</i>
BARTOLI Christophe	DENIS Danièle	KRAHN Martin
BARTOLI Jean-Michel	DISDIER Patrick	LAFFORGUE Pierre
BARTOLI Michel	DODDOLI Christophe	LAGIER Jean-Christophe
BARTOLOMEI Fabrice	DRANCOURT Michel	LAMBAUDIE Eric
BASTIDE Cyrille	DUBUS Jean-Christophe	LANCON Christophe
BENSOUSSAN Laurent	DUFFAUD Florence	LA SCOLA Bernard
BERBIS Philippe	DUFOUR Henry	LAUNAY Franck
BERBIS Julie	DURAND Jean-Marc	LAVIEILLE Jean-Pierre
BERDAH Stéphane	DUSSOL Bertrand	LE CORROLLER Thomas
<i>BERNARD Jean-Paul Retraite au 25/11/2019</i>	EBBO Mikael	LECHEVALLIER Eric
BEROUD Christophe	EUSEBIO Alexandre	LEGRE Régis
BERTUCCI François	FAKHRY Nicolas	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BLAISE Didier	<i>FAUGERE Gérard Surnombre</i>	LEONE Marc
BLIN Olivier	FELICIAN Olivier	LEONETTI Georges
BLONDEL Benjamin	FENOLLAR Florence	LEPIDI Hubert
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FIGARELLA/BRANGER Dominique	LEVY Nicolas
BONELLO Laurent	FLECHER Pierre	MACE Loïc
BONNET Jean-Louis	FOURNIER Pierre-Edouard	MAGNAN Pierre-Edouard
<i>BOTTA/FRIDLUND Danielle Surnombre</i>	FRANCESCHI Frédéric	MANCINI Julien
<i>BOUBLI Léon Surnombre</i>	FUENTES Stéphane	<i>MATONTI Frédéric Disponibilité</i>
BOUFI Mourad	GABERT Jean	MEGE Jean-Louis
BOYER Laurent	GABORIT Bénédicte	MERROT Thierry
BREGEON Fabienne	GAINNIER Marc	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BRETELLE Florence	GARCIA Stéphane	MEYER/DUTOUR Anne
BROUQUI Philippe	GARIBOLDI Vlad	MICCALEF/ROLL Joëlle
BRUDER Nicolas	GAUDART Jean	MICHEL Fabrice
BRUE Thierry	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MICHEL Gérard
BRUNET Philippe	GENTILE Stéphanie	MICHEL Justin
BURTEY Stéphane	GERBEAUX Patrick	MICHELET Pierre
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GEROLAMI/SANTANDREA René	MILH Mathieu
CASANOVA Dominique	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	MILLION Matthieu
CASTINETTI Frédéric	GIORGI Roch	MOAL Valérie
CECCALDI Mathieu	GIOVANNI Antoine	MORANGE Pierre-Emmanuel
CHAGNAUD Christophe	GIRARD Nadine	MOULIN Guy
CHAMBOST Hervé	GIRAUD/CHABROL Brigitte	MOUTARDIER Vincent
CHAMPSAUR Pierre	GONCALVES Anthony	<i>MUNDLER Olivier Surnombre</i>
CHANEZ Pascal	GRANEL/REY Brigitte	NAUDIN Jean
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GRANVAL Philippe	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
CHARREL Rémi	GREILLIER Laurent	NICOLLAS Richard
CHAUMOITRE Kathia	GRIMAUD Jean-Charles	OLIVE Daniel
CHIARONI Jacques	GROB Jean-Jacques	OUAFIK L'Houcine
CHINOT Olivier		OVAERT-REGGIO Caroline

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck	ROCH Antoine	TRIGLIA Jean-Michel
PANUEL Michel	ROCHWERGER Richard	TROPIANO Patrick
PAPAZIAN Laurent	ROLL Patrice	TSIMARATOS Michel
PAROLA Philippe	ROSSI Dominique	TURRINI Olivier
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Pascal	VALERO René
PELLISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROUDIER Jean	VAROQUAUX Arthur Damien
PELLETIER Jean	SALAS Sébastien	VELLY Lionel
PERRIN Jeanne	<i>SAMBUC Roland Surnombre</i>	VEY Norbert
PETIT Philippe	SARLES/PHILIP Nicole	VIDAL Vincent
PHAM Thao	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VIENS Patrice
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SCAVARDA Didier	VILLANI Patrick
PIQUET Philippe	SCHLEINITZ Nicolas	VITON Jean-Michel
PIRRO Nicolas	SEBAG Frédéric	VITTON Véronique
POINSO François	SEITZ Jean-François	VIEHWEGER Heide Elke
RACCAH Denis	SIELEZNEFF Igor	VIVIER Eric
RANQUE Stéphane	SIMON Nicolas	XERRI Luc
RAOULT Didier	STEIN Andréas	
REGIS Jean	TAIEB David	
REYNAUD/GAUBERT Martine	THIRION Xavier	
REYNAUD Rachel	THOMAS Pascal	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	THUNY Franck	
ROCHE Pierre-Hugues	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
AGHABABIAN Valérie
BELIN Pascal
CHABANNON Christian
CHABRIERE Eric
FERON François
LE COZ Pierre
LEVASSEUR Anthony
RANJEVA Jean-Philippe
SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal

PRAG

TANTI-HARDOUIN Nicolas

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GENERALE

GENTILE Gaëtan

PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE A MI-TEMPS

ADNOT Sébastien
GUIDA Pierre

PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES (disciplines médicales)

LOUIS-BORRIONE Claude

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AHERFI Sarah	ELDIN Carole	NINOVE Laetitia
ANGELAKIS Emmanouil (<i>disponibilité</i>)	FABRE Alexandre	NOUGAIREDE Antoine
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	FAURE Alice	OLLIVIER Matthieu
BARTHELEMY Pierre	FOLETTI Jean- Marc	PAULMYER/LACROIX Odile
BEGE Thierry	FOUILLOUX Virginie	PESENTI Sébastien
BELIARD Sophie	FRANKEL Diane	RADULESCO Thomas
BENYAMINE Audrey	FROMNOT Julien	RESSEGUIER Noémie
BERGE-LEFRANC Jean-Louis	GASTALDI Marguerite	ROBERT Philippe
BERTRAND Baptiste	GELSI/BOYER Véronique	ROMANET Pauline
BEYER-BERJOT Laura	GIUSIANO Bernard	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GONZALEZ Jean-Michel	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GOURIET Frédérique	SECQ Véronique (<i>disponibilité</i>)
BOULAMERY Audrey	GRAILLON Thomas	STELLMANN Jan-Patrick
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOUSSEN Salah Michel	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	GUIVARCH Jokthan	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	HRAIECH Sami	TOSELLO Barthélémy
CERMOLACCE Michel	KASPI-PEZZOLI Elise	TROUSSE Delphine
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	VELY Frédéric
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VION-DURY Jean
CUNY Thomas	LAGIER Aude (<i>disponibilité</i>)	ZATTARA/CANNONI Hélène
DADOUN Frédéric (<i>disponibilité</i>)	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DALES Jean-Philippe	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MAAROUF Adil	
DELLIAUX Stéphane	MACAGNO Nicolas	
DESPLAT/JEGO Sophie	MAUES DE PAULA André	
DEVILLIER Raynier	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUBOURG Grégory	NGUYEN PHONG Karine	
DUCONSEIL Pauline		
DUFOUR Jean-Charles		

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DEGIOANNI/SALLE Anna	POUGET Benoît
BARBACARU/PERLES T. A.	DESNUES Benoît	RUEL Jérôme
BERLAND/BENHAIM Caroline	MARANINCHI Marie	THOLLON Lionel
BOUCAULT/GARROUSTE Françoise	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THIRION Sylvie
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	VERNA Emeline
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques
BONNET Pierre-André
CALVET-MONTREDON Céline
JANCZEWSKI Aurélie
NUSSLI Nicolas
ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle
THERY Didier (nomination au 1/10/2019)

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

BOURRIQUEN Maryline

EVANS-VIALLAT Catherine

LUCAS Guillaume

MATHEU Marion

MAYENS-RODRIGUES Sandrine

MELLINAS Marie

REVIS Joana

ROMAN Christophe

TRINQUET Laure

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants**

ANATOMIE 4201	ANTHROPOLOGIE 20
----------------------	-------------------------

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

ADALIAN Pascal (PR)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
POUGET Benoît (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501
--

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)
RAOULT Didier (PU-PH)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) disponibilité
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)
SECQ Véronique (MCU-PH) *disponibilité*

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ; MEDECINE URGENCE 4801
--

ALBANESE Jacques (PU-PH)
BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)
GUIDON Catherine (MCU-PH)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
ROMANET Pauline (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

ANGLAIS 11	BIOLOGIE CELLULAIRE 4403
-------------------	---------------------------------

BRANDENBURGER Chantal (PRCE)

ROLL Patrice (PU-PH)

BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405
--

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)
DRH Campus Timone

FRANKEL Diane (MCU-PH)
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

GUEDJ Eric (PU-PH)
 GUYE Maxime (PU-PH)
 MUNDLER Olivier (PU-PH) *Surnombre*
 TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
 RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMILLERI Serge (MCU-PH)
 VION-DURY Jean (MCU-PH)

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)
 BONELLO Laurent (PU-PH)
 BONNET Jean-Louis (PU-PH)
 CUISSET Thomas (PU-PH)
 DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
 FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
 HABIB Gilbert (PU-PH)
 PAGANELLI Franck (PU-PH)
 THUNY Franck (PU-PH)

BARBARARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE 5202

BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604

GAUDART Jean (PU-PH)
 GIORGI Roch (PU-PH)
 MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
 DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)
 GIUSIANO Bernard (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
 BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

BERDAH Stéphane (PU-PH)
 DELPERO Jean-Robert (PU-PH) *Surnombre*
 HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
 MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
 SEBAG Frédéric (PU-PH)
 SIELEZNEFF Igor (PU-PH)
 TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
 BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)
 BIRNBAUM David (MCU-PH)
 DUCONSEIL Pauline (MCU-PH)
 GUERIN Carole (MCU-PH)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 CURVALE Georges (PU-PH) *Surnombre*
 FLECHER Xavier (PU-PH)
 PARRATTE Sébastien (PU-PH) *Disponibilité*
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

OLLIVIER Matthieu (MCU-PH)

CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702

BERTUCCI François (PU-PH)
 CHINOT Olivier (PU-PH)
 COWEN Didier (PU-PH)
 DUFFAUD Florence (PU-PH)
 GONCALVES Anthony (PU-PH)
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
 SALAS Sébastien (PU-PH)
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

GUYS Jean-Michel (PU-PH) *Surnombre*
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH)
 FAURE Alice (MCU-PH)
 PESENTI Sébastien (MCU-PH)

LOUIS-BORRIONE Claude (PR associé des Universités)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
 GUYOT Laurent (PU-PH)

FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

COLLART Frédéric (PU-PH)
 D'JOURNO Xavier (PU-PH)
 DODDOLI Christophe (PU-PH)
 GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
 MACE Loïc (PU-PH)
 THOMAS Pascal (PU-PH)

FOUILLOUX Virginie (MCU-PH)
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

**CHIRURGIE PLASTIQUE,
RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

CASANOVA Dominique (PU-PH)
 LEGRE Régis (PU-PH)
 BERTRAND Baptiste (MCU-PH)
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

ALIMI Yves (PU-PH)
 AMABILE Philippe (PU-PH)
 BARTOLI Michel (PU-PH)
 BOUFI Mourad (PU-PH)
 MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
 PIQUET Philippe (PU-PH)
 SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)
 LEPIDI Hubert (PU-PH)
 PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
BERNARD Jean-Paul (PU-PH) retraite au 25/11/2019
BOTTA-FRIDLUND Danielle (PU-PH) Surnombre
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)
 GRIMAUD Jean-Charles (PU-PH)
 SEITZ Jean-François (PU-PH)
 VITTON Véronique (PU-PH)
 GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
 DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
 KRAHN Martin (PU-PH)
 LEVY Nicolas (PU-PH)
 SARLES/PHILIP Nicole (PU-PH)

DUSI

COLSON Sébastien (MCF)

NGYUEN Karine (MCU-PH)
 TOGA Caroline (MCU-PH)
 ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)
 EVANS-VIALLAT Catherine (MAST)
 LUCAS Guillaume (MAST)
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)
 MELLINAS Marie (MAST)
 ROMAN Christophe (MAST)
 TRINQUET Laure (MAST)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
BOUBLI Léon (PU-PH) Surnombre
 BRETELLE Florence (PU-PH)
 CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
 COURBIERE Blandine (PU-PH)
 CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
 D'ERCOLE Claude (PU-PH)

**ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ;
GYNECOLOGIE MEDICALE 5404**

BRUE Thierry (PU-PH)
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)
 CUNY Thomas (MCU PH)

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION 4601

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BERBIS Julie (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)
 SAMBUC Roland (PU-PH) *Sumombre*
 THIRION Xavier (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)
 TANTI-HARDOUIN Nicolas (PRAG)

HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION 4701

BLAISE Didier (PU-PH)
 COSTELLO Régis (PU-PH)
 CHIARONI Jacques (PU-PH)
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
 VEY Norbert (PU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

IMMUNOLOGIE 4703

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)
 OLIVE Daniel (PU-PH)
 VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
 DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
 ROBERT Philippe (MCU-PH)
 VELY Frédéric (MCU-PH)

BOUCAULT/GARROUSTE Françoise (MCF) 65ème section)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

BARTOLI Christophe (PU-PH)
 LEONETTI Georges (PU-PH)
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND/BENHAIM Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905**MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503**

BROUQUI Philippe (PU-PH)
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
 MILLION Matthieu (PU-PH)
 PAROLA Philippe (PU-PH)
 STEIN Andréas (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

KERBAUL François (PU-PH) *détachement*
 MICHELET Pierre (PU-PH)

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

BERGE-LEFRANC Jean-Louis (MCU-PH)
 SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

**MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU
VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301**

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)
 GRANDEL/REY Brigitte (PU-PH)
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)
 EBBO Mikeel (MCU-PH)
 DRH Campus Timone

MEDECINE GENERALE 5303**NEPHROLOGIE 5203**

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

ADNOT Sébastien (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)

GUIDA Pierre (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

BONNET Pierre-André (MCF associé Méd. Gén à mi-temps)

CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)

JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUSSLI Nicolas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/10/2019)

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanne (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

MOAL Valérie (PU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

GRAILLON Thomas (MCU PH)

NUTRITION 4404

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

NEUROLOGIE 4901**ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)**

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

OPHTALMOLOGIE 5502

DENIS Danièle (PU-PH)

HOFFART Louis (PU-PH) Disponibilité

MATONTI Frédéric (PU-PH) Disponibilité

MAAROUF Adil (MCU-PH)

PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)

RADULESCO Thomas (MCU-PH)

REVIS Joana (MAST) (Orthophonie) (7ème Section)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)

FAUGERE Gérard (PU-PH) Surnombre

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502**PHILOSOPHIE 17**

RANQUE Stéphane (PU-PH)

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)

MATHIEU Marion (MAST)

L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)

TOGA Isabelle (MCU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402**PEDIATRIE 5401**

ANDRE Nicolas (PU-PH)

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)

CHAMBOST Hervé (PU-PH)

BREGEON Fabienne (PU-PH)

DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)

GABORIT Bénédicte (PU-PH)

GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)

MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)

MICHEL Gérard (PU-PH)

TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

MILH Mathieu (PU-PH)

BARTHELEMY Pierre (MCU-PH)

OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)

BONINI Francesca (MCU-PH)

REYNAUD Rachel (PU-PH)

BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)

TSIMARATOS Michel (PU-PH)

DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)

DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)

COZE Carole (MCU-PH)

FABRE Alexandre (MCU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)

TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903**PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101**

BAILLY Daniel (PU-PH)

ASTOUL Philippe (PU-PH)

LANCON Christophe (PU-PH)

BARLESI Fabrice (PU-PH)

NAUDIN Jean (PU-PH)

CHANEZ Pascal (PU-PH)

CERMOLACCE Michel (MCU-PH)

GREILLIER Laurent (PU PH)

PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16

REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

AGHABABIAN Valérie (PR)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**RHUMATOLOGIE 5001**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)

GUIS Sandrine (PU-PH)

CHAGNAUD Christophe (PU-PH)

LAFFORGUE Pierre (PU-PH)

CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)

GIRARD Nadine (PU-PH)

PHAM Thao (PU-PH)

JACQUIER Alexis (PU-PH)

ROUDIER Jean (PU-PH)

MOULIN Guy (PU-PH)

THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804

PANUEL Michel (PU-PH)

AMBROSI Pierre (PU-PH)

PETIT Philippe (PU-PH)

VILLANI Patrick (PU-PH)

VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)

VIDAL Vincent (PU-PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802**UROLOGIE 5204**

GAINNIER Marc (PU-PH)

BASTIDE Cyrille (PU-PH)

GERBEAUX Patrick (PU-PH)

KARSENTY Gilles (PU-PH)

PAPAZIAN Laurent (PU-PH)

LECHEVALLIER Eric (PU-PH)

ROCH Antoine (PU-PH)

ROSSI Dominique (PU-PH)

HRAIECH Samir (MCU-PH)

MAJ 01.09.2019

TABLE DES MATIERES

I. Préambule	5
II. Structure, synthèse et fonctions des immunoglobulines	7
A. Structure des immunoglobulines	7
B. Génération de la diversité	9
C. Étapes de la synthèse des immunoglobulines	12
D. Les fonctions des immunoglobulines	13
1. La neutralisation	14
2. L'activation de la cascade du complément	14
3. Activation via la fixation aux récepteurs pour la partie Fc des immunoglobulines G.	15
a) Les récepteurs pour la partie Fc des IgG	15
b) Opsonisation	15
c) La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC)	16
d) L'activation des mastocytes, éosinophiles, basophiles par le Fc gamma Epsilon	16
E. Caractéristiques spécifiques des chaînes légères libres	16
III. Méthodes d'exploration des CLL	19
A. Dosages ELISA	19
B. Dosage en néphélométrie ou turbidimétrie	20
C. Electrophorèses	21
D. Immunotypage en électrophorèse capillaire	25
E. Immunofixation	26
F. Spectroscopie de masse	27
IV. Indications du dosage des CLL	29
A. CLL monoclonales	29
1. Suspicion et suivi des pathologies lymphoprolifératives B	29
a) Myélome	29
b) Waldenstrom	30
c) La Leucémie lymphoïde chronique	33
2. Suspicion de maladie de dépôt de CLL	34
a) Amylose immunologique	34
b) Syndrome de Randall	35
3. Les Neuropathies périphériques dysglobulinémiques	37
a) Les neuropathies anti-MAG	37
b) Le canomad	38
c) Le POEMS syndrome	38
B. CLL polyclonales	39
1. Par défaut d'élimination (Insuffisance rénale)	39
2. Par excès de production (Maladies autoimmunes et inflammatoires)	40
3. Encéphalites et méningoencéphalites	41
V. Objectif du mémoire de DES de biologie médicale	42
VI. Résultats préliminaires	44
VII. Conclusion et perspectives	46
VIII. Bibliographie	48

Remerciements

À Monsieur le Professeur Jean Louis Mège : merci de me faire l'honneur de bien vouloir présider ma thèse, veuillez recevoir mes sincères remerciements.

À mon directeur de thèse, Monsieur le Docteur José Boucraut : vous avez accepté de me soutenir et de m'accompagner tout au long de ce travail. Je vous remercie pour votre patience et vos conseils. Merci de m'avoir fait confiance pour me permettre de participer à ce projet. Recevez ma sincère gratitude.

À Monsieur le Docteur Véronique Gelsi-Boyer : je vous prie de recevoir mes sincères remerciements pour avoir accepté de juger mon travail. Veuillez croire en l'expression de ma respectueuse considération.

À Monsieur le Docteur Emilien Delmont : vous me faites l'honneur d'examiner ce travail, recevez à cette occasion mes sincères remerciements.

À ma famille, merci pour le soutien durant toutes ces années.

À mes amis :

Issam et Mohamed : Merci pour votre aide et vos précieux conseils.

Marie : Sans ton soutien tout cela n'aurait pas été possible.

Au Plug : Merci pour ta disponibilité.

Abréviations

AA : Acides aminés

Ac : Anticorps

ADCC : Cytotoxicité dépendante des Anticorps

Ag : Antigène

AHAI : Anémie hémolytique auto-immune

AL : Amylose immunologique à chaîne légère libre d'immunoglobuline

CAM : Complexe d'attaque membranaire

CDR : Complementary Determining Region

CH : Domaine constant des immunoglobulines

CLL : Chaînes légères libres d'immunoglobulines

ELISA : Enzyme Linked Immuno Assay

Hb : Hémoglobine

HTA : Hypertension artérielle

Ig : Immunoglobuline

K : Kappa

L : Lambda

LyB : Lymphocyte B

LLC : Leucémie lymphoïde chronique

LyT : Lymphocyte T

MAG : Glycoprotéine associée à la Myéline

PBJ : Protéine de Bence jones

PNN : Polynucléaire neutrophile

SNC : Système Nerveux Central

SNP : Système Nerveux Périphérique

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

VH : Domaine variable d'immunoglobuline

VS : Vitesse de sédimentation

Listes des figures

Figure 1. Structure générale d'un anticorps

Figure 2. Structure des différentes sous-classes d'IgG

Figure 3. Digestion des immunoglobulines par la papaine et la pepsine

Figure 4. Structure des gènes codant pour les chaînes lourdes

Figure 5. Étapes de la recombinaison V-J

Figure 6. Étapes de réarrangement des gènes codant pour les chaînes lourdes

Figure 7. Étapes de réarrangement des gènes codant pour les chaînes lourdes

Figure 8. Étapes de la synthèse des immunoglobulines

Figure 9. Les classes d'immunoglobulines et leurs principales caractéristiques

Figure 10. Illustration du processus de neutralisation d'une toxine

Figure 11. Structure et expression des récepteurs pour la partie Fc des IgG

Figure 12. Mécanisme d'opsonisation

Figure 13. Illustration de la cytotoxicité des cellules tumorales par un mécanisme ADCC

Figure 14. Illustration du niveau de polymérisation d'une CLL L mc dans le sérum (The Binding Site).

Figure 15. Principe de l'ELISA sandwich

Figure 16. Les principes de base de la turbidimétrie et de la néphélométrie

Figure 17. Courbe de réaction d'immunoprécipitation

Figure 18. Electrophorèses en gel après coloration avec distinction des différentes fractions

Figure 19. Principe de base de l'électrophorèse capillaire

Figure 20. Illustration d'un profil normal en électrophorèse capillaire

Figure 21. Illustration d'un profil de migration des protéines urinaires

Figure 22. Figure représentant un exemple d'électrophorèse capillaire et d'immuno-soustraction pour la détection et la caractérisation d'une CLL monoclonale K

Figure 23. Illustration d'une immunofixation d'un patient présentant une CLL L de forte abondance

Figure 24. Principe de base d'une spectrométrie de masse

Figure 25. La glomérulosclérose au cours de la maladie de Randall

Figure 26. Aspect en microscopie électronique de l'aspect typique de décompaction de la myéline lié au dépôt d'IgM anti-MAG

Figure 27. Comparaison de valeurs de CLL polyclonales sériques

Figure 28. Comparaison de valeurs de CLL polyclonales du LC

Figure 29. Comparaison de valeurs de CLL monoclonales sériques

I. Préambule

Le dosage dans différents liquides biologiques des chaînes légères libres (CLL) des immunoglobulines, monoclonales ou polyclonales, est devenu une exploration indispensable pour le diagnostic et le suivi de différentes pathologies. Il est pourtant toujours réalisé hors nomenclature et donc non remboursé par la sécurité sociale.

Ces chaînes légères sont produites par les plasmocytes en excès par rapport aux chaînes légères libres liées aux chaînes lourdes. Du fait la faible demi-vie des CLL par rapport aux immunoglobulines entières, elles sont un reflet plus pertinent de l'activation et la prolifération cellulaire.

Avant la commercialisation de tests de quantification des CLL, leur exploration en routine était basée sur leur visualisation, dans le sérum, les urines ou le LCR en électrophorèse, en immunofixation ou immunoempreinte avec des anticorps spécifiques.

Grace au développement d'antisérums polyclonaux ciblant les CLL et pas les chaînes légères liées aux chaînes lourdes, la société « The Binding Site » (TBS) a proposé des trousse, basées sur les principes de turbidimétrie ou de néphélémétrie adaptées à un très grand nombre d'appareils de différentes sociétés (Cobas (Roche), Image (Beckman), BNII ou BN prospect (Siemens),.....). La société SIEMENS a proposé, quelques années plus tard un test avec des anticorps monoclonaux concurrent en Néphélémétrie sur ses automates. La société TBS a ensuite choisi une autre stratégie commerciale, celle de proposer son propre automate de turbidimétrie avec une gamme large de paramètre d'immunochimie, le SPAplus puis l'OPTILITE, un automate développé spécifiquement par TBS pour un panel d'analyses protéiques spécialisées. Enfin, la société SEBIA, leader dans les techniques de séparation électrophorétique, a choisi une approche différente, en ELISA, pour concurrencer la société TBS dans le domaine de l'exploration des immunoglobulines monoclonales.

Le laboratoire d'Immunologie de l'AP-HM qui a participé à la validation des tests de la société TBS dès le début, réalise par an, sur l'automate OPTILITE, 1265 analyses comparées des chaînes légères libres LCR/sérum avec calcul des index KL et LL et 4185 dosages des CLL K et L avec calcul du ratio KL/LL dans le sérum. Le laboratoire peut explorer ces CLL en parallèle dans le sérum en électrophorèse capillaire, en immunotypage capillaire et en

immunofixation et dans les urines en électrophorèse en fonction du poids moléculaire et en immunofixation.

Ce mémoire de thèse présente les caractéristiques des CLL, les techniques d'exploration et leur intérêt médical. L'illustration de données préliminaires de comparaison des résultats obtenus sur l'OPTILITE et en ELISA, sur du sérum et du LCR, introduira les objectifs du mémoire de DES de biologie médicale.

II. Structure, synthèse et fonctions des immunoglobulines

A. Structure des immunoglobulines

Les immunoglobulines (protéines globulaires) sont des glycoprotéines formées de domaines d'environ 110 a.a. contenant un pont di-sulfure intra-caténaire.

Elles sont formées de 4 chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes (H pour « heavy ») de 50 à 80kD et deux chaînes légères (L pour « light ») (Kappa K et Lambda L) de 25kD, reliées entre elles par un nombre variable de ponts disulfures. Ces chaînes forment une structure en Y.

Les chaînes H sont composées de trois ou quatre domaines constants selon l'isotype et d'un domaine variable. Les chaînes L contiennent un domaine constant et un domaine variable. La combinaison de la partie variable de la chaîne légère avec celle de la chaîne lourde constitue le site de fixation spécifique pour l'antigène : PARATOPE.

Pour chaque anticorps les deux chaînes lourdes et les deux chaînes légères sont identiques (Bengtén et al., 2000).

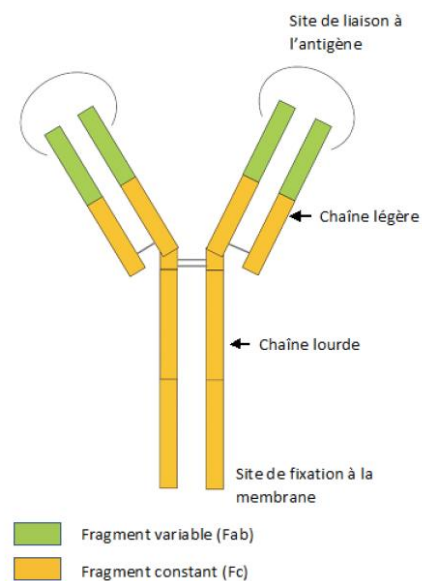


Figure 1. Structure générale d'un anticorps

Il existe cinq classes différentes en fonction des chaînes H : IgG (chaîne lourde « Gamma »), IgM (chaîne lourde « Mu »), IgA (chaîne lourde « Alpha »), IgD (chaîne lourde « Delta ») et IgE (chaîne lourde « Epsilon ») (Wall and Kuehl, 1983).

Les IgG sont divisées en 4 sous-classes (IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4) et les IgA en 2 sous-classes (IgA1 et IgA2).

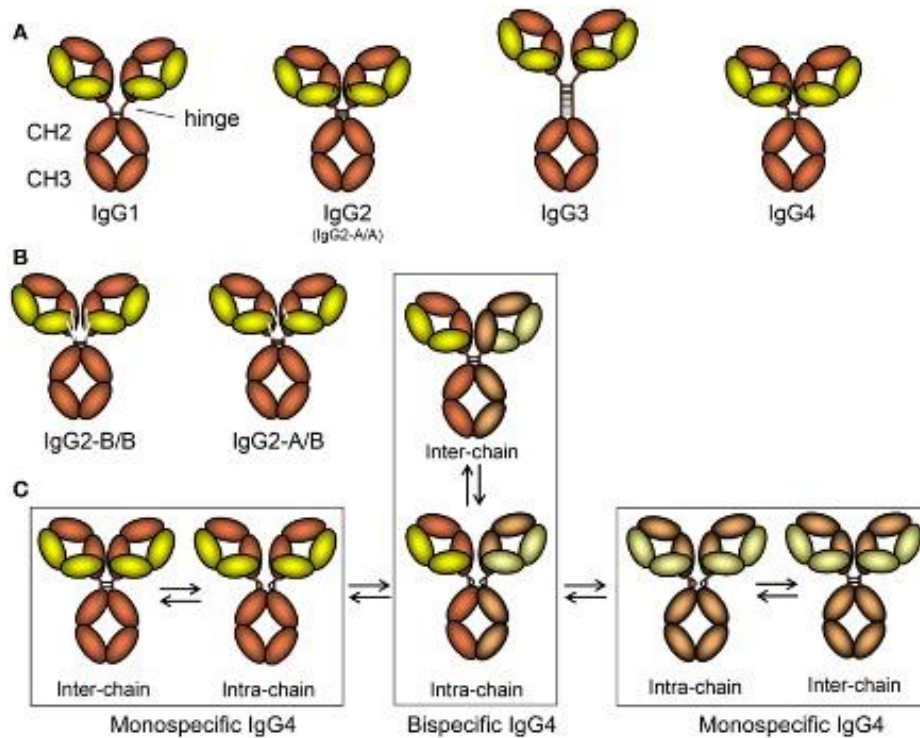


Figure 2. Structure des différentes sous-classes d'IgG

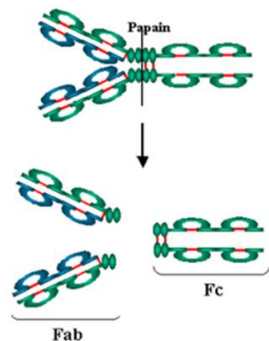
Les IgM et les IgA sont caractérisées la présence d'une chaîne J qui se lie, par des ponts disulfures à une séquence en COOH-terminale des chaînes H induisant une formation en pentamère pour les IgM et en dimère pour les IgA (rarement trimère ou polymère) (Koshland, 1975).

Il existe deux isotopes de CL. CL de type K et CC de type L constituées de deux domaines : un domaine constant au niveau C-terminal et un domaine variable au niveau de l'extrémité N-terminale.

Le clivage enzymatique (par deux enzymes protéolytiques : papaine et pepsine) spécifique a permis à PORTER et NISONOFF d'isoler différents fragments via la région charnière des Ig (Steiner and Knight, 2001). La digestion par la papaine génère (1) les fragments Fab : formation de deux fragments identiques qui contiennent une chaîne légère et les domaines VH et CH1 d'une chaîne lourde ; (2) le fragment Fc (fraction cristallisable) constitué des domaines CH2 et CH3 des CH. La digestion par la pepsine génère (1) un fragment F(ab')₂ qui correspond à l'association de deux fragments Fab reliés par une petite partie de la région charnière et un clivage après les ponts di-sulfure entre les deux chaînes lourdes. La région Fc de la molécule est digérée en courts peptides.

Immunoglobulin Fragments: Structure/Function Relationships

- Fab
 - Ag binding
 - Valence = 1
 - Specificity determined by V_H and V_L
- Fc
 - Effector functions



Immunoglobulin Fragments: Structure/Function Relationships

- Fab
 - Ag binding
- Fc
 - Effector functions
- $F(ab')_2$

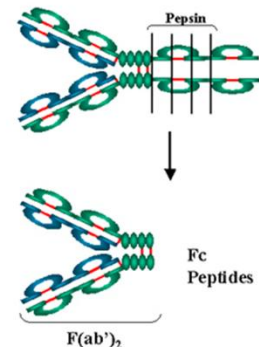


Figure 3. Digestion des immunoglobulines par la papaïne et la pepsine

On définit l'hétérogénéité des Immunoglobulines selon trois niveaux (Jefferis and Lefranc, 2009) :

- (1) l'isotypie : commune à tous les individus d'une même espèce définissant les classes et les sous-classes (portée au niveau des parties constantes) ainsi que les différents isotypes de chaînes légères,
- (2) l'allotypie : déterminants antigéniques qui vont distinguer deux individus d'une même espèce (au niveau des domaines constants des chaînes H (G et A) et L (K)),
- (3) l'idiotypie : déterminants antigéniques portés par un anticorps chez un individu donné.

Les Ig sont des glycoprotéines. Il existe un site de N-glycosylation sur une asparagine dans le domaine CH2. Les modifications de la composition de la chaîne glycosidiques incluant le site déterminant sialylés, observées notamment en situation pathologique, influence l'interaction avec le C1q et les récepteurs Fc gamma exprimés par les cellules immunes (Halpern, 1971)(Arnold et al., 2007).

B. Génération de la diversité

La production d'un nombre très important d'anticorps différents au niveau de leur séquence dans les régions variables est nécessaire pour la reconnaissance de l'immense variété des antigènes du soi et du non-soi (Tonegawa, 1983)(Dudley et al., 2005). Ceci se réalise par des processus de ré-arrangement ou recombinaison de séquences génomiques portant sur les gènes des chaînes lourdes et les gènes des chaînes légères.

Les gènes codant pour les chaînes lourdes sont situés dans le chromosome 14. Ils sont constitués de loci pour les régions V (pour variable) > à 1000, D (pour diversité) > à 15, J (pour jonctionnel) > à 5 et C (pour constante) : μ , δ , γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , ϵ , α_1 , α_2 correspondant respectivement aux 9 isotypes de chaînes lourdes. Il existe des exons codant pour chaque domaine constant des chaînes lourdes.

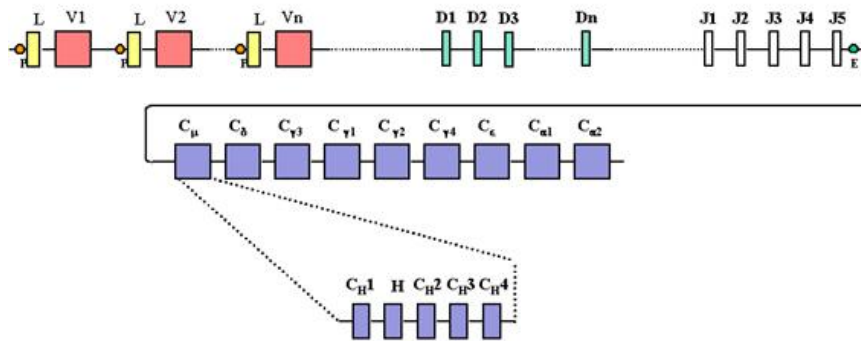


Figure 4. Structure des gènes codant pour les chaînes lourdes

Les recombinaisons sont réalisées grâce aux enzymes Rag (recombinases) Rag1 et Rag2, aussi impliquées dans la génération de la diversité des TCR (Schroeder and Cavacini, 2010). En l'absence de Rag, il existe une déficience en LyT et en LyB par absence de formation des TCR et des BCR. Les étapes des processus pour la recombinaison au niveau V-J sont illustrées dans la figure ci-dessous.

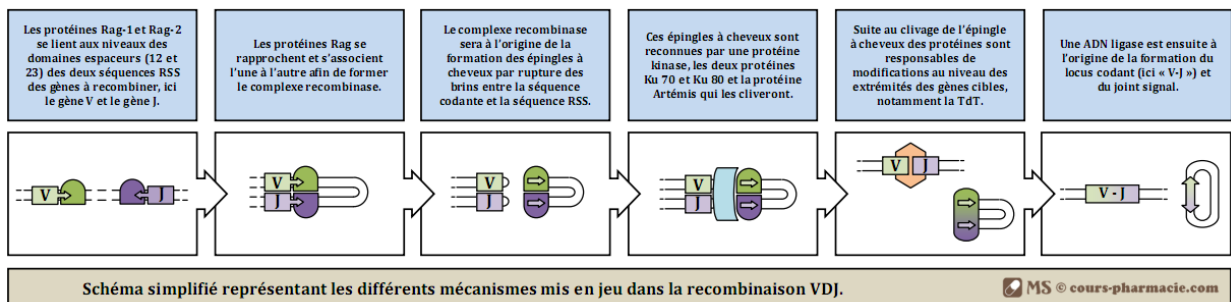


Figure 5. Étapes de la recombinaison V-J

Les processus de recombinaison ne sont pas parfaits, sous l'influence de l'enzyme TdT, qui augmente ainsi la diversité. Après l'étape de clivage, l'ADN ligase permet la jonction des loci V et J.

Les étapes suivantes illustrées dans la figure se succèdent pour aboutir au transcrite primaire qui va être traduit en chaîne lourde.

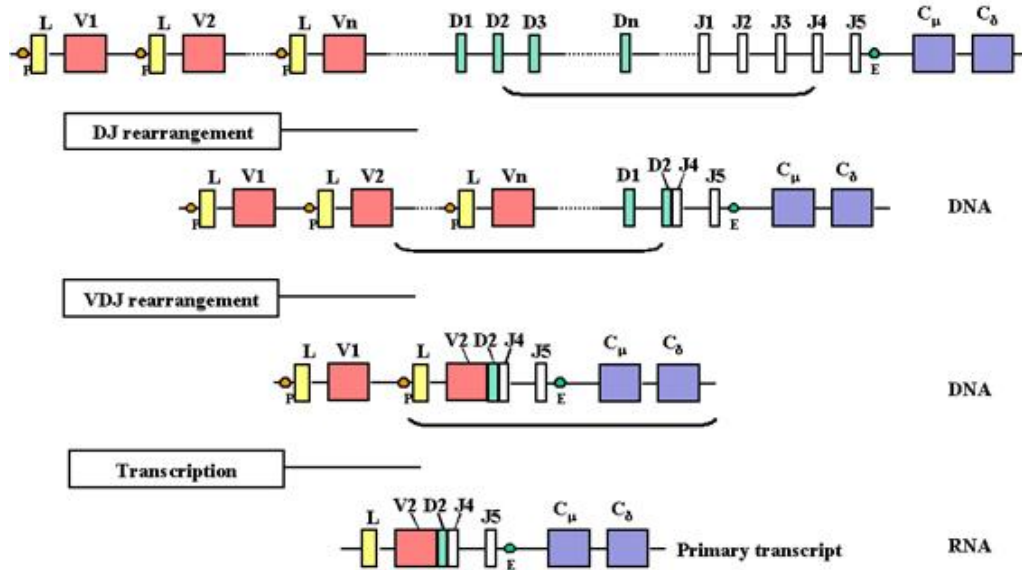


Figure 6. Étapes de réarrangement des gènes codant pour les chaînes lourdes

Cette organisation génomique permet le mécanisme de commutation de classe, c.a.d. la production, dans un premier temps, des IgM et ensuite, par des mécanismes de recombinaison, des Ig d'autres classes.

Du fait de l'excision de la partie codant la partie constante des IgM, un Ly B produisant par exemple des IgG, ne peut plus synthétiser des IgM (Honjo, 1983).

Concernant les chaînes légères, les processus sont similaires, mais il n'y a pas de régions D et pas de phénomène de commutation de classe.

Les gènes codant les chaînes K se localisent sur le chromosome 2. Deux groupes de gènes codent pour la partie variable de la chaîne κ : Les gènes V qui contiennent 76 gènes et les gènes J contenant 5 gènes. Au cours de la maturation de lymphocytes B, les gènes de la partie variable subissent un réarrangement (sélection et combinaison aléatoire des gènes de la partie variable) avec l'émergence d'un seul gène codant pour la partie variable qui va se combiner au gène codant pour la partie constante (Zachau, 1989).

Les gènes codant pour les chaînes L sont localisés sur le chromosome 22. Les parties variables sont codées par 35 gènes V et 6 gènes J.

Les parties constantes sont codées par un seul gène, il existe un locus les K et plusieurs loci pour les L (Kawasaki et al., 1997).

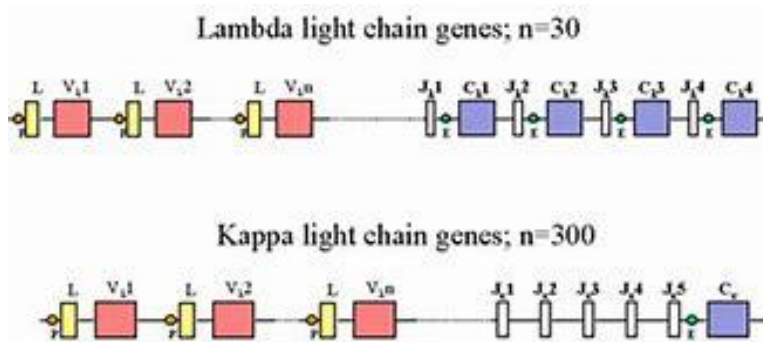


Figure 7. Structure génomique des gènes des chaînes légères

Une fois les chaînes lourdes et légères synthétisées, leur association va augmenter la diversité du fait du partage du site anticorps. Enfin, lors des réponses immunitaires à un antigène, les LyB vont subir des mutations ponctuelles à l'origine de modification permettant l'augmentation d'affinité pour cet antigène.

C. Étapes de la synthèse des immunoglobulines

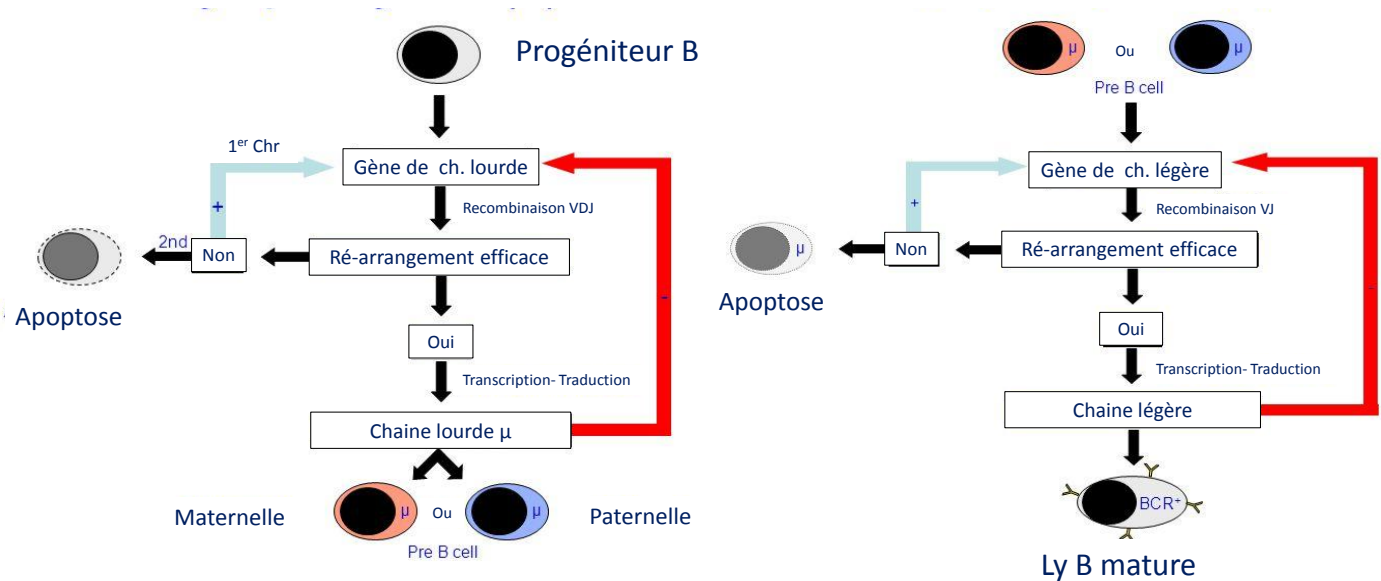


Figure 8. Étapes de la synthèse des Ig

La première étape porte sur le ré-arrangement des gènes qui codent pour la chaîne lourde sur un des chromosomes, d'origine maternel ou paternel. Si ce processus échoue, il est réalisé sur l'autre chromosome. La deuxième étape porte ensuite sur le ré-arrangement de la chaîne légère pour aboutir à un LyB mature, portant les Ig de surface. La synthèse des Ig commence à partir du stade pré-B mais elles restent intra-cytoplasmiques. C'est seulement

lorsque les Ig sont exportées à la surface du lymphocyte sous forme d'Ig membranaire que le LyB est mature. C'est une synthèse qui se fait indépendamment d'un stimulus antigénique.

Au cours de sa différenciation, le LyB produit d'abord des Ig membranaires à sa surface, puis des Ig sécrétées après maturation en plasmocyte. Cette étape de maturation de passage de la production de formes membranaires d'Ig par les LyB à la synthèse de formes solubles par les plasmocytes différenciés se fait par un mécanisme d'épissage alternatif. Cette étape est liée à une activation (dans les organes lymphoïdes secondaires) du LyB, liée à la rencontre avec l'Ag, et la coopération avec des LyT helpers. Les LyB synthétisent d'abord des IgM et des IgD et produiront ensuite une autre classe d'Ig (IgG, IgE ou IgA) par le mécanisme de commutation de classe ou « switch » d'isotype (Bankovich et al., 2007)(Geisberger et al., 2006).

D. Les fonctions des immunoglobulines

Chaque isotype d'Ig exerce des fonctions différentes liées à sa structure (Bengtén et al. 2000).



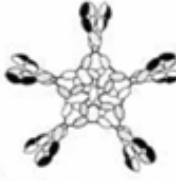


	IgA	IgG	IgM	IgD	IgE
Structure					
Poids moléculaire (KDa)	160 (340)	146-170	160 (970)	184	188
% des Ig sériques	7-15	85	5	0,3	0,02
Taux sérique (mg/mL)	3,5	13,5	1,5	0,03	5x10 ⁻⁵
Demi-vie (jours)	6	7-21	10	3	2,5
Activation du complément (voie classique)	-	+	+	-	-
Transfert placentaire	-	+	-	-	-
Liaison aux phagocytes	+	+	-	-	+

Figure 9. Les classes d'immunoglobulines et leurs principales caractéristiques

1. La neutralisation

Les anticorps permettent de neutraliser des bactéries, des virus ou encore des toxines et faciliter leur élimination. Les IgG permettent une neutralisation systémique alors que les IgA agissent au niveau muqueux (Cavacini et al., 2003).

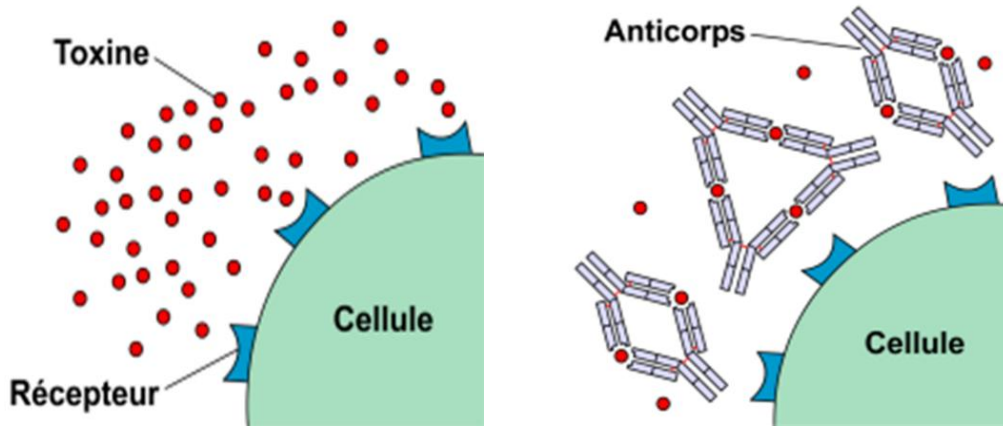


Figure 10. Illustration du processus de neutralisation d'une toxine

2. L'activation de la cascade du complément

Le système du complément est un ensemble de protéines plasmatiques. Ce système agit par une cascade d'activation. Il existe plusieurs voies d'activation, la voie classique, la voie des lectines et la voie alterne.

L'activation de la cascade induit la formation, d'une part, (1) des fractions solubles comme les fractions C3a et C5a, pro-inflammatoires et chimiotactiques, la fraction opsonisante C3b qui se lie aux bactéries et au récepteur CR3 des cellules phagocytaires et, d'autre part (2) le complexe d'attaque membranaire (CAM) qui permet une action cytolitique sur la cellule cible.

Les IgG, sauf les IgG4, et les IgM, après fixation sur l'antigène, découvrent un site sur le fragment Fc, afin de permettre la fixation de la molécule C1q du complément qui induit ensuite l'activation de la voie classique par les molécules C1r et C1s (Boackle et al., 1979).

3. Activation via la fixation aux récepteurs pour la partie Fc des immunoglobulines G.

a) Les récepteurs pour la partie Fc des IgG

Function	Activating					Inhibitory
Structure	Immunoglobulin domain Common γ -chain					
Cell membrane	ITAM					GPI anchor ITIM
Name	Fc γ RI	Fc γ RIIA	Fc γ RIIC	Fc γ RIIIA	Fc γ RIIIB	Fc γ RIIB
Expression	Lymphoid Not expressed	Not expressed	NK cell	NK cell	Not expressed	B cell and plasma cell
Myeloid	Monocyte, DC and macrophage	Monocyte, DC, platelet and macrophage	Not expressed	Monocyte, DC and macrophage	Not expressed	Monocyte, DC and macrophage
Granulocyte	Neutrophil and eosinophil	Neutrophil	Not expressed	Not expressed	Neutrophil, mast cell and eosinophil	Neutrophil, basophil and mast cell
IgG binding affinity	IgG1 >>> IgG2, IgG3 and IgG4	IgG1 and IgG3 >> IgG2 > IgG4	IgG1 > IgG3 >> IgG4 > IgG2	IgG1 >> IgG2 and IgG3 > IgG4	IgG1 and IgG3 >> IgG2 and IgG4	IgG1 > IgG3 >> IgG4 > IgG2
	CD64		CD32		CD16	

Nature Reviews | Immunology

Figure 11. Structure et expression des récepteurs pour la partie Fc des IgG

Comme indiqué dans le tableau ci-dessus, on distingue les récepteurs Fc en fonction de leur caractère activateur ou inhibiteur et de leur structure. Certains récepteurs possèdent des séquences activatrices dans leur partie intra-cytoplasmique, d'autres sont associées à des protéines adaptatrices pour l'activation cellulaire. L'action des anticorps varie en fonction, d'une part des cellules qui expriment ces récepteurs et, d'autre part des isotypes des IgG.

b) Opsonisation

Suite à la formation d'un complexe immunitaire, le fragment Fc des anticorps est reconnu par des récepteurs spécifiques de ce domaine exprimés par les cellules phagocytaires (Nimmerjahn and Ravetch, 2007).

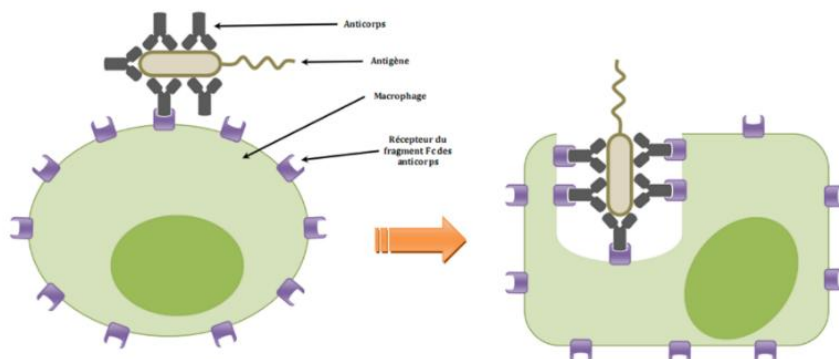


Figure 12. Mécanisme d'opsonisation

c) *La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC)*

L'anticorps se fixe sur l'antigène, puis, via la partie Fc des IgG, interagit avec le Fc γ RIII des cellules effectrices telles que les polynucléaires neutrophiles (PNN), les natural killer (NK), les macrophages ce qui provoque la libération de granzymes (sérine-protéases inductrice d'apoptose), de perforines (formant des « trous » dans la membrane de la cellule cible) et ainsi la lyse de la cellule (Gergely et al., 1986).

Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity (ADCC)

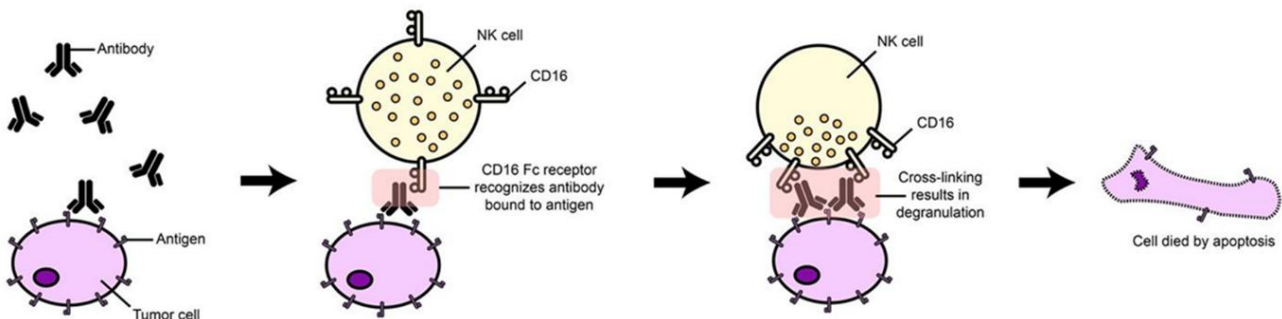


Figure 13. *Illustration de la cytotoxicité des cellules tumorales par un mécanisme ADCC*

d) *L'activation des mastocytes, éosinophiles, basophiles par le Fc γ Epsilon*

Les IgE peuvent être reconnues par les récepteurs de haute affinité (Fc ϵ R1) présents sur les mastocytes, les éosinophiles et les basophiles. La fixation de l'antigène (allergène) sur deux IgE (pontage) provoque très rapidement une dégranulation des cellules effectrices libérant des médiateurs pré-formés ou néo-formés. Parmi ces médiateurs, on retrouve la lysoPAF (platelet activator platelet), la MBP (major basic protein des éosinophiles), ECP (eosinophilic cationic protein) et l'histamine qui participent à la formation d'œdème, de prurit et d'inflammation (Neuberger et al., 1985).

E. **Caractéristiques spécifiques des chaînes légères libres**

Lors de la synthèse d'Ig par les plasmocytes, les CLL (K ou L) sont produites en excès (+40%) par rapport aux chaînes lourdes pour permettre une conformation correcte de l'Ig complète.

La proportion de CLL K et CLL L produites pour les IgG est dans un rapport de deux pour un. Il n'existe pas de données validées pour la production respective des CLL K et L pour les autres isotypes.

Du fait de leur faible PM (25kD), elles sont filtrées par le glomérule, puis réabsorbées et métabolisées au niveau du tube contourné proximal. Ainsi, en situation physiologique, les CLL sont présentes en faible quantité dans le sérum. Les CLL K sont produites sous forme de monomères et sont éliminées rapidement du sang en 2 à 4 heures. Les CLL L sont produites sous forme de dimères et sont éliminés plus lentement en 3 à 6 heures. Ainsi la demi-durée de vie des CLL K est moindre que celle des CLL L. La quantité de chaînes légères est en moyenne proche de 10 mg/L et le ratio K/L est en moyenne proche de 1.

En cas d'insuffisance rénale, les CLL s'accumulent dans le sang. Le ratio CLL K/CLL L augmente car la diminution de l'élimination s'applique aux deux isotypes. L'excès de CLL circulantes va avoir un effet délétère en se déposant au niveau tissulaire.

Certaines CLL monoclonales, du fait de leur séquence particulière, ont la capacité de se déposer sous forme agrégée, entraînant des complications multiviscérales : amylose AL ou syndrome de Randall (Merlini et al., 2018).

En cas d'augmentation de production d'Ig, que ce soit par la présence d'une immunoglobuline monoclonale ou une activation polyclonale des LyB, il y a augmentation de production des CLL libres d'un seul isotype dans la première situation ou des deux isotypes dans la deuxième situation, qui vont être éliminées de façon plus importante dans les urines et se retrouver dans l'urine terminale dans le cas où le taux dans l'urine dépasse la capacité de réabsorption proximale dans les tubes contournés proximaux. On peut ainsi détecter une protéinurie de Bence Jones (PBJ) en cas de CLL monoclonale dans l'urine terminale.

En cas de CLL monoclonale abondante, il a pu être déterminé, par analyse chromatographique, la présence de CLL à plusieurs niveaux de polymérisation dans le sérum. Cette observation peut expliquer d'une part des interférences dans les techniques de dosage et de caractérisation des CLL et d'autre part, une accumulation de ces CLL dans la circulation, du fait de l'absence d'élimination au niveau rénal.

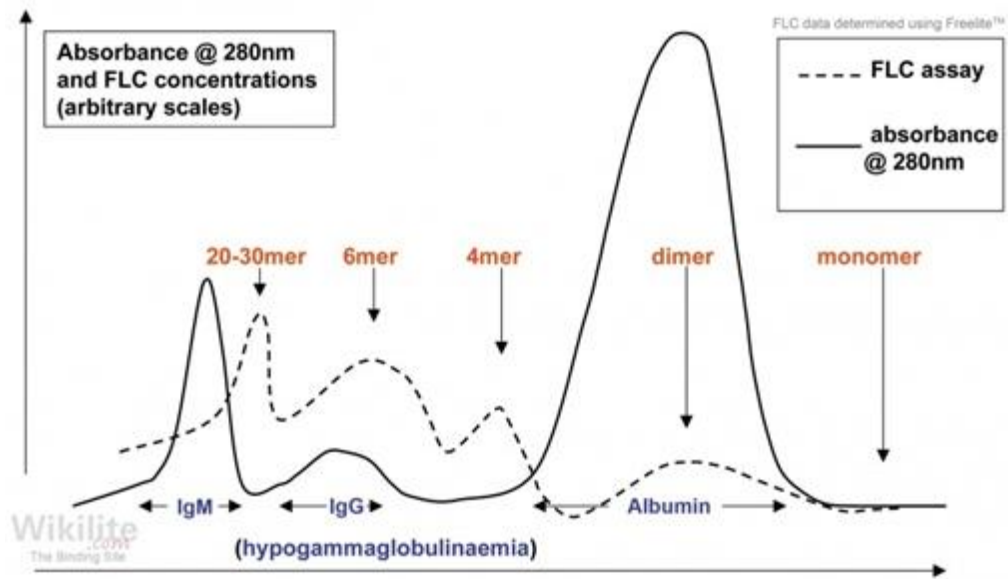


Figure 14.

Illustration du niveau de polymérisation d'une CLL L mc dans le sérum (The Binding Site).

Les CLL monoclonales dans les urines peuvent s'oligomériser dans les urines et parfois obstruer les tubules. Elles peuvent également induire une inflammation interstitielle tubulaire lors de leur réabsorption.

III. Méthodes d'exploration des CLL

A. Dosages ELISA

Il existe quatre principaux types de test ELISA : direct, indirect, compétitif et sandwich. Pour quantifier des CLL dans un échantillon, on utilise un test ELISA « sandwich ».

- **ELISA sandwich**

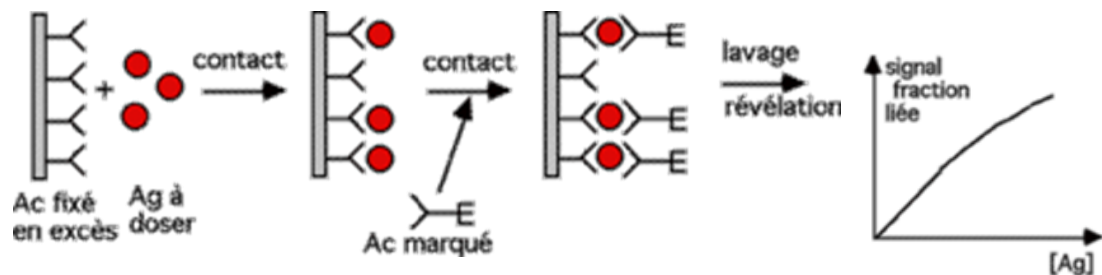


Figure 15. Principe de l'ELISA sandwich

La révélation de la réaction est obtenue par le marquage enzymatique de l'anticorps de détection et l'incubation avec le substrat.

Le principal avantage de l'ELISA, par rapport aux techniques d'immunoprécipitation en milieu liquide (Turbidimétrie et Néphélémétrie) est une plus grande sensibilité. L'ELISA permet de mesurer des molécules-cibles dans un grand choix d'échantillons : sérum, plasma, urine, salive, lysats cellulaires, aliments, etc.

On ne peut être confronté avec des problèmes de spécificité car on ne « visualise » pas l'antigène, contrairement à une analyse en western-blot ou électrophorèse. On ne peut pas, avec la technique, classique déterminer les informations en relation l'activité d'une molécule ne peut pas être obtenue par cette technique (Hornbeck, 2015)(Lee et al., 2015)(CARDIN et al., 1984)(“ELISA_Handbook.pdf,” n.d.).

Il peut exister des variants technologiques en fonction (1) du support d'immobilisation de l'anticorps de capture (supports activables, billes,...) et du marquage de l'anticorps de détection avec d'autres marqueurs que des enzymes.

B. Dosage en néphélométrie ou turbidimétrie

Les tests se basent sur la formation de complexes entre un anticorps et un antigène spécifique afin d'en connaître le dosage. Les méthodes sont basées sur le principe selon lequel la lumière, passant par un milieu contenant des particules dispersées, est soit absorbée soit dispersée par les complexes.

Les variations de turbidité du milieu sont mesurées à l'aide d'un néphélomètre ou un turbidimètre. Ces appareils possèdent un rayon laser dont le faisceau traverse la cuve où a lieu la réaction antigène/anticorps. Pour la turbidimétrie on mesure la lumière transmise et pour la néphélométrie, on apprécie la lumière diffractée dans différentes directions (en fonction de l'angle d'observation du faisceau incident variable en fonction de l'automate). La lumière adsorbée ou diffractée est mesurée par des photomultiplicateurs et comparée à des courbes d'étalonnages avec des quantités connues d'antigène. On en déduit la quantité d'antigène présente dans l'échantillon à doser

La précipitation de complexes antigène/anticorps en milieu liquide peut permettre un dosage rapide (en quelques minutes) et précis des antigènes. Son avantage est aussi lié à l'absence d'étape de révélation réduisant les interférences liées à des techniques à plusieurs étapes. Elle est, cependant, peu sensible.

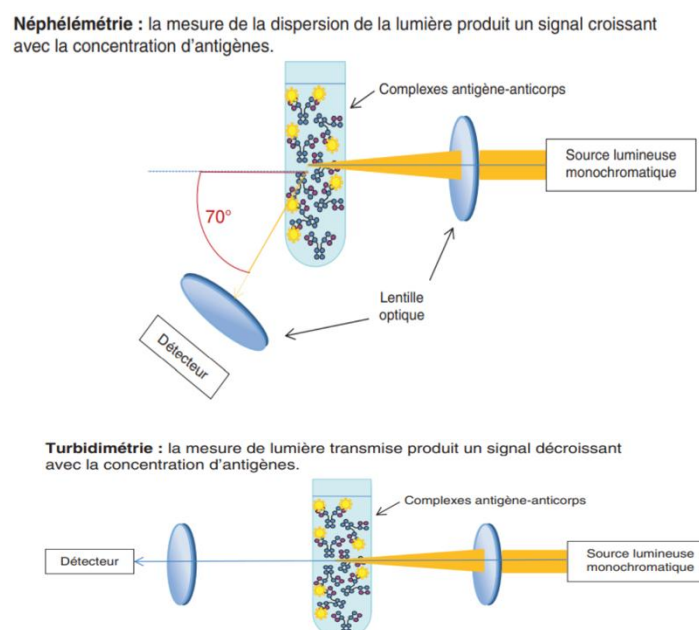


Figure 16. Les principes de base de la turbidimétrie et de la néphélométrie

Les faibles concentrations d'antigène correspondent à un large excès d'anticorps où toutes les molécules d'antigène sont complexées. Les complexes antigène–anticorps sont alors trop petits pour former un réseau et de nombreuses molécules d'anticorps restent libres dans le milieu. À l'inverse, l'ajout de grandes quantités d'antigène réalise les conditions d'un large excès d'antigène où trop peu de molécules d'anticorps sont présentes pour recouvrir les nombreuses molécules d'antigène. Les complexes antigène–anticorps sont là encore de petite taille et restent souvent solubles dans le milieu (effet de zone). C'est dans la configuration intermédiaire, appelée zone d'équivalence, que se forme un réseau important précipitant, complexant la quasi-totalité des molécules d'antigène et d'anticorps (P. TISSIER and CORRIEU, 1983) (Thuillier et al., 2008). Enfin, concernant, les CLL et leur degré variables de polymérisation, il est probable que l'agrégation puisse impacter leur dosage.

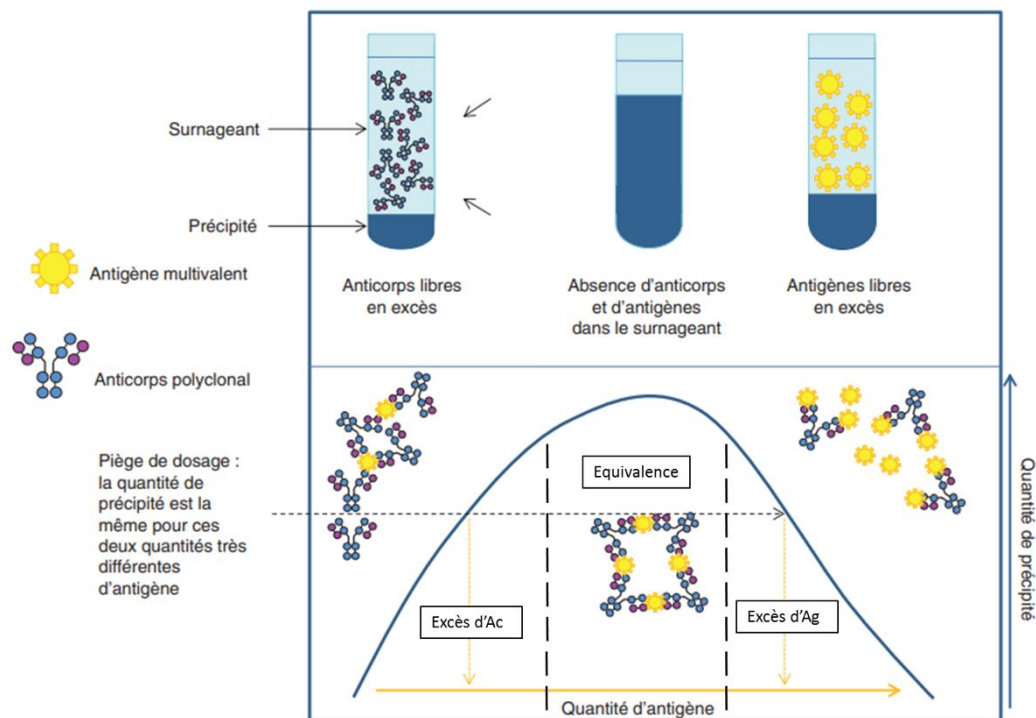


Figure 17. Courbe de réaction d'immunoprécipitation

C. Electroforèses

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique permettant la séparation des protéines en fractions de mobilité différentes, avec obtention de leurs pourcentages relatifs par rapport à la valeur de protidémie. Couramment utilisée en pratique clinique, cette

analyse reflète l'ensemble des protéines sériques. Accompagnée d'un commentaire d'interprétation, elle apporte de nombreux renseignements en particulier sur l'état inflammatoire ou encore nutritionnel, et permet le dépistage et le suivi d'une dysglobulinémie (Feuilloley et al., 1999). Elle peut être complétée par des examens complémentaires (Immunotypage capillaire et ou immunofixation et/ou dosages spécifiques des protéines, bilan hématologique, exploration rénale ou digestive).

Dans le cadre de l'électrophorèse de zone, les protéines sont soumises à un champ électrique sur un support donné (acétate de cellulose ou gel d'agarose), les protéines se déplacent à des vitesses différentes, qui résultent de plusieurs facteurs :

- leur mobilité propre, sous l'effet du champ électrique et du tampon,
- le courant d'électroendosmose du support,
- le courant d'évaporation,
- la composition du support.

Les protéines sont ensuite colorées (rouge ponceau, amidoschwarz, acide violet) et les fractions sont intégrées par lecture densitométrique.

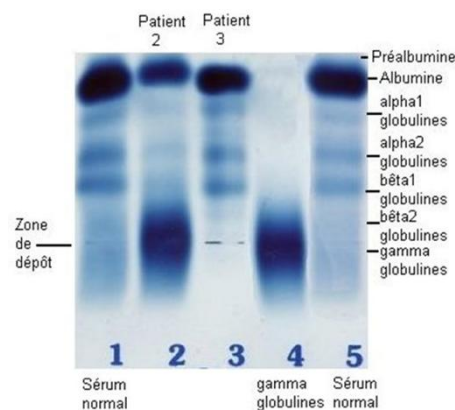


Figure 18. *Electrophorèses en gel après coloration avec distinction des différentes fractions de protéines sériques*

Depuis les années 1990, s'est développée en routine biologique l'électrophorèse capillaire de zone en solution libre (CZE), technique de séparation électrocinétique en capillaires de silice fondue (diamètre interne 20–100 μm), remplis d'électrolyte. Une tension élevée provoque la migration des protéines dans le capillaire. De plus, les protéines sont exposées à un flux d'électroendosmose créé par la différence de potentiel entre les charges positives du tampon et les charges négatives des parois du capillaire, ce qui produit une séparation à

haute résolution, les protéines étant ensuite quantifiées par mesure à leur longueur d'onde d'absorption (200 nm).

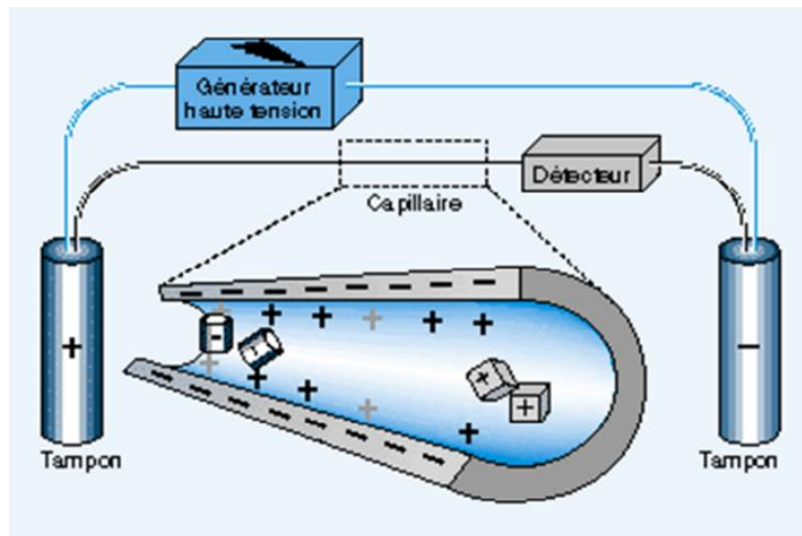


Figure 19. Principe de base de l'électrophorèse capillaire

Cette technique présente beaucoup d'avantages (Jahn et al., n.d.) (Kim et al., 1993) :

- faible consommation d'échantillon,
- une meilleure résolution que l'électrophorèse de zone d'efficacité de séparation (notamment meilleure résolution au niveau de la zone bêta (2 fractions clairement dissociées) permettant le dépistage des Ig monoclonales migrant à ce niveau,
- rapidité d'analyse et possibilité de faire migrer 12 échantillons en même temps dans les appareils récents,
- enfin, et surtout, la répétabilité et la possibilité de superposer les courbes avec les courbes antérieures.

Dans l'électrophorèse des protéines sériques, chaque fraction doit être rapportée au taux de protéines sériques (g/l) pour interpréter les anomalies quantitativement (Jorgenson and Lukacs, 1983). Chacune des fractions du protéinogramme peut présenter des anomalies. Et ces anomalies sont à interpréter en fonction de l'état clinique du patient (Jenkins et al., 1995).

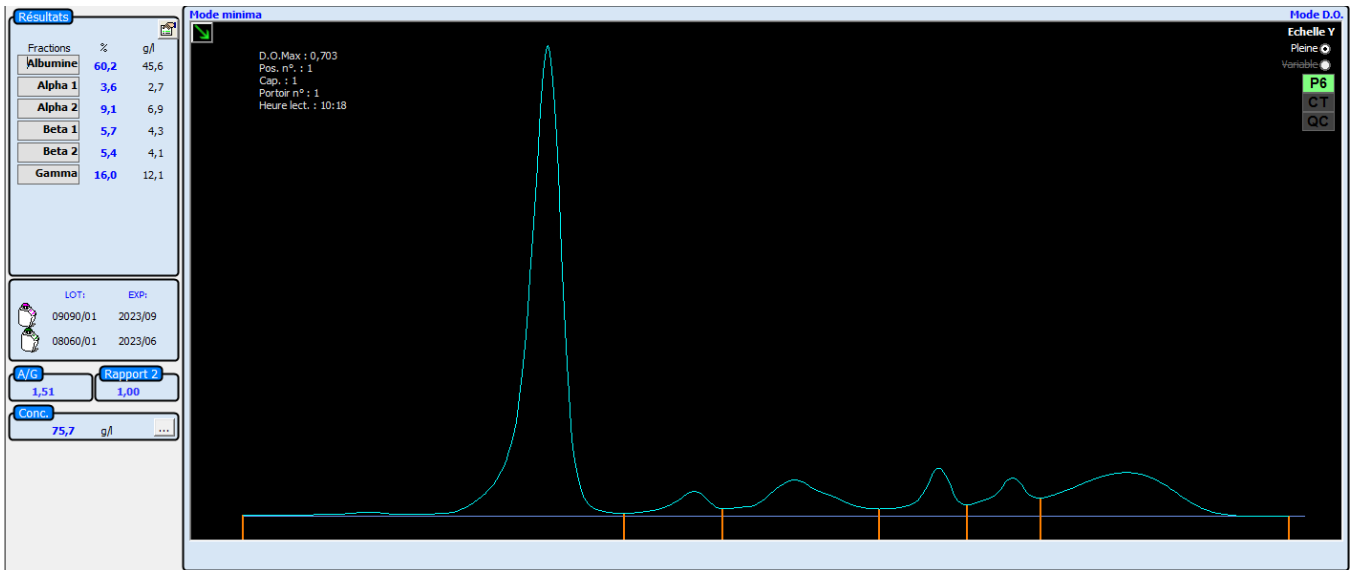


Figure 20. Illustration d'un profil normal en électrophorèse capillaire

Concernant le protidogramme urinaire, le laboratoire d'Immunologie avait développé une électrophorèse en gel SDS d'agarose (fortement concentrée) permettant une résolution en fonction du PM, indiquée pour facilement différencier les macroprotéines, témoins d'une atteinte glomérulaire, des microprotéines présentes en cas d'atteinte tubulaire ou de protéinurie de surcharge.

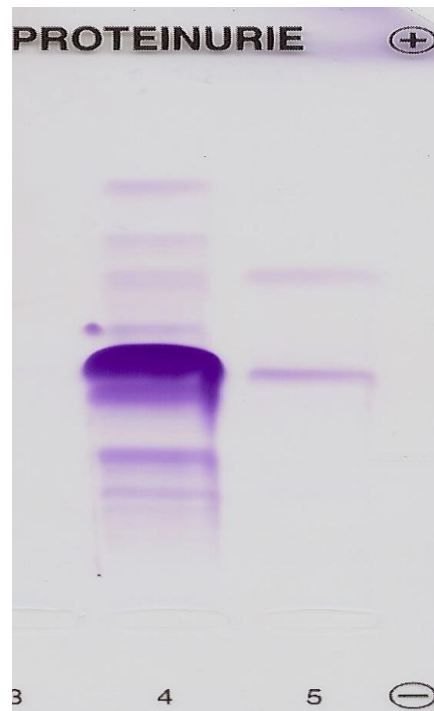
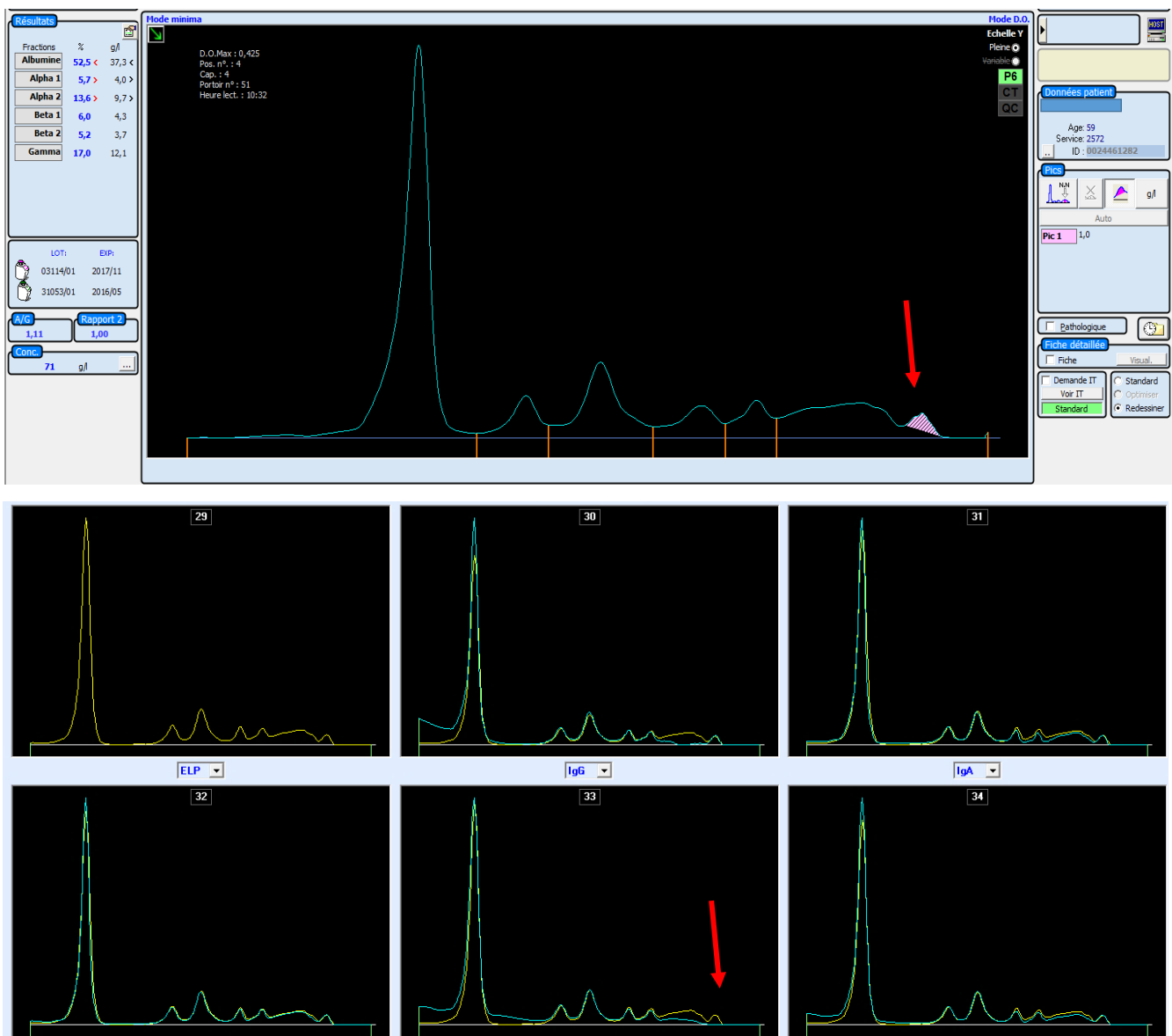


Figure 21. Illustration d'un profil de migration des protéines urinaires

D. Immunotypage en électrophorèse capillaire

L'immunotypage consiste à faire une électrophorèse capillaire du sérum en présence des antisérums monospécifiques anti-IgG, anti IgA, anti IgM, anti-K et anti-L (un antisérum par profil) couplés à des charges négatives. Il y a ainsi formation de complexes en milieu liquide. Ces complexes migrent hors la zone de gamma dans une position anodique, proche et en amont de l'albumine. La comparaison des profils avec antisérums au profil sans anti-sérum chez un patient permet de visualiser la disparition et/ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire la présence du composé monoclonal comme illustré ci-après pour une CLL monoclonale Kappa (Katzmann et al., 1998).



Figures 22. représentant un exemple d'électrophorèse capillaire et d'immuno-soustraction pour la détection et la caractérisation d'une CLL monoclonale K.

Il faut, dès à présent, noter que pour cette illustration, que l'intégration du pic évoque une concentration de 1gr/L alors que le dosage sur l'OPTILITE indique une concentration de 6,4 gr/L.

Test	Résultat / Unité	Signal	Dilution	Dil.
IgG	7,72 g/l		1:400	
IgA	2,46 g/l		1:20	
IgM	< 0,178 g/l		1:20	
IgMs	0,185 g/l		1:5	
KaL	6410 mg/l	H	1:32000	h
KaL	> 15700 mg/l		1:8000	g
KaL		E	1:2000	f
KaL		E	1:400	e
KaL		E	1:100	
LaL	45,4 mg/l	H	1:100	

Ratio = 141.2

L'avantage de cette méthode, par rapport à l'immunofixation, est son **automatisation**. Elle demande cependant une expertise que les biologistes, habitués à utiliser l'immunofixation pour la caractérisation de pics monoclonaux, maîtrisent mal.

Le principal inconvénient de cette méthode découle de son principe. En effet, l'identification d'une immunoglobuline monoclonale n'est possible que si la présence de cette dernière se traduit par un pic étroit "individualisable" à l'électrophorèse, permettant "d'appliquer" une immuno-soustraction qui fera disparaître le pic étroit. Il peut y avoir un risque d'erreur, mais uniquement pour les composants de faible intensité migrant en dehors de la zone des gammaglobulines et/ou en dehors d'une "vallée". Pour notre laboratoire, uniquement certains rares cas particuliers nécessitent un complément en immunofixation en complément de l'électrophorèse capillaire de zone et l'immuno-soustraction.

E. Immunofixation

L'immunofixation permet d'identifier des immunoglobulines monoclonales dans un mélange, en fonction de leur mobilité électrophorétique. Pour permettre cette identification, on utilise des anticorps spécifiques de ces immunoglobulines.

Elle consiste au dépôt du sérum (ou de l'urine +/- concentrée) sur un gel d'agarose. Après application d'un courant électrique qui permet la séparation des protéines en fonction de leur charge, des anticorps spécifiques de chaque type d'immunoglobuline sont déposés sur le gel (antisérums anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-κ, anti-λ). Ces antisérums sont ajoutés individuellement sur chaque piste de migration lors de la suspicion d'expression d'une Ig monoclonale potentiellement vue à l'électrophorèse capillaire (Karfo et al., 2018). Ces anticorps précipitent (d'où le terme d'immunofixation) dans le gel les antigènes ciblés. On révèle ensuite les complexes formés par une étape de coloration. Il apparaît ainsi des bandes plus ou moins intenses, plus ou moins étroites sur le gel, au niveau où se situent les différentes immunoglobulines.

En cas de suspicion de présence de CLL, on peut la suspecter en cas de présence d'une bande au niveau de l'analyse d'une chaîne libre sans bande au niveau de l'analyse des chaînes lourdes G, A ou M et D ou E qui sont analysées en deuxième intention. On peut la confirmer avec une immunofixation avec un antisérum dirigé spécifiquement contre les chaînes légères libres ne reconnaissant pas les CL liées aux chaînes lourdes.

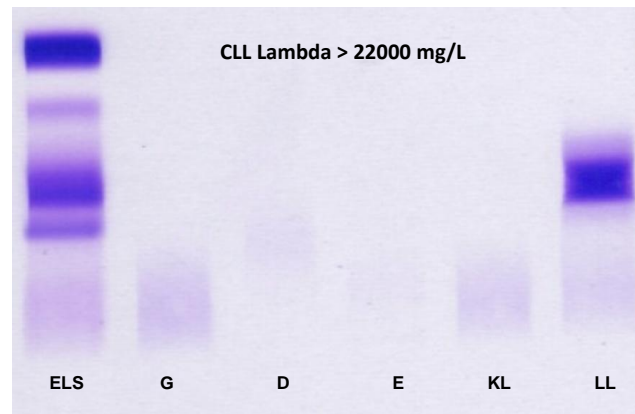


Figure 23.

Illustration d'une immunofixation d'un patient présentant une CLL L de forte abondance

L'immunofixation (Onraed et al., 2004) dans le sérum est remplacé, notamment dans les laboratoires privés par l'immunotypage, du fait sa pratique semi-automatique (4 analyses en 2h30). Elle reste la technique de caractérisation des Ig monoclonales ou oligoclonales dans les urines et le LCR.

F. Spectroscopie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse de la matière en fonction de la masse de ses constituants : particules subatomiques, atomes, molécules, macromolécules biologiques ou non, agrégats, etc. Elle offre trois fonctions principales : la séparation des constituants atomiques ou moléculaires, la mesure de leur abondance relative et la mesure précise des masses atomiques ou moléculaires. Contrairement à ce qui se passe à l'échelle macroscopique, où la gravitation sert à déterminer la masse des objets, à l'échelle atomique, c'est la masse inertielle qui est déterminée à travers un processus dynamique (Francois, n.d.).

La matière à analyser est injectée, à l'aide d'un système d'introduction, dans le vide poussé de l'appareil où la source d'ions la transforme en particules électriquement chargées : les ions. Ces derniers sont analysés en masse, à l'aide d'un système analyseur qui met en jeu des

combinaisons de champs électromagnétiques. Les ions transmis par le dispositif sont détectés, comptés, voire identifiés, à l'aide d'un détecteur. Un ordinateur pilote l'appareil, effectue l'acquisition des données réduites sous forme de spectres de masse qu'il permet d'analyser (Francois, n.d.).

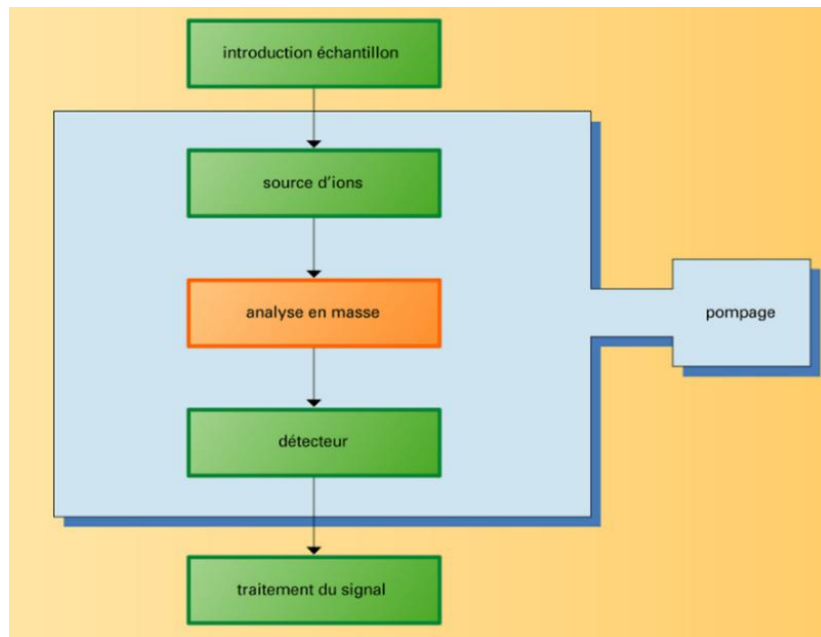


Figure 24. Principe de base d'une spectrométrie de masse

Suivant le type d'ionisation utilisé, un spectre de masse peut être caractéristique d'une molécule. Ainsi en le comparant avec le contenu de banques de spectres, il est possible d'identifier la molécule. Un spectromètre de masse est un détecteur universel et très sensible. Sa gamme linéaire va de 3 à 7 ordres de grandeur, d'où la possibilité d'obtenir une quantification fiable sur un domaine large ("Spectroscopie de Masse," n.d.) (de Pauw et al., n.d.).

Une analyse par spectroscopie de Masse couplée à une séparation électrophorétique est proposée actuellement pour caractériser automatiquement les pics monoclonaux. Il est prédit que la technique est plus sensible que l'électrophorèse capillaire pour les petits composants (Thoren, 2018). Le transfert vers une routine hospitalière nécessite un développement des entreprises du diagnostic biologique (Moreau et al., 2020).

IV. Indications du dosage des CLL

A. CLL monoclonales

1. Suspicion et suivi des pathologies lymphoprolifératives B

a) *Myélome*

Le Myélome Multiple (MM) ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne caractérisée par le développement d'un clone de plasmocytes tumoraux envahissant la moelle hématopoïétique et produisant des Ig monoclonales et/ou des CLL monoclonales.

Il représente 10% des hémopathies malignes et 1% des pathologies malignes (Angtuaco et al., 2004).

Cette pathologie a une incidence en constante augmentation chez les hommes et les femmes en France. La prolifération de plasmocytes s'accompagne généralement d'ostéolyse avec donc des atteintes cliniques osseuses (fractures, tassements osseux, douleurs) parfois révélatrices de la pathologie (80% des patients) (Niesvizky and Warrell, 1997). Ces atteintes sont très souvent accompagnées d'anémie, d'une augmentation de la vitesse de sédimentation, d'hypercalcémie, d'insuffisance rénale avec protéinurie significative et d'une immunoglobuline monoclonale.

Les complications (infection, neurologiques) peuvent être révélatrices de la pathologie.

Cette maladie peut être classée en fonction du type de chaîne lourdes (Gamma, Mu, Alpha, Epsilon, Delta) ou du type de chaînes légères (K, L). Les myélomes à IgG représenteraient 55%, à IgA 20% et ceux à CL jusqu'à 14%. Les myélomes à IgD sont plus sévères et très souvent associés et des taux très élevés de CLL mc. Les myélomes à IgM ou IgE sont exceptionnels.

Le myélome est à distinguer du MGUS (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance) qui est un état pré-myélomateux très fréquent à partir de 60 ans.

Le diagnostic différentiel est également à faire avec la maladie des chaînes lourdes (alpha ou gamma) ou on assiste à une infiltration de plasmocytes au niveau tissulaire avec production de chaînes lourdes sans CL associée.

L'étiologie est inconnue mais des facteurs de risques sont suspectées comme l'expositions aux produits chimiques comme les pesticides qui pourraient augmenter significativement

l'incidence des myélomes chez les personnes couramment exposées (Viel and Richardson, 1993). L'origine oncogénétique n'est pas à exclure.

La physiopathologie serait une diminution d'apoptose cellulaire, une production excessive de cytokines (induisant l'augmentation de l'Osteoclast activating factor) par les plasmocytes et une augmentation à la fois de la viscosité sanguine et un risque d'infection lié à l'accumulation de ces Ig monoclonales inefficaces et une diminution des Ig polyclonales.

Le diagnostic se fait d'abord en constatant un envahissement de plasmocytes au niveau médullaire mais aussi, en plus du bilan Hématologique/Biochimique de routine indiquant les anomalies classiquement retrouvées, une électrophorèse qui va servir de dépistage et suivi des dysglobulinémies. Cette méthode doit s'accompagner d'un dosage pondéral des Ig, un dosage des CLL, d'un immunotypage en électrophorèse capillaire (ou immunofixation) et d'une recherche de protéine de BENCE-JONES dans les urines et de ses éventuelles conséquences tubulaires (voir plus loin).

Introduit en 2001, le dosage des CLL sériques permet d'évaluer le risque de progression de la pathologie et la réponse au traitement (Milani et al., 2016). Il a surtout permis d'analyser les myélomes avec absence d'Ig monoclonale (myélomes non ou peu sécrétants) (Drayson et al., 2001) qui se révèlent par une production d'une CLL mc souvent de faible abondance. Le dosage des CLL est significativement corrélé à l'activité de la pathologie.

Dans le MGUS, la détection de chaînes légères d'Ig monoclonales avec modification de ratio ($<0,26$ ou $>1,65$) serait un facteur significatif de progression vers la malignité (Rajkumar et al., 2005).

Par ailleurs, le groupe de travail international révisé sur le myélome (IMWG) conseille d'utiliser la différence entre la CLL pathologique et la CLL non impliquée (iCLL/niCLL) comme biomarqueur pour le MM justifiant un traitement. Récemment, une nouvelle définition du risque d'évolution à haut risque vers le MM inclus ce rapport iCLL/niCLL.

b) Waldenstrom

Décrite pour la première fois en 1944 par le médecin suédois Jan G. Waldenstrom, la macroglobulinémie de Waldenstrom est une pathologie à lymphoplasmocytes indolente caractérisée par l'infiltration dans la moelle osseuse de cellules tumorales sécrétrices d'IgM

monoclonale. La survie à 5 ans de cette pathologie va de 87% à 36% pour les pronostics les plus sévères (Morel et al., 2009).

Le score pronostic international de la macroglobulinémie de Waldenström (ISSWM). Les critères sélectionnés (l'âge, l'hémoglobine, la Béta2macroglobuline, le nombre de plaquettes, le dosage des IgM monoclonales) sont définis avec des valeurs seuils spécifiques permettant de classer les patients.

Adverse Characteristics
Age >65 y
Hemoglobin \leq 11.5 g/dL
Platelet count \leq 100 \times 10 ⁹ /L
B ₂ -microglobulin >3 mg/L
Monoclonal IgM concentration >7.0 g/dL
Low risk: Age <65 y and 0 or 1 adverse characteristics Intermediate risk: Age >65 y or 2 adverse characteristics High risk: More than 2 adverse characteristics

Tableau regroupant les critères de classification de la maladie de Waldentrom (Score ISSWM)

Cette hémopathie reste plutôt rare en France avec une incidence nationale moyenne entre 1,21 et 4,56 cas/ 100000 habitants(regroupant gammopathie monoclonales à IgM et Waldenstrom (Alix et al., 2016). Il n'y a pas de différence d'incidence chez les hommes et les femmes mais elle est globalement plus élevée chez les personnes âgées (moyenne d'âge autour des 65 ans) (Wang et al., 2012). Cependant, l'âge avancé, le sexe masculin et les personnes de couleurs noir sont significativement associés à un mauvais pronostic (Castillo et al., 2014)

La pathologie est classée en 2 groupes : un groupe avec une prédominance d'infiltration de cellules tumorales dans la moelle osseuse et un groupe avec prédominance d'hyperviscosité (caractérisés par des céphalées, fatigue, epistaxis, neuropathies, splénomégalie, troubles

visuels voir coma). Une propriété cryoglobulinémique (Néel et al., 2014), le développement d'anémie hémolytique (agglutinines froides) et le développement d'amylose (Palladini and Merlini, 2013) ont été rapportés chez ces patients.

Des mutations de CXCR4 et de MYD88 (Ondrejka et al., 2013) sont des mutations retrouvées respectivement chez 30% et 90% des patients (Hunter et al., 2014). Le type et la combinaison de mutations ont un impact sur le pronostic du patient et l'émergence de résistance au traitement.

Au niveau biologique, on remarque une leucocytose normale ou augmentée (entre 4 et 15 G/L), une anémie (très souvent normocytaire normochrome ; une anémie hémolytique est très souvent retrouvée chez 8% des patients), les plaquettes sont normales ou abaissées. Il existe souvent une perturbation de l'hémostase primaire.

La moelle osseuse est généralement riche avec une infiltration entre 30 et 80% de LyB et plasmocytes. La VS est accélérée, la protidémie augmentée et l'analyse immunochimique révèle un pic étroit à l'électrophorèse des protéines caractérisé en immunofixation ou immunotypage.

Il faut couramment faire la différence de cette maladie avec la LLC B, la maladie des agglutinines froides, le lymphome lymphoplasmocytaire B, qui sont des lymphopathies B avec IgM et également la différencier de situation de cancers, d'infections, de collagénose ou encore de cirrhose.

L'évolution est habituellement lente et les complications sont de type thrombose, AHAI, cytopénies + infections par envahissement médullaire, complications hémorragiques.

Le progression de la maladie et la réponse au traitement sont généralement évaluées par le taux d'IgM monoclonale (Kimby et al., 2006). Les CLL apportent un complément de suivi, de pronostic et de progression précoce (lorsque les valeurs sont plus grandes de 25% de la limite supérieure des valeurs normales de chaînes légères) de l'hémopathie. Elles peuvent aider les cliniciens à distinguer les MGUS du Waldenstrom par la mesure de ces dernières dans le sérum (+ ratio K/L) (Leleu et al., 2011) et grâce à leur demi-vie courte, permet d'évaluer la réponse au traitement (chez les patients sans atteinte rénale).

Enfin , les taux de CLL sont, selon certains auteurs, significativement corrélés aux taux d'IgM monoclonales mais peuvent en plus permettre d'avoir une idée sur la progression de la pathologie (des taux initialement élevés de CLL avec progression trop rapide suite à la mise en place de traitement pourrait être un facteur de mauvais pronostic chez les patients atteints de Waldenstrom, mais cela n'a été prouvé que chez les patients Myélome multiple (van Rhee et al., 2007).

c) *La Leucémie lymphoïde chronique*

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une prolifération lymphoïde monoclonale avec infiltration médullaire, sanguine et parfois ganglionnaire. Ce sont des LyB de morphologie normale.

La LLC est beaucoup plus présente chez l'homme (3,5 cas/100000 hbts) que chez la femme (1,6 cas/100000 hbts). Elle demeure ainsi la leucémie la plus fréquemment retrouvée en France ("Cancers," n.d.). Ainsi la prévalence augmente avec l'âge (âge médian autour des 65 ans).

Les circonstances de découverte sont des adénopathies superficielles (80% des cas) mobiles, fermes, indolores et symétriques, non inflammatoires d'apparition lente. Une splénomégalie modérée et plus rarement une hépatomégalie peuvent être retrouvées. Dans d'autres cas, elle peut être révélée par des complications infectieuses ou des anémies hémolytiques auto-immunes. Il est possible de retrouver chez certains patients des formes asymptomatiques avec un pourcentage estimé à 3,5%.

Au niveau biologique, on retrouve une hyperlymphocytose sanguine classiquement supérieure à 5G/L ("Hémogramme," n.d.) et peut atteindre des chiffres faramineux (jusqu'à 200 G/L). Les PNN ont un chiffre normal mais une neutropénie peut se révéler par la suite. Le taux d'Hb peut être normal ou abaissé avec une anémie généralement normocytaire normochrome. Nous pouvons retrouver aussi une anémie hémolytique auto-immune. Le taux de plaquettes est normal ou abaissé (origine centrale ou périphérique). Au frottis sanguin, nous retrouvons cette hyper-lymphocytose avec des ombres de Gumprecht qui sont des cellules lymphoïdes cassées avec une membrane nucléaire interrompue.

La classification de cette pathologie est basée sur le score de MATUTES (Matutes et al., 1994), comprenant l'expression de 5 marqueurs (CD22,CD5,CD23,FM7,Ig de surface monotypique).

Dans une étude menée chez des patients atteints de LLC, 44% ont une CLL monoclonale et 75% ont des CL détectables en excès dans le sérum (Martin et al., 2007). La même étude retrouvée 42% des patients LLC positifs avec une protéine de Bence-Jones après concentration (sachant que la recherche de PBJ n'est pas systématiquement faite chez ces patients).

La synthèse de CLL dans la LLC dépend du degré de maturation des LyB malins et donc de la capacité à sécréter des chaînes légères et une Ig monoclonale. Lorsqu'elles sont sécrétées, le dosage des CLL serait un biomarqueur de détection précoce de cette pathologie. Une étude suggère une corrélation entre pronostic de LLC, le ratio K/L (Pratt et al., 2009) et le dosage K+L (liés à l'activité biologique des LyB malins) (Morabito et al., 2011). Cela permettrait d'identifier précocement les patients de mauvais pronostic et démarrer rapidement un traitement (Yegin et al., 2010).

2. Suspicion de maladie de dépôt de CLL

a) *Amylose immunologique*

Décrite pour la première fois en 1842 par Rokitanski et nommée en 1855 par Virchow (du fait de sa coloration en bleu-violet après mélange à l'acide sulfurique/iode), l'amylose est une pathologie secondaire au dépôt de protéines amorphes fibrillaires (conformation Béta plissée) (Grateau et al., 2005). Elle peut être constituée par différentes protéines et se déposer sur différents organes. Il existe différents types d'amylose classées en fonction du type de protéines déposées et de l'étiologie : amylose héréditaire, primitive ou secondaire. On peut retrouver une forme disséminée ou localisée, asymptomatique ou de mauvais pronostic (Bellotti et al., 2007).

L'amylose AL est la forme la plus répandue (500 cas par an en France mais généralement plus fréquemment retrouvée dans les pays industrialisés (Cazalets et al., 2003). L'âge moyen est autour de 60-65 ans. Elle est liée à la prolifération de population lymphoïde B monoclonale synthétisant des CLL : MGUS ++, Myélome, Waldenstrom, LLC ou lymphome.

Ces CLL sont endocytées par des macrophages, clivées et la partie variable des CLL sont relarguées sous une forme agrégée mal repliée qui se dépose au niveau tissulaire pour induire une pathologie inflammatoire.

L'amyloïgénicité dans l'amylose AL dépend du type de chaîne légères prédominant sachant que la chaîne L est plus amyloïdogène que la chaîne K (Gilles, 2000). Les atteintes sont multi-viscérales avec une prédominance pour le cœur et le rein.

Le diagnostic était suspecté par la présence d'une Ig monoclonale complète ou d'une CLL dans le sérum ou dans les urines. Depuis la mise en place du test de dosage des CLL, l'apport de la biologie a grandement été augmenté. Ces dosages ont amélioré le diagnostic précoce et la prise en charge rapide. Le diagnostic reste cependant basé sur l'analyse histologique (coloration au rouge Congo) et la caractérisation immunohistochimique pour détecter la présence de CLL dans les dépôts tissulaires. La présence d'un ratio K/L modifié dans le sérum peut justifier la répétition des études histologiques.

La réponse au traitement et surtout la détection d'une rechute précoce est également mesurée par le suivi quantitatif des CLL dans le sang (Abraham et al., 2003). La réponse hématologique efficace au traitement est définie par la réduction de 50% par rapport au dosage initial des CLL (corrélation entre réponse hématologique et survie prouvée par certains auteurs (Lachmann et al., 2003).

b) Syndrome de Randall

Le syndrome de Randall est une néphropathie liée au dépôt non organisé de chaînes légères, chaînes lourdes ou les deux. Histologiquement il s'agit d'un dépôt linéaire diffus continu non organisé au sein des membranes basales tubulaires, glomérulaires et vasculaires rénales.

En 1973, Antonovych décrivait déjà la présence de chaînes légères rénales qui ressemblaient à une glomérulosclérose diabétique confirmée quelques années après par Randall et son équipe (Randall et al., 1976).

La fréquence de cette maladie est mal connue mais estimée à 0,47% après analyse de 7241 biopsies par une équipe de chercheurs (Lin et al., 2001)

En termes de clinique, il existe une insuffisance rénale chronique dans 90% des cas qui serait précoce, variable en termes de sévérité, allant de la néphropathie glomérulaire jusqu'au

syndrome néphrotique en passant par une protéinurie significative dépassant les 1g/24h (albumine+ Chaîne légère libre souvent de type K). On retrouve également une hématurie et une HTA. Les localisations rénales sont possibles mais souvent asymptomatiques.

La physiopathologie de cette maladie aurait probablement deux origines : caractéristiques physico-chimique particulière de l'Ig et l'induction de matrice extracellulaire potentiellement induite par l'Ig en cause. La propriété de néphrotoxicité serait associée à une mutation au niveau du domaine variable des chaînes légères (Cogné et al., 1991) ou à un défaut de N-Glycosylation sur ce même domaine. Concernant les chaînes lourdes, il s'agirait de mutation sur le domaine CH1, CH2 ou la région charnière de l'Ig.

Comme l'amylose immunologique, le diagnostic est histologique sur biopsie rénale avec une étude par immunofluorescence avec des anticorps spécifiques d'Ig ou des chaînes légères.

Le myélome est associé dans 30-50% des cas pour les syndromes de Randall à chaîne légère et dans 17-25% des cas de syndrome de Randall à chaîne lourdes. Il faut donc rechercher un myélome lorsque cette pathologie est suspectée ou avérée (Ronco et al., 2006). Il peut également s'agir d'une MGUS (15 à 40% des cas) et dans 15-30% des cas, aucune chaîne légère ni aucune Ig n'est retrouvée dans le sang/urine par méthode électrophorèse/immunofixation. La présence concomitante de maladie de Waldenstrom ou syndrome de POEMS sont exceptionnels (Bridoux et al., n.d.).

Le dosage par des CLL et le calcul du ratio K/L permettent d'évaluer initialement l'état du patient et évaluer la réponse thérapeutique. La chaîne légère retrouvée est de type K dans 80% des cas de Randall à chaînes légères et γ pour les Randall à chaîne lourdes.

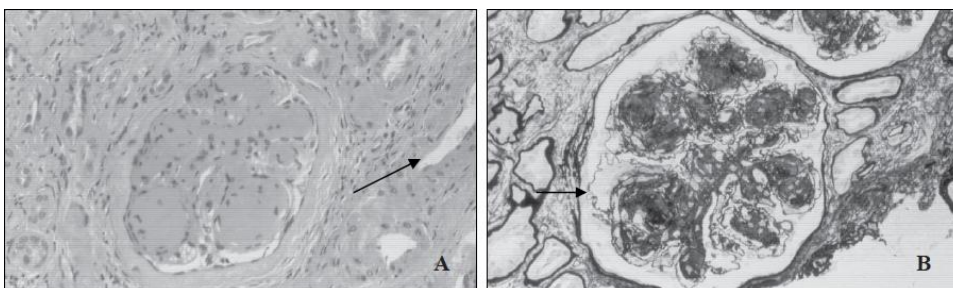


Figure 25. La glomérulosclérose au cours de la maladie de Randall (Bridoux et al.)

3. Les Neuropathies périphériques dysglobulinémiques

Ce sont des neuropathies périphériques associées à des Ig monoclonales dont 30 à 80% sont des IgM; 6-30% des IgG et 15-20% des IgA (Nobile-Orazio et al., 1992).

Une activité autoimmune de ces immunoglobulines monoclonales est très rare pour les IgG et IgA. Par contre, elle est plus fréquente en cas d'une IgM monoclonale (Nobile-Orazio et al., 1994). Ces anticorps sont dirigés contre certaines molécules des nerfs périphériques et dans 50-80% c'est une réactivité l'épitope HNK-1 de la MAG (myelin associated glycoprotein) (Kelly et al., 1988).

a) Les neuropathies anti-MAG

La MAG est une glycoprotéine associée à la myéline exprimée par les cellules de Schwann du SNP et les oligodendrocytes du SNC. Elle un rôle de molécule d'adhésion (Schachner and Bartsch, 2000), contrôlerait le diamètre axonal des neurones et maintiendrait l'intégrité structurale de la myéline. Les anticorps anti-MAG entraînent une décompaction de la myéline et donc une perturbation du transport axonal.

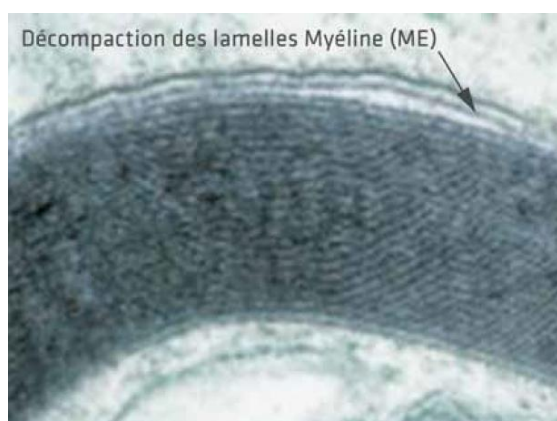


Figure 26.

Aspect en microscopie électronique de l'aspect typique de décompaction de la myéline lié au dépôt d'IgM anti-MAG ("Dysglobulinemie et neuropathies neurologies 2012.pdf," n.d.)

Au niveau clinique, on retrouve une atteinte sensitive progressive associée à une ataxie proprioceptive et souvent un tremblement d'attitude aux membres supérieurs. Une atteinte motrice est possible mais rare. Les douleurs neuropathiques sont rares. Elle débute tardivement avec des atteintes symétriques/distales et une mauvaise réponse aux traitements (Simmons et al., 1993).

Il existe une prédominance chez les hommes avec un âge de survenue entre 40 et 75 ans.

Le diagnostic repose sur l'électrophysiologie (Attarian et al., 2001), sur la mise en évidence d'IgM monoclonale à l'électrophorèse/Immunotypage/immunofixation et au dosage spécifique des anticorps anti-MAG ou anticorps anti-HNK-1 (Delmont et al., 2019) par méthode ELISA. La prise en charge thérapeutique est discutée (Ramchandren and Lewis, 2009). L'équipe a déterminé que le Rituximab pourrait être utile dans certaines formes atypiques (Gazzola et al., 2017). Aucun autre traitement n'a clairement prouvé son efficacité. Un essai thérapeutique Européen de phase I et de phase II, coordonnés par l'équipe marseillaise et promu par la société suisse Polyneuron et en cours et vise la neutralisation in vivo des autoanticorps.

b) Le canomad

Le CANOMAD pour neuropathie chronique avec ataxie, ophtalmoplégie, atteinte cutanée, IgM mc, activité agglutinine froide. Il s'agit d'une pathologie ou une IgM monoclonale avec une activité anti-ganglioside di-sialylés (groupement di-sialosyl porté par le GD1b, le GD3, le GT1b et le GQ1b) (Willison et al., 2001).

Cette pathologie concerne les hommes de 50-60 ans. Il s'agit d'une ataxie sensorielle avec douleurs neuropathiques des membres inférieurs accompagnés de paresthésies. Dans 90% des cas, une évolution lentement progressive vers des troubles de l'équilibre, un déficit moteur avec des troubles oculo-bulbaires.

Au niveau biologique, il existe une dissociation albumino-cytologique dans le LCR, une IgM monoclonale très discrète (difficile à détecter) (MGUS dans 80% des cas) et la présence d'anticorps anti-gangliosides di-sialylés.

La principale approche thérapeutique efficace est la perfusion d'IgIV (Attarian et al., 2010)

c) Le POEMS syndrome

C'est une affection multi-systémique. POEMS syndrome pour Polyneuropathie, organomégalie, endocrinopathie, composant monoclonal, atteinte cutanée. D'autres symptômes sont rapportés : Œdème papillaire, anasarque, fièvre, sueur, hippocratisme digital, atteinte rénale, oblitération artérielle, hypertension artérielle pulmonaire, thrombocytose, polyglobulie.

Il s'agit d'une maladie rare mais fortement évolutive, avec comme principal signe la présence d'une neuropathie sensitivo-motrice accompagnée d'une Ig monoclonale le plus

souvent IgG L ou IgA L, généralement en quantité faible et sans activité anticorps ni dépôt au niveau des tissus (Soubrier et al., 1994). L'Ig monoclonale est une MGUS, soit lié à un myélome ou un plasmocytome (Dispenzieri et al., 2003).

On retrouverait également constamment une augmentation du facteur VEGF. Les Interleukines IL-1 / IL-6 seraient également possiblement impliqués dans la physiopathologie sans grande certitude (Gherardi et al., 1996). On la retrouve souvent chez les hommes entre 40-50 ans avec un délai diagnostique qui est assez long (14 mois).

Au niveau biologique, sachant que la dyscrasie plasmocytaire est constante dans cette pathologie, on retrouve un pic étroit à l'électrophorèse des protéines, souvent constitué de chaînes légères. L'analyse par Immunotypage/immunofixation + recherche de chaînes légères dans les urines révèle l'Ig monoclonale quasiment toujours de type L, associée ou non à une Ig complète.

B. CLL polyclonales

1. Par défaut d'élimination (Insuffisance rénale)

Les chaînes légères sont synthétisées en excès dont certaines vont se lier aux immunoglobulines. Nous avons une synthèse de 500 mg par jour dont 1 à 10 mg sont éliminées en 24H. La survenue d'insuffisance rénale va avoir comme conséquence une augmentation de ces CLL dans le sérum.

Plusieurs études ont analysé ces CLL comme biomarqueur biologique ou comme actrices dans la pathologie.

L'augmentation de concentration des CLL est corrélée avec le degré d'insuffisance rénale (Hutchison and Landgren, 2011). L'accumulation des CLL aggrave la maladie rénale (effet cytotoxique sur les tubules proximaux par augmentation du stress oxydant) (Pote et al., 2000).

La concentration des CLL varie avec les différents types de pathologies rénales : cette concentration est plus élevée chez les patients atteints de néphropathie diabétique par rapport aux autres pathologies rénales, possiblement du fait de l'inflammation chronique retrouvées chez ces patients (van der Heijden et al., 2006).

Les valeurs normales du ratio K/L est situé entre 0,26 et 1,65. Ces valeurs du ratio doivent être modifiées chez l'insuffisant rénal pour passer à 0,37-3,1 du fait de l'augmentation de concentrations des chaînes K (élimination par le système réticulo-endothélial des chaînes chez les patients IR avec une élimination supérieur des L par rapport aux K (BRADWELL, 2005).

Une autre équipe a démontré un rôle « immunosuppresseur » des CLL. Elles inhibent les fonctions des polynucléaires neutrophiles (Cohen et al., 2001).

Enfin, chez les patients insuffisants rénaux chroniques, il existe une inflammation chronique avec le risque majeur de mortalité cardio-vasculaire. Cette inflammation chronique est en cause dans l'activation du système immunitaire et donc dans la synthèse des CLL qui vont à leur tour provoquer un stress oxydant et augmenter cette insuffisance rénale : un cercle vicieux (Hutchison et al., 2014) qui évoque que le taux de CLL chez l'insuffisant rénal puisse prédire le risque de mortalité chez ces patients.

2. Par excès de production (Maladies autoimmunes et inflammatoires)

Comme mentionné dans la partie précédente, le syndrome inflammatoire et l'activation du système immunitaire (dont l'immunité adaptative) va avoir pour conséquence une synthèse accrue de CLL. Cette synthèse est corrélée avec la progression et la sévérité des maladies inflammatoires (Thio et al., 2008). Leur rôle exact dans l'inflammation n'est pas exactement connu mais plusieurs hypothèses sont proposées :

- activité anti-angiogénique (Boivin et al., 2004),
- activité prothrombinase (Thiagarajan et al., 2000),
- action protéolytique (Sun et al., 1994),
- activation du Complément (Jokiranta et al., 1999),
- interaction avec des facteurs chimiotactiques (Edmundson and Ely, 1985),
- liaison à des peptides opioïdes (Edmundson et al., 1987).

Elles pourraient aussi induire l'activation des mastocytes (leur dégranulation est associée aux maladies inflammatoires chroniques avec relargage de médiateurs pro-inflammatoires) (Theoharides et al., 2007). Les mastocytes sont associées par exemple aux pathologies allergiques (asthme, rhinite non allergique), pathologies inflammatoires intestinales

(l'activité inflammatoire intestinal a été significativement réduite par un antagoniste de chaînes légères dans un model expérimental (Thio et al., 2008).

La cinétique des CLL a été comparée à celle de la CRP dans l'inflammation chronique. On observe cependant une faible corrélation entre les deux paramètres avec une grande différence sur leur cinétique (Burmeister et al., 2014).

Les taux de CLL sont augmentées dans les maladies auto-immunes (Gottenberg et al., 2007) et sont le reflet de l'activité des clones B auto-immuns. La concentration des CLL mais pas celle des Ig est corrélée avec l'activité des maladies autoimmunes. Ce seraient des marqueurs pronostiques, prédictifs du risque d'hospitalisation pour les patients lupiques (Jolly et al. 2010)) et indicateurs de la réponse aux traitements (Napodano et al., 2019).

3. Encéphalites et méningoencéphalites

Le diagnostic des encéphalites et méningoencéphalites autoimmunes, inflammatoires ou infectieuses est basé sur la mise en évidence d'une synthèse intra-thécale (SIT) d'Ig.

Cette SIT est illustrée par la présence d'une oligoclonalité des IgG, soit avec une analyse en immunofixation, soit avec une analyse avec la technique d'isoélectrofocalisation.

Dans les laboratoires spécialisés, comme celui de l'AP-HM, l'analyse porte également sur l'analyse de la migration des IgA, des IgM et/ou des chaînes légères K ou L.

Les analyses de séparation électrophorétiques sont basées sur le dosage des différentes Ig et de l'albumine. L'interprétation peut être orientée par les calculs d'index rapportant le ratio LCR/sérum de l'immunoglobuline considérée sur le ratio LCR/sérum de l'Albumine. Si les index IgG, IgA et IgM sont peu sensibles (65%) et parfois non spécifiques pour la présence d'une SIT, le laboratoire d'Immunologie démontré l'intérêt des Index CLL K et CLL L pour le diagnostic d'une SIT (Desplat-Jego et al., 2005). Depuis 2014, ce test a été introduit en routine. Des données de la littérature confirment l'intérêt diagnostique de ces index CLL K et CLL L (Senel et al., 2019). Au laboratoire d'immunologie, une analyse rétrospective sur 3000 couples LCR/sérum avec des données cliniques validées démontre qu'un index K libre > à la valeur de 9 est sensible à 94 % et spécifique à 100% pour le diagnostic d'une Sclérose en Plaques (résultats en soumission).

Du fait que l'exploration est réalisable en 1h, le clinicien peut ainsi disposer d'une information très rapide concernant une SIT d'Ig, contrairement à ce qui était nécessaire pour la réalisation des techniques électrophorétiques. Il faut aussi noter que les techniques de séparation électrophorétique sont lourdes et coûteuses et surtout différentes entre les laboratoires qui utilisent soit des techniques commerciales soit des techniques « maisons ».

V. Objectif du mémoire de DES de biologie médicale

La mesure des CLL sériques est désormais un examen de routine pour le diagnostic et le suivi du myélome multiple (MM). Il est proposé pour d'autres pathologies lymphoprolifératives.

Cette exploration présente un intérêt majeur pour le diagnostic et le suivi des amyloses immunologiques.

L'intérêt en routine existe enfin dans d'autres situations médicales avec augmentation polyclonale des CLL et notamment pour l'analyse comparée sérum/LCR pour le diagnostic des pathologies inflammatoires, autoimmunes ou infectieuses du SNC.

Les recommandations internationales pour le MM et les données pour les autres pathologies sont uniquement basées sur **une** méthode de dosage, le dosage Freelite Binding Site.

Aujourd'hui, deux tests supplémentaires, N Latex FLC (Siemens) et Sebia FLC par ELISA, sont disponibles. Le test SEBIA est disponible depuis peu et la société a fait appel au laboratoire d'Immunologie pour en étudier l'intérêt notamment pour l'exploration des couples LCR/sérum.

Une récente publication, basée uniquement sur une faible cohorte de MM (47 avec suivi) avec des taux élevés de CLL, réalisée dans un seul laboratoire, discute les résultats des trois différents tests de dosage des CLL et les implications potentielles pour le diagnostic et l'utilisation clinique (Schieferdecker et al., 2020). Cette analyse comparative a montré des résultats similaires pour le dosage des CLL entre le test Sebia et le test N Latex Test. Cependant, les valeurs absolues étaient nettement plus faibles pour le ratio CLL K/ CLL L par rapport à Freelite. L'analyse du rapport iCLL/niCLL a montré également des divergences significatives entre ces essais.

Ainsi les trois tests disponibles peuvent donner des résultats très différents et ne doivent pas être utilisés de manière interchangeable pour surveiller les patients. Il faut donc adapter les seuils de diagnostic pour chaque application médicale.

Dans l'hypothèse, ou, pour des raisons économiques, scientifiques ou organisationnelles, le laboratoire d'Immunologie souhaiterait changer de fournisseur, il est indispensable, dans un premier temps, de valider ces méthodes en routine, d'établir de nouvelles normes internes et, **à plus long terme**, d'évaluer la sensibilité et la spécificité diagnostique des tests SEBIA par rapport à ceux de la société Binding Site, notamment pour l'analyse du LCR, domaine spécifique de compétence du laboratoire.

L'objectif de mon mémoire de DES sera celui de réaliser la comparaison de méthodes sur une large cohorte en prospectif sur des prélèvements frais, non congelés, de sérum et de LCR pour s'affranchir d'éventuels biais pré-analytiques.

Je présente dans ce document de thèse d'exercice quelques résultats préliminaires.

VI. Résultats préliminaires

Nous avons comparé les valeurs obtenues sur l'OPTILITE et les valeurs en ELISA avec la technique SEBIA de 90 couples LCR/sérum. Il n'existe pas dans la série de patient avec une CLL monoclonale sérique. Comme illustré sur la figure ci-après, la corrélation entre les 2 tests, que ce soit pour les tests CLL K ou CLL L est faible. Quelques données de la littérature indiqueraient que le test Binding Site surévaluerait la quantité de CLL monoclonale par rapport à la concentration réelle (indirectement visualisable en électrophorèse pour quelques cas de CLL monoclonales) par rapport au test ELISA. La comparaison des 2 méthodes ne confirme pas ces informations pour les CLL polyclonales puisque j'observe à la fois des discordances dans les 2 sens.

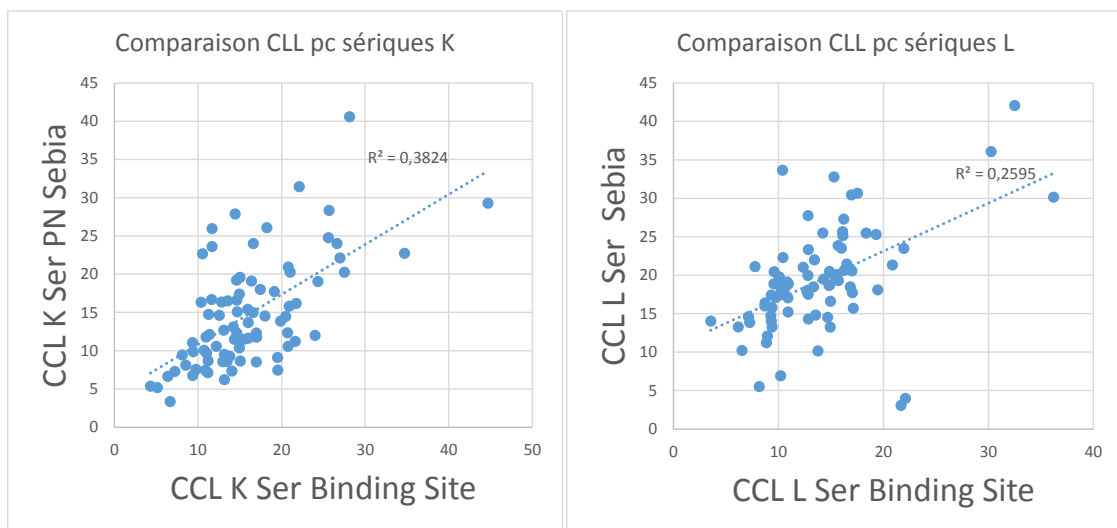


Figure 27. Comparaison de valeurs de CLL polyclonales sériques

Concernant l'analyse des LCR, les seuils inférieurs de sensibilité des tests sur l'OPTILITE sont de 0,33 mg/L pour les CLL K et 0,74 mg/L pour les CLL L pour les échantillons purs. En ELISA, le seuil inférieur est de 0,1 mg/L pour une dilution au 1/50. Il est possible de descendre plus bas, mais cela n'a pas d'intérêt médical. La comparaison de méthode ne peut donc porter que sur une partie des dossiers et le nombre de valeurs obtenues en ELISA est supérieur à celui obtenu sur l'OPTILITE. Les données en bleu sont disponibles pour les 2. Les données uniquement SEBIA sont notées en orange sur les graphes. Pour les valeurs disponibles, il existe également des différences, mais les corrélations semblent meilleures par rapport à celles observées dans le sérum. Il est nécessaire cependant d'augmenter le nombre

d'analyses. Ceci pourrait évoquer pour les dosages soit en turbidimétrie, soit en ELISA un problème d'effet « matrice » pour le dosage dans le sérum absent dans le LCR, milieu pauvre en protéines. Par comparaison, du fait de leur petite taille, les taux dans le LCR de CLL représentent environ 10% des taux sériques, alors que la concentration des IgG est 500 fois inférieure dans le LCR par rapport à la concentration sérique.

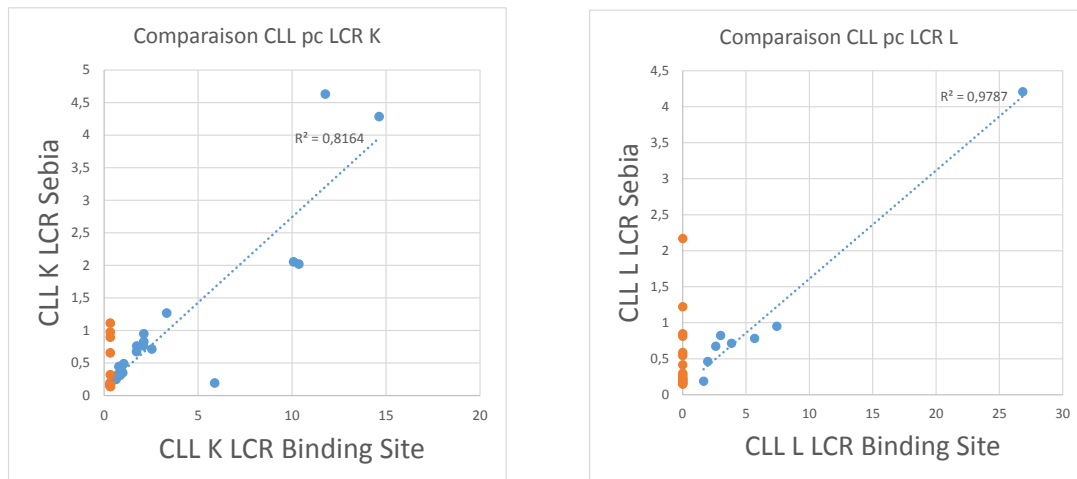


Figure 28. Comparaison de valeurs de CLL polyclonales du LCR

Enfin, nous avons comparé des valeurs obtenues dans le sérum en cas de présence de CLL monoclonales dans le sérum, K ou L. On s'attendait, comme précédemment dit, à une surélévation par la technique en turbidimétrie par rapport à l'ELISA. On observe en fait une dispersion des données, comme pour l'analyse des CLL polyclonales, avec des valeurs plus élevées avec une technique ou l'autre technique. Les différences sont plus marquées pour l'analyse des CLL L que celle des CLL K.

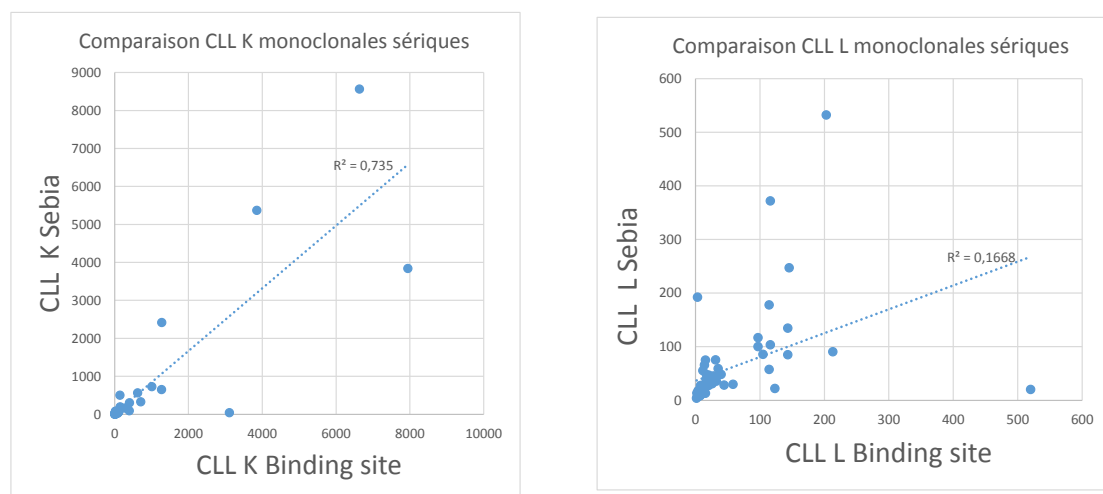


Figure 29. Comparaison de valeurs de CLL monoclonales sériques

VII. Conclusion et perspectives

L'exploration des CLL K et L fait partie du bilan de routine du diagnostic et du suivi de pathologies lymphoprolifératives, auto-immunes, et inflammatoires.

La société Binding Site, leader depuis des années, est désormais concurrencée par 2 autres sociétés dans ce domaine.

Un partenariat avec la Société SEBIA, qui nous fournit toutes les trousse nécessaires, nous permet de réaliser un travail de comparaison de méthodes.

Les résultats préliminaires montrent de claires différences de valeurs entre les valeurs TBS sur OPTILITE et les valeurs SEBIA. Il est très probable que cette observation soit confirmée sur l'analyse plus large en cours de réalisation (entre 500 et 700 couples LCR/sérum et 200 sérums avec des CLL monoclonales).

Ces observations appellent plusieurs commentaires et perspectives.

Quelle est la technique qui corrèle le mieux avec la quantité réelle de CLL ?

Il peut être proposé de focaliser l'analyse sur les quelques cas avec des CLL abondantes, visibles sur l'électrophorèse et/ou l'immunotypage. Il faudra cependant prendre en compte que les CLL sont des petites protéines qui n'absorbent peu la lumière et ont des propriétés tinctoriales faibles influençant ainsi la quantification après séparation.

Quel est l'impact des différents niveaux de polymérisation dans le sérum (ou dans les urines) sur les dosages par les différentes techniques ?

On pourrait analyser, par chromatographie d'exclusion, les niveaux de polymérisation dans le sérum et rechercher l'impact du niveau de polymérisation sur les dosages. Dans les urines, il est plus facile de visualiser des CLL monomériques et polymérisées.

Quelle est la technique la plus sensible et spécifique pour le diagnostic des amyloses immunologiques et des encéphalites (témoin d'une SIT d'Ig dans le LCR) ?

Ceci ne peut être réalisé qu'après avoir validé, sur une grande cohorte de sujets sains pour le sérum ou sans pathologie inflammatoire du SNC pour le LCR, les valeurs normales pour l'ELISA Sebia en ensuite analysé des grandes cohortes validées cliniquement.

Il est, cependant, indispensable (ce que promeut, sur un plan commercial, la société The Binding Site), de ne pas changer de technique pour le suivi des CLL.

VIII. Bibliographie

- Abraham, R.S., Katzmann, J.A., Clark, R.J., Bradwell, A.R., Kyle, R.A., Gertz, M.A., 2003. Quantitative Analysis of Serum Free Light Chains A New Marker for the Diagnostic Evaluation of Primary Systemic Amyloidosis. *Am J Clin Pathol* 119, 274–278. <https://doi.org/10.1309/LYWM47K2L8XYFFB3>
- Alix, L., Decaux, O., Moreau, C., Viel, J.F., Schmitt, F., Seguret, F., Jegou, P., 2016. Répartition et épidémiologie des gammopathies monoclonales en France : prévalence plus importante d'IgM et de maladie de Waldenström dans l'Ouest de la France. *La Revue de Médecine Interne*, 74^{eme} congrès français de médecine interne, Deauville - 8-10 décembre 2016 37, A62–A63. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2016.10.010>
- Angtuaco, E.J.C., Fassas, A.B.T., Walker, R., Sethi, R., Barlogie, B., 2004. Multiple Myeloma: Clinical Review and Diagnostic Imaging. *Radiology* 231, 11–23. <https://doi.org/10.1148/radiol.2311020452>
- Arnold, J.N., Wormald, M.R., Sim, R.B., Rudd, P.M., Dwek, R.A., 2007. The Impact of Glycosylation on the Biological Function and Structure of Human Immunoglobulins. *Annual Review of Immunology* 25, 21–50. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141702>
- Attarian, S., Azulay, J.P., Boucraut, J., Escande, N., Pouget, J., 2001. Terminal latency index and modified F ratio in distinction of chronic demyelinating neuropathies. *Clin Neurophysiol* 112, 457–463. [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(01\)00469-2](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(01)00469-2)
- Attarian, S., Boucraut, J., Hubert, A.M., Uzenot, D., Delmont, E., Verschueren, A., Franques, J., Azulay, J.P., Pouget, J., 2010. Chronic ataxic neuropathies associated with anti-GD1b IgM antibodies: response to IVIg therapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81, 61–64. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.185736>
- Bankovich, A.J., Raunser, S., Juo, Z.S., Walz, T., Davis, M.M., Garcia, K.C., 2007. Structural Insight into Pre-B Cell Receptor Function. *Science* 316, 291–294. <https://doi.org/10.1126/science.1139412>
- Bellotti, V., Nuvolone, M., Giorgetti, S., Obici, L., Palladini, G., Russo, P., Lavatelli, F., Perfetti, V., Merlini, G., 2007. The workings of the amyloid diseases. *Annals of Medicine* 39, 200–207. <https://doi.org/10.1080/07853890701206887>
- Bengtén, E., Wilson, M., Miller, N., Clem, L.W., Pilström, L., Warr, G.W., 2000. Immunoglobulin Isotypes: Structure, Function, and Genetics, in: Du Pasquier, L., Litman, G.W. (Eds.), *Origin and Evolution of the Vertebrate Immune System, Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 189–219. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59674-2_9
- Boackle, R.J., Johnson, B.J., Caughman, G.B., 1979. An IgG primary sequence exposure theory for complement activation using synthetic peptides. *Nature* 282, 742–743. <https://doi.org/10.1038/282742a0>

- Boivin, D., Provençal, M., Gendron, S., Ratel, D., Demeule, M., Gingras, D., Béliveau, R., 2004. Purification and characterization of a stimulator of plasmin generation from the antiangiogenic agent Neovastat: identification as immunoglobulin kappa light chain. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 431, 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.08.022>
- BRADWELL, AR., 2005. Biology of immunoglobulin light chains. Serum free light chain analysis.
- Bridoux, F., Desport, E., Thierry, A., Touchard, G., n.d. *Maladies de dépôt d'immunoglobulines monoclonales de type Randall* 16.
- Burmeister, A., Assi, L.K., Ferro, C.J., Hughes, R.G., Barnett, A.H., Bellary, S., Cockwell, P., Pratt, G., Hutchison, C.A., 2014. The relationship between high-sensitivity CRP and polyclonal Free Light Chains as markers of inflammation in chronic disease. *International Journal of Laboratory Hematology* 36, 415–424. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12159>
- Cancers [WWW Document], n.d. URL /maladies-et-traumatismes/cancers (accessed 11.27.20).
- CARDIN, L., DEVERGNE, J.-C., Pitrat, M., 1984. Dosage immunoenzymatique (ELISA) du virus de la mosaïque du concombre. I. Aspect méthodologique. *Agronomie* 4, 125–135.
- Castillo, J.J., Olszewski, A.J., Cronin, A.M., Hunter, Z.R., Treon, S.P., 2014. Survival trends in Waldenström macroglobulinemia: an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *Blood* 123, 3999–4000. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-574871>
- Cavacini, L.A., Kuhrt, D., Duval, M., Mayer, K., Posner, M.R., 2003. Binding and Neutralization Activity of Human IgG1 and IgG3 from Serum of HIV-Infected Individuals. *AIDS Research and Human Retroviruses* 19, 785–792. <https://doi.org/10.1089/088922203769232584>
- Cazalets, C., Cador, B., Mauduit, N., Decaux, O., Ramée, M.-P., Le Pogamp, P., Laurent, M., Jegou, P., Grosbois, B., 2003. Épidémiologie descriptive des amyloses diagnostiquées au CHU de Rennes de 1995 à 1999. *La Revue de Médecine Interne* 24, 424–430. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(03\)00136-X](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(03)00136-X)
- Chiche, L., Cournac, J.M., Mancini, J., Bardin, N., Thomas, G., Jean, R., Schleinitz, N., Kaplanski, G., Durand, J.M., Boucraut, J., Harlé, J.R., 2011. Normalization of serum-free light chains in patients with systemic lupus erythematosus upon rituximab treatment and correlation with biological disease activity. *Clin Rheumatol* 30, 685–689. <https://doi.org/10.1007/s10067-010-1674-1>
- Cogné, M., Preud'homme, J.L., Bauwens, M., Touchard, G., Aucouturier, P., 1991. Structure of a monoclonal kappa chain of the V kappa IV subgroup in the kidney and plasma cells in light chain deposition disease. *J Clin Invest* 87, 2186–2190. <https://doi.org/10.1172/JCI115252>
- Cohen, G., Rudnicki, M., Hörl, W.H., 2001. Uremic toxins modulate the spontaneous apoptotic cell death and essential functions of neutrophils. *Kidney International* 59, S48–S52. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.59780048.x>
- de Pauw, E., Schmitter, J.M., Longhi, S., Dangles, O., Cheynier, V., Sarni-Manchado, P., n.d. Contribution de la spectrométrie de masse à l'étude des interactions entre les protéines salivaires riches en proline et les tanins 272.

- Delmont, E., Attarian, S., Antoine, J.-C., Paul, S., Camdessanché, J.P., Grapperon, A.-M., Brodovich, A., Boucraut, J., 2019. Relevance of anti-HNK1 antibodies in the management of anti-MAG neuropathies. *J Neurol* 266, 1973–1979. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09367-0>
- Desplat-Jego, S., Feuillet, L., Pelletier, J., Bernard, D., Cherif, A.A., Boucraut, J., 2005. Quantification of immunoglobulin free light chains in cerebrospinal fluid by nephelometry. *J Clin Immunol* 25, 338–345. <https://doi.org/10.1007/s10875-005-5371-9>
- Dispenzieri, A., Kyle, R.A., Lacy, M.Q., Rajkumar, S.V., Therneau, T.M., Larson, D.R., Greipp, P.R., Witzig, T.E., Basu, R., Suarez, G.A., Fonseca, R., Lust, J.A., Gertz, M.A., 2003. POEMS syndrome: definitions and long-term outcome Presented in abstract form at the 41st annual meeting of the American Society of Hematology, New Orleans, LA, December 3-7, 1999. *Blood* 101, 2496–2506. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2299>
- Drayson, M., Tang, L.X., Drew, R., Mead, G.P., Carr-Smith, H., Bradwell, A.R., 2001. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 97, 2900–2902. <https://doi.org/10.1182/blood.V97.9.2900>
- Dudley, D.D., Chaudhuri, J., Bassing, C.H., Alt, Frederick W., 2005. Mechanism and Control of V(D)J Recombination versus Class Switch Recombination: Similarities and Differences, in: Alt, Frderick W. (Ed.), *Advances in Immunology*. Academic Press, pp. 43–112. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(04\)86002-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(04)86002-4)
- Dysglobulinemie et neuropathies neurologies 2012.pdf, n.d.
- Edmundson, A.B., Ely, K.R., 1985. Binding of N-formylated chemotactic peptides in crystals of the Mcg light chain dimer: Similarities with neutrophil receptors. *Molecular Immunology* 22, 463–475. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(85\)90131-2](https://doi.org/10.1016/0161-5890(85)90131-2)
- Edmundson, A.B., Ely, K.R., Herron, J.N., Cheson, B.D., 1987. The binding of opioid peptides to the Mcg light chain dimer: Flexible keys and adjustable locks. *Molecular Immunology* 24, 915–935. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(87\)90003-4](https://doi.org/10.1016/0161-5890(87)90003-4)
- ELISA_Handbook.pdf, n.d.
- Feuilleley, M.G.J., Merieau, A., Orange, N., 1999. Applications bio-médicales de l'électrophorèse capillaire. Bio-medical applications of capillary electrophoresis. <https://doi.org/10.4267/10608/1285>
- Francois, Y., n.d. Spectrométrie de masse SM 86.
- Gazzola, S., Delmont, E., Franques, J., Boucraut, J., Salort-Campana, E., Verschueren, A., Sagui, E., Hubert, A.-M., Pouget, J., Attarian, S., 2017. Predictive factors of efficacy of rituximab in patients with anti-MAG neuropathy. *J Neurol Sci* 377, 144–148. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.04.015>
- Geisberger, R., Lamers, M., Achatz, G., 2006. The riddle of the dual expression of IgM and IgD. *Immunology* 118, 429–437. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02386.x>
- Gergely, J., Sármay, G., Rozsnyay, Z., Stanworth, D.R., Klein, E., 1986. Binding characteristics and isotype specificity of Fc receptors on K cells. *Molecular Immunology, Special Issue Signals and Signal Processing-IV. Antigen Specific and Other Immune Regulatory Circuits and Networks* 23, 1203–1209. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(86\)90152-5](https://doi.org/10.1016/0161-5890(86)90152-5)

- Gherardi, R.K., Belec, L., Soubrier, M., Malapert, D., Zuber, M., Viard, J.P., Intrator, L., Degos, J.D., Authier, F.J., 1996. Overproduction of proinflammatory cytokines imbalanced by their antagonists in POEMS syndrome. *Blood* 87, 1458–1465. <https://doi.org/10.1182/blood.V87.4.1458.bloodjournal8741458>
- Gilles, G., 2000. Physiopathologie des amyloses. *Revue du Rhumatisme* 67, 189–196. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(00\)80029-0](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(00)80029-0)
- Gottenberg, J.-E., Aucouturier, F., Goetz, J., Sordet, C., Jahn, I., Busson, M., Cayuela, J.-M., Sibilia, J., Mariette, X., 2007. Serum immunoglobulin free light chain assessment in rheumatoid arthritis and primary Sjögren's syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases* 66, 23–27. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.052159>
- Grateau, G., Verine, J., Delpech, M., Ries, M., 2005. Les amyloses, un modèle de maladie du repliement des protéines. *Med Sci (Paris)* 21, 627–633. <https://doi.org/10.1051/medsci/2005216-7627>
- Halpern, B., 1971. Structure et fonction des immunoglobulines γ G. *Revue Française d'Allergologie* 11, 51–66. [https://doi.org/10.1016/S0035-2845\(71\)80007-0](https://doi.org/10.1016/S0035-2845(71)80007-0)
- Hémogramme : Indications et Interprétation1 Item n° 316 - Santé Et Remise En Forme [WWW Document], n.d. . doczz.fr. URL <http://doczz.fr/doc/3575296/h%C3%A9mogramme---indications-et-interpr%C3%A9tation1-item-n%C2%B0-316> (accessed 11.27.20).
- Honjo, T., 1983. Immunoglobulin Genes. *Annual Review of Immunology* 1, 499–528. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.01.040183.002435>
- Hornbeck, P.V., 2015. Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. *Current Protocols in Immunology* 110. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im0201s110>
- Hunter, Z.R., Xu, L., Yang, G., Zhou, Y., Liu, X., Cao, Y., Manning, R.J., Tripsas, C., Patterson, C.J., Sheehy, P., Treon, S.P., 2014. The genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood* 123, 1637–1646. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-525808>
- Hutchison, C.A., Burmeister, A., Harding, S.J., Basnayake, K., Church, H., Jesky, M.D., White, K., Green, C.E., Stringer, S.J., Bassett, P., Ferro, C.J., Cockwell, P., 2014. Serum Polyclonal Immunoglobulin Free Light Chain Levels Predict Mortality in People With Chronic Kidney Disease. *Mayo Clinic Proceedings* 89, 615–622. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.01.028>
- Hutchison, C.A., Landgren, O., 2011. Polyclonal Immunoglobulin Free Light Chains as a Potential Biomarker of Immune Stimulation and Inflammation. *Clin Chem* 57, 1387–1389. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.169433>
- Jahn, I., Diez, G., Goetz, J., n.d. Apport de l'électrophorèse capillaire et du dosage des chaînes légères libres dans l'exploration des immunoglobulines : le point de vue de l'immunologiste Contribution of capillary zone electrophoresis and serum free light chain immunoassays in the exploration of immunoglobulins: Immunologist point of view 9.
- Jefferis, R., Lefranc, M.-P., 2009. Human immunoglobulin allotypes. *MAbs* 1, 332–338.

- Jenkins, M.A., Kulinskaya, E., Martin, H.D., Guerin, M.D., 1995. Evaluation of serum protein separation by capillary electrophoresis: prospective analysis of 1000 specimens. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 672, 241–251. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00224-7](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00224-7)
- Jokiranta, T.S., Solomon, A., Pangburn, M.K., Zipfel, P.F., Meri, S., 1999. Nephritogenic λ Light Chain Dimer: A Unique Human Mini-autoantibody Against Complement Factor H. *The Journal of Immunology* 163, 4590–4596.
- Jorgenson, J.W., Lukacs, K.D., 1983. Capillary zone electrophoresis. *Science* 222, 266–274.
- Karfo, R., Kabré, E., Safir, N., Bouabdellah, M., Bencheikroun, L., Sakandé, J., Chabraoui, L., 2018. Interprétation délicate de l'immunofixation des protéines sériques. *Pan Afr Med J* 30. <https://doi.org/10.11604/pamj.2018.30.130.13662>
- Katzmann, J.A., Clark, R., Sanders, E., Landers, J.P., Kyle, R.A., 1998. Prospective Study of Serum Protein Capillary Zone Electrophoresis and Immunotyping off Monoclonal Proteins by Immunosubtraction. *Am J Clin Pathol* 110, 503–509. <https://doi.org/10.1093/ajcp/110.4.503>
- Kawasaki, K., Minoshima, S., Nakato, E., Shibuya, K., Shintani, A., Schmeits, J.L., Wang, J., Shimizu, N., 1997. One-megabase sequence analysis of the human immunoglobulin lambda gene locus. *Genome Res.* 7, 250–261. <https://doi.org/10.1101/gr.7.3.250>
- Kelly, J.J., Adelman, L.S., Berkman, E., Bhan, I., 1988. Polyneuropathies associated with IgM monoclonal gammopathies. *Arch Neurol* 45, 1355–1359. <https://doi.org/10.1001/archneur.1988.00520360073015>
- Kim, J.W., Park, J.H., Park, J.W., Doh, H.J., Heo, G.S., Lee, K.J., 1993. Quantitative analysis of serum proteins separated by capillary electrophoresis. *Clin Chem* 39, 689–692. <https://doi.org/10.1093/clinchem/39.4.689>
- Kimby, E., Treon, S.P., Anagnostopoulos, A., Dimopoulos, M., Garcia-Sanz, R., Gertz, M.A., Johnson, S., LeBlond, V., Feraud, J.-P., Maloney, D.G., Merlini, G., Morel, P., Morra, E., Nichols, G., Ocio, E.M., Owen, R., Stone, M., Bladé, J., 2006. Update on Recommendations for Assessing Response from the Third International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Clinical Lymphoma and Myeloma* 6, 380–383. <https://doi.org/10.3816/CLM.2006.n.013>
- Koshland, M.E., 1975. Structure and Function of the J Chain, in: *Advances in Immunology*. Elsevier, pp. 41–69. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(08\)60206-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60206-0)
- Lachmann, H.J., Gallimore, R., Gillmore, J.D., Carr-Smith, H.D., Bradwell, A.R., Pepys, M.B., Hawkins, P.N., 2003. Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *British Journal of Haematology* 122, 78–84. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04433.x>
- Lee, H.Y., Atlasevich, N., Granzotto, C., Schultz, J., Loike, J., Arslanoglu, J., 2015. Development and application of an ELISA method for the analysis of protein-based binding media of artworks. *Anal. Methods* 7, 187–196. <https://doi.org/10.1039/C4AY01919A>

- Leleu, X., Xie, W., Bagshaw, M., Banwait, R., Leduc, R., Roper, N., Weller, E., Ghobrial, I.M., 2011. The Role of Serum Immunoglobulin Free Light Chain in Response and Progression in Waldenstrom Macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 17, 3013–3018. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2954>
- Lin, J., Markowitz, G.S., Valeri, A.M., Kambham, N., Sherman, W.H., Appel, G.B., D’Agati, V.D., 2001. Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: the disease spectrum. *J Am Soc Nephrol* 12, 1482–1492.
- Martin, W., Abraham, R., Shanafelt, T., Clark, R.J., Bone, N., Geyer, S.M., Katzmann, J.A., Bradwell, A., Kay, N.E., Witzig, T.E., 2007. Serum-free light chain—a new biomarker for patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Translational Research* 149, 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2006.11.001>
- Matutes, E., Owusu-Ankomah, K., Morilla, R., García-Marco, J., Houlihan, A., Que, T.H., Catovsky, D., 1994. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K* 8, 1640–5.
- Merlini, G., Dispenzieri, A., Sanchorawala, V., Schönland, S.O., Palladini, G., Hawkins, P.N., Gertz, M.A., 2018. Systemic immunoglobulin light chain amyloidosis. *Nature Reviews Disease Primers* 4, 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0034-3>
- Milani, P., Palladini, G., Merlini, G., 2016. Serum-free light-chain analysis in diagnosis and management of multiple myeloma and related conditions. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 76, S113–S118. <https://doi.org/10.1080/00365513.2016.1210337>
- Morabito, F., De Filippi, R., Laurenti, L., Zirlik, K., Recchia, A.G., Gentile, M., Morelli, E., Vigna, E., Gigliotti, V., Calemma, R., Amoroso, B., Neri, A., Cutrona, G., Ferrarini, M., Molica, S., Del Poeta, G., Tripodo, C., Pinto, A., 2011. The cumulative amount of serum-free light chain is a strong prognosticator in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 118, 6353–6361. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-345587>
- Moreau, C., Lefevre, C.R., Decaux, O., 2020. How to quantify monoclonal free light chains in plasma cell disorders: which mass spectrometry technology? *Ann Transl Med* 8. <https://doi.org/10.21037/atm.2020.03.200>
- Morel, P., Duhamel, A., Gobbi, P., Dimopoulos, M.A., Dhodapkar, M.V., McCoy, J., Crowley, J., Ocio, E.M., Garcia-Sanz, R., Treon, S.P., Leblond, V., Kyle, R.A., Barlogie, B., Merlini, G., 2009. International prognostic scoring system for Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 113, 4163–4170. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-08-174961>
- Napodano, C., Pocino, K., Rigante, D., Stefanile, A., Gulli, F., Marino, M., Basile, V., Rapaccini, G.L., Basile, U., 2019. Free light chains and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 18, 484–492. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.03.003>
- Néel, A., Perrin, F., Decaux, O., Dejoie, T., Tessoulin, B., Halliez, M., Mahé, B., Lamy, T., Fakhouri, F., Jegou, P., Agard, C., Vigneau, C., Guenet, L., Grosbois, B., Moreau, P., Hamidou, M., 2014. Long-term outcome of monoclonal (type 1) cryoglobulinemia. *American Journal of Hematology* 89, 156–161. <https://doi.org/10.1002/ajh.23608>

- Neuberger, M.S., Williams, G.T., Mitchell, E.B., Jouhal, S.S., Flanagan, J.G., Rabbitts, T.H., 1985. A hapten-specific chimaeric IgE antibody with human physiological effector function. *Nature* 314, 268–270. <https://doi.org/10.1038/314268a0>
- Niesvizky, R., Warrell, R.P., 1997. Pathophysiology and Management of Bone Disease in Multiple Myeloma. *Cancer Investigation* 15, 85–90. <https://doi.org/10.3109/07357909709018921>
- Nimmerjahn, F., Ravetch, J.V., 2007. Fc-Receptors as Regulators of Immunity, in: *Advances in Immunology*. Academic Press, pp. 179–204. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(07\)96005-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(07)96005-8)
- Nobile-Orazio, E., Barbieri, S., Baldini, L., Marmioli, P., Carpo, M., Premoselli, S., Manfredini, E., Scarlato, G., 1992. Peripheral neuropathy in monoclonal gammopathy of undetermined significance: prevalence and immunopathogenetic studies. *Acta Neurol Scand* 85, 383–390. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1992.tb06033.x>
- Nobile-Orazio, E., Manfredini, E., Carpo, M., Meucci, N., Monaco, S., Ferrari, S., Bonetti, B., Cavaletti, G., Gemignani, F., Durelli, L., Barbieri, S., Allaria, S., Sgarzi, M., Scarlato, G., 1994. Frequency and clinical correlates of anti-neural IgM antibodies in neuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Annals of Neurology* 36, 416–424. <https://doi.org/10.1002/ana.410360313>
- Ondrejka, S.L., Lin, J.J., Warden, D.W., Durkin, L., Cook, J.R., Hsi, E.D., 2013. MYD88 L265P Somatic Mutation Its Usefulness in the Differential Diagnosis of Bone Marrow Involvement by B-Cell Lymphoproliferative Disorders. *Am J Clin Pathol* 140, 387–394. <https://doi.org/10.1309/AJCP10ZCLFZGYZIP>
- Onraed, B., Nguyen, M., Lerche, B., Hennache, B., 2004. Difficultés d'interprétation de l'immunofixation. *Annales de Biologie Clinique* 62, 103–109.
- P. TISSIER, J., CORRIEU, G., 1983. Dosage par turbidité de la concentration en matière grasse d'effluent de pré-rinçage de tanks de stockage de lait entier. *Le Lait* 63, 58–65.
- Palladini, G., Merlini, G., 2013. Diagnostic Challenges of Amyloidosis in Waldenström Macroglobulinemia. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia* 13, 244–246. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2013.02.001>
- Pote, A., Zwizinski, C., Simon, E.E., Meleg-Smith, S., Batuman, V., 2000. Cytotoxicity of myeloma light chains in cultured human kidney proximal tubule cells. *American Journal of Kidney Diseases* 36, 735–744. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2000.17620>
- Pratt, G., Harding, S., Holder, R., Fegan, C., Pepper, C., Oscier, D., Gardiner, A., Bradwell, A.R., Mead, G., 2009. Abnormal serum free light chain ratios are associated with poor survival and may reflect biological subgroups in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology* 144, 217–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07456.x>
- Rajkumar, S.V., Kyle, R.A., Therneau, T.M., Melton, L.J., Bradwell, A.R., Clark, R.J., Larson, D.R., Plevak, M.F., Dispenzieri, A., Katzmann, J.A., 2005. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 106, 812–817. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1038>
- Ramchandren, S., Lewis, R.A., 2009. Monoclonal gammopathy and neuropathy. *Current Opinion in Neurology* 22, 480–485. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32832fd563>

- Randall, R.E., Williamson, W.C., Mullinax, F., Tung, M.Y., Still, W.J., 1976. Manifestations of systemic light chain deposition. *Am J Med* 60, 293–299. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(76\)90440-x](https://doi.org/10.1016/0002-9343(76)90440-x)
- Ronco, P., Plaisier, E., Mougenot, B., Aucouturier, P., 2006. Immunoglobulin Light (Heavy)-Chain Deposition Disease: From Molecular Medicine to Pathophysiology-Driven Therapy. *CJASN* 1, 1342–1350. <https://doi.org/10.2215/CJN.01730506>
- Schachner, M., Bartsch, U., 2000. Multiple functions of the myelin-associated glycoprotein MAG (siglec-4a) in formation and maintenance of myelin. *Glia* 29, 154–165. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1136\(20000115\)29:2<154::aid-glia9>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1136(20000115)29:2<154::aid-glia9>3.0.co;2-3)
- Schieferdecker, A., Hörber, S., Ums, M., Besemer, B., Bokemeyer, C., Peter, A., Weisel, K., 2020. Comparison of three different serum-free light-chain assays—implications on diagnostic and therapeutic monitoring of multiple myeloma. *Blood Cancer J* 10. <https://doi.org/10.1038/s41408-019-0267-8>
- Schroeder, H.W., Cavacini, L., 2010. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125, S41–S52. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.046>
- Senel, M., Mojib-Yezdani, F., Braisch, U., Bachhuber, F., Lewerenz, J., Ludolph, A.C., Otto, M., Tumani, H., 2019. CSF Free Light Chains as a Marker of Intrathecal Immunoglobulin Synthesis in Multiple Sclerosis: A Blood-CSF Barrier Related Evaluation in a Large Cohort. *Front. Immunol.* 10, 641. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00641>
- Simmons, Z., Albers, J.W., Bromberg, M.B., Feldman, E.L., 1993. Presentation and initial clinical course in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: comparison of patients without and with monoclonal gammopathy. *Neurology* 43, 2202–2209. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.11.2202>
- Soubrier, M.J., Dubost, J.-J., Sauvezie, B.J.M., 1994. POEMS syndrome: A study of 25 cases and a review of the literature. *The American Journal of Medicine* 97, 543–553. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(94\)90350-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(94)90350-6)
- Spectroscopie de Masse, n.d. 42.
- Steiner, L.A., Knight, K.L., 2001. In Memoriam Alfred Nisonoff 1923–2001. *The Journal of Immunology* 167, 1855–1856. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.4.1855>
- Sun, M., Gao, Q.S., Li, L., Paul, S., 1994. Proteolytic activity of an antibody light chain. *The Journal of Immunology* 153, 5121–5126.
- Theoharides, T.C., Kempuraj, D., Tagen, M., Conti, P., Kalogeromitros, D., 2007. Differential release of mast cell mediators and the pathogenesis of inflammation. *Immunological Reviews* 217, 65–78. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2007.00519.x>
- Thiagarajan, P., Dannenbring, R., Matsuura, K., Tramontano, A., Gololobov, G., Paul, S., 2000. Monoclonal Antibody Light Chain with Prothrombinase Activity. *Biochemistry* 39, 6459–6465. <https://doi.org/10.1021/bi992588w>
- Thio, M., Blokhuis, B.R., Nijkamp, F.P., Redegeld, F.A., 2008. Free immunoglobulin light chains: a novel target in the therapy of inflammatory diseases. *Trends in Pharmacological Sciences* 29, 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.01.004>

- Thoren, K.L., 2018. Mass spectrometry methods for detecting monoclonal immunoglobulins in multiple myeloma minimal residual disease. *Semin Hematol* 55, 41–43. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.02.008>
- Thuillier, F., Demarquilly, C., Szymanowicz, A., Gaillard, C., Boniface, M., Braidy, C., Daunizeau, A., Gascht, D., Gruson, A., Lagabrielle, J.-F., Lasnier, E., Lemdani, M., Macchi, V., Poulin, G., Hermine, C., Sancho, J., Schellenberg, F., Sevin, O., Vaubourdolle, M., 2008. Nephelometry or turbidimetry for the determination of albumin, ApoA, CRP, haptoglobin, IgM and transthyretin: Which choice? *Annales de biologie clinique* 66, 63–78. <https://doi.org/10.1684/abc.2008.0192>
- Tonegawa, S., 1983. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 302, 575–581. <https://doi.org/10.1038/302575a0>
- Van der Heijden, M., Kraneveld, A., Redegeld, F., 2006. Free immunoglobulin light chains as target in the treatment of chronic inflammatory diseases. *European Journal of Pharmacology, The Pharmacology of the Respiratory Tract* 533, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.12.065>
- Van Rhee, F., Bolejack, V., Hollmig, K., Pineda-Roman, M., Anaissie, E., Epstein, J., Shaughnessy, J.D., Zangari, M., Tricot, G., Mohiuddin, A., Alsayed, Y., Woods, G., Crowley, J., Barlogie, B., 2007. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood* 110, 827–832. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-01-067728>
- Viel, J.-F., Richardson, S.T., 1993. Lymphoma, multiple myeloma and leukaemia among French farmers in relation to pesticide exposure. *Social Science & Medicine, Special Issue The Scope of Medical Geography* 37, 771–777. [https://doi.org/10.1016/0277-9536\(93\)90371-A](https://doi.org/10.1016/0277-9536(93)90371-A)
- Wall, R., Kuehl, M., 1983. Biosynthesis and Regulation of Immunoglobulins. *Annu. Rev. Immunol.* 1, 393–422. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.01.040183.002141>
- Wang, H., Chen, Y., Li, F., Delasalle, K., Wang, J., Alexanian, R., Kwak, L., Rustveld, L., Du, X.L., Wang, M., 2012. Temporal and geographic variations of Waldenstrom macroglobulinemia incidence. *Cancer* 118, 3793–3800. <https://doi.org/10.1002/cncr.26627>
- Willison, H.J., O’Leary, C.P., Veitch, J., Blumhardt, L.D., Busby, M., Donaghy, M., Fuhr, P., Ford, H., Hahn, A., Renaud, S., Katifi, H.A., Ponsford, S., Reuber, M., Steck, A., Sutton, I., Schady, W., Thomas, P.K., Thompson, A.J., Vallat, J.M., Winer, J., 2001. The clinical and laboratory features of chronic sensory ataxic neuropathy with anti-disialosyl IgM antibodies. *Brain* 124, 1968–1977. <https://doi.org/10.1093/brain/124.10.1968>
- Yegin, Z.A., Özkurt, Z.N., Yağcı, M., 2010. Free light chain: a novel predictor of adverse outcome in chronic lymphocytic leukemia. *European Journal of Haematology* 84, 406–411. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2010.01412.x>
- Zachau, H.G., 1989. The Human Immunoglobulin Kappa Genes, in: Melchers, F., Albert, E.D., von Boehmer, H., Dierich, M.P., Du Pasquier, L., Eichmann, K., Gemsa, D., Götze, O., Kalden, J.R., Kaufmann, S.H.E., Kirchner, H., Resch, K., Riethmüller, G., Schimpl, A., Sorg, C., Steinmetz, M., Wagner, H., Zachau, H.G. (Eds.), *Progress in Immunology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 92–98. https://doi.org/10.1007/978-3-642-83755-5_13

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

Résumé

Les chaînes légères libres (CLL) d'immunoglobulines sont synthétisées par les plasmocytes en excès par rapport aux chaînes lourdes. Elles sont donc libérées dans la circulation. Leur demi-durée de vie brève, du fait de leur élimination rapide dans les urines, font de leur dosage, un marqueur plus proche de la prolifération des lymphocytes B et des plasmocytes (polyclonaux ou monoclonaux). De plus, les CLL polyclonales ou monoclonales, produites en excès, sont responsables de lésions tissulaires diverses.

La société Binding Site, a développé des antisérums spécifiques permettant de différencier les CLL des CL liées aux chaînes lourdes. Des trousse de dosages en turbidimétrie ou en néphélométrie sont disponibles en routine sur différents automates. Elles sont utilisées pour le diagnostic et le suivi de pathologies lymphoprolifératives, le diagnostic des amyloses AL et du syndrome de Randall ainsi que leur prise en charge thérapeutique. Le laboratoire d'Immunologie a de plus exploré et validé en routine leur intérêt pour le diagnostic des encéphalites (dont la sclérose en plaques) et encéphalomyélites par une analyse comparée LCR/sérum.

La société SEBIA propose une alternative technique en ELISA pour concurrencer le leader dans le domaine. Dans l'hypothèse, ou, pour des raisons économiques, scientifiques ou organisationnelles, le laboratoire d'Immunologie souhaiterait changer de fournisseur, il est indispensable, dans un premier temps, de valider ce test en routine, d'établir de nouvelles normes internes et, à plus long terme, d'évaluer la sensibilité et la spécificité diagnostique des tests SEBIA par rapport à ceux de la société Binding Site, notamment pour l'analyse du LCR, domaine spécifique de compétence du laboratoire.

Ce mémoire de thèse présente les caractéristiques des CLL, les techniques d'exploration et leur intérêt médical. Des données préliminaires de comparaison des résultats sur l'OPTILITE et en ELISA sur du sérum et du LCR illustrent, dès à présent, d'importantes discordances justifiant la poursuite de travail en prospectif sur des cohortes plus importantes qui seront présentées dans mon mémoire de DES de Biologie Médicale.

Mots clés : Chaînes légères libres d'immunoglobulines – Anticorps – Turbidimétrie- ELISA – Immunoglobulines monoclonales - LCR