

UNIVERSITE MOHAMMED V –RABAT–  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE –RABAT

ANNEE: 2015

THESE N°: 02

**LES CRYOGLOBULINES :**  
**ASPECT CLINIQUE ET BIOLOGIQUE**  
**THESE**

*Présentée et soutenue publiquement le.....*

**PAR**

**Mr. STOURAN HICHAM**

*Né le 02 SEPTEMBRE 1987 à FES*

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT  
EN PHARMACIE

**MOTS CLES** : Cryoglobuline, Vascularite cryoglobulinémique, Hépatite C,  
Lymphoprolifération B, Rituximab.

**MEMBRES DE JURY**

**Mr. O. CHOKAIRI**

Professeur d'Histologie Embryologie

**Mme. S. TELLAL**

Professeur de la Biochimie

**Mr. M. CHEMSI**

Professeur en Médecine aéronautique

**Mme. S. ELHAMZAOUI**

Professeur de Microbiologie

**Mme. M. NAZIH**

Professeur d'Hématologie

**PRESIDENT**

**RAPPORTEUR**

**JUGES**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إننا أنت العليم الحكيم"

سورة البقرة: الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

**DOYENS HONORAIRES :**

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ  
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK  
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI  
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI  
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

**ADMINISTRATION :**

**Doyen** : Professeur Mohamed ADNAOUI  
**Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes**  
Professeur Mohammed AHALLAT  
**Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération**  
Professeur Taoufiq DAKKA  
**Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie**  
Professeur Jamal TAOUFIK  
**Secrétaire Général** : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS  
ET  
PHARMACIENS**

**PROFESSEURS :**

**Mai et Octobre 1981**

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

**Mai et Novembre 1982**

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

**Novembre 1983**

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

**Décembre 1984**

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

### **Novembre et Décembre 1985**

Pr. BENJELLOUN Halima  
Pr. BENSALD Younes  
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa

Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie

### **Janvier, Février et Décembre 1987**

Pr. AJANA Ali  
Pr. CHAHED OUZZANI Houria  
Pr. EL YAACOUBI Moradh  
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah  
Pr. LACHKAR Hassan  
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

### **Décembre 1988**

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib  
Pr. DAFIRI Rachida  
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

### **Décembre 1989**

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali\*  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –*Doyen de la FMPR*  
Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie

### **Janvier et Novembre 1990**

Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation

### **Février Avril Juillet et Décembre 1991**

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOUDA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation –*Doyen de la FMPO*  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*  
Chimie thérapeutique

### **Décembre 1992**

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUDA Adil

Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation

Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DAOUDI Rajae  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

#### **Mars 1994**

Pr. BENJAAFAR Nouredine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. EL AOUAD Rajae  
Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. MOUDENE Ahmed\*  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

#### **Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BRAHMI Rida Slimane  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. EL ABBADI Najia  
Pr. HANINE Ahmed\*  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

#### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Chirurgie Générale- *Directeur CHIS*  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie  
Traumatologie- Orthopédie *Inspecteur du SS*  
Gynécologie –Obstétrique  
Dermatologie

Urologie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Neurologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Gynécologie – Obstétrique  
Traumatologie – Orthopédie  
Radiologie  
Ophtalmologie  
Neurochirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique

Pr. BARGACH Samir  
Pr. CHAARI Jilali\*  
Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbas  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation – *Dir. HMIM*  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie - *Directeur ERSM*  
Urologie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

### Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya\*  
Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
Pr. MOHAMMADI Mohamed  
Pr. OUADGHIRI Mohamed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie

### Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. CHAOUIR Souad\*  
Pr. ERREIMI Naima  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Noureddine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. OUAHABI Hamid\*  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique  
Urologie  
Neurologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neurologie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

### Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. EZZAITOUNI Fatima  
Pr. LAZRAK Khalid \*  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*  
Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Gastro-Entérologie  
Neurologie – *Doyen Abulcassis*  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Traumatologie Orthopédie  
Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

### Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed\*

Pneumophtisiologie

Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-ptisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-ptisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

### **Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. HSSAIDA Rachid\*  
Pr. LAHLOU Abdou  
Pr. MAFTAH Mohamed\*  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
Pr. NASSIH Mohamed\*  
Pr. ROUIMI Abdelhadi\*

Neurologie  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Neurochirurgie  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Neurologie

### **Décembre 2000**

Pr. ZOHAIR ABDELAH\*

ORL

### **Décembre 2001**

Pr. ABABOU Adil  
Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BENABDELJLIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna  
Pr. BENAMOR Jouda  
Pr. BENELBARHDADI Imane  
Pr. BENNANI Rajae  
Pr. BENOUACHANE Thami  
Pr. BEZZA Ahmed\*  
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
Pr. CHAT Latifa  
Pr. DAALI Mustapha\*  
Pr. DRISSI Sidi Mourad\*  
Pr. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid

Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-ptisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Rhumatologie  
Anatomie  
Radiologie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Neuro-Chirurgie

Pr. EL MADHI Tarik  
Pr. EL OUNANI Mohamed  
Pr. ETTAIR Said  
Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
Pr. HRORA Abdelmalek  
Pr. KABBAJ Saad  
Pr. KABIRI EL Hassane\*  
Pr. LAMRANI Moulay Omar  
Pr. LEKEHAL Brahim  
Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
Pr. MEDARHRI Jalil  
Pr. MIKDAME Mohammed\*  
Pr. MOHSINE Raouf  
Pr. NOUINI Yassine  
Pr. SABBAH Farid  
Pr. SEFIANI Yasser  
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie-Pédiatrique  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Thoracique  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Hématologie Clinique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie

### **Décembre 2002**

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
Pr. AMEUR Ahmed \*  
Pr. AMRI Rachida  
Pr. AOURARH Aziz\*  
Pr. BAMOU Youssef \*  
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
Pr. BENZEKRI Laila  
Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
Pr. BERNOUSSI Zakiya  
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya\*  
Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
Pr. CHKIRATE Bouchra  
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
Pr. EL MANSARI Omar\*  
Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
Pr. HAJJI Zakia  
Pr. IKEN Ali  
Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
Pr. KRIOUILE Yamina  
Pr. LAGHMARI Mina  
Pr. MABROUK Hfid\*  
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*  
Pr. NAITLHO Abdelhamid\*  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RACHID Khalid \*  
Pr. RAISS Mohamed  
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
Pr. RHOU Hakima  
Pr. SIAH Samir \*

Anatomie Pathologique  
Urologie  
Cardiologie  
Gastro-Entérologie  
Biochimie-Chimie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Psychiatrie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Chirurgie Pédiatrique  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Néphrologie  
Anesthésie Réanimation



Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

Pédiatrie  
Chirurgie Générale

### **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
Pr. BOULAADAS Malik  
Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KHABOUZE Samira  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. LEZREK Mohammed\*  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie  
Anatomie Pathologique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Neurologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie Pathologique  
Radiologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Gynécologie Obstétrique  
Traumatologie Orthopédie  
Urologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

### **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENHALIMA Hanane  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAOUI Sakina\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Biophysique  
Microbiologie  
Cardiologie (mise en disponibilité)  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

## **Décembre 2005**

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

## **Avril 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Said\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. ESSAMRI Wafaa  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie  
Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio – Vasculaire  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Gastro-entérologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Urologie  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie

## **Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AMMAR Haddou\*  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
Pr. CHARKAOUI Naoual\*  
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
Pr. ELABSI Mohamed

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale

Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
Pr. EL OMARI Fatima  
Pr. GANA Rachid  
Pr. GHARIB Nouredine  
Pr. HADADI Khalid\*  
Pr. ICHOU Mohamed\*  
Pr. ISMAILI Nadia  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
Pr. LOUZI Lhoussain\*  
Pr. MADANI Naoufel  
Pr. MAHI Mohamed\*  
Pr. MARC Karima  
Pr. MASRAR Azlarab  
Pr. MOUTAJ Redouane \*  
Pr. MRABET Mustapha\*  
Pr. MRANI Saad\*  
Pr. OUZZIF Ez zohra\*  
Pr. RABHI Monsef\*  
Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
Pr. SEFFAR Myriame  
Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
Pr. SIFAT Hassan\*  
Pr. TABERKANET Mustafa\*  
Pr. TACHFOUTI Samira  
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
Pr. TANANE Mansour\*  
Pr. TLIGUI Houssain  
Pr. TOUATI Zakia

### **Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
Pr TAHIRI My El Hassan\*

### **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGDR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. ARKHA Yassir  
Pr. AZENDOUR Hicham\*

Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Neuro chirurgie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
Radiothérapie  
Anesthésie réanimation  
Microbiologie  
Réanimation médicale  
Radiologie  
Pneumo phtisiologie  
Hématologique  
Parasitologie  
Médecine préventive santé publique et hygiène  
Virologie  
Biochimie-chimie  
Médecine interne  
Radiologie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Radiothérapie  
Chirurgie vasculaire périphérique  
Ophtalmologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale

Médecine interne  
Pédiatre  
Chirurgie Générale  
Neurologie  
Neuro-chirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Rhumatologie  
Neuro-chirurgie  
Anesthésie Réanimation

Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
 Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
 Pr. BOUI Mohammed\*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
 Pr. DOGHMI Kamal\*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
 Pr. ENNIBI Khalid\*  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. KARBOUBI Lamya  
 Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
 Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
 Pr. MARMADE Lahcen  
 Pr. MESKINI Toufik  
 Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. NASSAR Ittimade  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
 Pr. ZOUHAIR Said\*

Anesthésie Réanimation  
 Anatomie  
 Biochimie-chimie  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Traumatologie orthopédique  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Hématologie clinique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Médecine interne  
 Gynécologie obstétrique  
 Rhumatologie  
 Gastro-entérologie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Microbiologie  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Pédiatrie  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Cardiologie  
 Pneumo-ptisiologie  
 Microbiologie

**PROFESSEURS AGREGES :**

**Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
 Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*  
 Pr. CHEMSI Mohamed\*  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. DARBI Abdellatif\*  
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
 Pr. EL HAFIDI Naima  
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
 Pr. EL MAZOUZ Samir  
 Pr. EL SAYEGH Hachem  
 Pr. ERRABIH Ikram  
 Pr. LAMALMI Najat  
 Pr. LEZREK Mounir  
 Pr. MALIH Mohamed\*  
 Pr. MOSADIK Ahlam  
 Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
 Pr. NAZIH Mouna\*

Anesthésie réanimation  
 Médecine interne  
 Physiologie  
 ORL  
 Microbiologie  
 Médecine aéronautique  
 Biochimie chimie  
 Radiologie  
 Chirurgie pédiatrique  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Urologie  
 Gastro entérologie  
 Anatomie pathologique  
 Ophtalmologie  
 Pédiatrie  
 Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie générale  
 Hématologie

Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anatomie pathologique

**Mai 2012**

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie pathologique  
Psychiatrie  
Cardiologie

**Février 2013**

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOUR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENNANA Ahmed\*  
Pr. BENSEFFAJ Nadia  
Pr. BENSghir Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*  
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba  
Pr. CHAIB Ali\*  
Pr. DENDANE Tarek  
Pr. DINI Nouzha\*  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
Pr. ELFATEMI Nizare  
Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
Pr. EL HARTI Jaouad  
Pr. EL JOUDI Rachid\*  
Pr. EL KABABRI Maria  
Pr. EL KHANNOUSSI Basma  
Pr. EL KHLOUFI Samir  
Pr. EL KORAICHI Alae  
Pr. EN-NOUALI Hassane\*  
Pr. ERRGUIG Laila

Pharmacologie – Chimie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Informatique Pharmaceutique  
Immunologie  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Neuro-Chirurgie  
Médecine Nucléaire  
Chimie Thérapeutique  
Toxicologie  
Pédiatrie  
Anatomie Pathologie  
Anatomie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Physiologie

Pr. FIKRI Meryim  
Pr. GHANIMI Zineb  
Pr. GHFIR Imade  
Pr. IMANE Zineb  
Pr. IRAQI Hind  
Pr. KABBAJ Hakima  
Pr. KADIRI Mohamed\*  
Pr. LATIB Rachida  
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra  
Pr. MEDDAH Bouchra  
Pr. MELHAOUI Adyl  
Pr. MRABTI Hind  
Pr. NEJJARI Rachid  
Pr. OUBEJJA Houda  
Pr. OUKABLI Mohamed\*  
Pr. RAHALI Younes  
Pr. RATBI Ilham  
Pr. RAHMANI Mounia  
Pr. REDA Karim\*  
Pr. REGRAGUI Wafa  
Pr. RKAIN Hanan  
Pr. ROSTOM Samira  
Pr. ROUAS Lamiaa  
Pr. ROUIBAA Fedoua\*  
Pr. SALIHOUN Mouna  
Pr. SAYAH Rochde  
Pr. SEDDIK Hassan\*  
Pr. ZERHOUNI Hicham  
Pr. ZINE Ali\*

Radiologie  
Pédiatrie  
Médecine Nucléaire  
Pédiatrie  
Endocrinologie et maladies métaboliques  
Microbiologie  
Psychiatrie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Pharmacologie  
Neuro-chirurgie  
Oncologie Médicale  
Pharmacognosie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie Pathologique  
Pharmacie Galénique  
Génétique  
Neurologie  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Physiologie  
Rhumatologie  
Anatomie Pathologique  
Gastro-Entérologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Traumatologie Orthopédie

### **Avril 2013**

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim\*  
Pr. GHOUNDALE Omar\*  
Pr. ZYANI Mohammad\*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Urologie  
Médecine Interne

*\*Enseignants Militaires*

## 2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

### PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechne
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le  
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



# *Dédicaces*





## *Je dédie ce travail :*

À mes parents qui m'ont permis d'accéder à une profession tant désirée. Leur soutien dans quelques moments difficiles fut précieux et je suis heureux d'avoir pu partager avec eux les joies d'un parcours alhamdoulillah réussi grâce à ALLAH et à eux.

*À toute ma famille pour son affection et son appui.*

À mes très chers amis Abd nour, Houssine, Ibrahim, Mouhammed, abd rahman, mustapha, youness, Latifa...., qui m'ont donné leurs conseils et soutien au cours de l'élaboration de ce travail.

Sans leur participation, cette thèse n'aurait pu voir le jour.

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

# *Remerciements*



*A notre maitre et président de thèse*

*Monsieur le professeur O. CHOKAIRI*

*Professeur d'Histologie Embryologie à la faculté de  
médecine et de pharmacie de rabat*



Nous sommes très sensibles à l'honneur et au privilège que vous nous accordez en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Nous sommes forts impressionnés par vos grandes qualités humaines qui n'ont d'égaux que votre haute compétence.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de notre profond respect et de notre haute estime.

*A notre maitre et rapporteur de thèse*

*Mme. le professeur S. TELLAT*

*Professeur de la Biochimie*

*à la faculté de médecine et de pharmacie de rabat*



Votre compétence, votre droiture et votre simplicité sont autant de qualité qui font de vous quelqu'un d'exceptionnel.

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail et de veiller à son élaboration en ne ménageant ni votre temps ni vos conseils.

Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur notre gratitude et nos vifs remerciements.

*A notre maitre et juge de thèse*

*Monsieur Le professeur M. CHEMSI*

*Professeur en médecine aéronautique à la faculté de*

*Médecine et de Pharmacie de Rabat*



Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger notre travail.

Veillez trouver ici, chère maitre, l'expression de notre respectueux dévouement.

*A notre maitre et juge de thèse*

*Mme. le professeur S. ELHAMZAOU*

*Professeur de la microbiologie à la faculté de médecine et de  
pharmacie de rabat*



Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

*A notre maitre et juge de thèse*

*Mme. le professeur M. NAZIH*

*Professeur d'Hématologie à la faculté de médecine et de  
pharmacie de rabat*



Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

# Sommaire

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux.....	7
Liste des abréviations.....	8
Introduction.....	9
I-Historique.....	11
II-Définition.....	14
III-Classification des cryoglobulines.....	16
A. Selon leur aspect à +4°C.....	16
B. Selon leur composition immunochimique.....	16
1. Cryoglobulines monoclonales = Type I.....	16
2. Cryoglobulines mixtes constituées d'une Ig monoclonales et d'Ig polyclonales =TypeII...17	17
3. Cryoglobulines constituées d'une ou de plusieurs Ig polyclonales = Type III.....	18
4. Cryoglobulines comportant des Ig oligoclonales, un quatrième type de cryoglobulines....	19
IV-Etiologies des cryoglobulines.....	24
A. Les infections.....	26
1. Infections virales.....	26
2. Infections bactériennes.....	29
3. Infections parasitaires et fongiques.....	29
B. Maladies auto-immunes et systémiques.....	29
C. Les syndromes lymphoprolifératifs.....	30
D. Atteintes hépatiques chroniques.....	30
E. Atteintes rénales.....	30
F. Cryoglobulinémie essentielle.....	30



<b>V-Etudes épidémiologiques, démographiques et de survie de patients cryoglobulinémiques.....</b>	<b>31</b>
A.Rôle du VHC.....	31
B.VHB et VIH.....	33
C.Infections bactériennes et parasitaires.....	34
D.Maladies auto-immunes.....	34
E.Maladies lymphoprolifératives.....	35
F.Autres associations.....	35
G.Cryoglobulinémie essentielle.....	35
H.Sexe.....	36
I.Histoire naturelle et progression.....	36
J.Survie.....	37
K.Causes de décès.....	38
<b>VI-Physiopathologie.....</b>	<b>39</b>
A-Génération de cryoglobulines.....	39
B- Mécanismes lésionnels.....	41
1-Cryoglobulines monoclonales de type I.....	41
2-Cryoglobulines mixtes de type II et III.....	41
C- Mécanismes de précipitation et facteurs influençant la précipitation.....	42
1-Existence d'une anomalie de structure.....	43
2-Facteurs influençant la précipitation.....	44
<b>VII- Manifestations cliniques.....</b>	<b>45</b>
A-Syndrome d'hyperviscosité.....	48
B-Manifestations cutanées.....	48
1-Purpura cutané.....	49
2-Syndrome de Raynaud.....	49

3-Autres manifestations cutanées.....	50
<b>C-Manifestations rhumatismales.....</b>	<b>51</b>
<b>D-Complications neurologiques.....</b>	<b>51</b>
1-Complications neurologiques périphériques.....	51
2-Complications neurologiques centrales .....	55
<b>E. Manifestations rénales.....</b>	<b>56</b>
1-Cryoglobulinémies de type II et néphropathies.....	57
2- Cryoglobulinémies de type I et néphropathies.....	68
<b>F-Manifestations de la maladie moins communes.....</b>	<b>70</b>
1-Atteintes gastro-intestinales.....	70
2-Atteintes pulmonaires.....	70
3-Atteintes cardiaques.....	70
<b>VIII-Manifestations biologiques des cryoglobulines .....</b>	<b>72</b>
<b>IX-Exploration biologique d'une cryoglobulinémie.....</b>	<b>72</b>
<b>A. Matériel et méthode.....</b>	<b>73</b>
1. Obtention des échantillons.....	73
2. Obtention du cryoprécipité.....	75
3. Lecture du cryoprécipité et interprétation de la lecture.....	76
4. Resolubilisation.....	77
5. Analyse du cryoprécipité.....	77
<b>B-Analyse quantitative = dosage du cryoprécipité.....</b>	<b>78</b>
1. Détection quantitative de cryoglobuline par cryocrite.....	79
2. La teneur totale en protéines.....	80
3. Evaluation de chaque technique.....	81
<b>C. Analyse qualitative = typage immunochimique.....</b>	<b>82</b>
1. Interprétation de l'immunofixation .....	84

D. Autres techniques d'analyse des cryoglobulines.....	90
E. Examens immunochimiques complémentaires à effectuer dans le cadre de l'exploration d'une cryoglobuline.....	91
<b>X. Diagnostic étiologique des cryoglobulinémies.....</b>	<b>91</b>
<b>XI. Anomalies biologiques de certains examens de laboratoire liées à la présence d'une cryoglobuline.....</b>	<b>93</b>
A. Anomalies hématologiques.....	93
1. Perturbations de la vitesse de sédimentation.....	93
2. Perturbations de l'hémogramme.....	93
B. Anomalies biochimiques et immunochimiques.....	94
1. Perturbations de l'électrophorèse des protéines.....	94
2. Perturbations des résultats de l'exploration du complément et de ses fractions.....	95
3. Perturbations des résultats d'autres examens immunochimiques.....	95
<b>XII. Prise en charge thérapeutique de vascularite cryoglobulinémique.....</b>	<b>96</b>
A. Vascularite de cryoglobulinémie mixte chez les patients infectés par le virus de l'hépatite C.....	98
B. Vascularite de cryoglobulinémie mixte non infectieuse.....	100
C. Vascularite cryoglobulinémique Type I.....	101
<b>Conclusion.....</b>	<b>103</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>107</b>

## **Liste des figures :**

- Figure 1:** Cryoglobuline de type I, constituée d'IgM kappa monoclonale.....17
- Figure 2:** Cryoglobuline de type II associant une IgM Kappa monoclonale et des IgG polyclonales.....18
- Figure 3 :** Cryoglobuline mixte de type III associant principalement des IgM polyclonales avec des IgG et des IgA polyclonales. ....19
- Figure 4 :** Cryoglobuline mixte comportant des IgM polyclonales et des IgG oligoclonales dans le cadre d'une hépatite virale.....20
- Figure 5 :** La prolifération des cellules B représente le substrat biologique de la cryoglobulinémie.....40
- Figure 6:** Les atteintes cutanées en cryoglobulinémie.....50
- Figure 7:** (a) Micrographie électronique montrant de multiples dépôts anormaux de cryoglobuline (flèches) dans le nerf saphène d'un patient avec cryoglobulinémie type I et neuropathie (×6300). (b) Des élargissements périphériques de lamelles myéline chez un patient présentant une cryoglobulinémie de type I et des anticorps IgM anti-MAG (×1,500).....53
- Figure 8 :** Glomérule d'un patient avec une infection chronique par le VHC et cryoglobulinémie de type II, qui avait une glomérulonéphrite membranoproliférative de type I. ....61
- Figure 9 :** Portion d'un glomérule du patient décrit dans la figure 8 : circulation abondante des monocytes dans les capillaires glomérulaire.....61
- Figure 10 :** Biopsie rénale d'un patient atteint de VHC associé à la cryoglobulinémie; épaissement des parois capillaires avec duplication de la membrane basale des cellules mésangiales en raison de l'interposition. ....62
- Figure 11 :** Microphotographie électronique chez un patient avec infection chronique par le VHC et cryoglobulinémie type II. ....64
- Figure 12 :** Microphotographie électronique d'un capillaire glomérulaire isolé avec interposition mésangiale et dépôts de cryoglobulines denses aux électrons chez un patient avec une infection chronique par le VHC et cryoglobulinémie de type II.....64

<b>Figure 13:</b> Vascularite systémique cryoglobulinémique : (A) Ischémie intestinale (œdème diffus de la paroi intestinale), (B) Hémorragie pulmonaire. ....	<b>71</b>
<b>Figure 14 :</b> Exemple de cryoglobuline positive (haut) et de serum lipidique et hémolysé (bas) dans lequel il est impossible de détecter un cryoprécipité. ....	<b>74</b>
<b>Figure 15 :</b> Table de suivi des lectures des cryoglobulines.....	<b>76</b>
<b>Figure 16 :</b> Différents niveaux de cryoprécipités blanchâtres après la mise en garde de tube Wintrobe à + 4 °C pendant 48 h et centrifugation à 1400 tours par minute pendant 10 min....	<b>79</b>
<b>Figure17 :</b> Immunofixation de cryoprécipités redissouts à +37 °C.....	<b>83</b>
<b>Figure 18 :</b> Protocole récapitulatif pour la recherche et la caractérisation d'une cryoglobuline.....	<b>86</b>
<b>Figure 19 :</b> Fiche de présentation des résultats de cryoglobuline au biologiste et d'archifage.....	<b>87</b>
<b>Figure 20.</b> Gestion thérapeutique en fonction du type de cryoglobuline et l'état de virus d'hépatite C .....	<b>98</b>

## Liste des tableaux:

<b>Tableau I :</b> Progrès chronologiques importants dans l'étude de la cryoglobulinémie.....	<b>12</b>
<b>Tableau II :</b> Classification des thermoprotéines.....	<b>15</b>
<b>Tableau III :</b> Classification des cryoglobulines proposée par Brouet et al.....	<b>21</b>
<b>Tableau IV :</b> Classification des cryoglobulines proposée par le Carrer.....	<b>23</b>
<b>Tableau V :</b> Principales étiologies des cryoglobulines. ....	<b>24</b>
<b>Tableau VI :</b> Prévalence de la cryoglobulinémie chez les patients atteints d'une infection chronique par le .....	<b>33</b>
<b>Tableau VII:</b> Principales manifestations cliniques des cryoglobulines.....	<b>45</b>
<b>Tableau VIII :</b> Comparaison de manifestations cliniques chez les patients ayant une cryoglobulinémie.....	<b>47</b>
<b>Tableau IX :</b> Libellés pour l'axe quantitatif en vue de l'interprétation des cryoglobulines...	<b>78</b>
<b>Tableau X:</b> Libellés pour l'axe concernant le type de cryoglobuline.....	<b>88</b>
<b>Tableau XI:</b> Libellés pour l'axe monoclonal concernant les cryoglobulines de type I.....	<b>88</b>
<b>Tableau XII:</b> Libellés pour l'axe oligoclonal concernant les cryoglobulines de type IIb.....	<b>88</b>
<b>Tableau XIII:</b> Libellés pour l'axe polyclonal concernant les cryoglobulines de type IIa et IIb.....	<b>88</b>
<b>Tableau XIV:</b> Libellés pour l'axe polyclonal concernant les cryoglobulines de type III.....	<b>89</b>
<b>Tableau XV:</b> Libellés pour les autres commentaires et l'évolution du taux de cryoglobuline	<b>89</b>
<b>Tableau XVI:</b> Gestion thérapeutique en fonction du type de cryoglobuline et l'état du virus d'hépatite C.....	<b>92</b>

# Liste des abréviations

**ARN** : Acide Ribonucléique

**AST** : Anti-Sérum Total

**CG** : Cryoglobuline

**CI** : Complexe Immune

**CM** : Cryoglobulinémie Mixte

**CME** : Cryoglobulinémie Mixte Essentielle

**FR**: Facteur Rhumatoïde

**HAART**: Highly Active Antiretroviral Therapy

**HLA**: Human Leukocyte Antigen

**IF**: Immunofixation

**IFN**: Interféron

**Ig**: Immunoglobuline

**IgM $\kappa$** : IgM kappa

**IL**: InterLeukine

**IRC** : Idiotype à Réaction Croisée

**IV**: Intraveineuse

**LES**: Lupus Erythémateux Systémique

**LLC**: Leucémie Lymphoïde Chronique

**LNH**: Lymphome Non Hodgkinien

**MAG**: Myelin-Associated Glycoprotein

**MGUS**: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance

**NS**: Non Structurale

**NSGF**: Neuropathie Sensitive des Grosses Fibres

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**PIRR** : Peg-IFN- $\alpha$ , Ribavirine-Rituximab

**POEMS**: Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, M protein, and Skin changes

**PSPF**: Polyneuropathies Sensitive des Petites Fibres

**SC** : Syndrome Cryoglobulinémique

**SNC** : Système Nerveux Central

**SNP** : Système Nerveux Périphérique

**SS** : Syndrome de Sjôgren

**TH**: T cell Helper

**VasCryo** : Vascularite Cryoglobulinémique

**VHB**: Virus d'Hépatite B

**VHC**: Virus d'Hépatite C

**VIH**: Virus de l'Immunodéficience Humaine





# INTRODUCTION



La première observation de précipitation des protéines sériques induite par le froid remonte à 1933, quand Wintrobe et Buell [1] ont décrit un cas inhabituel de myélome multiple chez une femme dont le sérum est réversiblement précipité au froid.

En 1947, Lerner et Watson [2] ont montré des protéines précipitables au froid qui sont des gammaglobulines et les ont nommées "cryoglobulines". Ils ont également inventé le terme « cryoglobulinémie » pour indiquer l'état clinique correspondant. Ce n'est qu'en 1960 que le profil clinique de la maladie à complexes immuns a été reconnu [3].

Les cryoglobulines ont trois caractéristiques typiques : (1) elles précipitent à des températures inférieures à +37 °C, (2) elles se resolubilisent à +37 °C et (3) elles sont constituées d'immunoglobulines.

Les symptômes qu'elles provoquent sont inconstants et variés, dus à l'hyperviscosité du sang dans les extrémités, ou en raison de dépôt de complexes immuns le long de la paroi des vaisseaux à l'intérieur de la peau, des articulations, des reins et / ou du système nerveux périphérique [4, 5].

Typiquement, les complications touchent principalement les petits vaisseaux sanguins, principalement des capillaires, veinules ou artérioles [6].

Les manifestations cliniques sont le plus fréquemment des atteintes cutanées (purpura vasculaire), des troubles vasomoteurs (syndrome de Raynaud) et des lésions neurologiques, rénales ou d'autres viscères plus rarement [7].

L'orientation étiologique d'une cryoglobulinémie est en grande partie déterminée par son type immunochimique. Pour les cryoglobulinémies de type I, le raisonnement est facile car elles sont toujours dues à une hémopathie lymphoïde B maligne sécrétrice d'une immunoglobuline monoclonale cryoprécipitante. En revanche, pour les cryoglobulinémies mixtes de type II et de type III, les pathologies causales ou associées sont très diverses comprenant de nombreuses infections (virales, bactériennes, fongiques, parasitaires), des connectivites, des néoplasies, et des hémopathies lymphoïdes B. Malgré une exploration large, l'enquête étiologique peut rester négative et on parle alors de cryoglobulinémies mixtes essentielles (10 à 30% de l'ensemble des cas) [8].

Elles sont un motif d'aggravation de la maladie causale ou parfois le signe précurseur de ces maladies.

La classification de JC Brouet [9] et celle qui résulte de sa révision par D. Le Carrer [10] fait référence depuis de nombreuses années.

La première dont la publication date de 1974 dénombre 3 principaux types de cryoglobulines, la seconde différenciée à la fin des années 1980 se caractérise par l'addition d'un type supplémentaire. Ce sous-type correspond à la présence d'immunoglobulines oligoclonales chez certains patients, très facilement mise en évidence par les techniques d'immunfixation.

Il existe des liens forts entre le type de cryoglobuline identifiée par le laboratoire et la symptomatologie clinique ou la maladie causale. Cet examen présente en conséquence un intérêt indéniable et doit être réalisé dans les conditions les plus conformes à l'état des connaissances actuelles et avec des moyens d'analyse biochimique appropriés [7].

L'objectif de ce travail est d'aborder trois points essentiels :

- ❖ Savoir différencier les différents types de cryoglobulines et connaître les facteurs étiologiques associés à chaque type.
- ❖ Connaître les anomalies biologiques et les complications cliniques associées à une cryoglobulinémie.
- ❖ Conduite à tenir pour l'exploration et la prise en charge d'un patient présentant une cryoglobulinémie.

## I-Historique

La première observation de précipitation des protéines sériques induite par le froid remonte à 1933, quand le professeur Maxwell Myer Wintrobe, le légendaire médecin scientifique qui a jeté les bases de l'hématologie moderne, décrit, en collaboration avec le Dr M. V. Buell, un cas inhabituel de myélome multiple chez une femme dont le sérum est réversiblement précipité au froid [1]. Quatorze ans plus tard, Lerner et Watson [2] ont montré des protéines précipitables au froid qui sont des gammaglobulines et les ont nommées « cryoglobulines ». Ils ont également inventé le terme « cryoglobulinémie » pour indiquer l'état clinique correspondant.

A cette époque, il a été pensé que les cryoglobulines sont structurellement formées par une seule protéine. En 1962, après isolement et purification de cryoglobulines par chromatographie échangeuse d'ions, Lospalluto et al. en utilisant l'ultracentrifugation analytique [11], ont montré que les cryoprotéines solubilisées contenait deux composants, désignés à ce moment là comme 7S et 19S sur la base de leur coefficients de sédimentation. Ces fractions correspondent aux immunoglobulines que nous appelons maintenant IgG et IgM, respectivement. Ils ont également pu montrer qu'un certain nombre de réactions positives de facteur rhumatoïde (FR) ont été associées à la fraction 19S, tandis que la fraction 7S (IgG) pourrait indifféremment appartenir au sérum du patient ou dériver de mise en commun des donneurs normaux (la fraction II de Cohn). Le remplacement de la 19S de patients par une homologue IgM normale conduit à la disparition des propriétés de cryoprécipitation. Ainsi, le composant gammaglobuline 19S se comporte comme une cryoglobuline incomplète.

Le syndrome cryoglobulinémique (SC) a été décrit en 1966 par Meltzer et ses collègues [3], qui ont déclaré 29 patients avec cryoglobulines et une présentation clinique commune (purpura, arthralgie et faiblesse), accompagnée par un dysfonctionnement d'organe et des concentrations sériques élevées de facteur rhumatoïde (FR). Ils ont également confirmé que les cryoglobulines sont constituées de deux composantes différentes de globulines et étaient constamment dotées d'une activité de FR. En raison de l'ignorance en ce qui concerne son étiologie, ils ont appelé cet état clinique cryoglobulinémie mixte (CM) " essentielle ".

Dans les années qui ont suivi, de nombreux chercheurs ont réalisé des études immunochimiques d'un certain nombre de cryoglobulines isolées et ont démontré leur hétérogénéité structurelle. Sur la base de ces études et sur un examen de 86 patients, Brouet et al. [9] ont classé les cryoglobulines en trois types principaux, une classification qui est encore largement acceptée. Les cryoglobulines type I sont des immunoglobulines monoclonales simples, typiquement IgM ou IgG, mais rarement IgA. Les cryoglobulines types II et III sont caractérisées par une IgG polyclonale associée à une IgM monoclonale (type II) ou polyclonale (type III).

Les données historiques de développement de la cryoglobulinémie et un certain nombre d'avancées jusqu'à 2011 sont résumées dans le tableau I.

**Tableau I** : Progrès chronologiques importants dans l'étude de la cryoglobulinémie [12].

<b>Année</b>	<b>Observations</b>
1933	Une protéine précipitable à froid est découverte dans le sérum d'un patient atteint de myélome multiple.
1947	Les termes «cryoglobuline" et "cryoglobulinémie" sont proposés et le phénomène est observé dans diverses maladies.
1962	La séparation chromatographique de cryoglobulines montre leur nature mixte (7S + 19S) et l'activité facteur rhumatoïde (FR) se trouve être associée à la fraction 19S.
1966	Le tableau clinique et l'hétérogénéité structurelle connue sous le nom de cryoglobulinémie mixte «essentielle» (CM) sont clairement définis.
1968-1970	Différentes cryoglobulines sont immunochimiquement caractérisées et leur importance comme inducteurs de lésions tissulaires est soulignée.
1973	Un certain nombre d'IgM kappa à activité FR des patients avec CM montrent qu'ils portent un idiotype majeur à réaction croisée (IRC) porte le nom WA. La prévalence de l'IRC (Idiotype à Réaction Croisée) a ensuite fait l'objet d'un examen approfondi visant à évaluer la relation entre CM rhumatismales et troubles lymphoprolifératifs.
1974	Les cryoglobulines sont classées en trois types principaux.
1977	Le possible rôle étiologique du virus de l'hépatite B dans la CM «essentielle» est revendiqué, mais pas confirmé dans des études ultérieures.

1987	Le traitement par l'interféron- $\alpha$ (IFN- $\alpha$ recombinant se révèle être efficace chez les patients atteints de CM «essentielle».
1990-1994	La grande majorité des patients atteints de CM sont jugés infectés par le virus de l'hépatite C (VHC).
1994	Une progression potentielle de CM vers un lymphome non hodgkinien (LNH) évident est signalée par différents groupes, mais avec de fortes variations géographiques.
2003	Le rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD20 chimérique, se trouve être cliniquement efficace chez les patients atteints de CM récurrente ou réfractaire, mais qui se traduit souvent par une augmentation des taux d'ARN sérique du VHC.
2005	Par analogie avec l'infection chronique VHC non cryoglobulinémique, l'IFN- $\alpha$ pégylé plus ribavirine sont proposés comme norme de soins de CM liées au VHC.
2010	Chez les patients asymptomatiques infectés par le VHC, les lymphocytes B WA portant le cross-idiotype WA sont définis en tant que marqueurs pour le développement d'une vascularite cryoglobulinémique associée aux cellules B malignes, et devraient constituer une cible thérapeutique spécifique.
2010	La combinaison de Peg-IFN- $\alpha$ , la ribavirine et le rituximab (thérapie PIRR) est représenté à fournir un pourcentage élevé de réponses à long terme.
2011	L'administration de nouveaux inhibiteurs de la protéase et de nouveaux anticorps monoclonaux anti-CD20 (Ofatumumab) est susceptible d'entraîner de meilleurs résultats que la thérapie PIRR.

## II-Définition

Les cryoglobulines appartiennent au groupe des thermoprotéines; ce groupe particulier comporte un ensemble de protéines plasmatiques mais aussi urinaires dont le comportement physicochimique est anormal à des températures supérieures à +37 °C (ce sont alors des pyroprotéines) ou inférieures à cette températures (correspondant aux cryoprotéines) [13]. Une classification des principales thermoprotéines est proposée dans le **tableau II**.

Les cryoglobulines sont les thermoprotéines plasmatiques les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine et les plus explorées en biologie clinique. Longtemps considérées comme des raretés de laboratoire associées à des maladies graves, elles sont maintenant mises en évidence dans de nombreuses pathologies, y compris dans certains maladies auto-immunes ou infectieuses où elles sont détectables à de faibles concentrations par les techniques modernes actuellement utilisables [14].

Les cryoglobulines sont des complexes multimoléculaires composés d'une ou plusieurs classes d'immunoglobulines, associées parfois à d'autres protéines. Elles ont la propriété de précipiter à basse température et de se redissoudre par réchauffement du sérum à +37 °C [15].

Les cryoglobulines doivent être différenciées des autres cryoprotéines précipitant elles aussi à basse température, c'est le cas du fibrinogène (cryofibrinogène) et de certaines Ig à activité auto-anticorps dirigée contre des antigènes érythrocytaires (agglutinines froides, le plus souvent de type IgM). C'est d'ailleurs pour cette raison que certains auteurs préfèrent utiliser le terme de cryo-immunoglobulines (cryoIgs) pour désigner les cryoprécipités ou les cryogels uniquement constitués d'Ig ou de complexes d'Ig [16].

La mise en évidence des cryoglobulines se fait au laboratoire à +4°C mais leur amplitude thermique de précipitation peut varier de +11 à + 37°C [17]; ceci explique la température d'apparition des signes cliniques mais aussi les anomalies de certains examens biologiques rencontrées chez les patients dont la cryoglobulines précipite à une température supérieure ou égale à la température ambiante, d'où l'importance dans ce cas d'effectuer ces analyses « à chaud ».

La cryoglobulinémie se réfère à la présence de cryoglobulines dans le sérum. Toutefois, les termes d'une maladie cryoglobulinémique ou une vascularite cryoglobulinémique sont utilisés pour décrire les patients présentant des symptômes liés à la présence de cryoglobulines.

**Tableau II** : Classification des thermoprotéines [13]

<b>1. pyroprotéines</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pyroglobulines ou pyrogelglobulines</li> <li>• Protéines de Bence Jones (PBJ) urinaires</li> </ul>	Précipitation à températures ELEVEE +56°C pour les pyroglobulines (irréversible) +40°C à +60°C pour les PBJ (réversible)
<b>2. Cryoprotéines</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cryoglobulines</li> <li>• Agglutinines froides</li> <li>• Cryofibrinogène</li> </ul>	Précipitation ou agglutination (réversible) A BASSE température (entre +4°C et +37°C)



### III-Classification des cryoglobulines

Le processus de cryoprécipitation se manifeste de façon très variable quantitativement mais aussi qualitativement; c'est ainsi qu'il est possible de distinguer plusieurs types de cryoglobulines, selon leur aspect à +4 °C et surtout selon leur composition immunochimique [14] :

#### A. Selon leur aspect à +4°C

- ✓ Sous forme d'un cryoprécipité : cryoglobulines (les plus fréquentes)
- ✓ Sous forme d'un gel : cryoglobulines d'opacité et de viscosité variables (rares).
- ✓ Sous forme de cristaux : cryocristalloglobulines (très rares).

#### B. Selon leur composition immunochimique

En 1974, Brouet *et al.* [9] ont proposé une classification immunochimique des cryoglobulines basée sur l'immunoélectrophorèse (*tableau III*). Cette classification est toujours utilisée.

L'amélioration des techniques biologiques de dépistage et de typage des cryoglobulines a permis la mise en évidence de cryoglobulines en concentrations moins importantes, dans les pathologies infectieuses ou auto-immunes. En utilisant ces techniques de typage, Le Carrer a proposé une nouvelle classification (*tableau IV*). Schifferli *et al.* [18] ont défini une classe appelée II-III correspondant à la classe IIb définie par Le Carrer.

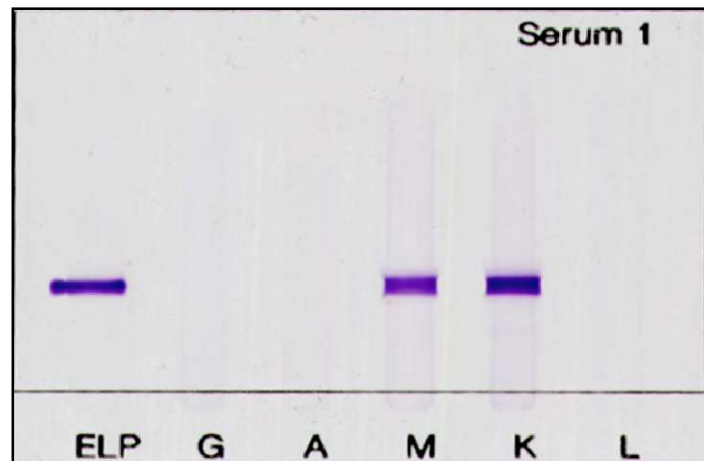
##### 1. Cryoglobulines monoclonales = Type I (figure1)

Ce sont surtout des IgM monoclonales, des IgG parfois (IgG2 ou IgG3), des IgA rarement, ou de rarissimes chaînes légères libres monoclonales : leur cryocrécipitation est rapide (en général en quelques heures à +4°C) et leur concentration élevée, souvent supérieure à 5g /L.

Leur précipitation peut survenir à des températures élevées, parfois supérieures à +30°C et la symptomatologie est liée à la fois à la cryoglobuline monoclonale mais aussi à l'hyperviscosité du sérum dont elle est parfois responsable. Leur aspect est le plus souvent

celui d'un précipité, mais certaines IgM monoclonales peuvent former des cryogels et plus rarement, en particulier pour les IgG de sous classe IgG2, la cryoprécipitation peut se faire sous la forme de cristaux.

La détection et le typage de ce type de cryoglobulines sont intéressantes car elles accompagnent, mais précèdent aussi parfois de longue date, l'apparition d'une hémopathie maligne.



*Figure 1: Cryoglobuline de type I, constituée d'IgM kappa monoclonale. [15]*

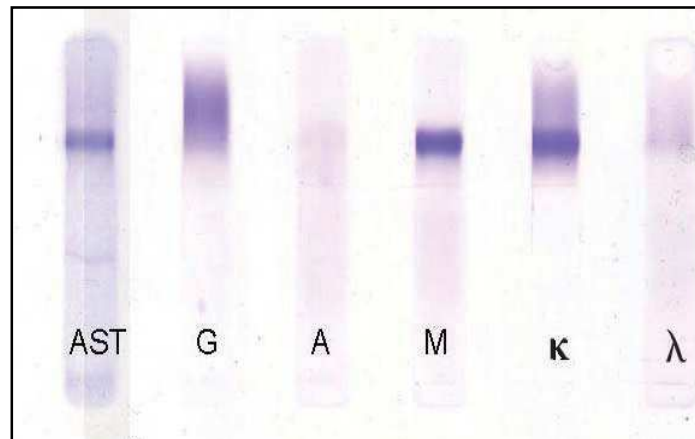
## **2. Cryoglobulines mixtes constituées d'une Ig monoclonales et d'Ig polyclonales = Type II (figure2)**

Ces cryoglobulines sont composées d'Ig appartenant à deux classes différentes, l'une d'entre elles étant monoclonale, on peut ainsi y trouver en ordre de fréquence trois types principaux de complexes immuns d'Ig :

- ✓ Une IgM monoclonale associée à des IgG polyclonales. La fraction IgM monoclonale est douée d'une activité facteur rhumatoïde (FR) (IgM à activité anti IgG). Ce sont les cryoglobulines de type II les plus fréquentes ;
- ✓ Une IgG monoclonale associée à des IgG polyclonales (IgG à activité anti IgG), IgG monoclonale y étant souvent majoritaire ;

- ✓ Une IgA monoclonale associée à des IgG polyclonales (IgA à activité anti IgG); ce sont les cryoglobulines mixtes de type II les plus rares et il existe fréquemment dans ce cas une cryogélification.

La cryoprécipitation des cryoglobulines de type II est en général assez rapide (une journée), les Ig étant parfois associées à des fractions du complément. Leur concentration est variable, généralement comprise entre 1 et 5 g/L et leur amplitude thermique très variable.

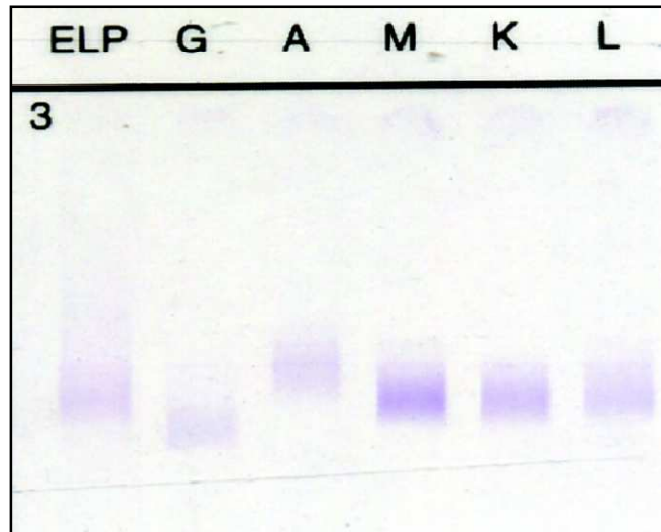


*AST : Anti-sérum total*

**Figure 2 :** Cryoglobuline de type II associant une IgM Kappa monoclonale et des IgG polyclonales [19].

### **3. Cryoglobulines constituées d'une ou de plusieurs Ig polyclonales = Type III (figure 3)**

Ce sont le plus souvent des complexes d'IgM polyclonales et d'IgG polyclonales; comportant plus rarement des IgA polyclonales. Les Ig sont parfois associées à des fractions du complément (C4 ou C1q) ou à d'autres protéines sériques (lipoprotéines). Leur cryoprécipitation est en général lente (souvent plusieurs jours) et leur concentration assez faible dépasse très rarement 1 g/l.



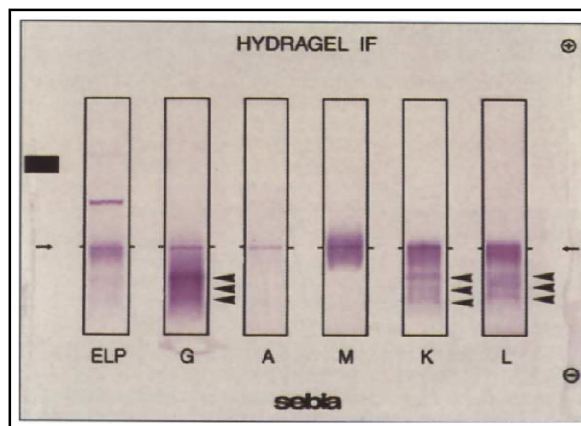
*Figure 3 : Cryoglobuline mixte de type III associant principalement des IgM polyclonales avec des IgG et des IgA polyclonales [15].*

#### **4. Cryoglobulines comportant des Ig oligoclonales, un quatrième type de cryoglobulines**

A côté des types II et III, existe un troisième type de cryoglobulines mixtes (CM) montrant une composition microhétérogène, dont la structure immunochimique ne peut pas être ajustée dans aucune des catégories décrites ci-dessus. L'utilisation des méthodes sensibles, telles que l'immunofixation (IF), immunoblot ou électrophorèse bidimensionnelle sur gel de polyacrylamide [14, 20, 21], montre qu'il s'agit de cryoglobulines comportant des Ig oligoclonales dont l'aspect multi-bandes en IF est très caractéristique, rencontré notamment dans le sérum de patients présentant une pathologie infectieuse virale (VIH ou hépatite C par exemple). La microhétérogénéité d'IgM, identifiée dans environ 10% des cas, a été considérée comme possible état intermédiaire de transition de CM à partir du type III au type II. Ce statut sérologique et la transformation à partir de polyclonales vers oligoclonales et enfin fraction monoclonale IgM-FR, reflète l'expansion continue des clones de cellules B [21].

Cet aspect particulier de CM formée par IgM et/ou IgG oligoclonale et des traces d'immunoglobulines polyclonales est classé par certains auteurs comme étant un « pré-type II » ou « type III oligoclonal », ou « type II – III » [18] ou « Iib » comme défini par Le Carrer [14].

Une illustration du typage par immunofixation d'une cryoglobuline de ce type est présentée sur la figure 4.



**Figure 4 :** Cryoglobuline mixte comportant des IgM polyclonales et des IgG oligoclonales (◄) dans le cadre d'une hépatite virale [14].

En outre, Musset et al. ont rapporté que 12% des 210 cas de CM présentaient une IgG monoclonale supplémentaire sur immunoblot caractérisée par les isotypes IgG1 (37 %) et IgG3 (63%). Les IgG3 ont un rôle particulier dans la génération des cryoglobulines, en raison de leur propriétés physicochimiques à se réunir grâce à l'interaction Fc-Fc spontanée et au potentiel cryogénique d'IgM-FR avec la spécificité d'activité anti IgG3 [22].

**Tableau III : Classification des cryoglobulines proposée par Brouet et al. [7, 9, 23, 24]**

<b>Type de cryoglobuline</b>	Type I : monoclonale	Type II : mixte monoclonale et polyclonale	Type III : mixte polyclonale
<b>Caractère des Ig la composant</b>	Une Ig monoclonale	Une Ig monoclonale + une ou plusieurs classes d'Ig polyclonales	Une ou plusieurs classes d'Ig polyclonales
<b>Classe des Ig rentrant dans sa composition</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. IgM monoclonale (le plus souvent)</li> <li>. IgG monoclonale</li> <li>. IgA monoclonale</li> <li>. Chaînes légères libres d'Ig (très rares)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. IgM monoclonale + IgG polyclonales (le plus souvent)</li> <li>. IgG monoclonale + IgG polyclonales</li> <li>. IgA monoclonale + IgG polyclonales</li> <li>. IgM monoclonale + IgG et IgA polyclonales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. IgM ou IgG ou IgA polyclonales</li> <li>. IgG + IgM polyclonales</li> <li>. IgG + IgA polyclonales</li> <li>. IgM + IgG + IgA polyclonales</li> </ul>
<b>Concentrations usuelles</b>	5-20 g/L	1-5 g/L	0,06-1 g/L
<b>Fréquence</b>	5-25%	40-60%	40-50%
<b>Seuil thermique commun / vitesse de précipitation / autres caractéristiques de laboratoire</b>	>32°C / rapide (minutes-heures) / gélification de sang / formation de rouleaux sur le film de sang.	Généralement >23°C / intermédiaire (heures à jours) / C4 bas.	Variable, beaucoup sont < 23°C et peu susceptibles d'être cliniquement significative / lente (3-7 jours).

<b>Caractéristiques biologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Auto-agrégation par fragment Fc des Ig.</li> <li>. Activité FR négative</li> </ul>	Activité FR du composant monoclonal contre la partie Fc des Ig polyclonales.	Activité FR du composant polyclonal (généralement IgM).
<b>Caractéristiques pathologiques</b>	Altérations de tissus histologiques.	Vascularites leucocytoclasiques.	Vascularites leucocytoclasiques.
<b>Maladies sous-jacentes</b>	Troubles lymphoprolifératifs multiples : myélome, M.Waldenström, LLC, LNH à cellules B.	«Essentielle» ou secondaire aux infections (VHC, autres), troubles auto-immuns et /ou lymphoprolifératifs.	«Essentielle» ou secondaire aux infections par (VHC et autres virus, bactéries, fongiques, parasitaires), maladies auto-immunes.
<b>Manifestations cliniques</b>	Perturbations Hemorhéologiques, acrocyanose, gangrène, Phénomène de Raynaud et vasculopathie occlusive.	Purpura, arthralgies, faiblesse, vascularite systémique, LNH à cellules B.	Purpura, arthralgies, faiblesse, vascularite systémique.

**Abréviations:** FR: facteur rhumatoïde; LLC: leucémie lymphoïde chronique; LNH: lymphome non Hodgkinien.

**Tableau IV : Classification des cryoglobulines proposée par Le Carrer [10].**

<b>Type de la cryoglobuline</b>	<b>Caractère des Ig la composant</b>	<b>Classe des Ig rentrant dans sa composition</b>
Type I : monoclonale	Une Ig monoclonale	<ul style="list-style-type: none"> <li>. IgM monoclonale (le plus souvent)</li> <li>. IgG monoclonale</li> <li>. IgA monoclonale</li> <li>. Chaînes légères libres d'Ig (très rares)</li> </ul>
Type IIa mixte : monoclonale et polyclonale	Une Ig monoclonale + une ou plusieurs classes d'Ig polyclonales	<ul style="list-style-type: none"> <li>. IgM monoclonale + IgG polyclonales</li> <li>. IgG monoclonale + IgG polyclonales</li> <li>. IgA monoclonale + IgG polyclonales</li> <li>. IgM monoclonale + IgG et IgA polyclonales</li> </ul>
Type IIb mixte : oligoclonale et polyclonale	Une ou plusieurs classes d'Ig oligoclonales + une ou plusieurs classes d'Ig polyclonales	<p>IgG ou / et IgM oligoclonales + IgG ou / et IgM polyclonales</p>
Type III mixte : polyclonale	Une ou plusieurs classes d'Ig polyclonales	<ul style="list-style-type: none"> <li>. IgM ou IgG ou IgA polyclonales</li> <li>. IgG + IgM polyclonales</li> <li>. IgG + IgA polyclonales</li> <li>. IgM + IgG + IgA polyclonales</li> </ul>



## IV-Etiologies des cryoglobulines (tableau V)

Il faut distinguer les cryoglobulines secondaires des cryoglobulinémies dites essentielles pour lesquelles les examens cliniques et biologiques ne mettent pas en évidence de pathologie associée. Le cadre des cryoglobulinémies mixtes essentielles s'est considérablement restreint depuis l'implication du virus de l'hépatite C [4].

*Tableau V: Principales étiologies des cryoglobulines [7, 8]*

<b>1. Syndromes lymphoprolifératifs (cryoglobuline de type I et II)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Macroglobulinémie de Waldenstrom (dans 7 à 20 % des cas)</li><li>· Myélome (dans 5 à 10 % des cas)</li><li>· Plasmocytome</li><li>· Lymphome non hodgkinien</li><li>· Leucémie lymphoïde chronique (rarement)</li><li>· Lymphadénopathie angio-immunoblastique</li></ul>
<b>2. Maladies auto-immunes (cryoglobulines mixtes de type II ou III)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Lupus érythémateux disséminé, syndrome de Gougerot-Sjogren, spondylarthrite ankylosante, syndrome de Behcet</li><li>· Polyarthrite rhumatoïde, périarthrite noueuse, polymyosite, sclérodermie, cirrhose biliaire, syndrome de Kawasaki</li><li>· Maladie chronique des agglutinines froides</li><li>· Anémies hémolytiques auto-immunes</li><li>· Purpura thrombopéniques idiopathiques</li><li>· Purpura rhumatoïde</li><li>· Thyroïdite auto-immune</li><li>· Hépatites auto-immunes</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Maladie coeliaque</li> <li>· Granulomateuse de Wegener</li> <li>· Sarcoidose</li> <li>· Pemphigus vulgaire</li> <li>· Fibrose endomyocardique</li> <li>· Fibrose pulmonaire idiopathique</li> </ul>
<p><b>3. Maladies infectieuses (cryoglobulines mixtes de type II ou III de caractère transitoire)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Affections virales: virus d'Epstein Barr, cytomegalovirus, herpes, VIH, hépatite virale A, B, C (dans 40 à 90 % des cas).</li> <li>· Affections bactériennes: streptocoque (endocardite d'Osler), staphylocoque, syphilis, lèpre, brucellose, tuberculose pulmonaire, fièvre Q ou coxiellose.</li> <li>· Affections parasitaires: toxoplasmose, paludisme, leishmaniose, trypanosomiase, bilharziose</li> <li>· Affections fongiques : coccidioidomycose</li> </ul>
<p><b>4. Maladies rénales ou hépatiques (cryoglobulines de type II ou III)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Glomérulonéphrites aiguës post-streptococciques ou membrano-prolifératives</li> <li>· Cirrhose, hépatopathies chroniques</li> </ul>
<p><b>5. Cryoglobulinémies mixtes essentielles (type II ou III)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Parfois asymptomatiques, sans aucune cause trouvée initialement; le plus souvent manifestations précurseurs d'une néoplasie ou d'une hépatite virale C.</li> </ul> <p>Nécessite une surveillance car maladie sous-jacente en cours d'évolution.</p>

## **A. Les infections**

Certaines infections s'accompagnent de la production de cryoglobulines. Les agents infectieux impliqués ont la particularité de persister longtemps dans l'organisme hôte, induisant une stimulation antigénique prolongée du système immunitaire notamment lymphocytaire B. Ces cryoglobulines, de type II ou III, sont souvent transitoires et disparaissent avec l'agent causal. Il y a généralement production d'immunoglobulines à activité facteur rhumatoïde qui peuvent être polyclonales, la cryoglobuline est alors de type III ou monoclonale conduisant à une cryoglobuline de type II [25].

### **1. Infections virales**

#### **a-Rôle du VHB**

Sur la base de l'association fréquente entre CM et une atteinte hépatique, une hypothèse du rôle des virus de l'hépatite dans l'étiopathogénie de la maladie a été émise depuis le début des années 1970 [26, 27]. Par exemple, Levo et al. [28] ont affirmé que la plupart des CM ont été causées par l'hépatite B (VHB), mais les conclusions de ces auteurs ont ensuite été réfutées. Apparemment la prévalence des anticorps anti-VHB a été attribuée aux variables confondantes, comme l'âge, l'origine géographique, le statut socio-économique, et les hospitalisations fréquentes [29, 30].

Le VHB est actuellement considéré comme un facteur étiologique de CM dans moins de 5 % des cas [31, 32].

#### **b-Rôle du VHC**

L'étude de la relation entre cryoglobulinémie mixte essentielle (CME) et infections virales, en particulier sur la partie prétendue « virus hépatotrope », a commencé dans la seconde moitié des années 1970. Mistaken met l'accent sur le rôle étiologique du virus de l'hépatite C et collecte de preuves en faveur de l'étroite relation entre CME et VHC, comme le montre le très grand pourcentage de marqueurs d'infection par le VHC (anti-VHC et l'ARN du VHC) dans le sérum de patients CME.

L'incidence de l'infection par le VHC en CME, en fait, est comprise entre 40% et 100% dans les séries de cas rapportés et en différentes zones géographiques, mais les techniques de diagnostic améliorées ont montré l'augmentation des taux de prévalence dans la même zone au cours du temps. Presque tous les cas de CME dans la région méditerranéenne sont infectés par le VHC.

Les trois principales sources de données pour le rôle étiologique du VHC dans la cryoglobulinémie sont énoncées ci-dessous [33] :

1. Le sérum des patients porteurs d'une cryoglobulinémie de type II contient des anticorps anti-VHC dans 87 à 100 % des cas, et de l'ARN messenger (ARNm) codant le VHC dans 71 à 100 % des cas. De plus, l'ARNm codant le VHC est concentré jusqu'à 1 000 fois dans le cryoprécipité, et ce dernier contient la plupart des antigènes connus du VHC (core, E1, E2, NS3, NS4, NS5) ;
2. L'examen de solubilité et de cryoprécipitation de complexes immuns suggère que le composant d'IgG qui se lie à l'IgM-FR est dirigé contre les protéines du VHC. Il est intéressant de noter que l'activité d'anticorps anti-VHC dans les complexes immuns est dirigée à la fois contre les protéines de surface du virus et les protéines masquées par la capsid ;
3. Les protéines virales ont été trouvées dans le tissu endommagé, à savoir dans la peau de patients atteints de vascularite cryoglobulinémique et le rein de ceux qui ont une glomérulonéphrite membranoproliférative cryoglobulinémique.

### **c-Rôle du VIH**

Une forte prévalence de CM a également été observée chez les patients souffrant de virus d'immunodéficience humaine (VIH), avec ou sans co-infection par le VHC. Dans la plupart des cas, ces cryoglobulinémies sont asymptomatiques et appartiennent au type III dans la classification de Brouet. Chez les patients mono-infectés par le VIH, la prévalence de CM se situe entre 3 % et 27% [34, 35].

Dans l'étude de Dimitrakopoulos et al. , les séquences d'ARN du VIH ont été détectées dans les cryoprécipités, et la moyenne de la charge virale du VIH chez les patients

cryoglobuline-positifs était significativement plus élevée que chez individus cryoglobuline-négatifs. Cette constatation suggère que la réplication du VIH exerce un rôle direct dans l'induction de la cryoglobulinémie, par l'induction d'une stimulation antigénique continue des lymphocytes B, ce qui peut entraîner la production de cryoglobulines déjà dans les premiers stades de l'infection [36].

La preuve indirecte du rôle étiologique du VIH dans la pathogenèse de cryoglobulines est également fournie en constatant que la thérapie antirétrovirale hautement active (TARHA) semble diminuer la prévalence de la cryoglobulinémie chez les patients infectés par le VIH, VHC-négatifs [37]. Cependant, le cas d'un patient atteint du VHC lié au syndrome cryoglobulinémique avec infection concomitante par le VIH a été signalé. Le VIH a provoqué la rémission des symptômes et la disparition de cryoglobulines circulantes [38]. Dans ce cas particulier, le VIH semble avoir exercé une suppression plutôt qu'un effet de dérégulation sur le système immunitaire, conduisant à la rémission clinique de CM.

Un phénomène similaire a été décrit chez plusieurs patients atteints de lupus érythémateux systémique (LES), après infection par le VIH [39].

En conclusion, Le VIH est un exemple d'agent infectieux qui peu activer les lymphocytes B, provoquant la production de complexes immuns cryo-précipitants, la plupart du temps sans signification pathologique.

#### **d-Autres virus**

D'autres associations entre d'autres virus et cryoglobulinémie mixte ont été décrites. Elles sont toujours liées à des observations anecdotiques, souvent sans évaluation suffisante clinico-sérologique. Les cryoglobulines ont été trouvées chez les patients atteints du virus d'hépatite A, du virus d'herpès zoster, du cytomégalovirus, d'infections de varicelle et de virus du zona et du parvovirus B19. Généralement, cette cryoglobulinémie disparaît après guérison de l'infection virale [40, 41].

## **2. Infections bactériennes**

Des cryoglobulines de type II ou, le plus souvent de type III, peuvent être retrouvées au cours des endocardites infectieuses, des infections à staphylocoques, de la syphilis secondaire, de la lèpre, des bactériémies des courts-circuits intestinaux, de la brucellose, de la tuberculose pulmonaire, de la fièvre Q [4, 7, 8, 25].

## **3. Infections parasitaires et fongiques**

Des cryoglobulines peuvent être mises en évidence au cours de la toxoplasmose, de la leishmaniose, du paludisme et du paludisme viscéral évolutif, de la splénomégalie hyperréactive tropicale, de la trypanosomiase africaine, de la bilharziose, de la coccidioïdomycose [4, 7, 8, 25].

## **B. Maladies auto-immunes et systémiques**

Les cryoglobulines retrouvées dans les pathologies auto-immunes et systémiques sont de type II ou III.

Dans le syndrome de Sjögren primaire, la cryoglobulinémie est associée à l'implication extraglandulaire, un risque accru de lymphome à cellules B, et une faible survie. La prévalence de la cryoglobulinémie est cinq fois plus élevée chez les patients présentant à la fois syndrome de Sjögren et infection VHC par rapport à ceux qui n'ont pas été infectés par VHC [4].

Les cryoglobulines sont détectées chez près de 10 % des patients avec lupus érythémateux systémique et arthrite rhumatoïde, mais les valeurs de cryocrite sont généralement plus faibles par rapport à celles des patients atteints de syndrome de Sjögren, et les manifestations cliniques de vascularite cryoglobulinémique sont beaucoup moins fréquentes [4].

Les cryoglobulines peuvent être détectées dans un large éventail d'autres maladies auto-immunes telles que la spondylarthrite ankylosante, la polyarthrite rhumatoïde, la périartérite noueuse, le syndrome de Kawasaki, les polymyosites, la sclérodermie, la cirrhose biliaire

primitive, les pathologies inflammatoires du tube digestif, les thyroïdites et la sarcoïdose. [4, 7, 8].

### **C. Les syndromes lymphoprolifératifs**

Les syndromes lymphoprolifératifs à cellules B sont la principale cause de cryoglobulinémie associée à la malignité. Les cryoglobulines de type I ou II peuvent être retrouvées dans 7 à 20 % des cas de maladie de Waldenström, dans 5 à 10 % des myélomes multiples, dans les plasmocytomes, les lymphomes non hodgkiniens et la maladie de Hodgkin, et dans une plus faible proportion, au cours des leucémies lymphoïdes chroniques [4, 10].

### **D. Atteintes hépatiques chroniques**

Des cryoglobulines de type II ou III sont retrouvées au cours des hépatopathies chroniques, des cirrhoses hépatiques [4, 10]. Il semble maintenant que les cryoglobulines retrouvées dans les hépatopathies soient majoritairement dues à l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC).

### **E. Atteintes rénales**

Des cryoglobulinémies mixtes peuvent être retrouvées dans les glomérulonéphrites aiguës post-streptococciques ou les glomérulonéphrites primitives membranoprolifératives [25].

### **F. Cryoglobulinémie essentielle**

Dans près de 10 % des cas, les cryoglobulinémies mixtes sont considérées comme idiopathiques ou essentielles [4]. La possibilité de l'infection occulte par le VHC devrait être étudiée chez des patients avec cryoglobulinémie qui présentent des anomalies des tests de fonction hépatique persistante de cause inconnue.

## **V-Etudes épidémiologiques, démographiques et de survie de patients cryoglobulinémiques**

Le syndrome cryoglobulinémique (SC) est considéré comme un trouble relativement rare, il n'existe pas encore d'études épidémiologiques suffisantes concernant sa prévalence globale, mais selon une étude réalisée en 2009 il est  $< 5/10\ 000$  personnes [42]. D'autres études estiment la prévalence de la cryoglobulinémie à  $1/100\ 000$  personnes [43, 44].

### **A-Rôle du VHC**

Bien que l'origine virale de la cryoglobulinémie soit longuement suspectée, ce n'est que dans le début des années 1990 que la relation étroite entre les virus de l'hépatite C (VHC) et le SC a émergé. En effet, une forte prévalence (50 à 86 %) [23, 45] de la virémie VHC a été démontrée dans une grande série de patients cryoglobulinémiques. Par conséquent, le SC est considéré comme la plus commune manifestation extra-hépatique de l'infection chronique par le VHC.

La propagation du SC est donc, sans surprise, étroitement liée à la distribution mondiale de l'infection par VHC, (**tableau VI**) [4]. Selon les évaluations de l'OMS publiées en 2004, dans le monde entier, environ 140 millions de personnes sont infectées par le VHC, ce qui représente 2,2% de l'économie de population mondiale, avec une grande variabilité dans la répartition géographique [46, 47]. La majorité des personnes infectées par le VHC vivent dans les pays asiatiques (Taiwan, Mongolie, Pakistan), l'Afrique subsaharienne (Cameroun, Burundi, Gabon), et dans l'est de la Méditerranée (l'Egypte, avec un taux d'infection  $> 20\ %$ , a la plus haute fréquence) [48]. En outre, l'OMS a calculé que chaque année, il y a entre trois et quatre millions de nouveaux cas d'hépatite C [49].

Au cours des 20 dernières années, l'incidence de l'infection par le VHC dans les pays occidentaux a diminué en raison d'une plus grande sécurité des transfusions de sang et des améliorations dans les conditions de santé; cependant, l'augmentation de l'abus de drogues et l'immigration de personnes de zones à forte répartition du virus pose un défi à la prévention de nouvelles hausses des infections.



En Europe du Nord, la prévalence globale est comprise entre 0,1 % et 1%. Dans l'Europe centrale, elle est intermédiaire, allant de 0,2% aux Pays-Bas à 1,2 % en France, et dans le sud de l'Europe, dont l'Italie, la prévalence varie entre 2,5 % et 3,5% [48].

Compte tenu de la présence mondiale de l'infection par le VHC, la prévalence globale de la cryoglobulinémie est susceptible d'être sous-estimée. En outre, une incidence plus élevée de cryoglobulinémie mixte liée au VHC peut être prévue, surtout dans les pays sous-développés. Si la mesure est avec des méthodes appropriées, les cryoglobulines sont positives chez environ 47 à 73 % des patients atteints du VHC. Vigano et al. , en 2007 [50], ont détecté des cryoglobulines chez 47% de leur patients. Dans l'étude de Ramos Casals [51], 73% des patients avaient une cryoglobulinémie asymptomatique tandis que 27 % se présentaient avec des symptômes cryoglobulinémiques.

D'autres données plus récentes montrent une prévalence de cryoglobulines chez les patients VHC positifs de l'ordre de 70 % [52]. Certaines études rapportent une petite augmentation de l'incidence de cryoglobulinémie mixte de type II [53] alors que Vigano, dans son étude prospective sur 10 ans, a démontré une prédominance du type III (80%) [50]. Deux études [51, 54] ont rapporté une prévalence du VHC de génotype1, qui n'a pas été confirmée dans d'autres rapports [55, 56].

La CM symptomatique franche est rare, probablement se produisant chez moins de 1 à 5 % des patients atteints d'infection d'hépatite C chronique [23, 57]. Deux travaux différents ont démontré qu'elle semble être plus fréquente chez les patients cirrhotiques [50, 53]. En outre, les patients atteints de cryoglobulinémie en raison d'une infection chronique par le VHC auraient une incidence plus élevée de cirrhose et une augmentation des scores de fibrose comparés aux patients sans cryoglobulinémie.

L'influence du polymorphisme HLA (Humain Leukocyte Antigen) de classe II sur la production des cryoglobulinémies liées au VHC doit être soulignée avec des haplotypes (DR11 et DR8) qui semblent être associés à une augmentation du risque de façon significative pour le développement de CM type II chez les patients atteints d'une infection chronique par

le VHC [58]. Par contre, d'autres haplotypes (DR7) semblent protéger contre cette forme de maladie [56].

*Tableau VI : Prévalence de la cryoglobulinémie chez les patients atteints d'une infection chronique par le VHC [4].*

<b>Pays</b>	<b>Pourcentage (%)</b>	<b>Pays</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
France	56%	Inde	32 %
Italie	55 %	Kuwait	30 %
Pologne	55 %	Egypte	29 %
Lithuanie	51 %	Allemagne	28 %
Grèce	46 %	Etats unis	19 %
Chine	44 %	Royaume uni	19 %
Espagne	43 %	Turkie	17 %
Bulgarie	37 %	Iran	16 %
Japan	37 %	Irlande	15 %

## **B-VHB et VIH**

Avant la détection du VHC, VHB a été considéré comme impliqué dans la pathogenèse de la plupart des cryoglobulinémies [59] mais il ne pouvait pas être confirmé dans une grande série [59].

Bien que le VHB et le VHC aient des caractéristiques épidémiologiques très similaires, les quelques séries de « cryoglobulinémie et infection par le VHB » ne permettent pas la détermination du rôle de co-infection par le VHC. Une étude récente a évalué si l'infection occulte par le VHB pouvait coopérer avec l'infection par le VHC dans la pathogénie de CM et/ou si elle a été impliquée dans la pathogénie indépendante du VHC [60].

Le VIH a une affinité pour les lymphocytes B, il induit leur prolifération et leur transformation en plus d'une augmentation de la synthèse des immunoglobulines. La réplication virale à l'intérieur des lymphocytes contribue à leur transformation néoplasique ou altération de la fonction, manifestée dans la synthèse d'immunoglobulines pathologiques comme les cryoglobulines [61].

Les cryoglobulinémies ont été rapportées chez une proportion importante de patients infectés par le VIH : 15 à 20% [43, 44].

### **C-Infections bactériennes et parasitaires**

Certains travaux rapportent une association entre cryoglobulines et infections bactériennes, y compris les infections par des bactéries gram- (*Proteus mirabilis*, *Treponema pallidum*, *Rickettsiaceae*, *Borrelia burgdorferi*) et chez les patients atteints d'endocardite à *Staphylococcus aureus*. Dans une étude de la lèpre lépromateuse avec ou sans érythème noueux, une cryoglobulinémie a été enregistrée dans jusqu'à 95% des cas [62].

Dans une étude de cas, une association avec des parasites a été revendiquée (*Acanthamoeba* spp, la leishmaniose viscérale) [63].

### **D-Maladies auto-immunes**

Chez les patients ayant une cryoglobulinémie sans infection, la maladie est généralement suspectée sur la base de l'activité du facteur rhumatoïde. Le syndrome de Sjögren (SS), le lupus érythémateux systémique (LES), la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome des anti-phospholipides, la maladie de Behçet, et les maladies mixtes des tissus conjonctifs sont souvent trouvés en association avec CM. Monti et al. [64] ont décrit une cryoglobulinémie en association avec des maladies auto-immunes chez 5% des patients. Les cas positifs les plus fréquents étaient le syndrome de Sjögren (31%) et le lupus érythémateux systémique (26%), mais la sclérose systémique, l'arthrite rhumatoïde, et la polymyosite ont été également concernées.

Dans une autre étude, 15 à 25% des patients atteints de maladies du tissu conjonctif ont une cryoglobulinémie [43, 44].

Une CM positive monoclonale (type II) est trouvée plus fréquemment chez les patients atteints de SS (70%), de lymphome à cellules B (80%), de vascularites systémiques (100%), mais seulement chez un tiers des patients avec CM «essentielle» [31].

Parmi les néoplasmes hématologiques associés à une cryoglobulinémie, il y a une nette prédominance des troubles lymphoprolifératifs (principalement lymphome non hodgkinien). L'infection par le VHC est le facteur étiologique principal associé à des tumeurs malignes hématologiques chez les patients ayant une cryoglobulinémie, suivie par les maladies auto-immunes systémiques, telles que SS et LES, soulignant le lien étroit entre lymphoprolifération, auto-immunité et VHC [31].

### **E-Maladies lymphoprolifératives**

Bryce, en 2006 [65], a déclaré des taux plus élevés de troubles lymphoprolifératifs et auto-immuns chez des patients ayant une CM positive.

### **F-Autres associations**

Les cryoglobulines peuvent être trouvées dans la glomérulonéphrite aiguë et chronique, la transplantation rénale, la dysprotéïnémie et peut être secondaire à la vaccination [31].

### **G-Cryoglobulinémie essentielle**

Les patients présentant une cryoglobulinémie sans aucunes maladies sous-jacentes connues pour induire la production de cryoglobulines, sont rares. Dans ces cas, la cryoglobulinémie est toujours classé comme «essentielle» [56, 57, 60].

Toutefois, dans ces cas, le rôle des infections virales (VHC et VHB) ne peuvent pas être exclues. Par exemple, le virus occulte peut être localisé dans les cellules B mononucléaires périphériques, agissant comme un déclencheur pour le développement de prolifération des cellules B polyclonales [66].

## **H-Sexe**

La cryoglobulinémie semble être plus fréquente chez les femmes. Une grande série [64] a rapporté un rapport femmes / hommes d'environ 2/1. Ces données ont été ensuite confirmées dans deux autres études avec un rapport femmes / hommes de 3/1 [43, 44].

## **I-Histoire naturelle et progression**

Dans un rapport publié en 1986, l'âge au premier diagnostic de la cryoglobulinémie a été signalé à 53,28 années [67]. En 1995, deux études ont déterminé un âge de 52,7 et 54,7 années respectivement [68, 69]. Des études plus récentes ont montré que l'âge moyen au premier diagnostic est de 64,4 années [70, 71].

Il existe peu de données sur l'histoire naturelle de la cryoglobulinémie. Le modèle le plus courant de la maladie est un trouble bénin, lentement progressif avec un pronostic et survie relativement favorable. Chez un petit pourcentage de patients, il y a une évolution clinique modérée à sévère. Cependant, l'évolution clinique peut devenir tout à fait spectaculaire, avec des atteintes multi-viscérales et des complications mortelles. La cryoglobulinémie sévère se compose d'une glomérulonéphrite avec une insuffisance rénale, une vascularite gastro-intestinale catastrophique, une atteinte du poumon avec insuffisance respiratoire, une atteinte grave du système nerveux central, de la moelle épinière, ou des nerfs crâniens [51].

Les manifestations cutanées de la cryoglobulinémie sont les plus fréquentes manifestations de la maladie, avec un purpura qui est le symptôme le plus courant, à la fois au moment du diagnostic et au cours du suivi.

Dans quelques cas, l'atteinte grave de plusieurs organes se développe après une longue période de suivi. Selon Tarantino [68, 71], l'intervalle médian entre le premier symptôme et l'atteinte rénale est de 48 mois. Le modèle typique est une glomérulonéphrite membranoproliférative. Le pronostic des patients atteints de cryoglobulinémie peut être gravement touché par la présence d'une insuffisance rénale ou hépatique, isolée ou concomitante.

Dans un pourcentage limité mais significatif de patients (14%) [23], la cryoglobulinémie est compliquée par une tumeur maligne. Le lymphome à cellule-B est la tumeur la plus fréquente mais d'autres complications néoplasiques, c'est à dire, le carcinome hépatocellulaire et le cancer papillaire de la thyroïde, peuvent souvent se produire en tant que manifestations tardives. En raison de l'apparition éventuelle de malignité lors de son évolution clinique, la cryoglobulinémie est considérée comme un trouble pré-néoplasique.

### **J-Survie**

Les patients atteints d'une cryoglobulinémie ont un taux de mortalité plus élevé que la population générale. Un certain nombre de facteurs pronostiques sont invariablement associés à une mortalité plus élevée, en particulier l'âge, l'atteinte rénale, une vascularite généralisée et le type de cryoglobuline. Cependant, le pronostic de la cryoglobulinémie s'est amélioré ces dernières années et aujourd'hui les causes de décès chez les patients cryoglobulinémiques diffèrent de celles rapportées dans le passé.

La survie cumulée sur 10 ans après diagnostic est de 56 à 58 % [23, 65], mais selon d'autres données, elle augmente jusqu'à 82 % [69]. Le taux de survie semble être similaire chez les patients VHC positifs et séronégatifs, bien que l'âge réel auquel la CM liée au VHC se produit soit difficile à déterminer. En même temps, il est difficile d'établir la durée de la maladie en raison des difficultés de diagnostic ou classifications incorrectes des patients.

En 1986, il est constaté que l'âge moyen au décès était de 54 ans, sur la base des résultats d'une étude multicentrique [67]. En 2007, l'âge moyen au décès était de 67,2 années [65]. Cette différence pertinente peut être due à une grande amélioration de la survie, l'évolution des facteurs de risque associés (tels que le VIH et les co-infections par le VHB ou abus d'alcool), ou à une meilleure gestion clinique de la maladie.

Le début clinique de la cryoglobulinémie peut être rétrospectivement en corrélation avec les différents développements. L'absence des syndromes du foie ou du rein au moment du diagnostic est corrélée avec un taux de survie plus long alors que les patients atteints de cirrhose ou de néphropathie meurent plus tôt, comme le font les patients présentant des comorbidités [70].

## **K-Causes de décès**

Plusieurs facteurs peuvent influencer le devenir des patients atteints de cryoglobulinémie. Au début, de nombreuses observations suggèrent que l'atteinte rénale, les infections et les vascularites répandues sont les principales causes de la mort. Une étude en 1986 a révélée une association entre les cryoglobulines mixtes et l'augmentation de mortalité [65].

Au cours des 20 dernières années, des données ont été recueillies sur les causes de décès des patients cryoglobulinémiques qui ont été suivis dans les hôpitaux et les universités appartenant au GISC (*Gruppo Italiano per lo studio delle Crioglobulinemie*). Ainsi, la série était composée de 1055 patients avec cryoglobulinémie, dont 184 décédés de la maladie [12].

Les auteurs ont comparé les grandes pathologies de ces patients au moment de leur première présentation avec la cause de leur décès. Au début de la cryoglobulinémie, environ 20 % des patients avaient peu de symptômes, le purpura était le signe principal. Le reste, 80 %, présentaient des signes d'insuffisance d'organe. La positivité du VHC a été déterminée chez 158 patients et 14 % avaient une hépatopathie liée au VHC (cirrhose dans les deux tiers des cas). Chez 24% des patients, il y avait une atteinte rénale importante. Les maladies hématologiques, neurologiques et auto-immunes étaient moins fréquentes.

La survie moyenne était de 8 ans. Elle était moins chez les patients avec hépatopathie (6,78 années), néphropathie (5,82 années) et atteintes des deux organes (4,06 années), mais plus pour les patients qui n'avaient pas d'atteinte hépatique ou rénale (10,26 ans).

Parmi les causes identifiées du décès, 38 % des patients sont décédés d'hépatopathie, avec 13 % à cause de la cirrhose. Le carcinome hépatocellulaire s'est développé chez 7 %. Le décès était dû à une septicémie chez 23 % et à des atteintes cardiovasculaires chez 17 %. Les autres causes étaient neurologiques, hématologiques, néoplasiques ou une vascularite. Les lymphomes étaient observés chez 7 % des malades.

## VI-Physiopathologie

### A-Génération de cryoglobulines

Les cryoglobulines sont générées par l'expansion clonale des cellules B, dans le cadre de l'un des troubles lymphoprolifératif ou stimulation immunitaire persistante provoquée par des infections chroniques ou maladies auto-immunes.

Les cryoglobulinémies de types I et II résultent de l'expansion monoclonale d'un clone qui peut être ouvertement malin (myélome multiple), qui couvre (macroglobulinémie de Waldenström, lymphome plasmacytoïdes), ou indolent (comme dans gammopathie monoclonale de signification indéterminée). Par contre, l'expansion des cellules B est polyclonale dans la cryoglobulinémie type III [4].

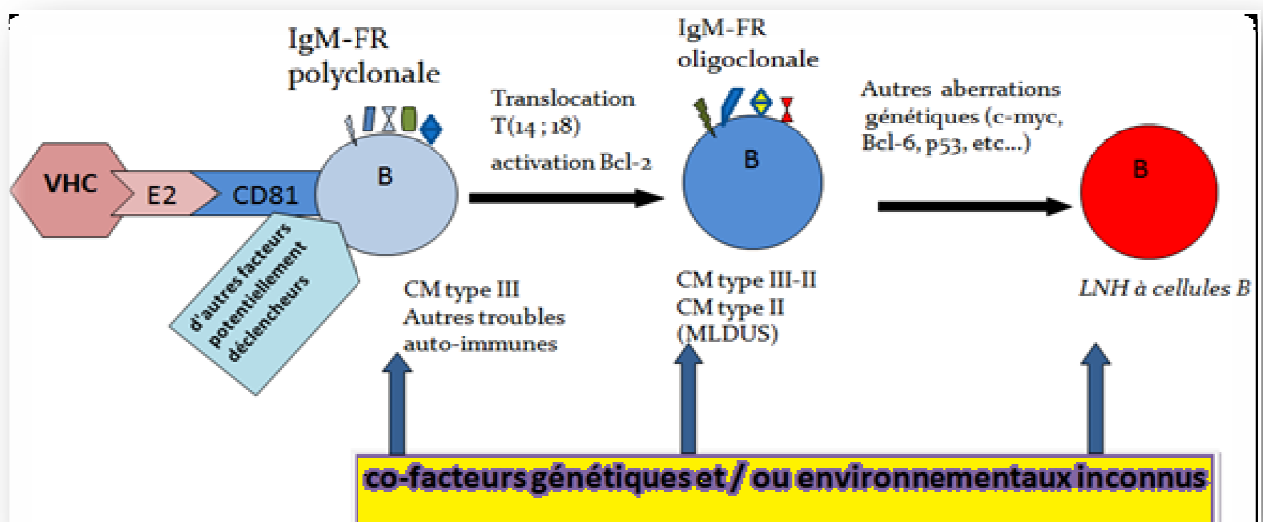
L'infection par le VHC est la clé modèle pour étudier l'étiopathogénèse. Dans ce contexte, le lymphotropisme du VHC représente l'étape première d'expansion clonale des cellules B, ainsi que l'ensemble des acteurs du système immunitaire qui est impliqué dans la genèse des anomalies immunologiques consécutives à la stimulation antigénique prolongée par le VHC. Cette stimulation conduit à la production de la cryoglobulinémie, puis à la mobilisation de cellules effectrices (le plus souvent lymphocytes T), à l'origine des lésions vasculaires inflammatoires et des symptômes cliniques de la maladie. Le virus ne semble pas avoir de rôle toxique direct.

*L'immunité cellulaire lymphocytaire B* est impliquée dans la production des anticorps (anti-VHC, IgM-FR), la CM de type II est caractérisée par une prolifération oligoclonale ou monoclonale de lymphocytes B dans le foie et la moelle osseuse, le plus souvent sécrétant une IgM à activité facteur rhumatoïde. Cette prolifération lymphocytaire B serait liée à une pression de sélection favorisée par la stimulation antigénique chronique, et notamment la glycoprotéine d'enveloppe E2 ou la protéine NS3 du VHC. Le virus hépatotrope et lymphotrope (VHC) peut se répliquer au sein des lymphocytes B. Il interagit avec le lymphocyte B via l'engagement de la glycoprotéine E2 avec le récepteur CD81 exprimé par les lymphocytes B et considéré comme un des récepteurs du VHC. Cette interaction aurait comme conséquence l'abaissement du seuil d'activation antigénique et une augmentation de



la prolifération lymphocytaire B. Certaines populations lymphocytaires B oligo- ou monoclonales disparaissent chez les patients ayant guéri sous traitement antiviral, alors que d'autres clones B peuvent apparaître à distance de la clairance virale suggérant une autonomisation secondaire qui pourra faire le lit d'une lymphoprolifération maligne.

Certains mécanismes font intervenir des mutations chromosomiques, en particulier, la translocation  $t(14,18)$  qui favorise la surexpression du facteur anti-apoptique et pro-prolifératif Bcl-2, retrouvée chez 71 à 86% des patients infectés par le VHC et cryoglobulinémiques contre 16 à 37% des patients infectés par le VHC et non cryoglobulinémiques. Les taux sériques de BLYS/Baff (*B Lymphocyte Stimulator*), cytokine majeure de la prolifération, la différenciation et la production d'immunoglobulines des lymphocytes B dont les mécanismes d'action passent par l'expression de Bcl-2, sont augmentés chez les patients ayant une CM (**figure 5**) [8].



**Figure 5:** La prolifération des cellules B représente le substrat biologique de la cryoglobulinémie [8].

## **B-Mécanismes lésionnels**

*L'immunité cellulaire lymphocytaire T* semble jouer un rôle particulièrement important dans les lésions tissulaires (nerveuses, cutanées) induites par la vascularite cryoglobulinémique liée au VHC: infiltrat lymphocytaire T dans les lésions; déficit quantitatif en lymphocytes T régulateurs (CD4+, CD25+); augmentation de certaines molécules pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ ) dans le sang et dans les lésions tissulaires nerveuses; augmentation de la production par les hépatocytes des cytokines TH1 (TNF- $\alpha$ , interféron- $\gamma$ , IL-2) et diminution de la production des cytokines TH2 (IL-4, IL-10); hyper-expression génique et protéique intra-tissulaire de métalloprotéases (MMP-1, MMP-7, MMP-9), de cytokines pro-inflammatoires (interleukin-1 $\beta$ ), et de protéines du stress oxydatif (MT1H, endothelial cell nitric oxide synthase 3, Hsp70, Hsp90) [8].

### **1-Cryoglobulines monoclonales de type I**

La symptomatologie observée peut être liée à la précipitation intravasculaire de la cryoglobuline (hypothèse confirmée par les études anatomiques), cette cryoprécipitation de l'Ig monoclonale étant favorisée par l'hyperviscosité et le froid et responsable secondairement d'une obstruction mécanique partielle ou complète des vaisseaux avec ischémie en aval.

Si le rôle du froid est évident lorsqu'il s'agit de vaisseaux superficiels, des dépôts observés dans les vaisseaux des viscères profonds protégés des variations thermiques (rein, mésentère), démontrent que le froid n'est pas le seul facteur intervenant dans le dépôt intravasculaire de la cryoglobuline. Des modifications de la microcirculation, le rôle de l'ultrafiltration dans le rein (qui augmente la concentration en protéines et la viscosité sanguine) jouent peut être aussi un rôle important [14].

### **2-Cryoglobulines mixtes de type II et III**

Les manifestations cliniques sont dues à la formation puis au dépôt dans la microcirculation de complexes immuns (la cryoglobuline composée d'immunoglobulines et de particules du VHC) circulants responsables de lésions atteignant préférentiellement la peau et le rein (dépôts confirmés par des études en immunofluorescence sur biopsie rénale ou cutanée), les complexes immuns circulants pouvant déclencher une cascade de phénomènes

inflammatoires responsables d'une vascularite; certains cryoglobulines mixtes peuvent toutefois rester asymptomatiques pendant plusieurs années. [8]

La majorité des cryoglobulines mixtes peuvent interagir avec le complément, et pour certains du moins, la cryoprécipitation nécessite la présence de C1q, puisque l'interaction entre le C1q (contenu dans le cryoprécipité) et son récepteur le C1q-R (exposé à la membrane des cellules endothéliales des vaisseaux de petit calibre) permet une fixation du complexe immun à la surface des cellules endothéliales, puis une activation non spécifique du complément et la mise en action du complexe d'attaque membranaire, suivi d'un afflux de cellules inflammatoires qui vont pénétrer la paroi du vaisseau aboutissant aux lésions de vascularite.

Cette incorporation du complément augmente la capacité de la cryoglobuline à provoquer des lésions tissulaires. [8]

### **C-Mécanismes de précipitation et facteurs influençant la précipitation**

Les raisons pour lesquelles certaines immunoglobulines perdent leur solubilité au froid restent mal connues [4, 24, 25]. Lorsqu'il s'agit d'une cryoglobuline monoclonale (type I), ce sont des forces d'interactions moléculaires faibles qui provoquent la précipitation [4]. Pour les cryoglobulines mixtes, la précipitation est liée à la formation d'un double complexe immun. Dans le cas des cryoglobulines de type II, la présence fréquente d'IgM monoclonale à activité facteur rhumatoïde est responsable de la formation de complexes d'immunoglobulines par interaction entre les fragments Fc et Fab, le premier anticorps étant dirigé contre des antigènes viraux, bactériens ou des auto-antigènes [25]. Dans ce cas, les deux immunoglobulines purifiées ne précipitent pas à + 4 °C lorsqu'elles sont isolées mais le cryoprécipité réapparaît lorsqu'on les mélange [25].

Pour les cryoglobulines de type III, la cryoglobuline est formée par des facteurs rhumatoïdes polyclonaux réagissant avec des IgG, elles-mêmes complexées à l'antigène masqué [25].

## 1-Existence d'une anomalie de structure

*A priori*, les cryoglobulines ne pourraient être considérées comme des molécules anormales caractérisées par une conformation ou un poids moléculaire singulier. Cependant, des hypothèses controversées ont été avancées concernant une modification de la structure des immunoglobulines, responsable de leur précipitation [4, 24, 25] :

- abondance des résidus tyrosine favorisant la précipitation;
- oxydation de groupements thiols, responsable de la polymérisation à froid des immunoglobulines et de leur précipitation. L'analyse par ultracentrifugation en gradient de densité a montré la présence fréquente d'immunoglobulines G et M hautement polymérisées dans les cryoprécipités traduisant l'importance des structures tertiaire et quaternaire dans les phénomènes de cryoprécipitation;
- Des anomalies portant sur la copule glucidique des Ig : déglycosylation de la cryoglobuline par la neuraminidase streptococcique avec perte de l'acide sialique évoquée dans l'endocardite d'Osler par exemple.

Dans cette dernière hypothèse, la relative pauvreté en acide sialique constitue une différence intéressante entre les cryoIgs et les non-cryoIgs; les Ig de structure modifiée à teneur réduite en acide sialique pourraient être synthétisées en quantité accrue par le système immunitaire lors d'une activation des lymphocytes B associée à des stimulations antigéniques répétées (par des antigènes bactériens, viraux ou des auto-antigènes);

- certaines structures de base, comme le domaine variable VKIII constitueraient un facteur favorisant la précipitation;
- les IgG3 sont retrouvées de façon plus fréquente que les autres sous-classes d'IgG. Elles peuvent s'assembler spontanément par des interactions Fc-Fc. Elles activent la voie classique du complément de façon plus efficace que les autres sous-classes d'IgG.

Un dysfonctionnement hépatique et/ou une atteinte du système monocyte-macrophage, en diminuant l'épuration de ces immunoglobulines, pourraient participer à leur augmentation et à leur persistance dans la circulation sanguine.

## **2-Facteurs influençant la précipitation [4, 24, 25]**

### **a- La température**

La condition essentielle pour la précipitation d'une cryoglobuline est la baisse de la température. Certaines cryoglobulines précipitent à température élevée, supérieure à +30 °C, ceci pouvant expliquer en partie l'apparition d'un purpura puisque la température de la peau est fréquemment à + 28 °C.

### **b- La force ionique**

La diminution de solubilité de la cryoglobuline est parallèle à la diminution de la force ionique du milieu. *In vitro*, un abaissement modéré de la force ionique du milieu augmente la précipitation de certaines cryoglobulines. Une hyponatrémie vraie peut donc représenter un facteur de risque de précipitation.

### **c- La concentration en ions du milieu réactionnel**

La précipitation des cryoglobulines est fonction des ions présents dans le milieu : certaines précipitent seulement en présence d'une concentration définie en calcium. D'autres ions, baryum, manganèse, strontium, cobalt, influencent la précipitation des cryoglobulines sans qu'il soit possible d'en comprendre le mécanisme.

### **d- La présence d'autres protéines plasmatiques dans le cryoprécipité**

La fibronectine jouerait un rôle dans la précipitation.

### **e-La concentration en cryoglobuline**

Plus la concentration en cryoglobuline est importante, plus la température de précipitation est élevée. L'inverse a été démontré : une baisse de la concentration en cryoglobuline par plasmaphérèse diminue le seuil de température auquel débute la cryoprécipitation. Au niveau rénal, la filtration glomérulaire concentre les protéines sanguines, entraînant probablement une précipitation locale.

## VII- Manifestations cliniques : (tableau VII)

Tableau VII : Principales manifestations cliniques des cryoglobulines [7]

<b>1. Manifestations cutanées (très fréquentes 55 % des cas)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Purpura vasculaire pétéchial (le plus fréquent) prédominant aux membres inférieurs</li><li>· Ulcère des jambes</li><li>· Nodules, lésions bulleuses ou vésiculeuses</li><li>· Purpura nécrotique</li><li>· Urticaire survenant au froid</li><li>· Gangrène distale</li></ul>
<b>2. Manifestations vasomotrices</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Syndrome de Raynaud (15 % des cas)</li><li>· Acrocyanose des extrémités</li><li>· Livedo réticulaire ou nécrose cutanée pouvant toucher le nez, les oreilles ou les membres</li></ul>
<b>3. Manifestations rénales (atteintes viscérales les plus fréquentes 30 % des cas)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Glomérulonéphrite membrano-proliférative avec protéinurie et hématurie</li></ul>
<b>4. Manifestations articulaires (fréquentes : 50 à 70 % des cas)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Arthralgies inflammatoires</li><li>· Arthrites des mains, des genoux et des chevilles</li></ul>
<b>5. Manifestations neurologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Polynévrites</li><li>· Neuropathies périphériques</li></ul>

<b>6. Autres manifestations viscérales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Atteintes hépatiques non spécifiques</li> <li>· Vascularite intestinale avec douleur et/ou hémorragies, parfois nécroses intestinales</li> <li>· Atteinte pulmonaire clinique (très rare) mais signes radiologiques d'atteinte interstitielle dans 75% des cas de cryoglobulines essentielles</li> </ul>
<b>7. Autres manifestations cliniques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Syndrome d'hyperviscosité lorsque l'Ig monoclonale est présente à un taux important (rare) avec troubles neurosensoriels et hémorragies au niveau des muqueuses</li> <li>· Signes ophtalmologiques consécutifs aux troubles circulatoires (hémorragies ou thromboses)</li> <li>· Syndrome sec</li> </ul>

Le pourcentage de patients avec des cryoglobulines circulantes qui développent des symptômes varie de 2 % à 50 %.

Le développement des symptômes cryoglobulinémiques est lié à la maladie sous-jacente (comme l'infection par le VHC) et aux caractéristiques des cryoglobulines (type II, concentrations sériques élevées).

Bien qu'il existe un chevauchement entre les caractéristiques cliniques des cryoglobulinémies de types I, II et III, en général, la cryoglobulinémie type I provoque rarement des symptômes liés à une vascularite et tend à être associée à des signes d'occlusion périphérique du vaisseau. Dans ce cas, la manifestation clinique associée à un syndrome d'hyperviscosité peut être observée ainsi que des lésions de purpura, acrocyanose, Phénomènes de Raynaud, des manifestations dystrophiques jusqu'à la formation d'ulcères torpides et la gangrène. La cryoglobulinémie type I se trouve généralement associée à des maladies lymphoprolifératives et les patients sont cliniquement indiscernables de ceux avec

macroglobulinémie de Waldenstrom, myélome multiple, immunocytome ou leucémie lymphoïde chronique.

Le syndrome de cryoglobulinémie mixte est caractérisé par une triade clinique typique: purpura, faiblesse et arthralgies. L'atteinte de plusieurs organes, y compris une hépatite chronique, glomérulonéphrite membranoproliférative et neuropathie périphérique due à une vascularite leucocytoclasique des petits et moyens vaisseaux est souvent observée. [4]

Dans le tableau VIII sont rapportées les manifestations cliniques les plus communes, selon différentes études. [72]

*Tableau VIII : Comparaison de manifestations cliniques chez les patients ayant une cryoglobulinémie [72] :*

Études	Brouet	Gorevic	Monti	Trejo	Rieu	Sene	Sene	Ferri	Morra	Bryce
<b>Nbr. patients</b>	86	40	891	206	49	60	53	231	125	66
<b>Type cryo</b>	I, II,III	II, III	I, II,III	I,II,III	I, II,III	II	III	II, III	II	II
<b>faiblesse %</b>	-	-	-	9	-	-	-	80	68	-
<b>Syndrome Raynaud %</b>	50	25	19	5	34	-	-	36	6	15
<b>atteinte cutanée %</b>	55	100	76	24	56	40	9	81	64	55
<b>Atteinte Articulaire %</b>	35	67	-	19	29	43	17	72	29	21
<b>Atteinte rénale %</b>	21	40	20	18	24	10	2	20	-	26
<b>Atteinte neurologique %</b>	17	12	21	8	21	52	17	58	39	18
<b>Atteinte hépatique %</b>	-	55	39	-	-	-	-	58	-	24
<b>Syndrome de Sjogren/Sicca %</b>	7	15	-	-	-	-	-	2/29	2	-



- ◆ L'atteinte cutanée comprend: purpura, ulcère de jambes, acrocyanose, ischémie distale, gangrène et livedo;
- ◆ L'atteinte articulaire : constituée d'arthralgie, arthrite et/ ou non-érosive;
- ◆ L'atteinte neurologique comprend atteinte du système nerveux central et périphérique;
- ◆ L'atteinte hépatique se réfère aux tests anormaux de la fonction hépatique et/ ou hépatomégalie.

### **A-Syndrome d'hyperviscosité**

Le syndrome d'hyperviscosité se développe principalement chez les patients avec cryoglobulinémie type I, et est très rare chez les patients avec cryoglobulinémie mixte (< 3 %).

Les symptômes clés sont d'ordre neurologique (maux de tête, confusion), oculaire (vision floue, perte de vision) et rhino-otologique (épistaxis, perte d'audition).

Chez les patients pour lesquels on suspecte un syndrome d'hyperviscosité, il est utile de mesurer la viscosité du sérum. Habituellement, les patients deviennent symptomatiques à des mesures de viscosité qui dépassent 4.0 centipoises, mais certains sont symptomatiques avec des viscosités inférieures. L'hyperviscosité symptomatique nécessite un traitement d'urgence (par exemple, l'échange de plasma) [4].

### **B-Manifestations cutanées**

Les manifestations cutanées sont les plus fréquentes et souvent révélatrices [73]. Elles procèdent en deux mécanismes :

- Elles peuvent être liées à la précipitation au froid d'immunoglobulines dans la microcirculation, entraînant une hyperviscosité et une thrombose des petits vaisseaux (principalement au cours des cryoglobulinémies de type I).
- Elles peuvent également être liées à des dépôts intravasculaires de complexes immuns circulants, entraînant des lésions de vascularite (principalement au cours des cryoglobulinémies mixtes, de type II et III) [4].

## **1-Purpura cutané**

Le purpura cutané est probablement le plus caractéristique des manifestations de vascularite cryoglobulinémique (54 à 82 %) [4]. Son incidence varie de 15 à 33 % chez les patients présentant une cryoglobuline de type I, de 60 à 93 % pour le type II et de 70 à 83 % pour le type III [25].

Il survient volontiers au cours des périodes hivernales, il est non prurigineux, intermittent et débute toujours aux membres inférieurs pouvant s'étendre progressivement jusqu'à l'abdomen et, moins fréquemment, les membres supérieurs et le thorax (**figure 6B**). Il s'agit d'un purpura vasculaire donc infiltré, d'aspect papillaire ou pétéchial dans les jambes (**figure 6A**), rarement nécrotique sauf dans les cryoglobulinémies de type I, les lésions bulleuses ou vésiculaires sont rares.

Chaque poussée purpurique, volontiers précédée par une sensation de brûlure, persiste 3 à 10 j, l'évolution est chronique avec des poussées itératives qui peuvent être déclenchées par l'orthostatisme, les efforts et la position debout prolongés, l'exposition au froid, voire un traumatisme. A la longue, elles laissent une dermite ocre bilatérale (hyperpigmentation brunâtre séquellaire), non expliquée par une éventuelle insuffisance veineuse sous-jacente, et masquant les lésions purpuriques.

Le pronostic peut être aggravé par des ulcères cutanés supramalléolaires torpides causés par la coalescence des lésions de vascularite ou ischémie dans les régions distales (mains, pieds, lèvres, oreilles et nez) (**figure 6C et 6D**) [4].

## **2-Syndrome de Raynaud**

Classiquement bilatéral, pouvant concerner les quatre membres et nettement influencé par la température, il est significativement plus fréquent dans les cryoglobulinémies de type I, mais plus sévère lors de cryoglobulinémies de type II [25]. Il est retrouvé chez 19 à 50 % des patients cryoglobulinémiques et se complique dans 25 % des cas en nécrose douloureuse des extrémités lors de l'exposition au froid [24, 25].

### 3-Autres manifestations cutanées

L'urticaire systémique (4 à 10 %) est constamment induite par le froid. Il est purpurique, d'allure chronique, avec des plaques qui restent fixes au-delà de 24 h, sans prurit et laisse des cicatrices pigmentées [9,10].

Une acrocyanose du nez et des oreilles peut survenir mais elle est moins fréquente que dans la maladie des agglutinines froides [25].

La livedo réticulaire, actif, majoré également par le froid, est observée chez 8 à 19 % des patients. Les cryoglobulines précipitent préférentiellement au niveau des mailles où, selon certaines études, un retentissement hémodynamique est mesurable en vélocimétrie doppler [73].



**Figure 6:** Les atteintes cutanées en cryoglobulinémie [4]

(A) Purpura au niveau des jambes, (B) Purpura atypique, (C) Ulcères cutanés, (D) Nécrose digitale

## **C-Manifestations rhumatismales**

Il s'agit principalement d'arthralgies touchant les mains, les poignets et les genoux, plus rarement les chevilles ou les coudes, bilatérales et symétriques, non déformantes et non migratrices. Intermittentes et souvent inaugurales, elles sont retrouvées chez 50 à 83% des patients. Une arthrite vraie ou une atteinte du rachis sont beaucoup plus rares.

Des myalgies sont rapportées chez 15% des patients et s'intègrent parfois dans un tableau ressemblant à un syndrome de fatigue chronique ou à une fibromyalgie [8].

## **D- Complications neurologiques**

### **1-Complications neurologiques périphériques**

Deux types de vascularite sont rencontrés en neuropathie cryoglobulinémique: (1) vascularite nécrosante, caractérisée par une nécrose fibrinoïde transmurale de la paroi du vaisseau, occlusion thrombotique de la lumière du vaisseau et infiltration polynucléaires et (2) microvascularite, une forme lymphocytaire non nécrosante affectant les artères de petite taille.

En outre, la présence d'infiltrats périvasculaires peut être le signe de « vascularite probable » si elle est associée à la régénération de petits vaisseaux, purpura endoneural, perte de fibre asymétrique ou dégénérescence axonale aiguë asymétrique [74].

La prévalence d'atteinte du système nerveux périphérique (SNP) dans la cryoglobulinémie est variable, en grande partie en fonction du type de cryoglobuline, la présence d'une infection chronique par le VHC, d'autres comorbidités et les facteurs iatrogènes. Selon certaines études, [23, 75, 76, 77], entre 17 % et 60% des patients cryoglobulinémiques présentent une neuropathie périphérique, qui peut être le premier signe de la cryoglobulinémie [78].

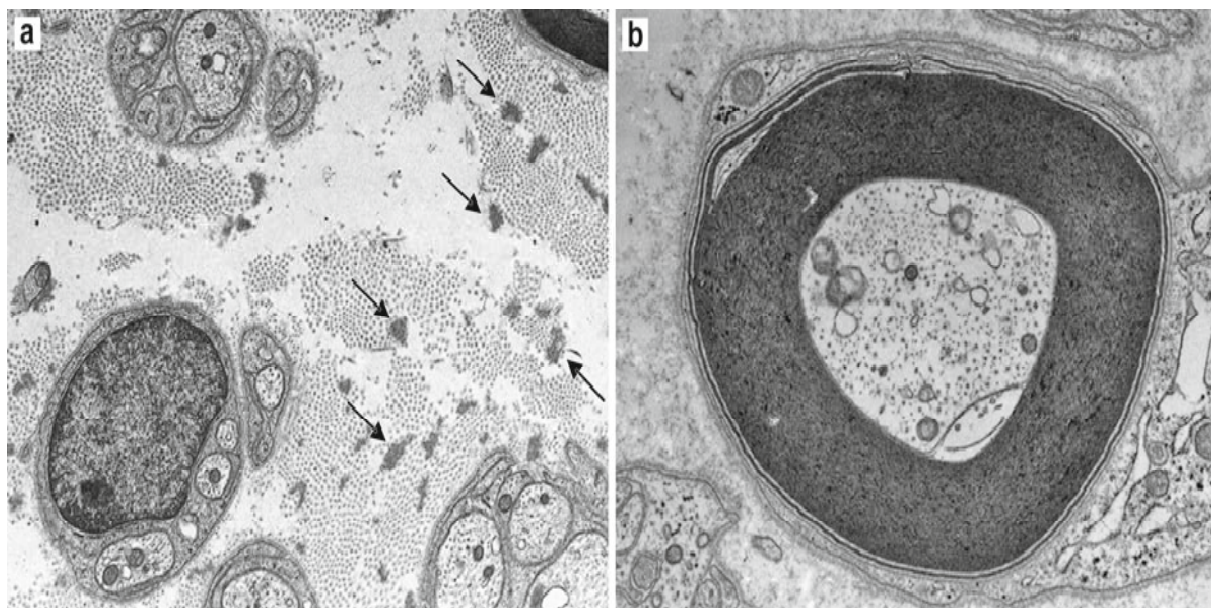
### **➤ Cryoglobulinémie de type I**

Dans la cryoglobulinémie de type I, la neuropathie périphérique est signalée dans environ 6% des cas [75].

La pathogénèse de l'atteinte du nerf est mal comprise. Des études pathologiques en faveur de certains cas, montrent qu'elle s'agit d'une pathogénèse ischémique non inflammatoire, en raison de dépôt interstitielle endoneurale de cryoglobuline [79, 80]. Cependant, dans trois cas avec polyneuropathie axonale, il y a des infiltrats périvasculaires, purpura endoneurale et microangiopathie [81].

L'étude ultrastructurale des biopsies des nerfs périphériques chez les patients atteints de polyneuropathie axonale et macroglobulinémie de Waldenström (MW) ou de myélome multiple a révélé la présence d'un cryoprécipité autour des capillaires endoneurales et / ou à des endroits intracapillaires [80]. Vallat et al. ont signalé un cas de MW associée à la cryoglobuline IgM kappa avec une réactivité anti- glycoprotéine associée à la myéline MAG (myelin-associated glycoprotein), pathologiquement caractérisée par un dépôt d'IgM dans l'endonèvre et démyélinisation immunologique avec un myéline typique largement espacé [82] (Figure 7).

L'apparition de polyneuropathie démyélinisante inflammatoire chronique (PDIC) en association avec la cryoglobulinémie type I a été rapportée, ainsi que l'association inhabituelle entre la neuropathie sensitive et cryoglobuline monoclonale IgM kappa dans le cadre de syndrome POEMES (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, and skin changes) [83].



**Figure 7 :** (a) Micrographie électronique montrant de multiples dépôts anormaux de cryoglobulines (flèches) dans le nerf saphène d'un patient avec cryoglobulinémie type I et neuropathie (6300 ×). (b) des élargissements périphériques de lamelles myéline chez un patient présentant une cryoglobulinémie de type I et des anticorps IgM anti-MAG (1,500 ×) [12].

#### ➤ Cryoglobulinémie mixte

Dans la cryoglobulinémie mixte (CM), la prévalence déclarée d'atteinte des nerfs périphériques est très variable, la plupart du temps selon les critères cliniques et les protocoles électrophysiologiques utilisés pour la détermination de la neuropathie. Dans certaines études, la neuropathie périphérique est signalée chez 26 % des patients et est souvent la manifestation de présentation de la cryoglobulinémie [75]. Cependant, dans les plus grandes séries de CM, l'incidence de la neuropathie périphérique atteint 86% au cours de l'évolution de la maladie. 50% à 80% de CM est associée à l'infection par le VHC, et parmi ces patients, la vascularite symptomatique se manifeste dans 1 à 10 % des cas [84, 85]. La vascularite lymphocytaire des petits vaisseaux est la plus fréquente variation pathologique rencontrée dans les biopsies nerveuses, alors que l'artérite nécrosante des vaisseaux de taille moyenne est moins fréquemment rencontrée [74].

Selon certains auteurs, la polyneuropathie axonale sensitivo-motrice représente la complication la plus fréquente et la forme la plus fréquemment rencontrée lors de la présentation, ou au moment de la première évaluation neurologique.

Dans d'autres cas, le tableau clinique est caractérisé par une polyneuropathie asymétrique, à la suite des déficits progressifs qui aboutissent à des chevauchements de mononeuropathies multiples. Il n'existe pas d'études systématiques concernant la fréquence d'atteinte du nerf individuel dans les mononeuropathies multiples associées au CM. Cependant, dans une large série de vascularite nécrosante des différentes étiologies, le nerf péronier est le plus touché, suivie par le tibial postérieur, l'ulnaire et les nerfs médians [86], alors que les nerfs radiaux et fémoraux étaient généralement épargnés. Quel que soit le nerf impliqué, un modèle stéréotypé a été observé lors de la présentation chez les patients avec mononeuropathie, caractérisé cliniquement par douleur profonde du membre suivie en quelques heures à quelques jours par brûlure et faiblesse grave [87].

Dans plusieurs séries de patients diagnostiqués avec une neuropathie associée au CM, des formes symétriques ou asymétriques de neuropathie sensitive sont signalées comme les plus répandues. Les formes symétriques ont été trouvées chez des patients ayant une cryoglobulinémie avec ou sans infection par le VHC, ainsi que dans l'infection par le VHC sans cryoglobulinémie [88].

La neuropathie sensitive asymétrique peut se produire sous deux formes: (1) neuropathie sensitive des grosses fibres (NSGF), et (2) polyneuropathie sensitive des petites fibres (PSPF) [89].

NSGF est caractérisé par la perte et la paresthésie sensitive prédominante, en l'absence d'une faiblesse musculaire. Cette forme a souvent été associée à la cryoglobulinémie et / ou infection chronique par le VHC [88] ainsi qu'au syndrome de Sjögren primaire avec des marqueurs positifs de prolifération des cellules B oligoclonales, à savoir, le facteur rhumatoïde ou la cryoglobuline. Chez certains patients, NSGF peut coexister avec une atteinte des petites fibres.

PSPF est une forme douloureuse sensitive qui cible les fibres nerveuses sensibles finement myélinisées et amyéliniques. Selon Gemignani et al. [89], ce type de neuropathie est la plus fréquente, et surtout affecte les femmes dans leurs sixièmes et septièmes décennies, étant la manifestation initiale de CM chez environ 50% des patients. La brûlure de pieds, le picotement et le syndrome des jambes sans repos ont été les principales manifestations.

Le diagnostic clinique de PSPF peut être confirmé par des tests de laboratoire, notamment la biopsie de la peau et des tests quantitatifs sensitifs.

En plus des formes précédentes, les modes rares d'atteinte du SNP comprennent également une **dysautonomie**, avec altération de la réponse sympathique de la peau [90], et les **polyneuropathies motrices pures** [91].

Il est supposé que la pathogenèse de la neuropathie cryoglobulinémique est liée à l'ischémie, à la suite de l'occlusion des artéριοles épineurales et de petits vaisseaux. Il est également suggéré le rôle important des changements microangiopathiques, après le dépôt d'immunoglobulines [81].

De plus, il a été détecté du l'ARN du VHC dans les cellules périvasculaires épineurales entourés par les infiltrats des lymphocytes et des monocytes, ce modèle rappelle la lésion lobulaire dans l'hépatite VHC [92].

Prises dans leur ensemble, les études suggèrent un rôle majeur du VHC dans les lésions nerveuses en impliquant les lymphocytes T, en plus d'un antigène qui conduit à la réponse des cellules B avec formation de complexes immuns. La survenue de mécanismes dysimmunitaires déclenchés par le VHC est également soutenue par l'observation d'une neuropathie anti-glycoprotéine associée à la myéline (anti- MAG) et des polyradiculonévrites démyélinisantes inflammatoires aiguë / chronique [93].

## **2-Complications neurologiques centrales**

L'atteinte du système nerveux central (SNC) reste effectivement exceptionnelle au cours des cryoglobulinémies, mais peut dans certains cas en être la manifestation initiale. Le plus souvent, il s'agit de lésions ischémiques ou hémorragiques s'intégrant dans une maladie



sévère polyviscérale de type vascularite systémique. Deux types de tableaux ont été rapportés. Le premier correspond à un *accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique* ou dans un cas ischémique et hémorragique. Chez uniquement 4 patients, l'AVC était isolé; dans les autres cas, il existait également une atteinte du nerf périphérique, du rein ou du système digestif. La deuxième présentation clinique est *une encéphalopathie* avec parfois coma et convulsions. Son origine est rapportée à des AVC ischémiques multiples. En effet, chez tous ces patients, l'IRM cérébrale montre des lésions d'ischémie : soit de petite taille dans le tronc cérébral, le diencephale et la substance blanche périventriculaire, soit diffuses sus et sous tentorielles évocatrices de vascularite cérébrale. Dans de rares cas, la biopsie cérébrale a pu confirmer la vascularite des petits vaisseaux ou simplement la présence d'infarctus.

Chez tous les patients rapportés, porteurs d'une atteinte vasculaire du SNC, la cryoglobulinémie était associée à une hépatite C chronique. Le mécanisme exact de ces atteintes supposées vasculaires reste discuté, en particulier les responsabilités respectives de la cryoglobuline et de l'hépatite C. Ainsi, une évolution favorable est observée à la fois sous traitement immunosuppresseur et anti-viral. Le message rapporté est donc de réaliser de façon systématique une recherche de cryoglobulinémie et une sérologie de l'hépatite C devant tout AVC ou encéphalopathie de nature indéterminée, même en l'absence de signes cliniques ou biologiques évocateurs [94].

### **E. Manifestations rénales**

Le capillaire glomérulaire est l'un des premiers sites de dépôt des complexes immuns comme les cryoglobulines. L'atteinte rénale chez les patients avec cryoglobulinémie est appelée glomérulopathie cryoglobulinémique, est le plus souvent retardée mais peut cependant être révélatrice. Environ 20% des patients atteints de cryoglobulinémie présente une néphropathie au moment du diagnostic et 30% ont des complications rénale au cours de l'évolution de la maladie [23, 31, 66, 77, 94, 95, 96].

Dans une étude multicentrique et multidisciplinaire italienne regroupant 913 malades, la prévalence des signes rénaux est de 35 % dans les cryoglobulinémies de type II et de 15 % dans les cryoglobulinémies de type III [64], chiffres proches de ceux observés dans la série de

Brouet et al [9]. Dans une série plus récente, environ 70 % des cryoglobulines causant une maladie rénale sont de type II IgM kappa à activité facteur rhumatoïde et 24 % sont de type III [97].

## **1-Cryoglobulinémies de type II et néphropathies :**

### **1.1- Manifestations cliniques :**

#### **a- Symptomatologie rénale, anomalies hémodynamiques et volumiques :**

##### **\* Symptomatologie rénale :**

Les principales présentations cliniques ont été bien rapportées dans les études de Tarantino et al. [68] (105 patients dont 90 infectés par le VHC) et de Roccatello et al. [97] (146 patients dont 114 patients infectés par le VHC).

La présentation la plus fréquente (40 à 55%) est une protéinurie, associée à une hématurie microscopique et un degré variable d'insuffisance rénale en plus d'une hypertension artérielle. Un syndrome néphrotique aigu avec ou sans insuffisance rénale (20 %) ou un syndrome néphritique subaigu (14 à 25%) avec protéinurie, hypoalbuminémie, hématurie microscopique abondante, avec ou sans insuffisance rénale, voire une insuffisance rénale chronique sans anomalies significatives du sédiment urinaire (10 %) peuvent révéler l'atteinte rénale. Une hématurie macroscopique (8 %) (Urines « bouillon sale » ou rouges) ou une oligurie (6 %) sont plus rarement rapportées.

Suivant la classification internationale de l'insuffisance rénale, la grande majorité des patients (80%) est classée aux stades 2 ou 3 d'insuffisance rénale. Une hypertension artérielle est présente dans 50 à 80% des cas, souvent mal tolérée avec œdème pulmonaire et insuffisance rénale chronique sévère retrouvée chez 10% des patients; une anurie est possible [4, 68, 72, 97, 98].

Dans ces cas, le tableau clinique associe syndrome néphritique et syndrome de glomérulonéphrite rapidement progressive.

Les signes rénaux sont présents, lors de l'évaluation initiale des cryoglobulinémies, dans la moitié des cas. Dans les autres cas, un délai de quelques mois à plus de 10 ans les sépare des

manifestations extrarénales. Enfin, il n'est pas exceptionnel qu'une cryoglobulinémie de type II soit révélée par une néphropathie isolée et que le diagnostic ne puisse être évoqué qu'après l'examen immunomorphologique de la biopsie rénale.

Dans environ un quart des cas, elle est émaillée par la survenue d'une ou plusieurs poussées s'échelonnant sur plus de 15 ans et se manifestant par un syndrome néphritique. Elles sont habituellement contemporaines d'une accentuation des symptômes extrarénaux. Le décès peut survenir au cours d'une de ces poussées dans un tableau de défaillance multiviscérale résistant à tous les traitements. Cette évolution défavorable concerne environ 5 % des cas.

Dans un tiers des cas, une rémission partielle ou complète survient spontanément ou après traitement. Elle est possible même après une poussée rénale grave. Elle est cependant plus fréquente (50 % des cas) lorsque la symptomatologie se limite à une protéinurie et/ou une hématurie.

Dans les autres cas, l'atteinte rénale n'évolue pas ou peu pendant de nombreuses années. L'hypertension artérielle en est la manifestation la plus préoccupante.

La néphropathie conduit 10 à 15 % des malades qui en sont atteints à l'insuffisance rénale chronique, puis à l'hémodialyse après plusieurs années d'évolution. Dans la série de 116 malades du groupe de Milan publiée en 1985, la survie actuarielle est de 70 % à 10 ans après le début de la maladie, et de 64 % après le diagnostic de cryoglobulinémie, la survie rénale de 68 et 48 % respectivement, alors que tous les malades étaient porteurs de lésions glomérulaires graves prouvées par l'examen anatomopathologique rénal. Le décès est survenu  $170 \pm 120$  mois après les premiers signes de la maladie, et  $29 \pm 34$  mois après le diagnostic. L'insuffisance rénale avait une signification pronostique péjorative. Le pronostic est moins bon dans une série de 105 patients publiée 10 ans plus tard par le même groupe. La survie globale est de 49 % 10 ans après la biopsie rénale. Au terme d'un suivi de 131 mois après les premiers signes de cryoglobulinémie et de 72 mois après la biopsie rénale, 42 des malades sont décédés d'une affection cardiovasculaire, hépatique ou infectieuse, 15 dépendent d'une forme d'épuration extrarénale, deux sont en rémission complète et 15 en rémission seulement rénale [98].

Les facteurs de risque de passage à l'insuffisance rénale terminale (moins de 10% des cas) ou de mise en dialyse et la mort sont : une créatininémie au diagnostic supérieure à 130  $\mu\text{mol/L}$ , un cryocrite supérieur à 10 %, un taux de C3 inférieur à 54 mg/dl, une protéinurie néphrotique, un âge supérieur à 50 ans et la présence d'une hypertension artérielle au moment du diagnostic. La présence d'une atteinte rénale est un facteur de risque majeur de mortalité, représentant dans certaines séries jusqu'à 30% des causes de décès [23, 98].

**\* Anomalies hémodynamiques et volumiques:**

Les troubles hémodynamiques répondent à divers mécanismes souvent intriqués sans qu'il soit possible de préciser la responsabilité précise de chacun d'entre eux [98] :

La pression artérielle est souvent très élevée et difficile à maîtriser. Evoluant sur des années, elle favorise la survenue d'une cardiomyopathie hypertrophique ou dilatée comportant des troubles importants de la compliance ventriculaire gauche et d'une athérosclérose pouvant toucher tous les territoires, en particulier les artères coronaires. L'hypertension artérielle est due en partie à une inflation hydrosodée liée aux lésions glomérulaires. Cette explication est insuffisante car les seuls diurétiques ne permettent pas habituellement de la maîtriser. L'inflation hydrosodée peut être majeure lorsque survient un syndrome néphritique, un syndrome néphrotique, ou l'association des deux. La prise de poids peut alors dépasser 10 kg. L'inflation hydrosodée est parfois sous-estimée lorsque les signes généraux de vascularite ont entraîné un amaigrissement.

Elle se manifeste par des œdèmes généralisés touchant volontiers les quatre membres et le visage, comme au cours d'une glomérulonéphrite aiguë post-infectieuse, des épanchements dans les séreuses, principalement pleuraux, et une majoration de l'hypertension artérielle habituellement mal tolérée, avec œdème aigu ou subaigu du poumon. Une hépatopathie chronique favorise la constitution d'une ascite. Ici encore, l'hypervolémie n'est pas la seule explication des œdèmes et des épanchements.

Ils peuvent résister à une déplétion hydrosodée poussée jusqu'à la survenue de signes d'hypovolémie (hypotension artérielle orthostatique, majoration fonctionnelle de l'insuffisance rénale). Ils ne sont pas non plus expliqués par l'hypoalbuminémie.

L'effet habituellement spectaculaire sur les œdèmes et les épanchements résistants à la déplétion hydrosodée des corticoïdes, en bolus intraveineux ou per os, suggère l'existence d'un trouble important de la perméabilité capillaire, lié à l'activation des cellules endothéliales et des macrophages par la cryoglobuline et à une production augmentée de cytokines.

Les signes rénaux et les troubles hémodynamiques peuvent être les seules manifestations d'une cryoglobulinémie de type II mais, dans la majorité des cas, ceux-ci surviennent au même moment que des manifestations extrarénales ou après celles-ci.

### **b-Signes biologiques**

L'hypocomplémentémie est habituelle dans les cryoglobulinémies de type II symptomatiques. Elle porte essentiellement sur le C1q et le C4. Le C4 est abaissé dans 81% des cas des cryoglobulinémies de type II (et 64% des cas de cryoglobulinémies de type III).

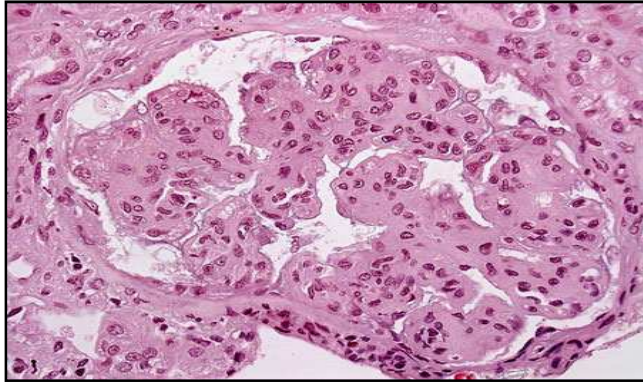
Le sérum des malades porteurs d'une cryoglobulinémie mixte possède une activité facteur rhumatoïde. Les autres signes biologiques sont inconstants et non spécifiques. Une hypergammaglobulinémie et une élévation de la CRP (C reactive protien) sont fréquentes. [98]

### **c - Histologie rénale:**

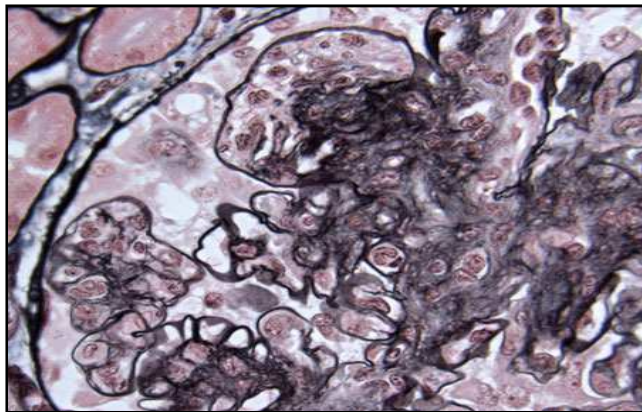
La biopsie rénale met en évidence un ensemble de lésions très caractéristiques, et parfois spécifiques [12, 72, 98].

#### **❖ Examen en microscopie optique :**

La lésion glomérulaire la plus fréquente est une prolifération endocapillaire focale ou diffuse. Celle-ci est constituée principalement de monocytes activés en très grand nombre, parfois de polynucléaires neutrophiles, et par de lymphocytes T en particulier CD8 (**Figure 8 et 9**).



**Figure 8 :** *Glomérule d'un patient avec une infection chronique par le VHC et cryoglobulinémie de type II, qui avait une glomérulonéphrite membranoproliférative de type I. A remarquer : la prolifération endocapillaire lobulaire importante (H & E 400 ×) [12].*



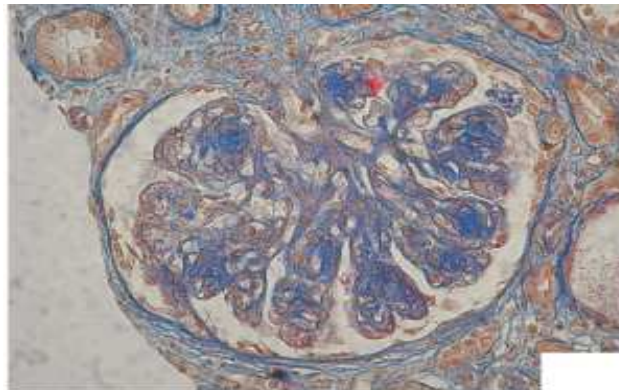
**Figure 9 :** *Portion d'un glomérule du patient décrit dans la figure 8: circulation abondante des monocytes dans les capillaires glomérulaires (methenamine argent; 600 ×) [12].*

Dans les formes les plus exsudatives, des dépôts amorphes éosinophiles et PAS positifs (coloration acide périodique de Schiff) sont mis en évidence le long du versant interne de la membrane basale des capillaires glomérulaires. Ces dépôts peuvent occuper toute la lumière d'une anse capillaire et réaliser ainsi un « thrombus intraluminal ».

L'association d'une infiltration monocyttaire massive et de thrombi est très évocatrice de cryoglobulinémie de type II.

Les membranes basales glomérulaires sont épaissies, avec un aspect en double contour (**figure 10**). Cet aspect est dû à une interposition de matrice mésangiale, de cytoplasme des

monocytes, et des dépôts entre la membrane basale en dehors, et une néomembrane basale en dedans, en contact étroit avec ces dépôts.



**Figure 10** : Biopsie rénale d'un patient atteint de VHC associée à une cryoglobulinémie; épaissement des parois capillaires avec duplication de la membrane basale des cellules mésangiales en raison de l'interposition [fuchsine acide tache d'orange G x 400] [33].

L'ensemble, prolifération endocapillaire et doubles contours, réalise une glomérulonéphrite membranoproliférative particulière.

Chez quelques malades, l'infiltration monocytaire est beaucoup moins marquée et les thrombis manquent. Ailleurs, elle est totalement absente et les lésions glomérulaires se résument à une prolifération mésangiale modérée, habituellement segmentaire.

On peut également observer un aspect de glomérulonéphrite lobulaire avec une prolifération mésangiale prédominante et une hypertrophie marquée des matrices mésangiales, avec peu ou pas de dépôts visibles.

Une vascularite des artères interlobulaires et des artérioles afférentes est présente dans un tiers des cas. Elle est caractérisée par une nécrose fibrinoïde de la paroi, et une infiltration périvasculaire par des monocytes macrophages, qui peut constituer un granulome. La lumière artérielle est parfois obstruée. Ces lésions évoluent vers la sclérose de la paroi.

À la phase aiguë de la maladie rénale, l'interstitium est infiltré par des monocytes macrophages et des lymphocytes T, principalement CD8, et B parfois disposés en amas. Sur les biopsies effectuées tardivement, la fibrose est habituellement discrète.

#### ❖ Examen en immunofluorescence :

Les dépôts fixent les anticorps dirigés contre les constituants de la cryoglobuline, les sérums anti-IgM, anti-IgG, antichaînes légères beaucoup plus souvent qu'anti-C3, et parfois les sérums anti-C1q, anti-C4 et antifibrinogène.

Les dépôts les plus fréquemment détectés étant IgG, IgM et C3

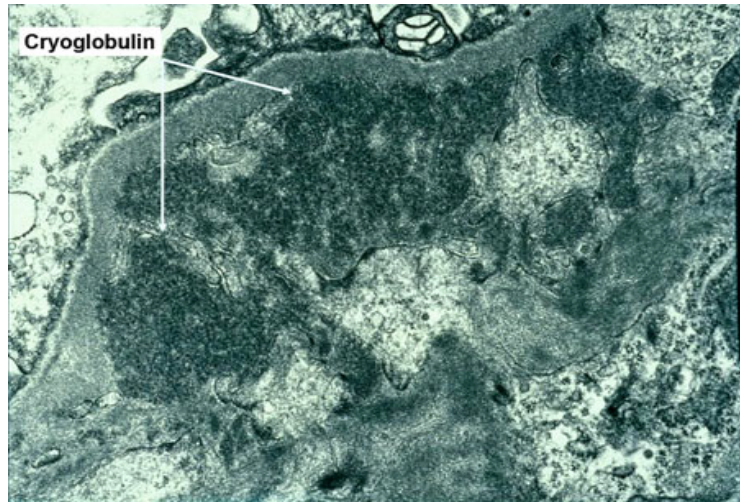
Toutefois, un ou plusieurs composants de la cryoglobuline peuvent ne pas être révélés. Les dépôts peuvent prendre trois aspects :

- ✓ Dépôts volumineux remplissant la lumière des capillaires glomérulaires (thrombi) ;
- ✓ Dépôts granuleux peu abondants et segmentaires dans la paroi des capillaires, en position sous-endothéliale ;
- ✓ Dépôts granuleux abondants et diffus de même topographie. Un même glomérule contient souvent des thrombi et des dépôts granuleux. Ces mêmes dépôts sont rencontrés dans les parois et les lumières artérielles dans un tiers des cas [98, 99].

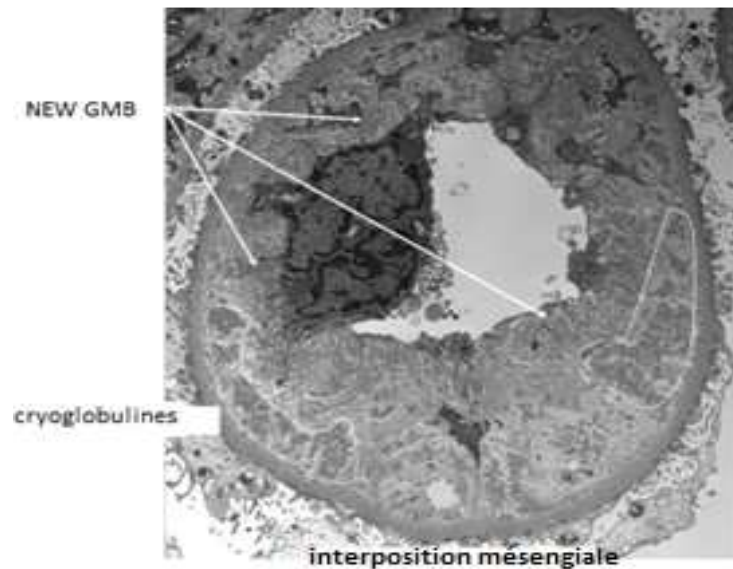
#### ❖ Examen en microscopie électronique [12, 98] :

Les dépôts sont électroniquement denses et apparaissent soit amorphes, soit organisés. Les dépôts organisés forment des microtubules de 100 à 1 000 nm de long, et 30 nm de diamètre en moyenne (**figure 11 et 12**).





**Figure 11** : Microphotographie électronique chez un patient avec infection chronique par le VHC et cryoglobulinémie type II. Des dépôts denses aux électrons avec une structure fibrillaire dans le mésangium interposée avec une membrane basale sous endothéliale glomérulaire ( $\times 13000$ ) [12].



GMB : membrane basale glomérulaire

**Figure 12** : Microphotographie électronique d'un capillaire glomérulaire isolé avec interposition mésangiale et dépôts de cryoglobulines denses aux électrons chez un patient avec une infection chronique par le VHC et cryoglobulinémie de type II ( $\times 5600$ ) [12].

En coupe transversale, ils apparaissent comme des anneaux à centre clair et dont la périphérie est soulignée par une couverture inconstante de matériel protéique peu osmiophile, qui peut se disposer en pointes.

Les microtubules peuvent être dispersés de façon aléatoire, ou regroupés en amas.

La microscopie électronique confirme que la prolifération endocapillaire est essentiellement le fait d'un afflux de monocytes macrophages, alors que la prolifération des cellules mésangiales est habituellement discrète ou absente.

Les monocytes-macrophages sont remplis de grandes vacuoles protéiques dépourvues de structure cristalline.

Les cellules, lorsqu'elles sont en grand nombre, participent à l'occlusion des capillaires glomérulaires. Leur cytoplasme s'interpose aussi, avec du matériel mésangial et des dépôts, entre la membrane basale native et les cellules endothéliales, dont elles sont séparées par une néomembrane basale, et participe à l'aspect en double contour des anses capillaires glomérulaires. Mais ce phénomène n'est pas aussi marqué que dans les glomérulonéphrites membranoprolifératives dites primitives.

#### **d - Physiopathologie [98] :**

##### **◆ Rôle pathogène :**

Le rôle pathogène des cryoglobulines de type II est démontré dans plusieurs modèles expérimentaux et fortement suggéré par les constatations cliniques.

Les cryoglobulines de type II prélevées sur des malades présentant une atteinte rénale et injectées, après avoir été solubilisées, dans le péritoine d'une souris, induisent une glomérulonéphrite membranoproliférative. Un hybridome issu d'une souris MRLMpJ-/ lpr- lpr synthétise une IgG3 possédant une activité cryoglobuline et facteur rhumatoïde.

L'administration intrapéritonéale de cet hybridome à une souris MRL/BAL B induit une vascularite cutanée et une glomérulonéphrite membranoproliférative très proche de celle

observée en pathologie humaine, avec infiltration par des polynucléaires, prolifération mésangiale, dépôts mésangiaux et sous-endothéliaux en *wire-loop* accompagnés de thrombi.

Les lésions rénales se développent indépendamment de l'activité facteur rhumatoïde. Ces deux modèles ont permis d'étudier la dynamique de la déposition.

◆ **Mécanismes de la déposition de cryoglobuline :**

La cryoglobuline se dépose d'abord dans les cellules mésangiales, puis dans les régions sous-endothéliales. Le volume des dépôts mésangiaux augmente rapidement, ce qui aboutit à un comblement de la lumière des anses capillaires glomérulaires. En microscopie électronique, il y a continuité entre les dépôts mésangiaux, sous endothéliaux et les thrombi.

Les mécanismes responsables de la déposition sont imparfaitement connus.

La concentration des protéines plasmatiques pendant leur parcours dans les anses capillaires est une explication plausible de leur déposition dans le glomérule. De même, le taux plasmatique de la cryoglobuline joue vraisemblablement un rôle. Chez un même malade, les manifestations rénales disparaîtraient ou s'atténueraient lorsque le taux sérique de la cryoglobuline diminue, et inversement. Toutefois, il n'est pas exceptionnel de voir disparaître les symptômes sous l'effet d'un traitement corticoïde, ou spontanément, en l'absence de modification importante du taux de la cryoglobuline.

Il existe une affinité biochimique entre les cryoglobulines de type II et certaines protéines matricielles et cellulaires. Les IgM kappa des cryoglobulines de type II se fixent in vitro sur un des composants importants de la membrane basale et de la matrice mésangiale, la fibronectine. Le complexe IgM kappa-fibronectine fixe les IgG polyclonales en solution. En revanche, les IgM kappa des patients atteints de maladie de Waldenström qui n'ont pas d'activité cryoglobuline sont dépourvues d'affinité pour la fibronectine.

◆ **Anomalies de l'épuration de la cryoglobuline, rôle des macrophages :**

Des anomalies de l'épuration des cryoglobulines de type II sont observées chez les malades atteints de néphropathie grave. En comparaison avec les malades sans néphropathie,

la demi-vie des cryoglobulines radiomarquées est augmentée, leur captation par le foie et la rate moindre, leur dégradation par les macrophages ralentie, alors que la capacité d'opsonisation de ceux-ci est normale.

Une des caractéristiques principales des lésions rénales est l'infiltration massive du flocculus par des monocytes-macrophages. L'intensité de cette infiltration est étroitement corrélée à l'expression du gène MCP I et de la protéine MCP I. De plus, celle-ci est maximale à proximité immédiate des dépôts de cryoglobuline. Le MCP I est une cytokine possédant une activité chimiotactique spécifique sur les monocytes-macrophages. Il est produit (in vitro) par les cellules mésangiales, les cellules endothéliales et les cellules du tube contourné proximal. Différentes cytokines et les IgG agrégées en stimulent la synthèse in vitro.

Enfin, les macrophages activés produisent de nombreuses cytokines qui activent les cellules résidentes rénales, ainsi que des enzymes lysosomiales et des radicaux libres de l'oxygène à l'origine d'altérations cellulaires et matricielles.

#### ◆ Rôle du virus de l'hépatite C :

Le rôle du VHC dans la survenue d'une néphropathie est encore suggéré par la mise en évidence, mais dans une courte série, de l'ARNm codant le VHC dans le sérum et le cryoprécipité de tous les malades atteints de néphropathie, alors que celui-ci est indétectable en l'absence de néphropathie.

La prévalence du génotype 2a/III est significativement plus importante chez les patients possédant une cryoglobulinémie mixte que chez les contrôles (41 % versus 15 %), coïncidant avec un sous groupe de malades indemnes de signes cliniques et biologiques d'atteinte hépatique (85 %).

Il existerait une prédisposition génétique à la survenue d'une cryoglobulinémie chez les patients porteurs du VHC. Celle-ci serait plus fréquente chez les sujets possédant les allèles HLA DR3, DR8 et DR11.

Le VHC peut infecter les lymphocytes T et B et induire, à la longue, indirectement, une prolifération clonale, bien qu'il ne possède pas de transcriptase inverse, ni d'oncogènes.

## **2- cryoglobulinémie de type I et Néphropathies [98]:**

### **2.1 - Généralités :**

Le nombre de publications documentées de cryoglobulinémies de type I avec atteinte glomérulaire est faible (inférieur à 20), la plupart ne décrivent qu'un ou deux cas. Dans la série de Brouet et al, la prévalence des signes rénaux au cours des cryoglobulinémies de type I est de 25 %.

Par ailleurs, les renseignements fournis dans les grandes séries publiées ne permettent pas de rattacher les atteintes rénales décrites à l'un des trois types de cryoglobulines.

Il est admis que les manifestations rénales sont moins fréquentes dans les cryoglobulinémies de type I, que dans les types II.

Dans les faits, il est rare qu'un malade atteint de cryoglobulinémie de type I soit hospitalisé en néphrologie.

### **2.2 - Symptomatologie rénale :**

La symptomatologie est souvent calquée sur celle observée au cours des cryoglobulinémies de type II : protéinurie abondante, syndrome néphrotique, hypertension artérielle, inflation hydrosodée et insuffisance rénale habituellement modérée.

Une anurie est possible, éventuellement provoquée par une hypothermie au cours d'une intervention chirurgicale.

Un syndrome d'hyperviscosité peut être observé, qui pourrait expliquer certaines insuffisances rénales qu'il serait hasardeux de documenter par une biopsie dans cette situation. L'hypocomplémentémie est inconstante.

L'évolution rénale est souvent favorable après traitement de l'hémopathie causale dont la nature fixe le pronostic.

L'association corticoïdes-plasmaphérese-chimiothérapie est parfois d'une efficacité immédiate remarquable sur les signes rénaux, dans les formes les plus graves et les syndromes d'hyperviscosité.

Toutefois, le décès peut survenir précocement dans un tableau d'atteinte multiviscérale réfractaire au traitement ou de complications infectieuses.

### **2.3 - Histologie rénale :**

Les lésions histologiques varient d'une observation à l'autre. La lésion la plus communément décrite est une glomérulonéphrite membranoproliférative qui peut être segmentaire. La prolifération cellulaire est faite de cellules mésangiales et de polynucléaires.

Mais ces lésions ont été décrites à une époque où les cellules de la lignée monocytes-macrophages infiltrant le floculus n'étaient pas reconnues. Une observation récente signale la présence de cellules spumeuses dans le floculus, et d'autres une prolifération extracapillaire segmentaire et focale.

L'oblitération diffuse de toutes les anses capillaires glomérulaires par des thrombi, sans prolifération cellulaire, semblable à celle décrite dans la macroglobulinémie de Waldenström, peut être rencontrée.

L'association d'une glomérulonéphrite membranoproliférative et de thrombi, ainsi que des lésions d'angéite artériolaire ont été publiées.

L'étude en immunofluorescence avec les sérums antichaînes lourdes, antichaînes légères et anti-C3 montre des dépôts de complément et de l'immunoglobuline monoclonale dans les régions sous-endothéliales, dans les thrombi, et parfois dans les artérioles.

L'examen au microscope électronique montre des dépôts sous endothéliaux, denses aux électrons, moins souvent mésangiaux et extramembraneux, ainsi que des thrombi.

## **F-Manifestations de la maladie moins communes**

### **1-Atteintes gastro-intestinales**

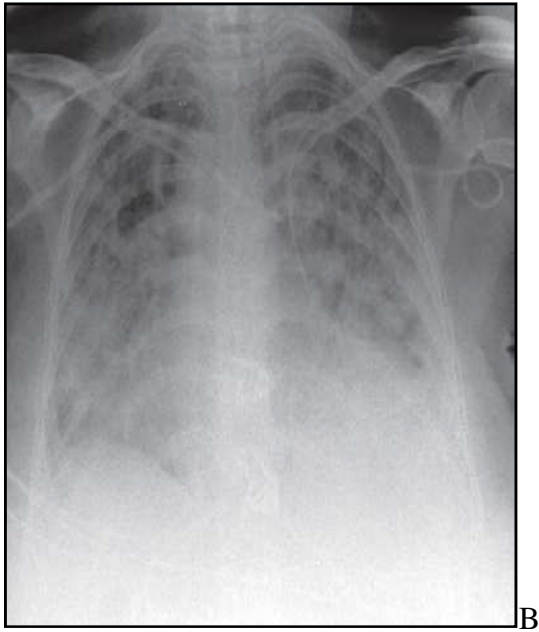
2 à 6 % des patients ont une *implication gastro-intestinale* [75, 77, 100]. Une ischémie intestinale doit être suspectée chez les patients qui présentent une douleur abdominale aiguë et un malaise général. La fièvre et les selles sanglantes sont rapportées chez un tiers des patients (**figure 13A**). Certains patients présentent une perforation intestinale. Une vascularite cryoglobulinémique impliquant le tractus gastro-intestinal peut mimer la cholécystite pancréatique [100].

### **2-Atteintes pulmonaires**

L'**atteinte pulmonaire** se produit chez moins de 5% de patients [23, 75, 101]. Chez les patients présentant une dyspnée d'effort d'intensité légère à modérée et une toux sèche, la fibrose pulmonaire interstitielle doit être suspectée [102]. Quelques patients se présentent avec une hémorragie alvéolaire aiguë (hémoptysie, échec respiratoire, et diffusion d'infiltrats pulmonaires) [103] (**figure 13B**). Les épanchements pleuraux sont rares [104].

### **3-Atteintes cardiaques**

Moins de dix cas de **vascularites myocardiques** ont été rapportés chez des patients cryoglobulinémiques. Ces patients peuvent avoir un infarctus du myocarde, en l'absence de facteurs de risque cardiovasculaires [103]. Il existe des rapports de péricardite ou insuffisance cardiaque congestive en cas d'une cryoglobulinémie compliquée [103, 105].



**Figure 13:** *Vascularite systémique cryoglobulinémique : (A) Ischémie intestinale (œdème diffus de la paroi intestinale), (B) Hémorragie pulmonaire [4].*



## **VIII-Manifestations biologiques des cryoglobulinémies**

La présence d'une cryoglobuline peut être suspectée devant un certain nombre d'anomalies biologiques : Positivité du facteur rhumatoïde (IgM anti-IgG), pseudohyperleucocytose, pseudo-thrombocytose, fausse macrocytose (ces anomalies fluctuantes peuvent apparaître lors du comptage automatique à + 20 °C), pseudo-hypoprotidémie et fausse hypogammaglobulinémie (sous-estimation du taux de protéines par cryoprécipitation), fluctuation de la vitesse de sédimentation selon la température, modification du tracé électrophorétique des protéines sériques, hypocomplémentémie avec diminution de la fraction C4 du complément, de la fraction C1q accompagnée ou non d'une baisse du complément hémolytique 50 (CH 50) et de la fraction C3 et augmentation des composants tardifs (C5 et C9) et du C1 inhibiteur.

Les anomalies biologiques hépatiques sont extrêmement fréquentes au cours des cryoglobulinémies mixtes, avec une élévation des transaminases et des phosphatases alcalines.

Une cryoglobuline peut venir perturber des tests sérologiques ainsi que la recherche d'auto-anticorps. [25]

## **IX-Exploration biologique d'une cryoglobulinémie**

La prescription d'une recherche de cryoglobulines (CG) est généralement bien ciblée par les cliniciens à la recherche d'un diagnostic étiologique devant des manifestations cliniques évocatrices. Des liens forts existent entre le type de cryoglobuline identifiée par le laboratoire et la symptomatologie clinique ou la maladie causale ce qui confère à cet examen un intérêt indéniable [106]. Cela implique que cette analyse soit réalisée dans les conditions les plus conformes à l'état de nos connaissances actuelles et de nos moyens d'analyse biochimique.

En revanche, il ne semble pas y avoir de parallélisme entre la concentration d'une cryoglobuline et l'importance des signes cliniques observés sauf dans les rares cas de syndrome d'hyperviscosité sanguine impliquant le plus souvent une immunoglobuline de classe IgM monoclonale [107]. Cependant, certaines équipes souhaitent suivre, par des dosages itératifs de cryoglobulines, leurs patients. Le plus souvent le but est de vérifier

l'efficacité d'un traitement ou éventuellement d'apprécier plus objectivement l'aggravation des signes cliniques observés chez un patient.

En effet, la présence d'une cryoglobuline peut aggraver le pronostic de la maladie en particulier dans les néphropathies [106]. En revanche, certaines cryoglobulines peuvent être totalement asymptomatiques [107].

L'analyse de cryoglobuline est effectuée sur sérum [109, 110]. Plusieurs auteurs ont décrit les différentes approches analytiques pour la détection de cryoglobuline. Malheureusement, il n'existe pas de norme internationalement acceptée [107, 111, 112]. Certains laboratoires déterminent le cryocrite, et d'autres quantifier la teneur totale en protéines. En outre, aucune valeur de référence officielle n'existe [110, 112]. Ce manque de standardisation et de valeurs de référence entrave la comparaison entre les études.

En revanche, la plupart des équipes utilisent un seuil de positivité de 50 mg/L pour le dosage quantitatif [5, 8].

## **A. Matériel et méthode**

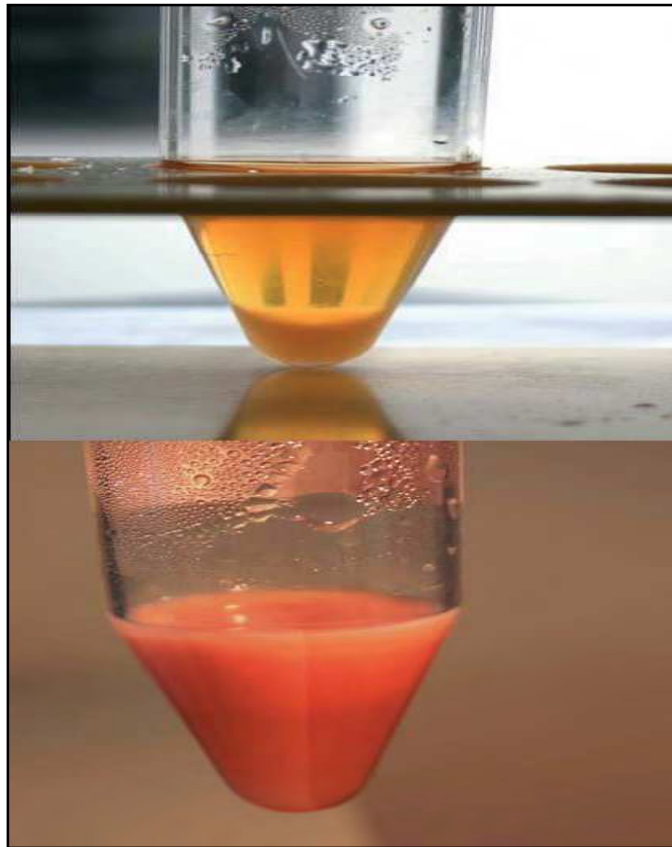
### **1. Obtention des échantillons**

Le prélèvement de l'échantillon est la phase la plus critique dans l'analyse de cryoglobuline. La raison la plus courante pour un résultat faux négatif est une mauvaise collecte et le transport de l'échantillon.

La température à laquelle une cryoglobuline est susceptible de précipiter est éminemment variable d'un patient à un autre et peut être aussi élevée que +36 °C. Il en résulte qu'une grande rigueur s'impose quant à la qualité du prélèvement, de son acheminement au laboratoire et à sa prise en charge à l'intérieur de celui-ci. Les précautions préanalytiques suivantes doivent être respectées [25, 19] :

- Il est recommandé que le patient soit à jeun depuis 12 heures, les lipides pouvant gêner l'interprétation lors de la recherche d'un cryoprécipité (**figure 14**).
- Il n'est pas indispensable qu'il soit dans une pièce à +37 °C.
- Il est indispensable que les tubes de prélèvement, dépourvus de gel et de tout additif, soient préchauffés à +37 °C.

- Le mieux est d'utiliser trois tubes secs, sous vide de 5 ml (ou deux tubes de 7 ml) pour obtenir un volume de sang d'environ 14 ml.
- L'acheminement au laboratoire doit se faire à l'aide d'un dispositif permettant de maintenir la température à +37 °C par exemple une valisette thermostatée chauffée à +37–39 °C ou un ballon rempli d'eau ou de sable à +38 – 40°C en fonction de la température ambiante et le retard de livraison de l'échantillon au laboratoire (à faire en sorte que la température ne descend pas au-dessous de +37°C à tout moment). Tout autre mode de transport garantissant le maintien d'une température à +37 °C de manière propre et sécurisée peut aussi convenir.
- Il est essentiel de ne pas laisser les prélèvements plus de 18h à +37 °C, sinon ils sont complètement hémolysés et la recherche n'est plus réalisable.



**Figure 14** : Exemple de cryoglobuline positive (haut) et de sérum lipidique et hémolysé (bas) dans lequel il est impossible de détecter un cryoprécipité [19].

## 2. Obtention du cryoprécipité

Dès leur arrivée au laboratoire, les tubes sont placés dans une étuve à +37 °C. La coagulation se fait pendant au moins deux heures et ne doit pas dépasser 24 heures dans cette étuve dédiée à cet effet. Le sérum doit être séparé du caillot par centrifugation à +37 °C (3500 rpm pendant 15 min) grâce à une centrifugeuse thermostatée.

Le respect de ces précautions pré-analytiques permet d'obtenir des résultats fiables en évitant la perte de la cryoglobuline au cours de ces premières étapes.

Une fois le sérum décanté dans deux tubes stériles de 5 ml en plastique transparent (recueillir environ 2,5 ml par tube), une deuxième centrifugation dans les mêmes conditions (+37 °C) est réalisée. Elle a pour but d'éliminer tout ce qui peut gêner visiblement l'interprétation (résidus de membranes cellulaires, fibrine par coagulation incomplète notamment).

Après l'étape de centrifugation, deux parties aliquotes de 2 ml, précisément mesurées avec une pipette automatique, sont mises dans deux tubes stériles coniques en plastique transparent puis les tubes sont placés dans un réfrigérateur à +4 °C pendant des temps variables selon les laboratoires (de 12 h à 9 jours dans l'étude de Vermeesch et al [113]); 7 jours étant recommandés afin que toutes les cryoprotéines aient précipité.

Un portoir identifié destiné à l'observation des cryoprécipités permet le rangement chronologique des échantillons par doublet.

Eventuellement sur une troisième partie aliquote (le reste 0,5 à 1 ml environ) maintenu à +37 °C, il est possible de procéder immédiatement à une électrophorèse, un dosage des immunoglobulines IgA, IgG, IgM, du complément C1q, C2, C3, C4, CH50 et du facteur rhumatoïde ainsi que de rechercher des auto-anticorps antinucléaires. Ces dosages fournissent les éléments biologiques complémentaires utiles au diagnostic étiologique d'une cryoglobulinémie.

Les deux parties aliquotes entreposées à +4 °C sont quotidiennement inspectées sachant que la cryoprécipitation peut survenir en quelques heures pour les cryoglobulines de type I et quelques type II ou en plusieurs jours le plus souvent pour les cryoglobulines mixtes de type II et III. Le suivi des lectures se fait en reportant les résultats sur une fiche dont un modèle est présenté (Fig.15) [19, 114].

<p style="text-align: center;"><b>CRYOGLOBULINES</b> <b>FICHE DE SUIVI DE LECTURE</b></p>										N° de la feuille
<p>Lire chaque jour les sérums présents sur le portoir dans le réfrigérateur à +4°C            Noter par (+) dès l'apparition d'un précipité ou la gélification du sérum            Noter par (-) s'il n'y a aucun changement de l'aspect du sérum            Noter le résultat du dosage dans la dernière colonne            Fiche à conserver 1 an dans le classeur de travail du poste électrophorèses</p>										
N° de travail	NOM/ Prénom	Date de prél	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	Dosage G/L

**Figure 15** : Table de suivi des lectures des cryoglobulines [114].

### 3. Lecture du cryoprécipité et interprétation de la lecture

Le cryoprécipité peut se présenter sous différentes formes : précipité blanc de volume variable au fond du tube, précipité formant de fines volutes quand il est remis en suspension délicatement, précipité floconneux au sein du sérum ou formation d'un cryogel dans certains type de cryoglobulines pouvant se traduire par une prise en masse du sérum. Ce cryogel est souvent difficile à observer et surtout difficile à isoler du fait de sa structure, il ne faut pas le perdre lors des différents lavages.

Chez certains patients, le cryoprécipité partant de la surface, peut ressembler à une couche lipidique : la centrifugation de l'échantillon est alors essentielle pour les différencier.

Donc si un dépôt est visible au fond du tube, il convient alors de noter la positivité sur la fiche le jour même de la lecture. Le septième jour au plus tôt, les tubes considérés comme positifs sont montrés au biologiste qui confirmera la présence probable et l'aspect du cryoprécipité.

La présence de lipides, l'hémolyse et encore plus les deux phénomènes associés rendent difficile voire impossible l'interprétation de cette recherche (**figure 14**). Un nouveau prélèvement à jeun devra être demandé [19].

Au bout de sept jours, si le sérum est toujours clair et fluide dans les deux tubes entreposés à +4 °C, si aucun dépôt n'est visible au fond du tube conique et si aucune volute n'est visible par agitation rotative douce manuelle du tube : la recherche de cryoglobuline

s'avère alors négative. Le libellé « cryoglobuline négative » est saisi. En cas de doute, une centrifugation est réalisée afin de voir si un culot est éventuellement présent puis le dosage des protéines est fait dans les mêmes conditions que lorsque la lecture est positive.

Dans tous les cas, il faut attendre sept jours avant de rendre la lecture définitive du tube. En effet, certaines cryoglobulines de type III ne précipitent significativement qu'au bout de cinq à six jours [114].

#### **4 .Resolubilisation**

La redissolution du précipité de cryoglobuline par un nouveau chauffage à +37°C est très importante [24].

Certains laboratoires préconisent d'abandonner le test de resolubilisation du cryoprécipité car il manque de sensibilité et de spécificité et reste d'interprétation trop subjective.

Dans le cas où des prélèvements itératifs sont réalisés plusieurs jours de suite pour le même patient (en général deux ou trois jours), chacun d'eux est traité et lu de la même façon car l'importance du cryoprécipité peut être légèrement variable d'un jour à l'autre [114].

#### **5. Analyse du cryoprécipité**

##### **◆ Isolement et lavage du cryoprécipité**

Nous n'utilisons, pour l'isolement en vue du dosage qu'un des tubes de chaque « doublet », celui présentant le précipité apparemment le plus abondant. Le second est gardé en réserve en cas d'incident éventuel de manipulation. Cette organisation évite d'avoir à prélever à nouveau le patient, très souvent sorti de l'hôpital avant le retour des résultats de cet examen nécessairement long [114].

Toutes les étapes suivantes sont réalisées à froid : centrifugation à +4 °C, réactifs conservés à +4 °C. Si la température ambiante est élevée, il faut travailler avec les tubes mis dans la glace [19].

Le précipité est isolé après centrifugation (3500 rpm × 15 minutes à +4°C). Après élimination du sérum surnageant, il est lavé trois fois par 2 ml de solution de chlorure de sodium à 0,9 g %, maintenu au réfrigérateur à +4 °C selon la séquence explicitée suivante: Le

culot est remis en suspension par agitation au vortex 20 secondes (s). Puis le mélange est centrifugé (3500 rpm × 15 minutes à +4°C) cela afin d'éliminer toutes traces de protéines non cryoprécipitantes. Cette opération est répétée trois fois.

Finalement, le cryoprécipité est redissous dans un volume d'une solution de chlorure de sodium isotonique de 100 µl additionnée de 100 µl de Fluidil®. Le précipité est agité au vortex 20 s, puis placé une nuit à l'étuve à +37 °C. Il convient de vortexer 20 s tous les quarts d'heure pour favoriser la redissolution pendant la première heure et le dernier précédent le dosage. En fonction de l'importance du précipité, ce volume peut être modifié après concertation avec le biologiste. Le volume de reprise doit être précisément mesuré pour permettre le dosage.

Le biologiste note ainsi l'importance du cryoprécipité qu'il va préciser lors de l'élaboration du commentaire. Le barème en fonction du dosage retenu au laboratoire est présenté dans le **Tableau IX. [114]**

*Tableau IX : Libellés pour l'axe quantitatif en vue de l'interprétation des cryoglobulines [114]*

N°	Libellé	Élément déclenchant (g/l)
1	Cryoglobuline en faible concentration	<0,1g/l
2	Cryoglobuline en concentration moyenne	Compris entre 0,1 et 0,5g/l
3	Cryoglobuline en concentration importante	Compris entre 0,5et 1g/l
4	Cryoglobuline en concentration très importante	Compris entre 1et 5 g/l
5	Cryoglobuline en concentration massive	> 5 g/l

### **B-Analyse quantitative = dosage du cryoprécipité**

Après observation visuelle, le précipité formé à +4°C peut être rapporté dans l'une des trois façons suivantes **[113]:**

- (1) cryocrite (pour cent du volume total),
- (2) la teneur totale en protéines, ou
- (3) contenu d'immunoglobulines.

## 1. Détection quantitative de cryoglobuline par cryocrite.

Le cryocrite c'est à dire le volume emballé du précipité par rapport au volume de sérum d'origine, est une méthode simple et largement utilisé [115].

Un tube conique spéciale (Wintrobe) est rempli de 5 à 10 ml de sérum et laissé dans un réfrigérateur pendant 3-7 jours. Le tube est centrifugé et le volume de CG précipité est lu à partir des repères de tube (**fig. 16**). Le pourcentage du volume total occupé par le cryoprécipité est déterminé visuellement [24, 33].

Le cryocrite chez les personnes sans cryoglobulinémie est proche de zéro.

Cette technique est pratique, rapide et peu coûteuse mais la reproductibilité est suspecte et elle est au mieux une estimation grossière et n'est donc pas une pratique recommandée comme seule moyenne de déterminer les niveaux de cryoglobulines.

L'estimation du cryocrite nécessite un grand volume de sérum. Elle est influencée par les protéines contaminantes et les étapes de lavage et de resolubilisation [24].



**Fig. 16** : Différents niveaux de cryoprécipités blanchâtres après la mise en garde du tube Wintrobe à + 4 °C pendant 48 h et centrifugation à 1400 tours par minute pendant 10 min [33].



## 2. la teneur totale en protéines

### ◆ Technique du Biuret inverse

La technique dite du Biuret inverse commercialisée par Roche® (*protein assay ESL*, référence 1767283) pour le dosage de protéines en faible concentration est préconisée par Le Carrer [10] pour le dosage des cryoglobulines. Il s'agit d'une technique colorimétrique dérivée de la méthode du Biuret inverse de Matsushita *et al.* [116].

Le principe du dosage est le suivant : une quantité connue et en excès d'ions cuivriques est mise en contact avec les protéines à doser. En milieu alcalin, il se forme des complexes protéine-cuivre. Les ions cuivriques résiduels sont ensuite réduits par l'acide ascorbique en ions cuivreux. Ces derniers peuvent alors former avec la bathocuproïne un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 485 nm. Le signal obtenu est inversement proportionnel à la quantité de protéines présentes dans l'échantillon. Le coffret contient un étalon d'albumine bovine à 2 g/L, un flacon de réactif A (tartrate de cuivre en milieu alcalin), un flacon de réactif B (bathocuproïne, acide ascorbique). Une gamme d'étalonnage est préparée par dilution de l'étalon fourni dans le coffret dans du NaCl 9 ‰. 100 µL de réactif A sont mélangés avec 50 µL d'échantillon ou d'étalon. Après une incubation de 5 minutes, 1000 µL de réactif B sont ajoutés.

L'absorbance du mélange est mesurée à 485 nm après exactement 30 secondes d'incubation. La droite d'étalonnage permet de déduire les concentrations en protéines des échantillons à partir de leur absorbance [108].

### ◆ Technique au rouge de pyrogallol

Cette réaction, décrite en 1983 par Fujita, a été adaptée au dosage des protéines urinaires par Watanabe [117] en 1986. Le rouge de pyrogallol se combine avec le molybdate pour former un complexe coloré qui absorbe à 460 nm. Quand ce complexe est associé à des protéines en milieu acide, le pic d'absorption se déplace à 598 nm. Pour la détermination de la protéinurie ou de la protéinorachie, l'étalonnage est réalisé à l'aide d'une solution d'albumine bovine à 1 g/L. Cependant, les données de la littérature [117, 118] montrent que les techniques de dosages faisant appel aux colorants et en particulier au rouge de pyrogallol sous-estiment les immunoglobulines et les chaînes légères par rapport à la technique du Biuret qui possède une identité de réaction parfaite avec toutes les protéines. C'est pourquoi, après

avoir testé la réactivité du colorant avec l'albumine et avec une solution d'immunoglobulines G humaines, il a été choisi d'utiliser comme étalon une solution d'immunoglobulines G humaines. La technique a été automatisée sur Cobas Mira S de la société ABX®, le rouge de pyrogallol utilisé étant fourni par la société Bioréa® (référence B11002). [108]

#### ➤ Préparation de l'étalon

Un flacon de Tegeline® à 50 g/L (lot n° 509895-3) a été utilisé. Après reconstitution selon la notice du fabricant, la solution de Tegeline® est diluée au 1/50e avec du NaCl à 9 ‰ de façon à obtenir une solution à 1 g/L. La concentration en immunoglobulines G de cette solution a été déterminée par immunonéphélométrie (automate BN2 de la société Dade Behring®). La solution a été aliquotée par fraction de deux millilitres en tube à hémolyse puis congelée à - 20 °C. Avant chaque nouvel étalonnage, le titre de la solution a été vérifié par dosage immunonéphélométrique. [107]

### 3. Evaluation de chaque technique

La teneur totale en protéines et cryocrite ne sont que des mesures indirectes de la concentration de cryoglobuline parce qu'elles quantifient à la fois la fraction d'immunoglobuline ainsi que les protéines qui co-précipitent dans la cryoglobuline. Ces protéines contaminantes peuvent être des protéines, comme C1q et Protéine C-réactive, qui interagissent spécifiquement avec la fraction d'immunoglobuline, ou des protéines, comme l'albumine, qui restent attachés au cryoprécipité en raison des procédures de lavage insuffisantes.

Les deux techniques colorimétriques (Biuret inverse et technique au rouge de pyrogallol) sont sensibles, faciles à mettre en œuvre et peu coûteuses.

Les avantages de la technique du Biuret inverse sont la réactivité identique du colorant quelle que soit la protéine à doser, la limite de détection basse et le domaine de linéarité étendu.

L'inconvénient principal de cette technique est l'absence d'automatisation sur l'automate Cobas Mira® de la société ABX®, le volume réactionnel étant trop important.

Les avantages de la technique au rouge de pyrogallol sont son automatisation aisée sur un automate de biochimie ouvert, sa limite de détection basse. Son inconvénient principal est la

différence de réactivité du colorant entre l'albumine et les immunoglobulines. L'étalonnage par une solution d'immunoglobulines G humaines purifiées permet de contourner en partie ce problème, mais non de s'en affranchir [108].

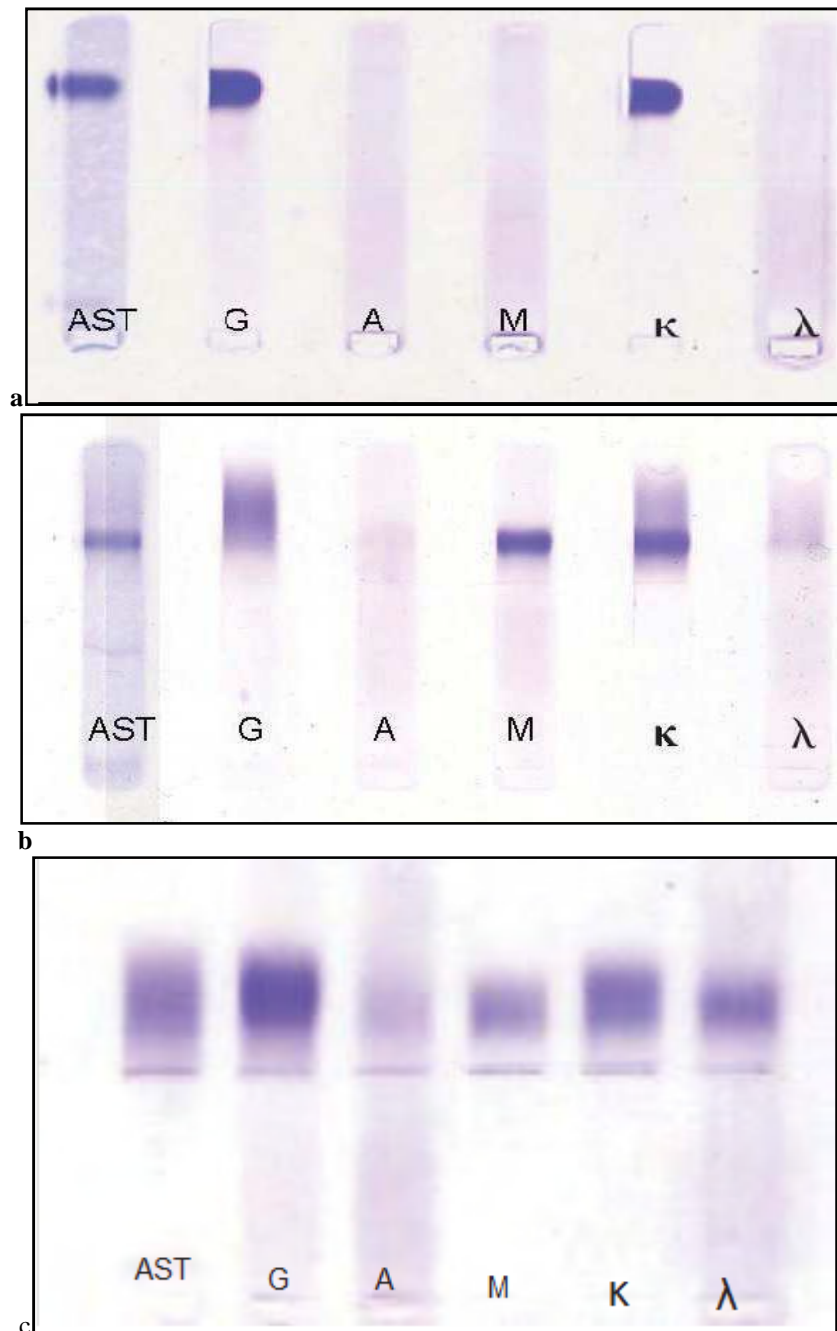
Quelle que soit la méthode de choix pour la quantification, il devrait garder à l'esprit qu'il n'y a pas de relation stricte entre la concentration de cryoglobuline et la sévérité des manifestations cliniques [107]. Pour le suivi d'un patient, il est évident que la même méthode doit être utilisée pour la quantification.

### **C.Analyse qualitative = typage immunochimique**

Le typage immunochimique est réalisé par une technique d'immunoélectrophorèse (IEP) (plusieurs dépôts sont nécessaires si la cryoglobuline est en faible concentration) ou par immunofixation (IF) (**figure17**), technique plus sensible et d'interprétation plus aisée.

Ces deux méthodes utilisent toutes deux des antisérums mono-spécifiques anti  $\gamma$  (IgG), anti  $\alpha$  (IgA), anti  $\mu$  (IgM), anti kappa, anti lambda et éventuellement anti C3 et anti C4 (ces révélations étant parfois positives pour les cryoglobulines mixtes activant le complément).

La technique d'immuno-empreinte, dont la sensibilité est cent fois supérieure à celle de l'immunofixation, reste parfois difficilement applicable en pratique courante [10, 19, 108, 114].



**Figure17** : Immunofixation de cryoprécipités redissouts à +37 °C [19]

**AST**: anti-sérum total, **G**: Acs anti- $\gamma$ , **A**: Acs anti- $\alpha$ , **M**: Acs anti- $\mu$ , **κ**: Acs anti- $\kappa$ , **λ**: Acs anti- $\lambda$ , Helena Biosciences.

**a.** Cryoglobuline de type I composée d'une IgG Kappa monoclonale.

**b.** Cryoglobuline de type II associant une IgM Kappa monoclonale et des IgG polyclonales.

**c.** Cryoglobuline de type III composée d'IgG et d'IgM polyclonales

### ◆ Analyse par immunofixation (IF)

Si le résultat du dosage est inférieur à 0,020 g/l, le résultat rendu est « faiblement positive, quantité insuffisante pour l'isotypage ». Si le résultat du dosage est supérieur ou égal à 0,020 g/l : une fiche est remplie (**Fig. 19**) en vue de l'identification immunologique par immunofixation (IF) de la cryoglobuline [114].

#### 1. Interprétation de l'immunofixation (IF)

L'IF est faite sur l'isolat dont la concentration est la plus importante dans le cas d'échantillons itératifs.

Dans 2 à 5 % environ des cas de recherche positive avec un dosage de cryoglobulines compris entre 0,020 et 0,030 g/l, l'identification des composants du cryoprécipité n'est pas possible faute de matériel soluble en concentration suffisante. Dans ce cas alors, le commentaire « identification impossible de la cryoglobuline en raison d'une concentration inférieure au seuil de sensibilité de la méthode » est saisi. Ce cas est rarement rencontré. Le biologiste fait l'interprétation en tenant compte de toutes les données cliniques et biologiques portées à sa connaissance. Il complète au besoin en téléphonant au médecin prescripteur les renseignements manquants sur la fiche.

Le commentaire du biologiste porte sur plusieurs points :

En premier lieu l'aspect qualitatif observé du précipité et quantitatif de la cryoglobuline en relation avec la concentration mesurée en g/l (**Tableau IX**). En effet, les cryoglobulines se présentent le plus souvent sous forme d'un cryoprécipité dans 95 % des cas. Plus rarement cependant, elles se manifestent par un gel notamment dans le cas des IgM monoclonales. Dans quelques très rares cas, leur précipitation se produit sous forme de cristaux pour certaines IgG monoclonales.

Les cryoglobulines dites faibles (inférieures à 0,1 g/l) sont souvent de type mixte rencontrées dans 30 à 40 % des hépatites C ou dans les pathologies infectieuses. Les cryoglobulines moyennes ou importantes sont souvent associées aux maladies à composante auto-immune (connectivites et glomérulonéphrites).

Les cryoglobulines très importantes sont souvent de type I monoclonal dans le cadre d'hémopathies lymphoïdes (Waldenström, myélome). Les cryoglobulines massives sont aussi de type I (IgM associées à la maladie de Waldenström).

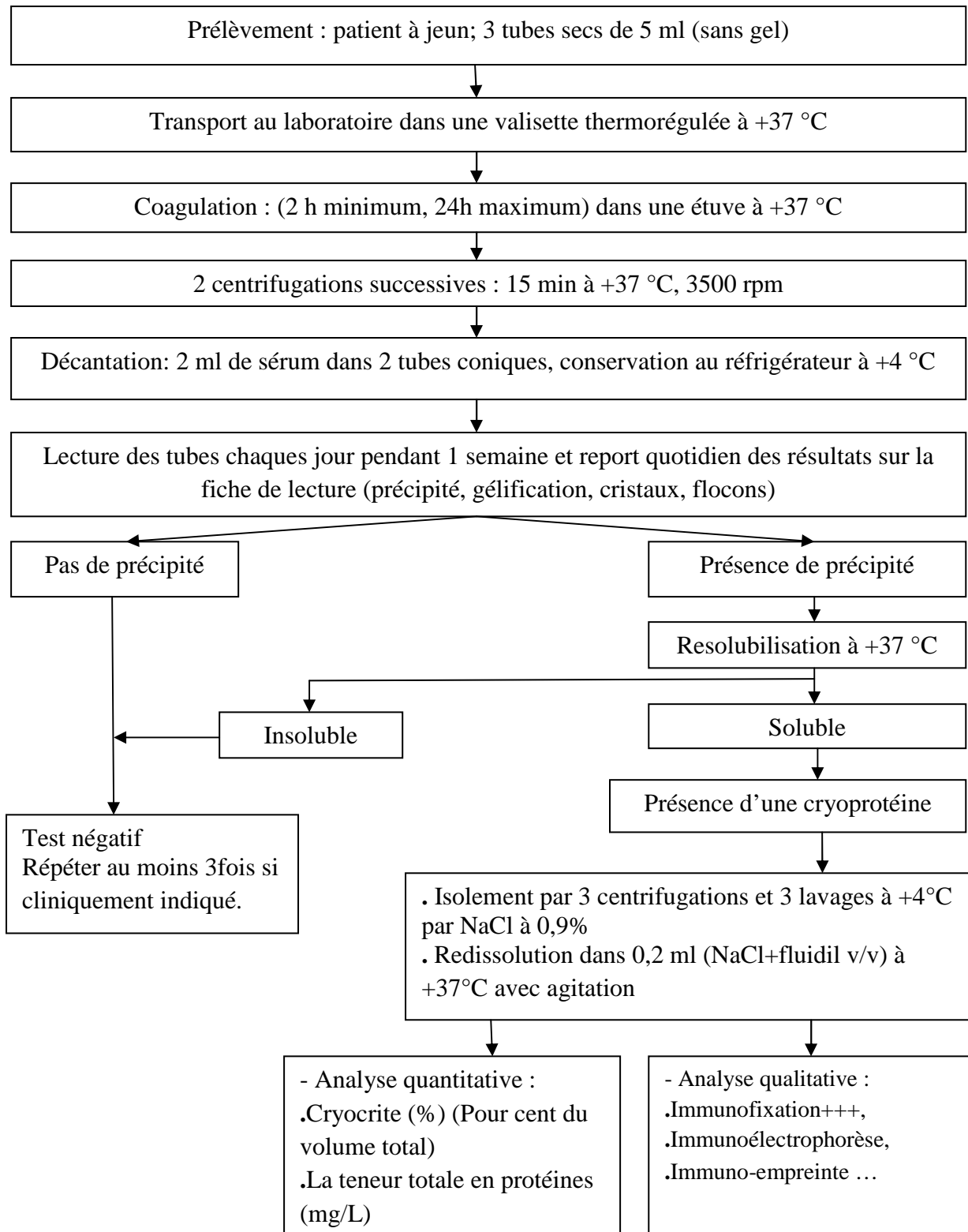
Le second point du commentaire porte sur l'isotypie de la cryoglobuline. La grande majorité des biologistes s'appuie sur la classification de Brouet [9] ou celle de Brouet modifiée par Le Carrer [10].

Les commentaires s'y rapportant sont standardisés grâce à des textes prêts à l'emploi. Ces textes peuvent être formalisés dans un thésaurus des textes codés que chaque équipe de biologistes peut créer dans son système informatique de laboratoire. Pour cela, une série de **tableaux (IX à XV)** regroupés par axe, permettent d'homogénéiser les commentaires si nécessaire.

Il est à noter que le biologiste saisit ensuite les résultats dans le dossier biologique informatisé en mentionnant en texte libre l'isotypie seulement pour l'échantillon le plus concentré en cryoglobuline. Dans le cas de prélèvements successifs sur plusieurs jours, le taux de cryoglobuline obtenu ainsi que le texte libre « voir les résultats de l'immunotypage en date du : JJ/MM/AAAA » sont saisis pour les autres échantillons du même patient.

Le biologiste doit aussi vérifier l'absence de trace d'albumine sur le gel d'IF. Cela prouve que le lavage du cryoprécipité a été correctement réalisé. L'interprétation peut être faite sans risque d'interférence par les immunoglobulines non cryoprécipitantes. S'il existe une précipitation de la cryoglobuline au point de dépôt, il est nécessaire de procéder à un prétraitement de l'échantillon par ajout de 20 µl de bêta mercaptoéthanol avant de refaire l'IF. Ce réactif est un agent de dépolymérisation efficace pour l'ouverture des ponts disulfures.

La figure suivante (**fig.18**) résume le protocole utilisé pour la recherche et la caractérisation d'une cryoglobuline.



**Fig 18 :** Protocole récapitulatif pour la recherche et la caractérisation d'une cryoglobuline [24, 108, 114].

Après interprétation et saisie des résultats, la fiche de travail est archivée dans le fichier des IF. Elle est conservée pendant 20 ans au minimum.

LABORATOIRE DE BIOCHIMIE														
Tel :														
<b>COMPTE RENDU DE L'ISOTYPAGE D'UNE CRYOGLOBULINE</b> (à associer avec le dossier IFE, archivage 20 ans)														
Nom :	Né(e) le :	N° travail :												
Prénom :	Service :	Date de l'examen : __/__/____/												
Date de la demande : __/__/____/														
<b>Renseignements cliniques :</b> <input type="checkbox"/> Syndrome de Raynaud <input type="checkbox"/> Acrocyanose des extrémités <input type="checkbox"/> Livedo réticularis <input type="checkbox"/> Nécroses cutanées <input type="checkbox"/> Glomérulonéphrite MP <input type="checkbox"/> Arthralgies inflammatoires <input type="checkbox"/> Arthrites <input type="checkbox"/> Polynévrites <input type="checkbox"/> Neuropathies périphériques <input type="checkbox"/> Hyperviscosité sanguines Diagnostic principal : <input type="checkbox"/> Hémopathie <input type="checkbox"/> Maladie autoimmune <input type="checkbox"/> Infection bactérienne <input type="checkbox"/> Hépatite virale Autre :														
<u>Interprétation quantitative</u>														
Cryoglobuline taux g/L :	<input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Moyenne <input type="checkbox"/> Importante <input type="checkbox"/> Très importante <input type="checkbox"/> Massive	(inf à 0,1 g/L) (0,1 à 0,5 g/L) (0,5 à 1 g/L) (1 à 5 g/L) (sup à 5 g/L)												
<u>Interprétation qualitative</u>		<u>Immuno-fixation</u>												
Type : <input type="checkbox"/> I monoclonale <input type="checkbox"/> IIa mixte monoclonale <input type="checkbox"/> IIb mixte oligoclonale <input type="checkbox"/> III mixte polyclonale Isotypie monoclonale : <input type="checkbox"/> IgG Kappa <input type="checkbox"/> IgG Lambda <input type="checkbox"/> IgA Kappa <input type="checkbox"/> IgA Lambda <input type="checkbox"/> IgM Kappa <input type="checkbox"/> IgM Lambda <input type="checkbox"/> Kappa <input type="checkbox"/> Lambda Isotypie oligoclonale : <input type="checkbox"/> IgG Kappa <input type="checkbox"/> IgG Lambda <input type="checkbox"/> IgA Kappa <input type="checkbox"/> IgA Lambda <input type="checkbox"/> IgM Kappa <input type="checkbox"/> IgM Lambda <input type="checkbox"/> Kappa <input type="checkbox"/> Lambda Isotypie polyclonale : <input type="checkbox"/> IgG Kappa <input type="checkbox"/> IgG Lambda <input type="checkbox"/> IgA Kappa <input type="checkbox"/> IgA Lambda <input type="checkbox"/> IgM Kappa <input type="checkbox"/> IgM Lambda Autres et évolution :	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">A</th> <th style="width: 10%;">IgG</th> <th style="width: 10%;">IgA</th> <th style="width: 10%;">IgM</th> <th style="width: 10%;">K</th> <th style="width: 10%;">L</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="height: 100px;"> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>		A	IgG	IgA	IgM	K	L						
A	IgG	IgA	IgM	K	L									
<u>Commentaire :</u>														

**Figure 19** : Fiche de présentation des résultats de cryoglobuline au biologiste et d'archifage [114].



**Tableau X : Libellés pour l'axe concernant le type de cryoglobuline [114]**

N°	Libellé	Élément déclenchant
1	De type I monoclonal	1 seul isotype monoclonal
2	De type II a mixte	1 isotype monoclonal associé à 1 ou plusieurs isotypes polyclonaux
3	De type II b mixte	1 ou plusieurs isotypes oligoclonaux associés à 1 ou plusieurs isotypes polyclonaux
4	De type III mixte polyclonal	Association de plusieurs isotypes polyclonaux

**Tableau XI : Libellés pour l'axe monoclonal concernant les cryoglobulines de type I [114]**

N°	Libellé	Élément déclenchant
1	D'isotypie IgM, kappa monoclonale	Bande mince IgM, K
2	D'isotypie IgM, lambda monoclonale	Bande mince IgM, L
3	D'isotypie IgG, kappa monoclonale	Bande mince IgG, K
4	D'isotypie IgG, lambda monoclonale	Bande mince IgG, L
5	D'isotypie IgA, kappa monoclonale	Bande mince IgA, K
6	D'isotypie IgA, lambda monoclonale	Bande mince IgA, L
7	D'isotypie kappa monoclonale	Bande mince, K (rare)
8	D'isotypie lambda monoclonale	Bande mince, L (rare)

**Tableau XII : Libellés pour l'axe oligoclonal concernant les cryoglobulines de type IIb [114]**

N°	Libellé	Élément déclenchant
1	D'isotypie IgM, kappa oligoclonale	Plusieurs bandes minces IgM, K
2	D'isotypie IgM, lambda oligoclonale	Plusieurs bandes minces IgM, L
3	D'isotypie IgG, kappa oligoclonale	Plusieurs bandes minces IgG, K
4	D'isotypie IgG, lambda oligoclonale	Plusieurs bandes minces IgG, L
5	D'isotypie IgA, kappa oligoclonale	Plusieurs bandes minces IgA, K
6	D'isotypie IgA, lambda oligoclonale	Plusieurs bandes minces IgA, L

**Tableau XIII : Libellés pour l'axe polyclonal concernant les cryoglobulines de type IIa et IIb [114]**

N°	Libellé	Élément déclenchant
1	Associée à des IgG polyclonales	Zone diffuse d'IgG
2	Associée à des IgA polyclonales	Zone diffuse d'IgA
3	Associée à des IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgM
4	Associée à des IgG et IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgG et d'IgM
5	Associée à des IgG et des IgA polyclonales	Zone diffuse d'IgG et d'IgA
6	Associée à des IgA et IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgA et d'IgM

**Tableau XIV : Libellés pour l'axe polyclonal concernant les cryoglobulines de type III [114]**

N°	Libellé	Élément déclenchant
1	D'isotypie IgG polyclonales	Zone diffuse d'IgG
2	D'isotypie IgA polyclonales	Zone diffuse d'IgA
3	D'isotypie IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgM
4	D'isotypie associant IgG et IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgG et d'IgM
5	D'isotypie associant IgG et IgA polyclonales	Zone diffuse d'IgG et d'IgA
6	D'isotypie associant IgA et IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgA et d'IgM
7	D'isotypie associant IgA, IgG et IgM polyclonales	Zone diffuse d'IgA, IgG et d'IgM

**Tableau XV : Libellé pour les autres commentaires et l'évolution du taux de cryoglobuline [114]**

N°	Libellé	Élément déclenchant
1	La concentration très élevée de cryoglobuline et l'isotype IgM doivent faire envisager une plasmaphérèse en fonction de l'importance des manifestations cliniques et de l'état général du patient.	IgM > 5 g/l et signes d'hyperviscosité du sang, néphropathie, neuropathie
2	La présence d'une cryoglobuline précipitant rapidement a été observée. Ce phénomène peut induire de nombreuses perturbations des dosages biologiques. SVP, pour ce patient, faire parvenir les échantillons de sang à 37 °C en signalant ce problème pour une prise en charge optimale	Perturbation sur la numération, les protéines totales, le phosphore, les dosages des protéines spécifiques du complément et immunoglobulines, les facteurs rhumatoïdes et la sérologie et les techniques immunologiques en général
3	Le taux de cryoglobuline reste stable depuis le précédent examen du jj/ mm/aaaa	Variation < 10 %
4	Le taux de cryoglobuline est en augmentation depuis le précédent examen du jj/mm/aaaa	Variation > +20 %
5	Le taux de cryoglobuline est en diminution depuis le précédent examen du jj/mm/aaaa	Variation > -20 %

#### **D. Autres techniques d'analyse des cryoglobulines**

D'autres techniques pour l'analyse des cryoglobulines ont été rapportées au cours des années. Certains rapports de cas ont révélé des cryoglobulines dans des frottis sanguins. Les cryoglobulines peuvent apparaître sous forme de dépôts amorphes entre les globules rouges ainsi que dans les globules blancs [119, 120]. Surtout dans les neutrophiles, ils révèlent plusieurs vacuoles rondes avec une couleur bleu pâle particulière [119, 121]. En outre, la présence de cristaux bleuâtres, disparaissant au réchauffement du sang à +37 °C, a été décrite dans un frottis de sang périphérique d'un patient avec des manifestations cliniques de cryoglobulinémie [122].

Bien que de tels résultats des frottis sanguins indiquent la présence de cryoglobulines, la détection par des méthodes classiques reste essentielle pour faire le diagnostic final.

Une autre technique alternative pour l'analyse des cryoglobulines est basée sur la diffusion sur gel. Cette procédure est basée sur le refroidissement des plaques d'agarose [123]. Alors que les conditions pré-analytiques sont similaires à la détection classique de cryoglobulines, la procédure de diffusion sur gel permet à 20 µl de sérum de précipiter à +4 °C. Après 48 h d'incubation, un anneau de précipitation peut se former. Le précipité peut être redissout à +37 °C pour confirmer qu'il s'agit de cryoglobuline. La limite de détection de ce procédé a été estimée à des concentrations de 50 mg / L.

Enfin, la détection de cryoglobuline par cytométrie en flux a été décrite [124]. Par rapport à l'inspection visuelle, cette technique semble être tout aussi spécifique.

Evidemment, toutes ces techniques alternatives pour l'analyse de cryoglobulines attendent une validation plus poussée dans les grandes études multicentrique.

### **E.Examens immunochimiques complémentaires à effectuer dans le cadre de l'exploration d'une cryoglobuline**

La découverte d'une cryoglobulinémie doit inciter à effectuer les examens biologiques complémentaires suivants :

- Recherche de l'existence d'une gammapathie monoclonale (protéinogramme du sérum et de l'urine).
- Exploration du complément : il existe souvent dans les cryoglobulinémies mixtes un abaissement profond et durable du complément total (CH 50) et des composants précoces (C1q, C2, C4) alors que la diminution du C3 est en général plus inconstante et que les composants tardifs (C5 à C9) sont à des taux normaux ou même augmentés. Pour éviter une hypocomplémentémie artéfactuelle, il est préférable de pratiquer si possible l'exploration du complément et de ses fractions sur un échantillon de sang prélevé "à chaud".
- Recherche de facteurs rhumatoïdes habituellement positifs sur sérum ou sur la cryoglobuline dans les cryoglobulines mixtes.
- Recherche de la présence éventuelle dans le sérum de divers auto-anticorps notamment anti-nucléaires en dehors de tout lupus érythémateux disséminé associé. [10]

### **X- Diagnostic étiologique des cryoglobulinémies (Tableau XVI)**

L'orientation étiologique d'une cryoglobulinémie est en grande partie déterminée par son type immunochimique. Pour les cryoglobulinémies de type I, le raisonnement est facile car elles sont toujours dues à une hémopathie lymphoïde B maligne sécrétrice d'une immunoglobuline monoclonale cryoprécipitante. En revanche, pour les cryoglobulinémies mixtes de type II et de type III, les pathologies causales ou associées sont très diverses comprenant de nombreuses infections (virales, bactériennes, fongiques, parasitaires), des connectivites, des néoplasies, et des hémopathies lymphoïdes B. Pour les cryoglobulinémies mixtes, les causes à rechercher prioritairement sont une infection par le VHC, une hémopathie lymphoïde B surtout pour les types II et une connectivite (notamment syndrome de Gougerot-Sjögren et lupus). Malgré une exploration large, l'enquête étiologique peut rester négative et on parle alors de cryoglobulinémies mixtes essentielles (10 à 30% de l'ensemble des cas) [8].

**Tableau XVI: Diagnostic étiologique d'une cryoglobuline [125].**

Aspects cliniques	Aspects biologiques
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Purpura vasculaire</li> <li>- Ulcères artériels</li> <li>- Urticaire au froid</li> <li>- Livedo réticulaire</li> <li>- Nécrose des extrémités</li> <li>- Syndrome de raynaud</li> <li>- Neuropathie périphérique sensitive</li> <li>- Néphropathie glomérulaire (GNMP, prolifération extra-capillaire)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pseudohyperleucocytose</li> <li>- Pseudomacrocytose</li> <li>- Pseudothrombocytose</li> <li>- Hypogammaglobulinémie</li> <li>- Hypocomplémentémie</li> <li>- Présence d'un facteur rhumatoïde</li> <li>- Vitesse de sédimentation normale à + 37 °C, basse à froid</li> </ul>

Rechercher une cryoglobulinémie

Typage - immunofixation

<b>Cryoglobuline de type I</b>	<b>Cryoglobuline de type II</b>	<b>Cryoglobuline de type III</b>
Rechercher une hémopathie lymphoïde : <ul style="list-style-type: none"> <li>- organomégalie superficielle et /ou profonde (imagerie)</li> <li>- myélogramme et/ou biopsie médullaire</li> <li>- analyse cytologique et/ou histologique d'un organe lymphoïde hypertrophié ou de toute lésion infiltrée accessible</li> <li>- Hémogramme, créatininémie, calcémie, LDH, protéinurie (électrophorèse et immunofixation)</li> <li>- Radiographies du squelette au besoin</li> </ul>	Rechercher : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Une infection par VHC (sérologie et/ou PCR)</li> <li>- Une hémopathie lymphoïde</li> <li>- Une maladie systémique ou autoimmune (manifestations cutanéomuqueuses, articulaires, syndrome sec, anticorps antinucléaires)</li> </ul>	Rechercher : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Une maladie systémique et/ou auto-immune</li> <li>- Une infection (VHC, VHB ou autre selon le contexte)</li> <li>- Une hépatopathie chronique</li> </ul>

- La cryoglobulinémie est dite essentielle en l'absence d'étiologie retrouvée.
- LDH : Lacticodéshydrogénases

## **XI. Anomalies biologiques de certains examens de laboratoire liées à la présence d'une cryoglobuline.**

Parfois, ce sont d'inexplicables anomalies biologiques qui attirent l'attention sur l'existence d'une cryoglobulinémie, ces anomalies peuvent s'observer lors de la réalisation de certains examens hématologiques ou biochimiques de routine, en particulier lorsque la température de précipitation de la cryoglobuline est supérieure ou égale à la température ambiante du laboratoire [10, 19].

### **A. Anomalies hématologique**

Elles touchent principalement la détermination de la vitesse de sédimentation et la réalisation de l'hémogramme lorsque celui-ci est effectué par comptage électronique sur un appareil automatique.

#### **1. Perturbations de la vitesse de sédimentation**

En présence d'une cryoglobuline, la vitesse de sédimentation (VS) peut fluctuer d'un jour à l'autre en fonction de son amplitude thermique, la VS est normale à la température du laboratoire (+21 °C) et augmentée à +37°C si la cryoprécipitation survient dès la température ambiante. Les différences observées peuvent être très importantes, la VS étant parfois supérieure à 100 mm à la première heure à +37 °C alors qu'elle n'est que de 2 ou 4 mm lorsqu'elle est réalisée à la température du laboratoire.

Au contraire, si le sérum d'un patient contient une Ig à activité anti-érythrocytaire de type agglutinine froide (le plus souvent non cryoglobulinique), la VS sera plus élevée au froid en raison de l'auto-agglutination des hématies, phénomène dont la réversibilité est rapide et complète à + 37 °C alors qu'avec une cryoglobuline ou un cryofibrinogène, c'est à + 37 °C que la VS sera plus importante.

#### **2. Perturbations de l'hémogramme**

##### **2.1. Si la cryoglobuline précipite à température ambiante**

Il existe une fausse hyperleucocytose et une fausse hyperplaquettose si la numération des éléments du sang est effectuée avec un appareil automatique (type Coulter Counter® par exemple) à une température qui entraîne la cryoprécipitation, alors qu'elle est normale quand le comptage est fait à +37 °C ou lors d'un examen visuel (qui montre d'ailleurs les particules cryoprécipitantes confondues par l'appareil avec les leucocytes).

La perturbation de l'hémogramme par les cryoglobulines est un phénomène rare, inconstant, observable avec les trois types de cryoglobulines, il est détectable grâce à l'aspect particulier des histogrammes de distribution des volumes (avec normalisation à +37 °C) et à l'examen visuel du frottis sanguin.

Une observation de ZANDECKI et coll. [126], illustre cette anomalie en présentant les histogrammes des volumes des leucocytes et des plaquettes sanguines d'un patient présentant une cryoglobulinémie de type II précipitant à température ambiante, à +22 °C, les particules ont pour la plupart une taille très réduite, l'analyse après chauffage une heure à +37 °C du même échantillon de sang montrant des histogrammes normaux. Les auteurs de cette observation concluent à juste titre de porter une attention toute particulière aux hémogrammes des patients cryoglobuliniques.

## **2.2. Si la cryoglobuline a une activité anticorps anti-érythrocytaire**

Certains IgM monoclonales entrant dans la composition des cryoglobulines peuvent avoir une activité anticorps dirigée contre certains antigènes de la membrane du globule rouge (de type agglutinine froide à activité anticorps identifiée des hématies de l'adulte ou activité anticorps identifiée des hématies de fœtus et du nourrisson par exemple), les agglutinines froides sont rarement cryoprécipitables, excepté celles ayant une activité anticorps identifiée qui possèdent un caractère cryoglobulinique dans environ un tiers des cas.

En présence d'agglutinines froides, une auto-agglutination des hématies est notable sur lame, pouvant être responsable au comptage électronique de taux de globules rouges artificiellement abaissés, de fausses macrocytoses, de chiffres élevés ou impossibles de concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et de difficultés lors du groupage sanguin, ces problèmes techniques sont évités en opérant à +37 °C.

Des taux élevés d'agglutinines froides non cryoglobuliniques sont rencontrés dans la maladie des agglutinines froides chez le sujet âgé ou lors de certaines infections virales, mais elles peuvent aussi compliquer certains lymphomes malins, en particulier non hodgkiniens.

## **B. Anomalies biochimiques et immunochimiques**

### **1. Perturbations de l'électrophorèse des protéines**

La présence d'une cryoglobuline dans un sérum peut être responsable, si sa température de précipitation est élevée, d'une fausse hypo  $\gamma$ -globulinémie sur le protéinogramme ou d'une

zone des  $\gamma$ -globulines faussement normale, avec pic monoclonal minoré voire même non détecté, cette anomalie biologique pouvant poser problème par exemple en cas de maladie de Waldenströme dont l'IgM monoclonale est exclusivement cryoglobulinique.

Ce phénomène est observé chez une patiente de 34 ans ayant une cryoglobulinémie de type II (IgM kappa monoclonale associée à des IgG polyclonales) dont la température de précipitation est proche de +20 °C et qui présente deux protéinogrammes:

- Sur un premier prélèvement effectué dans des conditions classiques, la zone des  $\gamma$ -globulines est normale, le sérum ayant été décanté à une température à laquelle la cryoglobuline s'adsorbe sur le caillot, le composant monoclonal de celle-ci étant donc indétectable dans le sérum analysé.
- Le second protéinogramme est celui réalisé sur le sérum décanté d'un prélèvement de sang réalisé "à chaud" (coagulation et décantation à +37 °C), il révèle un petit pic monoclonal dans la zone des  $\gamma$ -globulines, anomalie identifiée comme étant une IgM kappa monoclonale en faible concentration, entrant dans la composition de la cryoglobuline.

Le typage de la cryoglobuline de cette patiente s'est révélé particulièrement délicat, il n'a pu être réalisé qu'à une température supérieure à celle du laboratoire, dans la mesure où une cryoprécipitation se produisait au niveau du dépôt dans les gels utilisés pour l'immunofixation lorsque les manipulations étaient faites à température ambiante.

## **2. Perturbations des résultats de l'exploration du complément et de ses fractions**

La précipitation éventuelle d'une cryoglobuline dans le caillot lors de la coagulation du sang à température ambiante puis de sa centrifugation peut être responsable de la fixation des fractions C1q, C2 et C4 du complément sur le cryoprécipité, pouvant être responsable d'une hypocomplémentémie artéfactuelle, l'exploration du complément totale (activité CH50) et de ses fractions sur un échantillon de sang prélevé « à chaud » évite ces inconvénients.

## **3. Perturbations des résultats d'autres examens immunochimiques**

Une cryoprécipitation passée inaperçue peut interférer dans la détermination des facteurs rhumatoïde anti IgG étant des constituants très fréquemment rencontrés dans la composition des cryoglobulines mixtes.



De la même façon, de nombreux autres anticorps dirigés contre des auto ou des exo-antigènes peuvent disparaître du sérum en raison de leur participation à la formation d'un immun-complexe dans le cadre d'une cryoglobuline mixte, leur exploration sur un sérum prélevé « à chaud » évitera la aussi ces éventuelles interférences.

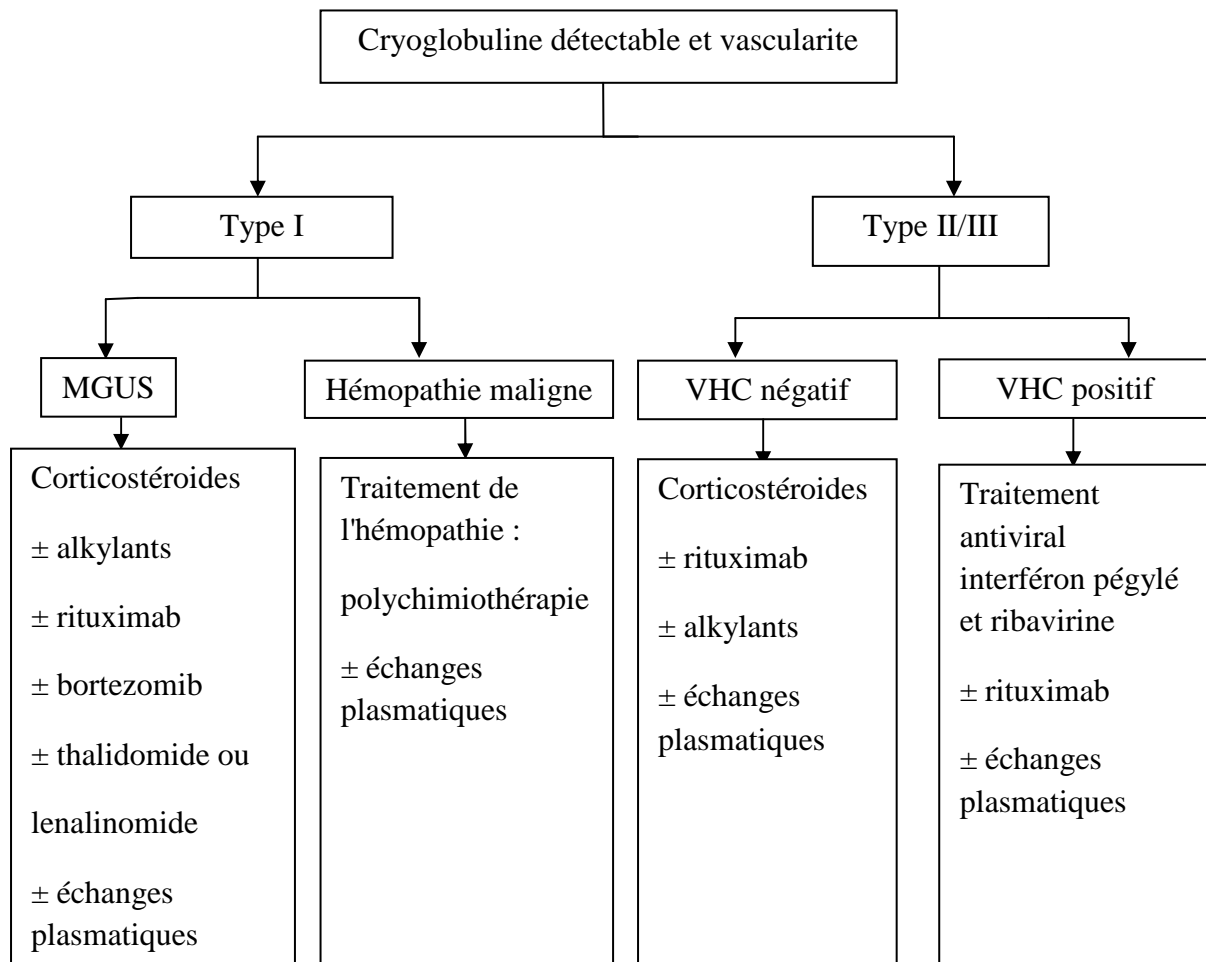
## **XII-Prise en charge thérapeutique de vascularite cryoglobulinémique (VasCryo)**

La prise en charge thérapeutique de VasCryo doit être modulée en fonction de l'étiopathogénèse sous-jacente (hyperviscosité versus vascularite) et la gravité de la présentation clinique. Il existe trois grandes stratégies dans le traitement de la cryoglobulinémie : immunosuppression conventionnelle, traitements antiviraux et des thérapies biologiques.

Les points clés thérapeutiques chez les patients atteints de cryoglobulinémie [4] :

- Traiter la cause sous-jacente de cryoglobulinémie si possible.
- Un bilan individuel attentif à évaluer le nombre d'organes qui sont affectés et la gravité de l'atteinte est essentiel pour la planification des approches thérapeutiques.
- Evaluer soigneusement l'intensité et la durée de traitements immunosuppresseurs classiques, en particulier chez les patients infectés par le VHC.
- Estimer la combinaison de l'interféron alfa pégylé et ribavirine comme pierre angulaire thérapeutique de vascularite cryoglobulinémique liée au VHC.
- L'échange de plasma est une option thérapeutique précieuse d'implications potentiellement mortelles, y compris le syndrome d'hyperviscosité.

Avant la découverte de l'infection par le VHC, les patients atteints de VasCryo ont tous été traités comme d'autres formes de vascularites systémiques fondées sur des données provenant de petites études non contrôlées. Dans les maladies systémiques sévères, les patients ont été traités de manière agressive à fortes doses de corticostéroïdes, des immunosuppresseurs (cyclophosphamide principalement) et / ou la plasmaphérèse. En l'absence de preuve d'une étiologie virale, l'utilisation empirique de l'interféron (IFN)- $\alpha$ , comme un agent antiprolifératif, était considéré comme un traitement efficace pour une VasCryo [127]. Avec la découverte du VHC comme un agent causal de la plupart des cas de VasCryo mixtes, de nouvelles opportunités de traitement sont apparues, en fonction de l'état du VHC (Fig. 20).



**FIGURE 20** : Gestion thérapeutique en fonction du type de cryoglobuline et l'état du virus d'hépatite C. [5]

*MGUS: monoclonal gammopathy of undetermined significance = gammopathies monoclonales de signification indéterminée.*

### **A. Vascularite de cryoglobulinémie mixte chez les patients infectés par le virus de l'hépatite C**

Les CM liées au VHC ne justifient un traitement que si elles sont symptomatiques.

Deux données récentes ont sensiblement modifié l'approche thérapeutique de la cryoglobulinémie associée au VHC : l'apparition de la forme pégylée de l'interféron et plus récemment des anticorps anti-CD20.

Le traitement de première ligne est actuellement basé sur l'association peg-interféron-alpha plus ribavirine, soit le traitement actuel optimal de l'hépatite C. Ce traitement s'est en effet révélé plus efficace que l'association interféron / ribavirine [128].

En cas d'efficacité « virologique » de ce traitement, jugée sur une virémie indétectable six mois après l'arrêt des traitements antiviraux, une rémission complète et prolongée des manifestations de la cryoglobulinémie est obtenue. En effet, différentes études ont confirmé l'étroite corrélation entre la rémission de la vascularite cryoglobulinémique et la réponse virologique. L'association interféron-alpha standard plus ribavirine permettait une amélioration dans 60 à 100% des cas sur les manifestations cutanées, 35 à 75% des cas sur l'atteinte rénale et 25 à 80% des cas sur les atteintes nerveuses périphériques. La combinaison Peg-interféron-alpha plus ribavirine est encore plus efficace puisqu'elle permet d'obtenir une réponse virologique et une rémission clinique complète des symptômes de la vascularite cryoglobulinémique dans 70 à 80% des cas, avec une réduction significative de la durée du traitement antiviral : 14 mois en moyenne contre 23 mois avec l'association interféron alpha standard plus ribavirine [129].

L'autre actualité thérapeutique dans les vascularites cryoglobulinémiques est l'utilisation des anticorps anti-CD20 (Rituximab®). Le rationnel est de diminuer de manière significative la production de la cryoglobuline en favorisant une déplétion lymphocytaire B.

Les premiers résultats de l'utilisation du rituximab (375 mg/mg<sup>2</sup> par semaine, quatre semaines de suite) sans association avec les antiviraux étaient très encourageants [130, 131]. Il s'agissait néanmoins de cas isolés ou de courtes séries. Ces résultats ont fait l'objet d'une revue récente qui s'est intéressée à l'ensemble des cas publiés de patients résistants à un traitement anti-VHC, immunosuppresseur et/ou par plasmaphèreses : avec un recul moyen de 9,7 mois, le rituximab a permis d'obtenir une réponse clinique et immunologique (disparition de la cryoglobulinémie et du clone lymphocytaire B circulant) chez 80% des patients [132].

Néanmoins, cet effet semble être suspensif puisqu'une rechute de la vascularite a été observée chez 42% des patients, 6,7 mois après la dernière perfusion de rituximab.

Dans la majorité des cas, la posologie utilisée a été de 375 mg/m<sup>2</sup> par semaine, mais les résultats d'une étude récente semblent suggérer que des doses de 250 mg/m<sup>2</sup> pourraient être aussi efficaces [133].

De nouvelles stratégies thérapeutiques sont actuellement à l'essai, associant dans les vascularites cryoglobulinémiques sévères, le rituximab pour traiter les parties immunologiques et inflammatoires de la maladie, puis une combinaison anti-virale optimale par Peg-interféron-alpha et ribavirine pour faire disparaître l'agent causal ce qui permettra d'éviter les rechutes [8].

A côté de ces nouvelles thérapeutiques, il reste encore une place pour les corticoïdes et les plasmaphérèses, dans les formes sévères de vascularites cryoglobulinémiques. En effet, l'utilisation de corticoïdes peut être utile à la phase initiale d'une forme sévère de vascularite, notamment en présence de manifestations viscérales graves, sous forme de bolus intraveineux de méthylprednisolone, relayés par la prednisone orale à la dose de 0,25 à 1 mg/kg/j. Des séances de plasmaphérèses pendant trois à quatre semaines sont également utiles dans les vascularites cryoglobulinémiques avec des manifestations rénales sévères isolées ou associées à des atteintes viscérales mettant en jeu le pronostic vital (système nerveux central, mononeuropathie sévère, appareil digestif). Le nombre et le rythme de ces séances ne sont toutefois pas codifiés.

Quand aux immunosuppresseurs, leur place est de plus en plus limitée dans l'arsenal thérapeutique actuel, notamment du fait des risques infectieux liés à l'immunosuppression profonde et d'une efficacité inconstante. Le cyclophosphamide est ainsi actuellement réservé aux patients présentant une résistance et/ou une contre-indication aux traitements précédemment décrits [8].

### **B. Vascularite cryoglobulinémie mixte non liée au VHC**

Le traitement optimal des patients ayant une vascularite cryoglobulinémique non liée au VHC reste à définir, car aucune étude contrôlée n'est disponible. En cas de forme mineure ou modérée, les traitements font appel à l'éviction du froid, au repos en cas de purpura, aux médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens, à la colchicine ou la dapsons-oxalate de fer

(Disulone®). Dans les formes sévères, notamment avec atteinte rénale, des combinaisons associant corticoïdes, immunosuppresseurs [cyclophosphamide, azathioprine, chlorambucil (Chloraminophène®)] et plasmaphérèses ont été proposées avec une efficacité variable [133]. Il existe un risque de rechute ou de rebond à l'arrêt des plasmaphérèses. Les données d'efficacité et de tolérance du rituximab dans les vascularites cryoglobulinémiques non liées au VHC sont rares, essentiellement sous forme de cas clinique. La plus grosse expérience vient d'une étude collaborative française portant sur 23 patients et objectivant une réponse clinique et immunologique chez plus de 80 % [134]. Toutefois, des effets secondaires étaient notés chez la moitié des patients, notamment des infections sévères (26 %). Ces infections survenaient chez les patients âgés de plus de 70 ans, avec une CM « essentielle », une insuffisance rénale [GFR (Filtration glomérulaire) < 60 mL/min] et ayant reçu préalablement une forte corticothérapie. Il faut souligner que le suivi à long terme des vascularites cryoglobulinémiques non virales avant l'ère du rituximab avait aussi révélé un risque de décès surtout par infection chez le même type de patients, c à d. âgés de plus de 60 ans et avec atteinte rénale [128].

Ces données suggèrent, en l'absence d'essais randomisés contrôlés chez les patients atteints de VasCryo non infectieuses, que le rituximab (administration hebdomadaire de quatre perfusions de rituximab iv à 375 mg/m<sup>2</sup> sur une période de 1 mois) est probablement le traitement le plus efficace, mais reste associé à des infections graves dans un sous-ensemble de patients.

### **C. Vascularite cryoglobulinémique Type I**

Les VasCryo de type I sont souvent mortelle en raison de la sévérité de l'atteinte cutanée et viscérale et l'hémopathie maligne sous-jacente. Des études récentes ont souligné l'intérêt potentiel de rituximab, le bortézomib ou thalidomide et le traitement à base de lenalinomide pour le traitement de VasCryo type I [52, 135]. Chez les patients avec VasCryo type I liée à une hémopathie maligne, le traitement de la vascularite est celui de l'hémopathie et repose sur une polychimiothérapie, mais un traitement spécifique peut aussi être indiqué, y compris l'échange de plasma, en particulier pour les lésions cutanées ulcéronécrotiques. Chez les patients atteints de myélome multiple sous-jacent, certains auteurs suggèrent que les

approches de traitement pour la VasCryo type I grave devraient associer systématiquement la plasmaphérèse à l'apparition de la maladie pour obtenir un contrôle rapide de la cryoglobulinémie, et que les traitements du myélome spécifiques devraient être introduits tôt pour éviter la rechute [135]. Chez les patients atteints de VasCryo type I associées à MGUS, la prise en charge thérapeutique peut aller, des corticostéroïdes seuls à des agents alkylants ou traitements à base de rituximab et d'autres nouveaux agents biologiques tels que le bortézomib, la thalidomide et lenalinomide, chez les patients gravement atteints et / ou réfractaires. L'efficacité du rituximab dans la VasCryo de type I reste controversée [136, 137]. L'absence d'expression de CD20 sur les cellules plasmiques a été supposée pour expliquer son manque d'efficacité, et l'exacerbation de vascularite en association avec des niveaux accrus de cryoglobuline après la perfusion de rituximab ont été rapportés [136]. Il a été suggéré que la réticulation de CD20 pourrait provoquer la libération massive de cryoglobuline à travers l'apoptose ou l'activation des cellules B, ce qui soulève des préoccupations quant à l'utilisation du rituximab chez ces patients. Des données récentes de l'enquête nationale française de vasCryo ont déclaré une réponse au rituximab chez 80% des patients en traitement de première ligne ou deuxième ligne. Dans la même étude [52], l'éruption de vascularite a été observée dans les 48 heures suivant la perfusion du rituximab chez 13% des patients. En ce qui concerne l'utilisation de nouveaux agents biologiques, le traitement à base de bortézomib s'est montré efficace chez 86% des patients, ce qui était très similaire à la thalidomide et lenalinomide qui ont montré un taux de 83% d'efficacité, avec un bon profil de tolérance [52]. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que chez les patients souffrant de MGUS grave et / ou réfractaire liée au VasCryo de type I, le rituximab, cyclophosphamide, la thalidomide ou lenalinomide, et les régimes à base de bortézomib pourraient être des options alternatives intéressantes lorsqu'ils sont combinés avec des corticostéroïdes. Les schémas thérapeutiques devraient probablement être similaires à ceux d'hémopathie maligne. Les profils des patients et le type d'organes engagés pourraient aider les praticiens à choisir entre ces différents schémas thérapeutiques. Par exemple, l'utilisation de la thalidomide, lenalinomide et bortézomib devraient probablement être évitée chez les patients présentant une neuropathie périphérique liée au VasCryo, en raison de l'induction commune de la neuropathie chez les patients traités avec ces médicaments.



# CONCLUSION





Les cryoglobulines sont des immunoglobulines qui précipitent au froid et qui peuvent être à l'origine de vascularites à complexes immuns parfois sévères, elles sont caractérisées par un grand polymorphisme clinique reflétant une grande variabilité étiologique : maladies infectieuses, en particulier l'infection par le VHC, hémopathies malignes ou connectivites.

Leur prévalence est mal connue et certainement sous-estimée.

La recherche de la cryoglobuline est délicate car elle requiert des conditions pré-analytiques strictes et difficiles à mettre en place. Néanmoins, il est essentiel de les identifier, de les quantifier et de suivre leur évolution car ces cryoglobulines peuvent être responsables de complications graves.

Le traitement des formes symptomatiques repose d'abord sur celui de la cause (traitement antiviral, chimiothérapie, etc.) en association ou non avec le rituximab. Dans les formes sévères, des échanges plasmatiques ou l'introduction d'un immunosuppresseur peuvent être discutés.



# RESUMES



# Résumé

**Titre :** Les cryoglobulines: Aspect clinique et biologique

**Auteur :** STOURAN HICHAM

**Mots clés :** Cryoglobuline, Vascularite cryoglobulinémique, Hépatite C, Lymphoprolifération B, Rituximab.

Les cryoglobulines sont des immunoglobulines qui précipitent au froid. Elles sont classées en cryoglobulines monoclonales (type I) et en cryoglobulines mixtes (type II et type III). Elles peuvent être à l'origine de vascularites à complexes immuns (vascularites cryoglobulinémiques) parfois sévères, avec atteinte multiviscérale comprenant le plus souvent une atteinte cutanée, neurologique et rénale.

Sur le plan biologique, le caractère symptomatique des cryoglobulinémies est associé à un effondrement de la fraction C4 du complément sérique et moins fréquemment la fraction C3 avec un complément hémolytique 50 le plus souvent normal.

Les cryoglobulinémies de type I sont toujours associées à des hémopathies B malignes telles le myélome malin et les lymphomes B, et leur traitement rejoint celui de la cause. Les cryoglobulinémies mixtes sont majoritairement liées à l'infection chronique par le virus de l'hépatite C, et secondairement aux connectivites et aux lymphomes B.

La recherche de cryoglobulines exige des conditions pré-analytiques très strictes. Les demandes doivent être initiées dans un contexte clinique évocateur, car le diagnostic d'une cryoglobulinémie est difficile: d'une part ces cryoglobulines sont présentes chez des sujets asymptomatiques et d'autre part leur concentration n'est pas toujours proportionnelle à la sévérité des signes cliniques. La recherche et le suivi de ces cryoglobulines sont essentiels car leur présence peut entraîner des complications graves par atteinte d'organes vitaux ou développement de néoplasie.

Le traitement des vascularites associées aux cryoglobulinémies mixtes liées au VHC repose d'abord sur l'éradication virale avec l'association de l'interféron alpha pégylé et de la ribavirine. L'adjonction du rituximab (anti-CD20) peut être proposée dans les formes sévères. Le rituximab peut également être recommandé en première ligne dans le traitement des vascularites cryoglobulinémiques non associées au VHC, en association avec des corticoïdes. Dans les formes sévères, des échanges plasmatiques ou l'introduction d'un immunosuppresseur peuvent être discutés.

# Abstract

**Title:** Cryoglobulins: Clinical and biological aspects

**Author:** STOURAN HICHAM

**Key words:** Cryoglobulins, Vasculitis cryoglobulinemic, Hepatitis C, Lymphoproliferation B, Rituximab.

Cryoglobulins are immunoglobulins that precipitate cold. They are classified monoclonal cryoglobulins (type I) and mixed cryoglobulins (type II and type III). They can cause immune complex vasculitis (vasculitis cryoglobulinemic) sometimes severe, multisystem disease including with usually a skin disease, neurological and kidney.

Biologically, the symptomatic nature of cryoglobulinemia is associated with a collapse of the serum complement C4 fraction and less frequently the fraction C3 with a 50 haemolytic complement usually normal.

Type I cryoglobulinemia are always associated with hematological malignancies B as malignant myeloma and B-cell lymphomas and their treatment joins that of the cause. Mixed cryoglobulinemia are mostly related to chronic infection with hepatitis C, and secondarily with connective and B-cell lymphomas

Search cryoglobulins requires strict preanalytical conditions. Applications must be initiated in the clinical presentation because the diagnosis of cryoglobulinemia is difficult: firstly these cryoglobulins are present in asymptomatic patients and also their concentration is not always proportional to the severity of clinical signs. Research and monitoring of these cryoglobulins are essential because their presence can cause serious complications for reaching vital organs or developing neoplasia.

The treatment of vasculitis associated with HCV-related mixed cryoglobulinemia is based primarily on viral eradication with the combination of pegylated interferon alpha and ribavirin. The addition of rituximab (anti-CD20) may be proposed in severe forms. Rituximab may also be recommended as first line treatment of non cryoglobulinemic vasculitis associated with HCV, in combination with corticosteroids. In severe cases, plasma exchange or introduction of immunosuppressive can be discussed.

## ملخص

**العنوان :** الكريوغلوبيولينات، الجوانب السريرية والبيولوجية

**من طرف :** ستوران هشام

**الكلمات الأساسية :** كريوغلوبيولين، التهاب الأوعية الدموية الكريوغلوبيولينية، التهاب الكبد "س"، تكاثر لمفاوي "ب"، ريتوكسيماب.

الكريوغلوبيولينات هي غلوبولينات مناعية تترسب في درجة حرارة منخفضة، وهي تصنف إلى كريوغلوبيولينات وحيدة النسيلة (النوع الأول) وكريوغلوبيولينات مختلطة (النوع الثاني والثالث). يمكن أن تكون سبب التهاب الأوعية الدموية بمركبات منيعة (التهاب الأوعية الدموية الكريوغلوبيولينية) خطيرة في بعض الأحيان، مع إصابة عدة أعضاء من بينها نجد غالبا إصابات جلدية وعصبية وكلوية.

إن الطبيعة العرضية للكريوغلوبيولينيا بيولوجيا مرتبطة بنقصان الجزء C4 للمكمل المصلي، وبحدة أقل الجزء C3 وغالبا ما يبقى المكمل الانحلالي 50 كالمعتاد.

إن الكريوغلوبيولينيا من النوع الأول مرتبطة دائما بالأمراض الدموية "ب" الخبيثة مثل الورم النقوي الخبيث والأورام اللمفاوية "ب"، وعلاجها مرتبط بمسبباتها، ووجود الكريوغلوبيولينيا المختلطة مرتبط أساسا بالعدوى المزمنة بفيروس التهاب الكبد "س" وثانويا بأمراض النسيج الضام والأمراض اللمفاوية "ب".

إن البحث عن الكريوغلوبيولينات يتطلب شروطا صارمة قبل التحليل. ويجب تقديم طلبات في سياقات سريرية موحية، لأنه يصعب تشخيص الكريوغلوبيولينيا: من جهة، الكريوغلوبيولينات موجودة عند أشخاص لا تظهر عليهم أعراض، ومن جهة أخرى، تركيزها ليس دائما متناسب مع خطورة الأعراض السريرية. البحث عنها وتتبعها ضروري لأن وجودها قد يتسبب في مضاعفات خطيرة بإصابة أعضاء حيوية في الجسم أو قد تؤدي إلى تطور أورام.

علاج التهاب الأوعية الدموية المرتبط بالكريوغلوبيولينيا المختلطة، ذات الصلة بفيروس التهاب الكبد "س"، يستند أولا إلى استئصال الفيروس وذلك بالجمع بين الأنترافرون ألفا المضاد للفيروسات وريبافيرين، كما يمكن اقتراح إضافة ريتوكسيماب (مضاد-CD20) في الحالات الخطيرة، كما يمكن التوصية ب ريتوكسيماب كأساس في علاج التهاب الأوعية الدموية الكريوغلوبيولينية غيرالمرتبطة بوجود فيروس التهاب الكبد "س"، وجمعه مع هرمونات كظرية. في الحالات الخطيرة يمكن مناقشة استعمال تبادل البلازما أو الأخذ بالعقاقير المثبطة للمناعة.

# Références bibliographiques

- [1]. Wintrobe MM, Buell MV (1933) Hypertension associated with multiple myeloma. Bull Johns Hopkins Hosp 52: 156-165
- [2]. Lerner AB, Watson CJ (1947) Studies of cryoglobulins I: unusual purpura associated with the presence of a high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). Am J Med Sci 214: 410-415
- [3]. Meltzer M, Franklin EC (1966) Cryoglobulinaemia: a study of 29 patients. I: IgG and IgM cryoglobulins and factors effecting cryoprecipitability. Am J Med 40: 828-836
- [4]. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X (2012) the cryoglobulinaemias. Lancet 379: 348-360
- [5]. Terrier B, Cacoub P (2013) Cryoglobulinemia vasculitis: an update. Curr Opin Rheumatol 25: 10-18
- [6]. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, CidMC, Ferrario F, Flores- Suarez LF, Gross WL, Guillevin L, Hagen EC, Hoffman GS, Jayne DR, Kallenberg CGM, Lamprecht P, Langford CA, Luqmani RA, Mahr AD, Matteson EL, Merkel PA, Ozen S, Pusey CD, Rasmussen N, Rees AJ, Scott DGI, Specks U, Stone JH, Takahashi K, Watts RA (2013) 2012 Revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. Arthritis Rheum 65: 1-11
- [7]. Szymanowicz A, Doche C, Coulhon H, Hennache B, Coquelin H, Berkhane Z, et al. Recommandations pour l'isolement, l'identification et l'interprétation des cryoglobulines. Spectra Biol 2007; 161: 41-52.
- [8]. P. Cacoub, D. Sène, D. Saadoun, Les cryoglobulinémies, La Revue de médecine interne 29 (2008) : 200-208
- [9]. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M (1974) Biologic and clinical significance of cryoglobulins: a report of 86 cases. Am J Med 57: 775-788
- [10]. Le Carrer D. Cryoglobulinémies : proposition d'un protocole d'exploration biologique. Actualisation de leur classification. Les feuillets de biologie 1998; 221 : 55-65.
- [11]. Lospalluto J, Dorward B, Miller W Jr et al (1962) Cryoglobulinemia based on interaction between a gamma macroglobulin and 7S gamma globulin. Am J Med 32: 142-147

- [12]. Franco Dammacco (2012). HCV Infection and Cryoglobulinemia
- [13]. HOBBS J.R.-Cryoproteins. Ann. Med. Int., 1986, 3: 254-259.
- [14]. Le Carrer D. Les cryoglobulinémies: exploration biologique et signification clinique. Revue française des laboratoires 1995; 279 : 43-51.
- [15]. A. Szymanowicz, M.-J. Neyron Analyse statistique, sur 20 mois, des types de cryoglobulines et de l'isotypie des immunoglobulines impliquées, Immuno-analyse et biologie spécialisée (2010) 25; 179-184
- [16]. Wintrobe J.T.; MAXWELL M. et coll –Hématologie clinique. Piccin Nuova Libreria Edit., Padova, 1990, Vol, I 2014-2024.
- [17]. BROUET J.C.- Les cryoglobulinemies. Presse Med; 1983, 47: 2991-2996.
- [18]. Schifferli J, Frenclil L, Tissot J. Infection par le virus de l'hépatite C, cryoglobulinémie et glomérulonéphrite. Paris : Flammarion Médecine- Sciences, 1994: 107-8.
- [19]. Marie-Nathalie Kolopp-Sardaa, Colette Chapuis-Celliera, Isabelle Dimeta, Christine Lombarda; Protéines cryoprécipitantes en pathologie: cryoglobuline et cryofibrinogène, revue francophone des laboratoires - juillet-août 2012 - n° 444
- [20]. Tissot JD, Schifferli JA, Hochstrasser DF, et al. Two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis analysis of cryoglobulins and identification of an IgM-associated peptide J Immunol Meth 1994; 173: 63–75.
- [21]. Musset L, Diemert MC, Taibi F, et al. Characterization of cryoglobulins by immunoblotting. Clin Chem 1992; 38: 798–802.
- [22]. Musset L, Duarte F, Gaillard O, et al. Immunochemical characterization of monoclonal IgG containing mixed cryoglobulinemia. Clin Immunol Immunopathol 1994; 70: 166–70.
- [23]. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D et al. Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical, and serologic features and survival in 321 patients Seminars Arthritis and rheumatism 2004; 33: 355–374.
- [24]. Sargur R, White P, Egner W. Cryoglobulin evaluation: best practice? Ann Clin Biochem 2010; 47(Pt 1): 8-16.
- [25]. Olivier M, Coton T, Ragot C, Delpy R, Moalic JL, Debonne JM. Les cryoglobulinémies. Ann Biol Clin 2004; 5: 521—8.

- [26]. Iori GP, Buonanno G (1972) Chronic hepatitis and cirrhosis of the liver in cryoglobulinemia. *Gut* 13: 610–613
- [27]. Florin-Christensen A, Roux MEB, Arana RM (1974) Cryoglobulins in acute and chronic liver diseases. *Clin Exp Immunol* 16: 599–605
- [28]. Levo Y, Gorevic PD, Kassab HJ et al (1977) Association between hepatitis B virus and essential mixed cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 296: 1501–1504
- [29]. Dienstag JL, Wands JR, Isselbacher KJ (1977) Hepatitis B and essential mixed cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 297: 946–947
- [30]. Popp JW Jr, Dienstag JL, Wands JR, Bloch KJ (1980) Essential mixed cryoglobulinemia without evidence for hepatitis B virus infection. *Ann Intern Med* 92: 379–383
- [31]. Ferri C (2008) Mixed cryoglobulinemia. *Orphan J Rare Dis* 3: 25
- [32]. Galli M (1995) Viruses and cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 13(Suppl 13): S63–S70
- [33]. F. Dammacco, D. Sansonno, C. Piccoli, F. A. Tucci and V. Racanelli; The cryoglobulins: an overview. *European Journal of Clinical Investigation* (2001) 31, 628-638
- [34]. Cohen P, Roulot D, Ferrière F et al (1997) Prevalence of cryoglobulins and hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *Clin Exp Rheumatol* 15: 523–527
- [35]. Scotto G, Cibelli DC, Saracino A et al (2006) Cryoglobulinemia in subjects with HCV infection alone, HIV infection and HCV/HIV coinfection. *J Infect* 52: 294–299
- [36]. Dimitrakopoulos AN, Kordosis T, Hatzakis A, Moutsopoulos HM (1999) Mixed cryoglobulinemia in HIV-1 infection: the role of HIV-1. *Ann Intern Med* 130: 226–230
- [37]. Kosmas N, Kontos A, Panayiotakopoulos G et al (2006) Decreased prevalence of mixed cryoglobulinemia in the HAART era among HIV -positive, HCV-negative patients. *J Med Virol* 78: 1257–1261
- [38]. Antinori S, Galimberti L, Rusconi S et al (1995) Disappearance of cryoglobulins and remission of symptoms in a patient with HCV-associated type II mixed cryoglobulinemia after HIV-1 infection. *Clin Exp Rheumatol* 13 (Suppl 13): S157–S159
- [39]. Palacios R, Santos J, Valdivielso P, Marquez M (2002) Human immunodeficiency virus infection and systemic lupus erythematosus. An unusual case and a review of the literature. *Lupus* 11: 60–63



- [40]. Pagnoux C, Cohen P, Guillevin L (2006) Vasculitides secondary to infections. *Clin Exp Rheumatol* 24 (2 Suppl41): S71–S81 (Review)
- [41]. Galli M, Monti G, Cereda UG et al (1984) Transient symptomatic cryoglobulinemia in gram-negative bacteria infections. *Boll Ist Sieroter Milan* 63 (1): 57–60
- [42]. VV.AA (2009) The prevalence of rare diseases: a bibliographic study. Orphanet Report series – Rare diseases collection.
- [43]. Bonnet F, Pineau JJ, Taupin JL, *et al*: Prevalence of cryoglobulinemia and serological markers of autoimmunity in human immunodeficiency virus infected individuals: a cross-sectional study of 97 patients. *J Rheumatol* 30: 2005-2010, 2003.
- [44]. Ramos-Casals M, Muñoz S, Medina F, *et al*: Systemic autoimmune diseases in patients with hepatitis C virus infection: characterization of 1020 cases (The HISPAMEC Registry). *J Rheumatol* 36: 1442-1448, 2009.
- [45]. Ferri C, Mascia MT (2006) Cryoglobulinemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 18 (1): 54–63
- [46]. VV.AA (2002) NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002. *NIH Consens State Sci Statements* 19 (3): 1–46 (Review).
- [47]. World Health Organization (2002) Hepatitis C.
- [48]. Baldo V, Baldovin T, Trivello R et al (2008) Epidemiology of HCV infection. *Curr Pharm Des* 14: 1646–1654
- [49]. Weinbaum C, Lyerla R, Margolis HS (2003) Prevention and control of infections with hepatitis viruses in correctional settings. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 52: 1–36
- [50]. Viganò M, Lampertico P, Rumi MG et al (2007) Natural history and clinical impact of cryoglobulins in chronic hepatitis C: 10-year prospective study of 343 patients. *Gastroenterology* 33 (3): 835–842
- [51]. Ramos-Casals M, Forns X, Brito-Zerón P et al (2007) Cryoglobulinaemia associated with hepatitis C virus: influence of HCV genotypes, HCV-RNA viraemia and HIV coinfection. *J Viral Hepat* 14 (10): 736–742
- [52]. Terrier B, Karras A, Kahn JE, et al. The spectrum of type I cryoglobulinemia vasculitis: New insights based on 64 cases. *Medicine (Baltimore)* 2012 (in press).

- [53]. Kayali Z, Buckwold VE, Zimmerman B, Schmidt WN(2002) Hepatitis C, cryoglobulinemia, and cirrhosis: a metaanalysis. *Hepatology* 36 (4 Pt 1): 978–985
- [54]. Leone N, Pellicano R, Ariata Maiocco I et al (2002) Mixed cryoglobulinaemia and chronic hepatitis C virus infection: the rheumatic manifestations. *J Med Virol* 66(2): 200–203
- [55]. Willems M, Sheng L, Roskams T et al (1994) Hepatitis C virus and its genotypes in patients suffering from chronic hepatitis C with or without a cryoglobulinemia-related syndrome. *J Med Virol* 44 (3): 266–271
- [56]. Cacoub P, Maisonnobe T, Thibault V et al (2001) Systemic vasculitis in patients with hepatitis C. *J Rheumatol* 28 (1): 109–118
- [57]. Hoofnagle JH (2002) Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 36 (5 Suppl 1): S21–S29 (Review)
- [58]. Cacoub P, Renou C, Kerr G et al (2001) Influence of HLA-DR phenotype on the risk of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 44 (9): 2118–2124
- [59]. Galli M, Monti G, Invernizzi F et al (1992) Hepatitis B virus-related markers in secondary and in essential mixed cryoglobulinemias: a multicentric study of 596 cases. The Italian Group for the Study of Cryoglobulinemias (GISC). *Ann Ital Med Int* 7 (4): 209–214
- [60]. Cohen P (1999) Cryoglobulinemia related to the hepatitis B and C viruses. *Pathol Biol* 47 (3): 232–236 (Review)
- [61]. Lapinski TW, Parfi eniuk A, Rogalska-Plonska M et al(2009) Prevalence of cryoglobulinaemia in hepatitis C virus and hepatitis C virus / human immunodeficiency virus infected individuals: implications for renal function. *Liver Int* 29 (8): 1158–1161, Epub 2009 Jul 7
- [62]. Matthews LJ, Trautman JR (1965) Clinical and serological profiles in leprosy. *Lancet* 2 (7419): 915–917
- [63]. Casato M, De Rosa FG, Pucillo L et al (1999) Mixed cryoglobulinemia secondary to visceral Leishmaniasis. *Arthritis Rheum* 42 (9): 2007–2011
- [64]. Monti G, Galli M, Invernizzi F et al (1995) Cryoglobulinaemias: a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. GISC – Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias. *QJM* 88 (2): 115–126

- [65]. Saccardo F, Novati P, Sironi D et al (2007) Causes of death in symptomatic cryoglobulinemia: 30 years of observation in a Department of Internal Medicine. *Dig Liver Dis* 39 (Suppl 1): S52–S54
- [66]. Bryce AH, Kyle RA, Dispenzieri A et al (2006) Natural history and therapy of 66 patients with mixed cryoglobulinemia. *Am J Hematol* 81 (7): 511–518
- [67]. Saccardo F, Massaro P, Monti G et al (1986) Causes of death in essential mixed cryoglobulinemia. *Ric Clin Lab* 16 (2): 389–391
- [68]. Tarantino A, Campise M, Banfi G et al (1995) Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 47 (2): 618–623
- [69]. Monti G, Saccardo F, Pioltelli P et al (1995) the natural history of cryoglobulinemia: symptoms at onset and during follow-up. A report by the Italian Group for the Study of Cryoglobulinemias (GISC). *Clin Exp Rheumatol* 13 (Supp 113): S129–S133
- [70]. Zehender G, De Maddalena C, Bernini F et al (2005) Compartmentalization of hepatitis C virus quasispecies in blood mononuclear cells of patients with mixed cryoglobulinemic syndrome. *J Virol* 79 (14): 9145–9156
- [71]. Tarantino A, Moroni G, Banfi G et al (1994) Renal replacement therapy in cryoglobulinemic nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 9 (10): 1426–1430
- [72]. Alessandra Tedeschi, Claudia Barate, Ernesto Minola, Enrica Morra. Cryoglobulinemia *Blood Reviews* (2007) 21, 183–200
- [73]. Speight E.L., Lawrence C.M. 1993. Reticulate purpura, cryoglobulinemia and livedo reticularis. *Br J Dermatol* 129: 319-323
- [74]. Vital C, Vital A, Canron M-H, Jaffrè A et al (2006) Combined nerve and muscle biopsy in the diagnosis of vasculitis neuropathy. A 16-year retrospective study of 202 cases. *J Peripher Nerv Syst* 11: 20–29
- [75]. Trejo O, Ramos-Casals M, Garcia-Carrasco M et al (2001) Cryoglobulinemia: study of etiologic factors and clinical and immunologic features in 443 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)* 80: 252–262
- [76]. Sene D, Ghillani-Dalbin P, Thibault V, et al. Longterm course of mixed cryoglobulinaemia in patients infected with hepatitis C virus. *J Rheumatol* 2004; 31: 2199–206.

- [77]. Della Rossa A, Tavoni A, D' Ascanio A, et al. Mortality rate and outcome factors in mixed cryoglobulinaemia: the impact of hepatitis C virus. *Scand J Rheumatol* 2010; 39: 167–70.
- [78]. Gemignani F, Melli G, Inglese C, Marbini A. Cryoglobulinaemia is a frequent cause of peripheral neuropathy in undiagnosed referral patients. *J Peripher Nerv Syst* 2002; 7: 59–64.
- [79]. Vital A (2001) Paraproteinemic neuropathies. *Brain Pathol* 11: 399–407
- [80]. Vallat JM, Magy L, Richard L et al (2008) Intranervous immunoglobulin deposits: an underestimated mechanism of neuropathy. *Muscle Nerve* 38: 904–911
- [81]. Bonetti B, Invernizzi F, Rizzuto N et al (1997) T-cell-mediated epineurial vasculitis and humoral-mediated microangiopathy in cryoglobulinemic neuropathy. *J Neuroimmunol* 73: 145–154
- [82]. Vital A, Favereaux A, Martin-Dupont P et al (2001) Antimyelin-associated glycoprotein antibodies and endoneurial cryoglobulin deposits responsible for a severe neuropathy. *Acta Neuropathol* 102: 409–412
- [83]. Iqbal M, Bilal S, Hennessy M (2010) POEMS syndrome: cryoglobulinemia an unusual association. *Ir J Med Sci.* doi: 10.007/s11845-010-0476-4
- [84]. Santoro L, Manganelli F, Briani C et al (2006) Prevalence and characteristics of peripheral neuropathy in hepatitis C virus population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77: 626–629
- [85]. Ripault MP, Borderie C, Dumas P et al (1998) Peripheral neuropathies and chronic hepatitis C: a frequent association? *Gastroenterol Clin Biol* 22: 891–896
- [86]. Said G, Lacroix-Ciaudo C, Fujimura H et al (1988) the peripheral neuropathy of necrotizing arteritis: a clinicopathological study. *Ann Neurol* 23: 461–465
- [87]. Olney RK (1992) AAEM minimonograph #38: neuropathies in connective tissue disease. *Muscle Nerve* 15: 531–542
- [88]. Seo JH, Ryan HF, Claussen GC et al (2004) Sensory neuropathy in vasculitis: a clinical, pathologic, and electrophysiologic study. *Neurology* 63: 874–878
- [89]. Gemignani F, Brindani F, Alfieri S et al (2005) Clinical spectrum of cryoglobulinaemic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76: 1410–1414

- [90]. Ammendola A, Sampaolo S, Migliaresi S et al (2007) Autonomic neuropathy in mixed cryoglobulinemia. *J Neurol* 254: 215–219
- [91]. Costa J, Resende C, de Carvalho M (2003) Motor-axonal polyneuropathy associated with hepatitis C virus. *Eur J Neurol* 10: 183–185
- [92]. Bonetti B, Scardoni M, Monaco S et al (1999) Hepatitis C virus infection of peripheral nerves in type II cryoglobulinaemia. *Virchows Arch* 434: 533–535
- [93]. Authier FJ, Bassez G, Payan C et al (2003) Detection of genomic viral RNA in nerve and muscle of patients with HCV neuropathy. *Neurology* 60: 808–812
- [94]. T.Maisonoble, J.M.Léger, L.Musset, P.Cacoub; Neurological manifestations in cryoglobulinemia, *Rev Neurol (Paris)* 2002; 158: 10, 920-924
- [95]. Sansonno D, Dammacco F. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and vasculitis: immune complex relations. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 227–36.
- [96]. Beddhu S, Bastacky S, Johnson JP. The clinical and morphologic spectrum of renal cryoglobulinaemia. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81: 398–409.
- [97]. Roccatello D, Fornasieri A, Giachino O et al (2007) Multicenter study on hepatitis C virus-related cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 49 (1): 69–82
- [98]. Christian Jacquot, Marie-Dominique Pauti, Frédérique Meeus: Cryoglobulinémies *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier), Néphrologie-Urologies*, 18-053-D-10, *Hématologie*, 13-014-G-50, 2000, 9p.
- [99]. Saba Kiremitcia, Reyhan Calayoglu, Arzu Ensaria, Bulent Erbayb; Pathologist's puzzle: Membranoproliferative glomerulonephritis-like features in cryoglobulinemic glomerulonephritis; *Pathology – Research and Practice* 208 (2012) 254– 258
- [100]. Terrier B, Saadoun D, Sene D, Scerra S, Musset L, Cacoub P. Presentation and outcome of gastro-intestinal involvement in hepatitis C virus-related systemic vasculitis: a case-control study from a single-centre cohort of 163 patients. *Gut* 2010; 59: 1709–15.
- [101]. Amital H, Rubinow A, Naparstek Y. Alveolar hemorrhage in cryoglobulinaemia—an indicator of poor prognosis. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 616–20.
- [102]. Ferri C, La Civita L, Fazzi P, et al. Interstitial lung fibrosis and rheumatic disorders in patients with hepatitis C virus infection. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 360–65

- [103]. Retamozo S, Diaz-Lagares C, Bosch X, De Vita S, Ramos-Casals M. Life-threatening cryoglobulinemia. In: Khamashta MA, Ramos-Casals M, eds. Autoimmune diseases: acute and complex situations London: Springer-Verlag, 2011: 133–62.
- [104]. Rieu V, Cohen P, Andre MH, et al. Characteristics and outcome of 49 patients with symptomatic cryoglobulinaemia. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 290–300.
- [105]. Safadi R, Ilan Y, Ashur Y, Shouval D. Hepatitis C-associated cryoglobulinaemia presenting with pericardial effusion. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 710–12.
- [106]. Aucouturier P, Alyanakian MA, Richard S, Moreau P. Cryoglobulinémies. *Option Bio* 2000; sup 243/244: 18–20.
- [107]. Shihabi ZK. Cryoglobulins: an important but neglected clinical test. *Ann Clin Lab Sci* 2006; 36: 395–408.
- [108]. Olivier M, Coton T, Ragot C, Chianéa D, Moalic J-L, Debonne J-M. Cryoglobuline : recherche et quantification. Étude chez le sujet sain et chez des patients atteints d'une hépatite C chronique. *Ann Biol Clin (Paris)* 2005; 1: 59–65.
- [109]. Gorevic PD, Galanakis D. Cryoglobulins, cryofibrinogenemia and pyroglobulins. In: Detrick B, Hamilton RG, Folds JD, eds. *Manual of molecular and clinical laboratory immunology*. 7th ed: ASM Press, 2006: 101–11.
- [110]. U. Kallemuchikkal, P.D. Gorevic, Evaluation of cryoglobulins, *Arch. Pathol. Lab. Med.* 123 (1999) 119–125.
- [111]. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins. *J Clin Pathol* 2002; 55: 4–13.
- [112]. Gabriela Motyckova and Mandakolathur Murali; Laboratory testing for cryoglobulins *Am. J. Hematol.* 86: 500–502, 2011.
- [113]. Vermeersch P, Gijbels K, Mariën G, Lunn R, Egner W, White P, Bossuyt X (2008) A critical appraisal of current practice in the detection, analysis, and reporting of cryoglobulins. *Clin Chem* 54: 39–43
- [114]. Szymanowicz A, Neyron MJ, Denis I. Protocole pratique pour la détection, la caractérisation et l'interprétation des cryoglobulines. *IBS* 2006; 21: 319—26.
- [115]. Jan Damoiseaux & Jan Willem Cohen Tervaert. *Diagnostics and Treatment of Cryoglobulinaemia: It Takes Two to Tango*, *Clinic Rev Allerg Immunol* (2013)

- [116]. Matsushita M, Irino T, Komoda T, Sakagishi Y. Determination of proteins by a reverse Biuret method combined with the copper-bathocuproin chelate reaction. *Clin Chim Acta* 1993; 216: 103-11.
- [117]. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, *et al.* Urinary protein as measurement with a pyrogallol red-molybdate complex, manually and in Hitachi 726 automated analyser. *Clin Chem* 1986; 32: 1551-4.
- [118]. Le Bricon T. Exploration biologique de la protéinurie au laboratoire d'analyses : aspects quantitatifs. *Ann Biol Clin* 2001; 59: 701-15.
- [119]. Maitra A, Ward PC, Kroft SH, Levinson BS, Jamal S, Fishleder AJ, Sendelbach KM, McKenna RW (2000) Cytoplasmic inclusions in leukocytes. An unusual manifestation of cryoglobulinemia. *Am J Clin Pathol* 113: 107-112
- [120]. Fohlen-Walter A, Jacob C, Lecompte T, Lesesve JF (2002) Laboratory identification of cryoglobulinemia from automated blood cell counts, fresh blood samples, and blood films. *Am J Clin Pathol* 117: 606-614
- [121]. Lesesve J-F, Muller M, Vautrin A, Odinotte A, Etienne Y (2011) Cryoglobulin detection from blood and peritoneal fluid smears. *Int Jnl Lab Hem* 33: 201-204
- [122]. Shirato K, Reid C, Ibbetson JS, Hissaria P, Shireen S (2009) Diagnosis of type I cryoglobulinaemia made through identifying crystals in the blood smear. *Australas J Dermatol* 50: 281-284
- [123]. Okazaki T, Nakahashi A, Uchiyama T, Imoto A, Morikawa K, Okano T, Nakamura K, Takahashi S, Fujioka T (2009) Composition of cryoglobulin and cryoprecipitate. *Clin Chem Lab Med* 47: 1161-1163
- [124]. Müller RB, Vogt B, Winkler S, Muñoz LE, Franz S, Kern P, Maihöfner C, Sheriff A, von Kempis J, Schett G, Herrmann M (2012) Detection of low level cryoglobulins by flow cytometry. *Cytometry A* 81: 883-887
- [125]. P.Coppo, K. Lassoued, *medicine thérapeutique*. Volume 6, Numéro 1, 48-53 (2000), démarches diagnostiques.
- [126]. Zandecki M., Dupriez B, Demory J.L, Haffreingue H., Cosson A. Numérations leucocytaire et plaquettaire artificiellement augmentées, révélatrices d'une cryoglobulinemies de type II., 1989, 35 : 1756.

- [127]. Bonomo L, Casato M, Afeltra A, Caccavo D. Treatment of idiopathic mixed cryoglobulinemia with alpha interferon. *Am J Med* 1987; 83: 726–730.
- [128]. Cacoub P, Lidove O, Limal N, Sene D, Saadoun D, Piette JC. Pegylated interferon alfa 2b and ribavirin treatment in patients with hepatitis C virus-related systemic vasculitis. *Rheum* 2005; 52: 911-5
- [129]. Saadoun D, Resche-Rigon M, Thibault V, et al. Antiviral therapy for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia vasculitis: a long-term followup study. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 3696–3706.
- [130]. Zaja F, Russo D, Fuga G et al. Rituximab for the treatment of type II mixed cryoglobulinemia *Haematologica* 1999; 84: 1157-8.
- [131]. Zaja F, Devita S, Russo D et al. Rituximab for the treatment of type II mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2252-4.
- [132]. Visentini M, Granata M, Venezian ML et al. Efficacy of low-dose rituximab for mixed cryoglobulinemia. *Clin Immunol* 2007; 125: 30-3.
- [133]. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D, Landau DA, Sene D. Antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemia vasculitis: where do we stand? *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 283-7.
- [134]. Terrier B, Launay D, Kaplanski G, et al. Safety and efficacy of rituximab in non viral cryoglobulinemia vasculitis: data from the French Autoimmunity and Rituximab registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010; 62: 1787– 1795.
- [135]. Payet J, Livartowski J, Kavian N, et al. Type I cryoglobulinemia in multiple myeloma, a rare entity: analysis of clinical and biological characteristics of seven cases and review of the literature. *Leuk Lymphoma* 2012. [Epub ahead of print]
- [136]. Nehme-Schuster H, Korganow AS, Pasquali JL, Martin T. Rituximab in efficiency during type I cryoglobulinaemia. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 410–411.
- [137]. Pandrangi S, Singh A, Wheeler DE, Rossi NF. Rituximab treatment for a patient with type I cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Nat Clin Pract Nephrol* 2008; 4: 393–397.



## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



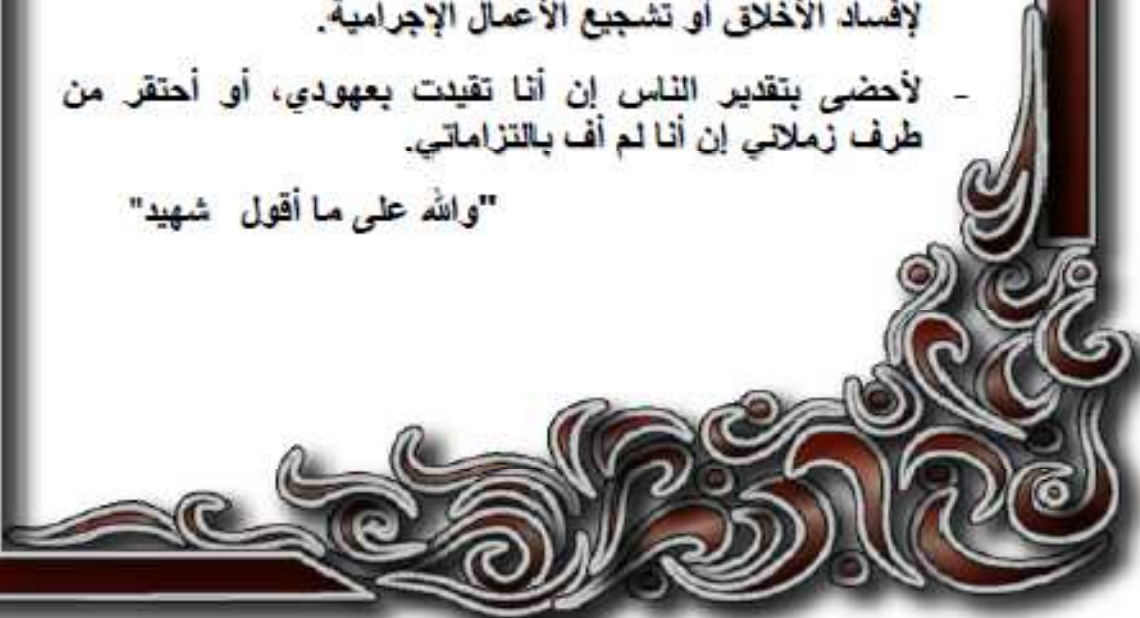
جامعة محمد الخامس  
مكتبة الطب والصيدلة  
الرياض -

### قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم  
وأمر بالخير والنهي

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم ميادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوماً وفياً لتعاليمهم.
- أن أزاوِل مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أيداً في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



جامعة محمد الخامس - الرباط  
كلية الطب والصيدلة - الرباط

أطروحة رقم: 02

سنة: 2015

## الكريوغلوبولينات:

# الجوانب السريرية والبيولوجية أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: .....

من طرف

**السيّد: متورن هشام**

المزداد في : 2 شتنبر 1987 بفاس

## لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: كريوغلوبولين، التهاب الأوعية الدموية الكريوغلوبولينيمية، التهاب الكبد "س"،  
تكاثر لمفاوي "ب"، ريتوكسيماب.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : عمر شقيري

أستاذ في علم الأنسجة والأجنة

مشرف

السيدة : سعيدة طلال

أستاذة في البيوكيمياء

أعضاء

السيد: محمد شمسي

أستاذ طب الطيران

السيدة: مونة نزيه

أستاذة في علم الدم

السيدة: سكيّنة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة