



ROYAUME DU MAROC  
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE  
PHARMACIE  
RABAT



Année : 2021

Thèse N° : 070

LES CHAÎNES LÉGÈRES LIBRES MONOCLONALES:  
DE LA BIOLOGIE À LA CLINIQUE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le: / / 2021

PAR :

Monsieur Abdelilah TAQI

Né le 18 Mai 1995 à Casablanca

De l'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat

Pour l'Obtention du Diplôme de

Docteur en Pharmacie

**Mots Clés** : Chaînes légères libres monoclonales ; Gammopathie monoclonale ;  
Amylose AL ; Myélome

**Membres du Jury** :

**Monsieur Kamal DOGHMI**

Professeur d'Hématologie clinique

**Madame Samira ELMACHTANI IDRISSE**

Professeur de Biochimie

**Monsieur Abdellah DAMI**

Professeur de Biochimie

**Monsieur Rachid HADEF**

Professeur d'Immunologie

**Madame Leila BENCHEKROUN**

Professeur de Biochimie

**Président**

**Rapporteur**

**Juge**

**Juge**

**Juge**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما  
علمتنا إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صِدْقَ اللَّهِ الْعَظِيمِ



**UNIVERSITE MOHAMMED V**  
**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 Brahim LEKEHAL

**Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération**  
Professeur Taoufiq DAKKA

**Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie**  
Professeur Younes RAHALI

**Secrétaire Général**  
Mr. Mohamed KARRA

Enseignant militaire

## 1. ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

### PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

#### Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz  
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi  
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne - Clinique Royale  
Anesthésie -Réanimation  
Pathologie Chirurgicale

#### Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne - Doyen de la EMPR  
Neurologie

#### Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique  
Anesthésie Réanimation

#### Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENSOUA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Maternité

#### des Orangers

Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida

Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV

#### Rabat

Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

#### Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUA Adil  
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen de EMPT  
Anesthésie Réanimation  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Anatomie  
Microbiologie

#### Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen

#### de la EMPA

Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. RHRAB Brahim

Gynécologie Obstétrique  
Chirurgie Générale - Directeur du CHUIS  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Chirurgie Générale  
Gynécologie -Obstétrique

Enseignant militaire

Pr. SENOUCI Karima

**Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*

Pr. BENTAHILA Abdelali

Pr. BERRADA Mohamed Saleh

Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae

Pr. LAKHDAR Amina

Pr. MOUANE Nezha

**Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane

Pr. AMRAOUI Mohamed

Pr. BAIDADA Abdelaziz

Pr. BARGACH Samir

Pr. EL MESNAOUI Abbes

Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila

Pr. IBENATTYA ANDALOUSSI Ahmed

Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

Pr. SEFIANI Abdelaziz

Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

**Décembre 1996**

Pr. BELKACEM Rachid

Pr. BOULANOUAR Abdelkrim

Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan

Pr. GAOUZI Ahmed

Pr. OUZEDDOUN Naima

Pr. ZBIR EL Mehdi\*

**Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan

Pr. BIROUK Nazha

Pr. FELLAT Nadia

Pr. KADDOURI Noureddine

Pr. KOUTANI Abdellatif

Pr. LAHLOU Mohamed Khalid

Pr. MAHRAOUI CHAFIQ

Pr. TOUFIQ Jallal

Pr. YOUSFI MALKI Mounia

**Novembre 1998**

Pr. BENOMAR ALI

Pr. BOUGTAB Abdesslam

Pr. ER RIHANI Hassan

Pr. BENKIRANE Majid\*

**Janvier 2000**

Pr. ABID Ahmed\*

Pr. AIT OUAMAR Hassan

Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd

Pr. BOURKADI Jamal-Eddine

Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer

Pr. ECHARRAB El Mahjoub

Pr. EL FTOUH Mustapha

Dermatologie

Urologie **Inspecteur du SSM**

Pédiatrie

Traumatologie - Orthopédie

Ophtalmologie

Gynécologie Obstétrique

Pédiatrie

Réanimation Médicale

Chirurgie Générale

Gynécologie Obstétrique

Gynécologie Obstétrique

Chirurgie Générale

Oto-Rhino-Laryngologie

Urologie

Ophtalmologie

Génétique

Réanimation Médicale

Chirurgie Pédiatrie

Ophtalmologie

Chirurgie Générale

Pédiatrie

Néphrologie

Cardiologie **Directeur HMI Mohammed V**

Gynécologie-Obstétrique

Neurologie

Cardiologie

Chirurgie Pédiatrique

Urologie

Chirurgie Générale

Pédiatrie

Psychiatrie **Directeur Hôp. Ar-razi Salé**

Gynécologie Obstétrique

Neurologie **Doyen de la FM Abulcassis**

Chirurgie Générale

Oncologie Médicale

Hématologie

Pneumo-phtisiologie

Pédiatrie

Pédiatrie

Pneumo-phtisiologie

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Pneumo-phtisiologie

Enseignant militaire

Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

**Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
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. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

**Décembre 2001**

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. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
Pr. EL MADHI Tarik

**Rabat**

Pr. EL OUNANI Mohamed  
Pr. ETTAIR Said

**(Cheikh Khalifa)**

Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
Pr. HRORA Abdelmalek  
Pr. KABIRI EL Hassane\*  
Pr. LAMRANI Moulay Omar  
Pr. LEKEHAL Brahim

**Acad. Est.**

Pr. MEDARHRI Jalil  
Pr. MIKDAME Mohammed\*  
Pr. MOHSINE Raouf  
Pr. NOUINI Yassine  
Pr. SABBAH Farid  
Pr. SEFIANI Yasser  
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

**Décembre 2002**

Pr. AMEUR Ahmed\*  
Pr. AMRI Rachida  
Pr. AOURARH Aziz\*

Neurochirurgie  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

Neurologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie - **Directeur Hôp. Cheikh Zaid**  
Urologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Pédiatrie

Anesthésie-Réanimation  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Rhumatologie  
Anatomie  
Radiologie  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie-Pédiatrique **Directeur Hôp. Des Enfants**

Chirurgie Générale  
Pédiatrie - **Directeur Hôp. Univ. International**

Neuro-Chirurgie  
Chirurgie Générale **Directeur Hôpital Ibn Sina**  
Chirurgie Thoracique  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique **V-D chargé Aff**

Chirurgie Générale  
Hématologie Clinique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie

Urologie  
Cardiologie  
Gastro-Entérologie

Enseignant militaire

Pr. BAMOU Youssef\*  
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
Pr. BENZEKRI Laila  
Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
Pr. BERNOUSSI Zakiya  
Pr. CHOHO Abdelkrim\*  
Pr. CHKIRATE Bouchra  
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair  
Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
Pr. HAJJI Zakia  
Pr. KRIOUILE Yamina  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RAISS Mohamed  
Pr. SIAH Samir\*  
Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

#### **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
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. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

#### **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENYASS Aatif\*  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed

Biochimie-Chimie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Chirurgie Pédiatrique  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale

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

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Rhumatologie **Directeur Hôp. AL Ayachi Salé**  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Biophysique  
Cardiologie (mise en disponibilité)  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire

Enseignant militaire

Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najia

**AVRIL 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*

**Ibn Sina Marr.**

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
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. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

**Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
Pr. CHERKAOUI Naoual\*  
Pr. EL BEKKALI Youssef\*  
Pr. EL ABSI Mohamed  
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
Pr. EL OMARI Fatima  
Pr. GHARIB Nouredine  
Pr. HADADI Khalid\*  
Pr. ICHOU Mohamed\*  
Pr. ISMAILI Nadia  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LOUZI Lhoussain\*

Parasitologie  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

Rhumatologie  
Hématologie  
O.R.L  
Chirurgie – Pédiatrique  
Chirurgie Cardio - Vasculaire. **Directeur Hôpital**

Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Médecine Interne  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie - Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Pneumo - Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo - Phtisiologie

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique  
Chirurgie cardio-vasculaire  
Chirurgie générale  
Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
Radiothérapie  
Microbiologie

Enseignant militaire

Pr. MADANI Naoufel  
Pr. MARC Karima  
Pr. MASRAR Azlarab  
Pr. OUZZIF Ez zohra\*  
Pr. SEFFAR Myriame  
Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
Pr. SIFAT Hassan\*  
Pr. TACHFOUTI Samira  
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
Pr. TANANE Mansour\*  
Pr. TLIGUI Houssain  
Pr. TOUATI Zakia

**Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGADR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. ARKHA Yassir  
Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
Pr. BJIJOU Younes  
Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
Pr. BOUI Mohammed\*  
Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
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. LAMSAOURI Jamal\*  
Pr. MARMADE Lahcen  
Pr. MESKINI Toufik  
Pr. MESSAOUDI Nezha\*  
Pr. MSSROURI Rahal  
Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. OUKERRAJ Latifa  
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani\*

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Hématologie biologique  
Biochimie-chimie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Radiothérapie  
Ophtalmologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie-orthopédie  
Parasitologie  
Cardiologie

Médecine interne  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale  
Neuro-chirurgie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Neuro-chirurgie [Directeur Hôp.des Spécialités](#)  
Anesthésie Réanimation  
Anatomie  
Biochimie-chimie  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Traumatologie-orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Hématologie clinique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Médecine interne  
Gynécologie obstétrique  
Rhumatologie  
Gastro-entérologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Chimie Thérapeutique  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Pédiatrie  
Hématologie biologique  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Cardiologie  
Pneumo-Phtisiologie

Enseignant militaire

### **Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
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. MOSADIK Ahlam  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. ZOUAIDIA Fouad

### **Decembre 2010**

Pr. ZNATI Kaoutar

### **Mai 2012**

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed

### **Février 2013**

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
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

Anesthésie réanimation  
Médecine Interne **Directeur ERSSM**  
Physiologie  
Microbiologie  
Médecine Aéronautique  
Biochimie- Chimie  
Radiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Plastique et Réparatrice  
Urologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
  
Anatomie Pathologique  
  
Chirurgie pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Traumatologie-orthopédie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie Pathologique  
  
Pharmacologie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie-Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique et Bromatologie  
Traumatologie orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation

Enseignant militaire

Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
 Pr. ELFATEMI NIZARE  
 Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
 Pr. EL HARTI Jaouad  
 Pr. EL JAOUDI Rachid\*  
 Pr. EL KABABRI Maria  
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma  
 Pr. EL KHLOUFI Samir  
 Pr. EL KORAICHI Alae  
 Pr. EN-NOUALI Hassane\*  
 Pr. ERRGUIG Laila  
 Pr. FIKRI Meryem  
 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\*

**AVRIL 2013**

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM\*

**MARS 2014**

Pr. ACHIR Abdellah  
 Pr. BENCHAKROUN Mohammed\*  
 Pr. BOUCHIKH Mohammed  
 Pr. EL KABBAJ Driss\*  
 Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira\*  
 Pr. HARDIZI Houyam  
 Pr. HASSANI Amale\*

Radiologie  
 Neuro-chirurgie  
 Médecine Nucléaire  
 Chimie Thérapeutique  
 Toxicologie  
 Pédiatrie  
 Anatomie Pathologique  
 Anatomie  
 Anesthésie Réanimation  
 Radiologie  
 Physiologie  
 Radiologie  
 Médecine Nucléaire  
 Pédiatrie  
 Endocrinologie et maladies métaboliques  
 Microbiologie  
 Psychiatrie  
 Radiologie  
 Médecine Interne  
 Pharmacologie  
 Neuro-chirurgie  
 Oncologie Médicale  
 Pharmacognosie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Anatomie Pathologique  
 Pharmacie Galénique **Vice-Doyen à la Pharmacie**  
 Génétique  
 Neurologie  
 Ophtalmologie  
 Neurologie  
 Physiologie  
 Rhumatologie  
 Anatomie Pathologique  
 Gastro-Entérologie  
 Gastro-Entérologie  
 Chirurgie Cardio-Vasculaire  
 Gastro-Entérologie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Chirurgie Thoracique  
 Traumatologie-Orthopédie  
 Chirurgie Thoracique  
 Néphrologie  
 Biochimie-Chimie  
 Histologie- Embryologie-Cytogénétique  
 Pédiatrie

Enseignant militaire

Pr. HERRAK Laila  
Pr. JEADI Anass\*  
Pr. KOUACH Jaouad\*  
Pr. MAKRAM Sanaa\*  
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar  
Pr. SEKKACH Youssef\*  
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

**DECEMBRE 2014**

Pr. ABILKACEM Rachid\*  
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila  
Pr. BEKKALI Hicham\*  
Pr. BENZAZZOU Salma  
Pr. BOUABDELLAH Mounya  
Pr. BOUCHRIK Mourad\*  
Pr. DERRAJI Soufiane\*  
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali  
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim\*  
Pr. EL MARJANY Mohammed\*  
Pr. FEJJAL Nawfal  
Pr. JAHIDI Mohamed\*  
Pr. LAKHAL Zouhair\*  
Pr. OUDGHIRI NEZHA  
Pr. RAMI Mohamed  
Pr. SABIR Maria  
Pr. SBAI IDRISSE Karim\*

**AOUT 2015**

Pr. MEZIANE Meryem  
Pr. TAHIRI Latifa

**PROFESSEURS AGREGES :**

**JANVIER 2016**

Pr. BENKABBOU Amine  
Pr. EL ASRI Fouad\*  
Pr. ERRAMI Nouredine\*  
Pr. NITASSI Sophia

**JUN 2017**

Pr. ABI Rachid\*  
Pr. ASFALOU Ilyasse\*  
Pr. BOUAITI El Arbi\*  
Pr. BOUTAYEB Saber  
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim  
Pr. HAFIDI Jawad  
Pr. MAJBAR Mohammed Anas  
Pr. OURAINI Saloua\*  
Pr. RAZINE Rachid  
Pr. SOUADKA Amine  
Pr. ZRARA Abdelhamid\*

**MAI 2018**

Pr. AMMOURI Wafa

Pneumologie  
Hématologie Biologique  
Génécologie-Obstétrique  
Pharmacologie  
CCV  
Médecine Interne  
Généologie-Obstétrique

Pédiatrie  
Médecine Légale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Maxillo-Faciale  
Biochimie-Chimie  
Parasitologie  
Pharmacie Clinique  
Anatomie  
Anesthésie-Réanimation  
Radiothérapie  
Chirurgie Réparatrice et Plastique  
O.R.L  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Psychiatrie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

Dermatologie  
Rhumatologie

Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
O.R.L  
O.R.L

Microbiologie  
Cardiologie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Oncologie Médicale  
Oncologie Médicale  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
O.R.L  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Chirurgie Générale  
Immunologie

Médecine interne

Enseignant militaire

Pr. BENTALHA Aziza  
Pr. EL AHMADI Brahim  
Pr. EL HARRECH Youness\*  
Pr. EL KACEMI Hanan  
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa  
Pr. FATIHI Jamal\*  
Pr. GHANNAM Abdel-Ilah  
Pr. JROUNDI Imane  
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil  
Pr. TADILI Sidi Jawad  
Pr. TANZ Rachid\*

**NOVEMBRE 2018**

Pr. AMELLAL Mina  
Pr. SOULY Karim  
Pr. TAHRI Rajae

**NOVEMBRE 2019**

Pr. AATIF Taoufiq\*  
Pr. ACHBOUK Abdelhafid\*  
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid  
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah\*  
Pr. BASSIR RIDA ALLAH  
Pr. BOUATTAR TARIK  
Pr. BOUFETTAL MONSEF  
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed\*  
Pr. BOUZELMAT HICHAM\*  
Pr. BOUKHRIS JALAL\*  
Pr. CHAFRY BOUCHAIB\*  
Pr. CHAHDI HAFSA\*  
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD\*  
Pr. DAMIRI AMAL\*  
Pr. DOGHMI NAWFAL\*  
Pr. ELALAOUI SIDI-YASSIR  
Pr. EL ANNAZ HICHAM\*  
Pr. EL HASSANI MOULAY EL MEHDI\*  
Pr. EL HJOUJI ABDERRAHMAN\*  
Pr. EL KAOUI HAKIM\*  
Pr. EL WALI ABDERRAHMAN\*  
Pr. EN-NAFAA ISSAM\*  
Pr. HAMAMA JALAL\*  
Pr. HEMMAOUI BOUCHAIB\*  
Pr. HJIRA NAOUFAL\*  
Pr. JIRA MOHAMED\*  
Pr. JNIENE ASMAA  
Pr. LARAQUI HICHAM\*  
Pr. MAHFOUD TARIK\*  
Pr. MEZIANE MOHAMMED\*  
Pr. MOUTAKI ALLAH YOUNES\*  
Pr. MOUZARI YASSINE\*  
Pr. NAOUI HAFIDA\*

Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Urologie  
Radiothérapie  
Radiothérapie  
Médecine Interne  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Oncologie Médicale

Anatomie  
Microbiologie  
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Néphrologie  
Chirurgie réparatrice et plastique  
Radiothérapie  
Gynécologie-Obstétrique  
Anatomie  
Néphrologie  
Anatomie  
Chirurgie-Générale  
Cardiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Traumatologie-Orthopédie  
Anatomie pathologique  
Neuro-chirurgie  
Anatomie Pathologique  
Anesthésie-Réanimation  
Pharmacie-Galénique  
Virologie  
Gynécologie-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Radiologie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
O.R.L  
Dermatologie  
Médecine interne  
Physiologie  
Chirurgie-Générale  
Oncologie Médicale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Parasitologie-Mycologie

Enseignant militaire

Pr. OBTEL MAJDOULINE	Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pr. OURRAI ABDELHAKIM*	Pédiatrie
Pr. SAOUAB RACHIDA*	Radiologie
Pr. SBITTI YASSIR*	Oncologie Médicale
Pr. ZADDOUG OMAR*	Traumatologie-Orthopédie
Pr. ZIDOUH SAAD*	Anesthésie-Réanimation

## 2. ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

### **PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :**

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. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie <b>Vice-Doyen chargé de la Rech. et de la Coop.</b>
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Mohammed	Chimie Organique
Pr. RIDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

### **PROFESSEURS HABILITES :**

Pr. BENZEID Hanane	Chimie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DOUKKALI Anass	Chimie Analytique
Pr. EL JASTIMI Jamila	Chimie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Histologie-Embryologie
Pr. LYAHYAI Jaber	Génétique
Pr. OUADGHIRI Mouna	Microbiologie et Biologie
Pr. RAMLI Youssef	Chimie
Pr. SERRAGUI Samira	Pharmacologie
Pr. TAZI Ahnini	Génétique
Pr. YAGOUBI Maamar	Eau, Environnement

Mise à jour le 05/03/2021  
 KHALED Abdellah  
 Chef du Service des Ressources Humaines  
 FMPR

Enseignant militaire



# DEDICACES



*Je dédie cette thèse à...*

*À Allah*

*Tout puissant*

*Qui m'a inspiré*

*Qui m'a guidé dans le bon chemin*

*Je vous dois ce que je suis devenu*

*Louanges et remerciements*

*Pour votre clémence et miséricorde*

*À  
FEU SA MAJESTÉ LE ROI  
HASSAN II*



*Que Dieu ait son âme en sa Sainte Miséricorde.*

*À*

*SA MAJESTÉ LE ROI*

*MOHAMED VI*

*Chef Suprême et Chef d'Etat-Major Général  
des Forces Armées Royales*

*Roi du MAROC et garant de son intégrité territoriale*



*Qu'Allah le glorifie et préserve Son Royaume.*

*À  
SON ALTESSE ROYALE  
LE PRINCE HÉRITIER  
MOULAY EL HASSAN*



*Que Dieu le garde.*

*À*  
*SON ALTESSE ROYALE*  
*LE PRINCE MOULAY RACHID*



*Que Dieu le protège.*

*À*

*TOUTE LA FAMILLE ROYALE*



*À*

*Monsieur le Général de Corps d'Armée*

*Abdelfattah LOUARAK*

*Inspecteur Général des FAR et Commandant de la Zone Sud*

*En témoignage de notre grand respect*

*Notre profonde considération et sincère admiration*

*À*

*Monsieur le Médecin Général de Brigade*

*Mohammed ABBAR*

*Professeur d'urologie.*

*Inspecteur du Service de Santé des Forces Armées Royales.*

*En témoignage de notre grand respect,*

*Et notre profonde considération*



*À*

*Monsieur le Médecin Général de Brigade*

*Abdellatif BOULAHYA*

*Professeur de Chirurgie Cardio-Vasculaire.*

*Médecin chef de L'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech*

*En témoignant de notre grand respect et notre profonde considération*

*À*

*Monsieur le Médecin Général de Brigade*

*EL Mehdi ZBIR*

*Professeur de Cardiologie.*

*Médecin chef de l'HMIMV – Rabat*

*En témoignant de notre grand respect et notre profonde considération*



*À*

*Monsieur le Médecin Colonel Major*

*Mohamed EL BAAJ*

*Professeur en médecine interne*

*Médecin chef de l'HMMI-Meknès.*

*En témoignant de notre grand respect et notre profonde considération*

*À*

*Monsieur le Médecin Colonel*

*Karim FILALI*

*Professeur d'Anesthésie-Réanimation*

*Directeur de l'E.R.S.S.M*

*En témoignage de notre grand respect Et notre profonde considération.*

*Je dédie humblement ce travail*  
*À MES TRÈS CHERS PARENTS*

*Amina BOUGHANOU*

*Driss TAQI*

*En témoignage de mon amour, et ma grande reconnaissance pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation sur le plan culturel et affectif.*

*Vous n'avez pas cessé de me soutenir et de m'encourager tout au long de ces années. Vos prières ont été pour moi d'un grand soutien moral.*

*Je vous présente mon travail pour vous rendre hommage et vous remercier pour vos grands efforts accomplis à mon égard. Sans votre présence dans ma vie, sans votre soutien inestimable,*

*sans votre dévouement incomparable, je n'aurais réalisé mes ambitions. Puisse Dieu tout puissant vous protéger du mal et vous procurer une longue vie pleine de santé et de bonheur*

*À*

*MON CHER FRÈRE Mohammed*

*MON CHER FRÈRE Hussein*

*MA CHÈRE SŒUR Nora et son mari Khalid*

*MON CHER FRÈRE Nourddine*

*Vous qui êtes à mes côtés, pour partager mes joies et m'épauler  
en cas de détresse. Vous êtes mes fidèles compagnons.*

*Je vous remercie pour votre affection, votre aide et votre soutien  
qui ont marqué tous les stades de ma vie. Je vous dédie ce  
travail en témoignage de tous les bons moments qu'on a vécus  
ensemble, de l'amour et du soutien que vous m'avez toujours  
apporté.*

*Je vous remercie énormément et j'espère que vous trouverez  
dans ce travail l'expression de ma profonde affection pour vous.*

*Je souhaite, pour chacun de vous, un avenir  
fleurissant et une vie pleine de bonheur, de santé et de  
prospérité. Que **Dieu** vous protège et consolide les  
liens sacrés qui nous unissent.*

*À*

*Mon très cher adorable neveu Mohammed*

*Mes très chères adorables nièces Sara et Razane*

*Votre joie de vivre et votre sourire ont été pour moi  
une source de réconfort et de bonheur.*

*Je vous dédie cette thèse en témoignage  
de ma grande affection et de mon amour.*

*Que Dieu vous garde et vous accord une vie pleine de bonheur  
et de succès.*

*Que tous vos rêves soient réalisés et que rien  
ne vous manque.*

*À mes tantes et à mes oncles*

*Merci pour votre inconditionnel soutien.*

*Avec affection et estime.*

*À tous mes cousins et cousines.*

*Avec toute mon affection.*

*À tous les membres de ma famille.*

*A*

*MON CHER AMI*

*Yassine EDDAIR*

*Ce qu'il y a de plus beau en amitié, c'est qu'il n'y a pas de dette à rembourser. Si c'était le cas, je serais en déficit ! Merci pour ta présence et ton aide au quotidien!*

*A*

*MA CHÈRE BINÔME*

*Maroua ZITOUNI*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je te dédie ce travail, ma chère binôme et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A tous les membres de la 31<sup>eme</sup> promotion pharmacie ancien régime*

*Rabat*

*A toute l'équipe du service de pharmacie de l'HMA-Marrakech*



# REMERCIEMENTS



*A Nôtre Maître et Président de Jury de Thèse*

*Monsieur DOGHMI Kamal,*

*Professeur d'Hématologie clinique.*

*L'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse est l'occasion pour nous de vous montrer notre profonde appréciation pour vos qualités humaines. Nous vous remercions beaucoup pour la gentillesse et l'attention avec lesquelles vous nous entourez. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude.*

*A notre Maitre et Rapporteur de thèse ;  
Professeur ELMACHTANI IDRISSE Samira,  
Professeur de Biochimie.*

*Je vous exprime ma plus grande gratitude pour m'avoir suggéré ce sujet et de me confier ce travail. Ainsi que pour m'accompagner dans sa réalisation en apportant vos nombreux conseils et corrections pour l'améliorer. Merci pour l'accueil aimable et bienveillant que vous m'avez réservé à chaque fois. Veuillez accepter, Chère Professeur, l'hommage de ma gratitude qui, si grande qu'elle puisse être, ne sera jamais à la hauteur de votre dévouement.*

*A notre Maitre et Jury de thèse*

*Monsieur DAMI Abdellah,*

*Professeur de Biochimie.*

*Nous avons eu la chance d'être l'un de vos étudiants et de bénéficier de l'étendue de vos connaissances. Nous ne saurons jamais vous exprimer notre profonde gratitude. Vos remarquables qualités humaines et professionnelles ont toujours suscité notre profonde admiration. Nous vous prions de trouver dans ce travail le témoignage de notre reconnaissance et l'assurance de nos sentiments respectueux.*

*A notre Maitre et Jury de thèse*

*Monsieur HADEF Rachid,*

*Professeur d'Immunologie.*

*Nous vous remercions pour la spontanéité avec laquelle vous avez  
accepté de juger notre travail, pour votre gentillesse et votre  
compréhension.*

*Votre savoir mis au jugement de thèse ne pourra que lui donner plus  
de valeur.*

*Veillez accepter notre haute considération et notre profond respect.*

*A notre Maitre et Jury de thèse*

*Madame BENCHEKROUN Leila,*

*Professeur de biochimie.*

*Vous avez accepté avec une grande amabilité de juger cette thèse.*

*Cet honneur me touche infiniment, Je suis très honoré de vous  
compter parmi le jury de notre thèse.*

*Puisse ce travail vous témoigne mes sincères remerciements et ma  
profonde gratitude.*



**LISTE DES**

**ABRÉVIATIONS**



<b>Ag</b>	Antigène
<b>Amylose AH</b>	Amylose à chaîne lourde tronquée isolée
<b>Amylose AL</b>	Amylose à chaîne légère
<b>CDR</b>	Région déterminant la complémentarité
<b>CLL</b>	Chaîne légère libre
<b>CLL-<math>\kappa</math></b>	Chaîne légère libre kappa
<b>CLL-<math>\lambda</math></b>	Chaîne légère libre lambda
<b>CLL i</b>	Chaînes légères libres impliquées
<b>CLL ni</b>	Chaînes légères libres non impliquées
<b>CV</b>	Coefficient de variation
<b>CIQ</b>	Contrôle interne de la qualité
<b>dCLL</b>	Différence entre la CLL i et la CLL ni
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>EPS</b>	Electrophorèse des protéines sériques
<b>EPU</b>	Electrophorèse des protéines urinaires
<b>Fab</b>	Site de liaison à l'antigène
<b>IF</b>	Immunofixation
<b>IKMG</b>	International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group
<b>IMGW</b>	International Myeloma Working Group
<b>IRM</b>	Imagerie par résonance magnétique
<b>ISS</b>	International Staging System
<b>LBDGC</b>	Lymphome B diffus à grandes cellules
<b>LCC</b>	Leucémie lymphoïde chronique
<b>LCR</b>	Liquide céphalorachidien
<b>LED</b>	Lupus érythémateux disséminé
<b>LFD</b>	Dispositif à flux latéral
<b>LNH</b>	Lymphome non hodgkinien
<b>MGUS</b>	Gammopathie monoclonale de signification indéterminée
<b>MII</b>	Myélome à immunoglobuline intacte
<b>MM</b>	Myélome multiple
<b>MNS</b>	Myélome non sécrétoire
<b>NCM</b>	néphropathie à cylindre myélomateux
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé

<b>PBJ</b>	Protéines de Bence Jones
<b>PET-scan</b>	Tomographie à émission de positons
<b>PR</b>	Polyarthrite rhumatoïde
<b>Rcll</b>	Ratio CLL i / CLL ni
<b>SCI</b>	Syndrome cliniquement isolé
<b>SEP</b>	Sclérose en plaque
<b>SGS</b>	Syndrome de Gougerot-Sjögren
<b>SM</b>	Spectrométrie de masse
<b>SMM</b>	Myélome latent ou asymptomatique
<b>ScS</b>	Sclérodermie systémique
<b>VS</b>	Vitesse de sédimentation



**LISTE DES**

**ILLUSTRATIONS**



## LISTE DES FIGURES

Figure 1. La lettre envoyée par Dr Watson à Dr Bence Jones (Le 1 novembre 1845) (8).....	5
Figure 2. Un portrait d'Henry Bence Jones (1791-1857) à la fin du XIXe siècle (9) .....	6
Figure 3. Structure globale d'une immunoglobuline (19).....	11
Figure 4. Représentation d'une immunoglobuline schématisant ses différentes régions (21).	12
Figure 5. Organisation des loci de chaîne légère d'immunoglobuline. A : Locus immunoglobuline $\kappa$ . B: locus immunoglobuline $\lambda$ (31). .....	15
Figure 6. Représentation schématique des chaînes légères libres kappa et lambda (32).. .....	17
Figure 7. Schéma du néphron montrant la filtration, la réabsorption et l'élimination des CLL (31). .....	18
Figure 8. Anticorps à chaîne lourde chez les chameaux dépourvus de gène de chaîne légère (32). .....	19
Figure 9. Rôle des FLC dans les phénomènes d'hypersensibilité (51). .....	21
Figure 10. Electrophorèse et immunofixation d'une protéine monoclonale sérique IgG $\lambda$ (71). .....	33
Figure 11. Immunofixation de protéine urinaire sur l'Hydragel (73). .....	34
Figure 12. Du plasmocyte au dosage des chaînes légères libres par méthode turbidimétrique ou néphélométrique (74).....	36
Figure 13. Molécule d'anticorps présentant la structure de chaînes lourdes et de chaînes légères, avec des FLC- $\kappa$ et FLC- $\lambda$ (75). .....	36
Figure 14. Comparaison entre les tests à base d'antisérum polyclonaux et monoclonaux (76). .....	37
Figure 15. Courbe montrant l'effet excès d'antigène de freelite™ (76). .....	39
Figure 16. Binding site™ Optilite®(83). .....	41
Figure 17. Binding site™ SPAplus® (90) .....	44
Figure 18. Binding site™ MININEPHPLUS™ (96) .....	46
Figure 19. Beckman Coulter™ IMAGE 800™ (99). .....	47
Figure 20. Roche™ Cobas Integra® 400 plus (103).....	49
Figure 21. Siemens™ BN™ II (108) .....	50

Figure 22. Plateforme das AP22 ELITE (113).....	53
Figure 23. Image montrant les kits de Sebia FLC assay™ (113).....	54
Figure 24. Image montrant les kits de N latex FLC assay™ lambda et kappa (114).....	55
Figure 25. Abingdon Health© Seralite™ (125). ....	59
Figure 26. Vue schématique d'un appareil Seralite® (125). ....	61
Figure 27. Quantification des FLC par spectrométrie de masse en tandem (135). ....	65
Figure 28. les programmes de controle Bio-Rad™ (139) (140) (141) .....	69
Figure 29. Graphique de Band-Altman pour chaque échantillon de l'EEQ (148).....	74
Figure 31. Courbes théoriques d'apparition des CLL (CLL) dans le sérum et dans l'urine au cours de l'évolution d'un MCL (31). ....	91
Figure 32. Algorithme pour le diagnostic de la SEP basé sur la fraction intrathécale et la détection de la bande oligoclonale (206).....	106

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Sensibilité des différentes techniques pour la détection, l'identification et le dosage des CLL (76).....	38
Tableau II. Performance analytique du test Freelite® sur le Binding site Optilite®. ....	42
Tableau III. Caractéristiques de performance de dosage Freelite® sur le Binding site SPAPLUS®.....	45
Tableau IV. Comparaison entre les différents instruments utilisant la technique Freelite™. 52	
Tableau V. Caractéristiques des différents analyseurs Siemens© utilisant la technique N latex FLC™.....	58
Tableau VI. Résumé des caractéristiques analytiques essentielles des techniques actuelles de dosage des CLL. ....	64
<b>Tableau VII.</b> La variation biologique du dosage des CLL mc selon Braga et al. (148). ....	70
Tableau VIII. Liste des différents programmes d'EEQ incluant le dosage des CLL mc (144) (145) (146).....	72
Tableau IX. Moyenne de tous les résultats obtenus (147).....	73
Tableau X. Récapitulatif des valeurs normales pour la technique Freelite™. ....	77
Tableau XI. Récapitulatif des valeurs normales pour la technique Sebia™. ....	77
Tableau XII. Récapitulatif des valeurs normales pour la technique N Latex Free Light Chain™. ....	78
Tableau XIII. Récapitulatif des valeurs normales pour la technique Seralite™. ....	78
Tableau XIV. Les critères de diagnostics des gammopathies monoclonales selon les dernières recommandations de l'IMGW (2). ....	85
Tableau XV. Sensibilité des différentes associations d'examens biologiques pour le dépistage d'une gammopathie monoclonale, d'après Katzmann et al (160). ....	86
Tableau XVI. Taux de survie dans le MM en fonction de la combinaison du score ISS et du rapport $\kappa/\lambda$ des CLL sériques (159) (162). ....	90
Tableau XVII. Stratification du risque de progression d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée vers un myélome (161) (175). ....	97
Tableau XVIII. Synthèse des indications du dosage des CLL mc sériques. ....	103

Tableau XIX. Sensibilité, spécificité de la fraction intrathécale pour le diagnostic de SEP  
(204). ..... 105



**TABLE DES  
MATIERES**



✓ INTRODUCTION .....	1
✓ CHAPITRE 1 HISTORIQUE .....	4
✓ CHAPITRE 2 : RAPPEL PHYSIOLOGIQUE .....	9
I. Structure des immunoglobulines .....	10
II. Organisation et réarrangement de gène des immunoglobulines .....	14
III. Biosynthèse des immunoglobulines .....	16
IV. Métabolisme et excrétion des CLL .....	17
V. Rôle des CLL .....	19
1. Contribution de la chaîne légère à l'interaction antigène-anticorps .....	19
2. Auto-anticorps .....	20
3. L'hypersensibilité .....	20
4. Autres rôles immunologiques des CLL .....	22
5. Autres rôles biologique des CLL .....	23
5.1. Enzymatique .....	23
5.2. Protéolytiques .....	23
5.3. Activités de prothrombinase .....	23
VI. Toxicité des CLL .....	24
✓ CHAPITRE 3 : EXPLORATION BIOLOGIQUE .....	25
I. Phase pré-analytique .....	26
1. Prélèvement .....	26
1.1. Le sérum .....	26
1.2. Les urines .....	27
1.3. Le liquide céphalorachidien .....	27
1.4. Prélèvement sanguin versus prélèvement urinaire pour le dosage quantitatif des CLL .....	27
2. L'acheminement, les conditions de transport et de conservation .....	29
II. Phase analytique .....	30
1. Techniques d'identification .....	30
1.1. Electrophorèse des protéines sériques .....	31

1.2.	Immunofixation.....	32
1.2.1.	Principe .....	32
1.2.2.	Immunofixation sérique .....	32
1.2.3.	Immunofixation urinaire .....	33
1.3.	Immunosoustraction.....	34
2.	Dosage pondéral des CLL mc .....	35
2.1.	Dosage des CLL mc par des anticorps polyclonaux .....	35
2.1.1.	Test Freelite™.....	35
2.1.2.	Sebia FLC™ assays .....	53
2.2.	Dosage des CLL mc par des anticorps monoclonaux .....	55
2.2.1.	N latex FLC assay® .....	55
2.2.2.	Test Seralite™ .....	59
2.3.	Perspectives d’avenir pour le dosage des CLL mc .....	65
2.3.1.	Spectrométrie de masse.....	65
2.3.2.	Dosage immunoturbidimétrique : Bioci©.....	66
3.	Contrôle de la qualité .....	68
3.1.	Contrôle interne de la qualité .....	68
3.1.1.	Les différents programmes de CIQ.....	68
3.1.2.	Les objectifs analytiques .....	69
3.2.	Contrôle externe de la qualité .....	71
III.	Phase post-analytique.....	76
1.	Les valeurs normales.....	76
1.1.	Freelite™ .....	76
1.2.	Sebia FLC™ assay .....	77
1.3.	N Latex Free Light Chain™ .....	78
1.4.	Seralite™ .....	78
IV.	Recommandations de bonne pratique d’utilisation clinicobiologique des CLL mc .....	79

1. Recommandations pour le biologiste .....	79
2. Recommandations pour le clinicien .....	80
<b>✓ CHAPITRE 4 : INTERET DU DOSAGE DES CHAINES LEGERES LIBRES EN PRATIQUE CLINIQUE .....</b>	<b>82</b>
A. Les pathologies clonales.....	83
I. Le myélome multiple .....	87
1. Diagnostic .....	87
1.1. Critère impératif.....	87
1.2. Critère supplémentaire .....	88
2. Pronostic .....	90
3. Suivi de la réponse au traitement .....	91
II. Le myélome multiple indolent asymptomatique .....	93
1. Diagnostic .....	93
2. Pronostic .....	93
3. Suivi .....	94
III. Gammapathies monoclonale de signification indéterminé .....	95
1. Diagnostique .....	95
2. Pronostique .....	96
3. Suivi .....	97
IV. Intérêt de dosage des CLL au cours des atteintes rénales .....	98
V. Amylose AL .....	99
1. Diagnostique .....	99
2. Pronostique .....	100
3. Suivi .....	101
VII. Plasmocytome .....	101
VIII. Hémopathies lymphoïdes.....	102
1. Leucémie lymphocytaire chronique.....	102
2. Lymphome non hodgkinien (LNH) .....	103
B. Les pathologies non clonales.....	104
I. Maladies auto-immunes .....	104

1.	Sclérose en plaque.....	104
2.	Le syndrome de Gougerot-Sjögren .....	106
2.1.	Epidémiologie .....	107
2.2.	Intérêt des CLL .....	107
3.	Lupus érythémateux disséminé.....	108
4.	Polyarthrite rhumatoïde .....	109
5.	Sclérodermie systémique .....	110
II.	Maladies inflammatoires .....	111
III.	Diabète type 2 .....	112
✓	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>113</b>
✓	<b>RESUMES</b> .....	<b>113</b>
✓	<b>RÉFÉRENCES</b> .....	<b>113</b>



# INTRODUCTION



Les chaînes légères des immunoglobulines sont qualifiées de libres lorsqu'elles ne sont pas liées à des chaînes lourdes pour former une immunoglobuline entière.

Depuis l'avènement de méthodes de dosage des chaînes légères libres (CLL), utilisant des anticorps spécifiques d'épitopes des CLL masqués dans la structure intègre des immunoglobulines (1), l'étude des CLL est en plein essor. Elle fait à présent partie des recommandations dans le diagnostic, la stratification pronostique et le suivi des patients atteints de diverses dyscrasies plasmocytaires (2).

Les premières recommandations concernant le dosage des CLL dans le sérum, publiées par le group de travail international sur le myélome (IMGW) (3), datent de 2003, suivi par les recommandations de la Haute autorité de santé (HAS) en 2006, mentionnent un intérêt uniquement dans le suivi du traitement du myélome multiple à chaînes légères (MMCL), peu ou non sécrétant. Depuis, la littérature fait état de bénéfices plus ou moins consensuels du dosage sérique des CLL dans les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS), le MM indolent (SMM), le myélome multiple (MM) et l'amylose à chaîne légère (Amylose AL). L'augmentation des CLL sériques étant aussi constatée dans d'autres pathologies liées aux contingents lymphocytaires et plasmocytaires pour les hémopathies lymphoïdes (4) et certaines maladies auto-immunes (5), telle que le diabète de type 2 (6), la polyarthrite rhumatoïde (PR), le lupus érythémateux disséminé (LED) et la sclérose en plaque. Le dosage des CLL pourrait alors être intéressant dans le cadre de situations pathologiques multiples.

Plusieurs techniques de dosage des CLL sont commercialisées et permettent le dosage séparé des CLL-kappa (CLL- $\kappa$ ) et des CLL-lambda (CLL- $\lambda$ ) ainsi que le calcul de leur ratio  $\kappa/\lambda$  (7). Cependant, ces techniques n'échappent pas à certaines difficultés analytiques liées au comportement particulier des CLL. Devant ces limites, un dialogue entre clinicien et biologiste est plus que jamais important pour permettre une prise en charge optimale du patient présentant une gammopathie monoclonale ou autres pathologie liée à la production des chaînes légères libres monoclonales (CLL mc).

Ce travail propose de faire le point sur les caractéristiques des CLL mc, leur exploration dans le laboratoire d'analyse, ainsi que leurs intérêts en pratique clinique.



# CHAPITRE 1

## HISTORIQUE



En 1847, Mr. Henry Bence Jones, un pathologiste chimique, a reçu une lettre de la part de Dr Watson, accompagnée d'un tube contenant une « substance jaune épaisse semi-solide » (Figure 1).

*a test tube containing a thick, yellow, semi-solid substance* —“The tube contains urine of very high specific gravity; when boiled it becomes highly opaque; on the addition of nitric acid it effervesces, assumes a reddish hue, becomes quite clear, but, as it cools, assumes the consistence and appearance which you see: heat reliquifies it. What is it?”

**Figure 1.** La lettre envoyée par Dr Watson à Dr Bence Jones (Le 1 novembre 1845) (8).

Traduction : « Le tube contient de l'urine de très haute densité. Une fois bouilli, il devient légèrement opaque. Lors de l'ajout d'acide nitrique, il devient effervescent, prend une teinte rougeâtre et devient assez clair; mais en refroidissant, il prend la consistance et l'apparence que vous voyez. La chaleur le solubilise. Qu'Est-ce que c'est? ».

Le Dr Henry Bence Jones a analysé des échantillons d'urine reçus et a trouvé que l'ajout d'acide nitrique aux urines a formé un précipité qui disparaissait au chauffage et se reformait au refroidissement. Cela correspondait à la première description des chaînes légères d'immunoglobulines. Cette découverte fut publiée dans The Lancet en 1847 par le docteur Bence Jones et prit le nom de protéinurie de Bence Jones (Figure 2) (8).



**Figure 2.** Un portrait d'Henry Bence Jones (1791-1857) à la fin du XIXe siècle (9)

En 1909, Alfred von Decastello À Vienne, a décrit une association entre le myélome et l'obstruction tubulaire par une substance amorphe. Ce syndrome est devenu connu sous le nom de néphropathie à cylindre myéломateux (NCM).

En 1953, Grabar et Williams ont décrit l'immunoélectrophorèse, qui a facilité le diagnostic du MM. Le but de leur recherche était de confirmer l'individualité des constituants électrophorétiques grâce aux méthodes immuno-chimiques et de classer les constituants décelables immuno-chimiquement parmi les fractions électrophorétiques définies par leurs vitesses de migration (9).

En 1956, Leonhard Korngold et Rose Lipari, au Memorial Cancer Institute à New York, ont démontré une relation entre la PBJ et les protéines sériques du myélome multiple (10). En hommage à Korngold et Lipari, les deux classes de protéines identifiées portent les initiales de ces deux chercheurs : la chaîne légère Kappa (Korngold) et la chaîne légère Lambda (Lipari).

En 1974, Un dosage radio-immunologique pour la détermination des CLL à partir d'immunoglobulines humaines dans le sérum et l'urine a été décrit par K. Solling. Les CLL liées aux anticorps marqués par l'iode 125 ont été séparées par filtration sur gel à travers des

colonnes (11). C'est une méthode radio-immunologique sensible, quantitative et facilement praticable, mais peu reproductible. Des intervalles de référence ont été établis dans le sérum et les urines normales pour les concentrations de chaînes légères libres kappa (CLL- $\kappa$ ) et de chaînes légères libres lambda (CLL- $\lambda$ ) déterminées par dosage radio-immunologique chez 20 sujets sains (11).

En 1978, Cole et al. (12) ont développé une méthode d'immunodosage des CLL dans le sérum de patients atteints de myélome. La méthode impliquait une ultrafiltration du sérum du patient pour séparer les chaînes légères libres des chaînes liées, suivie d'une immunodiffusion radiale utilisant des antisérums polyclonaux dirigés contre la CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  purifiée de plusieurs patients. Le système d'immunodiffusion radiale n'était cependant pas suffisamment sensible pour détecter les CLL dans le sérum de patients normaux.

En 1980, Whicher a suggéré que L'immunofixation (IF) devrait remplacer l'électrophorèse et l'immunoélectrophorèse pour la détection et l'identification en routine de la PBJ (13). Dans son étude, L'immunofixation sur gel d'agarose a été comparée à l'électrophorèse sur gel d'agarose pour la détection de la PBJ dans l'urine. La technique a une sensibilité entre 5 et 10 fois supérieure à l'électrophorèse et permet l'identification de multiples PBJ.

En 2001, 154 ans après la découverte de la PBJ en 1847, Bradwell et al. ont développé des dosages immunologiques turbidimétriques sensibles et automatisés pour les mesures de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  dans le sérum et dans l'urine. Ce délai est le témoin de la complexité de la mise au point d'un tel dosage, et de l'avancé scientifique qu'il représente. En effet, ce marqueur va faciliter l'évaluation des patients présentant des anomalies de la chaîne légère (1). Ce qui lui a permis d'avoir un impact clinique.


En 2003, l'IMWG a présenté sa première publication dans laquelle des recommandations portant sur les critères de diagnostics et les facteurs pronostiques du myélome ont été proposées. La mesure des CLL mc était une option si la quantification de la composante M (une Ig entière monoclonale) est négative (14).

En 2006, les premiers critères de réponse internationaux uniformes pour le myélome ont été élaborés par l'IMWG, le dosage sérique des CLL mc a été recommandé pour permettre




l'évaluation de la réponse chez les patients atteints d'un myélome non ou oligosécrétoire (15). Cette même année, la Haute autorité de santé a publié des recommandations concernant le dosage des CLL sériques, ces recommandations mentionnent un intérêt uniquement dans le suivi du traitement du MMCL, pauci ou non sécrétant (3).

En 2009, l'IMGW a finalement introduit des recommandations concernant l'utilisation du dosage des CLL mc dans le myélome multiple et les troubles plasmocytaires clonaux associés. Cette publication a mis en évidence l'utilité de ce test dans le diagnostic du MM et des troubles associés et l'amylose AL (16). Cette même année, une recommandation européenne a été publiée. Cette directive recommande, à des fins de dépistage, d'effectuer l'électrophorèse des protéines sériques (EPS), l'électrophorèse des protéines urinaires (EPU) et l'immunofixation (IF), et d'utiliser la CLL comme test d'appoint lorsque l'échantillon d'urine n'est pas disponible ou lorsqu'une suspicion clinique existe toujours en présence d'une immunofixation négative. L'IMWG et les directives européennes sont divergentes sur cet aspect (17).

En 2014, l'IMGW a actualisé les critères de diagnostic du MM, parmi lesquels figurent le dosage des CLL mc, et l'établissement du rapport CLL impliquée (CLL i) / CLL non impliquée (CLL ni) (2).



**CHAPITRE 2 : RAPPEL  
PHYSIOLOGIQUE**



Les immunoglobulines constituent une famille de glycoprotéines secrétées par les lymphocytes B et les plasmocytes et sont présentes dans les liquides biologiques (sérum, sécrétions muqueuses, liquide extravasculaires) ainsi qu'à la surface des lymphocytes B matures (immunoglobuline membranaire).

Tous les anticorps ont la même structure de base, mais ils se différencient au niveau de la région qui se lie à l'antigène.

## **I. Structure des immunoglobulines**

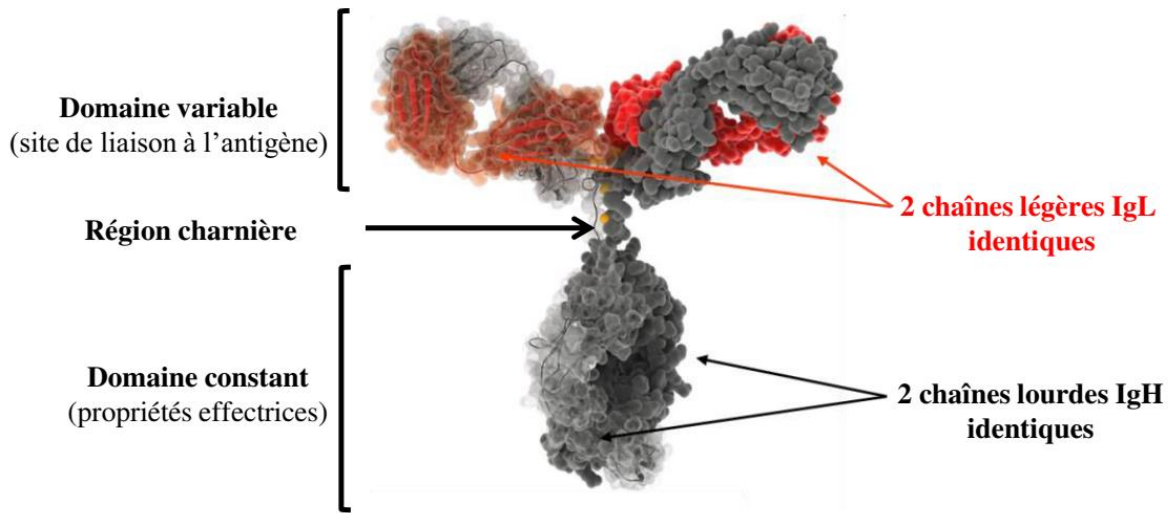
Une immunoglobuline entière est constituée de deux chaînes lourdes (Heavy = H) identiques et de deux chaînes légères (light = L) identiques comportant chacune une région variable et une région constante (Figure 3 : A) (18). Les deux chaînes lourdes sont composées d'un domaine variable (VH) et de trois domaines constants (CH1, CH2 et CH3). Les domaines CH1 et CH2 sont séparés par la région charnière qui permettra l'association des deux chaînes lourdes ensemble via des ponts disulfures, et elle confère à la chaîne lourde une grande flexibilité, facilitant ainsi son interaction avec l'antigène (Figure 3 : B).

A ces chaînes lourdes sont associées deux chaînes légères, composées d'un domaine variable (VL) et d'un seul domaine constant (CL). Le domaine variable (V) assure la liaison à l'antigène (Ag) et le domaine constant (C) confère les fonctions effectrices telles que l'activation du complément ou la liaison aux récepteurs Fc. Les chaînes lourdes comportent, selon l'isotype, trois à quatre domaines CH : (CH1, CH2, CH3 et CH4).

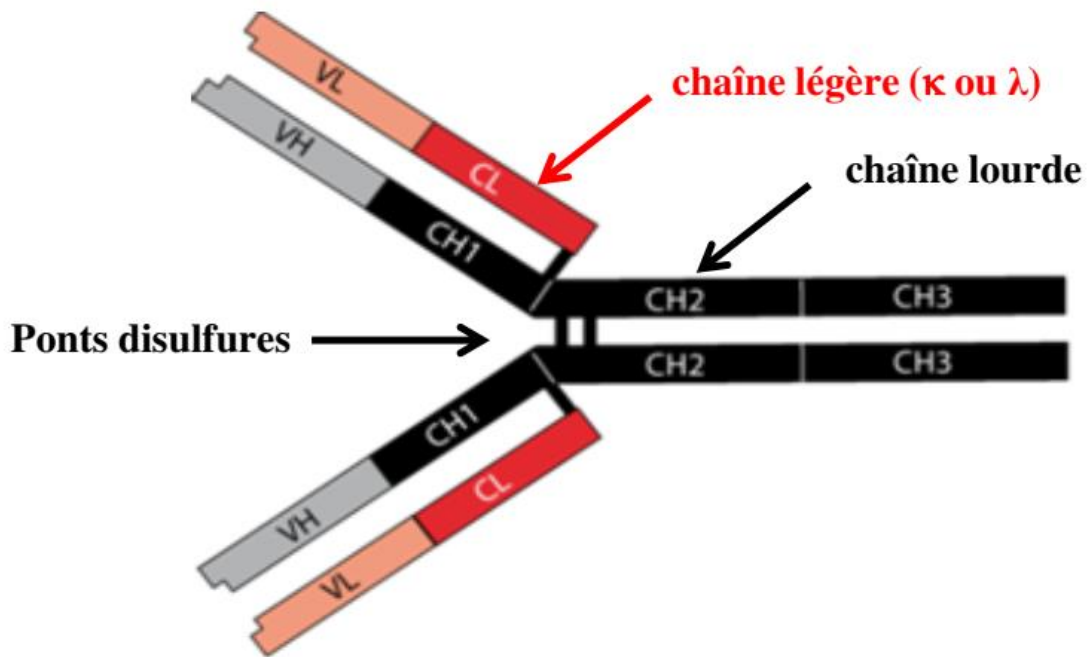
Il existe deux types de chaînes légères, kappa ( $\kappa$ ) et lambda ( $\lambda$ ) et cinq classes de chaînes lourdes à savoir : mu ( $\mu$ ), delta ( $\delta$ ), gamma ( $\gamma$ ), alpha ( $\alpha$ ) et epsilon ( $\epsilon$ ), correspondant respectivement aux monomères d'IgM, IgD, IgG, IgA et IgE.

La région variable de chaque chaîne légère et chaque paire de chaînes lourdes se combinent pour produire des sites de liaison à l'antigène (Fab) aux deux broches du «Y».

A-



B-

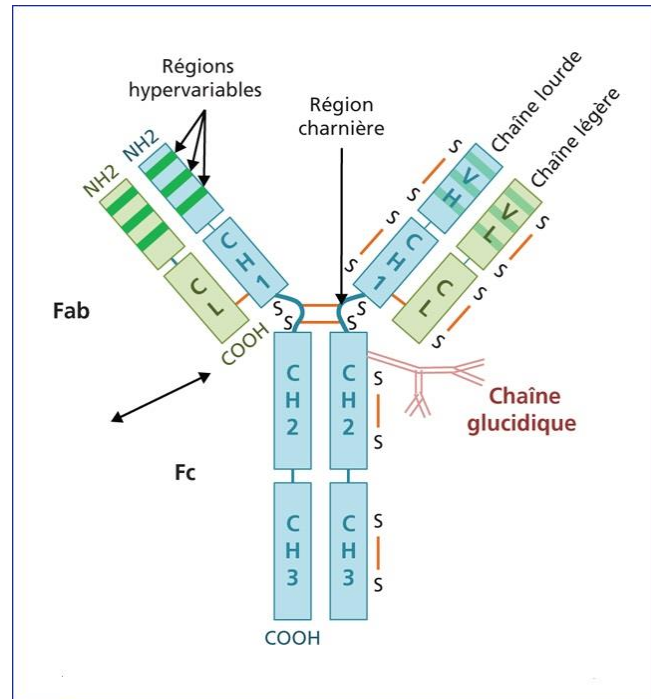


**Figure 3.** Structure globale d'une immunoglobuline (19).

A. Représentation tridimensionnelle d'une immunoglobuline de souris (sous forme monomérique).

B. Représentation schématique d'une immunoglobuline.

Chaque chaîne légère est composée d'environ 220 acides aminés avec un poids moléculaire de 25 kDa (20), La partie C-terminale de la chaîne légère est la région constante (CL) et la partie N-terminale est la région variable (VL) (Figure 4).



**Figure 4.** Représentation d'une immunoglobuline schématisant ses différentes régions (21).

En bleu : chaîne lourde ; en vert : chaîne légère ; en orange : ponts disulfures ; en rose : chaînes glucidique ; en vert foncé : régions hypervariables.

En revanche, la région variable (VL) d'une chaîne légère comprend quatre régions de séquences stables appelées régions charpentes (FR) qui forment un noyau hydrophobe (21) ; au sein duquel sont dispersées trois séquences hypervariables appelées région déterminant la complémentarité (CDR1, CDR2 et CDR3) (22).

La présence de la tyrosine et du tryptophane amphiphiles dans les CDR de la chaîne légère peut permettre aux immunoglobulines de réagir de manière croisée avec des ligands structurellement similaires (23). Ces acides aminés:

- Ne sont pas affectés par le passage d'un environnement hydrophile à un environnement hydrophobe qui se produit lors de la liaison à l'antigène;
- Participent aux interactions électrostatiques;
- Ont des chaînes latérales flexibles qui peuvent générer une région structurellement plastique (Amélioration de la complémentarité des surfaces en interaction).

Bien que ces facteurs puissent améliorer la liaison à l'antigène et augmenter l'efficacité des anticorps, ils peuvent également prédisposer à des effets indésirables potentiels.

L'association de la chaîne légère à la chaîne lourde masque certains épitopes, qui peuvent être utilisés pour la production d'anticorps anti-CLL spécifiques.

## II. Organisation et réarrangement de gène des immunoglobulines

Dans leur configuration germinale, les gènes d'immunoglobulines ne sont pas fonctionnels. Des remaniements géniques sont donc nécessaires pour générer des récepteurs à l'antigène fonctionnels. Ces événements ont lieu au cours de la phase précoce de la lymphopoïèse B dans la moelle osseuse. Il s'agit des recombinaisons V(D) J dont le rôle est de générer un vaste répertoire d'immunoglobuline à partir d'un nombre restreint de gènes. Les domaines variables de chaînes lourdes résultent de l'assemblage des segments V (variable), D (diversité) et J (jonction). Les domaines variables de chaînes légères ne possèdent pas de segment D et résultent de l'assemblage des segments V et J (24).

Le gène  $\kappa$  humain est situé sur le chromosome 2 (2p11.2) et comprend environ 40 gènes de la région  $V\kappa$ , regroupés en 7 familles, 5 gènes fonctionnels de la région  $J\kappa$  et un gène de la région  $C\kappa$ . Le locus  $\lambda$  humain est situé sur le chromosome humain 22 (22q11.2). Il existe environ 30 gènes  $V\lambda$  humains et sont regroupés en 10 familles. Il existe 7 gènes  $C\lambda$  humains, dont 4 sont fonctionnels et 3 sont des pseudogènes. Chaque gène  $C\lambda$  est situé en 3' d'un gène  $J\lambda$  respectif. Les gènes de la chaîne légère n'incluent pas les loci de la région D (figure 5) (25) (26) (27).

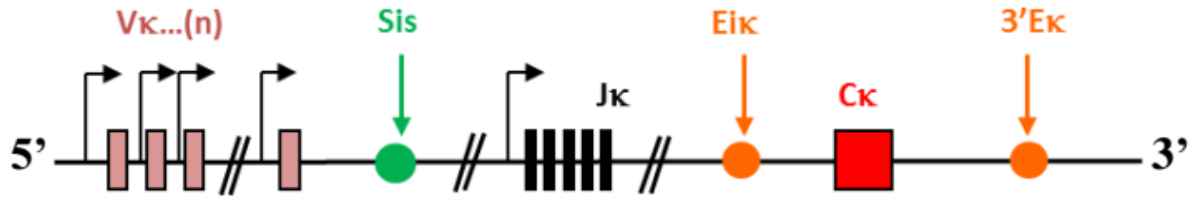
L'événement initial de la recombinaison de la chaîne légère implique la jonction d'une région V à une région J. Le complexe VJ reste séparé de la région C de la chaîne légère par un intron, le complexe entier est transcrit, et un épissage supplémentaire de l'intron entraîne la formation d'un transcrit V-J-C mature. Les réarrangements des chaînes légères chez les souris se produisent initialement au locus  $\kappa$ . Si les réarrangements du premier allèle  $\kappa$  échouent, des tentatives sont faites pour réorganiser le deuxième gène  $\kappa$ . Si cela échoue, le locus  $\lambda$  est utilisé (28).

Le réarrangement du locus  $\kappa$  précède donc celui du locus  $\lambda$  et, s'il est productif, l'expression des gènes est alors inhibée (phénomène d'exclusion isotypique) (29).

Après un réarrangement réussi d'immunoglobuline  $\lambda$ , les chaînes lourdes et légères sont assemblées en une structure quaternaire H2L2 définie. L'anticorps complètement assemblé est transféré à la membrane plasmique pour former le récepteur des cellules B, puis les cellules B

sont soumises à une sélection par présentation d'auto-antigène dans l'environnement de la moelle osseuse et de la périphérie (30).

A.



B.



**Figure 5.** Organisation des loci de chaîne légère d'immunoglobuline. A : Locus immunoglobuline  $\kappa$ . B: locus immunoglobuline  $\lambda$  (31).

**A.** Le locus immunoglobuline  $\kappa$  dans sa configuration germinale (localisé sur le chromosome 2). Les rectangles roses, noirs et rouge représentent respectivement les segments  $V\kappa$ ,  $J\kappa$  et le gène  $C\kappa$ . Les différents promoteurs sont représentés par des flèches coudées. Les enhancers sont représentés par des cercles orange et l'élément silencer des recombinaisons par un cercle vert.

**B.** Le locus immunoglobuline  $\lambda$  dans sa configuration germinale (localisé sur le chromosome 22). Les segments  $V\lambda$ ,  $J\lambda$  et les gènes constants  $C\lambda$  sont représentés respectivement par des rectangles roses, noirs et rouges. Les différents promoteurs sont représentés par des flèches coudées. Les enhancers sont représentés par des cercles orange.

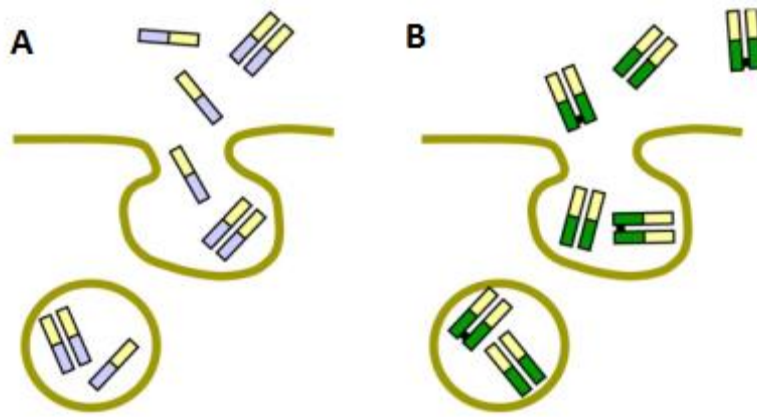
### III. Biosynthèse des immunoglobulines

Les chaînes lourdes et légères des immunoglobulines entières sont synthétisées de façon désynchronisée et ils sont assemblés dans le réticulum endoplasmique des lymphocytes B avec une production de chaînes légères de 10 à 40 % supérieure à celle des chaînes lourdes. En raison de la production excessive de chaînes légères par rapport aux chaînes lourdes et, l'excès de chaîne légère est sécrété sous forme libre et il permet de maintenir un pool intracellulaire constant de chaînes légères (32). Ce pool de chaînes légères assure la libération des chaînes lourdes relativement insolubles de leurs ribosomes et empêche la formation d'agrégats de chaînes lourdes toxiques (33).

Cet excès de production, est excrété sous forme libre dans le sérum par les plasmocytes, représentant environ 500 mg/j de CLL (34).

La proportion de CLL- $\kappa$  et de CLL- $\lambda$  produites se situe dans un rapport de deux pour un ; les deux tiers de la production de chaînes légères sont  $\kappa$  et cela se reflète dans un rapport  $\kappa/\lambda$  sérique de 1,8: 1 (7).

Les CLL existent sous forme de monomères, de dimères non covalents ou covalents dans les fluides biologiques: les CLL- $\kappa$  sont présentes en quantités presque égales sous forme de monomères et de dimères non covalents; alors que les CLL- $\lambda$  sont présentes sous forme de dimères covalents (Figure 6) (32).



**Figure 6.** Représentation schématique des chaînes légères libres kappa et lambda (32).

**A.** La sécrétion de CLL- $\kappa$  sous forme de monomère ou de dimère non covalent;

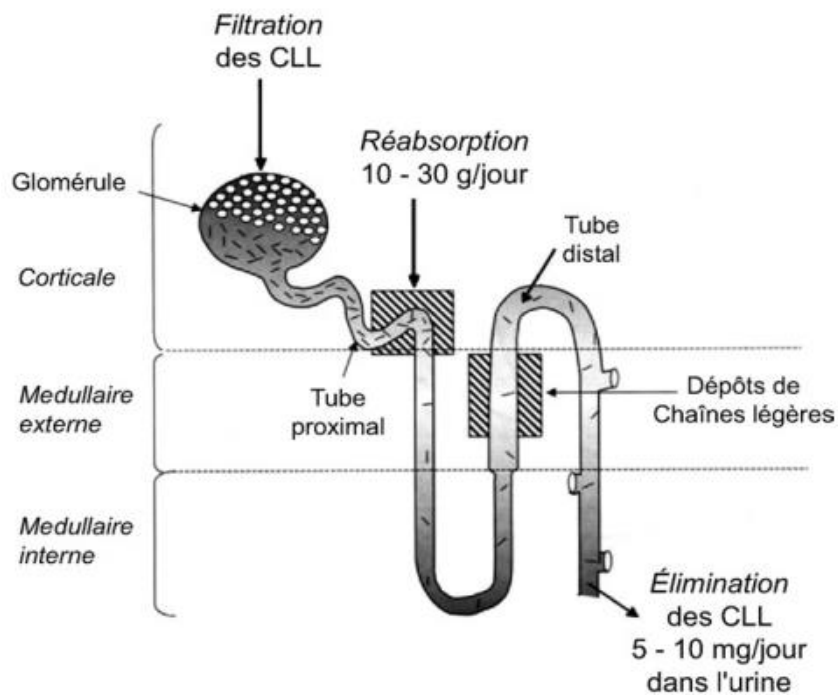
**B.** Sécrétion de CLL- $\lambda$  sous forme de dimère non covalent ou covalent. Les dimérisations covalentes sont représentées par des jonctions noires; Domaines VL en jaune; CLL- $\kappa$  en bleu clair; CLL- $\lambda$  en vert.

#### IV. Métabolisme et excrétion des CLL

La concentration en CLL dépend de la quantité synthétisée par les cellules B et de la clairance rénale. Le rein est le site principal du catabolisme des CLL. Les CLL sécrétées passent facilement à travers la barrière de filtration glomérulaire avec une demi-vie sérique de 2 à 4 h pour CLL- $\kappa$  et de 3 à 6 h pour CLL- $\lambda$  (35), tandis que les demi-vies sériques des immunoglobulines intactes sont de 20 à 25 jours pour les IgG, 6 jours pour les IgA, 5 jours pour les IgM, 3 jours pour les IgD et 2 jours pour les IgE (36).

En raison de leur faible masse moléculaire (25-50 kDa), la plupart des CLL filtrés par le glomérule, sont rapidement catabolisés ou réabsorbés au niveau du tubule proximal par endocytose (37), via les récepteurs protéiques saturables, la mégaline et la cubiline ; comme les autres microprotéines, les CLL sont facilement endocytés à travers les membranes à bordure en brosse et dégradés en oligopeptides et résidus d'acides aminés à l'intérieur des lysosomes. Dans ce processus, la mégaline, un récepteur glycoprotéiques de 600 kDa, et la cubiline, une protéine membranaire périphérique ancrée à la mégaline, sont les principaux médiateurs de l'entrée de la chaîne légère (38) (39).

Le rein peut absorber 10 à 30 g de CLL par jour (40), et seulement 1 à 10 mg/jour de CLL sont présents dans l'urine en condition physiologique (figure 7) (41).



**Figure 7.** Schéma du néphron montrant la filtration, la réabsorption et l'élimination des CLL (31).

Les concentrations urinaires en chaînes légères sont plus dépendantes de la fonction rénale que de la synthèse tumorale, même lorsque la production est considérablement accrue (42). Les CLL- $\kappa$  sont filtrées trois fois plus rapidement que les CLL- $\lambda$  car ces dernières forment plus fréquemment des dimères, ce qui double leur poids moléculaire et ralentit leur clairance. En cas de diminution de la filtration glomérulaire, l'élévation des CLL affecte les CLL- $\kappa$  plus que les CLL- $\lambda$  car la clairance des CLL est détournée vers le système réticuloendothélial. La clairance du système réticuloendothélial est indépendante du poids moléculaire. Ainsi, en cas d'insuffisance rénale sévère, le ratio  $\kappa/\lambda$  est orienté par l'accumulation plus importante de CLL- $\kappa$ , d'où l'utilisation d'un plus grand intervalle de référence (0,37–3,1) (6).

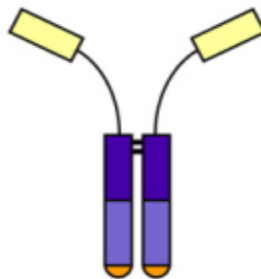
## V. Rôle des CLL

### 1. Contribution de la chaîne légère à l'interaction antigène-anticorps

L'intégrité structurale des immunoglobulines, y compris les régions constantes, est nécessaire pour la spécificité à l'antigène, l'affinité et la plasticité (43).

Les chaînes légères séparées des anticorps polyclonaux spécifiques à un antigène (Ag) présentent peu ou pas d'activité de liaison à cet Ag (44). D'un autre côté, bien que les chaînes lourdes séparées perdent considérablement la capacité de liaison à l'Ag, la capacité de liaison à l'Ag de la chaîne lourde a été récupérée par repliement avec une chaîne légère non apparentée avec des affinités approchant les anticorps originaux (45).

La chaîne légère reconstituée avec une chaîne lourde non spécifique n'a pas récupéré la capacité de liaison à l'Ag (46). Ces observations ont suggéré que la chaîne lourde joue un rôle plutôt dominant dans la liaison à l'Ag. De plus, des anticorps sans chaîne légère se trouvent chez les chameaux et les requins, ce qui implique que les chaînes légères peuvent ne pas être nécessaires pour une liaison efficace à l'Ag (figure 8) (47).



**Figure 8.** Anticorps à chaîne lourde chez les chameaux dépourvus de gène de chaîne légère (32). Le domaine CH1 est inexistant; Domaine VH en jaune.

Ainsi, après un clivage artificiel des chaînes lourdes et légères d'une molécule d'immunoglobuline, les chaînes lourdes conservent leurs propriétés de reconnaissance antigénique avec une affinité inférieure, mais les chaînes légères ne semblent pas pouvoir reconnaître l'Ag.

## **2. Auto-anticorps**

Au cours du développement des lymphocytes, les anticorps sont assemblés par réassortiment aléatoire de segments de gènes pour produire un grand nombre de spécificités. Un inconvénient potentiel de ce processus est que certains des anticorps produits sont auto-réactifs. La majorité (55 à 75%) de tous les anticorps exprimés par les cellules B immatures précoces présente une auto-réactivité, y compris des spécificités polyréactives et anti-nucléaires (47).

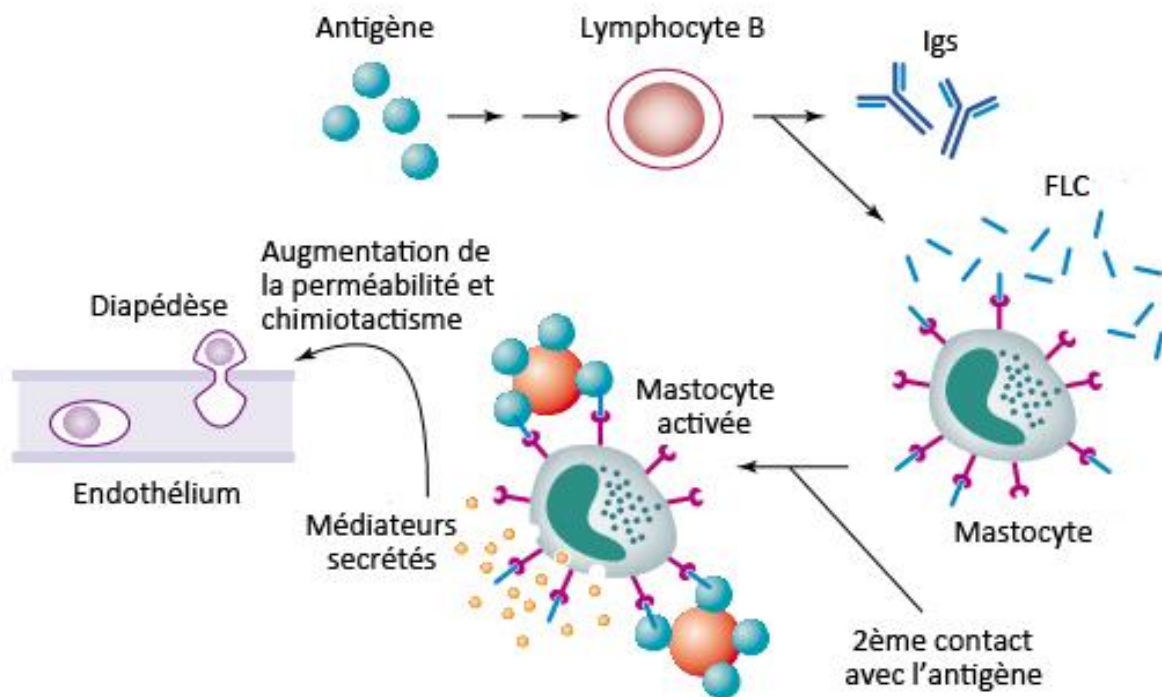
Les lymphocytes B avec une auto-réactivité suppriment l'auto-réactivité des anticorps en modifiant le récepteur, c'est-à-dire l'échange de chaînes légères. Ainsi, la chaîne légère peut convertir des anticorps autoréactifs dangereux en anticorps inoffensifs (48).

C'est un des mécanismes de la tolérance immunitaire périphérique : une fois les chaînes lourdes et légères synthétisées et assemblées, les lymphocytes B naïfs auto-réactifs qui ont quitté la moelle osseuse et qui ont une affinité pour un Ag du soi pourront engager ce processus visant à supprimer leur auto-réactivité.

## **3. L'hypersensibilité**

En 2002, Redegeld et al. (49) ont montré que les CLL peuvent conférer une hypersensibilité dépendante des mastocytes chez la souris. La stimulation antigénique entraînait une extravasation plasmatique, un gonflement cutané et une dégranulation des mastocytes. Ils ont montré que les CLL ont un rôle crucial dans le développement de la sensibilité de contact. Bien que les IgE et IgG1 soient au cœur de l'induction de réactions d'hypersensibilité immédiate, leurs résultats montrent que les CLL ont une activité similaire.

Ces réactions d'hypersensibilité médiées par les mastocytes mais indépendantes des IgE, déclenchées par des CLL spécifiques des Ag en cause (figure 9) (50), ont été identifiées. Une autre étude a montré qu'un transfert de sensibilité antigénique par injection de CLL à des souris naïves entraîne une réaction d'hypersensibilité immédiate dose-dépendante lors du contact avec l'Ag. Cette réaction est supprimée chez les souris déficientes en Mastocytes (5).



**Figure 9.** Rôle des FLC dans les phénomènes d'hypersensibilité (51).

Ainsi, l'exposition de souris à des haptènes entraîne la synthèse d'immunoglobuline spécifiques après activation lymphocytaire B et donc de CLL. Celles-ci pourraient avoir une capacité de fixation aux mastocytes, et donc être à l'origine de la réaction d'hypersensibilité cutanée immédiate lors du deuxième contact avec l'haptène. Cette réaction est supprimée par l'emploi d'un antagoniste spécifique des CLL (protéine F991, identique à la région de liaison des CLL identifiée sur la protéine de Tamm-Horsfall portée par les cellules rénales de l'anse de Henlé) (50).

Des résultats similaires ont été retrouvés plus tard par Thio et al. (51) : les CLL semblent reconnaître spécifiquement un Ag, et, lorsqu'elles sont liées aux mastocytes, se polymérisent et induisent le déclenchement d'une réponse inflammatoire, comme dans les réactions IgE-médiées.

Alors que les résultats d'une autre étude suggèrent que les fractions de CLL peuvent posséder peu ou pas d'activité de liaison à l'antigène et que, par conséquent, elles peuvent ne pas servir de marqueurs diagnostiques utiles chez les patients allergiques (52).

#### **4. Autres rôles immunologiques des CLL**

Cohen et al. (53) ont révélé que les CLL inhibaient irréversiblement le mouvement chimiotactique des neutrophiles et l'absorption d'hexose par ces cellules. Ces résultats suggèrent qu'ils sont au moins partiellement responsables d'une diminution de la réponse immunitaire non spécifique et, par conséquent, d'un risque plus élevé d'infection dans l'urémie et d'autres maladies des niveaux élevés de chaînes légères d'immunoglobuline.

De plus, dans le myélome multiple, dans lequel les patients présentent souvent une gammopathie monoclonale à chaîne légère, un risque accru d'infections bactériennes résultant d'une diminution des fonctions neutrophiles a été indiqué (54). Cela suggère que l'effet modulateur de la chaîne légère sur les neutrophiles est associé à une susceptibilité aux infections bactériennes au cours de l'urémie et du myélome multiple.

Matsumori et al. (55) a démontré que la CLL améliorerait considérablement la survie dans la myocardite virale, en partie via l'effet anti-inflammatoire. Cela suggère que la CLL est impliquée dans une large gamme de systèmes de régulation immunologique.

Enfin, il a été démontré que les chaînes légères améliorent la sécrétion du facteur  $\beta$  de formation de tumeur des cellules mésangiales (56) et augmentent la sécrétion d'interleukine-10 dans le cœur (57).

## **5. Autres rôles biologique des CLL**

De nombreuses études ont élucidé le rôle biologique des CLL, dans les fonctions principales suivantes:

### **5.1. Enzymatique**

Les chaînes légères kappa d'immunoglobuline interagissent avec le plasminogène et le tPA, conduisant à une génération accrue de plasmine. La CLL- $\kappa$  est la première molécule associée à l'activité anti-angiogénique de Neovastat ; un extrait anti-angiogénique du cartilage de requin, qui stimule l'activation du plasminogène en facilitant la conversion du plasminogène en plasmine (57).

### **5.2. Protéolytiques**

Les CLL ont montré une activité hydrolytique contre le peptide intestinal vasoactif inactivé, dans leur étude, Sun et al. (58) ont constaté que la chaîne légère d'un anticorps dirigé contre le peptide intestinal vasoactif non activé a hydrolysé ce peptide, tandis que la chaîne lourde et les immunoglobulines entières ont montré une activité hydrolytique réduite par rapport à la CLL.

### **5.3. Activités de prothrombinase**

La conversion du fibrinogène en fibrine a été accélérée par les fragments de prothrombine générés par la chaîne légère. Ces découvertes suggèrent un nouveau mécanisme par lequel les anticorps peuvent induire un état procoagulant, c'est-à-dire une activation de la prothrombine via le clivage de la molécule (59).

## VI. Toxicité des CLL

Contrairement aux immunoglobulines intactes, les CLL sont des protéines de faible poids moléculaire qui sont éliminées de la circulation par filtration glomérulaire (37). Les CLL filtrés sont réabsorbés dans le tubule proximal en se liant à un récepteur multi-ligand exprimé de manière lumineuse, composé de mégaline et de cubiline (38) (39). Après l'endocytose, les CLL subissent généralement une dégradation, ce qui permet le retour des composants acides aminés dans la circulation (60).

Ce système est très efficace, avec seulement environ 1 à 10 mg de CLL polyclonales échappant à la réabsorption par le tubule proximal et apparaissant par la suite dans l'urine chaque jour (61). Cependant, Les dyscrasies plasmocytaires peuvent entraîner une augmentation significative des CLL circulantes, qui peut dépasser 100 000 mg/L [2]. Par conséquent, les CLL mc s'accumulent dans l'épithélium tubulaire proximal. La saturation du récepteur de la mégaline / cubiline permet aux CLL d'échapper à l'absorption, apparaissant dans le fluide tubulaire des segments distaux du néphron et finalement dans l'urine sous forme de protéines de Bence Jones (62).

La réabsorption des CLL entraîne un stress cellulaire, une cytotoxicité, une inflammation ainsi qu'une fibrose interstitielle. Les glomérules et les tubules peuvent tous deux être impliqués. Les troubles du tubule proximal comprennent un spectre de syndromes intéressants, dont la gravité varie. Sur le plan histologique, il peut y avoir un dépôt de cristaux dans les cellules du tubule proximal, une lésion tubulaire aiguë, une inflammation interstitielle, une fibrose et une atrophie tubulaire (62). Il en résulte alors une insuffisance rénale progressive avec accumulation dans le sang et diminution dans les urines des CLL. Dans certaines gammopathies monoclonales, la toxicité est systémique car les CLL impliquées ont une configuration moléculaire particulière qui leur confère la propriété de s'autoagréger pour former des fibres (composées de 3 à 6 fibrilles) et constituer ce qu'on appelle l'amyloïde; ces fibres se déposent avec d'autres constituants à l'extérieur des cellules, causent la destruction des tissus et forment une barrière qui empêche les échanges métaboliques entre les secteurs extra- et intracellulaires (63).



**CHAPITRE 3 :  
EXPLORATION  
BIOLOGIQUE**



L'exploration biologique des CLL est réalisée pour rechercher et dépister un certain nombre de pathologies, elle commence par le prélèvement d'un échantillon de sang, d'urine ou autre, suivi par une analyse pour identifier et déterminer la concentration en CLL dans l'échantillon, pour la comparer avec des valeurs de références déjà établies.

## **I. Phase pré-analytique**

La phase pré-analytique constitue une étape clé dans la réalisation et l'interprétation de toutes les explorations biologiques, le laboratoire doit donc être particulièrement attentif aux conditions de prélèvement, de recueil des échantillons et d'acheminement.

### **1. Prélèvement**

La nature des tubes requis pour les analyses immunologiques varie selon le type d'exploration envisagée. La plupart des explorations sanguines d'immunochimie sont effectuées sur du sérum et le recueil de l'échantillon primaire est donc effectué sur un tube sec (64). Ceci est vrai, entre autres, pour l'analyse qualitative des immunoglobulines, et leur analyse quantitative. Quelques particularités sont cependant à connaître.

#### **1.1. Le sérum**

Bien que le plasma soit le liquide extracellulaire physiologique, en immunologie comme pour les autres disciplines de biologie, le sérum reste l'échantillon de référence. Un piège classique est la présence de fibrinogène en cas de traitement anticoagulant important. Il en résulte un pic en  $\beta$  à l'électrophorèse, bien évidemment non typable par la batterie d'antisérums spécifiques des chaînes d'immunoglobulines en immunoélectrophorèse.

Le sang total est recueilli sur tube sec, sans anticoagulant, souvent sur gel séparateur. Un tube de 7 ml correctement rempli est suffisant pour le dosage de tous les isotypes d'immunoglobulines et la recherche d'immunoglobulines monoclonales (65).

## **1.2. Les urines**

Lors de toute suspicion de gammopathie monoclonale, il est impératif de coupler l'analyse immunoélectrophorétique des urines à celle du sérum. Seule cette analyse conjointe permet d'identifier avec certitude la présence d'une Protéinurie de Bence Jones, qui ne peut être détectable que dans les urines.

Les urines de 24 heures, exemptes de sang, sont recueillies sur antiseptique, dans les mêmes conditions que pour la réalisation des dosages biochimiques (66). L'échantillon, destiné à l'analyse immunoélectrophorétique, environ 25 ml, doit être représentatif de la diurèse des 24 heures, car l'excrétion des chaînes légères varie au cours du nyctémère. La dénaturation des protéines est prévenue en travaillant à +4°C si la concentration dure Longtemps. Les autres obstacles sont la fuite des protéines de bas poids moléculaire ou l'adsorption de certaines protéines sur les membranes.

## **1.3. Le liquide céphalorachidien**

Le liquide céphalorachidien (LCR) peut être le substrat de l'exploration des immunoglobulines dans le diagnostic de certaines maladies auto-immunes comme la sclérose en plaques (SEP). Quelques centaines de microlitres sont alors suffisants, prélevés sur un flacon isolé lors de la ponction lombaire (66).

## **1.4. Prélèvement sanguin versus prélèvement urinaire pour le dosage quantitatif des CLL**

Comme on l'a vu précédemment, les CLL ont été découvertes dans les urines de patients myélomateux sous forme de PBJ. Leur recherche systématique dans les urines a été conseillée pour apprécier la gravité du MM. Leur concentration était évaluée par l'importance du pic monoclonal sur le tracé électrophorétique des protéines urinaires.

Concernant le prélèvement sanguin : La concentration des CLL dans le sérum est le reflet direct de la production pour autant que la clairance rénale soit normale. Seul le dosage dans le sérum est recommandé pour mettre en évidence une stimulation des lymphocytes B, apprécier

le degré de gravité d'une gammopathie monoclonale et suivre, sous traitement, l'évolution de la maladie proliférative.

Pour le prélèvement urinaire, d'un point de vue analytique, le dosage des CLL dans les urines est réalisable avec une bonne sensibilité, à condition que les urines soient limpides et le recueil précis (urines des 24 heures, conservées et acheminées dans de bonnes conditions) compte tenu de la variation nyctémérale de l'excrétion des CLL (31). Car l'excrétion urinaire des CLL présente des variations pouvant atteindre 40 à 50 %, même chez un individu sain (67). Bien que plus difficile à réaliser, le recueil des urines sur 24 h permet donc de minimiser l'impact de ces variations en cas de dyscrasie plasmocytaire.

D'un point de vue clinique, plusieurs études ont montré dans le MM une bonne corrélation entre le dosage sérique et le dosage urinaire (urines des 24 heures) dans le suivi d'un patient donné (42), mais une grande variabilité selon les patients (68). En effet, l'impact de la fonction rénale sur l'excrétion urinaire des CLL varie selon le type et la sévérité de l'atteinte rénale.

Cependant pour des raisons d'interprétation des résultats, le dosage sérique remplace avantageusement le dosage urinaire dans le bilan d'une gammopathie monoclonale pour plusieurs raisons :

- lors d'une lésion sélective du tubule proximal rénal chez un individu qui synthétise des quantités normales de CLL, celles-ci peuvent être augmentées dans les urines (par défaut de dégradation) et être normales dans le sérum;
- lors d'une stimulation modérée de la production avec une fonction rénale intacte, la concentration des CLL peut être normale dans les urines et augmentée dans le sérum;
- lorsque la synthèse augmente fortement et la filtration glomérulaire rénale diminue, l'augmentation des CLL s'accroît dans le sérum mais pas dans les urines.
- Les valeurs de CLL mc dans l'urine (BJP) sont surestimées en raison de la présence de CLL polyclonales.

Ainsi, compte tenu de ces observations, le dosage sérique apparaît plus sensible et plus fiable que le dosage urinaire pour apprécier l'activité de la maladie.

## **2. L'acheminement, les conditions de transport et de conservation**

Pour l'analyse qualitative et les dosages des immunoglobulines, à l'exception des cryoglobulines, des dosages des IgD et des IgG3, le prélèvement, s'il est effectué en-dehors du laboratoire, peut être acheminé par des circuits habituels.

Après centrifugation à 1200-1500 g, le sérum est décanté et conservé dans autant de tubes secondaires que d'analyse, correctement identifiés, au besoin en présence d'azoture de sodium pour quelques jours à +4 °C, sinon à -20 °C (65).

## **II. Phase analytique**

La mise en évidence des CLL mc fait appel à des techniques qualitatives et d'autres quantitatives.

Les techniques qualitatives sont des techniques électrophorétique basées sur le principe de l'homogénéité de charge électrique. L'homogénéité structurale des molécules constituant l'immunoglobuline monoclonale implique une homogénéité de charge électrique, d'où une mobilité électrophorétique étroite propre à chaque immunoglobuline monoclonale. Cette caractéristique biochimique est à la base des différentes techniques actuellement utilisées pour distinguer l'immunoglobuline monoclonale des immunoglobulines polyclonales normales. Les tests décrits ci-dessous sont les tests utilisés de façon courante pour faire le diagnostic de CLL mc dans le sérum et/ou dans les urines. La première étape de ce diagnostic biologique consiste à réaliser une électrophorèse des protéines. L'électrophorèse étant nécessaire, mais non suffisante, la deuxième étape consiste à utiliser une technique de typage des immunoglobulines monoclonales. Enfin, il faut procéder au dosage quantitatif de la CLL mc.

### **1. Techniques d'identification**

Les immunoglobulines sont secrétées par les lymphocytes B au stade de plasmocytes ou de lymphoplasmocytes (pour les IgM). Une immunoglobuline monoclonale correspond à la synthèse d'immunoglobulines strictement identiques entre elles (même chaîne lourde et même chaîne légère), ces immunoglobulines étant issues de la prolifération d'un même clone de cellules B (maligne ou hyperstimulée). D'une manière générale, la structure d'une immunoglobuline monoclonale est normale. Ce qui est anormal, c'est sa production excessive.

Au laboratoire, la recherche et la caractérisation d'un constituant monoclonal peut conduire à l'identification d'une immunoglobuline entière ou d'une fraction d'immunoglobuline telles qu'une chaîne lourde isolée ou une CLL. Lorsque les CLL urinaires sont monoclonales, elles sont également appelées « protéines de Bence Jones ». Les CLL urinaires polyclonales ne sont pas des PBJ.

Les techniques d'identification permettent d'affirmer ou d'infirmer le caractère monoclonal d'une anomalie décelée ou non à l'électrophorèse. Elles permettent également de préciser l'isotype de l'immunoglobuline entière ou des fragments d'immunoglobuline (CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$ , chaîne lourde isolée).

Le caractère monoclonal d'une CLL peut être suspecté si le ratio est fortement déséquilibré. Toutefois, seule une technique qualitative (électrophorèse, IF ou toute autre technique qualitative) permet d'affirmer ou non la monoclonalité.

### **1.1. Electrophorèse des protéines sériques**

L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) est un examen biologique permettant la séparation et l'analyse des protéines sériques selon leur poids moléculaire, via leur migration dans un champ électrique. L'EPS permet ainsi la mise en évidence et la quantification d'une immunoglobuline monoclonale entière sous la forme d'une bande étroite (pic) migrant dans la région des gamma-globulines (IgG, IgM) ou en beta ou alpha-2-globulines (IgA). La caractérisation de l'isotype de l'immunoglobuline monoclonale est effectuée par IF sur gel d'agarose ou par immunotypage par électrophorèse capillaire (Figure 10). Ainsi, en cas de myélome à chaîne légère (MCL), l'EPS peut montrer une hypogammaglobulinémie polyclonale résiduelle et plus rarement un pic de chaînes légères.

Cependant, l'EPS ne permet pas une quantification des CLL, tout comme l'IF dont le seul rôle est la mise en évidence d'une CLL et de son caractère monoclonal. Le seuil de détection des CLL par EPS est de 2000 mg/L pour la CLL- $\kappa$  (migration en beta 2-globulines) et de 500 mg/L pour la CLL- $\lambda$  (migration en gamma-globulines) (69).

Toutefois, dans le cadre d'une recherche de CLL, cette technique est fréquemment mise en défaut du fait du faible taux de celles-ci comparativement aux autres protéines sériques (souvent inférieur à 2 g/L), de leur caractéristique de migration électrophorétique (elles peuvent migrer des  $\alpha$ -globulines aux  $\gamma$ -globulines) et de leur capacité à lier d'autres protéines. Il est donc difficile de détecter les CLL par EPS seul. En effet, devant une suspicion d'une gammopathie monoclonale, la recherche d'une immunoglobuline par IF qu'il y ait ou non un pic à l'EPS, s'impose (70).

## **1.2. Immunofixation**

L'immunofixation est une technique plus sensible, permettant à la fois de caractériser (préciser l'isotype de l'immunoglobuline entière ou de la CLL) et de confirmer le caractère monoclonal de l'anomalie décelée à l'électrophorèse. Pour caractériser le caractère « libre » des chaînes légères, il est indispensable de réaliser l'IF avec un sérum immun capable de réagir avec les chaînes légères totales « liées et libres » et avec un autre sérum immun capable de ne réagir qu'avec les CLL (le sérum immun réagit alors avec un épitope qui n'est accessible que lorsque la chaîne légère est libre).

### **1.2.1. Principe**

C'est une méthode de détection par précipitation. Son principe repose sur la mobilité électrophorétique dans un champ électrique et sur le caractère antigénique des protéines.

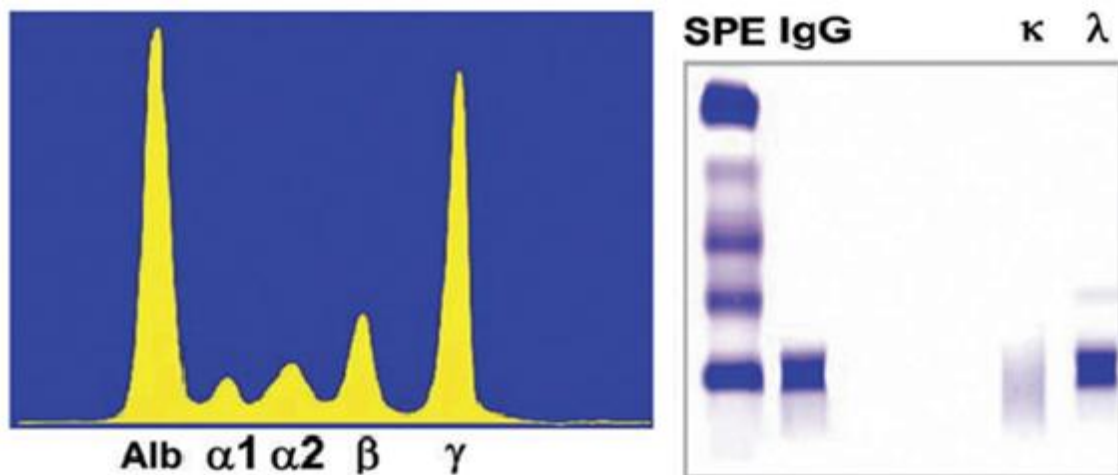
Après fractionnement électrophorétique des constituants du sérum, l'incubation des pistes électrophorétiques avec différents immun-sérums monospécifiques (immun-sérums spécifiques anti-kappa et anti-lambda) permet la précipitation *in situ* des CLL. Après lavage, les CLL précipitées sont révélées par un colorant.

L'IF ne permet pas une quantification des CLL, son rôle est la mise en évidence d'une CLL et de son caractère monoclonal.

### **1.2.2. Immunofixation sérique**

Le seuil de détection des CLL sérique par IF est de 150 mg/L pour la CLL- $\kappa$  (migration en beta 2-globulines) et de 100 mg/L pour la CLL- $\lambda$  (migration en gamma-globulines) (69).

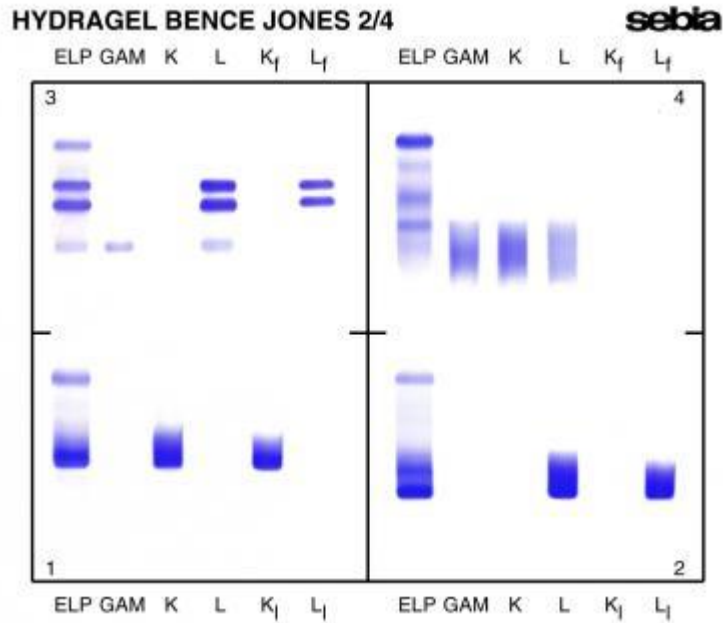
La figure 10 montre un exemple d'une EPS suivie par une IF sérique.



**Figure 10.** Electrophorèse et immunofixation d'une protéine monoclonale sérique IgG  $\lambda$  (71). A gauche, l'image d'un profil électrophorétique des fractions protéines sériques albumine (Alb) et globulines, ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ); un pic à base étroite déforme le tracé des gammaglobulines ( $\gamma$ ). A droite, l'image d'un gel coloré, support d'une électrophorèse seule (SPE) ou d'une électrophorèse suivie d'IF avec des anticorps anti-chaînes lourdes gamma (IgG), alpha (IgA), mu (IgM), ainsi qu'avec des anticorps anti-CLL- $\kappa$  et anti-CLL- $\lambda$ . Une bande monoclonale IgG lambda (correspondant à l'anomalie électrophorétique) est accompagnée d'une trace monoclonale lambda (CLL) ainsi que d'une petite quantité d'IgG polyclonales reconnues par les anticorps anti-chaînes légères ( $\kappa$ ,  $\lambda$ ); les IgA et les IgM ne sont pas détectées.(71)

### 1.2.3. Immunofixation urinaire

Le typage du composant monoclonal est effectué par immunofixation (figure 11), le niveau de détection de l'immunofixation étant particulièrement intéressant pour l'analyse immunochimique des urines. En effet, le seuil de détection des CLL urinaires par IF est de 12 mg/L pour CLL- $\lambda$  et de 3 mg/L pour la CLL- $\kappa$  [84]. Les CLL polyclonales sont sans signification pathologique. Aussi il ne faut pas confondre CLL polyclonales et CLL mc (protéinurie de Bence-Jones) (72).



**Figure 11.** Immunofixation de protéine urinaire sur l'Hydragel (73).

### 1.3. Immunosoustraction

L'immunosoustraction est basée sur l'utilisation des anticorps spécifiques en milieu liquide, ce qui présente l'avantage d'obtenir des immuns complexes solubles. L'injection dans les capillaires se fait donc plus rapidement, sans étape de sédimentation. Ces complexes ainsi formés, plus lourds que les autres fractions protéiques vont migrer avant l'albumine (apparaît en position très anodique) ne gênant pas la lecture des six traces d'électrophorèses. La superposition d'un des profils antisérum avec le profil protéique de référence EPS permet de visualiser la disparition et/ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire une gammapathie (74).

L'immunosoustraction sérique peut suspecter la présence des chaînes légères libres monoclonales mais ne peut pas confirmer leur présence, car les antisérums anti-CLL kappa et lambda libres, ainsi que les antisérums anti-IgE et anti-IgD ne sont pas encore commercialisés. En plus, l'immunosoustraction des protéines urinaires n'est pas encore disponible sur le marché. De ce fait, l'immunofixation reste la technique qualitative de référence pour détecter la présence des CLL mc.

## **2. Dosage pondéral des CLL mc**

Le dosage des CLL sériques peut être réalisé par différentes techniques : FreeLite™ (The Binding Site, Birmingham, Royaume Uni) disponible sur le marché depuis 2001, N Latex Free Light Chain™ assays (Siemens, Munich, Allemagne) disponible sur le marché depuis 2010, Seralite™ (Abingdon Health, Sand Hutton, Royaume-Uni) disponible depuis 2016 et enfin la technique Sebia FLC™ assays (Sebia, Lisses, France) disponible également depuis 2016.

Ce dosage sérique permet de mesurer la concentration globale de chaque type de CLL ( $\kappa$  ou  $\lambda$ ) exprimée en mg/L et de définir le ratio  $\kappa/\lambda$  ainsi que le ratio CLL impliquée (CLL i) / CLL non impliquée (CLL ni) (rCLL), ou la différence entre la CLL i et la CLL ni (dCLL) utilisée entre autre pour le suivi de l'amylose AL, une fois que la gammopathie monoclonale a été diagnostiquée.

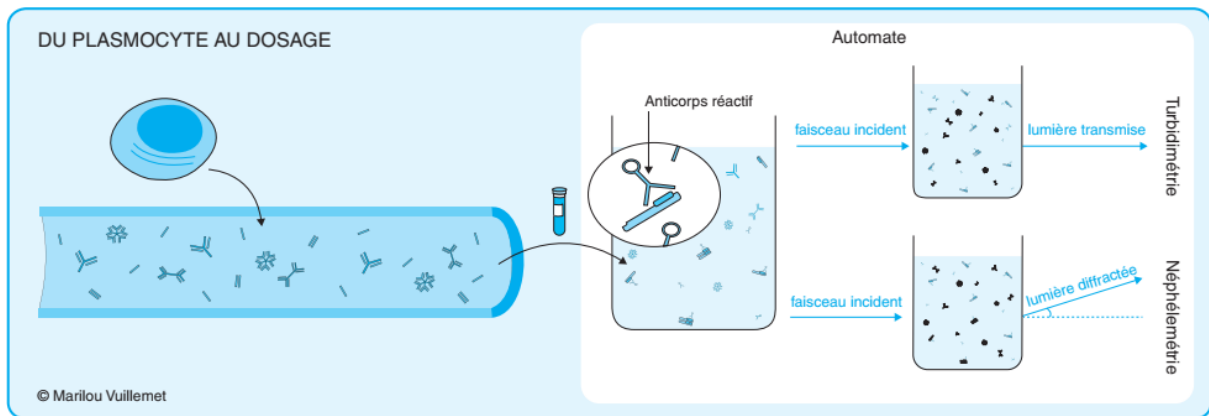
### **2.1. Dosage des CLL mc par des anticorps polyclonaux**

#### **2.1.1. Test Freelite™**

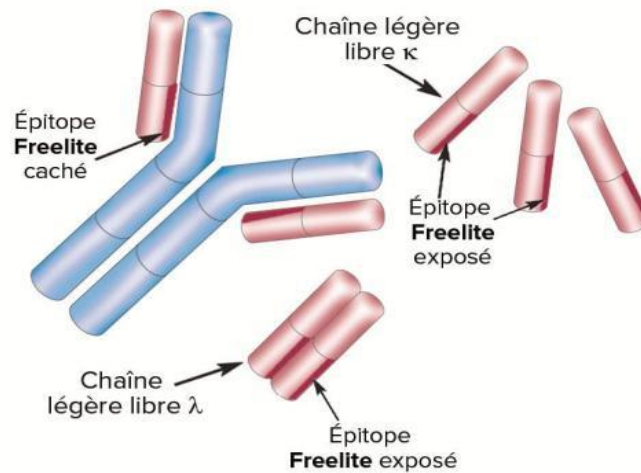
Le test FreeLite™ (The Binding Site®) est actuellement la méthode de référence pour le dosage des CLL, et le seul test des CLL recommandé par les directives internationales (75).

##### **2.1.1.1. Principe**

Ce test mesure, par méthode turbidimétrique ou néphélométrique (figure 12) (en fonction du type d'automate utilisé dans le laboratoire) automatisée, les concentrations sériques des chaînes légères  $\kappa$  et  $\lambda$  libres. Les anticorps polyclonaux utilisés sont adsorbés sur des particules de latex dans une réaction d'immunoprécipitation en milieu liquide, et ces anticorps sont monospécifiques réagissant uniquement avec des épitopes spécifiques des chaînes légères, accessibles uniquement lorsque celles-ci sont de type libre (figure 13). Ceci permet de réduire ainsi la réactivité croisée avec les chaînes légères liées aux chaînes lourdes des immunoglobulines entières.



**Figure 12.** Du plasmocyte au dosage des chaînes légères libres par méthode turbidimétrique ou néphéléométrique (74).



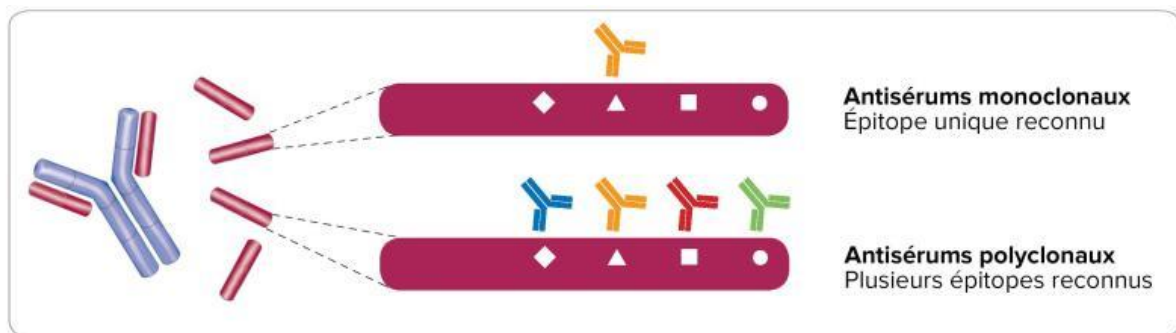
**Figure 13.** Molécule d'anticorps présentant la structure de chaînes lourdes et de chaînes légères, avec des FLC- $\kappa$  et FLC- $\lambda$  (75).

Les anticorps polyclonaux anti-CLL- $\kappa$  et anti-CLL- $\lambda$  sont obtenus par immunisation de moutons par des CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  purifiées à partir d'urine de patients présentant une protéinurie de Bence Jones. Les immun sérums sont ensuite adsorbés sur des colonnes couplées à des immunoglobulines intactes (IgG, IgA et IgM) afin d'éliminer les anticorps spécifiques des chaînes légères liées et ceux des isotopes des chaînes lourdes (sélection

négative). Dans une dernière étape d'immunoaffinité, l'antisérum anti-CLL est purifié sur une colonne de Sépharose couplé à la chaîne légère correspondante (sélection positive). Enfin, la spécificité est vérifiée par immunoelectrophorèse, western blot et hémagglutination (1).

### 2.1.1.2. Avantages

Les CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  sont polymorphes, ce qui signifie qu'elles présentent une énorme variation d'épitopes. L'utilisation d'Anticorps polyclonaux permet une plus large détection d'épitopes de CLL, comparativement aux Anticorps monoclonaux, qui par définition, ne reconnaissent et ne lient qu'un seul épitope (figure 14).



**Figure 14.** Comparaison entre les tests à base d'antisérum polyclonaux et monoclonaux (76).

Le test FreeLite® fournit des résultats quantitatifs plus rapides (environ trente minutes) que l'EPS et l'IF du fait de l'analyse automatisée et il est disponible sur un grand nombre de dispositifs d'analyses néphélométriques (dont Optilite® et SPAplus® de the Binding Site©). Selon des données du fabricant, le réactif a un seuil de détection de 2-3 mg/L (de 1,5 mg/L pour les CLL- $\kappa$  et de 3 mg/L pour les CLL- $\lambda$ ) donc nettement plus bas que celui de l'EPS et de l'IF (1) (tableau I).

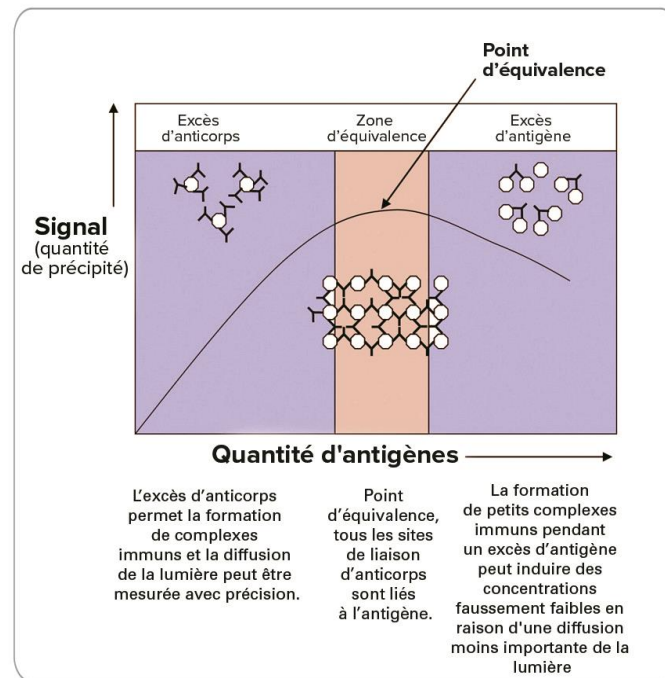
**Tableau I.** Sensibilité des différentes techniques pour la détection, l'identification et le dosage des CLL (76).

Techniques	Sensibilité (mg/L)	
Electrophorèse des protéines sériques	500 – 2000	
Immunofixation des protéines sériques	CLL-κ	150
	CLL-λ	100
Immunofixation des protéines urinaires	CLL-κ	3
	CLL-λ	12
Dosage néphélométrique / turbidimétrique	CLL-κ	1,5
	CLL-λ	3

### 2.1.1.3. Limites

- ✓ Des résultats faussement élevés peuvent être observés en cas de polymérisation des CLL (77), phénomène se produisant dans une petite proportion de patients atteints de gammopathie monoclonale. Ainsi, la formation de multimères au lieu de monomères ou dimères, agissant comme des cibles multi-antigéniques, accélère la formation d'agrégats. En effet, les anticorps utilisés dans cette technique réagissent mieux avec ces formes qu'avec les monomères de CLL.
- ✓ L'apparition de complexes de CLL avec l'α1-anti-trypsine peut également être source de surestimation des dosages (78).
- ✓ De rares faux négatifs peuvent aussi être observés en l'absence de détection d'épitopes cibles des anticorps du test Freelite®. Cela arrive parfois à cause de quelques rares épitopes de CLL qui échappent au test (79).

- ✓ Un effet « excès d'antigène » a été décrit en cas de concentrations très élevées de CLL, qui vont alors modifier l'interaction antigènes–anticorps, entraînant la formation de complexes immuns plus petits et ainsi une sous-estimation des CLL (figure 15) (77). En raison de ces imprécisions, les valeurs hautes et basses doivent être vérifiées et interprétées avec prudence.



**Figure 15.** Courbe montrant l'effet excès d'antigène de freelite™ (76).

- ✓ Le test Freelite® est potentiellement sujet à la non-linéarité des échantillons. La concentration de CLL peut être sous-estimée ou surestimée en raison d'anomalies de dilution de l'échantillon (non-linéarité) ou de l'échec de la détection d'un excès d'antigène (80). C'est lorsque les échantillons donnent des valeurs différentes à des dilutions différentes sans présenter d'excès d'antigène, que nous les qualifions de « non linéaires ». Cette non-linéarité avec le test Freelite® peut être due aux propriétés d'une CLL mc particulière ou peut être induite par une interférence non spécifique (par exemple, la présence de lipides).

- ✓ Une autre cause d'erreur analytique a été identifiée : l'adhérence aux parois des cuvettes des automates des billes de latex de polystyrène couplées aux anticorps (81) (82). En l'absence de lavages quotidiens des cuvettes, l'imprécision peut atteindre respectivement jusqu'à 16 et 35 % pour les résultats de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$ . Le respect quotidien du lavage et de la calibration ainsi que l'élimination des cuvettes après 1000 dosages doit éviter cet écueil (82) et est donc impératif.

Ces éléments peuvent fausser et compliquer l'interprétation clinique d'un résultat de CLL chez certains patients et même donner une mauvaise impression de rémission de la maladie. Par conséquent, il est conseillé d'effectuer une analyse CLL des échantillons de diagnostic et de suivi dans les mêmes conditions analytiques, en utilisant plus d'une dilution sur le même instrument (80).

#### **2.1.1.4. Différents types d'automates utilisant la technique Freelite™**

La technique Freelite™ pour la mesure des CLL est disponibles pour un certain nombre d'instruments de laboratoire néphélométriques et turbidimétriques, notamment :

- Binding Site© : Optilite®, SPAPLUS® et MININEPHPLUS®
- Beckman Coulter© : IMAGE®/ IMAGE 800® et Beckman AU®
- Roche© : Cobas®, Cobas Integra® et Hitachi®
- Siemens© : ADVIA®, BN® II et BN ProSpec®.

✓ **Binding site™ : Optilite®**

Le Binding site Optilite est un turbidimètre de paillasse automatisé (figure 16).



**Figure 16. Binding site™ Optilite®(83).**

Le kit Freelite™ fournis pour l'Optilite® contient un seul flacon de calibrateur, qui est dilué automatiquement par l'instrument pour générer les courbes d'étalonnage. Le kit contient également deux niveaux de liquide de contrôle correspondant au kit pour valider les courbes.

Les caractéristiques de performance de Freelite™ sur l'Optilite® sont résumées dans le tableau II. Les dilutions d'échantillons de départ sont de 1/10 pour les tests CLL- $\kappa$ , 1/8 pour les tests CLL- $\lambda$ .

Les échantillons rapportés en dehors de la plage de mesure du test standard sont automatiquement dilués par l'instrument pour donner un résultat final, la plage de résultats rapportables pour les dosages Optilite Freelite  $\kappa$  et  $\lambda$  est d'environ 0,6 à 127000 mg/L et 1,3 à 139000 mg / L, respectivement.

**Tableau II.** Performance analytique du test Freelite® sur le Binding site Optilite®.

	CLL-κ	CLL-λ
Plage	2,7 – 127 mg/L	5,2 – 139 mg/L
Dilution standard	1+9	1+7
Sensibilité (dilution initiale)	0,6 mg/L	1,3 mg/L
Temps de test	15 min	15 min

**Précision :** La précision sur l'Optilite® est très bonne en raison de l'utilisation de cuvettes jetables et de protocoles de lavage rigoureux pour la sonde d'échantillonnage, la sonde de réactif et la palette de mélange. Lors de la validation du test Freelite®, la précision du test a été évaluée à l'aide de 3 liquides témoins dont la concentration variait de 4,7 mg/L à 71,8 mg/L. L'imprécision maximale intra et inter-dosages pour les dosages κ ou λ Freelite était de 3,3% et 3,2%, respectivement (84).

Thouless et coll.(85) ont rapporté une excellente précision inter-dosages pour les dosages Freelite Optilite® dans des conditions simulées de routine, avec une imprécision maximale de 7,0%. Cela a été soutenu par Leung et al. (86) qui ont rapporté des CV <8% à chaque niveau pour plusieurs dosages sériques (y compris Freelite) exécutés sur l'Optilite® en pratique courante (84) (87).

Jamil et coll. (88) ont évalué les performances des kits Freelite™ pour l'analyse du LCR et ont signalé que les tests étaient linéaires, avec des CV acceptables.

**Excès d'antigène :** Tous les tests turbidimétrique peuvent être sensibles à un excès d'antigène avec des échantillons à haute concentration, conduisant à des résultats fausement faibles. Avec Freelite™, la composition en acides aminés de la CLL produite par un clone de cellule B individuelle influencera le niveau auquel un échantillon peut présenter un excès d'antigène.

Les tests sélectionnés sur l'Optilite® comprennent des contrôles automatisés de l'excès d'antigène (détection de phénomène de prozone). L'Optilite® dispose de trois méthodes pour identifier les échantillons qui peuvent être en excès d'antigène: l'addition de contrôle, l'ajout d'échantillon et la surveillance de la cinétique de réaction.

Le dosage Freelite™ utilise la surveillance de la cinétique de réaction pour détecter l'excès d'antigène. L'Optilite® mesure la vitesse de la réaction à 3 intervalles de temps différents afin d'identifier les échantillons qui ont une vitesse de réaction initiale relativement élevée, et donc peuvent avoir le risque d'être en excès d'antigène. Le rapport entre le changement d'absorbance pour les intervalles temporels 2 et 3 est comparé à celui des autres intervalles temporels, qui est ensuite comparé aux limites de prozone définies dans les paramètres de dosage. Si l'une des valeurs calculées ou les deux sont inférieures aux limites définies, l'échantillon peut être en excès d'antigène et le logiciel applique donc une erreur «Haute activité» et retest automatiquement l'échantillon à une dilution plus élevée.

L'efficacité des contrôles de l'excès d'antigène utilisés par le test Freelite Optilite® a été analysée par Coley et al. (89), qui ont rapporté que l'excès d'antigène était correctement signalé pour Freelite  $\kappa$  et  $\lambda$  dans 98% et 99% des cas, respectivement, et qu'il y avait aucun exemple d'excès d'antigène non détecté. Cela indique que les protocoles de détection d'excès d'antigène utilisés par l'Optilite® sont robustes et que l'apparition d'un excès d'antigène non détecté sur cette plate-forme est rare.

✓ **Binding site™ : SPAPLUS®**

Le Binding site SPAPLUS® est un turbidimètre de paillasse automatisé (figure 17).



**Figure 17.** Binding site™ SPAPLUS® (90) .

Marionneaux et al. (91) ont rapporté que le délai d'obtention du premier résultat sur le SPAPLUS® était de 15 minutes. Le SPAPLUS® s'est révélé capable d'effectuer environ 105 tests/heure.

Le kit Freelite™ fourni pour le Binding site SPAPLUS® contient une série de fluides d'étalonnage utilisés pour générer des courbes d'étalonnage. Ceux-ci sont ensuite validés à l'aide de deux niveaux de fluides de contrôle adaptés au kit. Les échantillons sont initialement mesurés à la dilution standard programmée de l'échantillon, et s'ils sont hors plage, l'instrument re-mesure automatiquement l'échantillon à la dilution appropriée supérieure (1/100) ou inférieure (1/1). Les échantillons de très haute concentration peuvent nécessiter d'autres dilutions manuelles hors ligne.

La plage des résultats rapportables pour les dosages SPAPLUS® Freelite  $\kappa$  et  $\lambda$  est de 0,4 à 180000 mg/L et de 0,45 à 165000 mg/L, respectivement. La bonne sensibilité analytique des dosages Freelite SPAPLUS® a été démontrée par Matters et al. (92). Les caractéristiques de performance de Freelite® sur le SPAPLUS® sont résumées dans le tableau III.

**Tableau III.** Caractéristiques de performance de dosage Freelite® sur le Binding site SPAPLUS®.

	CLL-κ	CLL-λ
Plage	4,0 – 180,0 mg/L	4,5 – 165,0 mg/L
Dilution standard	1+9	1+9
Sensibilité (dilution initiale)	0,4 mg/L	0,5 mg/L
Temps de test	15 min	15 min

**Précision :** La précision du test freelite™ sur le SPAPLUS® a été évaluée à l'aide de 3 liquides témoins dont la concentration variait de 7,2 mg/L à 142,1 mg/L. L'imprécision maximale intra et inter-dosages pour les dosages κ ou λ Freelite était de 3,4% et 4,2%, respectivement. Une étude indépendante de Ludwig et al. (93) ont rapporté une précision intra-série de 2,5-7% et 2,2-2,3% pour les dosages Freelite κ et λ CLL, respectivement. Les auteurs ont également évalué les performances au jour le jour et identifié une précision de 3,3-3,6% et 5,3-6,1% pour Freelite κ et λ, respectivement. Ces résultats ont été reproduits par un certain nombre d'autres laboratoires (91) (94).

**Excès d'antigène :** Le dosage Freelite SPAPLUS® contient des paramètres d'excès d'antigène, qui sont basés sur la surveillance de la cinétique de la réaction, en utilisant la même méthode que l'Optilite®.

Les échantillons détectés comme étant en excès d'antigène sont automatiquement signalés par l'instrument avec un indicateur prozone et l'échantillon est automatiquement ré-dosé à la dilution la plus élevée. Cha et coll. (95) ont observé que l'algorithme SPAPLUS® pour la détection de l'excès d'antigène identifiait correctement les échantillons en excès d'antigène.

✓ **Binding site™ : MININEPHPLUS™**

Le MININEPHPLUS™ est un petit néphélomètre semi-automatisé (figure 18).



**Figure 18.** Binding site™ MININEPHPLUS™ (96)

**Précision :** La précision sur la MININEPHPLUS™ a été évaluée à l'aide de 3 liquides témoins dont la concentration variait de 4,7 mg/L à 71,8 mg/L. L'imprécision maximale intra et inter-dosages pour les dosages des CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  Freelite était de 7,3% et 5,1%, respectivement (97) (98).

**Excès d'antigène :** La cinétique de réaction MININEPHPLUS™ peut être utilisée pour évaluer le risque d'excès d'antigène, qui compare les résultats aux limites fixées par le test d'une vaste bibliothèque de myélomes. Tout résultat avec une cinétique de réaction atypique donnera un indicateur «XS mg/L» et devra être retesté à une dilution d'échantillon plus élevée pour éliminer l'excès d'antigène.

Tous les échantillons doivent être analysés en premier à la dilution standard du test 1/20, ce qui donne une plage de mesure approximative de 4,91 à 98,3 mg/L. Pour les échantillons mesurant au-dessus de la limite supérieure de la courbe avec une dilution de l'analyseur de 1/20, une série de dilutions doit être utilisée pour minimiser l'utilisation des réactifs (97) (98).

✓ Beckman Coulter™ : IMAGE™/IMAGE 800™ et Beckman AU®

Le dosage néphélométrique de Beckman Coulter™ mesure les chaînes légères libres et liées dans le sérum et l'urine. Il mesure la vitesse d'augmentation de la diffusion de lumière à partir de particules en suspension dans la solution résultant de complexes formés au cours d'une réaction antigène-anticorps (figure 19).



**Figure 19.** Beckman Coulter™ IMAGE 800™ (99).

C'est un Dosage de 10 minutes avec des plages de mesure d'environ 30 fois produites à l'aide d'un ensemble de six calibrateurs.

Les échantillons donnant des résultats initiaux supérieurs à la plage de mesure doivent être pré-dilués manuellement et répétés avec l'analyse suivante. Les échantillons avec des résultats inférieurs peuvent être répétés dans une analyse distincte à la fin de la session d'analyse, après une modification mineure des paramètres.

Tous les échantillons doivent d'abord être testés à la dilution standard de 1/10, donnant une plage de mesure approximative de 6,0 à 180 mg/L. Cela permet une sensibilité de 3,0 mg/L sur les échantillons de sérum en utilisant une dilution d'échantillon au 1/5 et une sensibilité de

0,6 mg/L sur des échantillons d'urine purs. Pour les échantillons mesurant au-dessus de la limite supérieure de la courbe avec une dilution d'instrument de 1/10, des séries de dilutions doivent être utilisées pour minimiser l'utilisation des réactifs (100) (101).

**Sensibilité :** La sensibilité pour le dosage de la chaîne légère kappa dans le sérum et dans l'urine est de 3 mg/L et 0,6 mg/L respectivement. Tandis que la sensibilité pour le dosage de la chaîne légère lambda dans le sérum et dans l'urine est de 2,4 mg/L et 0,48 mg/L respectivement (102).

**Précision :** Trois préparations de sérum contenant différentes concentrations de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  ont été testées. Chaque valeur donnée a été calculée à partir de 10 mesures effectuées sur le même essai.

L'imprécision maximale intra-dosage pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 8,10% et 6,8%, respectivement. Et l'imprécision maximale inter-dosages pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 14,99% et 11,65%, respectivement (100) (101).

✓ **Roche™ : Cobas Integra® 400/800, Cobas® 6000/8000 et Hitachi® 911/912/917/ Modular P®.**

Ces automates permettent l'évaluation de la concentration des CLL solubles par turbidimétrie. Un faisceau de lumière passe à travers la cuvette et, au fur et à mesure que la réaction antigène-anticorps se déroule, la lumière passant à travers la cuvette est diffusée de plus en plus à mesure que des complexes immuns insolubles se forment. La diffusion de la lumière est surveillée en mesurant la diminution d'intensité du faisceau de lumière incident.

Roche Cobas Integra® et cobas® sont des analyseurs fermés (figure 20).



**Figure 20.** Roche™ Cobas Integra® 400 plus (103).

C'est un dosage de 10 minutes sur Cobas integra®. Tous les échantillons doivent être analysés en premier à la dilution initiale du test au 1/10, ce qui donne une plage de mesure approximative de 2,9 à 127 mg/L (104) (105).

**Précision :** Cobas® : Trois préparations de sérum contenant différentes concentrations de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  ont été testées. Chaque valeur donnée a été calculée à partir de 20 mesures effectuées sur le même essai. L'imprécision maximale intra-dosage pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 5,8% et 5,5%, respectivement. Et l'imprécision maximale inter-dosages pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 2,7% et 10,1%, respectivement (104) (105).

Hitachi® : Trois préparations de sérum contenant différentes concentrations de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  ont été testées. Chaque valeur donnée a été calculée à partir de 10 mesures effectuées sur le même essai. L'imprécision maximale intra-dosage pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 8,02% et 3,67%, respectivement. Et l'imprécision maximale inter-dosages pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 7,32% et 9,50%, respectivement (106) (107).

**Excès d'antigène :** L'Integra® surveille la cinétique de réaction initiale de chaque échantillon et compare les résultats aux limites de réaction fixées en testant une vaste bibliothèque de myélomes. Les échantillons détectés comme étant en excès sont signalés par «HAUTE ACTIVITÉ» dans les résultats et doivent être mesurés à nouveau à une dilution plus élevée pour éliminer l'excès d'antigène (104).

✓ **Siemens : BN™ II, BN ProSpec® et ADVIA® 1650/1800/2400**

BN™ II et BN ProSpec® sont des marques commerciales de Siemens Healthcare Diagnostics Inc, ces analyseurs Siemens© permettent l'évaluation de la concentration de la CLL soluble par néphélométrie, tandis que l'Advia® est une marque de la même société permettant un dosage turbidimétrique des CLL (figure 21).



**Figure 21. Siemens™ BN™ II (108)**

C'est un dosage de 18 minutes (15 minutes pour ADVIA®). La dilution initiale de l'échantillon de 1/100 est suivie d'une série d'analyses répétées automatiquement, lorsque les concentrations sont au-dessus ou en dessous des plages déclarables pour les dilutions données. Le BN®II, le ProSpec® et l'ADVIA® continueront le processus sans autre intervention de l'utilisateur jusqu'à ce qu'un résultat valide soit obtenu.

Les échantillons de sérum et d'urine doivent d'abord être dosés à la dilution standard de 1/100 de l'échantillon, ce qui donne une plage de mesure approximative de 5,9 à 190 mg/L pour CLL- $\kappa$  et de 5,0 à 160 mg/L pour CLL- $\lambda$ . Cela permet une sensibilité de 0,3 mg/L pour CLL- $\kappa$  et 0,25 mg/L pour CLL- $\lambda$  sur les échantillons de sérum en utilisant une dilution d'échantillon au 1/5 et de 0,06 mg/L pour CLL- $\kappa$  et 0,05 mg/L pour CLL- $\lambda$  sur des échantillons d'urine purs. Une précipitation non spécifique peut se produire avec des dosages sériques purs, donnant des résultats artificiellement élevés ou signalés. Les échantillons de LCR doivent être dosés purs, donnant une plage de mesure approximative de 0,05 à 1,6 mg/L et une sensibilité de 0,05 mg/L (109) (110) (111) (112).

**Précision :** BN®II et BN ProSpec®: Trois préparations de sérum contenant différentes concentrations de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  ont été testées. Chaque valeur donnée a été calculée à partir de 10 mesures effectuées sur le même essai. L'imprécision maximale intra-dosage pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 4,84% et 8,40%, respectivement. Et l'imprécision maximale inter-dosages pour les dosages de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  était de 8,38% et 7,45%, respectivement (109) (110) (111) (112).

Une synthèse des caractéristiques des différents automates utilisant la technique Freelite™ traités dans cette partie est proposée dans le tableau IV.

**Tableau IV.** Comparaison entre les différents instruments utilisant la technique Freelite™.

Société		Binding site™			Beckman Coulter™		Roche™			Siemens™		
Automate	Oprlite®	SPAPLUS®	MININEPH LUS®	IMMAGE®	Beckman AU®	Integra®	Cobas®	Hitachi®	BN™II	BN ProSpec®	ADVIA®	
Echantillon	Sérum, urine, plasma, LCR	Sérum, urine, plasma, LCR	Sérum, urine	Sérum, urine	Sérum, urine	Sérum	Sérum	Sérum, urine	Sérum, urine, LCR	Sérum, urine	Sérum	
Dosage	Turbidimétrie	Turbidimétrie	Néphélométrie	Turbidimétrie	Turbidimétrie	Turbidimétrie	Turbidimétrie	Turbidimétrie	Néphélométrie	Néphélométrie	Turbidimétrie	
Domaine de linéarité (mg/L)	κ	0,6 – 1270	0,4 – 1800	3,2 – 7240	0,8 – 562*	3 – 1500	400/400plus : 0,6 – 12700* 800:0,6 – 1270	0,8 – 562	0,8 – 562	0,3 – 15200	0,3 – 15200	0,8 – 562
	λ	1,3 – 1390	0,45 – 1650	4,91 – 9830	0,7 – 748*	3 – 1500	400/400plus : 1,3 – 13900* 800:1,3 – 1390	0,7 – 748	0,7 – 748	0,25 – 12800	0,25 – 12800	0,7 – 748
CV de précision	κ	3,30%	3,40%	7,30%	8,10%	1,87%	5,80%	5,80%	8,02%	4,84%	4,84%	-
	λ	3,20%	4,20%	5,10%	6,80%	-	5,50%	5,50%	3,67%	8,40%	8,40%	-
Sensibilité	κ	0,6 mg/L	0,4 mg/L	3,2 mg/L	3 mg/L	3 mg/L	0,6 mg/L	0,8 mg/L	0,8 mg/L	0,3 mg/L	0,3 mg/L	0,8 mg/L
	λ	1,3 mg/L	0,45 mg/L	4,91 mg/L	2,4 mg/L	3 mg/L	0,7 mg/L	0,7 mg/L	0,7 mg/L	0,25 mg/L	0,25 mg/L	0,7 mg/L

### 2.1.2. Sebia FLC™ assays

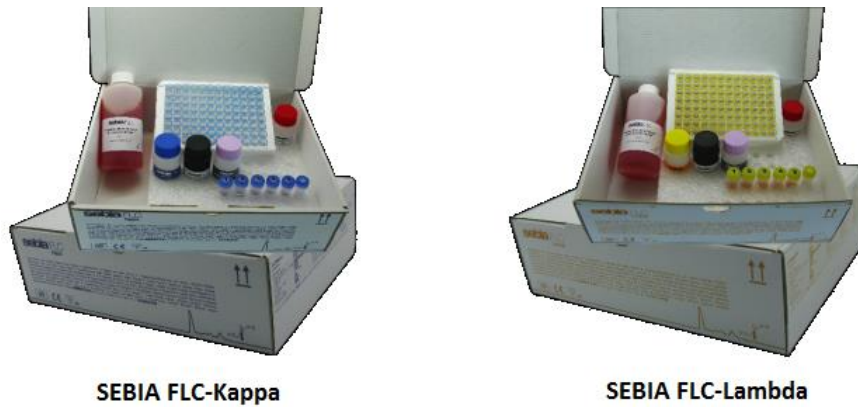
En 2016, Sebia® a développé un nouveau test basé sur la technologie de dosage immuno-enzymatique (ELISA), automatisé sur la plateforme das AP22 ELITE ELISA (Figure 22).



**Figure 22.** Plateforme das AP22 ELITE (113)

#### 2.1.2.1. Principe

Les kits Sebia FLC-Kappa et Sebia-FLC Lambda (Figure 23) utilisent la technique ELISA sandwich (enzyme-linked immunosorbent assay) et permettent la mesure des CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  dans le sérum humain, cette quantification est basée sur la réactivité des anticorps polyclonaux humains anti-CLL- $\kappa$  ou anti-CLL- $\lambda$  conjugués à une peroxydase (113). Les anticorps sont obtenus à partir du lapin.



**Figure 23.** Image montrant les kits de Sebia FLC assay™ (113).

### **2.1.2.2. Avantage**

Dans une étude comparative entre le test Sebia FLC™ et le test Freelite™ (114), une concordance de résultats a été observé mais pas d'interchangeabilité entre ces résultats, et les résultats du Sebia FLC™ ont été plus proches de l'estimation du pic par électrophorèse que Freelite™. Cette différence significative a été observée principalement pour les échantillons ayant des concentrations élevées de CLL.

Le test Sebia FLC™ apporte des améliorations analytiques par rapport aux techniques de néphélogétrie et de turbidimétrie existantes, mais davantage de recherches scientifiques sont nécessaires pour valider cliniquement ce test sur différentes populations de patients (113).

### **2.1.2.3. Instruments utilisant la technique Sebia FLC™**

Les kits Sebia FLC Kappa et Sebia FLC Lambda permettent la mesure des chaînes légères libres kappa et lambda dans le sérum humain, soit en utilisant une technique manuelle ou une technique entièrement automatisée sur le das AP22 ELITE ELISA (115).

Caracteristiques analytiques (114) :

- Précision intra-individuelle : CLL- $\kappa$  : 3,3% - 7,7% / CLL- $\lambda$  : 9,6% - 10,1%
- Précision intra-individuelle : CLL- $\kappa$  : 5,8% - 14,6% / CLL- $\lambda$  : 5,3% - 12,4%
- Pas d'effet excès d'antigène
- Sensibilité : CLL- $\kappa$  : 2,2–98 mg/L / CLL- $\lambda$  : 2,2–87 mg/L

## 2.2. Dosage des CLL mc par des anticorps monoclonaux

Deux tests utilisant des anticorps monoclonaux ont été développés depuis 2011 dans le but de concurrencer le test Freelite®, Le N latex FLC assay® (Siemens©) et le test Seralite® (Abingdon Health©).

### 2.2.1. N latex FLC assay®

Le N latex FLC assay® est commercialisé par Siemens© depuis 2011 (figure 24).



**Figure 24.** Image montrant les kits de N latex FLC assay™ lambda et kappa (114).

### **2.2.1.1. Principe**

La technique N Latex Free Light Chain™ assays, contrairement à FreeLite™, s'effectue uniquement par néphélométrie et utilise des anticorps monoclonaux adsorbés sur des particules de polystyrène (figure 14) dirigés contre les CLL- $\kappa$  et les CLL- $\lambda$  (116).

Les anticorps monoclonaux anti-CLL- $\kappa$  et anti-CLL- $\lambda$  sont obtenus en utilisant des protéines de Bence Jones purifiées à partir d'urine provenant de patients atteints de MM. Les souris BALB/c ont été immunisées pour produire des anticorps monoclonaux contre CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$ . Après purification de ces anticorps, ils ont été couplés par covalence aux particules de polystyrène et des lots d'anticorps monoclonaux couplés ont été mélangés ensemble (117). Cela a permis de s'assurer que le réactif final ne comprenait pas un, mais une collection d'anticorps monoclonaux, augmentant la capacité de détecter les protéines monoclonales.

### **2.2.1.2. Avantages**

Le test FreeLite™ et le N latex FLC™ assay ne sont pas interchangeables dans le suivi thérapeutique en raison d'une mauvaise correspondance entre les deux tests (81 % pour CLL- $\kappa$  et 74 % pour CLL- $\lambda$ ) (118). Cependant, En comparaison avec le test FreeLite™, la trousse N latex FLC™ présente l'avantage de mieux se prémunir contre le risque analytique de sous-estimation des résultats lié à l'effet crochet (119) ; qui correspond à la non détection, dans certains cas, de l'excès d'antigène, avec le risque de rendre un résultat faussement bas par rapport à la concentration réelle.

L'utilisation du protocole de pré-réaction intégré permet la détection d'un effet crochet à haute dose avant de commencer la réaction; cette protection contre l'excès d'antigène est particulièrement importante pour des analytes comme les CLL, où la concentration peut varier sur une large gamme (117).

Il a également été suggéré que les tests basés sur les anticorps monoclonaux peuvent conduire à une variation réduite de la production lot à lot des réactifs, assurant ainsi l'uniformité des performances analytiques nécessaires à la surveillance des patients (77).

Contrairement aux tests basés sur des anticorps monoclonaux, il a été observée avec des tests basés sur des anticorps polyclonaux, une plus grande probabilité de réactivité croisée avec des chaînes légères liées (80).

### **2.2.1.3. Limites**

Une étude portant sur 40 patients a comparé le N latex FLC assay® au test Freelite®. Elle a montré une faible corrélation pour la mesure des CLL et un coefficient de concordance faible de 0,52 pour le ratio  $\kappa/\lambda$ , et une sensibilité de détection inférieure au test Freelite® (41% contre 62,5%) lorsque le ratio  $\kappa/\lambda$  obtenu par chacune des méthodes était comparé aux résultats d'EPS, EPU, et IF sérique et urinaire (120).

D'autres études suggèrent que les tests basés sur des anticorps polyclonaux détectent une proportion plus élevée de CLL monoclonal que les tests basés sur des anticorps monoclonaux (118) (119). Cela du à la diversité structurale des CLL et de la région limitée sur chaque molécule qui peut potentiellement être liée par des antiserums spécifiques aux CLL, Par conséquent, pour que le test basé sur des anticorps monoclonaux puisse mesurer tous les clones CLL, il doit utiliser soit un seul anticorps qui cible un épitope commun à tous les CLL, soit utiliser une combinaison d'anticorps qui, entre eux, englobent tous les diversité CLL.

### **2.2.1.4. Instruments utilisant la technique N latex FLC™**

Les tests N latex FLC™ sont conçus pour être exécutés sur les analyseurs néphélométriques de protéines plasmatiques Siemens Healthcare Diagnostics Inc. BN®II, BN ProSpec® et Atellica® NEPH 630 (figure 21).

Le tableau V résume les caractéristiques de différents automates utilisant la technique N latex FLC™

**Tableau V.** Caractéristiques des différents analyseurs Siemens© utilisant la technique N latex FLC™.

		BN®II (121) (122)	BN ProSpec® (123) (122)	Atellica® NEPH 630 (124) (122)
Principe		Néphélémétrie	Néphélémétrie	Néphélémétrie
Type de prélèvement		Sérum, plasma, LCR, urine	Sérum, plasma, LCR, urine	Sérum, plasma, LCR, urine
Débit d'échantillons		env. 130 tests / heure selon le mélange de test.	env. 65 tests / heure selon le mélange de test.	env. 65 tests / heure selon le mélange de test.
Dilution des échantillons		1 : 1 à 1 : 40,000	1 : 1 à 1 : 32,000	1 : 1 à 1 : 32,000
CV de précision	κ	3,7–5,2%	3,6–6,9%	-
	λ	6,2–9,1%	4,3– 7,7%.	-
Plage de mesure	κ	0.17 – ≥ 2,000 mg/L		
	λ	0.47 – ≥ 6,000 mg/L		

### 2.2.2. Test Seralite™

Seralite™ (Abingdon Health, York, UK) est un appareil de diagnostic rapide et portable permettant la mesure quantitative simultanée de la CLL- $\kappa$  et de la CLL- $\lambda$  sérique. Seralite™ génère des résultats dans un délai rapide et est conçu pour accélérer la prise de décision clinique près du patient. Il est commercialisé depuis 2016 par Abingdon Health© (figure 26).



**Figure 25.** Abingdon Health© Seralite™ (125).

#### 2.2.2.1. Principe

Seralite® est un dispositif à flux latéral (LFD) pour la quantification des CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  dans le sérum, il est basé sur le principe de la compétition entre les CLL dans un échantillon de sérum et les antigènes CLL purifiés immobilisés pour la liaison aux anticorps monoclonaux anti-CLL marqués par des particules d'or. La méthode de détection se fait par technique ELISA. Après une période d'incubation de 10 min à température ambiante, le signal produit à partir des anticorps monoclonaux marqués à l'or liés aux Ag des CLL immobilisés sur la membrane LFD est inversement proportionnel à la quantité de CLL dans l'échantillon; le lecteur Seralite® LFD convertit le signal en mg/L de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$ , et calcule le rapport  $\kappa/\lambda$  (126).

Les anticorps monoclonaux anti-CLL- $\kappa$  et anti-CLL- $\lambda$  sont obtenus à partir des souris BALB/c, qui ont été immunisées avec une CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  purifiée à partir d'urine humaine contenant de la protéine de Bence Jones ou des fragments d'immunoglobuline. Des clones de cellules productrices d'anticorps monoclonaux spécifiques de la CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  ont été obtenus. Les anticorps monoclonaux anti-CLL ont été sélectionnés sur la base de la réactivité avec tous les antigènes CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  dans un large panel de différents antigènes CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  contenant une variété de régions variables et constantes, et d'une réactivité croisée minimale avec un panel d'immunoglobulines entières purifiées, l'albumine et d'autres protéines sériques humaines sélectionnées (127).

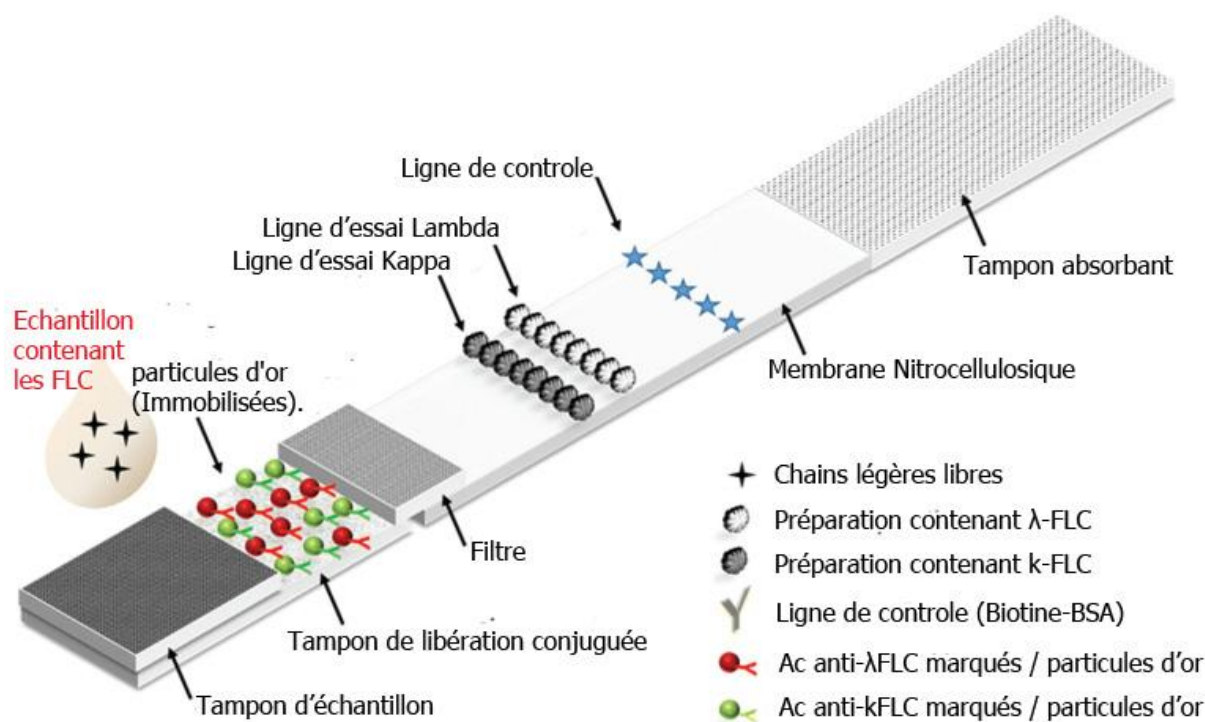
#### **2.2.2.2. Protocole**

Le sérum est mélangé doucement avec le tampon d'application d'échantillon fourni avec le kit Seralite®. Comme illustré dans la figure 26, une partie est ensuite ajoutée au dispositif Seralite®, où elle s'écoule initialement à travers un tampon d'échantillon, puis sur un tampon de libération conjuguée contenant des anticorps monoclonaux anti-CLL- $\kappa$  et anti-CLL- $\lambda$  marquées par des nanoparticules d'or.

Ces anticorps monoclonaux se réhydratent et, avec l'échantillon dilué, s'écoulent à travers une membrane d'essai. À la fin de la membrane d'essai se trouvent deux lignes d'essai, qui contiennent du CLL- $\kappa$  ou du CLL- $\lambda$  purifié.

L'écoulement de l'échantillon et des anticorps monoclonaux marqués à l'or est autorisé à se poursuivre pendant 10 minutes, période pendant laquelle toutes les CLL dans l'échantillon se lient à son anticorps monoclonal marqué à l'or respectif; plus la concentration de CLL est élevée dans l'échantillon, moins l'anticorps monoclonal marqué à l'or se liera à la ligne de test, et vice versa.

L'intensité de la ligne de la liaison est déterminée par le lecteur Seralite™ qui chronomètre également l'incubation, calcule la concentration de CLL dans l'échantillon (à partir d'une courbe d'étalonnage stockée) et calcule le rapport  $\kappa/\lambda$  (126) (figure 26).



**Figure 26.** Vue schématique d'un appareil Seralite® (125).

### 2.2.2.3. Avantages

- ✓ La courbe d'étalonnage initiale de Seralite™ pour les CLL-κ et les CLL-λ est de 2,5 à 200 mg/L. Si le niveau de CLL dans un échantillon est supérieur à 200 mg/L, une nouvelle dilution de l'échantillon de un sur 20 étend la gamme supérieure du test à 4000 mg/L. Cette large gamme d'étalonnage Seralite®, combinée à l'élimination de l'excès d'Ag, réduit la nécessité d'une dilution fréquente des échantillons et est conçu pour améliorer le flux de travail en laboratoire (126).
- ✓ Effet excès d'antigène réduit : Seralite™ utilise un format d'inhibition compétitif, ce qui signifie que lorsque les niveaux de CLL augmentent, les sites de liaison disponibles sur l'anticorps monoclonal marqué par l'or deviennent saturés et l'anticorps monoclonal est empêché de se lier à l'antigène CLL immobilisé sur la membrane; un faux négatif dû à un excès d'antigène n'est donc pas possible (128).
- ✓ dépistage CLL rapide : quantification simultanée de la CLL-k et la CLL-λ en 10 min (129).

- ✓ Interférences absentes : aucune interférence significative n'a été observée lors de l'évaluation des agents d'interférence courants, y compris le cholestérol, les triglycérides, la bilirubine et l'hémoglobine (126) (127).
- ✓ Concordance clinique : En comparaison au test Freelite™ dans le myélome à chaîne légère, les valeurs absolues de CLL étaient différentes mais avec une concordance proche de 100% au diagnostic et dans le suivi de la réponse thérapeutique avec la détermination de seuils propres (ex. augmentation de la dCLL > 30 mg/L pour définir la rechute avec Seralite™ et > 200 mg/L avec Freelite™) (130).

#### **2.2.2.4. Limites**

Il existe des différences significatives entre CLL mesuré par ce test ELISA (Seralite™) utilisant des anticorps monoclonaux par rapport aux tests N Latex™ et Freelite™. En particulier, le test Seralite™ semble mal réagir avec les chaînes légères amyloïdogènes lambda et il ne convient pas pour le diagnostic ou la surveillance de l'amylose AL. Il se peut qu'une combinaison d'anticorps monoclonaux anti-CLL soit nécessaire pour améliorer la détection des clones lambda par l'analyse (131).

Pour les mêmes raisons que précédemment, les tests Seralite®, Freelite® et le N latex FLC assay® ne sont pas interchangeables dans le suivi de la réponse thérapeutique (126).

#### **2.2.2.5. Instrumentation Seralite®**

Seralite® utilise le système de lecture de test à flux latéral ADxLR5®, où les résultats sont présentés à l'écran en mg/L avec le rapport  $\kappa/\lambda$  calculé (figure 26).

Ce test est destiné aux laboratoires d'analyses médicales qui ont des faibles ou moyennes demandes de tests CLL. Il s'adresse également aux laboratoires qui envoient ce type de demandes à des laboratoires référents, pouvant ainsi occasionner des retards dans la réception des résultats d'analyses.

Caractéristiques analytiques (126) (129):

- Large plage de mesure : 2,5 - 200 mg / L
- Précision : <10%
- Sans effet excès d'antigène.

Le tableau VI résume l'ensemble des caractéristiques analytiques des techniques de dosage des CLL traité dans cette partie.

**Tableau VI.** Résumé des caractéristiques analytiques essentielles des techniques actuelles de dosage des CLL.

Technique	Freelite™ (1) (7) (6)	N latex FLC™ (117) (132) (133)	Seralite™ (127) (129)	Sebia FLC™ (113) (134)
Principe	Immuno-néphélométrie ou immuno-turbidimétrie	Immuno-néphélométrie	ELISA, inhibition compétitive	ELISA
Anticorps utilisés	Polyclonaux	Monoclonaux	Monoclonaux	Polyclonaux
Fournisseur	The Binding Site©	Siemens©	Abingdon Health ©	Sebia©
Automates	- Oplitite® - SPAPLUS® - MININEPHPLUS® - IMAGE® - Beckman AU® - Integra® - Cobas® - Hitachi® - BN®II - BN ProSpec® - ADVIA®	- BN®II - BN ProSpec® - Atellica®NEPH 630	- Seralite®	- AP22 ELITE ELISA
Sensibilité (mg/L)	$\kappa$ : 0.05 $\lambda$ : 0.05	$\kappa$ : 0.17 $\lambda$ : 0.47	$\kappa$ : 2.2 $\lambda$ : 2.2	$\kappa$ : 0.5 $\lambda$ : 0.5
Précision (CV)	<20%	<5–7%	9–12%	k:1.9–7.6% $\lambda$ : 6.0–6.3%

CV : coefficient de variation.

## 2.3. Perspectives d'avenir pour le dosage des CLL mc

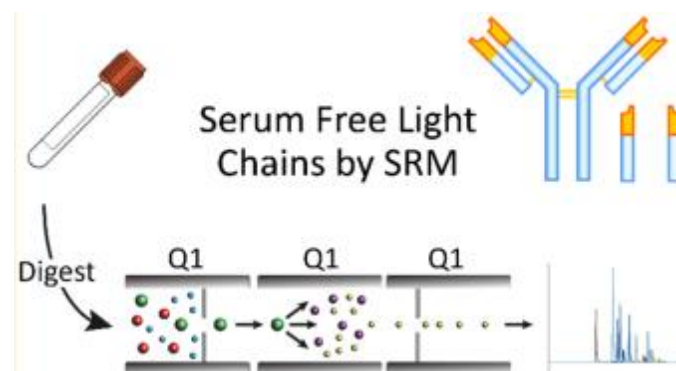
### 2.3.1. Spectrométrie de masse

Un article récent étudie la possibilité d'utiliser la spectrométrie de masse (SM) pour mesurer la CLL et les immunoglobulines intactes (135).

Les résultats, bien que préliminaires, sont très prometteurs car la méthode ne semble pas sujette des problèmes analytiques bien connus affectant les méthodes immunologiques pour la détermination des CLL, comme l'excès d'Ag et la non-linéarité. Une fois les validations supplémentaires effectuées, la méthode SM pourrait être développée comme méthode de référence pour la mesure des CLL et/ou utilisée pour l'analyse des échantillons difficiles (135).

#### 2.3.1.1. Principe

Des peptides de référence marqués par des isotopes stables sont ajoutés aux échantillons de sérum pour quantification par la SM en tandem. L'utilisation d'ensembles de peptides redondants permet des mesures de contrôle de la qualité lors de l'analyse des données. Les mesures sur le sérum fournissent des informations sur les immunoglobulines intactes, mais l'appauvrissement de ces molécules intactes du sérum pendant le traitement des échantillons permet la quantification des CLL (135) (figure 27).



**Figure 27.** Quantification des FLC par spectrométrie de masse en tandem (135).

SRM : selected reaction monitoring

### **2.3.1.2. Avantages**

Les concentrations des CLL mesurées avec la SM en tandem étaient comparables à celles obtenues par néphélométrie et montraient un excellent facteur de corrélation ( $r^2 > 0,99$ ). Dans les échantillons avec des niveaux élevés de CLL, les données de cette méthode étaient plus cohérentes avec l'EPS que les données néphéométriques (135).

La SM en tandem n'est pas affectée par l'excès d'antigène. Ces limites inférieures de quantification étaient de 3,8 et 2,7 mg/L pour CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  respectivement.

Les erreurs dues aux séquences polymorphes ont été évitées par comparaison de paires de peptides redondantes. L'application d'un marquage isotopique stable combiné à la SM en tandem peut surmonter de nombreux problèmes analytiques potentiels actuels de l'analyse de CLL sérique (135).

### **2.3.2. Dosage immunoturbidimétrique : Bioci©**

En 2020, de nouveaux tests immunoturbidimétriques à base d'anticorps polyclonaux ont été développés pour quantifier les CLL urinaires (Assay CLL KAPPA System 02 et Assay CLL LAMBDA System 02; Bioci©, Airasca, Italie). Selon les fiches techniques des kits, ces tests reconnaissent les déterminants antigéniques cachés dans les CLL- $\kappa$  et les CLL- $\lambda$  qui ne sont accessibles que lorsque les chaînes légères sont sous forme libre ; cette fonctionnalité garantit la détection des CLL seuls. Les kits ont une plage de mesure déclarée de 3 à 48 mg/L, avec une limite de détection de 3 mg/L (136).

#### **2.3.2.1. Avantages**

Les tests immunoturbidimétrique Bioci© indiquent s'il y a un excès d'antigène avant la quantification des CLL, ce qui entraîne la dilution des échantillons avant l'analyse. Cette caractéristique surmonte un facteur limitant des méthodes immunochimiques et réduit ainsi le risque de résultats faussement négatifs dus à un excès d'Ag (136).

la nouvelle méthode immunoturbidimétrique Bioci© pour quantifier les CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  dans les échantillons d'urine a un accord presque parfait avec l'évaluation par électrophorèse et par

immunofixation. Et sa précision diagnostique de 93% et 98% pour les tests CLL-κ et CLL-λ, respectivement, dans la cohorte de tests (136).

#### **2.3.2.2. Limites**

Le test immunoturbidimétrique Bioci© a une performance inférieure dans la détection des CLL-κ que des CLL-λ, et il n'évalue pas la clonalité des protéines (136).

De plus, les tests immunoturbidimétriques Bioci© ont des taux relativement élevés de faux négatifs: 4,3% dans l'évaluation CLL-λ et 12,1% dans l'analyse CLL-κ dans la cohorte de tests. Et les valeurs de référence normales ne sont pas encore fournies, car ces tests ne sont pas encore commercialisés (136).

### **3. Contrôle de la qualité**

Le contrôle de la qualité dans un laboratoire d'analyse médicale est le processus statistique utilisé pour contrôler et évaluer le processus analytique qui produit les résultats des patients. Ce contrôle est une démarche obligatoire au sein du laboratoire exigée par le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA). Qui regroupe un ensemble d'obligations et de règles de fonctionnement. Il représente le référentiel qualité obligatoire pour les laboratoires de biologie médicale au Maroc.

#### **3.1. Contrôle interne de la qualité**

Le contrôle interne de la qualité (CIQ) permet la surveillance constante et la documentation de la qualité des processus analytiques. Il doit garantir des résultats d'analyses fiables, qui seront utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques (137).

##### **3.1.1. Les différents programmes de CIQ**

###### **✓ Probioqual : Biochimie sérique CQPS**

Probioqual™ propose un programme de contrôle des analyses de biochimie des protéines sérique, ce programme comprend plusieurs analytes parmi lesquels les CLL.

Les échantillons de contrôle sont sériques d'origine humaine sous forme lyophilisés (138).

###### **✓ Bio-Rad**

Bio-Rad™ propose 3 programmes de contrôle de la qualité interne couvrant les CLL (figure 28) (139) (140) (141);

- ✓ InteliQ Immunology Control : sérique, d'origine humaine et sous forme liquide.
- ✓ Liquichek Immunology Control : sérique, d'origine humaine et sous forme liquide.
- ✓ Lyphocheck Immunology Plus Control : sérique, d'origine humaine et sous forme lyophilisée.



**Figure 28.** les programmes de controle Bio-Rad™ (139) (140) (141)

### 3.1.2. Les objectifs analytiques

Une étude publiée en 2012 (142) a permis d'établir les objectifs analytiques du dosage des CLL mc. Ces objectifs sont basés sur la variabilité biologique. Dans cette étude, le dosage des CLL a été déterminé en utilisant la technique Freelite™ sur l'analyseur immunoturbidimétrique SPAPLUS®.

Le tableau VII résume les résultats obtenus en terme de concentrations moyennes, variations analytiques (CVa), intra-individuelles (CVi) et inter-individuelles (CVG) et le RCV (Reference change value), ainsi que les objectifs analytiques minimaux, souhaitables et désirables pour l'imprécision, le biais et l'erreur totale.

**Tableau VII.** La variation biologique du dosage des CLL mc selon Braga et al. (148).

Paramètres	Moyenne (mg/L)	CVa (%)	CVi (%)	CVg (%)	RCV (%)	Imprécisions (%CV)			Biases (%)			Erreur total (%)		
						Minimale	Désirable	Souhaitable	Minimale	Désirable	Souhaitable	Minimale	Désirable	Souhaitable
CLL-κ	7,96	1,2	8,1	14,1	22,6	≤6,0	≤4,0	≤2,0	≤±6,1	≤±4,1	≤±2,0	≤±16,1	≤±10,7	≤±5,4
CLL-λ	8,51	0,9	7	27,5	19,6	≤5,3	≤3,5	≤1,7	≤±10,6	≤±7,1	≤±3,5	≤±19,3	≤±12,9	≤±6,4
Ratio κ/λ	0,98	1,7	4,5	15,3	13,4	≤3,4	≤2,3	≤1,1	≤±6,0	≤±4,0	≤±2,0	≤±11,6	≤±7,7	≤±3,9

CVa : Variations analytiques moyennes estimées. CVi : Variations intra-individuelles. CVg : Variations inter-individuelles. RCV : Reference change value (Probabilité de changement entre les résultats).

Les résultats de cette étude constituent une base intéressante permettant de fixer les performances analytiques souhaitables pour tout laboratoire de biologie réalisant le dosage des CLL au sein de sa structure.

Pour la surveillance des dyscrasies plasmocytaires, la connaissance du RCV est d'une importance cruciale pour l'évaluation de la probabilité du changement significatif des résultats obtenus à partir de l'analyse des échantillons chez le même individu. D'après les données de cette étude, un RCV moyen d'environ 20 % peut être considéré comme un objectif pour orienter la prise de décision clinique, ce RCV de 20% a été obtenu à partir de la variabilité intra-individuelle chez des personnes ne présentant pas de dyscrasies plasmocytaires.

Selon une étude publiée précédemment (143), un RCV plus élevé (54,5%) a été calculé à partir de la variabilité biologique des CLL mc chez des patients atteints de dyscrasie plasmocytaires. Cette différence est expliquée par le fait que cette maladie amplifie de façon significative la fluctuation de cet analyte autour des valeurs de référence.

### **3.2. Contrôle externe de la qualité**

Il est important que tous les laboratoires participent à des programmes d'évaluation externe de qualité (EEQ) pour une meilleure fiabilité de leurs résultats. Il existe plusieurs programmes d'EEQ permettant ce contrôle inter-laboratoire.

Les EEQ des dosages sériques et urinaires des CLL sont proposées par les organismes figurant dans le tableau VIII.

**Tableau VIII.** Liste des différents programmes d'EEQ incluant le dosage des CLL mc **(144)**  
**(145) (146).**

Matrice	Organisme	Nom du programme couvrant l'examen	nombre de laboratoire inscrit au programme	nombre de laboratoire français inscrit au programme	Nombre d'échantillons par an
SANG	BINDING SITE	Paraprotéines Sériques, référence QA003	300	15	4
	BIO-RAD (EQAS)	Serum Proteins	-	5	12
	PROBIOQUAL	Biochimie Sérique (CQH)	847	834	-
	PROBIOQUAL	Electrophorèse des protéines sériques et immunotypage (EPS)	493	488	8
	RANDOX (RIQAS)	Specific Proteins	-	6	12
	UK NEQAS	Monoclonal Protein Identification	380	-	6
	CAP	SFLC	-	-	6
	INSTAND EQAS	Gammopathies	120	-	4
URINE (Protéines de Bence Jones,)	BINDING SITE	Paraprotéines Urinaires, référence QA006	-	29	4
	CTCB	Protéine Bence Jones	-	116	2

PROBIOQUAL : Centre lyonnais d'étude pour la promotion de la biologie et du contrôle de qualité, EQAS : External quality assurance services, RIQAS : Randox international quality assessment scheme, UK NEQAS : United Kingdom National External Quality Assessment Service. CAP : college of american pathologists . INSTAND : CTCB : Centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique.

Une enquête pilote menée par le comité d'assurance qualité de Corée a exploité les données de 6 années (2010-2015) des résultats d'EEQ des CLL-κ et CLL-λ du programme RIQAS de RANDOX™ (147).

35 laboratoires ont participé à ces contrôles externes et ont tous utilisé la technique Freelite™ de The binding site© avec 80% de participants utilisant la technique néphélométrique et 20% utilisant la technique turbidimétrique sur différentes automates (BN®II, BN ProSpec, Advia, Hitachi, Modular P, Toehiba et SPAPlus).

A titre de rappel, une méthode présentant un nombre de sigma élevé (supérieur à 6) est considérée comme étant analytiquement robuste. Pour les techniques présentant un sigma compris entre 3 et 6, elles sont considérées comme moyenne et un nombre de sigma inférieur à 3 indique que performances de la méthode sont insuffisantes.

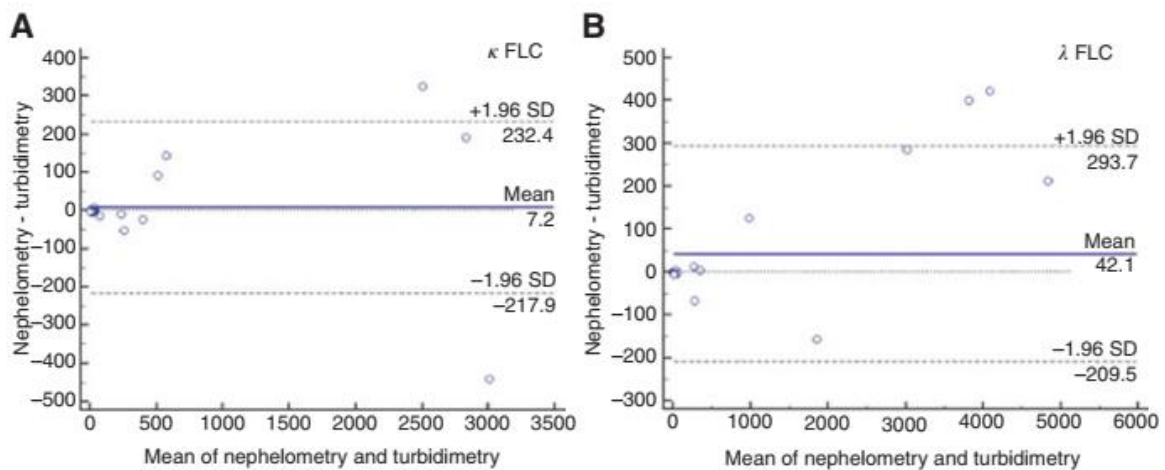
Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau IX.

**Tableau IX.** Moyenne de tous les résultats obtenus (147).

	Néphélométrie		Turbidimétrie	
	CLL-κ	CLL-λ	CLL-κ	CLL-λ
CV imprécision	12%	12%	12%	10%
Erreur total (ET)	26%	24%	25%	19%
Indice Sigma	4,9	4,9	4,9	5,4
% de labo dont $\delta > 3$	86% - 97%			
% de labo dont $\delta > 5$	48%	48%	48%	72%
% de labo ayant $\delta > 3$ au seuil décisionnel	100%	100%	100%	100%
% de labo ayant $\delta > 5$ au seuil décisionnel	67%		100%	

De cette étude, il sort qu'il n'y a pas de différence significative entre l'erreur totale et l'indice  $\delta$  entre la technique néphélométrique et la technique turbidimétrique pour les CLL- $\kappa$ . Par contre, pour les CLL- $\lambda$ , la technique néphélométrique montre une erreur totale plus large avec un indice  $\delta$  plus faible ( $p < 0,05$ ).

Concernant la comparaison de méthode entre la technique néphélométrique et la technique turbidimétrique par le graphique de Bland-Altman, elle a montré une différence pour les CLL- $\kappa$  de 7,2 mg/L et pour les CLL- $\lambda$  était 42,1 mg/L (figure 29).



**Figure 29.** Graphique de Band-Altman pour chaque échantillon de l'EEQ (148).

La différence entre les deux méthodes pour les CLL- $\kappa$  peut être considérée comme non significative, Alors que pour les CLL- $\lambda$ , il semble y avoir une différence significative expliquée par le fait que les concentrations plus élevées de CLL- $\lambda$  nécessiteraient une dilution différente de celle de la plage de mesure initiale.

En effet, malgré que les deux techniques aient le même fournisseur de réactif (The Binding site©), les valeurs n'étaient pas complètement homogènes entre les deux systèmes de dosage qui utilisent des principes analytiques différents. Les causes possibles de résultats discordants entre les deux méthodes sont dus à plusieurs raisons : des temps de réaction différents, des différences dans le rapport antigène d'échantillon et l'anticorps de réactif dans le mélange réactionnel, des concentrations différentes de polyéthylène glycol, un protocole de dilution d'échantillon différent et une linéarité différente (147).

Concernant les résultats de précision interlaboratoire (CVi) rapportées dans cette enquête, elles ont été considérées comme acceptables pour la pratique clinique (147). En effet, les échantillons ayant des concentrations en CLL- $\kappa$  ou en CLL- $\lambda$  à proximité du seuil de décision clinique ont atteint une valeur de reproductibilité interlaboratoire (CVi) totale de 8 à 14 %, qui peut être supérieure, mais pas significativement différente des limites acceptables de précision totale du fabricant (%CV < 8,5%) et de précision inter-individuelle (%CV < 8,5%) (147).

### III. Phase post-analytique

#### 1. Les valeurs normales

Les valeurs normales (valeurs absolues et ratio) des CLL dans le sérum et dans l'urine varient en fonction de la méthode de dosage (néphélométrie, ELISA etc.) et en fonction de la technologie utilisée (Freelite™, Seralite™ etc.).

Le calcul du rapport kappa/lambda permet de faire la différence entre une augmentation polyclonale et une production monoclonale des CLL. En cas d'augmentation polyclonale, les concentrations des deux types de CLL sont augmentées, mais le rapport kappa/lambda reste dans les limites normales. Un rapport  $\kappa/\lambda$  supérieur à la normale témoigne de la présence d'une CLL- $\kappa$  monoclonale, alors qu'un rapport inférieur à la normale témoigne de la présence d'une CLL- $\lambda$  monoclonale (74).

##### 1.1. Freelite™

Les valeurs normales sériques ont été définies pour la technique Freelite™ par Katzmann *et al.* (7) sur une population de 282 sujets sains âgés de 21 à 90 ans et les valeurs correspondant au 95° percentile sont retenues.

Pour le sérum, les CLL- $\kappa$  sont comprises entre 3,3 et 19,4 mg/L, les CLL- $\lambda$  entre 5,7 et 26,3 mg/L et le rapport  $\kappa/\lambda$  entre 0,26 et 1,65. Les concentrations en CLL- $\kappa$  sériques sont donc plus faibles que celles des CLL- $\lambda$  ; cette différence peut s'expliquer par le fait que les CLL- $\lambda$  dimériques sont éliminées moins rapidement que les CLL- $\kappa$  monomériques et donc s'accumulent dans le sérum (148).

Il faut rappeler qu'un ratio sérique  $< 0,26$  indique la présence d'une chaîne légère libre monoclonale de type  $\lambda$ , tandis qu'un ratio  $> 1,65$  indique la présence d'une chaîne légère libre monoclonale de type  $\kappa$ .

Ces valeurs varient avec l'âge, car on note une augmentation significative des CLL- $\lambda$  après 80 ans (7) (probablement causé par une diminution de la clairance rénale chez les personnes âgées).

Pour l'urine, les concentrations normales sont comprises entre 1,35 et 24,19 mg/L pour les CLL- $\kappa$  et entre 0,24 et 6,66 mg/L pour les CLL- $\lambda$ , avec un rapport  $\kappa/\lambda$  entre 2,04 et 10,37 (1).

En cas d'insuffisance rénale, la clairance rénale des CLL diminue, le système réticulo-endothélial devient une voie d'élimination majeure et, comme n'étant pas influencée par le PM, la demi-vie des CLL- $\kappa$  se rapproche de celle des CLL- $\lambda$  modifiant le ratio  $\kappa/\lambda$ . Un ratio normal pour un patient ayant une fonction rénale altérée a donc été fixé entre 0,37 et 3,1 pour FreeLite™ (6).

**Tableau X.** Récapitulatif des valeurs normales pour la technique FreeLite™.

Sérum			Urine			Fonction rénale altérée
$\kappa$ (mg/L)	$\lambda$ (mg/L)	Ratio $\kappa/\lambda$	$\kappa$ (mg/L)	$\lambda$ (mg/L)	Ratio $\kappa/\lambda$	Ratio $\kappa/\lambda$
3,3-19,4	5,7- 26,3	0,26-1,65	1,35-24,19	0,24-6,66	2,04- 10,37	0,37- 3,1

## 1.2. Sebia FLC™assay

Les concentrations sériques de référence des CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  pour ce test sont de 5,2 à 15,3 mg/L pour les CLL- $\kappa$ , et de 8,2 à 18,1 mg/L pour les CLL- $\lambda$ , avec un rapport CLL  $\kappa/\lambda$  de 0,37 à 1,44 (113).

Pour les patients présentant une insuffisance rénale, le rapport CLL  $\kappa/\lambda$  est ajusté, il est de 0,46 à 2,23 (134).

**Tableau XI.** Récapitulatif des valeurs normales pour la technique Sebia™.

Sérum			Insuffisance rénale
$\kappa$ (mg/L)	$\lambda$ (mg/L)	Ratio $\kappa/\lambda$	Ratio $\kappa/\lambda$
5,2 à 15,3	8,2 à 18,1	0,37 à 1,44	0,46 à 2,23

### 1.3. N Latex Free Light Chain™

Les intervalles de référence ont été définis pour la technique N Latex Free Light Chain™ sur 253 échantillons de plasma EDTA et 114 échantillons de sérum provenant de donneurs de sang sains normaux âgés de 18 à 70 ans (117).

Les concentrations sériques sont de 6,7 à 22,4 mg/L pour CLL- $\kappa$  et de 8,3 à 27,0 mg/L pour CLL- $\lambda$ , avec un ratio  $\kappa/\lambda$  de 0,31 à 1,56 (117).

Pour les patients atteints d'une insuffisance rénale, le rapport CLL  $\kappa/\lambda$  ne diffère pas des limites de référence pour les contrôles sains (132).

**Tableau XII.** Récapulatif des valeurs normales pour la technique N Latex Free Light Chain™.

Sérum			Insuffisance rénale
$\kappa$ (mg/L)	$\lambda$ (mg/L)	Ratio $\kappa/\lambda$	Ratio $\kappa/\lambda$
6,2 à 22,4	8,3 à 27,0	0,31 à 1,56	0,31 à 1,56

### 1.4. Seralite™

Pour le test Seralite™ Les concentrations sériques de référence des CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  sont de 5,2 à 22,7 mg/L pour CLL- $\kappa$  et de 4,0 à 25,1 mg/L pour CLL- $\lambda$ , et le ratio  $\kappa/\lambda$  est de 0,5 à 2,5 (129).

Chez les insuffisants rénaux, le ratio  $\kappa/\lambda$  n'est pas encore adapté.

**Tableau XIII.** Récapulatif des valeurs normales pour la technique Seralite™.

Sérum		
$\kappa$ (mg/L)	$\lambda$ (mg/L)	Ratio $\kappa/\lambda$
5,2 à 22,7	4,0 à 25,1	0,5 à 2,5

## IV. Recommandations de bonne pratique d'utilisation cliniciobiologique des CLL mc

La discussion cliniciobiologique est essentielle pour garantir une interprétation optimale du dosage des CLL mc. Le biologiste doit recevoir des renseignements cliniques au moment de la réception de l'échantillon, car la connaissance de la maladie et des traitements en cours aidera à sélectionner les meilleures dilutions de dosage. Ces informations aideront à limiter le nombre de réexecutions et à donner le résultat le plus précis possible. Par exemple, une dilution plus élevée sera utilisée initialement si le patient présente des signes de rechute de myélome. À son tour, le biologiste doit informer le clinicien des limites analytiques du test afin de garantir que les résultats soient interprétés correctement, en conjonction avec les caractéristiques cliniques du patient.

### 1. Recommandations pour le biologiste

- Résultats rapportés (149) :
  - ✓ Freelite™ : Si le deuxième résultat est supérieur à [4x résultat initial], il est recommandé de rapporter le résultat final.
  - ✓ N latex FLC™ : Indiquez le premier résultat rapporté par l'instrument.
  - ✓ Pour les échantillons douteux, diluer en série jusqu'à ce que 2 dilutions ou plus donnent des valeurs des CLL dans un écart de 20 % par rapport à la moyenne.
  - ✓ Il est recommandé de déclarer les concentrations de CLL en nombres entiers de 0 à 100 mg/L. Les valeurs supérieures à 100 mg/L peuvent être rapportées à deux chiffres significatifs après la virgule.
  - ✓ Pour le calcul de rapport  $\kappa/\lambda$ , conservez initialement les valeurs de l'analyseur à deux décimales si le ratio est entre 0 et 10, et à une décimale si le ratio est  $\geq 10$ .
- Excès d'antigène : Une petite proportion d'échantillons de patients contenant des concentrations élevées de CLL- $\kappa$  ou de CLL- $\lambda$  peut donner un résultat faussement bas pour la chaîne légère «impliquée» en raison d'un excès d'antigène. Les échantillons doivent être testés à la fois à la dilution initiale et avec une prédilution manuelle au

1/25 afin de détecter un excès d'antigène si l'une des conditions suivantes est remplie (150) :

- ✓ L'échantillon montre soit une concentration de CLL, soit un rapport  $\kappa/\lambda$  en dehors de la plage indiquée.
- ✓ L'échantillon provient d'un patient qui a déjà démontré un excès d'antigène.
- ✓ Le résultat de l'échantillon ne concorde pas avec d'autres résultats cliniques ou de laboratoire.



Il est recommandé que la déclaration suivante accompagne tous les résultats de chaînes légères libres: «L'excès d'antigène non détecté est un événement rare mais ne peut être exclu. Si ces résultats de chaîne légère libre ne concordent pas avec d'autres résultats cliniques ou de laboratoire, ou si l'échantillon provient d'un patient qui a déjà démontré un excès d'antigène, le résultat doit être vérifié par un nouveau test à une dilution plus élevée. " (104).

- Il est recommandé que le type de test (Freelite®, N Latex®, Seralite®, Sebia®) soit mentionné dans le rapport pour éviter toute confusion chez les cliniciens.



## **2. Recommandations pour le clinicien**

- Il est recommandé que les patients soient testés dans le même laboratoire pour la mesure de la CLL sérique. Cela fournira une approche plus cohérente pour surveiller la réponse à la maladie en utilisant la même technique et le même analyseur et réduira les variations injustifiées et les erreurs d'interprétation des résultats. En effet, les résultats N Latex®, Seralite® et Sebia® peuvent être inférieurs aux valeurs Freelite® chez les patients atteints de myélome rénal et les données actuelles indiquent que les résultats de divers techniques de dosage des CLL sériques ne peuvent pas être utilisés de manière interchangeable ; en particulier pour surveiller la réponse au traitement.
- Il est recommandé que des variations de la concentration sérique de CLL de -50% ne soient pas considérées comme une preuve de progression de la maladie ou d'une réponse au traitement chez les patients atteints d'amylose AL (151) ou de myélome multiple (152).

- Tous les tests disponibles pour le dosage sérique des CLL ont des limites. Il faut donc continuer à utiliser l'immunofixation urinaire pour le dépistage dans les cas difficiles (153). D'ailleurs, une attitude prudente propose d'avoir tout de même recours à l'immunofixation urinaire lorsque le dosage des CLL sériques est <100 mg/L. Il a été démontré, chez des patients sous traitement après diagnostic de MM ou d'amylose AL, la présence de CLL dans les urines alors que le ratio  $\kappa/\lambda$  libres sériques était normal (154).
- La validation du test dans un groupe clinique de patients n'implique pas nécessairement la validité dans tous les groupes de patients. Freelite® et N-Latex CLL® ont des sensibilités diagnostiques similaires pour l'amylose AL lorsqu'ils sont utilisés en combinaison avec l'IFE du sérum et de l'urine (155). Des données sont nécessaires pour valider l'utilisation des tests Seralite® et Sebia® dans l'amylose AL.
- Chez les IR, un interval de rapport  $\kappa/\lambda$  différent doit être appliquée lors de l'utilisation des tests Freelite® et Sebia®, mais pas lors de l'utilisation du test N Latex® ou Seralite®.
- Compte tenu de la grande variabilité observée avec de faibles dilutions, les cliniciens doivent être avisés d'ignorer les variations du rapport  $\kappa/\lambda$  chez les patients avec des concentrations de CLL inférieures à la normale (156).



**CHAPITRE 4 : INTERET DU  
DOSAGE DES CHAINES  
LEGERES LIBRES EN  
PRATIQUE CLINIQUE**



## **A. Les pathologies clonales**

Une gammopathie monoclonale est définie comme toute situation dans laquelle une composante monoclonale est présente dans le sang ou l'urine et reflète une prolifération clonale de plasmocytes ou de cellules B matures (157).

Les gammopathies monoclonales représentent un groupe de pathologies variées dont la majorité est asymptomatique. Dans plus de 60 % des cas, il s'agit d'une MGUS souvent bénigne. Le MM représente environ 20 % des cas de GM, et l'amylose AL environ 10 %, ces deux dernières sont potentiellement mortelles. Les autres gammopathies sont plus rares, comme les plasmocytomes (qu'ils soient médullaires ou extra-médullaires), la maladie de Waldenström et les pathologies apparentées. Certaines pathologies comme les leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) ou les lymphomes peuvent également être à l'origine d'une gammopathie monoclonale (158). Pour chacune de ces maladies, les mesures des immunoglobulines monoclonales circulantes ont été le pilier du diagnostic, du pronostic et de la prise en charge.

Il est important de comprendre que les dyscrasies plasmocytaires ne sont pas synonymes de gammopathie monoclonale. Ce dernier se réfère uniquement à la détection d'une paraprotéine dans des tests de laboratoire. Plus précisément, les dyscrasies plasmocytaires font partie des gammopathies monoclonales.

Le diagnostic de tumeur plasmocytaire consiste en la mise en évidence d'un clone plasmocytaire anormal dans la moelle osseuse ou d'autres tissus extra-osseux associé ou non à la détection dans le sérum ou les urines d'une immunoglobuline monoclonale. La détection du composant monoclonal est réalisée par EPS ou EPU associée à une IFE, permettant de caractériser le type de chaînes lourdes (IgG, IgA, IgD, IgE ou IgM) et/ou légères (kappa ou lambda) d'immunoglobuline monoclonale sécrétée.

Les critères de diagnostics des gammopathies monoclonales de Durie et Salmon étaient les plus utilisés avant que l'IMGW publiait ses recommandations, ces critères définissaient 3

stades de myélome : le MGUS, le MM stade I A, qui correspond au MM asymptomatique, MM stade I B, stade II A et B ainsi que le MM stade III A et B (159).

En 2003, l'IMGW a défini une classification pour harmoniser ces critères, et pour séparer les MGUS, SMM et plasmocytome de MM (14). En 2009, l'IMGW a mis le point sur l'intérêt des CLL dans les gammopathies monoclonales (16), et en 2014, le groupe a mis à jour les critères de diagnostic des gammopathies monoclonales, et a introduit le dosage des CLL mc dans le diagnostic, le pronostic et le suivi (2) (tableau XIV).

**Tableau XIV.** Les critères de diagnostics des gammopathies monoclonales selon les dernières recommandations de l'IMGW (2).

Stades	Critères de diagnostique
MM	<p>Critère impératif :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Une infiltration médullaire par au moins 10 % de cellules plasmocytaires clonales ou un plasmocytome osseux/tissulaire</li> </ul> <p>Critère supplémentaire : présence d'au moins un parmi les suivants</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Un dysfonctionnement d'organe : Critères CRAB (idem IMGW 2003)</li> <li>✓ la présence d'un des biomarqueurs suivants (IMGW 2014) : Au moins 60 % de cellules plasmocytaires clonales dans la moelle osseuse ; <b>un ratio CLL (rCLL) supérieur ou égal à 100</b> ; la présence de plus d'une lésion osseuse focale à IRM d'une taille d'au moins 5 mm.</li> </ul>
SMM	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Prolifération plasmocytaire <math>\geq 10\%</math> et <math>&lt; 60\%</math> au myélogramme.</li> <li>✓ ET/OU Présence d'une protéine sérique monoclonale (IgG ou IgA) <math>\geq 30</math> g/L, <b>un ratio rCLL <math>&lt; 100</math>.</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ ET/OU protéinurie de Bence Jonce <math>\geq 500</math> mg/24 h.</li> </ul> </li> <li>✓ ET absence de critère CRAB (hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie et atteinte osseuse) ou de signe d'amylose.</li> </ul>
MGUS	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ La détection d'une immunoglobuline monoclonale sérique (IgG (60 % des cas), IgA (15 %), IgD (1 %) ou IgE (1 %)) quantifiée à moins de 30 g/L ; <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Une infiltration médullaire plasmocytaire inférieure à 10 % ;</li> </ul> </li> <li>✓ L'absence de dysfonction d'organe donc de signes CRAB (absence d'hypercalcémie, d'insuffisance rénale, d'anémie et de lésions osseuses ostéolytiques).</li> </ul>
Plasmocytome	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Lésion unique osseuse (plasmocytome solitaire) ou tissulaire (plasmocytome extra-osseux) constituée de plasmocytes clonaux ;</li> <li>✓ Absence d'infiltration médullaire plasmocytaire anormale sur une aspiration médullaire ou une biopsie ostéomédullaire réalisée au niveau d'un autre site ;</li> <li>✓ Absence de lésions osseuses supplémentaires à l'IRM ou au scanner ; <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Absence de dysfonction d'organe, donc de signes CRAB.</li> </ul> </li> </ul>

Le biologiste joue un rôle important dans le diagnostic au sens large des gammopathies monoclonales. Il ne se limite pas au diagnostic positif initial de la pathologie, mais participe également à l'établissement du diagnostic différentiel, du stade de la maladie et donc du pronostic qui en découle. Le biologiste intervient également dans le suivi des patients.

En 2009, une étude réalisée sur une cohorte de 1877 patients compare la sensibilité de différentes combinaisons d'examens biologiques pour le diagnostic positif de gammopathie monoclonale (160). L'association d'une EPS et d'un dosage des CLL permet 94 % de diagnostic positif de l'ensemble de ces pathologies. Par comparaison, la combinaison EPS, IFE des protéines sériques et IFE des protéines urinaires donne une sensibilité de 97 % (tableau XV).

**Tableau XV.** Sensibilité des différentes associations d'examens biologiques pour le dépistage d'une gammopathie monoclonale, d'après Katzmann et al (160).

Examens réalisés	EPS + IFE sérique + IFE urinaire	EPS + CLL + IFE sérique	EPS + CLL	EPS	CLL
Ensemble des gammopathies monoclonales	97 %	97,4 %	94,3 %	79 %	74,3 %
MM	98,7 %	100 %	100 %	87,6 %	96,8 %
SMM	100 %	100 %	99,5 %	94,2 %	81,2 %
MGUS	100 %	97,1 %	88,7 %	81,9 %	42,4 %

Pour Katzmann (160), le dépistage d'une gammopathie monoclonale fait appel à l'association d'une EPS et d'un dosage des CLL avec le calcul du ratio  $\kappa/\lambda$ . Pour cet auteur, ces examens apparaissent comme ayant le meilleur rapport sensibilité, coût, simplicité de réalisation.

## **I. Le myélome multiple**

Le myélome multiple ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération initialement médullaire d'un clone plasmocytaire envahissant la moelle osseuse hématopoïétique. Cette prolifération s'accompagne, en général, de la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale complète ou parfois seulement de la chaîne légère en quantité variable, qui peut être décelée dans le sang et/ou les urines. Il appartient à la famille des gammopathies monoclonales. La quasi-totalité des MM est précédée d'un état transitoire "pré-myélomateux" dont les principaux représentants sont la MGUS et le SMM (161).

Selon la diffusion des localisations et l'agressivité clinique, on distingue les myélomes multiples symptomatiques, les myélomes indolents (« smoldering ») et les myélomes multiples à chaînes légères et les myélomes non sécrétant (2).

### **1. Diagnostic**

La présentation clinique du myélome est variable et le clinicien doit s'efforcer de rechercher les signes cliniques en lien avec un dysfonctionnement d'organe lié à la prolifération tumorale, Les critères diagnostiques établis par l'IMWG mettent en avant l'importance des signes cliniques liés à un dysfonctionnement d'organe, l'IMWG a proposé des recommandations ayant pour but d'harmoniser les critères diagnostiques et de réponse utilisés dans le myélome (2).

#### **1.1. Critère impératif**

Le diagnostic de myélome requiert une infiltration médullaire par au moins 10 % de cellules plasmocytaires clonales ou un plasmocytome osseux/tissulaire. La clonalité plasmocytaire doit être établie par la mise en évidence d'une restriction isotypique d'expression des chaînes légères des immunoglobulines par immunophénotypage par cytométrie en flux, immunochimie ou immunofluorescence. L'infiltration plasmocytaire médullaire doit être observée sur un myélogramme ou sur une biopsie ostéomédullaire. Compte tenu de la nature de l'infiltration plasmocytaire médullaire qui peut être focale, le myélogramme doit retenir le pourcentage de plasmocytes observés le plus élevé parmi

l'ensemble des observations réalisées. De plus, du fait de cette infiltration potentiellement focale, il est recommandé de renouveler le prélèvement médullaire en cas d'infiltration plasmocytaire médullaire observée inférieure au seuil de 10 % (2).

## 1.2. Critère supplémentaire

Le diagnostic de myélome requiert la présence d'au moins un des critères supplémentaires parmi les suivants (2) :

- **Un dysfonctionnement d'organe**, suggérée par la présence d'une hypercalcémie, d'une insuffisance rénale, d'une anémie ou de lésions osseuses (acronyme CRAB). Pour être considérés comme critères diagnostiques du myélome, ces différents signes cliniques et biologiques doivent être liés à la prolifération plasmocytaire.
  - ✓ L'hémoglobine doit être inférieure à 10 g/dL (ou inférieure à plus de 2 g/dL par rapport à la limite inférieure de référence pour la catégorie d'âge) ;
  - ✓ L'hypercalcémie : calcium sérique doit être supérieure à 2,75mmol/L (ou à plus de 0,25 mmol/L au-dessus de la limite normale haute) et les autres causes d'hypercalcémie doivent être éliminées, notamment l'hyperparathyroïdie ;
  - ✓ L'insuffisance rénale doit correspondre à une clairance de la créatinine inférieure à 40 mL/min ou créatinine sérique > 177 mmol/L (> 2 mg/dL),
  - ✓ Les lésions osseuses doivent être de nature ostéolytique et supérieure à au moins 5 mm, et objectivées par examen radiographique du squelette, une imagerie par résonance magnétique (IRM), un scanner ou une tomographie à émission de positons (PET-scan).
- **Ou la présence d'un des biomarqueurs suivants** (ajoutés depuis 2014) (161):
  - ✓ Au moins 60 % de cellules plasmocytaires clonales dans la moelle osseuse ;
  - ✓ Un ratio CLL (rCLL) supérieur ou égal à 100 (défini par le test Freelite®, les CLLi doivent être  $\geq 100$  mg/L dans le sang périphérique). Le ratio correspond au rapport CLLi/CLLni où les CLLi = CLL impliquées (isotype monoclonal sécrété par le clone LB) et les CLLni = CLL non impliquées (isotype polyclonal résiduel).

- ✓ La présence de plus d'une lésion osseuse focale à IRM d'une taille d'au moins 5 mm.

Selon les recommandations de l'IMWG, l'association d'une EPS, d'une IFE sériques et d'un dosage des CLL sériques présente une sensibilité diagnostique de 100 % pour le dépistage de MM (tableau XV) (160). Ces examens sériques constituent donc le panel de choix dans le dépistage de MM. Les explorations électrophorétique urinaires ne sont, par contre, pas indiquées en première intention.

Pour le myélome à immunoglobuline intacte, dans une série de 493 patients atteints de myélome à immunoglobuline intacte (MII) étudiés au moment du diagnostic, Mead (36) conclut à une bonne concordance des dosages de CLL avec l'isotype de l'immunoglobuline monoclonale (89 % pour le dosage de CLL, 96 % pour le rapport  $\kappa/\lambda$ ). Il note cependant qu'il n'existe pas de corrélation entre le taux de CLL et celui de l'immunoglobuline monoclonale, ce qui conforte l'unicité de comportement de chaque clone malin, et que le dosage de CLL ne peut donc remplacer celui de la  $\beta$ 2-microglobuline comme indicateur de masse tumorale. De même, l'absence de corrélation entre le taux de créatinine sérique et celui des CLL s'explique par la diminution de production par les clones physiologiques résiduels. Dans cette étude initiale il n'était pas retrouvé de corrélation entre le taux initial de CLL et la survie. Pour les 12 patients qui ont atteint une phase de plateau, le taux de CLL est apparu un marqueur plus sensible que celui de l'immunoglobuline monoclonale.

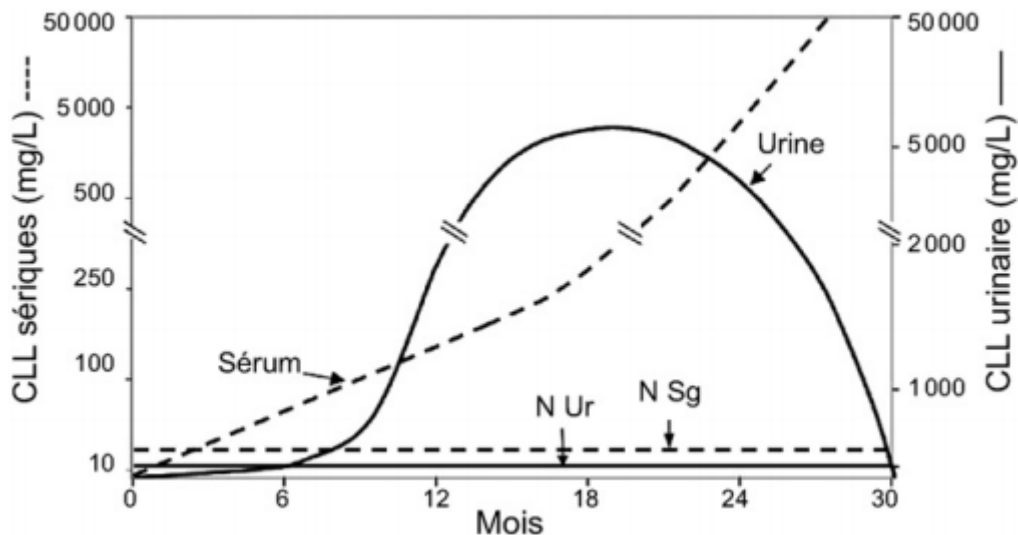
## 2. Pronostique

L'évaluation biologique pronostique comprend les dosages de l'albumine et de la  $\beta$ 2-microglobuline sériques qui déterminent le score pronostique international (ISS : International Staging System) (159). Le dosage sérique des CLL représente également un facteur indépendant de pronostic (162). En suivant le score pronostic ISS, l'évolution (définie par le taux de survie à 1 ou 5 ans) est moins bon pour un rapport  $\kappa/\lambda$  profondément altéré ( $<0,03 / >32$ ) que modérément ( $0,03-0,06; 1,65-6,6$ ) (tableau XVI).

**Tableau XVI.** Taux de survie dans le MM en fonction de la combinaison du score ISS et du rapport  $\kappa/\lambda$  des CLL sériques **(159) (162)**.

International Staging System (ISS)	$\beta$ 2-micro-globuline sérique	Albumine sérique	CLL			
			Rapport $\kappa/\lambda$ 0,03–0,06 ou 1,65–6,6		Rapport $\kappa/\lambda$ <0,03 – >32	
Stade	(mg/l)	(g/l)	Survie à 1 an (%)	Survie à 5 ans (%)	Survie à 1 an (%)	Survie à 5 ans (%)
I	<3,5	$\geq 35$	87,6	41,5	88,9	29,8
II	3,5–5,0	$\geq 35$	83,2	35,2	77,5	20,5
III	>5,0	<35	67,6	24,4	62,5	15,3

Dans le MCL, les concentrations sériques et urinaires des CLL ont des cinétiques différentes au cours de l'évolution tumorale : les concentrations sériques de CLL monoclonales augmentent parallèlement au développement tumoral, alors que des CLL n'apparaissent dans les urines que lorsque la capacité de réabsorption tubulaire est dépassée (Figure 31). Les quantités de CLL retrouvées dans les urines sont plus dépendantes de la fonction rénale que de la synthèse tumorale, même lorsque la production est considérablement accrue.



**Figure 30.** Courbes théoriques d'apparition des CLL (CLL) dans le sérum et dans l'urine au cours de l'évolution d'un MCL (31).

Les valeurs sériques sont représentées en pointillés, les valeurs urinaires en traits pleins. N Sg et N Ur indiquent respectivement les limites supérieures des concentrations normales dans le sérum et dans l'urine (32).

### 3. Suivi de la réponse au traitement

Une étude portant sur les patients atteints de MM et traités par un protocole comprenant du bortezomib (163) a permis de distinguer 3 groupes de patients :

- Ratio  $\kappa/\lambda$  normal qualifié de « normal »,
- rCLL anormal mais  $< 100$  qualifié de « légèrement anormal »
- rCLL anormal mais  $\geq 100$  qualifié de « hautement anormal ».

La survie sans évolution était supérieure dans le groupe « normal » par rapport au groupe « légèrement anormal », elle-même plus élevée que dans le groupe « hautement anormal ». La survie après traitement est également meilleure pour les patients ayant normalisé leur ratio.

De plus, il semblerait que la mesure des CLL sériques dans le suivi des patients après autogreffe de cellules souches hématopoïétiques permet, après classification de la réponse au traitement, d'identifier les patients à fort risque de rechute, d'après une étude rétrospective

qui a mis en évidence un ratio anormal chez 12 % de myélomes autogreffés considérés néanmoins en réponse stringente car n'ayant aucun autre signe de myélome (incluant une maladie résiduelle négative) (164). En pratique, le message important est qu'il existe des rechutes détectables uniquement par le dosage des CLL. En cas de suspicion de rechute, il est donc important de prescrire un dosage des CLL même si l'EPS et l'IFE sérique sont négatives.

### **3.1. Myélome à chaînes légères**

Ces myélomes ne sécrètent qu'une chaîne légère, détectée et identifiée au laboratoire. Dans une étude portant sur 113 patients ayant un MCL, Dejoie et al. ont montré que la totalité de ces patients avaient un ratio  $\kappa/\lambda$  anormal et un taux de CLLi mesurable pour le suivi selon l'IMWG ( $\geq 100$  mg/L) (165), mais que seulement 64 % avaient une PBJ en EPU mesurable pour le suivi ( $\geq 200$  mg/24 h) (165). Ceci témoigne d'une meilleure sensibilité du dosage des CLL comparativement à l'IFU pour la détection et le suivi des MCL. Le dosage des CLL permet ainsi de pouvoir suivre les 36 % de patients ayant un MCL qui ne peuvent être suivis sur la PBJ, et remplace au moins dans ces cas l'EPU pour le suivi.

### **3.2. Myélome non sécrétant**

Des signes cliniques et radiologiques évocateurs de myélome associés à une absence de pic monoclonal, une hypogammaglobulinémie et une vitesse de sédimentation (VS) normale font suspecter la rare possibilité d'un MNS. L'absence d'immunoglobuline détectable par l'IFE explique la VS normale et le peu de complication rénale de cette forme particulière et rare de myélome.

Plusieurs publications ont conclu à l'apport diagnostique du dosage des CLL (rapport  $\kappa/\lambda$  anormal dans environ 80 % des cas (166) (167)) et à son utilité pour le suivi. Désormais l'IMWG (2) inscrit le dosage des CLL dans les examens recommandés pour le diagnostic et le suivi des myélomes peu ou non sécrétants.

## II. Le myélome multiple indolent asymptomatique

Le myélome indolent ou asymptomatique (*Smoldering Myeloma*) correspond à une prolifération clonale plasmocytaire significative, c'est un stade clinique intermédiaire entre MGUS et MM dans lequel le risque de progression vers la malignité dans les 5 premières années après le diagnostic est beaucoup plus élevé ; environ 10 % des patients diagnostiqués avec un myélome ont été initialement diagnostiqués avec un myélome indolent (2).

C'est une gammopathie monoclonale appartenant aux pathologies "pré-myélomateuses". Il se différencie du MM par l'absence de manifestations clinico-biologiques entrant dans les critères CRAB. Le principal risque est la progression en MM symptomatique, bien supérieur à celui des MGUS.

### 1. Diagnostic

Le SMM est défini par les critères suivants (2):

- Prolifération plasmocytaire  $\geq 10\%$  et  $< 60\%$  au myélogramme.
- ET/OU Présence d'une protéine sérique monoclonale (IgG ou IgA)  $\geq 30$  g/L, **un ratio rCLL  $< 100$ .**
- ET/OU protéinurie de Bence Jonce  $\geq 500$  mg/24 h.
- ET absence de critère CRAB (hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie et atteinte osseuse) ou de signe d'amylose.

### 2. Pronostic

Le risque de progression d'un SMM en myélome est de 10 % par an durant les cinq premières années, puis de 3 % par an les cinq années suivantes, et de 1-2 % par an pour les dix années suivantes (168). Un rCLL  $> 8$  (mais  $< 100$ ) est associé à un risque significatif de progression vers le myélome ou l'amylose AL (169) et de 40 % à deux ans (170). Le ratio CLL fait ainsi partie des critères de SMM à haut risque évolutif, avec un impact thérapeutique : plutôt qu'une abstention thérapeutique, un traitement individualisé tend à être proposé à ces patients à haut risque évolutif actuellement, dans le cadre d'essais thérapeutiques.

Si ce même ratio dépasse 100, le risque de progression vers un MM est imminent. En effet, il a été observé que les patients présentant un rCLL > 100 ainsi qu'un taux de CLLi  $\geq$  100 mg/L présentaient un risque de progression vers un MM symptomatique à 2 ans de 76 % de même qu'un risque cumulé de progression vers un MM et une amylose AL à 2 ans de 82 %. Dans le même sens, une étude de 2013 montre que les patients présentant une infiltration médullaire supérieure à 60 % par des clones plasmocytaires et un rCLL (CLLi/CLLni) anormal  $\geq$  100 évoluaient vers un MM dans les 18 mois suivant leur diagnostic (171).

Ces sous-groupes de patients identifiés comme étant une entité à très haut risque lors du diagnostic peuvent être considérés comme étant atteints d'un MM symptomatique et donc prétendre à un traitement de MM (171).

Le SMM à chaîne légère est un sous-type de SMM dans lequel il existe un excès de CLL sans expression de chaîne lourde d'immunoglobuline (172). Cette entité est caractérisée par une sécrétion excessive de CLL monoclonal dans l'urine (protéinurie de Bence Jones).

Dans le SMM à chaîne légère, le risque de progression en MM est plus élevé en fonction du niveau de la protéine M urinaire. Dans une étude menée par Kyle et ses collègues, le risque de progression sur 5 ans du SMM à la chaîne légère était de 19% avec la protéine M urinaire de 0,50 à 0,099 g/24 heures contre 39% avec la protéine M urinaire  $\geq$  1,0 g/24 heures (172).

### **3. Suivi**

Selon l'IMWG (161), les taux sériques des CLL, l'immunoglobuline monoclonale, la NFS, la calcémie et la créatinémie doivent être réévalués tous les 3-4 mois. Chez les patients à haut risque, le suivi doit se poursuivre indéfiniment et inclure des études d'imagerie périodiques pour exclure une progression asymptomatique. Chez les patients à faible risque, le suivi peut être réduit à une fois tous les 6 mois après les 5 premières années. Dans les deux groupes, le développement de symptômes évocateurs de MM ou de troubles apparentés doivent être soigneusement recherchés.

### **III. Gammopathies monoclonale de signification indéterminé**

La gammopathie monoclonale de signification indéterminée correspond à une prolifération clonale plasmocytaire minime n'étant pas responsable de dysfonction d'organe.

Le dosage des CLL seul a peu d'intérêt pour le diagnostic de la majorité des MGUS ; Avec une sensibilité diagnostique de 42 %, nettement inférieure à celle de l'EPS (82 %) (155). Il est cependant indispensable au diagnostic de MGUS à chaînes légères, représentant environ 20 % des cas de MGUS, où sa sensibilité est de 100 % (155).

Elles sont sous-divisées en fonction de l'immunoglobuline monoclonale en cause : MGUS à IgM, non-IgM et MGUS à chaînes légères (157). Les MGUS à IgM proviennent de la prolifération de lymphoplasmocytes n'ayant pas subi la commutation de classe.

#### **1. Diagnostique**

Son diagnostic requiert les critères suivants (2) :

- La détection d'une immunoglobuline monoclonale sérique (IgG (60 % des cas), IgA (15 %), IgD (1 %) ou IgE (1 %)) quantifiée à moins de 30 g/L ;
- Une infiltration médullaire plasmocytaire inférieure à 10 % ;
- L'absence de dysfonction d'organe donc de signes CRAB (absence d'hypercalcémie, d'insuffisance rénale, d'anémie et de lésions osseuses ostéolytiques).

Dans le cas d'un MGUS à chaînes légères, et Selon la dernière classification Organisation mondiale de la santé (OMS) de 2016, le stade MGUS à chaînes légères nécessite la réunion de tous les critères suivants :

- Ratio  $\kappa/\lambda$  anormal
- Augmentation de la chaîne légère impliquée
- Pas de chaînes lourdes à l'IFE
- Pas d'organes atteints
- Moins de 10 % de plasmocytes sur le myélogramme
- Une excrétion urinaire de protéine monoclonale inférieure à 500 mg/24h.

Certains auteurs proposent que, lors du diagnostic de MGUS à chaînes légères, si le rCLL (CLL i / CLL ni) est inférieur à 8, le myélogramme ou l'imagerie osseuse puissent ne pas être requis pour les patients sans signes cliniques d'un myélome associé (173). De ce fait, le dosage systématique des CLL dans cette situation pourrait être une aide dans l'indication de la réalisation ou non d'un myélogramme.

## 2. Pronostique

Le risque d'évolution d'un MGUS vers un MM ou une amylose est estimé à environ 1 % par an (174). Les MGUS à chaînes légères, définis par la détection uniquement de chaînes légères dans le sérum et/ou les urines avec une excrétion urinaire inférieure à 0,5 g/24 h, ont quant à eux un risque de progression vers un myélome ou une amylose plus faible, de 0,3 % par an (contre 0,5-1 % pour l'immunoglobuline entière) (173) (175). Ainsi, certains auteurs suggèrent de surseoir au myélogramme chez les patients avec MGUS à chaînes légères en cas d'un rCLL < 8 du fait du faible risque de progression vers un myélome (173).

Les MGUS à IgM ont plus de risque de progresser vers une maladie de Waldenström ou un lymphome avec un risque de progression significativement plus élevé que les MGUS non-IgM (174).

Un ratio  $\kappa/\lambda$  anormal est un facteur de risque indépendant de progression dans les MGUS [204]. L'isotype de l'immunoglobuline monoclonale, sa concentration, et le ratio  $\kappa/\lambda$  permettent de stratifier les MGUS en quatre catégories selon le risque de progression à 20 ans vers un MM ou une pathologie associée (Tableau XVII) (161) (175). Le risque à 10 ans est de 17 % avec un ratio  $\kappa/\lambda$  anormal contre 5 % avec un ratio normal (176).

**Tableau XVII.** Stratification du risque de progression d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée vers un myélome **(161) (175)**.

Risque	Isotype non-IgG	immunoglobuline monoclonal > 15 g/L	Ratio $\kappa/\lambda$ anormal	Risque de progression à 20 ans (%)
Bas				2-5
Intermédiaire bas	1 parmi les 3			21
Intermédiaire haut	2 parmi les 3			37
Haut	X	X	X	58

Une autre étude portant sur 728 patients avec MGUS, a confirmé l'intérêt de ces facteurs et a montré que la diminution du taux sérique d'un ou de deux isotypes d'immunoglobuline entière(s) non impliquée(s) était aussi un facteur associé à la progression vers le myélome, après ajustement sur ces trois facteurs (176). Néanmoins, compte tenu du coût, le dosage des CLL dans cette indication est principalement réservé à des patients sélectionnés avec d'autres facteurs de risque de progression, d'autant plus que la présence d'un seul facteur de risque ne modifie pas de manière significative la prise en charge de ces patients.

### 3. Suivi

Dans les MGUS, le dosage des CLL est inutile pour le suivi (161) (171), sauf dans les MGUS à chaînes légères puisqu'elles ne peuvent être suivies sur le pic. Bien que le risque de progression vers un myélome soit faible (0,3 % par an), les recommandations d'experts proposent un dosage des CLL à 6 mois puis une fois par an pour le suivi, compte tenu du risque élevé de NCM (23 % des patients) (173) (177).

#### **IV. Intérêt de dosage des CLL au cours des atteintes rénales**

En cas d'insuffisance rénale aiguë sans étiologie évidente, un dosage des CLL est recommandé par l'International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group (IKMG Research Group) afin de dépister une gammapathie monoclonale sous-jacente potentiellement responsable de la néphropathie. Un taux de CLL- $\kappa$  ou CLL- $\lambda$  > 500 mg/L est en faveur d'une néphropathie tubulo-interstitielle induite par les CLL. À titre de comparaison, l'IMWG recommande un seuil similaire de CLL monoclonales (500–1500 mg/L) pour l'identification des Néphropathies à cylindre myélomateux (178).

La probabilité d'identifier un clone au cours des myélomes augmente lorsqu'un composant monoclonal est détecté dans le sérum et/ou les urines. Cependant, chez certains patients, le taux d'immunoglobuline monoclonale est très faible, non détectable par les techniques usuelles, témoignant de la faible masse tumorale du clone B sous-jacent et/ou de la forte affinité de l'immunoglobuline monoclonale pour le rein. Seule l'étude en immunofluorescence de la biopsie rénale permet parfois d'identifier le composant monoclonal (179). L'utilisation en pratique clinique du dosage néphéléométrique des CLL a permis d'augmenter la probabilité d'identifier un clone. Ce dosage est maintenant recommandé lorsque l'on suspecte une maladie rénale associée à des dyscrasies plasmocytaires (180).

La diminution du taux des CLL est associée à une progression plus lente vers IR terminale et une absence de récurrence post-transplantation rénale (181).

## V. Amylose AL

Les amyloses appartiennent au groupe des maladies conformationnelles des protéines. Elles sont liées à la capacité de certaines protéines d'acquies une structure tertiaire instable et de polymériser sous forme de fibrilles d'amylose insolubles dans la substance extracellulaire de différents tissus. Plus d'une vingtaine de protéines peuvent être amyloïdogènes chez l'homme. Dans l'amylose AL, c'est une chaîne légère monoclonale d'immunoglobuline qui constitue le précurseur protéique des dépôts. C'est le résultat de la sécrétion par des plasmocytes clonaux (plus rarement par lymphoplasmocytes clonaux) de chaînes légères d'immunoglobulines intactes ou fragmentées qui se déposent dans les tissus de l'organisme en formant une structure en feuillets beta.

La plupart des régions variables des chaînes légères kappa et lambda sont susceptibles d'être à l'origine de dépôts d'amylose, mais le segment V lambda VI est toujours associé à des dépôts (182). Les dépôts constitués s'accumulent alors et altèrent la fonction de l'organe touché.

### 1. Diagnostique

Les critères diagnostiques du myélome ne sont pas remplis mais il est fréquent d'observer une discrète augmentation du pourcentage de plasmocytes médullaires. Une gammopathie monoclonale est presque toujours détectée dans le sérum et/ou les urines. Le type de chaîne légère de la gammopathie monoclonale est principalement lambda (70 % des cas) (183). L'immunophénotypage par cytométrie en flux des plasmocytes médullaires révèlent des plasmocytes clonaux (restriction isotypique) et un immunophénotype similaire à celui décrit dans le myélome.

Au diagnostic, l'association EPS + EPU + IFE + CLL permet d'obtenir une sensibilité de 100 % pour l'identification du composant monoclonal circulant, contre 96 % pour l'EPS + EPU + IFE (184), et 75–98 % selon les études pour les CLL seules (160) (184).

## 2. Pronostique

Une étude menée par Dittrich *et al.* montre qu'une dCLL < 50 mg/L est associée à un meilleur pronostic, à moins d'atteintes d'organes et des tissus mous, et à une atteinte cardiaque moins fréquente et moins sévère, mais présentant plus d'atteintes rénales (184).

En 2018, une étude portant sur des patients avec amylose AL nouvellement diagnostiquée a montré qu'une différence entre CLLi et la CLLni > 172 mg/L représentait un facteur de risque de survenue d'évènements thromboemboliques, plus souvent artériels que veineux, et que la plupart de ces évènements surviennent dans l'année suivant le diagnostic (185).

Une dCLL > 180 mg/L est un facteur pronostique indépendant, associé à une survie globale de 10,9 mois contre 37,1 mois si dCLL < 180 mg/L (186). La stratification du risque inclut désormais les trois critères suivants :

- dCLL > 180 mg/L
- troponine T  $\geq 0,025$  ng/mL
- NT-ProBNP  $\geq 1800$  pg/mL (187).

C'est le nombre et la sévérité des atteintes viscérales (macroglossie, purpura, neuropathie périphérique et autonome, hépatomégalie, atteinte digestive), en particulier cardiaque (cardiomyopathie hypertrophique restrictive souvent associée à des troubles du rythme et des anomalies de la conduction), et non la prolifération plasmocytaire sous-jacente qui conditionnent le pronostic, même si un taux de plasmocytes médullaires supérieur à 10 % semble associé à une moins bonne survie (188). L'amylose AL est une maladie grave, responsable de décès lorsque la prise en charge est tardive, alors que les nouveaux traitements, efficaces chez la majorité des patients, permettent une rémission hématologique et une médiane de survie prolongée, supérieure à 5 ans. Un diagnostic précoce est donc essentiel.

### 3. Suivi

Pour les patients atteints d'amylose AL, une surveillance étroite avec le dosage des CLL est essentielle pour adapter le traitement et pour la détection rapide de la rechute (189). Il a été rapporté qu'une stratégie conventionnelle adaptée à la réponse, basée sur une surveillance fréquente de la concentration sérique des CLL et un changement rapide de traitement en cas de réponse inadéquate, peut produire un taux de réponse élevé et une bonne survie dans un contexte multicentrique (190).

## VII. Plasmocytome

Les plasmocytomes solitaires sont des tumeurs plasmocytaires isolées, définies par les critères suivants :

- Lésion unique osseuse (plasmocytome solitaire) ou tissulaire (plasmocytome extra-osseux) constituée de plasmocytes clonaux ;
- Absence d'infiltration médullaire plasmocytaire anormale sur une aspiration médullaire ou une biopsie ostéoméduillaire réalisée au niveau d'un autre site ;
- Absence de lésions osseuses supplémentaires à l'IRM ou au scanner ;
- Absence de dysfonction d'organe, donc de signes CRAB.

Parmi les plasmocytomes, il faut individualiser un variant au pronostic plus péjoratif : le plasmocytome solitaire avec infiltration médullaire plasmocytaire minime, dont les critères diagnostiques sont les mêmes, à l'exception de l'infiltrat médullaire plasmocytaire clonale qui est présente et inférieure à 10 %, ce caractère clonal étant habituellement mis en évidence par immunophénotypage par cytométrie en flux sur une aspiration médullaire (191).

Le risque de progression vers un MM à trois ans est d'environ 10 % pour les plasmocytomes solitaires et d'environ 60 % pour les plasmocytomes solitaires avec infiltration médullaire minime (192).

Le dosage des CLL pour le diagnostic est inutile car peu sensible dans ce cas comparativement à l'EPS (55 % contre 72 % respectivement) [194]. En revanche, son intérêt

est pronostique, un ratio  $\kappa/\lambda$  anormal étant un facteur de risque de progression vers le MM (44 % contre 26 % à cinq ans) (4).

Dans une étude portant sur 116 patients atteints de plasmocytome solitaire suivi à la Mayo Clinic, 43 ont évolué vers un myélome avec une durée moyenne de progression de 1,8 an. Un rapport  $\kappa/\lambda$  anormal est retrouvé comme facteur de risque de progression (191).

## **VIII. Hémopathies lymphoïdes**

### **1. Leucémie lymphocytaire chronique**

Il s'agit d'une hémopathie lymphoïde B dite indolente et présentant un pronostic individuel extrêmement variable.

De nombreux marqueurs biologiques comme les CLL semblent apporter des informations pronostiques indépendantes chez les patients atteints de LLC. Il a été observé que 43 à 50 % des LLC présentaient des taux de CLL élevés et/ou des anomalies de ratio  $\kappa/\lambda$  (192) (4), et que moins de 10 % des LLC sont associées à une gammapathie monoclonale (193).

A partir de ces observations, il a été montré que des taux de CLL élevés ainsi qu'un ratio  $\kappa/\lambda$  anormal sont associés à une survie globale diminuée chez les patients atteints de LLC (194). Un ratio  $\kappa/\lambda$  anormal constituerait ainsi un sous-type de patients à mauvais pronostic dans la LLC. Cependant, il s'agit d'études préliminaires, et il n'y a à ce jour aucune recommandation pour doser les CLL dans ces pathologies (195).

## 2. Lymphome non hodgkinien (LNH)

La plus forte prévalence de ratio CLL  $\kappa/\lambda$  anormal est retrouvée pour le lymphome du manteau (196). Ce ratio anormal serait associé à une survie globale plus courte (1,4 contre 18 mois pour un ratio normal) et à une forme agressive s'il est supérieur à 2 fois la normale, tandis que la normalisation du ratio  $\kappa/\lambda$  serait corrélée à une amélioration clinique (197). Dans le cas d'un lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC), des CLL élevées sont associées à une survie globale et sans évènement plus courte. Le traitement des LBDGC permet une diminution significative du taux de CLL, ce qui permettrait de le considérer comme marqueur de réponse et/ou de rechute (198). Des résultats similaires ont été observés avec des CLL mesurées avec le réactif N Latex Free Light Chain™ (199).

Comme pour la LLC, il n'y a à ce jour aucune recommandation pour doser les CLL dans ces pathologies (195) (tableau XVIII).

**Tableau XVIII.** Synthèse des indications du dosage des CLL mc sériques.

	Diagnostique	Stratification du risque	Suivi	Réponse thérapeutique
MGUS	X	X	X	
SMM	X	X		
MM	X			X
MCL	X		X	X
Plasmocytome	X			
Amylose AL	X	X	X	X
MW				
POEMS				
Maladie de dépôts de chaînes légères	X		X	X
Hypogammaglobulinémie	X			

MCL : myélome à chaînes légères ; POEMS : Syndrome associant polyneuropathie, organomégalie, endocrinopathie, gammopathie monoclonale, anomalie cutanée (skin) ; MW : Maladie de Waldenström

## **B. Les pathologies non clonales**

Une élévation des CLL se produit également en cas de stimulation lymphocytaire B anormale et chronique, et peut donc concerner diverses pathologies inflammatoires ou auto-immunes, telles que le lupus, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjögren et le diabète type 2 et posent de nouveau la question du rôle biologique propre des CLL.

Cependant, il faut qu'on différencie entre une élévation des CLL monoclonales, qui est l'objet de ce travail, d'une CLL polyclonales.

Comme on l'a vu précédemment, et pendant des années, l'intérêt des CLL était exclusivement lié au diagnostic et au suivi des dyscrasies plasmocytaires, telles que le MM et les LLC, dans lesquels les CLL circulantes ont la particularité d'être monoclonales.

La seule méthode utile pour mettre en évidence le caractère monoclonal des CLL est l'EPS, tandis que le rapport  $\kappa/\lambda$  peut être utilisé pour confirmer l'origine monoclonale des CLL. En fait, la principale différence entre les CLL polyclonales et monoclonales est l'absence de modifications significatives du rapport  $\kappa/\lambda$  (156), qui est déterminé par les techniques de dosage des CLL traité dans le chapitre 3.

## **I. Maladies auto-immunes**

### **1. Sclérose en plaque**

La sclérose en plaque (SEP) est une maladie inflammatoire auto-immune démyélinisante de la substance blanche disséminée au sein du système nerveux central (200). Les cellules T réactives dans le cadre de la SEP semblent avoir un phénotype différent de celui des patients exempt de SEP, avec un nombre de lymphocytes CD8 autoréactifs vis-à-vis de la myéline plus important (201).

Dans le cadre de la SEP, le taux de CLL- $\kappa$  (CLL- $\lambda$  n'a pas d'intérêt dans cette indication) dans le LCR a été mesuré afin de l'intégrer dans un double ratio entre LCR et sérum. Ce ratio est nommé « fraction intrathécale », mesurée chez les patients atteints de la SEP.

$$Fi = \frac{\frac{\text{CLL intrathécale}}{\text{CLL sérique}}}{\frac{\text{Albumine intrathécale}}{\text{Albumine sérique}}}$$

Si ce ratio dépasse 5,9, la sécrétion de CLL intrathécale est considérée comme élevée. La fraction intrathécale s'avère être plus élevée chez les patients atteints de SEP que chez ceux présentant pour la première fois un épisode de démyélinisation d'origine inflammatoire appelé syndrome cliniquement isolé (SCI). Cette fraction intrathécale est elle-même plus élevée lors de SCI que chez les témoins (202).

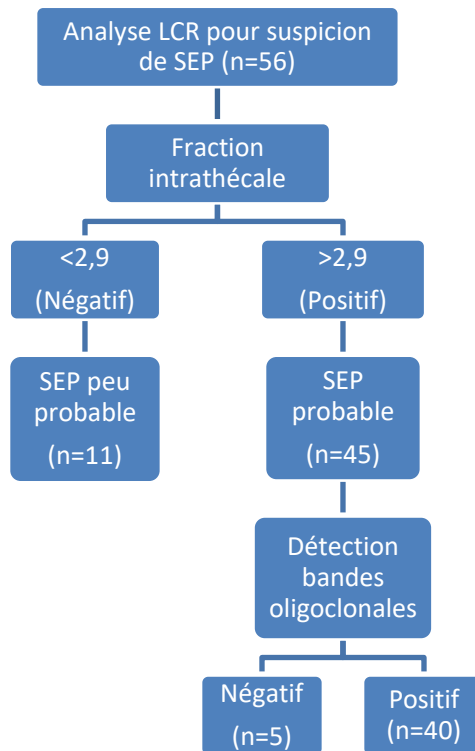
La mesure des CLL et l'index CLL-κ ont une meilleure sensibilité et elles sont plus rapide, mais elles ont une moindre spécificité que la recherche de bandes oligoclonales dans la SEP (203).

Une étude prospective (204), menée en 2020, a évalué l'utilité de la fraction intrathécale et des bandes oligoclonales (détectés par isoélectrofocalisation suivi d'une IF) afin de faciliter l'application d'algorithme de diagnostic de la SEP. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau XIX.

**Tableau XIX.** Sensibilité, spécificité de la fraction intrathécale pour le diagnostic de SEP (204).

Seuil fraction intrathécale	Sensibilité	Spécificité
>2,9	97,4%	64,7%
>4,3	94,8%	76,4%
>7,3	84,6%	82,4%

Ces résultats suggèrent que l'utilisation de la fraction intrathécale améliore l'algorithme diagnostique de la SEP, en limitant l'analyse inutile des bandes oligoclonales (figure 33). Cet algorithme a permis d'éviter l'analyse des bandes oligoclonales chez 20% des patients suspects de SEP (204).



**Figure 31.** Algorithme pour le diagnostic de la SEP basé sur la fraction intrathécale et la détection de la bande oligoclonale (206).

Le dosage des CLL- $\kappa$  dans le LCR pourrait ainsi être utile à terme pour remplacer la recherche de bandes oligoclonales dans le bilan diagnostique d'une SEP. Le ratio  $\kappa/\lambda$  dans le LCR pourrait être un outil à visée pronostique (205), permettant ainsi d'identifier précocement les patients à mauvais pronostic afin d'adapter la stratégie thérapeutique.

## 2. Le syndrome de Gougerot-Sjögren

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une maladie auto-immune chronique définie par une diminution de la sécrétion lacrymale, déterminant une xérophtalmie, et une diminution de la sécrétion salivaire entraînant une xérostomie, d'où la terminologie de « syndrome sec » parfois utilisée pour la décrire. L'association de ces deux critères est indispensable au diagnostic.

Le SGS est lié de point de vue physiopathologique à l'infiltration lymphoplasmocytaire qui affecte l'épithélium des glandes exocrines (salivaires, lacrymales, nasales, vaginales etc.) mais aussi de nombreux autres organes déterminant son caractère systémique potentiel et expliquant le polymorphisme de sa présentation, entraînant une diminution de la production de larmes et de salive avec un risque de transformation de la maladie en lymphome (206).

## **2.1. Epidémiologie**

Le SGS touche plus souvent les femmes avec un sexe-ratio de 9 femmes pour un homme et il ne semble pas exister de prédominance raciale. Son pic de fréquence se situe autour de 50 ans mais avec des extrêmes allant de 2 à 83 ans (206).

## **2.2. Intérêt des CLL**

Gottenberg et al. (207) ont constaté que 22,3% des patients présentaient des taux sériques anormaux de CLL, dont :

- 12,2% des patients présentant des taux CLL- $\kappa$  augmentés (un rapport  $\kappa/\lambda$  anormal)
- 35,3% des taux CLL- $\lambda$  augmentés (un rapport  $\kappa/\lambda$  anormal)
- 5% ont des taux augmentés de CLL- $\kappa$  et de CLL- $\lambda$
- 0,7% avec seulement un rapport  $\kappa/\lambda$  anormal.

Des niveaux élevés de CLL avec un rapport  $\kappa/\lambda$  normal ont été le plus souvent détectés chez les patients atteints de SGS associé au MGUS par rapport aux patients avec seulement SGS primaire (207). De plus, il a été rapporté que d'autres marqueurs biologiques de l'activation des lymphocytes B étaient corrélés avec les CLL chez les patients atteints de SGS primaire, tels que les auto-anticorps anti-SSA et anti-SSB (Anticorps anti-nucléaires), le facteur rhumatoïde, les taux sériques d'IgA, IgG et IgM, les facteurs d'activation des cellules B sériques et de  $\beta$ 2-microglobuline sérique (207) (208).

Les taux sériques de CLL étaient plus élevés chez les patients atteints de SGS primaire présentant des caractéristiques systémiques que chez ceux n'ayant qu'une atteinte glandulaire. L'atteinte extraglandulaire était associée à des niveaux anormaux de CLL et également à des anticorps anti-SSB (208).

Vu que la glande salivaire est le site le plus pertinent dans le SGS, il est très probable que la salive elle-même reflète tôt l'impact de la maladie par rapport au sérum [256]. En particulier, Sandhya et al. ont observé que la CLL- $\kappa$  salivaire était élevée chez 66,67% des patients par rapport aux témoins, tandis que la CLL- $\lambda$  salivaire était élevée chez 73,33% des patients par rapport aux témoins. En ce qui concerne le sérum, la CLL- $\kappa$  était anormale chez 92,3% des patients et 26,67% des témoins, tandis que la CLL- $\lambda$  sérique était anormale chez 84,61% des patients et 33,33 % des témoins, respectivement (208). Des rapports antérieurs ont montré que les glandes salivaires mineures des patients atteints de SGS primaire ont des plasmocytes monoclonaux contenant le même isotype monoclonal que celui retrouvé dans le sérum (209).

Pour ces raisons, les CLL ont été évalués dans la salive des patients SGS. Les CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  salivaires et sériques étaient plus élevées dans le SGS primaire par rapport aux témoins. De plus, les CLL- $\lambda$  salivaires et CLL- $\lambda$  sériques étaient associées à des signes et symptômes oculaires, tandis que les CLL- $\lambda$  salivaires avaient la spécificité la plus élevée et les CLL- $\kappa$  sériques la sensibilité la plus élevée pour le diagnostic de SGS primaire. Une autre combinaison de CLL- $\lambda$  salivaire et de CLL- $\kappa$  sérique a amélioré la sensibilité du test jusqu'à 100% (208) (210).

### **3. Lupus érythémateux disséminé**

Le Lupus érythémateux disséminé (LED) est une maladie auto-immune multisystémique chronique affectant principalement les femmes en âge de procréer d'origine afro-américaine (211). Les facteurs génétiques et environnementaux coopèrent pour induire le LED ainsi que pour exacerber la maladie et ses symptômes (212). L'évolution de la maladie est caractérisée par des périodes de poussées avec des phases de rémission.

L'activation des cellules B a un rôle fondamental dans la pathogenèse du LED: une hyperactivité étendue des cellules B polyclonales est généralement observée au cours de la maladie active, suivie par une synthèse d'immunoglobuline polyclonale primordiale avec une libération subséquente abondante de CLL (213).

De plus, de nombreuses autres études ont confirmé que les patients atteints de LED ont des taux sériques élevés de CLL, même en comparaison avec des sujets sains. Aggarwal et al. (214) ont déterminé les taux sériques de CLL chez les patients atteints de maladies rhumatologiques, telles que le LED et la polyarthrite rhumatoïde (PR), en observant que les concentrations de CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$  étaient élevées par rapport aux témoins, tandis que le rapport  $\kappa/\lambda$  était normal, montrant le caractère polyclonales des CLL. En outre, les taux de CLL étaient significativement plus élevés chez les patients atteints de LED que chez les patients atteints de PR, et les auteurs ont également remarqué une forte corrélation entre les CLL et l'activité de la maladie mesurée par l'évaluation globale du médecin (214).

#### **4. Polyarthrite rhumatoïde**

Gottenberg et coll. en 2007, ont analysé les CLL sériques chez 50 patients atteints de PR, en observant que les chaînes  $\kappa$  et  $\lambda$  sériques étaient significativement plus élevées que chez les témoins, tandis que le rapport  $\kappa/\lambda$  n'était pas significativement différent entre les patients et les témoins ; confirmant ainsi le caractère polyclonales des CLL : 36% des patients avaient une augmentation des CLL sériques, 30 % de chaînes  $\kappa$  augmentées (dont 6% de patients avec un rapport  $\kappa/\lambda$  accru) et 6% de chaînes  $\lambda$  augmentées (207).

## 5. Sclérodermie systémique

La sclérodermie systémique (ScS) est une maladie chronique du tissu conjonctif, principalement caractérisée par des anomalies du système immunitaire conduisant à un dysfonctionnement endothélial et une accumulation progressive de collagène dans la peau et dans différents organes internes (215).

Pour mettre en évidence le rôle des CLL dans la ScS, une étude, menée par un groupe de chercheur, a constaté que les taux sériques moyens des CLL étaient significativement plus élevés chez les patients atteints de ScS par rapport aux témoins sains. En particulier, les chaînes  $\kappa$  sériques et le rapport  $\kappa/\lambda$  étaient significativement plus élevés par rapport aux sujets sains, tandis que les chaînes  $\lambda$  sériques étaient similaires (ces résultats ont également été confirmés après correction pour l'âge et les concentrations de créatinine). De plus, des corrélations directes sont apparues entre les marqueurs d'activité de la maladie et les CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$ , mais pas avec les scores de gravité, alors qu'aucune différence n'a été notée pour les patients atteints d'une maladie active et inactive. Ils ont également trouvé une corrélation entre les CLL et l'IL-6, la protéine C-réactive et la VS dans leur cohorte de patients ScS (216).

## II. Maladies inflammatoires

Les concentrations sériques de CLL dépendent de l'équilibre entre la production de CLL (à partir des plasmocytes et de leurs progéniteurs) et la clairance rénale des CLL. Les chaînes  $\lambda$  et  $\kappa$  circulantes peuvent augmenter de 10 à 20 fois suite à la surproduction d'immunoglobulines polyclonales et/ou à une augmentation des lésions rénales (217). Une surproduction de CLL peut survenir suite à un excès de production d'anticorps par les cellules B, généralement à la suite d'une stimulation immunitaire chronique, et pour cette raison, la mesure des CLL a été proposée comme biomarqueur de l'activité des cellules B dans un certain nombre de maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes (218).

Différentes études ont montré qu'un excès de CLL libérés dans la circulation est synthétisé de novo par les cellules B mur, prouvant qu'il existe une différence structurale et conformationnelle entre les chaînes légères nouvellement synthétisées et celles sécrétées (32). Ceci confirme que les CLL ne sont pas un gaspillage de synthèse d'immunoglobuline, mais des molécules actives synthétisées suite à l'activation des cellules B, avec des propriétés immunologiques. L'étude des CLL est aujourd'hui un domaine d'intérêt croissant afin de révéler leur rôle biologique et une éventuelle utilisation clinique. De plus, l'attention portée à leur fonction a suscité un nouvel intérêt pour leur rôle potentiel dans différentes maladies inflammatoires et auto-immunes chroniques (219). Plusieurs travaux expérimentaux sur des animaux et des études in vitro ont mis en évidence la capacité des CLL à interagir avec les mastocytes et les neutrophiles, avec le potentiel de favoriser l'inflammation (220). Lorsqu'un Ag se lie aux mastocytes, les CLL se lient au complexe mastocyte-antigène, provoquant la sensibilisation de la cellule immunitaire qui est activée pour libérer des médiateurs inflammatoires (221). Par conséquent, les concentrations de CLL polyclonales reflètent le statut inflammatoire indépendamment des réactifs de phase aiguë bien connus, tels que la protéine C-réactive, que l'on trouve couramment dans les troubles auto-inflammatoires (222).

### III. Diabète type 2

La mesure des CLL sériques dans le cadre d'un diabète de type 2 pourrait être un outil de suivi précoce de la néphropathie diabétique (6). En effet, les patients diabétiques même lorsque la fonction rénale est normale (débit de filtration glomérulaire  $> 90 \text{ mL/min/1,73m}^2$ ) présentent des taux de CLL sériques plus élevés que des témoins sains. Plusieurs hypothèses sont proposées pour expliquer cette observation :

- L'état d'inflammation chronique des patients
- La sensibilité importante des CLL vis-à-vis de la filtration glomérulaire
- L'augmentation polyclonale des CLL qui pourrait être la cause de la néphropathie (6).

La CLL polyclonale est calculée en additionnant les résultats des dosages Freelite® des CLL- $\kappa$  et CLL- $\lambda$ .

Chez le patient atteint de diabète de type 2, la CLL pourrait être utilisée comme biomarqueur d'athérosclérose. En effet la CLL est associée de façon indépendante à l'extension d'une athérosclérose carotidienne (223). La concentration de CLL pouvant prédire la survenue d'évènements cardiovasculaires dans une population atteinte de diabète de type 2 a été fixée à  $57 \text{ mg/L}$  (224). L'utilisation d'un score de risque incluant la CLL ( $> 57 \text{ mg/L}$ ), le taux de triglycérides ( $> 6,7 \text{ mmol/L}$ ) ainsi que la pression artérielle systolique ( $> 155 \text{ mmHg}$ ) a été proposée. Un score de 1 ou 2 chez un patient diabétique était associé à des risques de survenue d'évènement cardiovasculaire calculés à 5,7 et 15,4 respectivement (224).



## CONCLUSION



Depuis la découverte de la protéinurie de Bence Jones en 1857 à la commercialisation du premier dosage des CLL mc, 154 ans se sont écoulés. Ce délai est le témoin de la complexité de la mise au point du dosage des CLL et de l'avancée scientifique qu'il représente. En effet, les CLL mc sont d'une grande complexité structurale à l'origine des limitations analytiques et des difficultés d'interprétation de leurs résultats indépendamment de la technique utilisée.

Des avancés techniques sont nécessaires pour une meilleure standardisation des techniques de dosage et pour surmonter les limites analytiques notamment la détection de l'excès d'antigène, le défaut de la linéarité et la variation de lot à lot.

La mise au point de ce dosage a révolutionné la prise en charge des patients atteints de dyscrasies plasmocytaires. Ces principales indications classiques en pathologie hématologique restent le diagnostic et le suivi du MM, le diagnostic des MGUS, et le suivi de la réponse thérapeutique dans l'amylose AL. Sur les 4 tests disponibles à ce jour, seul le test Freelite® a validé l'ensemble de ces résultats.

S'il est utilisé dans les indications correctes, le dosage des CLL apporte ainsi une information permettant de modifier la prise en charge des malades. Progressivement, le dosage des CLL voit ses indications s'élargir, notamment dans les pathologies non tumorales comme la SEP, et peut être prochainement d'autres pathologies auto-immunes comme le LED. Néanmoins le niveau de preuve dans les maladies auto-immunes reste assez faible et nécessite une meilleure évaluation afin de cerner les situations dans lesquelles ce dosage pourrait apporter une information modifiant la prise en charge des malades.

Ainsi l'avenir du dosage des CLL est à suivre avec une attention toute particulière.



# RESUMES



## Résumé

**Titre :** Chaînes légères libre monoclonales : de la biologie à la clinique

**Auteur :** TAQI Abdelilah

**Directeur de la thèse :** Pr. ELMACHTANI IDRISSE Samira

**Mots clés :** Chaînes légères libres monoclonales, Gammopathie monoclonale, Amylose AL, Myélome.

La production d'anticorps s'accompagne d'un léger excès de synthèse des chaînes légères d'immunoglobulines  $\kappa$  et  $\lambda$ , qui ne sont pas liées à des chaînes lourdes pour former une immunoglobuline entière, ces chaînes légères sont qualifiés de libres.

Le dosage des chaînes légères libres sériques est un marqueur important dans les dyscrasies plasmocytaires. Il est ainsi recommandé en première intention par plusieurs sociétés savantes notamment l'IMGW et la HAS, pour le diagnostic des gammopathies monoclonales, en association avec l'électrophorèse et avec l'immunofixation des protéines sériques. Son utilisation est aujourd'hui incontournable dans l'établissement de diagnostic, de pronostic et de suivi thérapeutique du myélome, des MGUS, des plasmocytomes et de l'amylose AL. Récemment, des études ont montré son intérêt également dans le diagnostic de diverses pathologies non clonales et des pathologies auto-immunes comme la SEP, la PR, le syndrome de Gougerot Sjögren et le diabète type 2.

Plusieurs techniques de dosage des CLL mc sont actuellement commercialisées, et permettent le dosage séparé des CLL $\kappa$ - et les CLL- $\lambda$  ainsi que le calcul de leur ratio  $\kappa/\lambda$ , la technique de référence à ce jour étant le Freelite®. Ces tests ne sont pas interchangeables dans le suivi de la réponse thérapeutique et présentent plusieurs difficultés analytiques liées au comportement particulier des CLL. Une discussion clinico-biologique est importante pour une meilleure prise en charge des patients.

Ce travail est une mise au point sur les caractéristiques métaboliques des CLL mc, une présentation de la plupart des méthodes analytiques commercialisés à ce jour avec leurs avantages ainsi que leurs limites, et au dernier un accent particulier sur leur utilité clinique.

## ABSTRACT

**Title:** Monoclonal free light chains : from biology to clinique

**Author:** TAQI Abdelilah

**Supervisor:** Pr. ELMACHTANI IDRISSE Samira

**Keywords:** Monoclonal Free light chains, Monoclonal gammopathy, Amylose AL, Myeloma.

The production of antibodies is accompanied by a slight excess synthesis of the light chains of  $\kappa$  and  $\lambda$  immunoglobulins, which are not linked to heavy chains to form a whole immunoglobulin; these light chains are qualified as free.

The serum free light chain is an important marker in plasma cell dyscrasias. It is therefore recommended as a first-line treatment by several international authorities, in particular the IMGW and the HAS, for the diagnosis of monoclonal gammopathies, in combination with electrophoresis and with the immunofixation of serum proteins. Its use is essential in the establishment of diagnosis, prognosis and therapeutic monitoring of myeloma, MGUS, plasmacytomas and AL amyloidosis. Recently, studies have shown its interest in the diagnosis of various non-clonal pathologies and autoimmune pathologies such as MS, RA, Gougerot Sjögren syndrome and type 2 diabetes.

Several mc FLC assay techniques are currently on the market, and allow the separate assay of  $\kappa$ -FLC and  $\lambda$ -FLC as well as the calculation of their  $\kappa / \lambda$  ratio, the reference technique to date being Freelite®. These tests are not interchangeable in monitoring therapeutic response and present several analytical difficulties related to the particular behavior of FLC. A clinical-biological discussion is important for better patient care.

This work is an update on the metabolic characteristics of mc FLC , a presentation of most of the analytical methods marketed to date with their advantages as well as their limitations, and lastly a particular emphasis on their clinical utility.

## ملخص

العنوان : السلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة: من علم الأحياء إلى الإكلينيكية

الكاتب : التقى عبد الاله

مشرف: البروفيسور المشتاني الادريسي سميرة

الكلمات الدالة : السلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة، الاعتلالات الجمامائية وحيدة النسيلة، أميلوز، ورم نخاعي.

يترافق إنتاج الأجسام المضادة مع زيادة طفيفة في تخليق السلاسل الخفيفة  $\kappa$  و  $\lambda$  من الغلوبولين المناعي ، والتي لا ترتبط بالسلاسل الثقيلة لتكوين غلوبولين مناعي كامل ، وهذه السلاسل الخفيفة تعتبر حرة.

يعد تحديد السلاسل الخفيفة الحرة في المصل علامة مهمة في امراض خلايا البلازما. لذلك يوصى به بالدرجة الأولى من قبل العديد من المجتمعات العلمية ، ولا سيما IMGW و HAS ، لتشخيص الاعتلالات الجمامائية وحيدة النسيلة ، بالاشتراك مع الرحلان الكهربائي والتنبيت المناعي لبروتينات المصل. يعد استخدامه اليوم ضروريًا في إنشاء التشخيص والتشخيص والمراقبة العلاجية للورم النخاعي و MGUS وأورام البلازما و داء الاميلوز. في الآونة الأخيرة ، أظهرت الدراسات اهتمامها أيضًا بتشخيص العديد من الأمراض غير النسيلية وأمراض المناعة الذاتية مثل مرض التصلب العصبي المتعدد ، التهاب المفاصل الروماتويدي ، متلازمة غوجريت شوجرن ومرض السكري من النوع 2.

وقد أظهرت الدراسات اهتمامها بتشخيص التصلب المتعدد وفي مختلف الأمراض غير النسيلية. يمكن أن يمتد استخدامه ، الذي أصبح ضروريًا الآن في الاورام النخاعية أو داء الاميلوز ليشمل مراقبة أمراض المناعة الذاتية.

يتم حاليًا تسويق العديد من التقنيات لفحص السلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة، وتسمح بالمقايضة المنفصلة للسلاسل كابا و السلاسل لامبدا بالإضافة إلى حساب نسبة كابا / لامبدا الخاصة بهم ، والمرجع حتى الآن هو تقنية FreeLite®. هذه الاختبارات ليست قابلة للتبديل بينها في مراقبة الاستجابة العلاجية وتقدم العديد من الصعوبات التحليلية المتعلقة بالسلوك الخاص للسلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة. المناقشة السريرية البيولوجية مهمة لتحسين رعاية المرضى.

يعد هذا العمل تحديثًا للخصائص الاستقلابية الغذائي للسلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة ، وهو عرض تقديمي لمعظم الطرق التحليلية التي تم تسويقها حتى الآن مع مزاياها بالإضافة إلى قيودها ، وأخيرًا تركيز خاص على فائدتها السريرية..



## RÉFÉRENCES



1. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clinical chemistry*. 2001;47(4):673-80.
2. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos M-V, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The lancet oncology*. 2014;15(12):e538-48.
3. Musset L, Choquet S. Dosage sérique des chaînes légères libres (CLL) d'immunoglobulines: de la biologie à la clinique. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 2006;21(5):270-8.
4. Yegin ZA, Özkurt ZN, Yağcı M. Free light chain: a novel predictor of adverse outcome in chronic lymphocytic leukemia. *European journal of haematology*. 2010;84(5):406-11.
5. van der Heijden M, Kraneveld A, Redegeld F. Free immunoglobulin light chains as target in the treatment of chronic inflammatory diseases. *European journal of pharmacology*. 2006;533(1-3):319-26.
6. Hutchison CA, Cockwell P, Harding S, Mead GP, Bradwell AR, Barnett AH. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with type II diabetes: an early marker of diabetic kidney disease? Expert opinion on therapeutic targets. 2008;12(6):667-76.
7. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free  $\kappa$  and free  $\lambda$  immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clinical chemistry*. 2002;48(9):1437-44.
8. Jones HB. On a new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. In: *Abstracts of the Papers Communicated to the Royal Society of London*. The Royal Society London; 1851. p. 673-673.
9. Grabar P, Williams CA. Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. *Biochimica et biophysica acta*. 1953;10:193-4.
10. Korngold L, Lipari R. Multiple-myeloma proteins. III. The antigenic relationship of Bence Jones proteins to normal gamma-globulin and multiple-myeloma serum proteins. *Cancer*. 1956;9(2):262-72.
11. Söulling K. Free light chains of immunoglobulins in normal serum and urine determined by radioimmunoassay. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1975;35(5):407-12.

12. Cole PW, Durie BG, Salmon SE. Immunoquantitation of free light chain immunoglobulins: applications in multiple myeloma. *Journal of immunological methods*. 1978;19(4):341-9.
13. Whicher JT, Hawkins L, Higginson J. Clinical applications of immunofixation: a more sensitive technique for the detection of Bence Jones protein. *Journal of clinical pathology*. 1980;33(8):779-80.
14. Durie BG, Kyle RA, Belch A, Bensinger W, Blade J, Boccadoro M, et al. Myeloma management guidelines: a consensus report from the Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. *Hematology Journal*. 2003;4(6):379-98.
15. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Blade J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20(9):1467-73.
16. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*. 2009;23(2):215-24.
17. Bird J, Behrens J, Westin J, Turesson I, Drayson M, Beetham R, et al. UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *British journal of haematology*. 2009;147(1):22-42.
18. Srour N. Impact de la production des immunoglobulines tronquées sur le développement lymphocytaire B normal et tumoral [PhD Thesis]. Limoges; 2016.
19. Verebi C, Talbot A, Gendron N, Hurtado-Nedelec M. Intérêt du dosage des chaînes légères libres dans le cadre de gammopathies monoclonales, autres hémopathies malignes et maladies auto-immunes. In: *Annales de Biologie Clinique*. 2019. p. 397-406.
20. Day ED, Day ED. *Advanced immunochemistry*. Am Assoc Immunol; 1990.
21. Chothia C, Lesk AM, Tramontano A, Levitt M, Smith-Gill SJ, Air G, et al. Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. *Nature*. 1989;342(6252):877-83.
22. Mian IS, Bradwell AR, Olson AJ. Structure, function and properties of antibody binding sites. *Journal of molecular biology*. 1991;217(1):133-51.
23. Salaün H, Ternant D, Cancel M, Linassier C, Paintaud G. Pharmacology of monoclonal antibodies for therapeutic use against cancer. *Innovations & Thérapeutiques en Oncologie*. 2019;5(5):255-66.

24. Early P, Huang H, Davis M, Calame K, Hood L. An immunoglobulin heavy chain variable region gene is generated from three segments of DNA: VH, D and JH. *Cell*. 1980;19(4):981-92.
25. McBRIDE OW, Heiter PA, Hollis GF, Swan D, Otey MC, Leder P. Chromosomal location of human kappa and lambda immunoglobulin light chain constant region genes. *The Journal of experimental medicine*. 1982;155(5):1480-90.
26. Malcolm S, Barton P, Murphy C, Ferguson-Smith MA, Bentley DL, Rabbitts TH. Localization of human immunoglobulin kappa light chain variable region genes to the short arm of chromosome 2 by in situ hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1982;79(16):4957-61.
27. Solomon A. *Light chains of immunoglobulins: structural-genetic correlates*. 1986;
28. Dorshkind K, Rawlings DJ. *B-cell development in : Hematology*. Seventh Edition. 2018. 210-220 p.
29. Gubler B, Carcelain G. *Les lymphocytes B : diversité et ontogenèse*. Paris Elsevier 2018 ; p. 70-8. In: *Immunologie fondamentale et immunopathologie Enseignements thématique et intégré - Tissu lymphoïde et sanguin/Immunopathologie et immunointervention*. Paris: Elsevier; 2018. p. 70-8.
30. Melchers F, Ten Boekel E, Seidl T, Kong XC, Yamagami T, Onishi K, et al. Repertoire selection by pre-B-cell receptors and B-cell receptors, and genetic control of B-cell development from immature to mature B cells. *Immunological reviews*. 2000;175(1):33-46.
31. Bradwell AR. *Serum Free Light Chain Analysis* 4th edition. 2006;
32. Nakano T, Matsui M, Inoue I, Awata T, Katayama S, Murakoshi T. Free immunoglobulin light chain: its biology and implications in diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2011;412(11-12):843-9.
33. Köhler G. Immunoglobulin chain loss in hybridoma lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1980;77(4):2197-9.
34. Solomon A, McLaughlin CL. Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobulins: I. Formation and characterization of amino-terminal (variant) and carboxyl-terminal (constant) halves. *Journal of Biological Chemistry*. 1969;244(12):3393-404.
35. Mogensen CE, Sølling K. Studies on renal tubular protein reabsorption: partial and near complete inhibition by certain amino acids. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1977;37(6):477-86.

36. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA, Bradwell AR. Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *British journal of haematology*. 2004;126(3):348-54.
37. Wochner RD, Strober W, Waldmann TA. The role of the kidney in the catabolism of Bence Jones proteins and immunoglobulin fragments. *The Journal of experimental medicine*. 1967;126(2):207-21.
38. Batuman V, Verroust PJ, Navar GL, Kaysen JH, Goda FO, Campbell WC, et al. Myeloma light chains are ligands for cubilin (gp280). *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 1998;275(2):F246-54.
39. Klassen RBS, Allen PL, Batuman V, Crenshaw K, Hammond TG. Light chains are a ligand for megalin. *Journal of applied physiology*. 2005;98(1):257-63.
40. Waldmann TA, Strober W, Mogielnicki RP. The renal handling of low molecular weight proteins: II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *The Journal of clinical investigation*. 1972;51(8):2162-74.
41. Clyne DH, Pollak VE. Renal Handling and Pathophysiology of Bence Jones Proteins<sup>1</sup>. In: *Experimental and Clinical Aspects of Proteinuria*. Karger Publishers; 1981. p. 78-87.
42. Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC, Lymp JF, Larson T, Kyle RA, et al. Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma. *Clinical Chemistry*. 2002;48(4):655-7.
43. Torres M, Casadevall A. The immunoglobulin constant region contributes to affinity and specificity. *Trends in immunology*. 2008;29(2):91-7.
44. Painter RG, Sage HJ, Tanford C. Contributions of heavy and light chains of rabbit immunoglobulin G to antibody activity. II. Binding activities of reconstituted immunoglobulins. *Biochemistry*. 1972;11(8):1338-45.
45. Polymenis M, Stollar BD. Domain interactions and antigen binding of recombinant anti-Z-DNA antibody variable domains. The role of heavy and light chains measured by surface plasmon resonance. *The Journal of Immunology*. 1995;154(5):2198-208.
46. Franěk F, Nezlin RS. Recovery of antibody combining activity by interaction of different peptide chains isolated from purified horse antitoxins. *Folia microbiologica*. 1963;8(2):128-30.
47. Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S al, Robinson G, Hammers C, Songa EB, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*. 1993;363(6428):446-8.

48. Wardemann H, Hammersen J, Nussenzweig MC. Human autoantibody silencing by immunoglobulin light chains. *The Journal of experimental medicine*. 2004;200(2):191-9.
49. Redegeld FA, van der Heijden MW, Kool M, Heijdra BM, Garssen J, Kraneveld AD, et al. Immunoglobulin-free light chains elicit immediate hypersensitivity-like responses. *Nature medicine*. 2002;8(7):694-701.
50. Redegeld FA, Nijkamp FP. Immunoglobulin free light chains and mast cells: pivotal role in T-cell-mediated immune reactions? *Trends in immunology*. 2003;24(4):181-5.
51. Thio M, Kormelink TG, Fischer MJ, Blokhuis BR, Nijkamp FP, Redegeld FA. Antigen binding characteristics of immunoglobulin free light chains: crosslinking by antigen is essential to induce allergic inflammation. *PLoS One*. 2012;7(7):e40986.
52. Nakano T, Takahashi H, Miyazaki S, Kawai S, Shinozaki R, Komoda T, et al. Antigen-specific free immunoglobulin light-chain antibodies: could it be a new diagnostic marker for patients with allergy? *Clinical biochemistry*. 2006;39(9):955-9.
53. Cohen G, Haag-Weber M, Mai B, Deicher R, Hörl WH. Effect of immunoglobulin light chains from hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients on polymorphonuclear leukocyte functions. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1995;6(6):1592-9.
54. Jacobson DR, Zolla-Pazner S. Immunosuppression and infection in multiple myeloma. In: *Seminars in oncology*. 1986. p. 282-90.
55. Matsumori A, Shimada M, Jie X, Higuchi H, Redegeld FA. Effects of free immunoglobulin light chains on viral myocarditis. *Circulation research*. 2010;106(9):1533-40.
56. Zhu L, Herrera GA, Murphy-Ullrich JE, Huang Z-Q, Sanders PW. Pathogenesis of glomerulosclerosis in light chain deposition disease. Role for transforming growth factor-beta. *The American journal of pathology*. 1995;147(2):375.
57. Boivin D, Provençal M, Gendron S, Ratel D, Demeule M, Gingras D, et al. Purification and characterization of a stimulator of plasmin generation from the antiangiogenic agent Neovastat: identification as immunoglobulin kappa light chain. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2004;431(2):197-206.
58. Sun M, Gao QS, Li L, Paul S. Proteolytic activity of an antibody light chain. *The Journal of Immunology*. 1994;153(11):5121-6.
59. Thiagarajan P, Dannenbring R, Matsuura K, Tramontano A, Gololobov G, Paul S. Monoclonal antibody light chain with prothrombinase activity. *Biochemistry*. 2000;39(21):6459-65.

60. Kozyraki R, Fyfe J, Verroust PJ, Jacobsen C, Dautry-Varsat A, Gburek J, et al. Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(22):12491-6.
61. Berggard I, Peterson PA. Polymeric forms of free normal  $\kappa$  and  $\lambda$  chains of human immunoglobulin. *Journal of Biological Chemistry*. 1969;244(16):4299-307.
62. Sirac C, Batuman V, Sanders PW. The Proximal Tubule Toxicity of Immunoglobulin Light Chains. *Kidney International Reports*. 2021;
63. Baden EM, Sikkink LA, Ramirez-Alvarado M. Light chain amyloidosis-current findings and future prospects. *Current Protein and Peptide Science*. 2009;10(5):500-8.
64. Mattmann S, Renier G, Chevaller A. L'étape pré-analytique en immunologie. *Revue Française des Laboratoires*. 1999;1999(317):57-62.
65. Lapalus E, Chevaller A. Diagnostic biologique d'une immunoglobuline monoclonale. *Revue Française des Laboratoires*. 2000;2000(327):67-74.
66. Bene MC. Obtention et préparation des échantillons In: Bene MC, Faure GC,(Eds) *Exploration fonctionnelle de l'immunité humorale*. E Minter, Cachan. 1997;129-32.
67. Ricos C, Jiménez CV, Hernández A, Simón M, Perich C, Alvarez V, et al. Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clinical chemistry*. 1994;40(3):472-7.
68. Alyanakian M-A, Abbas A, Delarue R, Arnulf B, Aucouturier P. Free immunoglobulin light-chain serum levels in the follow-up of patients with monoclonal gammopathies: Correlation with 24-hr urinary light-chain excretion. *American journal of hematology*. 2004;75(4):246-8.
69. Wolff F, Thiry C, Willems D. Assessment of the analytical performance and the sensitivity of serum free light chains immunoassay in patients with monoclonal gammopathy. *Clinical biochemistry*. 2007;40(5-6):351-4.
70. Retornaz F, Potard I, Franqui C, Benezech L, Halfon P, Rousseau F, et al. Conduite à tenir devant la découverte d'un pic monoclonal à l'électrophorèse des protéines. *Annales de Gériatrie*. 2010;3(1):15-21.
71. Bradwell AR. *Serum Free Light Chain Analysis (plus Hevylite)*. 5th edition. Birmingham; 2008.
72. Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. *Clinical chemistry*. 2000;46(8):1230-8.

73. Sebia. hydragel bence jones [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: [https://www.sebia.com/sites/site/files/styles/block\\_417/public/TEST-H-%20Hydragel%20BJ.jpg?itok=8yTWM9v\\_](https://www.sebia.com/sites/site/files/styles/block_417/public/TEST-H-%20Hydragel%20BJ.jpg?itok=8yTWM9v_)
74. Dejoie T, Lakomy D, Caillon H, Pegourié B, Decaux O. IFM (Intergroupe francophone du myélome) recommendations for uniform interpretation of serum and urine protein electrophoresis in multiple myeloma diagnosis and follow-up. In: *Annales de biologie clinique*. 2016. p. 429-41.
75. The Binding Site. Présentation de freelite [Internet]. [cité 6 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.fr.bindingsite.com/fr-fr/our-products/freelite-and-hevylite/freelite/overview/freelite>.
76. The Binding Site. monoclonal vs polyclonal epitopes [Internet]. [cité 7 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.fr.bindingsite.com/-/media/translated-images/french-images/monoclonal-vs-polyclonal-epitopesfrdtp2.jpg?la=fr-fr&h=247&w=800&hash=B20EED052AA7E632E01377B14261686D9C504F0E>
77. Tate J, Bazeley S, Sykes S, Mollee P. Quantitative serum free light chain assay—analytical issues. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2009;30(3):131.
78. Lopez J, Dauwalder O, Joly P, Dimet I, Bienvenu J, Bernon H. Intérêt et limites des dosages sériques et urinaires des chaînes légères libres pour le diagnostic et le suivi des dysglobulinémies monoclonales. In: *Annales de Biologie Clinique*. 2006. p. 287-97.
79. Tate JR, Mollee P, Dimeski G, Carter AC, Gill D. Analytical performance of serum free light-chain assay during monitoring of patients with monoclonal light-chain diseases. *Clinica chimica acta*. 2007;376(1-2):30-6.
80. Vercammen M, Meirlaen P, Broodtaerts L, Broek IV, Bossuyt X. Effect of sample dilution on serum free light chain concentration by immunonephelometric assay. *Clinica Chimica Acta*. 2011;412(19-20):1798-804.
81. Jaskowski TD, Litwin CM, Hill HR. Detection of  $\kappa$  and  $\lambda$  light chain monoclonal proteins in human serum: automated immunoassay versus immunofixation electrophoresis. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2006;13(2):277-80.
82. Tate JR, Gill D, Cobcroft R, Hickman PE. Practical considerations for the measurement of free light chains in serum. *Clinical chemistry*. 2003;49(8):1252-7.
83. The Binding Site. Optilite [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: [https://www.selectscience.net/images/products/4030\\_Optilite\\_1.jpg](https://www.selectscience.net/images/products/4030_Optilite_1.jpg)
84. Kerr J, Ahaliwal S, Kausar S, Murphy F, Harding S. Evaluation of serum IgM Hevylite assays; IgM kappa and IgM lambda for use on the Binding Site Optilite analyser. *Clinical Chemistry*. 2015;61:A201a.

85. Thouless S, Overton J, Kenny P, Harding S. Evaluation of the analytical performance of multiple Otilite systems under routine conditions. *Clinical Chemistry*. 2015;61:A240a.
86. Leung F, Spencer M, Blasutig IM. Evaluation of free light chains and various protein assays on the Otilite® turbidimetric analyser. Presented at AACC. 2017;B-357a.
87. Southan L, Brown A, Coley M, Kaur A, Showell P. Performance of serum IgA kappa and IgA lambda assays for use on the Binding Site Otilite protein analyser. *Clinical Chemistry*. 2015;61:A187a.
88. Brook H, Jamil O, Mcentee D, Murphy F, Mccusker M, Matters D, et al. Evaluation of the Freelite MX™ kappa free and lambda free assays on the binding site Otilite® turbidimetric analyzer using CSF samples. *Clinica Chimica Acta*. 2019;493:S18-9.
89. Coley MD, Sharp KL, Harding SJ. Incidence of antigen excess utilising the Freelite® assays on the Otilite® analyser. Presented at AACC. 2018;A-016a.
90. The Binding Site. SPAplus overview [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.binding-site.com/fr-fr/our-products/clinical-chemistry/spa-plus/overview>
91. Marionneaux S, Zetlmeisl M, van Hoeven K, Fagan D, Elkins B, Shulman S. Analytical evaluation of kappa and lambda serum free light chains on the binding site SPA (PLUS)(TM). In: *CLINICAL CHEMISTRY. AMER ASSOC CLINICAL CHEMISTRY 2101 L STREET NW, SUITE 202, WASHINGTON, DC ...*; 2008. p. A125-A125.
92. Matters DJ, Showell PJ, Harding SJ, Carr-Smith HD, Smith LJ. Inter-batch variation and within batch precision of The Binding Site Freelite light chain assays. *Clin Chem*. 2013;59:A - 253a.
93. Ludwig J, Aulmann M, Zorn M, Nawroth P. Evaluation of the SPAPLUS for serum free light chain measurement. *Hematology meeting reports*. 2008;2:A1a.
94. Laurent G, Calvez J, Hombrouck C, Estepa L. METHOD VERIFICATION OF SPAPLUS ANALYZER FOR SPECIFIC PROTEIN ASSAYS: T384. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2015;53.
95. Cha K-H, Sim YB, Chae H, Park H, Kim M, Kim Y. The analytical performance evaluation of Freelite™ Human Kappa Free and Human Lambda Free on the SPAPLUS™ immunoturbidimetric analyzer. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2014;28(3):229-36.
96. The Binding Site. MININEPHPLUS™ overview [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <http://www.npt.ir/index.aspx?fkeyid=&siteid=1&pageid=390>
97. Npt.ir. Freelite® Human Kappa Free Kit for use on the MININEPHPLUS™ [Internet]. 2014 [cité 6 févr 2021]. Disponible sur: <http://npt.ir/uploads/VK016.pdf>.

98. Npt.ir. Freelite® Human lambda Free Kit for use on the MININEPHPLUS™ [Internet]. 2014 [cité 6 févr 2021]. Disponible sur: <http://npt.ir/uploads/VK018.pdf>.
99. beckman coulter. IMAGE 800 overview [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.beckmancoulter.com/products/protein-chemistry/image-800>
100. peramed.com. Freelite® Human Kappa Free Kit For use on the Beckman Coulter IMAGE® /IMAGE® 800 [Internet]. 2013 [cité 6 févr 2021]. Disponible sur: [http://peramed.com/peramed/docs/LK016.IM\\_EN.pdf](http://peramed.com/peramed/docs/LK016.IM_EN.pdf)
101. peramed.com. Freelite® Human Lambda Free Kit For use on the Beckman Coulter IMAGE® /IMAGE® 800 [Internet]. 2013 [cité 6 févr 2021]. Disponible sur: [http://peramed.com/peramed/docs/LK018.IM\\_EN.pdf](http://peramed.com/peramed/docs/LK018.IM_EN.pdf)
102. beckmancoulter.com. IMAGE® Immunochemistry Systems Chemistry Information Sheet [Internet]. 2010 [cité 6 févr 2021]. Disponible sur: [https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/988640/AF/EN\\_KA\\_P.pdf](https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/988640/AF/EN_KA_P.pdf)
103. Roche. cobas integra 400 plus [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-integra-400-plus.html>
104. npt.ir. Freelite® Human Kappa Free kit for use on the Roche cobas integra® [Internet]. 2014 [cité 10 févr 2020]. Disponible sur: <npt.ir/uploads/LK016.RI.pdf>
105. npt.ir. Freelite® Human Lambda Free kit for use on the Roche cobas integra® [Internet]. 2014 [cité 10 févr 2020]. Disponible sur: <npt.ir/uploads/LK018.RI.pdf>
106. npt.ir. Freelite® Human Kappa Free kit for use on the HITACHI 911/912/917/Modular P [Internet]. 2014 [cité 10 févr 2020]. Disponible sur: <npt.ir/uploads/LK016.H.pdf>
107. npt.ir. Freelite® Human Lambda Free kit for use on the HITACHI 911/912/917/Modular P [Internet]. 2014 [cité 10 févr 2020]. Disponible sur: <npt.ir/uploads/LK018.H.pdf>
108. Siemens. Siemens bn II [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://bimedis.com/siemens-bn-ii-m94694>
109. peramed.com. Freelite® Human Kappa Free kit for use on the Siemens BN™II [Internet]. 2015 [cité 9 févr 2020]. Disponible sur: [peramed.com/peramed/docs/LK016.L.T\\_EN.pdf](peramed.com/peramed/docs/LK016.L.T_EN.pdf)
110. peramed.com. Freelite® Human LambdaFree kit for use on the Siemens BN™II [Internet]. 2015 [cité 9 févr 2020]. Disponible sur: [peramed.com/peramed/docs/LK018.L.T\\_EN.pdf](peramed.com/peramed/docs/LK018.L.T_EN.pdf)

111. peramed.com. Freelite® Human Kappa Free kit for use on the Siemens BN ProSpec® [Internet]. 2013 [cité 9 févr 2020]. Disponible sur: [peramed.com/peramed/docs/LK016.P\\_EN.pdf](http://peramed.com/peramed/docs/LK016.P_EN.pdf)
112. peramed.com. Freelite® Human Lambda Free kit for use on the Siemens BN ProSpec® [Internet]. 2013 [cité 9 févr 2020]. Disponible sur: [peramed.com/peramed/docs/LK016.P\\_EN.pdf](http://peramed.com/peramed/docs/LK016.P_EN.pdf)
113. Jacobs JF, de Kat Angelino CM, Brouwers HM, Croockewit SA, Joosten I, van der Molen RG. Evaluation of a new free light chain ELISA assay: bringing coherence with electrophoretic methods. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018;56(2):312-22.
114. Lutteri L, Aldenhoff M-C, Cavalier E. Evaluation of the new Sebia free light chain assay using the AP22 ELITE instrument. *Clinica Chimica Acta*. 2018;487:161-7.
115. Sebia. Sebia zoom N7-sebia-CLL [Internet]. 2017 [cité 22 févr 2021]. Disponible sur: [https://www.sebia.com/sites/site/files/Sebia%20ZOOM%20N7-sebia%20CLL\\_0.pdf](https://www.sebia.com/sites/site/files/Sebia%20ZOOM%20N7-sebia%20CLL_0.pdf).
116. White-Al Habeeb NM, Earle T, Spencer M, Blasutig IM. Evaluation of the N-latex serum free light chain assay on the Siemens BNII analyzer and agreement with The Binding Site FreeLite assay on the SPAPLus. *Clinical biochemistry*. 2018;51:90-6.
117. te Velthuis H, Knop I, Stam P, van den Broek M, Bos HK, Hol S, et al. N Latex FLC—new monoclonal high-performance assays for the determination of free light chain kappa and lambda. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2011;49(8):1323-32.
118. Lock RJ, Saleem R, Roberts EG, Wallage MJ, Pesce TJ, Rowbottom A, et al. A multicentre study comparing two methods for serum free light chain analysis. *Annals of clinical biochemistry*. 2013;50(3):255-61.
119. Schneider N, Wynckel A, Kolb B, Sablon É, Gillery P, Maquart F-X. Étude comparative du dosage des chaînes légères libres d'immunoglobulines par technique Freelite™(The Binding Site) et N Latex FLC (Siemens). In: *Annales de Biologie Clinique*. 2013. p. 13-9.
120. Kubicki T, Dytfeld D, Baszczuk A, Wysocka E, Komarnicki M, Lewandowski K. Clinical usefulness of serum free light chains measurement in patients with multiple myeloma: comparative analysis of two different tests. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*. 2017;71.
121. cdn0.scrvt.com. BN®II brochure [Internet]. 2011 [cité 19 févr 2021]. Disponible sur: [https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000004852319/020fb43c048d/BN\\_II\\_brochure\\_Final\\_1800000004852319.pdf](https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000004852319/020fb43c048d/BN_II_brochure_Final_1800000004852319.pdf).

122. Multicenter Evaluation of New Free Light Chain Methods [Internet]. [cité 20 juin 2021]. Disponible sur: [https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000001341950/366992d3c6c8/FLC\\_AACC\\_Poster\\_1800000001341950.pdf](https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000001341950/366992d3c6c8/FLC_AACC_Poster_1800000001341950.pdf)
123. cdn0.scrvt.com. BN® ProSpec brochure [Internet]. 2011 [cité 19 févr 2021]. Disponible sur: [https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000001342655/35ea25b5b826/BN\\_Prospec\\_Brochure\\_1800000001342655.pdf](https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000001342655/35ea25b5b826/BN_Prospec_Brochure_1800000001342655.pdf).
124. Siemens. Atellica NEPH 630 System Smart, Simple, and Secure Protein Testing [Internet]. [cité 19 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.siemens-healthineers.com/plasma-protein/systems/atellica-neph-630-system#ASSAYS>.
125. Abingdon health. Abingdon Health seralite [Internet]. 2021 [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.abingdonhealth.com/app/uploads/2021/01/Abingdon-Health-48-2-720x500-c-default.jpg>
126. Te Velthuis H, Drayson M, Campbell JP. Measurement of free light chains with assays based on monoclonal antibodies. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2016;54(6):1005-14.
127. Campbell JP, Cobbold M, Wang Y, Goodall M, Bonney SL, Chamba A, et al. Development of a highly-sensitive multi-plex assay using monoclonal antibodies for the simultaneous measurement of kappa and lambda immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Journal of immunological methods*. 2013;391(1-2):1-13.
128. Wild D. *The immunoassay handbook: theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques*. Newnes; 2013.
129. Campbell JP, Heaney JL, Shemar M, Baldwin D, Griffin AE, Oldridge E, et al. Development of a rapid and quantitative lateral flow assay for the simultaneous measurement of serum  $\kappa$  and  $\lambda$  immunoglobulin free light chains (FLC): inception of a new near-patient FLC screening tool. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017;55(3):424-34.
130. Heaney JL, Campbell JP, Griffin AE, Birtwistle J, Shemar M, Child JA, et al. Diagnosis and monitoring for light chain only and oligosecretory myeloma using serum free light chain tests. *British journal of haematology*. 2017;178(2):220-30.
131. Mollee P, Pretorius C, Drayson MT, Tate J. Clinical Comparison of a New Serum Free Light Chain (FLC) Assay Based on the Seralite Monoclonal Anti-FLC Antibodies with the Freelite and N-Latex FLC Assays in the Diagnosis of AL Amyloidosis. *Blood*. 2017;130(Supplement 1):4345-4345.

132. Jacobs JF, Hoedemakers RM, Teunissen E, Te Velthuis H. N Latex FLC serum free light-chain assays in patients with renal impairment. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2014;52(6):853-9.
133. Hoedemakers RM, Pruijt JF, Hol S, Teunissen E, Martens H, Stam P, et al. Clinical comparison of new monoclonal antibody-based nephelometric assays for free light chain kappa and lambda to polyclonal antibody-based assays and immunofixation electrophoresis. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2012;50(3):489-95.
134. Lutteri L, Jacobs JF. Reference ranges of the Sebia free light chain ratio in patients with chronic kidney disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018;56(9):e232-4.
135. VanDuijn MM, Jacobs JF, Wevers RA, Engelke UF, Joosten I, Luider TM. Quantitative measurement of immunoglobulins and free light chains using mass spectrometry. *Analytical chemistry*. 2015;87(16):8268-74.
136. Giussani M, Ciniselli CM, Macciotta A, Panella R, Verderio P, Bonini C, et al.  $\kappa$  and  $\lambda$  urine free light chains: a new method for quantification. *Tumori Journal*. 2020;0300891619898533.
137. QUALAB. Directive pour le contrôle de qualité interne. [Internet]. 2020 [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: [https://www.qualab.swiss/view/data/6254/Interne%20Qualit%C3%A4tskontrolle/Archiv%20Richtlinien/qualab\\_iqc\\_v12\\_0\\_f%20\(Stand%202020-10-09\)%20final.pdf](https://www.qualab.swiss/view/data/6254/Interne%20Qualit%C3%A4tskontrolle/Archiv%20Richtlinien/qualab_iqc_v12_0_f%20(Stand%202020-10-09)%20final.pdf)
138. Probioqual. CIQ LISTE DES ANALYTES [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: [https://www.probioqual.com/03\\_CIQ/1011\\_CIQ\\_LISTE\\_DES\\_ANALYTES\\_FR.php](https://www.probioqual.com/03_CIQ/1011_CIQ_LISTE_DES_ANALYTES_FR.php)
139. Bio-Rad. inteliq immunology control [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.bio-rad.com/en-ma/product/inteliq-immunology-control?ID=PR6CW8511OPG>
140. Bio-Rad. Liquichek immunology control [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.bio-rad.com/en-ma/product/liquichek-immunology-control?ID=5db2fac7-8d80-4067-ad75-fe302d7078d2>
141. Bio-Rad. Lyphochek immunology plus control [Internet]. [cité 8 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.bio-rad.com/en-ma/product/lyphochek-immunology-plus-control?ID=9c166dee-ff64-4728-ba42-4d9aa828277e>
142. Braga F, Infusino I, Dolci A, Panteghini M. Biological variation of free light chains in serum. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2012;415:10-1.
143. Katzmann JA, Snyder MR, Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Benson JT, et al. Long-term biological variation of serum protein electrophoresis M-spike, urine M-spike,

and monoclonal serum free light chain quantification: implications for monitoring monoclonal gammopathies. *Clinical chemistry*. 2011;57(12):1687-92.

144. ANSM. Rapports annuels des Organismes d'évaluation externe de la qualité [Internet]. 2020 [cité 1 mars 2021]. Disponible sur: [https://www.ansm.sante.fr/content/download/191849/2511685/version/1/file/20210217\\_synthese-rapport\\_annuel\\_organismes\\_notifies\\_2020.pdf](https://www.ansm.sante.fr/content/download/191849/2511685/version/1/file/20210217_synthese-rapport_annuel_organismes_notifies_2020.pdf).
145. immqas. UK NEQAS immunology, immunochemistry & allergy [Internet]. [cité 7 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.immqas.org.uk/>
146. Instand. INSTAND Program of External Quality Assessment Schemes in Medical Laboratories [Internet]. [cité 8 mars 2021]. Disponible sur: [https://www.instand-ev.de/fileadmin/uploads/Ringversuche/Programm/INSTAND-Katalog\\_2021\\_EN.pdf](https://www.instand-ev.de/fileadmin/uploads/Ringversuche/Programm/INSTAND-Katalog_2021_EN.pdf).
147. Chae H, Yoo J, Park J, Cha K, Lee JJ, Cho B, et al. Analysis of a 6-year pilot external quality assurance survey of free light chain using Sigma metrics. *Journal of Laboratory Medicine*. 2019;43(5):235-42.
148. Solomon A, Waldmann TA, Fahey JL, McFarlane AS. Metabolism of Bence Jones proteins. *The Journal of clinical investigation*. 1964;43(1):103-17.
149. Tate J, Jovanovich S, Mollee P, Chiu W, Wienholt L, Gillis D, et al. Recommendations for Serum Free Light Chains (Sflc) Measurement in Routine Laboratories. *Internal Medicine Journal*. 2014;44:28-28.
150. beckman coulter. MMAGE® Immunochemistry Systems Chemistry Information Sheet [Internet]. 2010 [cité 6 févr 2021]. Disponible sur: [https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/988640/AF/EN\\_KA\\_P.pdf](https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/988640/AF/EN_KA_P.pdf)
151. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, Fermand JP, Hazenberg BP, Hawkins PN, et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis. *American journal of hematology*. 2005;79(4):319-28.
152. Dispenzieri A, Zhang L, Katzmann JA, Snyder M, Blood E, DeGoey R, et al. Appraisal of immunoglobulin free light chain as a marker of response. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2008;111(10):4908-15.
153. Mollee P, Tate J. Monitoring of light chain myeloma-time for a change. *Br J Haematol*. 2017;178:177-8.
154. Levinson SS. Complementarily of urine analysis and serum free light chain assay for assessing response treatment response: illustrated by three case examples. *Clinica Chimica Acta*. 2011;412(23-24):2206-10.

155. Palladini G, Jaccard A, Milani P, Lavergne D, Foli A, Bender S, et al. Circulating free light chain measurement in the diagnosis, prognostic assessment and evaluation of response of AL amyloidosis: comparison of Freelite and N latex FLC assays. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017;55(11):1734-43.
156. Briand P-Y, Decaux O, Caillon H, Grosbois B, Le Treut A, Guenet L. Analytical performance of the serum free light chain assay. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2010;48(1):73-9.
157. Soh KT, Tario JD, Wallace PK. Diagnosis of plasma cell dyscrasias and monitoring of minimal residual disease by multiparametric flow cytometry. *Clinics in laboratory medicine*. 2017;37(4):821-53.
158. Katzmann JA. Screening panels for monoclonal gammopathies: time to change. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2009;30(3):105.
159. Greipp PR, Miguel JS, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, et al. International staging system for multiple myeloma. *Journal of clinical oncology*. 2005;23(15):3412-20.
160. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, Larson DR, Snyder MR, Lust JA, et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clinical chemistry*. 2009;55(8):1517-22.
161. Weiss BM, Abadie J, Verma P, Howard RS, Kuehl WM. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood*. 2009;113(22):5418-22.
162. Snozek CLH, Katzmann JA, Kyle RA, Dispenzieri A, Larson DR, Therneau TM, et al. Prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed incorporation into the international staging system. *Leukemia*. 2008;22(10):1933-7.
163. Tacchetti P, Cavo M, Rocchi S, Pezzi A, Pantani L, Brioli A, et al. Prognostic impact of serial measurements of serum-free light chain assay throughout the course of newly diagnosed multiple myeloma treated with bortezomib-based regimens. *Leukemia & lymphoma*. 2016;57(9):2058-64.
164. Abbi KKS, Silverman M, Farooq U, Tricot A, Dozeman L, Nadiminti K, et al. Potential pitfalls of serum free light chain analysis to assess treatment response for multiple myeloma. *British journal of haematology*. 2016;174(4):536-40.
165. Rajkumar SV, Harousseau J-L, Durie B, Anderson KC, Dimopoulos M, Kyle R, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood*. 2011;117(18):4691-5.

166. Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H, Bradwell AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2001;97(9):2900-2.
167. Katzmann JA, Abraham RS, Dispenzieri A, Lust JA, Kyle RA. Diagnostic performance of quantitative  $\kappa$  and  $\lambda$  free light chain assays in clinical practice. *Clinical chemistry*. 2005;51(5):878-81.
168. Milani P, Palladini G, Merlini G. Serum-free light-chain analysis in diagnosis and management of multiple myeloma and related conditions. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2016;76(sup245):S113-8.
169. Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, Dispenzieri A, Kurtin PJ, Hodnefield JM, et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(25):2582-90.
170. Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Therneau TM, Larson D, Benson J, et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2008;111(2):785-9.
171. Kastritis E, Terpos E, Moulopoulos L, Spyropoulou-Vlachou M, Kanellias N, Eleftherakis-Papaiakovou E, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia*. 2013;27(4):947-53.
172. Larsen JT, Kumar SK, Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Rajkumar SV. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia*. 2013;27(4):941-6.
173. Go RS, Rajkumar SV. How I manage monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2018;131(2):163-73.
174. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF, et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(8):564-9.
175. Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, Larson DR, Melton III LJ, Colby CL, et al. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *The Lancet*. 2010;375(9727):1721-8.

176. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, Cerhan JR, et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(3):241-9.
177. van de Donk NW, Palumbo A, Johnsen HE, Engelhardt M, Gay F, Gregersen H, et al. The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *haematologica*. 2014;99(6):984.
178. Dimopoulos MA, Kastritis E, Terpos E, Sonneveld P, Leung N, Rajkumar SV, et al. International Myeloma Working Group recommendations for the diagnosis and management of myeloma-related renal impairment. *Journal of Clinical Oncology*. 2016;34(13):1544-57.
179. Nasr SH, Satoskar A, Markowitz GS, Valeri AM, Appel GB, Stokes MB, et al. Proliferative glomerulonephritis with monoclonal IgG deposits. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2009;20(9):2055-64.
180. Feraud J-P, Bridoux F, Kyle RA, Kastritis E, Weiss BM, Cook MA, et al. How I treat monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS). *Blood*. 2013;122(22):3583-90.
181. Sayed RH, Wechalekar AD, Gilbertson JA, Bass P, Mahmood S, Sachchithanatham S, et al. Natural history and outcome of light chain deposition disease. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2015;126(26):2805-10.
182. Buxbaum J. Mechanisms of disease: monoclonal immunoglobulin deposition: amyloidosis, light chain deposition disease, and light and heavy chain deposition disease. *Hematology/oncology clinics of North America*. 1992;6(2):323-46.
183. Palladini G, Russo P, Bosoni T, Verga L, Sarais G, Lavatelli F, et al. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clinical chemistry*. 2009;55(3):499-504.
184. Dittrich T, Bochtler T, Kimmich C, Becker N, Jauch A, Goldschmidt H, et al. AL amyloidosis patients with low amyloidogenic free light chain levels at first diagnosis have an excellent prognosis. *Blood*. 2017;130(5):632-42.
185. Park H, Kim J-W, Youk J, Koh Y, Lee J-O, Kim KH, et al. Serum free light chain difference and  $\beta_2$  microglobulin levels are risk factors for thromboembolic events in patients with AL amyloidosis. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2018;18(6):408-14.
186. Kumar S, Dispenzieri A, Katzmann JA, Larson DR, Colby CL, Lacy MQ, et al. Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value

and correlations with clinical features. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2010;116(24):5126-9.

187. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Colby C, et al. Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(9):989.
188. Kourelis TV, Kumar SK, Gertz MA, Lacy MQ, Buadi FK, Hayman SR, et al. Coexistent multiple myeloma or increased bone marrow plasma cells define equally high-risk populations in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis. *Journal of clinical oncology*. 2013;31(34):4319.
189. Merlini G, Wechalekar AD, Palladini G. Systemic light chain amyloidosis: an update for treating physicians. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2013;121(26):5124-30.
190. Jaccard A, Bridoux F, Macro M, PELLEGRIN J, TOURNILHAC O, ROUSSEL M, et al. Risk Adapted Treatment Strategy without Autologous Stem Cell Transplant (ASCT) in AL Amyloidosis: the French Experience since 2007.: P-467. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*. 2013;13.
191. Dingli D, Kyle RA, Rajkumar SV, Nowakowski GS, Larson DR, Bida JP, et al. Immunoglobulin free light chains and solitary plasmacytoma of bone. *Blood*. 2006;108(6):1979-83.
192. Hill QA, Rawstron AC, de Tute RM, Owen RG. Outcome prediction in plasmacytoma of bone: a risk model utilizing bone marrow flow cytometry and light-chain analysis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;124(8):1296-9.
193. Deegan MJ, Abraham JP, Sawdyk M, Van Slyck EJ. High incidence of monoclonal proteins in the serum and urine of chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood*. 1984;64(6):1207-11.
194. Pratt G, Harding S, Holder R, Fegan C, Pepper C, Oscier D, et al. Abnormal serum free light chain ratios are associated with poor survival and may reflect biological subgroups in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *British journal of haematology*. 2009;144(2):217-22.
195. Charafeddine KM, Jabbour MN, Kadi RH, Daher RT. Extended use of serum free light chain as a biomarker in lymphoproliferative disorders: a comprehensive review. *American journal of clinical pathology*. 2012;137(6):890-7.
196. Martin W, Abraham R, Shanafelt T, Clark RJ, Bone N, Geyer SM, et al. Serum-free light chain—a new biomarker for patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Translational Research*. 2007;149(4):231-5.

197. Furtado M, Shah N, Levoguer A, Harding S, Rule S. Abnormal serum free light chain ratio predicts poor overall survival in mantle cell lymphoma. *British journal of haematology*. 2013;160(1):63-9.
198. Maurer MJ, Micallef IN, Cerhan JR, Katzmann JA, Link BK, Colgan JP, et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Journal of clinical oncology*. 2011;29(12):1620.
199. Zhai L, Zhao Y, Peng S, Zhu K, Yu R, Chen H, et al. Detection of the value of consecutive serum total light chain (sTLC) in patients diagnosed with diffuse large B cell lymphoma. *Annals of hematology*. 2016;95(12):1999-2007.
200. Coustans M. Sclérose en plaques: aspects cliniques et diagnostiques. *Neuro-psy*. 2000;15(4):178-82.
201. Lassmann H. Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair. *Current opinion in neurology*. 2008;21(3):242-7.
202. Presslauer S, Milosavljevic D, Huebl W, Aboulenein-Djamshidian F, Krugluger W, Deisenhammer F, et al. Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: a multicenter study. *Multiple Sclerosis Journal*. 2016;22(4):502-10.
203. Ayrignac X, Sophie H, Cognot-Pons C, Chaudey L, Carra-Dallièrè C, Charif M, et al. Chaines légères libres kappa: une meilleure sensibilité mais une moindre sensibilité pour le diagnostic de sclérose en plaques que les bandes oligoclonales. *Revue Neurologique*. 2020;176:S128.
204. Agnello L, Lo Sasso B, Salemi G, Altavilla P, Pappalardo EM, Caldarella R, et al. Clinical use of  $\kappa$  free light chains index as a screening test for multiple sclerosis. *Laboratory medicine*. 2020;51(4):402-7.
205. Rathbone E, Durant L, Kinsella J, Parker AR, Hassan-Smith G, Douglas MR, et al. Cerebrospinal fluid immunoglobulin light chain ratios predict disease progression in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2018;89(10):1044-9.
206. Baldini C, Tavoni A, Merlini G, Sebastiani M, Bombardieri S. Primary Sjogren's syndrome: clinical and serological feature of a single centre. *Reumatismo*. 2005;256-61.
207. Gottenberg J-E, Aucouturier F, Goetz J, Sordet C, Jahn I, Busson M, et al. Serum immunoglobulin free light chain assessment in rheumatoid arthritis and primary Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*. 2007;66(1):23-7.

208. Gottenberg J-E, Busson M, Cohen-Solal J, Lavie F, Abbed K, Kimberly RP, et al. Correlation of serum B lymphocyte stimulator and  $\beta$ 2 microglobulin with autoantibody secretion and systemic involvement in primary Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*. 2005;64(7):1050-5.
209. Sugai S, Konda S, Shirasaki Y, Murayama T, Nishikawa T. Non-IgM monoclonal gammopathy in patients with Sjögren's syndrome. *The American journal of medicine*. 1980;68(6):861-6.
210. Risselada AP, Looije MF, Kruize AA, Bijlsma JW, van Roon JA. The role of ectopic germinal centers in the immunopathology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review. In: *Seminars in arthritis and rheumatism*. Elsevier; 2013. p. 368-76.
211. Hochberg MC, Boyd RE, Ahearn JM, Arnett FC, Bias WB, Provost TT, et al. Systemic lupus erythematosus: a review of clinico-laboratory features and immunogenetic markers in 150 patients with emphasis on demographic subsets. *Medicine*. 1985;64(5):285-95.
212. Sharif K, Watad A, Coplan L, Lichtbroun B, Krosser A, Lichtbroun M, et al. The role of stress in the mosaic of autoimmunity: an overlooked association. *Autoimmunity reviews*. 2018;17(10):967-83.
213. Draborg AH, Lydolph MC, Westergaard M, Larsen SO, Nielsen CT, Duus K, et al. Elevated concentrations of serum immunoglobulin free light chains in systemic lupus erythematosus patients in relation to disease activity, inflammatory status, B cell activity and Epstein-Barr virus antibodies. *PLoS One*. 2015;10(9):e0138753.
214. Aggarwal R, Sequeira W, Kokebie R, Mikolaitis RA, Fogg L, Finnegan A, et al. Serum free light chains as biomarkers for systemic lupus erythematosus disease activity. *Arthritis care & research*. 2011;63(6):891-8.
215. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *The Lancet*. 2017;390(10103):1685-99.
216. Bosello S, De Luca G, Tulusso B, Lama G, Angelucci C, Sica G, et al. B cells in systemic sclerosis: a possible target for therapy. *Autoimmunity reviews*. 2011;10(10):624-30.
217. Hutchison CA, Landgren O. Polyclonal immunoglobulin free light chains as a potential biomarker of immune stimulation and inflammation. *Clinical chemistry*. 2011;57(10):1387-9.
218. Hampson JA, Turner AM, Stockley RA. Polyclonal free light chains: promising new biomarkers in inflammatory disease. *Current Biomarker Findings*. 2014;4:139-49.

219. Basile U, Gulli F, Gragnani L, Napodano C, Pocino K, Rapaccini GL, et al. Free light chains: Eclectic multipurpose biomarker. *Journal of immunological methods*. 2017;451:11-9.
220. Rijniere A, Redegeld FA, Blokhuis BR, Heijden MWV der, Velde AAT, Pronk I, et al. Ig-Free Light Chains Play a Crucial Role in Murine Mast Cell-Dependent Colitis and Are Associated with Human Inflammatory Bowel Diseases. *The Journal of Immunology*. 1 juill 2010;185(1):653-9.
221. Thio M, Blokhuis BR, Nijkamp FP, Redegeld FA. Free immunoglobulin light chains: a novel target in the therapy of inflammatory diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1 avr 2008;29(4):170-4.
222. A systematic approach to autoinflammatory syndromes: a spelling booklet for the beginner: *Expert Review of Clinical Immunology: Vol 13, No 6* [Internet]. [cité 13 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1744666X.2017.1280396>
223. Aberer F, Tripolt NJ, Scharnagl H, Zedler J, Eder M, Oulhaj A, et al. Combined serum free light chain levels are associated with carotid atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes and Vascular Disease Research*. 1 mars 2018;15(2):162-4.
224. Elevated Serum Free Light Chains Predict Cardiovascular Events in Type 2 Diabetes | *Diabetes Care* [Internet]. [cité 13 juin 2021]. Disponible sur: <https://care.diabetesjournals.org/content/37/7/2028.short>



## *Serment de Galien*

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

*ⓓ' honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

*ⓓ' exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

*ⓓ' être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*

*De ne 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 méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

المملكة المغربية  
جامعة محمد الخامس بالرباط  
كلية الطب والصيدلة  
الرباط



## قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم  
أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي

أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجهد وأبقى دوماً وفياً لتعاليمهم.

أن أزال مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأنلا أقصر أبداً 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 إلى 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 أفي بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد.



رقم الأطروحة : 070



سنة : 2021

# السلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة: من علم الأحياء إلى الإكلينيكية

## أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2021

### من طرف:

السيد عبدالاله التقي

المزداد في 18 ماي 1995 بالدار البيضاء

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية- الرباط

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية: السلاسل الخفيفة الحرة أحادية النسيلة، الاعتلالات الجراثيمية وحيدة النسيلة، أميلوز، ورم نخاعي.

### أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس

مشرف

عضو

عضو

عضو

السيد كمال دغمي

أستاذ في علم الدم السريري

السيدة سميرة الإدريسي المشتاني

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيد عبد الله دامي

أستاذ في الكيمياء الحيوية

السيد رشيد هادف

أستاذ في علم المناعة

السيدة ليلى بنشقرون

أستاذة في الكيمياء الحيوية