

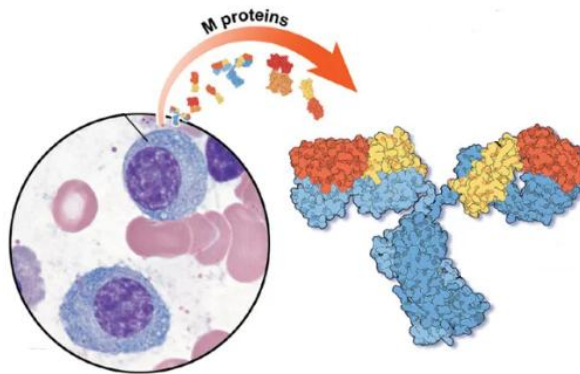
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE DJILLALI LIABES SIDI BEL ABBES
FACULTE DE MEDECINE TALEB MOURAD
DEPARTEMENT DE MEDECINE



Travaux dirigés (TD) d'IMMUNOLOGIE
Troisième année médecine
2024-2025

TD 03 : Exploration immunologique
des gammopathies monoclonales



Dr MEHADJI N

Objectifs du TD

- **Savoir l'intérêt de l'exploration immunologique dans le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales**
- **Comprendre le rôle d'effectuer l'exploration au niveau sérique et urinaire**
- **Définir les tests sériques et comprendre leurs indications, principes et interprétations**
- **Définir les tests urinaires et comprendre leurs indications, principes et interprétations**
- **Etablir une démarche diagnostique devant chaque gammopathie monoclonale**

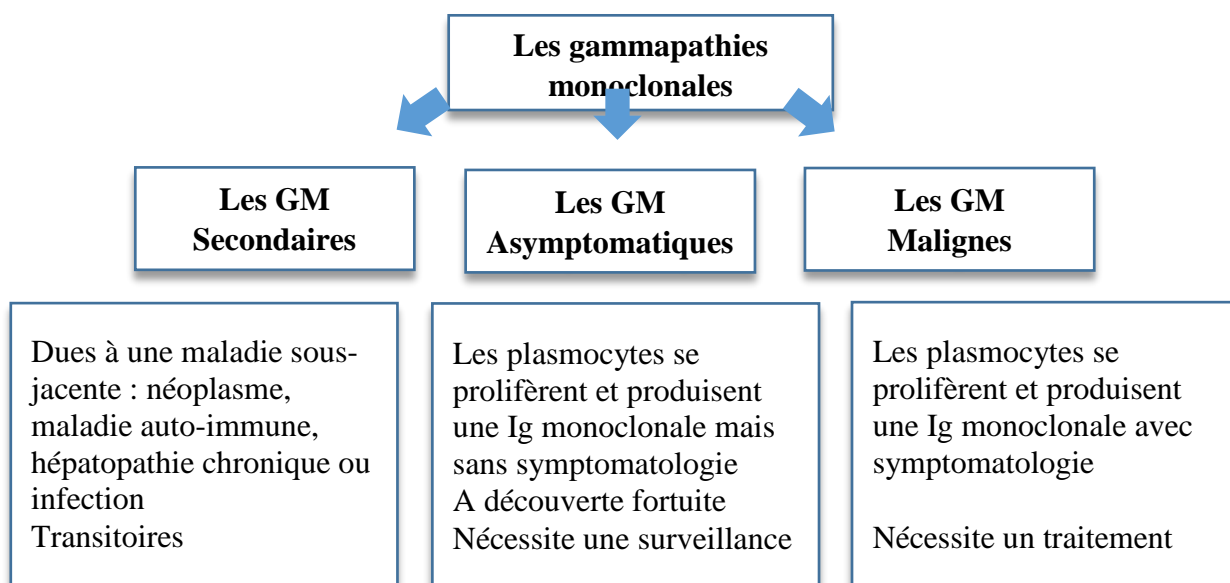
Plan du TD

1. Introduction
2. Exploration des gammopathies monoclonales
 - 2.1.Exploration immunologique des gammopathies monoclonales
 - 2.1.1. Détection et quantification d'immunoglobuline monoclonale par électrophorèse des protéines sériques
 - 2.1.2. Identification d'immunoglobuline monoclonale par une technique d'immunotypage sérique
 - 2.1.3. Détection et quantification d'une protéinurie de surcharge par électrophorèse des protéines urinaires
 - 2.1.4. Identification de la protéine de Bence Jones par technique d'immunotypage urinaire
 - 2.1.5. Dosage des chaînes légères libres sériques
 - 2.2.Exploration immunologique de myélome non sécrétant
3. Conclusion

1. Introduction

Les syndromes lymphoprolifératifs sont des maladies caractérisées par l'augmentation de la production d'une cellule qui peut être un précurseur des lymphocytes B, c'est le cas des leucémies, ou des lymphocytes B matures présents dans les tissus périphériques, c'est le cas des lymphomes ou des plasmocytes dans le cas des gammopathies monoclonales.

Les gammopathies monoclonales (GM) sont des maladies caractérisées par la prolifération d'un clone plasmocytaire ou lymphoplasmocytaire avec la production importante d'une immunoglobuline monoclonale. Elles peuvent être classées en secondaires, asymptomatiques ou malignes.



Les gammopathies monoclonales principales sont le myélome multiple, la maladie de Waldenstrom et la maladie des chaînes lourdes.

Le myélome multiple est caractérisé par les signes CRAB (hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie et lésions osseuses), une plasmocytose médullaire $\geq 10\%$ et la présence ou non d'immunoglobuline complète d'isotype IgG++, IgA+, rarement IgE, IgD ou IgM ou chaînes légères seulement.

La maladie de Waldenstrom se caractérise par un tableau clinique hétérogène : anomalies vasculaires, hépatosplénomégalie, maladie cryoglobulinémique, coagulopathies...et la présence de lymphoplasmocytose $\geq 10\%$ et la présence d'immunoglobuline complète d'isotype IgM.

La maladie des chaînes lourdes est caractérisée par la production de chaînes lourdes IgM, IgG ou IgA++ délétées sans chaînes légères associées.

2. Exploration des gammopathies monoclonales

Le diagnostic des gammopathies monoclonales repose sur l'examen clinique/biologique et radiologique, le pourcentage de la plasmocytose médullaire et la présence d'immunoglobuline monoclonale dans le sang et/ou les urines.

2.1.Exploration immunologique des gammopathies monoclonales

Consiste à la mise en évidence d'immunoglobuline monoclonale.

Les immunoglobulines monoclonales produites par le même clone sont toutes identiques sur le plan structural est donc en charge électrique et sur le plan isotypique. L'exploration immunologique a pour but de chercher **l'homogénéité de charge** par une technique de détection, généralement l'électrophorèse des protéines sériques/urinaires et **l'homogénéité d'isotype** par une technique d'immunotypage.

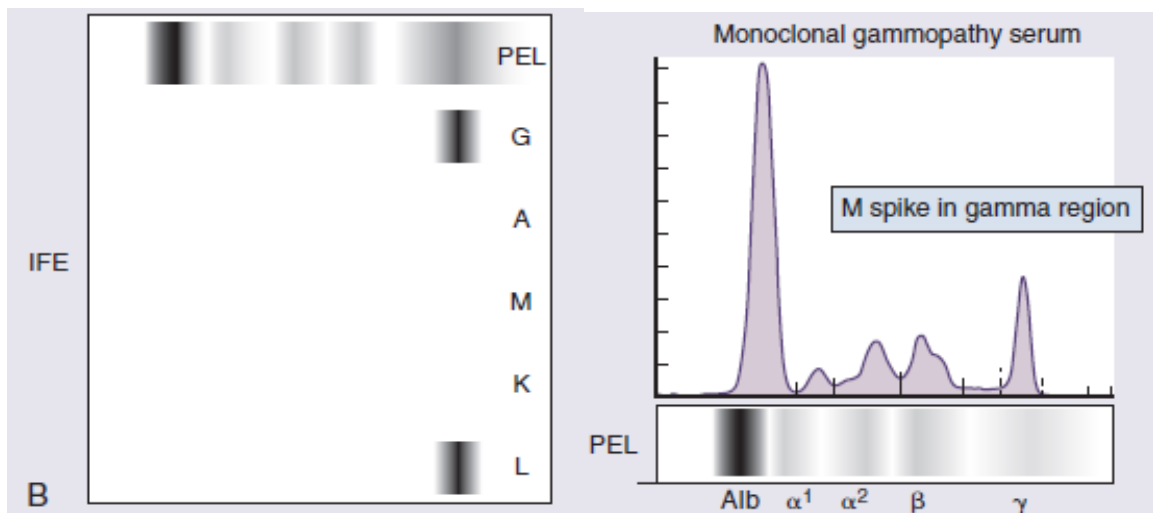


Figure 1 : homogénéité de charge (à gauche) homogénéité d'isotype (à droite)

2.1.1. Détection et quantification d'immunoglobuline monoclonale par électrophorèse des protéines sériques (EPS)

L'indication principale d'une EPS est le diagnostic des gammopathies monoclonales. Elle constitue le test de première ligne. Les principales anomalies d'EPS retrouvées dans le cas des GMs sont :

- une bande homogène en position gamma, beta ou alpha2 avec hypogammaglobulinémie associée
- deux bandes homogènes avec hypogammaglobulinémie associée
- une bande homogène en position gamma, beta avec hypergammaglobulinémie associée
- une hypogammaglobulinémie isolée chez un sujet âgés de plus de 40 ans avec ou sans symptomatologie des GMs.

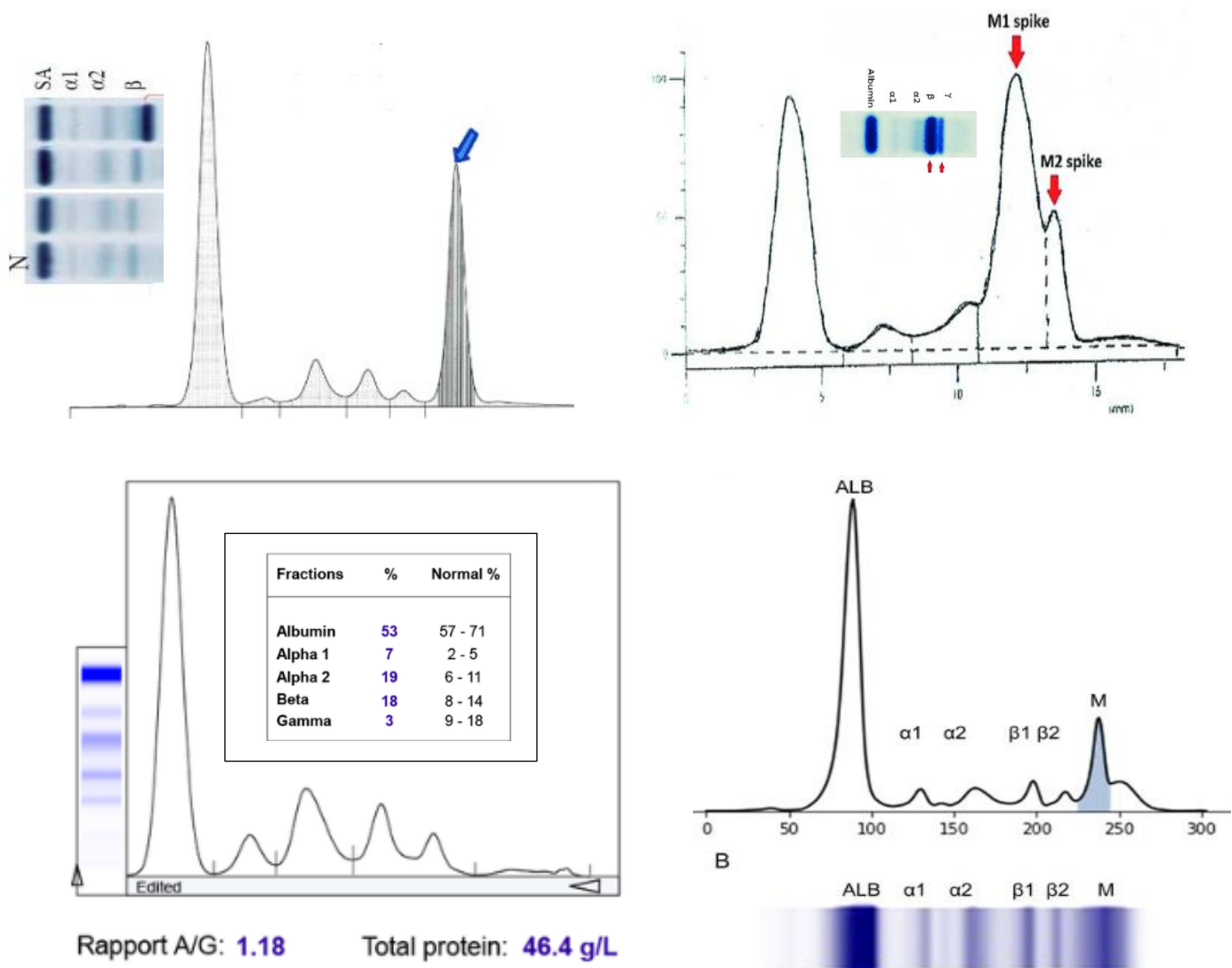


Figure 2 : bande homogène en position gamma avec hypogammaglobulinémie associée (**en haut, à gauche**) deux bandes homogènes en position gamma (**en haut, à droite**) hypogammaglobulinémie isolée (**en bas, à gauche**) bande homogène en gamma avec hypergammaglobulinémie associée (**en bas, à droite**)

L'EPS constitue le seul examen qui permette de quantifier valablement un pic d'immunoglobuline monoclonale. Un dosage pondéral d'immunoglobulines (IgG, IgM et IgA) ne doit être effectué pour évaluer le pic que si l'EPS ne permet pas sa quantification. Ce dosage permet également d'apprécier une hypogammaglobulinémie des autres isotypes.

L'EPS est utilisée pour le suivi des gammopathies monoclonales. Une nouvelle prescription d'immunotypage n'est justifiée que lorsqu'une modification qualitative de l'EPS suggère une évolution ou pour valider la rémission d'une gammopathie monoclonale. En l'absence d'uniformisation des techniques, il est préférable que l'EPS pour le suivi d'un patient soit toujours réalisée dans le même laboratoire.

2.1.2. Identification d'immunoglobuline monoclonale par une technique d'immunotypage sérique

Il existe trois techniques d'immunotypage :

- **Immunoélectrophorèse** : combinaison d'électrophorèse des protéines sériques et immunodiffusion double
- **Electrophorèse capillaire avec immunosoustraction** : électrophorèse capillaire après précipitation et élimination du composant monoclonal par les antisérums spécifiques
- **Immunofixation** : combinaison d'électrophorèse des protéines sérique et précipitation par des antisérums

L'immunotypage est généralement prescrite en deuxième intention, après identification d'anomalies en faveur de GMs sur une EPS. Elle permet de confirmer la clonalité et caractériser le pic (identifier l'isotype de la chaîne lourde et/ou la chaîne légère).

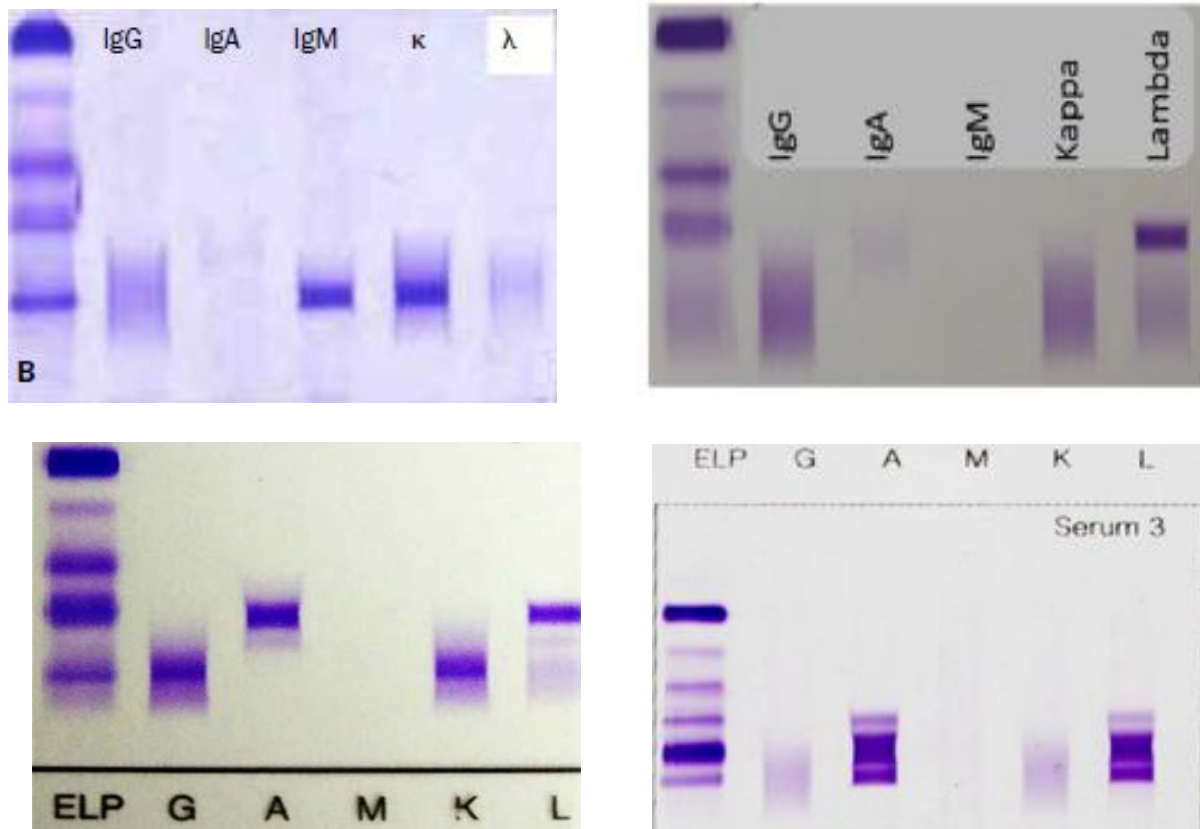
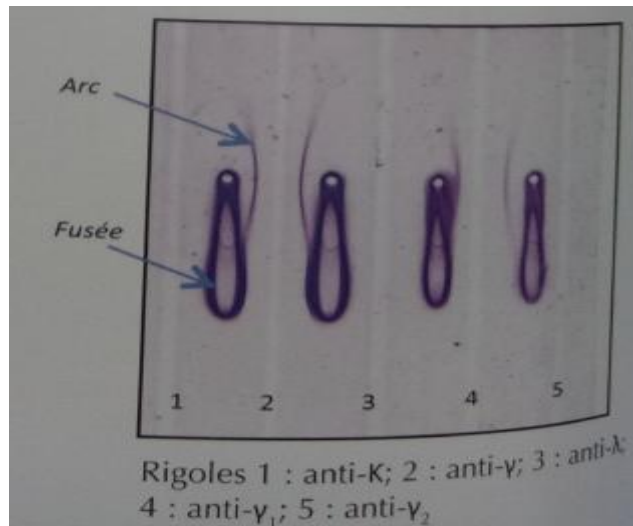


Figure 3 : composant monoclonal complet IgMk (**en haut, à gauche**) chaîne légère monoclonale lambda (**en haut, à droite**) deux composants monoclonaux IgGk et IgAl (**en bas, à gauche**) immunoglobuline monoclonale sous différentes formes, nécessite un traitement réducteur (**en bas, à droite**)

L'immunosélection est la technique de référence pour le diagnostic des maladies de chaîne lourdes. Elle consiste à identifier la chaîne lourde monoclonale qui n'est pas associée à une chaîne légère.

Son principe consiste à incorporer dans le gel des antisérums spécifiques anti-chaîne légère en quantité importante. Les immunoglobulines entières sont trappées au point de dépôt (fusées). Seules les protéines dépourvues de chaînes légères migrent après application du champ électrique. La présence des chaînes lourdes libres (non liées à des chaînes légères) est révélée secondairement par les antisérums anti-chaînes lourdes (anti-IgM, anti-IgG et anti-IgA).



2.1.3. Détection et quantification d'une protéinurie de surcharge par électrophorèse des protéines urinaires

L'électrophorèse des protéines urinaires permet l'analyse qualitative d'une protéinurie en précisant l'origine : glomérulaire, tubulaire ou mixte. Dans le cas d'une atteinte glomérulaire, elle permet de préciser la sélectivité de l'atteinte et d'en suivre l'évolution.

Elle permet de détecter une protéinurie de surcharge représentée par une bande homogène à l'électrophorèse. L'électrophorèse des urines est interprétée en fonction du dosage des protéines urinaires totales par techniques colorimétriques ou turbidimétriques.

2.1.4. Identification de la protéine de Bence Jones par technique d'immunotypage urinaire

Le terme de protéinurie de Bence-Jones pour désigner la présence de chaînes légères libres monoclonales (CLLM) dans les urines.

L'électrophorèse des protéines urinaires ayant permis de mettre en évidence la charge homogène d'une CLLM, sa mono-isotypie doit alors être identifiée par immunofixation ou immunoélectrophorèse.

Les antisérums utilisés dans l'immunofixation urinaire doivent reconnaître la chaîne légère quand elle est libre et quand elle est libre et liée.

2.1.5. Le dosage des chaînes légères libres (FLC)

Il consiste au dosage des chaînes légères libres kappa et lambda et de calculer le rapport.

Les anticorps polyclonaux du mouton reconnaissent spécifiquement les épitopes présents dans la région constante des chaînes légères, qui est cachée lorsqu'elle est jointe à une chaîne lourde (immunoglobuline intacte) mais est exposée lorsque les chaînes légères sont sous leur forme libre.

Dans les gammopathies monoclonales, il y a une accumulation dans le sang ou les urines d'un seul isotype des chaînes légères : Chaînes légères monoclonales +++, le rapport Kappa/Lambda est perturbé.

L'intérêt de ce dosage est le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales, le diagnostic de myélome à chaîne légère et le pronostic des gammopathies asymptomatiques.

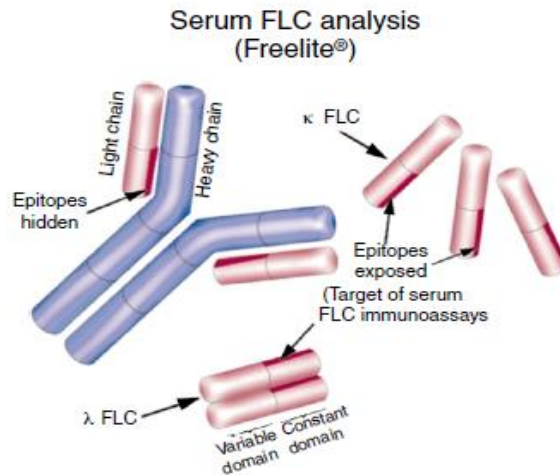


Figure 4 : les épitopes ciblés par les antisérums utilisés dans le test de FLC

2.2.Exploration immunologique de myélome non sécrétant

L'exploration des gammopathies monoclonales repose sur la mise en évidence du composant monoclonal, qui est déjà absent dans le sang des patients atteint de myélome non sécrétant.

Il existe deux types de myélome non sécrétant. Dans le premier type, le plasmocyte malin produit une immunoglobuline monoclonale mais ne la sécrète pas (défaut de sécrétion). Ce type est diagnostiqué par immunomarquage, qui consiste à marquer la présence d'immunoglobuline monoclonale dans le cytoplasme ou à la membrane de plasmocyte myélomateux.

Dans le deuxième type, le plasmocyte malin ne produit pas et ne sécrète pas (défaut de production). Le diagnostic repose sur l'immunophénotypage.

3. Conclusion

L'électrophorèse des protéines sériques et l'immunofixation sériques permettent généralement de détecter et identifier les immunoglobulines monoclonales complètes. Les très faibles taux de paraprotéines et les gammopathies des chaînes légères dans lesquelles les chaînes légères sont très rapidement éliminées du sérum par les reins sont généralement explorés par électrophorèse et immunofixation urinaires. Le myélome non sécrétant ne répond pas à la démarche habituelle des gammopathies monoclonales car aucune immunoglobuline n'est détectée dans le sang/urines.

Devant des résultats inconstants de détection et immunotypage, l'immunosélection constitue la technique de référence de diagnostic immunologique de la maladie de chaînes lourdes.