

LISTE DES ABREVIATIONS

ATA	: American Thyroid Association
β2-M	: Béta 2 microglobuline
CLSI	: Clinical and laboratory standards institute
CMH-I	: Complexes majeure d'histocompatibilité de classe I
GBEA	: Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale
ICSH	: International Council for Standardization in Hematology
IFCC-LM	: Fédération Internationale de Chimie Clinique et de Médecine de Laboratoire
ISO	: Organisation Internationale de Normalisation
LMWP	: Low molecular weight proteins
NACB	: National Academy of Clinical Biochemistry
OMS	: Organisation Mondiale de la santé

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Relations entre les différents termes employés dans la définition du concept de valeurs de référence	6
Figure 2 : Représentation du complexe majeur d'histocompatibilité-I humain	10
Figure 3 : Automate ARCHITECT ci4100	18
Figure 4: Répartition de la population en fonction du sexe	21
Figure 5: Répartition de la population en fonction de l'âge	22
Figure 6: Répartition de la population en fonction du sexe et de l'âge.	22

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Valeurs usuelles de la β 2-M sérique dans la population d'étude	23
Tableau II: Valeurs usuelles de la β 2-M sérique en fonction du sexe	23
Tableau III: Valeurs usuelles obtenues pour la β 2-M sérique en fonction de l'âge .	24
Tableau IV: Valeurs usuelles obtenues pour la β 2-M en fonction du sexe et de l'âge	25
Tableau V: Comparaison des valeurs usuelles moyennes de la β 2-M sérique des différentes études	30

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	4
GENERALITES	5
I-CONCEPT DE VALEURS DE REFERENCE EN BIOCHIMIE.....	5
I.1 Définition.....	5
I.2 Stratégie d'établissement des valeurs de référence	7
I.2.1 Echantillonnage de la population d'étude	7
I.3 Intérêts des valeurs de référence	9
I.3.1 Intérêt diagnostique médical	9
I.3.2 Intérêt de suivi thérapeutique et de pronostic	9
I.3.3 Intérêt épidémiologique	9
II-Généralités sur la bêta-2-microglobuline	10
II.1 Structure primaire	10
II.2 Masse moléculaire.....	11
II.3 Gène.....	11
II.4 Données physiologiques.....	11
II.4.1 Demi-vie	11
II.4.2 Métabolisme	11
II.4.3 Concentration physiologique	11
II.5 Effets physiologiques.....	12
II.6 variations physiologiques	12
II.7 Variations pathologiques	12
II.8 Techniques de dosage de la β 2-microglobuline	14
II.8.1 Prélèvement	14
II.8.2 Techniques de dosage	14
DEUXIEME PARTIE	16
I. METHODOLOGIE	17
I.1 Type et cadre d'étude	17
I.2 Population d'étude	17
I.3 Critères d'inclusion	17
I.4 Critères de non inclusion	17
I.5 Recueil et traitements des échantillons	17

I.5 .1 Matériels et méthodes	17
I.6 Traitement statistique des données	19
RESULTATS	20
II. RESULTATS	21
II.1. Caractéristiques de la population d'étude.....	21
II.1.1 Répartition de la population en fonction du sexe	21
II.1.2 Répartition de la population en fonction de l'âge	21
II.1.3 Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et de l'âge	22
II.2 Valeurs usuelles de la β 2-M sérique dans la population d'étude	23
II.3 Valeurs usuelles de la β 2-M sérique en fonction du sexe	23
II.4 Valeurs usuelles de la β 2-M sérique en fonction de l'âge	24
II.5 Valeurs usuelles de la β 2-M en fonction du sexe et de l'âge	25
CONCLUSION.....	31
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	33

INTRODUCTION

La β 2-microglobuline (β 2-M) est un polypeptide de faible masse moléculaire (11 800 Da) qui existe sous une forme libre et une forme liée aux membranes des cellules (chaîne légère des molécules HLA de classe I). Ce polypeptide joue un rôle important dans les défenses immunitaires ainsi que dans la prévention contre l'apparition des cellules cancéreuses [1].

La β 2-M est un marqueur de première intention dans le myélome multiple et les lymphopathies B malignes. Son dosage est aussi utilisé dans le pronostic et la surveillance thérapeutique des infections à VIH, dans le suivi de maladies inflammatoires chroniques, dans l'exploration et le suivi de la fonction rénale, chez les patients hémodialysés ou ayant bénéficié d'une transplantation rénale [1].

D'autres applications du dosage de la β 2-M comme dans le métabolisme phosphocalcique peuvent élargir le champ d'intérêt de ce polypeptide.

De nos jours, la Médecine s'appuie beaucoup sur les examens biologiques dont les résultats sont souvent déterminants, pour une aide au diagnostic.

L'interprétation des résultats d'analyse nécessite des valeurs de référence fiables ou à défaut des valeurs usuelles. Lors de l'interprétation des résultats, de nombreux cliniciens ne sont pas conscients que les valeurs de référence utilisées doivent provenir de la même population que celle d'où sont issus leurs patients.

De ce fait, l'utilisation de valeurs de référence d'une population donnée par une autre population fait courir le risque de diagnostics cliniques par excès ou par défaut. En effet au Sénégal, les valeurs de référence utilisées par les prescripteurs et les biologistes jusqu'ici sont celles des pays occidentaux.

En effet, l'établissement des valeurs de référence est très codifié et repose sur certaines conditions qui parfois ne sont pas réalisables dans la pratique quotidienne. Produire des valeurs de référence constitue une tâche longue, difficile coûteuse et nécessite:

- D'établir les caractéristiques métrologiques de la technique de mesure employée
- De déterminer l'ensemble des facteurs de variation pré analytique et biologique
- D'établir des critères d'inclusion et d'exclusion entre autres.

Ces procédures n'étant pas à la portée de tous les laboratoires, il est quand même possible, à défaut, de déterminer les valeurs usuelles propres à chaque pays. C'est dans cette optique que la présente étude contribuera à l'élaboration des valeurs usuelles de la β 2-M chez des sujets Sénégalais supposés sains. Les résultats obtenus permettront aux biologistes de disposer de leurs propres valeurs usuelles.

Pour y arriver les objectifs fixés sont les suivants:

❑ Objectif général:

- Etablir les valeurs usuelles de la bêta-2 microglobuline dans la population adulte sénégalaise

❑ Objectifs spécifiques:

- 1- Déterminer les valeurs usuelles de la bêta-2 microglobuline dans la population
- 2- Établir les valeurs usuelles de la bêta-2 microglobuline en fonction de l'âge
- 3- Établir les valeurs usuelles de la bêta-2 microglobuline en fonction du sexe

PREMIERE PARTIE

GENERALITES

I-CONCEPT DE VALEURS DE REFERENCE EN BIOCHIMIE

Le concept de valeurs de référence quoique s'appliquant à toutes les catégories de sujets est généralement utilisé pour les sujets sains. Afin d'éviter une confusion entre valeur de référence, valeur normale et valeur usuelle, il importe de les définir.

I.1 Définition

Les définitions qui suivent ont été approuvées par la Fédération internationale de chimie clinique et de médecine de laboratoire (IFCC-LM), l'*International Council for Standardization in Haematology*(ICSH) ainsi que par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), puis par le CLSI (Figure 1). Elles ont été reprises intégralement dans le dernier document publié conjointement par l'IFCC et le CLSI [4] :

- ❖ **Valeur observée** : valeur d'un analyte, obtenue par une observation ou une mesure d'un sujet à tester, qui doit être comparée à des valeurs de référence, une distribution de référence, des limites de référence ou un intervalle de référence.
- ❖ **Distribution de référence** : la distribution des valeurs de référence.
- ❖ **Individu de référence** : une personne sélectionnée sur la base de critères bien définis.
- ❖ **Population de référence** : un groupe constitué de tous les individus de référence.
- ❖ **Intervalle de référence** : l'intervalle entre deux limites de référence (celles-ci incluses) par exemple l'intervalle à 95 % d'hommes apparemment en bonne santé de 18 à 65 ans.
- ❖ **Limites de référence** : une valeur dérivée de la distribution de référence et utilisée dans un but descriptif.
- ❖ **Valeurs de référence** : la valeur obtenue par l'observation ou la mesure d'une quantité définie sur un individu de référence.

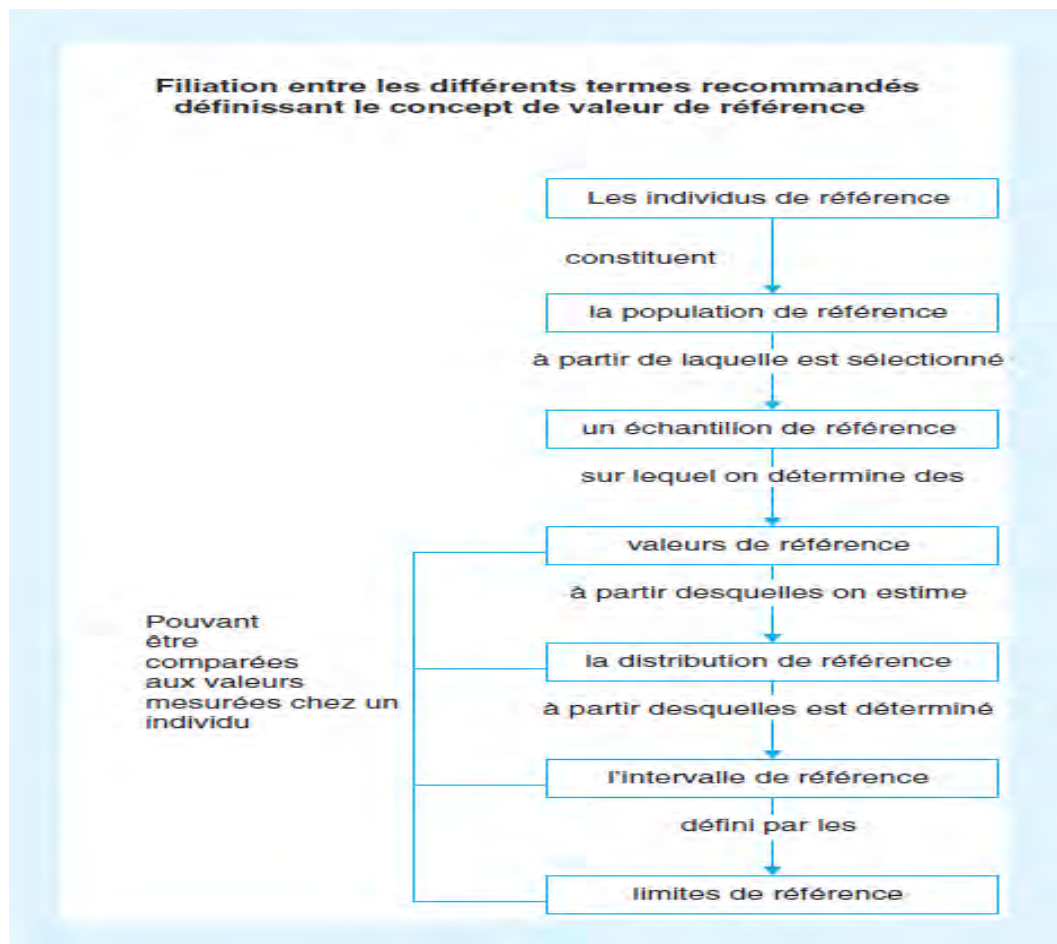


Figure 1 : Relations entre les différents termes employés dans la définition du concept de valeurs de référence [21]

- ❖ **Les valeurs normales** : ce sont des valeurs mesurées sur un sous ensemble bien représentatif de la population d'individus tout venant, non triés, n'ayant pas modifié leurs conditions habituelles de vie [10, 20, 22].
- ❖ **Les valeurs usuelles**: ce sont des valeurs obtenues sur des populations hétérogènes c'est à dire des populations pour lesquelles plusieurs facteurs de variations n'ont pas été suffisamment contrôlés. Ce terme s'applique par exemple à des populations hétérogènes souvent rassemblées pour des raisons de facilité (groupe d'étudiants en médecine, donneurs de sang etc...)[10, 20, 22].

I.2 Stratégie d'établissement des valeurs de référence :

Lorsque l'on veut établir des valeurs de référence, le problème à résoudre est le suivant : Etant donné une valeur biologique mesurée une seule fois chez un individu, comment la situer à l'intérieur d'une population de référence?

Il faut tout d'abord définir la population de référence, c'est à dire une population homogène dans laquelle les variations d'un seul paramètre seront étudiées. Ensuite il faut procéder à la mesure sur un échantillon représentatif de cette population **[21]**.

Il est nécessaire pour cela de connaître les facteurs de variations susceptibles d'altérer la variable, il peut s'agir de :

- ☐ Facteurs techniques (conditions de prélèvement, méthode analytique).
- ☐ Facteurs physiologiques (âge, surcharge pondérale, sexe)
- ☐ Facteurs environnementaux (nutrition, toxiques, médicaments)
- ☐ Facteurs cliniques (affection définie avec précision).

I.2.1 Echantillonnage de la population d'étude [21, 25]

Lors de l'établissement de valeurs de référence, se pose le problème de la représentativité de l'échantillon de référence.

Le terme « représentatif » signifiant que la répartition des valeurs des constituants biologiques dans l'échantillon doit être voisine de la répartition dans la population.

Une solution à ce problème peut être trouvée en constituant l'échantillon à partir d'un sondage dit probabiliste (un sondage donnant à chaque individu la même probabilité d'être choisi), les méthodes statistiques permettent alors de mesurer la « confiance » que l'on peut accorder aux estimations fournies par cet échantillon.

Toutefois la représentativité de l'échantillon de référence est également respectée lorsque les sujets retenus pour constituer un échantillon de référence sont ceux qui répondent à tous les critères de sélection, puisque ces critères sont établis sur la base des facteurs connus pour être à la source de variations des constituants biologiques étudiés. Pour obtenir un échantillon représentatif de la population de référence, la technique la plus simple et la plus sûre semble donc être d'analyser en premier lieu les biais susceptibles de

découler d'une situation particulière et d'effectuer ensuite une sélection complète et justifiée.

Dans le cadre de l'établissement des valeurs de référence, la population tout venant ne peut être considérée comme étant une population de référence c'est-à-dire présumée en bonne santé. Il est donc nécessaire de procéder à une sélection sur un ensemble de critères anamnestiques, fonctionnels et cliniques. L'ensemble des sujets répondant aux critères de sélection est appelé population de référence.

Suivant les possibilités à la disposition des biologistes, les valeurs de référence pourront être obtenues par tri à posteriori des valeurs d'une population importante ou par mesure directe des constituants biologiques sur une population moins importante, bien triée à priori [21].

a. La sélection à posteriori

La sélection a posteriori des individus de référence se fait à partir d'une population tout venant de plus de 1000 sujets. Elle consiste d'abord à préparer les sujets pour le prélèvement et ensuite, à leur faire remplir le questionnaire.

C'est alors que l'on peut effectuer le prélèvement en vue du traitement et de l'analyse du spécimen biologique. Après avoir obtenu les résultats, l'échantillon de référence est sélectionné grâce à des critères d'inclusion et des critères de non inclusion. Les traitements statistiques sont réalisés ainsi que la vérification de la représentativité de l'échantillon. Enfin, on procède à l'établissement des valeurs de référence [21].

b. La sélection à priori

La sélection a priori consiste à fixer d'emblée les critères de sélection et à ne retenir que 50 à 150 individus de référence pour chaque classe.

On choisit d'abord les critères d'inclusion de l'étude ainsi que les critères de non inclusion; puis on prépare les sujets pour le prélèvement. Le prélèvement ainsi réalisé, le spécimen biologique peut être traité et analysé. Les traitements statistiques effectués, alors les valeurs de référence peuvent être déterminées.

I.3 Intérêts des valeurs de référence :

Les valeurs de référence sont mises à profit comme index dans de multiples circonstances [17, 25].

I.3.1 Intérêt diagnostique médical

Selon les divers auteurs et expériences, les valeurs de référence permettent au cours du diagnostic médical:

- de fixer une limite de décision adaptée à chaque cas particulier de patient,
- de vérifier un état de santé chez un patient,
- d'alerter le patient sur des risques encourus,
- de confirmer un diagnostic médical,
- de dépister une affection cliniquement non décelable.

I.3.2 Intérêt de suivi thérapeutique et de pronostic :

L'interprétation d'une valeur observée chez des sujets sous médication au long cours est très utilisée pour le suivi de patients. Il s'agit d'évaluer l'effet thérapeutique et/ou de surveiller un risque dû à la médication.

L'étude des valeurs de référence des populations saines et des valeurs des populations malades permet de classer les examens suivant leur pouvoir discriminant.

I.3.3 Intérêt épidémiologique :

La comparaison des valeurs observées sur des populations très différentes est une application épidémiologique des valeurs de référence. On peut ainsi étudier des différences ethniques, de régime alimentaire, de régime socioculturel ou génétique.

On peut aussi déterminer les conditions de transmissibilité des valeurs de référence d'un laboratoire à l'autre, ou d'un pays à l'autre.

L'établissement des valeurs de référence permet de mesurer la prévalence de certaines pathologies dans une population à un échelon régional, national ou international [25].

II-Généralités sur la bêta-2-microglobuline :

II.1 Structure primaire

La β_2 -M est une composante clé du système immunitaire adaptatif. Elle a été découverte en 1968 par Berggård et Bearn dans l'urine de patients atteints de la maladie de Wilson ou souffrant d'intoxication chronique au cadmium. C'est une molécule polypeptidique monomérique non glycosylée qui fait partie du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I sur les surfaces des cellules nucléées (Fig. 2)[2].

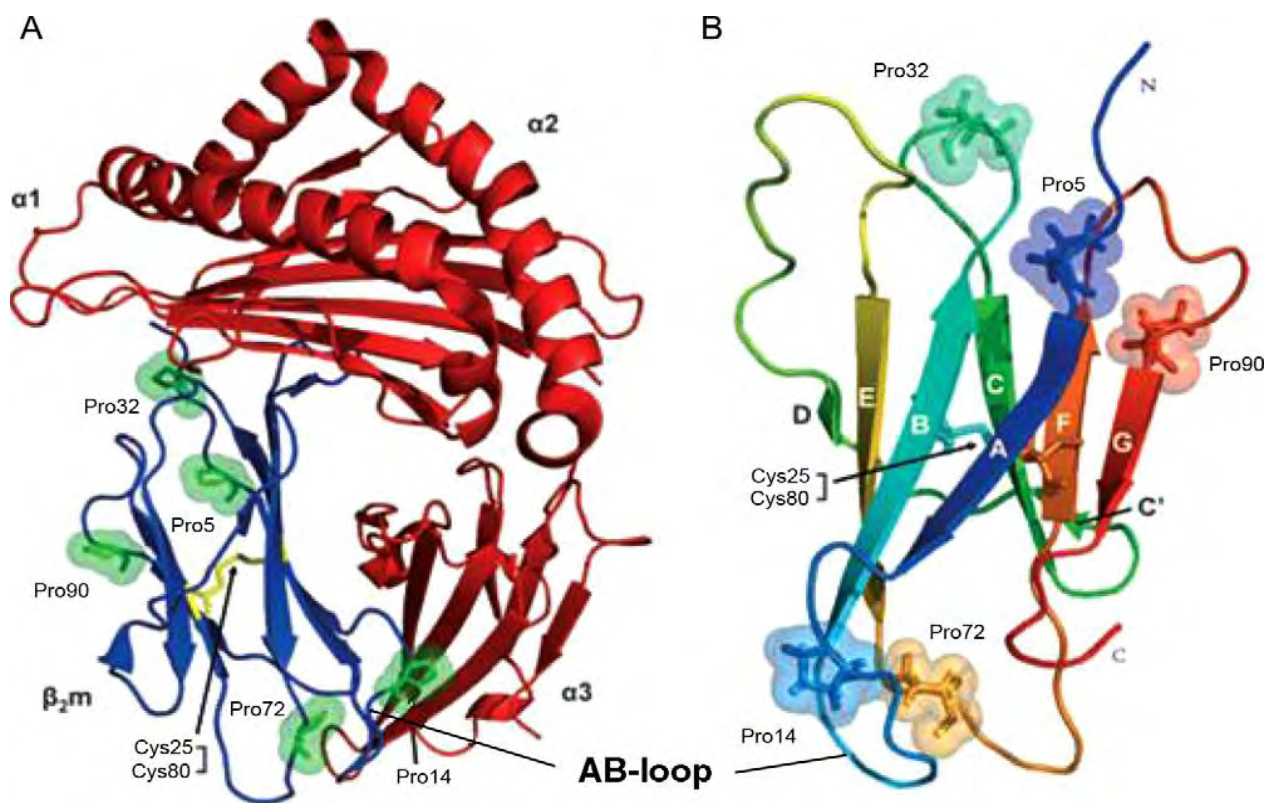


Figure 2 [6] : Représentation du complexe majeur d'histocompatibilité-I humain montrant la chaîne lourde (α_1 , α_2 , α_3 en rouge), la chaîne légère (β_2 -M en bleu), les résidus Pro5, Pro14, Pro32, Pro72 et Pro90 (en bâtonnets verts) et le pont disulfure entre les résidus Cys25 et Cys80 (en bâtonnets jaunes). B. Représentation de la structure de β -2M montrant les brins A (6—11), B (21—28), C (36—41), C' (44 —45), D (50—51), E (64—70), F (79—83) et G (91—94) et le pont disulfure entre les résidus Cys25 et Cys80 (en bâtonnets). N, N-terminale, C, C-terminale.

II.2 Masse moléculaire

La β 2-M fait partie du groupe des « low molecular weight proteins» (LMWP), sa masse moléculaire relative est de 11 800 daltons (DA) [2, 6].

II.3 Gène

La β 2-M est codée par un gène dont le locus est situé sur le chromosome 15 (région 15q21) [1].

II.4 Données physiologiques

II.4.1 Demi-vie

La concentration de la β 2-M est liée essentiellement au *turn-over* des cellules lymphocytaires. Sa demi-vie moyenne est de l'ordre de deux heures (intervalle : 1,1 à 2,8 h) pour un débit de filtration glomérulaire normal [12].

II.4.2 Métabolisme

La β 2-M est produite par toutes les cellules nucléées de l'organisme, les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules tumorales lorsqu'elles sont présentes [1].

La liaison non covalente aux molécules du CMH-I, l'absence de liaison directe avec la surface cellulaire notamment par un domaine transmembranaire et le passage extracellulaire, expliquent la détection de formes libres de β 2-M dans de nombreux fluides corporels, dont le sang et les urines, mais aussi à de faibles concentrations dans les liquides séminal, synovial, péritonéal, pleural et céphalorachidien [1, 19].

La moitié de la β 2-M plasmatique, renouvelée chaque jour, provient des lymphocytes. Elle est filtrée au niveau des reins par les glomérules, puis réabsorbée par le tube contourné proximal où elle est presque totalement catabolisée (à plus de 95 %) [1, 3].

II.4.3 Concentration physiologique

Le taux de synthèse de la β 2-M est normalement de 150 mg/24h [3]. La concentration plasmatique varie inversement avec le débit de filtration glomérulaire (DFG).

Dans l'étude de Glikmanas et al [9], ayant pour but d'étudier les performances analytiques de quatre méthodes différentes de dosage de la β 2-M, les valeurs normales dans le sang étaient inférieures à 2,4 mg/L.

II.5 Effets physiologiques

Le rôle de la β 2-M est complexe et reste largement méconnu. La fonction la mieux caractérisée de la β 2-M est de stabiliser la structure tertiaire des molécules du CMH-I, essentielles à la présentation des peptides aux lymphocytes T CD8 pour initier une cytotoxicité à médiation cellulaire [14, 19].

Plusieurs études suggèrent un rôle important de la β 2-M dans la croissance cellulaire en raison des taux sériques élevés, présents dans certaines maladies auto-immunes (telles que la polyarthrite rhumatoïde) et les tumeurs malignes humaines. Il a été signalé que la β 2-M a une activité mitogène sur les cellules osseuses, telles que les ostéoblastes, les cellules stromales, les ostéoclastes et plusieurs types de cellules cancéreuses humaines. En plus du rôle dans l'immunité, des études récentes s'établissent que la β 2-M est impliquée dans la régulation fonctionnelle de la survie, la prolifération, l'apoptose et même du pouvoir métastatique des cellules cancéreuses [1, 19].

II.6 variations physiologiques :

✓ Chez le nouveau-né : les concentrations sériques sont élevées (environ 3mg/l) puis elle diminue rapidement pour atteindre les valeurs moyennes (<1.5 mg/l) à la puberté. Elles s'élèvent ensuite progressivement avec l'âge : + 0.12 mg/l en moyenne tous les 10 ans.

✓ Chez la femme enceinte : la concentration sérique de la β 2-M augmente jusqu'à la 25^{ème} semaine de grossesse puis diminue jusqu'au terme ; des valeurs très élevées sont évocatrices de pré-éclampsie.

✓ L'exercice physique intense augmenterait les concentrations urinaires de bêta-2-microglobuline [1].

II.7 Variations pathologiques :

La β 2-M sérique est augmentée en l'absence de pathologie rénale au cours :

✓ des syndromes lymphoprolifératifs malins (leucémies lymphoïdes chroniques, lymphomes hodgkiniens ou non hodgkiniens, myélomes...). L'élévation de la β 2-M est proportionnelle à la masse tumorale et son dosage représente un marqueur d'évolutivité et de pronostic.

Dans le myélome multiple, son taux sérique au moment du diagnostic constitue un élément pronostique de cette affection, de significativité supérieure au dosage sérique de la thymidine-kinase. Dans ces pathologies, le dosage urinaire de la β 2-M n'a pas d'intérêt.

✓ de certaines tumeurs solides, notamment vessie et rein. La transformation tumorale s'accompagne de la perte d'expression d'antigènes de surface, dont la β 2M. Cette disparition, attestée par immunohistochimie, orienterait vers un degré majeur d'agressivité de la tumeur, ainsi que vers une mauvaise réponse à la chimiothérapie.

✓ de maladies inflammatoires chroniques :

- lors de maladies auto-immunes avec une inflammation cellulaire chronique, il y a synthèse par les lymphocytes activés de β 2-M :
- polyarthrite, syndrome de Gougerot-Sjögren ;
- lupus érythémateux disséminé ;
- dans les pathologies hépatiques chroniques.

✓ du sida : le taux de β 2-M est subnormal chez les séropositifs sans signe clinique et deux à trois fois plus élevé chez les patients au stade sida. C'est un marqueur non spécifique du sida, mais suffisamment sensible pour moduler la thérapeutique antivirale.

Son taux est modérément corrélé au taux des CD4 et au rapport CD4/CD8 et constitue un marqueur individuel d'évolution vers le sida. Son augmentation chez les personnes séronégatives à risque (toxicomanes, hémophiles, homosexuels...) est le témoin d'une stimulation immunitaire (activation des CD4 avec un pic en phase d'invasion).

Chez les nouveaux nés de mères séropositives, un taux sérique élevé 1 mois après la naissance semble de mauvais pronostic **[11]**.

L'insuffisance rénale avec diminution de la filtration glomérulaire entraîne une diminution de la concentration sérique de la β 2-M.

Lors d'un dysfonctionnement des glomérules rénaux, les concentrations sériques de la β 2M sont élevées tandis que les troubles qui affectent les cellules épithéliales des tubules proximaux provoquent une excrétion accrue de cette protéine dans l'urine ; il y a là un moyen de différencier l'atteinte tubulaire proximale de la maladie glomérulaire **[1]**.

Chez les insuffisants rénaux hémodialysés, la persistance de concentrations élevées en β 2-M serait la cause de sa précipitation dans les tissus sous forme de fibrilles amyloïdes, provoquant l'amylose associée à l'hémodialyse chronique. L'amylose à β 2M est l'une des rares formes d'amylose pour lesquelles le précurseur est anormal uniquement par sa quantité, et non par sa structure. Le risque d'amylose augmente avec le nombre d'années passées en hémodialyse : au-delà de 10 ans de dialyse, 12 à 50 % des patients présentent cette complication. Les dépôts d'amylose surviennent dans le système locomoteur, principalement au niveau du canal carpien, et aussi au niveau des épaules, genoux et hanches [11].

Après transplantation rénale la β 2-M sérique diminue normalement rapidement (une normalisation de sa concentration au 4^{ème} jour après la transplantation est de bon pronostic). La persistance d'une valeur élevée au 8^{ème} jour évoque la possibilité d'un rejet et conduit généralement à modifier le traitement immunosuppresseur [11].

II.8 Techniques de dosage de la β 2-microglobuline :

II.8.1 Prélèvement :

Selon la technique de dosage, l'examen est réalisé sur sérum ou sur plasma (sang recueilli sur héparine ou éventuellement EDTA). Le jeûne ne semble pas indispensable.

L'hémolyse et l'hyperlipidémie peuvent interférer dans le dosage. Pour la conservation et le transport, les échantillons sériques doivent être conservés à une température située entre + 2 à + 8 °C pendant 8 jours, ou congelés dans les 24 heures suivant le prélèvement [1,23].

II.8.2 Techniques de dosage

Il existe différentes méthodes de dosage de la β 2-M. La technique de référence est un test RIA qui est long, coûteux et soumis à des règles de radioprotection nécessitant des locaux adaptés et du personnel qualifié. Cette technique n'est donc pas accessible à tous les laboratoires [18].

Des études sur les performances analytiques d'une technique d'immunochimiluminescence et d'une technique d'immunoturbidimétrie sur sérum comparées à celles de la RIA ont montré qu'elles sont corrélées, sur tube sec et sur tube hépariné, pour les deux techniques non isotopiques [23].

Au sein de la population générale, les résultats sont corrélés entre ces deux techniques et la RIA. Ces résultats permettent l'utilisation des méthodes non isotopiques dans les laboratoires **[23]**.

DEUXIEME PARTIE

I. METHODOLOGIE

I.1 Type et cadre d'étude

L'étude adoptée dans ce travail est de type prospectif, transversal et analytique.

Elle a été effectuée au laboratoire de biochimie de l'hôpital Aristide Le Dantec du 1^{er} avril au 31 mai 2017.

I.2 Population d'étude

Notre étude regroupe 52 sujets de nationalité sénégalaise, bien portants pris de façon aléatoire ayant entre 18 et 65 ans.

I.3 Critères d'inclusion

Sont inclus tous les sujets ayant entre 18 et 65 ans supposés sains.

I.4 Critères de non inclusion

Les sujets non inclus sont ceux souffrant d'insuffisance rénale.

Patients ayant moins de 18 ans ou plus de 65 ans.

I.5 Recueil et traitements des échantillons

Ils ont été réalisés sur sang veineux au niveau du pli de coude et ont été prélevés dans des tubes secs et héparinés.

I.5 .1 Matériels et méthodes

❖ Matériels

- Pipette
- Tube sec
- Tube hépariné (héparinate de lithium)
- Centrifugeuse
- Réactifs QUANTIA β 2 MICROGLOBULIN REF 6K39-01 : (laboratoires ABBOTT)

Il est constitué d'une suspension de particules de polystyrène latex de taille uniforme recouverte par la fraction d'Ig G provenant d'un sérum spécifique anti- β 2M humaine. Quand un échantillon contenant de la β 2M est mélangé avec le réactif, une agglutination nette se produit, qui peut être mesurée par immunoturbidimétrie.

Cette méthode, entièrement automatique, utilise des anticorps fixés sur des billes de latex et ne nécessite pas de dilution préalable. Elle est basée sur la propriété de déviation de la lumière d'un rayon laser par le précipité d'un complexe immun. Le délai de rendu des résultats est de 15 minutes.

❖ Appareillage

Après centrifugation le dosage de la β 2-M a été réalisé sur l'automate ARCHITECT plus ci4100 du laboratoire ABBOTT.



Figure 3: Automate ARCHITECT ci4100 (Abbot – USA / Chicago)

Le système ARCHITECT ci4100 réunit les analyseurs ARCHITECT c4000 et ARCHITECT i1000SR, il permet d'effectuer jusqu'à 900 tests par heure, dont 800 de chimie clinique et 100 d'immunoanalyse. Doté d'une capacité de chargement de 180 échantillons, dont jusqu'à 35 emplacements prioritaires, le système ARCHITECT ci4100 comporte jusqu'à 115 emplacements réfrigérés pour les réactifs et est équipé d'un module miniaturisé (Integrated Chip Technology) pour le dosage des électrolytes (Na^+ , K^+ et Cl^-).

I.6 Traitement statistique des données

La saisie des données a été faite à l'aide du logiciel Excel 2007. L'analyse des données a été réalisée grâce au logiciel SPSS (Statistical Package for Science Social) version 22.

Les moyennes entre les groupes ont été comparées à l'aide de l'analyse de la variance (ANOVA). Toute différence inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

Nos résultats ont été exprimés selon les recommandations de la NACB et l'ATA qui prescrivent les intervalles de référence définis sur la base de l'intervalle de confiance à 95 % situé entre les percentiles 2,5 et 97,5 avec calcul de la médiane [7].

RESULTATS

II. RESULTATS :

II.1. Caractéristiques de la population d'étude

Nous avons eu à travailler sur un effectif de 52 patients de sexe masculin et féminin dont l'âge moyen est de 41 ans avec des extrêmes allant de 18 à 65 ans.

II.1.1 Répartition de la population en fonction du sexe

Sur les 52 sujets, 50 % sont des femmes et les 50 % restants sont des hommes avec un sexe ratio de 1.

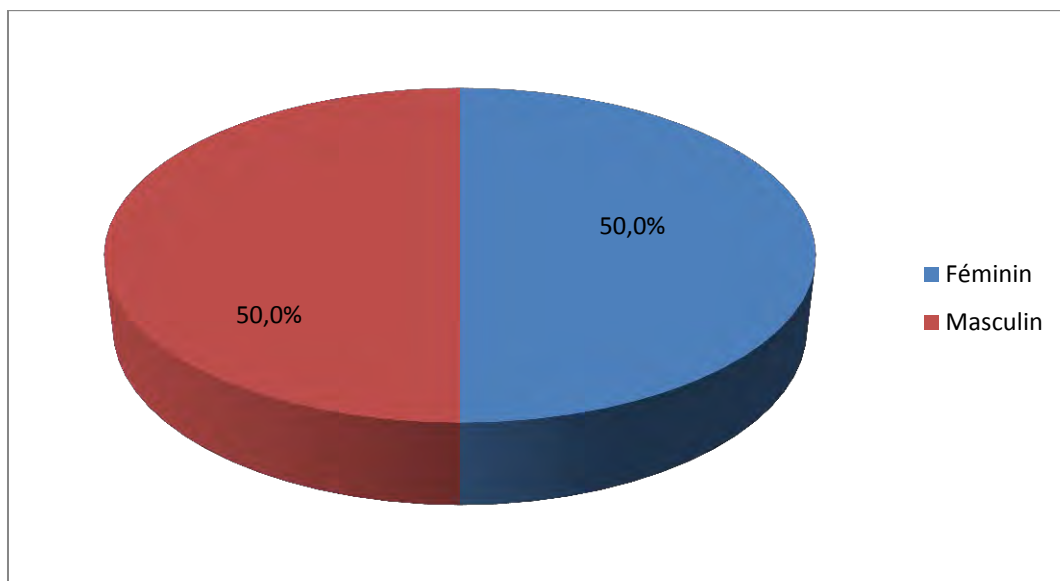


Figure 4: Répartition de la population en fonction du sexe

II.1.2 Répartition de la population en fonction de l'âge :

Nous avons réparti notre population en quatre intervalles distincts répartis comme suit : les sujets de moins de 30 ans, ceux de 30 à 39 ans, de 40 à 49 ans et les sujets âgés de 50 ans et plus.

L'âge moyen est de 41 ans. Les plus âgés (> 50 ans) représentent la tranche la plus importante avec un pourcentage de 30,8%. Tandis que les plus jeunes (âgés de moins de 30 ans) comptent pour 21,2 %.

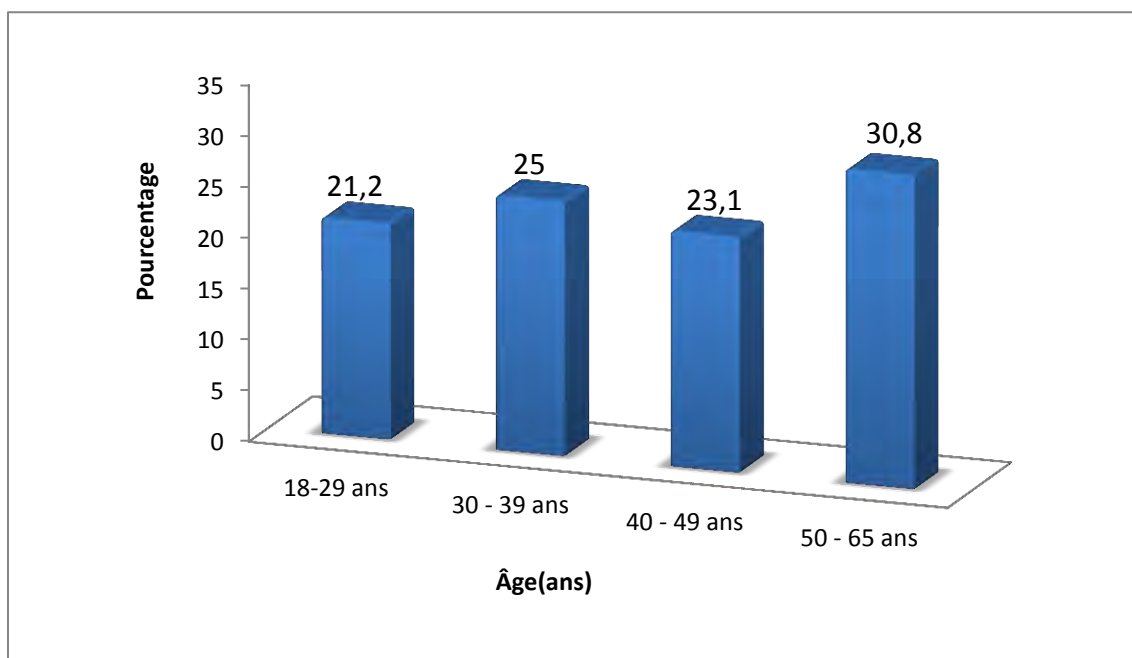


Figure 5: Répartition de la population en fonction de l'âge

II.1.3 Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et de l'âge :

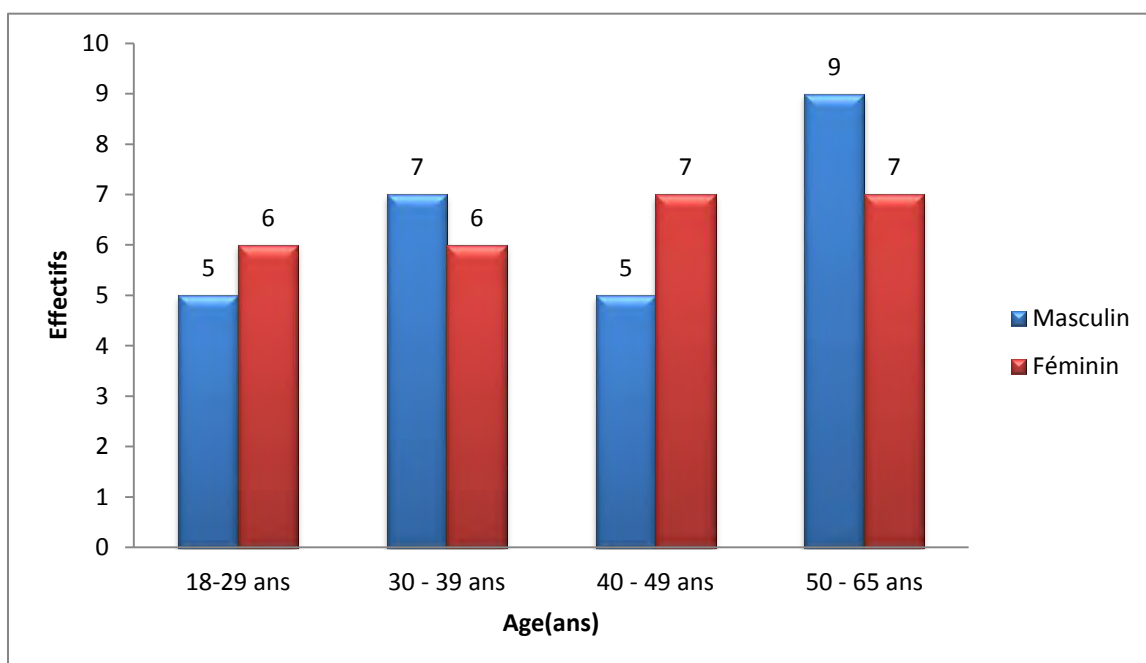


Figure 6: Répartition de la population en fonction du sexe et de l'âge.

On note une prédominance des femmes dans les tranches d'âge 18-29 ans et 40-49 ans alors que les hommes sont majoritaire dans les tranches d'âge 30-39 ans et 50-65 ans.

II.2 Valeurs usuelles de la β 2-M sérique dans la population d'étude :

Tableau I: Valeurs usuelles de la β 2-M sérique dans la population d'étude

N valide	Moyenne	Médiane	Ecart type	Maximal	Minimal	Centiles [2,5-97,5]
52	2,210	2,110	0,614	3,868	1,304	[1,31 – 3,74]

Les percentiles 2,5 et 97,5 définissant 95% des valeurs centrales se situent entre 1.31 et 3.74 mg/L avec une valeur médiane à 2.110 mg/L.

II.3 Valeurs usuelles de la β 2-M sérique en fonction du sexe :

Tableau II: Valeurs usuelles de la β 2-M sérique en fonction du sexe

	N	Moyenne	Médiane	Ecart type	Min	Max	Centiles [2,5-97,5]	P
Féminin	26	2,270	2,190	0.670	1,320	3,868	1,32-3,77	0,525
Masculin	26	2,160	2,080	0,560	1,304	3,488	1,33-3,45	
Total	52	2,210	2,110	0,614	1,304	3,868	1,31-3,74	

Les percentiles 2,5 et 97,5 définissants 95% des valeurs centrales se situent entre 1,32-3,77 avec une valeur médiane à 2,190mg/L pour les femmes, et entre 1,33-3,45 avec une médiane à 2,080mg/L pour les hommes.

L'analyse de variance de la β 2-M sérique suivant le sexe ne montre aucune différence statistiquement significative avec un $p=0,525$.

II.4 Valeurs usuelles de la β 2-M sérique en fonction de l'âge :

Tableau III: Valeurs usuelles obtenues pour la β 2-M sérique en fonction de l'âge.

	N	Moyenne	Médiane	Ecart type	Min	Max	Centiles [2,5-97,5]	P
18-29	11	1,780	1,710	0,470	1,304	2,960	1,31-2,91	0,007
30-39	13	1,890	1,810	0,413	1,453	2,690	1,45-2,68	0,026
40-49	12	2,340	2,330	0,410	1,660	2,980	1,68-2,97	0,028
50-65	16	2,680	2,440	0,640	1,321	3,686	1,46-3,8	<0,001
Total	52	2,210	2,110	0,614	1,304	3,868	1,31-3,74	<0,001

Les valeurs usuelles moyennes de la β 2-M sérique varient avec l'âge et de façon croissante et significative. Pour les sujets de moins de 30 ans la moyenne est de 1,780 mg/l +/- 0.470 mg/l

Les sujets de 50 ans et plus ont des taux beaucoup plus élevés de 2,680mg/l +/- 0,640mg/l avec un minimum de 1,321 mg/l et un maximum de 3,686 mg/l.

L'analyse de variance des valeurs moyennes de la β 2-M sérique par tranche d'âge a permis d'obtenir une valeur de $p < 0,0001$.

II.5 Valeurs usuelles de la β 2-M en fonction du sexe et de l'âge :

Tableau IV: Valeurs usuelles obtenues pour la β 2-M en fonction du sexe et de l'âge.

		N	Moyenn e	Médiane	Ecart Type	Min	Max	P
< 30	F	6	1,860	1,750	0,600	1,06	2,46	0,529
	H	5	1,670	1,710	0,260	1,41	1,93	
30 – 39	F	6	1,910	1,780	0,420	1,49	2,33	0,800
	H	7	1,870	1,670	0,390	1,28	2,06	
40 – 49	F	7	2,470	2,440	0,390	2,08	2,86	0,259
	H	5	2,410	2,120	0,390	2,02	2,80	
≥ 50	F	7	2,330	2,190	0,790	1,54	3,12	0,872
	H	9	2,280	2,080	0,830	1,45	3,11	

On constate que les hommes âgés de moins de 30 ans ont les valeurs les plus faibles avec une moyenne de 1,670 mg/l tandis que la valeur la plus élevée a été observée chez les femmes de plus de 50 ans avec une moyenne de 2,330 mg/l.

DISCUSSION

Les analyses biochimiques sanguines ont pour objectif d'aider le praticien à établir un diagnostic et un pronostic les plus fiables possibles.

Cependant, afin d'obtenir des résultats interprétables, il est nécessaire que le laboratoire réalisant le dosage ait établi préalablement des valeurs de référence permettant de discriminer les états pathologiques des états physiologiques.

Ainsi le GBEA et la norme ISO 15189 pour les laboratoires de biologie médicale et la directive 98/79/CE pour les industriels du diagnostic in vitro, prescrivent à des titres divers l'utilisation ou la mention de limites de références sur les compte-rendu d'analyse et sur les notices des réactifs de laboratoire.

En outre la sélection d'une population de référence n'est pas facile, c'est un véritable défi. Il est difficile de sélectionner sur un nombre forcément restreint un groupe d'individus représentatif de la diversité biologique rencontré dans les laboratoires biologiques d'aujourd'hui.

D'autre part, La variabilité analytique entre les systèmes analytiques reste un facteur limitant pour la détermination des valeurs de référence par tous les laboratoires. Il est quand même possible, à défaut, de déterminer les valeurs usuelles.

Notre étude avait pour but d'établir les valeurs usuelles de la β 2-M sérique chez la population sénégalaise qui s'est adressée au laboratoire de Biochimie de l'hôpital ARISTIDE LE DANTEC, et les valeurs obtenues pouvant servir de support au sein de ce service ou même le transférer aux autres laboratoires d'analyses médicales du Sénégal.

La population d'étude est constituée de sujets d'âges variés. L'âge moyen est de 41,44 ans avec une minimale de 19 ans et une maximale de 65 ans, avec sexe ratio égale à 1.

Plusieurs études similaires ont été effectuées dans plusieurs pays et dans des continents différents.

Ainsi l'étude réalisée au Brésil par *Filippin FB et al* [8] en 2005 contenait une population de 56 sujets âgés de 25 à 50 ans qui est constituée de 60 hommes et 36 femmes.

Une autre étude réalisée par *Matokovic et al.* [13] dans la ville de Krapinske Toplice en Croatie a été constituée de 51 sujets âgés de 40 à 86 ans avec une moyenne d'âge de 62,7 ans.

Une autre étude espagnole publiée dans la revue *CLINICAL CHEMISTRY* en 1992 [24] avait travaillé sur 303 sujets âgés de 20 à 50 ans constitués majoritairement par des hommes avec un sexe ratio de 1,8.

X.-M. Dong et collaborateurs [5] a travaillé au niveau de *Zhujiang Hospital of Southern Medical University* de la ville de *Guangzhou* en Chine en 2016 sur 387 sujets âgés de 20 à 80 ans avec une moyenne d'âge de 49,93.

Au niveau de notre continent et plus précisément en Ouganda *PIWOWAR et al.* [16] ont travaillé en 1995 sur un échantillon de 38 sujets âgés de 24 à 73 ans.

Nos résultats ont été exprimés selon les recommandations de La NACB et l'ATA en déterminant les intervalles de référence définis sur la base de l'intervalle de confiance à 95 % situé entre les percentiles 2,5 et 97,5 avec le calcul de la médiane.

Les percentiles 2,5 et 97,5 définissants 95% des valeurs centrales se situent entre 1,31 – 3,74 mg/l avec une valeur médiane à 2,110 mg/l.

L'intervalle de référence pour la β 2-M sérique cité dans la littérature est le même pour le sérum et échantillons de plasma (1.1 mg/l à 2.4 mg/l) [3]; en ce qui concerne le fabricant de notre réactif QUANTIA β 2 MICROGLOBULIN il préconise comme limites normales des valeurs qui varient entre 0,97 mg/l et 2,6 mg/l.

Les études réalisées en Europe ont trouvé des valeurs voisines de celles de l'intervalle de référence ainsi que celles du fabricant ; en Espagne on a trouvé un intervalle compris entre 0,87 mg/l et 2,42 mg/l avec une médiane de 1,54mg/l [24]

En Croatie les valeurs usuelles observées sont comprises entre 0,95 mg/l et 2,73 mg/l avec une médiane de 1,662 mg/l [13].

Au Brésil *FILIPPIN FB et al* avaient trouvés des valeurs voisines de celles obtenues par notre étude avec un intervalle de [1,05 -3,9 mg/l] et une médiane de 2,46 mg/l [8].

L'étude ougandaise a aussi obtenue des valeurs supérieures à celle de la littérature avec un intervalle compris entre 1,13 et 3,57 mg/l [16].

L'intervalle de référence de la β 2-M sérique cité dans la littérature ainsi que celui donné par le fabricant est déterminé à partir de volontaires issus des pays européens qui sont des populations totalement différentes de celle d'Afrique ou d'Amérique, ces variations peuvent se rapporter aux caractéristiques de la population concernée. Les facteurs environnementaux, anthropométriques et alimentaires influenceraient probablement ces valeurs.

L'analyse de variance Anova de la β 2-M sérique en fonction du sexe n'a montré aucune variation significative avec une valeur de $p=0,525$. Ce résultat est superposable aux données de la littérature, en effet les études menées par *Matokovic' et al.* en 2011 [13] ont montré qu'il n'y a pas de variation significative de la β 2-M sérique entre les hommes et les femmes de son échantillon avec un $p>0,05$. Le même résultat a été trouvé dans l'étude de *X.-M. DONG* et collaborateurs [5].

Cependant notre étude a trouvée une variation significative de la β 2-M sérique en fonction de l'âge avec un $p<0,001$.

Selon les tranches d'âge considérées, le taux de la β 2-M sérique varie de façon croissante avec l'âge .les sujets de plus de 50ans ont donc un taux de β 2-M sérique beaucoup plus élevé que les plus jeunes de 18 ans. Nos données confirment celles de la littérature.

On a constaté aussi une augmentation moins prononcée de la β 2-M sérique entre 18 et 50 ans mais une fois la cinquantaine est dépassée cette augmentation devient beaucoup plus accentuée.

En effet, l'augmentation de la β 2-M avec l'âge est liée au vieillissement physiologique qui entraîne des modifications anatomiques et fonctionnelles rénales avec une diminution de la filtration glomérulaire.

En Turquie l'étude menée par PARILDAR et al. [15] a trouvé un résultat similaire au nôtre avec un $p < 0,001$, de même pour les études chinoises et croates citées précédemment.

Tableau V: Comparaison des valeurs usuelles moyennes de la β 2-M sérique des différentes études

Auteurs	Pays (Effectif)	Valeurs usuelles (mg/L)	Intervalles de Référence (mg /L)	Années d'étude
Notre étude	SENEGAL (52)	2,110	[1,31– 3,74]	2017
FILIPPIN FB et al	Brésil (84)	2,460	[1,05– 3,9]	2005
<i>Matokovic'et al</i>	Croatie (51)	1,662	[0,95– 2,73]	2010
Jose A.Viedma et al.	Espagne (303)	1,540	[0,87– 2,42]	1992
PIWOWAR et al	Ouganda (38)	2,350	[1,13– 3,57]	1995

CONCLUSION

La définition des valeurs usuelles a fait l'objet de nombreuses études, particulièrement en Europe. Les normes ainsi mises en évidence sont propres aux populations étudiées.

Dans notre travail, nous avons voulu établir les valeurs usuelles de la β 2-M sérique sur un échantillon de 52 individus de nationalité sénégalaise bien portant.

Le dosage de la β 2-M sérique a été effectué par immunoturbidimétrie sur automate Architect Ci4100.

Notre population d'étude était constituée de 50 % de femmes et de 50 % d'hommes avec un sexe ratio égal à 1.

Nous avons obtenu une valeur usuelle moyenne de la β 2-M sérique dans la population d'étude de 2,210 mg/l avec une valeur minimale de 1,31 mg/l et une valeur maximale de 3,74 mg/l.

Les valeurs usuelles de β 2-M sérique ne varient pas en fonction du sexe

Selon les tranches d'âge considérées, la valeur de la β 2-M sérique varie de façon croissante avec l'âge.

Il ressort de cette étude que l'utilisation des valeurs de référence européennes pour interpréter les résultats de sujets africains pourrait induire des erreurs d'appréciation par excès ou par défaut. Donc nos résultats aideront néanmoins les prescripteurs dans l'interprétation de la β 2-M sérique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1 Anouar MR.

Intérêt du dosage de la bêta-2-microglobuline dans différents milieux biologiques.

Rev Francoph Lab 2011;436:77—82.

2 Berggård I, Bearn AG.

Isolation and properties of a low molecular weight β -2-globulin occurring in humanbiological fluids.

J. Biol. Chem. 1968;243:4095—103.

3 Caudie C.

Valeurs usuelles et utilité diagnostique de la β -2-microglobuline dans le liquide céphalorachidien.

Ann. Biol.Clin. 2005;63(6): 631—7.

4 CLSI Document C28-A3

Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory; *approved guideline, 2008, 28, 3ed. Wayne : PA.*

5 Dong XM., CAI R., Yang et al.

Predictive value of plasma β 2-microglobulin on human body function and senescence.

European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2016, 20: 2350-2356.

6 Eichner T, Radford SE.

Understanding the complex mechanisms of β -2-microglobulin amyloid assembly.

FEBS. J. 2011;278:3868—83.

7 Élisabeth Plouvier,LaurentAlliot, Basile Bigorie, et al

De la nécessité de bien définir les valeurs de référence des hormones thyroïdiennes pour une meilleure interprétation clinique

Ann. Biol. Clin. 2011; 69 (1): 77-83

8 Filippin FB

Serum β 2-Microglobulin values among healthy Brazilians using DPC IMMULITE® Assay.

CLINICS 2005,60(1):47-50.

9 Glikmanas G

β -2-Microglobuline : étude comparative et transfrabilité des résultats obtenus à partir de différents analyseurs.

Immuno.Anal.Biol. Spec., 1997;12: 29—35.

10 J Kroo.,Saxtrup O.

On the use of data for the definition of reference intervals in clinical chemistry.
Scandinavian journal of clinicaland-laboratory- investigation 2009; 58 (6) : 469-473.

11 John GT, Fleming JJ, Talaulikar GS, et al.

Measurement of renal function in kidney donors using serum cystatin C and β 2 microglobulin.

*Ann.Clin. Biochem.*2003 ; 40 : 656-658.

12 Karlsson FA, GrothT, Sege K, et al.

Turnover in humans of beta 2 microglobulin: the constant chain of HLA antigens.
Eur J Clin Invest 1980;10(4):293—300.

13 Matokovic´ D., Hašpl M., Petric´ P et al.

Value of β 2-Microglobulin in the serum of Healthy subjects Older than 40 Years
Therapeutic Apheresis and Dialysis 2011,15(3):315—318.

14 Mendoza VL

Structure of the pre-amyloid dimer of β -2-microglobulin from covalent labeling and mass spectrometry.

Biochemistry 2010;49(7):15 22—32.

15 Parildar Z., G.Lter C., Habüf S. et al.

Age and gender associated changes in cystatin C and b2-Microglobulin
*Turk. J. Med. Sci.*2002,32 ; 317-321.

16 Piwowar EM., Tugume SB., Grant RM. et al.

Beta-2 Microglobulin values among human immunodeficiency virus (HIV)-Negative, HIV-Positive asymptomatic, and HIV-Positive symptomatic Ugandans.
CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY,1995, Mar.
p. 236—237.

17 Sakande J. Coulibaly JL.Bouabre A.

Etablissement des valeurs de référence de 15 constituants biochimiques sanguinschez l'adulte burkinabé à Ouagadougou.

Annales de Biologie Clinique Mars- avril 2004, Volume 62, issue 2.

18 Santambrogio C, Ricagno S, Colombo M et al.

DE-loop mutations affect β -2 microglobulininstability,oligomerization, and the low-pH unfolded form.

Protein Science 2010;19:1386—94.

19 Shi C

β -2-Microglobulin: emerging as a promising cancer therapeutic target.

Drug Discovery Today 2009; 14: 25—30.

20 Siest G.

Les concepts de valeurs de référence et de valeurs usuelles. Dans: Interprétation des examens de laboratoire, 2ème Edition.

Vandoeuvre-Nancy:198, Ed. Karger [14-19].

21 Siest G. Henny J.

Production des valeurs de référence en biologie clinique. Document A, 2ème version.

Ann.Biol.Clin. 1981, 39 :381-4.

22 Siest G., HennyJ.,Schiele F, et al.

Le concept des valeurs de référence. Ses relations avec les sources de variations des examens de laboratoire.

Référence en Biologie clinique, 2ème Edition 1987.Paris: Elsevier Paris: 23-41.

23 Terrier N

Détermination de la bêta-2-microglobuline dans les liquides biologiques par immunoanalyse: comparaison RIA, immunochémiluminescence et immunoturbidimétrie.

Immuno.Anal.Biol. Spec. 2004; 19:219—24.

24 Viedma JA., Pacheco S. et Albaladejo MD.

Determination of β -2-Microglobulin in Serum by a Microparticle-Enhanced Nephelometric Immunoassay.

CLINICAL CHEMISTRY,1995,Vol. 38, No. 12, 2464-2468

25 Vincent Viry M. Henny J. Clerc M.

Discussion sur les limites de référence de populations européennes et africaines. Conclusions pratiques d'étude coopérative internationale.

Med d'Afrique Noire 1987, 34 : 459-65.

VALEURS USUELLES DE LA BETA-2 MICROGLOBULINE DANS UNE POPULATION ADULTE SENEGALAISE

RESUME

La β 2-M est une composante clé du système immunitaire adaptatif. C'est un marqueur de première intention dans le myélome multiple et les lymphopathies B malignes.

Cependant, au Sénégal, nous ne disposons pas de valeurs de référence propre à notre population pour la β 2-M ; raison pour laquelle nous avons objectivé dans ce travail d'établir les valeurs usuelles β 2-M sérique chez l'adulte sénégalais.

Méthodologie

L'étude adoptée dans ce travail est de type prospectif, transversal et analytique.

Elle a été effectuée au laboratoire de biochimie à l'hôpital ARISTIDE LEDANTEC 52 sujets ont été retenus en se basant sur des critères d'inclusion, le dosage de la β 2-M sérique a été réalisé par immunoturbidimétrie, et les valeurs usuelles ont été exprimées selon les recommandations de la NACB et l'ATA qui prescrivent les intervalles de référence définis sur la base de l'intervalle de confiance à 95 % situé entre les percentiles 2,5 et 97,5 avec calcul de la médiane.

Résultats

Sur les 52 sujets, 50 % sont des femmes et les 50 % restants sont des hommes avec un sexe ratio de 1.

Les percentiles 2,5 et 97,5 définissant 95% des valeurs centrales se situent entre 1.31 et 3.74 mg/L avec une valeur médiane à 2.110 mg/L.

Conclusion

Ce travail permettra aux biologistes et aux cliniciens une interprétation ciblée et plus judicieuse des valeurs de la β 2-M chez les patients sénégalais. Nous avons évoqué l'importance du respect des conditions pré-analytiques. Nos résultats aideront néanmoins les prescripteurs dans l'interprétation et le diagnostic des pathologies avec variations de la β 2-M.

Mots-clés : Valeurs usuelles – Valeurs de référence – béta-2 microglobuline – Sénégal
