REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences biologique

Spécialité : Immunologie et maladies infectieuses

Par :

BENKENNINE Nesrine
MERZOUG Nassime

Thème :

Electrophorèse des protéines sériques : fréquence et intérêts en diagnostic

Soutenue publiquement le : ... /06 /2023., Devant le jury composé de :

Ait Hamouda Tahar	**MAA**	UYFM	Président
Ainas Mahfoud	**MCB**	UYFM	Examinateur
Zebari Karim	**assistant**	EPH de Médéa	Encadreur
Nasri Riad	**MCB**	UYFM	Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier le" ***DIEU*** *" Tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail. Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre encadreur Mr* ***Zebari Karim*** *pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail et pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené convenablement, et à notre Co-encadreur* ***Nasri Riadh*** *pour son exigence et ses encouragements, en nous faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques, durant la réalisation de ce mémoire. Ainsi* ***Dr.Zitouni Dahman*** *médecin biologiste du laboratoire zitouni lab ,* ***Mme chahra .Z*** *ingenieur de laboratoire* ***Mr. KHEDDAR Kaddour Mohamed*** *,* ***Mr. Benbouali Adel*** *et* ***Mr. Ould maamer Abdelmalek*** *les ingénieurs du laboratoire*

Nous adressons nos vifs et sincères remerciements aux membres de jury

de nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce modeste travail ***Ait Hamouda Tahar*** *et* ***Ainas Mahfoud***

Enfin, nous remercions tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin, qu'ils trouvent ici toute notre sympathie et notre profonde gratitude.

Dédicace

En tout premier lieu, je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force pour survivre, l'audace pour dépasser les difficultés, la

Santé, la patience, la volonté et de m'avoir fourni sa bénédiction.

Je dédie ce travail aux plus proches à mon cœur.

A mes très chers parents pour leurs soutiens, affection et amour, leurs confiances et patiences et pour leurs sacrifices infinis, je le dédie aussi à toute ma famille pour laquelle j'exprime mon amour et mes respects les plus dévoués.

A mon très cher père ***Youcef,*** *Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa .

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de la tendresse, ma douce et tendre

Maman ***Atchi Aouaouache****. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi.*

Merci pour votre soutien et pour l'amour que vous me portez, Merci de m'avoir supportée dans les moments particulièrement stressants que Dieu vous protège et vous donne longue vie

A mes chers frères : ***SidAhmed*** *et Mohamed et A mes cheres sœurs :* ***Ahlem*** *et* ***Amina*** *avec eux j'ai passé mon enfance, avec eux j'ai et je partagerai ma vie, et avec eux j'ai passé des moments agréables, ils m'ont encouragé pour réaliser mon rêve après des longues années d'étude en leurs souhaitons à tous la réussite dans leur vie. Aux enfants qui ont volé mon cœur* ***Samia****,* ***Farah*** *et* ***Assil***

vous avoir comme neveux et nièces est un véritable bonheur. Devenir votre tante est la meilleure chose qui m'est arrivée. Je vous adore.

A mon beau-frère et ma belle-sœur ***Mohamed*** *et* ***Ikrem****.*

A tous mes amis qui me sont chers :

Mustapha , Aymen , Mohamed,Rafik et Tarek , Imen ,Bachira , hayat , Radia Ratiba,Ikram ,Rahil , CHaimaa

Sans oublier mes deux âmes sœurs ***Sara*** *et* ***Meriem*** *notre union fait et fera toujours notre force.*

A tous les membres des deux familles ***Benkennine*** *et* ***Atchi***

A tous les membres de la promo immunologie et maladie infectueuses.

Et à toute personne à qui ma réussite est importante.

Nesrine

Dédicace

Tout d'abord je tiens à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la volonté et de m'avoir fourni sa bénédiction.

Je dédie ce travail aux plus proches à mon cœur.

A mes très chers parents, à qui je dois cette fierté et qui m'ont beaucoup soutenu et aidé.

Nasime

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigènes

AGP : acide glycoprotéine

AL : Amylose light Chain

Apo B : Lipoproténie synthétisée par le foie et les intestins.

ARNm : Acide ribonucléique messager

BCR : Récepteurs membranaires

bloc β-γ : Le bloc bêta-gamma

C3 C4 : Complément

CM : Composant monoclonal

C3Nef : Facteur néphritique

CR : Correspondance rétinienne

CRP : Protéine C réactive

Cu+2 : cuivre

D : coefficient de diffusion

Da : Daltons

DICS : Déficit immunitaire combiné sévère.

DICV : Déficit immunitaire commun variable

E : champs électriques

EDTA : Acide ethyléne diamine tétra-acétique

ECP : Électrophorèse capillaire

EPS : Electrophorèse des protéines sérique

EPU : L'électrophorèse des protéines urinaires

GMSI : Gammapathie monoclonale de signification indéterminée

HAAAs : Human Anti-Animal Antibodies

HAMAs : Human Anti-Mouse Antibodies

Hp1 : Phénotype de haptoglobine

I : L'intensité du courant qui circule à travers la résistance

IFE : Immunofixation

Ig : Immunoglobulines

IgA : Immunoglobulines A

IgD : Immunoglobuline D

IgE : Immunoglobuline E

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

IM : Immunoglobuline monoclonale

IMSI : Immunoglobuline monoclonale de signification indéterminée

IPH : Immunoglobulines polyvalentes humaines

IV : Voie intraveineuse

K : Kappa

L : Lambda

LB : Lymphocytes B

LLC : Leucémie lymphoide chronique

LNH : Lymphome non hodgkien

M : Mole

MGUS : Monoclonal gammopathy of undetermined significance

MM : Myélome multiple

PCI : Peritoneal cancer index

pHi : PH Isoélectrique

Pi MZ : Phénotype hétérozygotes

Pi ZZ : Phénotype homozygotes

R : La valeur de la résistance.

SDS : Dodécylsulfate de sodium

SDS-PAGE : Électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium

U : La tension aux bornes de la résistance

VGPR : Very good partial reponse

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des cas selon l'âge ..... **Page 50**

Tableau 2 : Fractions des protéines sériques dans les cas normaux ..... **Page 52**

Tableau 3 : Fractions des protéines sériques dans le cas de syndrome inflammatoire chronique. ..... **Page 52**

Tableau 4 : Fractions des protéines sériques dans le cas d'Hypogammaglobulinémie ..... **Page 53**

Tableau 5 : Tableau représente les fractions des protéines sériques dans le cas d'augmentation de la fraction beta 1. ..... **Page 54**

Tableau 6 : Fractions des protéines sériques dans le cas de composant monoclonal en position beta 2 ..... **Page 55**

Tableau 7 : Fractions des protéines sériques dans le cas de Syndrome inflammatoire aigue..... **Page 56**

Tableau 8 : Fractions des protéines sériques dans le cas de composant monoclonal en position gamma ..... **Page 57**

Tableau 9 : Fractions des protéines sériques dans le cas d'hypo-albuminémie..... **Page 58**

Tableau 10 : Fractions des protéines sériques dans le cas de diminution de la fraction α 1. ..... **Page 59**

Tableau 11 : Fractions des protéines sériques dans le cas de Syndrome néphrotique. ..... **Page 60**

Tableau 12 : Fractions des protéines sériques dans le cas d'immunofixation ..... **Page 62**

Liste des figures

Figure 01 : Migration des protéines ..... **Page 3**

Figure 02 : Structure d'une gammaglobuline ..... **Page 8**

Figure 03 : Schéma représentant la différence de mobilité des composés entre deux électrodes ..... **Page 9**

Figure 04 : Schéma de la double couche ionique de solvatation d'une particule ..... **Page 11**

Figure 05 : Électrophorèse en veine liquide ..... **Page 14**

Figure 06 : d'électrophorèse sur papier ..... **Page 15**

Figure 07 : Electrophorèse sur gel d'agarose ..... **Page 15**

Figure 08 : Electrophorèse sur gel polyacrylamide PAGE ..... **Page 16**

Figure 09 : profil électrophorétique d'un sérum normal ..... **Page 17**

Figure 10 : Profil électrophorétique de la patiente montrant une bisalbuminémie ..... **Page 18**

Figure 11 : Profil électrophorétique d'un syndrome inflammatoire aigue ..... **Page 18**

Figure 12 : Profil d'un syndrome inflammatoire chronique ..... **Page 19**

Figure 13 : Un profil électrophorèse de Cirrhose hépatique ..... **Page 19**

Figure 14 : Un profil électrophorèse de syndrome néphrotique ..... **Page 20**

Figure 15 : Déficits immunitaires ..... **Page 21**

Figure 16 : Un profil électrophorèse d'Hypergammaglobulinémie polyclonale ..... **Page 21**

Figure 17 : Un profil électrophorèse de Déficit en α1-antitrypsine ..... **Page 22**

Figure 18 : Eléments diagnostiques d'un myélome multiple ..... **Page 24**

Figure 19 : Schéma représente électrophorèse des protéines sériques avec le fibrinogène, Bande de fibrinogène (flèche) ..... **Page 30**

Figure 20 : Dédoublement du pic béta 2 résultant la présence de la chaine légère libre monoclonal de type gamma ..... **Page 30**

Figure 21 : Aspect en cul de sac en béta 2-gamma rapide sous plasmion Bande de plasmion (flèche) ..... **Page 32**

Figure 22 : Interférence de l'hydroxocobalamine avec l'ESP ..... **Page 33**

Figure 23 : résultat d'une immunofixation montrant une IgM λ monoclonale **Page33**

Figure 24 : L'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agaros **Page36**

Figure 25 : Le principe d'electrophorse **Page36**

Figure 26 : Préparation des échantillons **Page38**

Figure 27 : Fixer les deux mèches..... **Page38**

Figure 28 : l'addition de l'eau distillée **Page38**

Figure 29 : Préparation de gel **Page39**

Figure 30 : placement de la plaque de gel..... **Page39**

Figure 31 : placement d'applicateur..... **Page40**

Figure 32 : Lancement la migration **Page40**

Figure 33 : placement de gel dans le module de coloration **Page41**

Figure 34 : Lancement de coloration **Page41**

Figure 35 : placement de porte gel dans le compartiment Gelscan..... **Page41**

Figure36 : chargement de l'applicateur..... **Page42**

Figure 37 : placement de l'applicateur dans la chambre humide..... **Page43**

Figure 38 : fixation les deux mèches sur le chariot porte électrodes **Page43**

Figure 39 : l'addition de l'eau distillée **Page43**

Figure 40 : Préparation de gel **Page44**

Figure 41 : placement de la plaque de gel..... **Page44**

Figure 42 : placement d'applicateur..... **Page44**

Figure 43 : Lancement la migration **Page45**

Figure 44 : Application des antisérums..... **Page45**

Figure 45 : placement le masque standard **Page45**

Figure 46 : chargement les antisérums..... **Page46**

Figure 47 : élimination de l'excès d'antisérums **Page46**

Figure 48 : Retirer les peignes et le masque standard **Page46**

Figure 49 : l'absorption des antisérums par papier épais ..... **Page 47**

Figure 50 : Préparation pour la coloration ..... **Page 47**

Figure 51 : Lancement la coloration ..... **Page 47**

Figure 52 : placement de porte gel dans le compartiment Gelscan **Page48**

Figure 53 : répartition de population selon les cas normaux et anormaux ..... **Page 49**

Figure 54 : Répartition de notre population selon les tranches d'âge ..... **Page 50**

Figure 55 : Répartition des patients selon le sexe ..... **Page 50**

Figure 56: Répartition des cas en fonction de résultats d'électrophorèse **Page51**

Figure 57 : Electrophorèse de protéines sériques de cas normale ..... **Page 51**

Figure 58 : Electrophorèse d'un sujet avec syndrome inflammatoire chronique ..... **Page 53**

Figure 59 : Electrophorèse dans le cas d'Hypogammaglobulinémie ..... **Page 54**

Figure 60 : figure représente l'électrophorèse dans le cas d'Augmentation de la fraction beta 1 ..... **Page 55**

Figure 61 : Electrophorèse dans le cas de Composant monoclonal en position beta 2 ..... **Page 56**

Figure 62 : figure représente l'électrophorèse dans le cas de Syndrome inflammatoire aigue ... **Page 57**

Figure 63 : Electrophorèse dans le cas de Composant monoclonal en position gamma ..... **Page 58**

Figure 64 : Electrophorèse dans le cas d' Hypoalbuminémie ..... **Page 59**

Figure 65 : Electrophorèse dans le cas de Diminution de la fraction alpha 1 ..... **Page 60**

Figure 66 : Electrophorèse dans le cas de Syndrome néphrotique ..... **Page 61**

Figure 67 : Electrophorèse dont l'immunofixation est recommandée ..... **Page 62**

Figure 68 : figure représente résultat immunofixation ..... **Page 63**

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction ..... Page 1

I. Revue bibliographique ..... Page 2

I. 1. Protéines sériques ..... Page 2

1. Généralités sur les protéines ..... **Page 2**

1 .1. Définition ..... **Page 2**

1.2. Propriétés physicochimiques ..... **Page 2**

1.3. Poids moléculaire ..... **Page 2**

1.4. Solubilité ..... **Page 2**

1.5. Stabilité ..... **Page 2**

1.6. Dénaturation ..... **Page 3**

1 .7. Propriétés électriques ..... **Page 3**

1.8. Propriétés optiques ..... **Page 3**

1.9. Classification ..... **Page 3**

1.9.1. Selon leur composition ..... **Page 3**

1.9.2. Selon leur forme globale ..... **Page 4**

1.10. Métabolisme ..... **Page 4**

1.11. Fonctions biologiques ..... **Page 4**

2. Description des anomalies des différentes fractions protéiques ..... **Page 5**

2.1. Albumine ..... **Page 5**
2.2. Bisalbuminémie ..... **Page 5**
2.3. Hyperalbuminémie ..... **Page 5**
2.4. Hypoalbuminémie ..... **Page 5**
2.5. Analbuminémie ..... **Page 5**
2.6. α-1 globuline ..... **Page 6**
2.7. α-2 globuline ..... **Page 6**
2.8. β-1 globulines ..... **Page 6**
2.9. β-2 globulines ..... **Page 7**
2.10. Gammaglobulines ..... **Page 7**
2.11. Hypogammaglobulinémie ..... **Page 8**
2.12. Hypergammaglobulinémie polyclonale ..... **Page 8**
2.13. Immunoglobuline monoclonale ..... **Page 8**
I.2. Électrophorèse des protéines sériques ..... Page 9
1. Généralités ..... **Page 9**
2. Principe ..... **Page 9**
3. Historique ..... **Page 10**
4. Étude théorique du déplacement électrophorétique ..... **Page 10**
4.1. Mobilité électrophorétique ..... **Page 10**
4.2. Migration électrophorétique ..... **Page 10**
4.3. Evaporation ..... **Page 10**
4.4. Diffusion ..... **Page 11**
5. Théories plus élaborées de l'électrophorèse ..... **Page 11**
6. Facteurs influençant le déplacement électrophorétique ..... **Page 12**
6.1. Nature des molécules ..... **Page 12**
6.2. Charge ..... **Page 12**
6.3. Taille ..... **Page 12**

6.4. Appareillage ..... **Page 12**

6.5. Nature du support ..... **Page 12**

6.6. Son pouvoir adsorbant ..... **Page 12**

6.7. Formation de la double couche électrique ..... **Page 12**

6.8. Champ électrique ..... **Page 12**

6.9. Force ionique ..... **Page 13**

6.10. PH ..... **Page 13**

6.11. Nature des solutions ..... **Page 13**

7. Principales techniques électrophorétique ..... **Page 13**

7.1. Électrophorèse en veine liquide ..... **Page 13**

7.2. Électrophorèse de zone utilisant un support ..... **Page 14**

7.2.1. Électrophorèse sur papier ..... **Page 14**

7.2.2. Electrophorèse sur acétate de cellulose ..... **Page 14**

7.2. 3.Electrophorèse sur gel d'agarose ..... **Page 15**

7.2. 4.Electrophorèse sur gel polyacrylamide PAGE ..... **Page 16**

8. Profils électrophorétique ..... **Page 16**

8.1. Définition du profil électrophorétique ..... **Page 16**

8.2. Interprétation du profil électrophorétique d'un sérum normal ..... **Page 17**

9. Interprétation de profil électrophoritique pathologique ..... **Page 17**

9.1. Bisalbuminémie ..... **Page 17**

9.2. Syndrome inflammatoire aigue ..... **Page 17**

9.3. Syndrome inflammatoire chronique ..... **Page 17**

9.4. Cirrhose hépatique ..... **Page 19**

9.5. Syndrome néphrotique ..... **Page 20**

9.6. Anomalies des gammaglobulines ..... **Page 20**

9.7. Hypogammaglobulinémie ..... **Page 20**

9.8. Hypergammaglobulinémie polyclonale ..... **Page 20**

9.9. Déficit en alpha 1 antitrypsine ..... **Page 21**

10. Pathologie diagnostiquées par l'électrophorèse des protéines sériques..... . **Page 22**

10.1. Hypogammaglobulinémies ..... **Page 22**

10.2. Hypogammaglobulinémies constitutionnelles ..... **Page 23**

10 .3. Gammapathies monoclonales..... **Page 22**

10.4. Epidémiologie ..... **Page 23**

10.5. Immunoglobuline monoclonale associée à une hémopathie maligne ..... **Page 23**

10.6. Myélome multiple (MM) ..... **Page 23**

10.7. Maladie de Waldenström ..... **Page 24**

10.8. Leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) ..... **Page 24**

10.9. Lymphomes non hodgkiniens ..... **Page 25**

10.10. Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI ou MGUS)..... **Page 25**

A. Définition..... **Page 25**

B. Epidémiologie..... **Page 26**

10.11. Gammapathie monoclonales secondaires..... **Page 26**

I.3. Facteurs interférant avec l'électrophorèse des protéines sériques ..... **Page 26**

1. Interférences d'origine endogène ..... **Page 27**

1.1. Hyperlipémie..... **Page 27**

1.2. Bilirubine..... **Page 27**

1.3. Anticorps anti-animaux..... **Page 27**

1.4. Hémolyse..... **Page 28**

1.4.1. Hémolyse in vivo **Page28**

1.4.2. Hémolyse in vitro..... **Page 28**

1.4.3. Mécanisme d'interférence de l'hémolyse sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques..... **Page 28**

1.5. Fibrinogène..... **Page 29**

1. 5.1. Mécanisme d'interférence du fibrinogène sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques..... **Page 29**

1.6. Protéine C réactive ..... **Page 29**

1.6.1. Mécanisme d'interférence de la CRP sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques ..... **Page 30**

2. Interférences d'origine exogènes ..... **Page 31**

2.1. Produits de contraste ..... **Page 31**

2.2. Antibiotiques ..... **Page 31**

2.3. Anticancéreux biologiques ..... **Page 31**

2.4. Produits de remplissage ..... **Page 32**

2.4.1. Substituts du plasma à base de gélatine ..... **Page 32**

2.5. Immunoglobulines polyvalentes humaines ..... **Page 32**

2.6. Hydroxocobalamine ..... **Page 33**

I .4 .Examen immunologique complémentaire ..... **Page 34**

1. Immunofixation ..... **Page 34**

1 .1 . Le principe ..... **Page 34**

II .1. Matériel et Méthodes ..... **Page 35**

Ⅰ. Matériel et Méthodes ..... **Page 35**

1. Caractéristiques de l'étude **Page35**

2. Population de l'étude ..... **Page 35**

3. Matériel ..... **Page 35**

3.1. L'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose (hydragel) ..... **Page 35**

4. Méthodes ..... **Page 36**

4.1. Traitement d'échantillon ..... **Page 36**

4.2. Dosage de protéines sériques totales ..... **Page 37**

4.3. Mode opératoire de l'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose (hydragel) ... **Page 37**

4.3.1. Préparation des échantillons ..... **Page 37**

4.3.2. Préparation de la migration ..... **Page 38**

4.4. Principe de l'immunofixation ..... **Page 42**

5. Etude statistique ..... **Page 48**

5.1. Méthodes statistiques ..... **Page 48**

II.2. Résultats ..... **Page 49**

1 Caractéristiques de la population..... **Page 49**

1.1. Distribution de la population selon les cas normaux/anormaux ..... **Page 49**

1.2. Distribution de la population selon l'âge ..... **Page 49**

1.3. Distribution de la population d'étude selon le sexe ..... **Page 49**

2. Profil électrophorétique..... **Page 51**

2.1. Syndrome inflammatoire chronique..... **Page 52**

2.2. Hypogammaglobulinémie ..... **Page 53**

2.3. Augmentation de la fraction beta 1 ..... **Page 54**

2.4. Composant monoclonal en position beta 2 ..... **Page 55**

2.5. Syndrome inflammatoire aigue ..... **Page 56**

2.6. Composant monoclonal en position gamma ..... **Page 57**

2.7. Hypoalbuminémie ..... **Page 58**

2.8. Diminution de la fraction alpha 1..... **Page 59**

2.9. Syndrome néphrotique ..... **Page 60**

3. Immunofixation..... **Page 61**

II. 3. Discussion ..... **Page 63**

Conclusion..... **Page 66**

Références bibliographique

Résumé

Introduction

L'électrophorèse des protéines sériques est une analyse de routine dans la pratique quotidienne d'un laboratoire de biologie médicale. Elle a pour but de séparer et analyser les protéines sériques afin de détecter les différentes anomalies comme immunoglobuline monoclonale, hypergammaglobulinémie, hypogammaglobulinémie, syndrome néphrotique, etc. Les protéines sont séparées en six fractions en fonction du rapport charge/poids moléculaire, du plus faible au plus élevé : l'albumine ; les α1-globulines ; les α2-globulines ; les β1-globulines ; β2-globulines et les γ-globulines [32].

L'électrophorèse est demandée par les cliniciens comme exploration de première intention devant toute éventuelle suspicion d'une maladie auto-immune afin de s'orienter vers un diagnostic bien déterminé (diagnostic différentiel).

L'électrophorèse des protéines sériques a un intérêt en diagnostic certain. Il s'agit est un examen biologique fréquemment prescrit pour la mise en évidence d'anomalies qualitatives et/ou quantitatives des protéines sériques [14].

L'immunofixation des protéines est une technique qualitative appliquée à la révélation et l'identification des immunoglobulines monoclonales dans le sérum, les urines et éventuellement le liquide céphalorachidien. Cette technique, en raison de sa simplicité et sa sensibilité, est actuellement de plus en plus utilisée dans les laboratoires d'analyses biomédicales [56].

Pour prouver l'importance de l'électrophorèse des protéines sériques et son intérêt en diagnostic de certaines maladies, on a réalisé une étude prospective sur 200 patients qui ont bénéficiés d'une électrophorèse et d'examen immunologiques complémentaire (immunofixation) au niveau de laboratoire de ZITOUNI. Cette étude propose une analyse des différents profils électrophorétiques rencontrés lors d'analyse des sérums des patients, contribuant ainsi au diagnostic de diverses pathologies et permettant ainsi leur suivi thérapeutique.

I. Revue bibliographique

I. 1. Protéines sériques

1. Généralités sur les protéines

1 .1. Définition

Les protéines sont composées principalement de carbone, d'hydrogène d'oxygène et d'azote ; elles peuvent également comporter du soufre et de phosphore [1]. Elles sont des polymères d'acides aminés unis par une liaison amide, appelée liaison peptidique, établie entre le groupe alpha-carboxyle de l'un et le groupe alpha-amino du suivant. La plupart des protéines naturelles comptent entre 100 et 2000 résidus d'acides aminés. Toutes les protéines de toutes les espèces, du virus à l'homme, sont construites à partir de 20 acides aminés, qui constituent un alphabet universel, grâce auquel s'écrivent des milliers de séquences, toutes différentes, chacune spécifique d'une protéine [2].

1.2. Propriétés physicochimiques

Les propriétés physicochimiques des protéines dépendent principalement des groupes fonctionnels des chaînes latérales [1].

1.3. Poids moléculaire

La taille des protéines est très différente, elle s'exprime en Daltons (Da ou kDa) et est calculée à partir de la séquence primaire [1].

1.4. Solubilité

Les protéines sont solubles à petite concentration saline ou à faible force ionique (effet dissolvant ou "salting in"). Par contre, les protéines sont, en général, insolubles dans ces mêmes solutions salines concentrées (effet de séparation ou "salting out"). La température favorise la solubilité des protéines en dessous de la température de dénaturation. Les solvants organiques (facetone, alcools) insolubilisent les protéines (dimanation de la constante diélectrique du milieu, donc augmentation des interactions électrostatiques avec risque de dénaturation [2].

1.5. Stabilité

La stabilité est définie comme la capacité d'une protéine à conserver sa conformation structurelle ou son activité lorsqu'elle est soumise à des manipulations physiques ou

chimiques. La stabilité conformationnelle est la différence d'énergie libre entre l'état natif plié et l'état déplié dans des conditions définies [3].

1.6. Dénaturation

La dénaturation est de réorganiser les structures secondaires, tertiaires ou quaternaires en rompant les liaisons à basse énergie. La dénaturation peut être provoquée par des facteur physiques (température ; pH ; radiations) et par des facteurs chimiques ('urée ; Beta-mercaptoéthanol ; dodécylsulfate de sodium) [4]. Il y a deux étapes de dénaturation :

- 1ère étape : rupture réversible des liaisons faibles ou des ponts disulfures.
- 2ème étape : création irréversible de nouvelles liaisons faibles.

1 .7. Propriétés électriques

Les protéines, polymères d'acides aminés, portent des charges électriques variables en fonction du pH. Chaque protéine possède un pH isoélectrique (pHi) pour lequel la mobilité dans un champ électrique (mobilité électrophorétique) est nulle [2] (Figure 1).

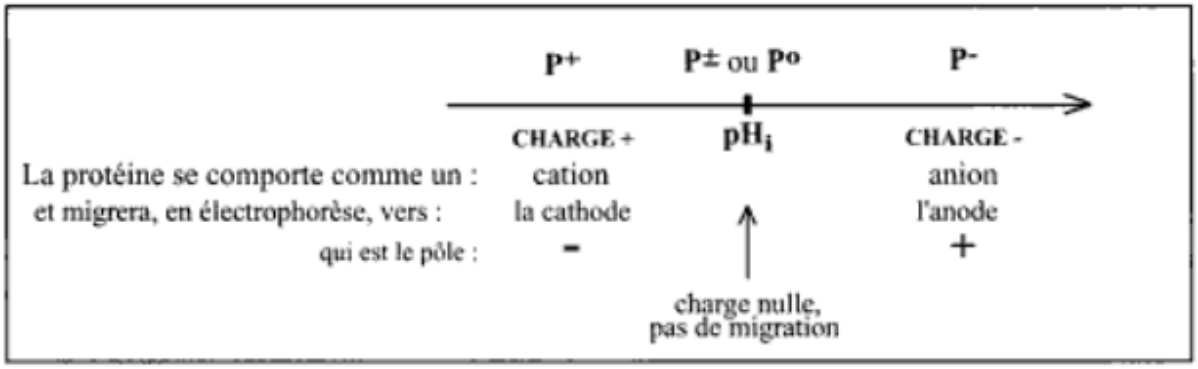


Figure 1 : Migration des protéines [3].

1.8. Propriétés optiques

Les propriétés optiques des protéines se manifestent par leur absorption et leur diffusion de la lumière. Elles dépendent de trois facteurs : la taille, la forme des molécules et la concentration de la solution [5].

1.9. Classification

1.9.1. Selon leur composition

A. holoprotéines : ils sont constitués uniquement d'une ou plusieurs chaines polypeptidiques (exemple : les globulaires et les fibreuses).

B. Globulaires : protéines de formes arrondies (exemples : albumine et histone).

C. Fibreuses : protéines étirées structurales (exemples : kératine, collagène et myosine).

D. hétéroprotéines : ils sont composés d'une chaine ou plusieurs chaines polypeptidiques avec un groupement prothétique (non peptidique) (exemples : les phosphoprotéines, les sulfoprotéines, les glycoprotéines, les lipoprotéines) [5].

1.9.2. Selon leur forme globale

A. Protéines globulaires (exemples : les enzymes, les hormones et les anticorps).

B. Protéines fibreuses (exemples : la kératine et le collagène).

C. Protéines mixtes : mi-globulaire, mi-fibreuses (exemple : la myosine) [2].

1.10. Métabolisme

Les protéines sont renouvelées en permanence par des processus biochimiques consommant de l'énergie et associant synthèse et catabolisme protéique. Le renouvellement protéique est modulé par de multiples facteurs nutritionnels et hormonaux et au cours de diverses situations pathologiques [5].

La synthèse des protéines se fait à partir d'un pool d'acides aminés libres et se déroule en plusieurs étapes : la transcription de l'ADN en ARNm suivi de la traduction de ce dernier en peptide au niveau des ribosomes puis la maturation qui permettra d'obtenir une protéine fonctionnelle à partir d'un peptide détaché de l'ARNm [6].

Le catabolisme des protéines (protéolyse) constitue la principale source d'acides aminés pour l'organisme, en règle générale les protéines sont dégradées par des enzymes protéolytiques et des protéases [6].

1.11. Fonctions biologiques

Les protéines absorbées avec la nourriture jouent un rôle très important dans notre corps : constitution de l'organisme (exemples : muscles, organes, os, peau et cheveux) ; protection (anticorps du système immunitaire) ; constituant des hormones (exemple : insuline) ;

constituant des enzymes dans de nombreux processus métaboliques ; Transport de nutriments (exemple : fer) [8].

2. Description des anomalies des différentes fractions protéiques

2.1. Albumine

L'albumine est la protéine la plus abondante du plasma, elle appartient à une famille de protéines homologues. La synthèse est principalement hépatique. L'albumine est un déterminant majeur de la pression oncotique plasmatique et régule la répartition des fluides dans l'organisme, transporteur d'acide gras, d'hormones, de toxines/métabolites et participe à la pharmacocinétique de nombreuses molécules. Un rôle de tampon d'acidité et sert parfois de réserve en acides aminés [7].

2.2. Bisalbuminémie

La bisalbuminémie, appelée aussi para-albuminémie, est une anomalie rare de l'albumine, d'une fréquence estimée à1/15000, qui désigne la présence de 2 fractions d'albumine à l'électrophorèse des protides sériques en milieu acide à pH= 8,6. Selon leur caractère permanent ou transitoire, les bisalbuminémies relèvent de 3 étiologies ; une mutation héréditaire, un surdosage par les bêtalactamines ou lors d'une fistule pancréatique dans un épanchement séreux [8].

2.3. Hyperalbuminémie

Elle est due à une hémoconcentration ou une perfusion de solution d'albumine [9].

2.4. Hypoalbuminémie

Les principales causes d'hypoalbuminémie sont la diminution de la synthèse d'albumine (insuffisance hépatique), la dilution par augmentation de la perméabilité capillaire (ouverture des jonctions serrées sous l'effet des cytokines), l'augmentation des pertes : syndrome néphrotique, entéropathie exsudative, brûlures étendues [12].

2.5. Analbuminémie

Il s'agit d'une maladie congénitale très rare [18].

2.6. α-1 globuline

Elle regroupe les deux protéines, alpha 1-antitrypsine et α1-glycoprotéine. L'α1-antitrypsine est sécrétée par le foie et la glycoprotéine α1-acide (AGP) est principalement synthétisée dans l'hépatocyte. La fonction de l'AGP est le transport des composés lipophiles [18].

Une diminution de l'**α**-1 globuline est observée dans le déficit congénital en α 1-antitrypsine, composant majeur des α 1-globulines. Il a été observé une baisse modérée en cas de déficits hétérozygotes (phénotype Pi MZ) ou importante en cas de déficits homozygotes (phénotype Pi ZZ). Cette diminution entraine des déficits aigus (insuffisance hépatocellulaire, syndromes néphrotiques sévères, dénutrition) [13]. Une augmentation des α 1-globulines se rencontre essentiellement dans les syndromes inflammatoires, en association avec une augmentation des α 2-globulines [10].

2.7. α-2 globuline

Un dédoublement des α 2-globulinémies peut s'observer dans quatre cas :

- En cas d'hémolyse in vitro, le complexe hémoglobine-haptoglobine migre en α 2
- Présence d'haptoglobine de phénotype différent du type Hp1-2 (le plus courant), les variants Hp1-1 ou Hp2-2 ayant une mobilité électrophorétique différente. Ce dédoublement est plus net par technique d'électrophorèse capillaire qu'en agarose.
- Présence d'une β-lipoprotéine (apo B) de mobilité anormale.
- Présence de chaînes légères libres d'immunoglobulines.

La diminution des α 2-globulines s'observe en cas d'insuffisance hépatocellulaire, de fuite protéique digestive ou rénale, de dénutrition, d'hémolyse intravasculaire β. L'augmentation des α 2-globulines s'observe dans les syndromes inflammatoires (par augmentation de l'haptoglobine, associée à une hyper-α 1-globulinémie) et dans les syndromes néphrotiques par augmentation de l'α 2-macroglobuline qui ne passe pas la barrière rénale en raison de son poids moléculaire [10].

2.8. β-1 globulines

La diminution des β 1-globulines s'observe dans les insuffisances hépatocellulaires sévères la surcharge martiale, les transfusions répétées et les fuites protéiques d'origine digestive ou rénale [13].

L'augmentation des β 1-globulines s'observe dans les hypertransferrinémies des anémies ferriprives, en présence d'hémoglobine libérée par hémolyse in vitro (présence d'un double pic en β 1), à taux élevé dans les causes monoclonales (IgA ou IgG monoclonales du myélome, IgM monoclonale de la maladie de Waldenström, chaînes légères libres de type κ ou λ, des myélomes à chaînes légères ou des amyloses [10].

2.9. β-2 globulines

Cette fraction comprend C3 et C4 du complément ainsi que les immunoglobulines A. Une diminution de la β2 globulines peut traduire une hypocomplémentémie en C3 (sérumvieilli, consommation duC3, présence d'anticorps anti-C3 ou-C3Nef).

Un dédoublement dans la fraction β 2-globulines peut traduire une présence d'une protéine monoclonale (IgA,IgG, chaîne légère libre), la présence de fibrinogène [10].

2.10. Gammaglobulines

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines globulaires qui appartiennent à la superfamille des immunoglobulines, elles sont produites par les plasmocytes. Les immunoglobulines peuvent prendre la forme de récepteurs d'antigènes liés à la membrane des lymphocytes B (BCR) ou de protéines sécrétées solubles qui exercent la fonction d'anticorps (Ac) dirigés contre des antigènes (Ag) qu'elles neutralisent. Elles sont le support de l'immunité humorale spécifique. Elles ont une structure commune comprenant quatre chaînes polypeptidiques, qui se répartissent en deux chaînes lourdes (H) identiques et en deux chaînes légères (L) identiques, chaque chaîne contenant une région variable et une région constante dont l'assemblage (ponts disulfures) évoque la forme d'un "Y". Elle présente une dualité structurale qui explique sa dualité fonctionnelle : la partie Fab responsable de la reconnaissance et la liaison à l'antigène et la partie Fc responsable des fonctions effectrices. Il existe deux types de chaîne légère, appelés κ et λ, et cinq types de chaînes lourdes, appelés μ, δ, γ, ε et α, ces différents isotypes de chaîne lourde définissent les 5 classes d'Ig qui sont respectivement : IgM, IgD, IgG, IgE et IgA qui diffèrent par leurs compositions en acides aminés et en sucres, et par conséquent par leurs masses moléculaires et leurs charges (Figure 2) [11].

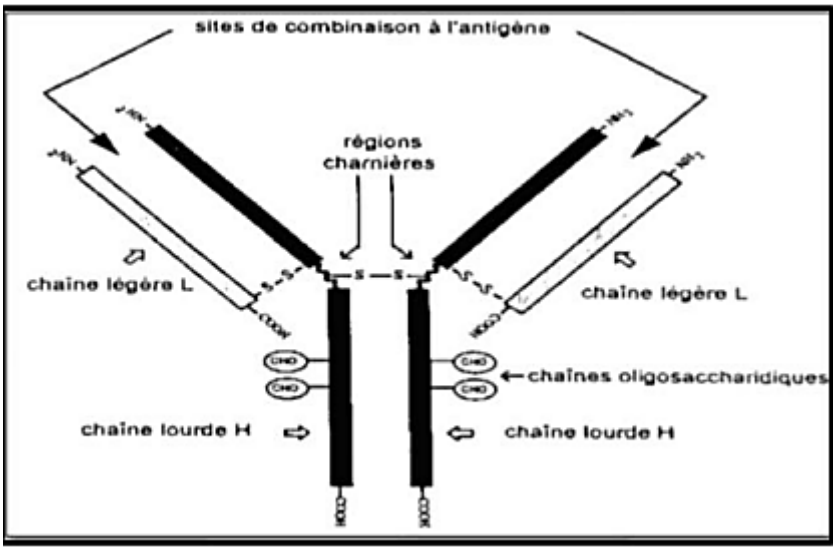


Figure 2 : Structure d'une gammaglobuline [12].

2.11. Hypogammaglobulinémie

Elles peuvent être physiologiques chez le nourrissant. Elles peuvent révéler des déficits immunitaires primitifs de l'enfant et de l'adulte ou êtres secondaires aux traitements : corticoïdes, immunosuppresseurs, chimio- et radiothérapies. Elles sont aussi révélatrices de certaines pathologies comme le myélome à chaînes légères dont le diagnostic sera fait sur l'existence d'une protéinurie de Bence Jones [12].

2.12. Hypergammaglobulinémie polyclonale

Elles sont le plus souvent polyclonales accompagnant les pathologies hépatiques, infectieuses, parasitaires ou auto-immunes. Elles peuvent parfois présenter un aspect monoclonal (elle intéresse une seule Ig) qui est associé aux immunoglobulinopathies malignes, telles que le myélome multiple (maladie de Kahler) ou la maladie de Waldenström, l'amylose AL (A pour amylose, L pour light chain) ou une hémopathie lymphoïde B [12].

2.13. Immunoglobuline monoclonale

La prévalence des immunoglobulines monoclonales dépistée à l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) dans la population générale augmente avec l'âge. Elle atteint 8,8% chez les patients de plus 80 ans. Elles ne sont toutefois pas toujours signe de malignité. Outre les causes réactionnelles possibles (infections aigues/chroniques, maladies auto-immunes…), le diagnostic différentiel entre une immunoglobuline monoclonale de signification indéterminée (IMSI) et une immunoglobuline monoclonale associée à une hémopathie maligne (myélome,

maladie de Waldenström, lymphome) s'impose fréquemment. Plus de la moitié des immunoglobulines monoclonales de découverte fortuite sont des IMSI. Une IMSI est définie comme une immunoglobuline monoclonale isolée et inférieure à 30g/L. La présence d'une IMSI ne nécessite aucun traitement mais une surveillance régulière compte tenu du risque d'évolution maligne de 1%/an (en fonction du taux et de l'isotype, l'hématologue peut imposer une surveillance plus rapprochée) [13].

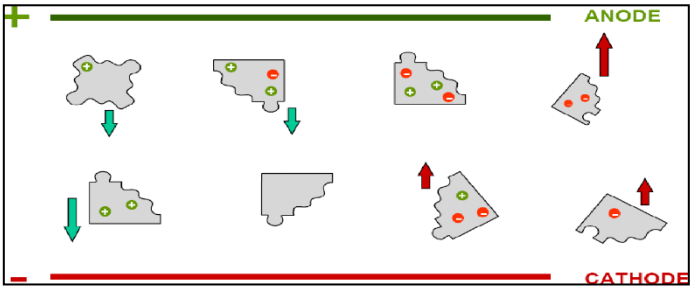
I.2. Électrophorèse des protéines sériques

1. Généralités

L'électrophorèse des protéines sériques est une analyse de routine dans la pratique quotidienne d'un laboratoire de biologie médicale. En clinique, cette analyse a été conçue principalement pour la recherche de gammapathies responsables de profils oligoclonaux, monoclonaux ou polyclonaux, mais également pour mettre en évidence un éventuel déficit en α1-antitrypsine, un syndrome néphrotique, contribuant ainsi au diagnostic de diverses pathologies et permettant ainsi leur suivi thérapeutique [14].

2. Principe

Le principe de l'électrophorèse des protéines sériques est connu depuis les années 1930, il met en jeu le déplacement des protéines ionisées lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique et dans des conditions définies de force ionique, de pH, de durée et d'intensité de courant électrique appliqué (Figure 3). Il a été adapté en biologie clinique dans les années 1940 par des méthodes manuelles utilisant comme support l'acétate de cellulose, puis par l'utilisation de gel d'agarose, de gel de polyacrylamide, et ultérieurement par l'automatisation de l'électrophorèse sur ce dernier gel. L'évolution vers l'électrophorèse capillaire, apparue en 1994, a permis un rendu plus rapide des résultats avec une meilleure reproductibilité, simplicité, performance, traçabilité



standardisation et [15].

Figure 03 : Schéma représentant la différence de mobilité des composés entre deux électrodes [11]

3. Historique

Les premières descriptions d'électrophorèses remontent aux années 1930, concernant l'électrophorèse en veine liquide. Le principe est d'étudier le déplacement des protéines ionisées lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique. Au sein du sérum sanguin, il a pu séparer des protéines avec des charges négatives, comme l'albumine, de protéines avec des charges plus positives comme les globulines.

Dans les années 50, il existe une amélioration des techniques avec les descriptions successives de l'électrophorèse sur papier puis sur gel d'amidon, sur acétate de cellulose et sur gel d'agarose, permettant ainsi une augmentation de leur application en biologie clinique.

Dans les années 90, se développe l'électrophorèse capillaire automatisée, plus performante et plus adaptée aux laboratoires de biologie clinique car rapide, quantitative et reproductible [16].

4. Étude théorique du déplacement électrophorétique

4.1. Mobilité électrophorétique

Les composés sont séparés uniquement selon leur mobilité électrophorétique, laquelle dépend de leur ratios charge/taille [17].

4.2. Migration électrophorétique

La séparation électrophorétique dépend du point isoélectrique (pHi) de la molécule, par rapport au pH du tampon de migration. Plus l'écart entre le pHi de la molécule et le pH du tampon est important, plus la molécule ne migrera loin [11].

- Si pH >pHi→ charge nette négative (Anion) →migration vers l'anode
- Si pH <pHi →charge nette positive (Cation) →migration vers la cathode
- Si pH = pHi→ charge nette nulle →pas de migration

4.3. Evaporation

Pendant la migration électrophorétique l'intensité du courant I augmente avec la différence du potentiel V provoquant une augmentation de température du milieu par dissipation de

l'énergie sous forme de chaleur ; c'est l'effet Joule. Ce chauffage peut produire une certaine évaporation de la solution tampon, qui entraîne, par capillarité, un déplacement de la solution des extrémités vers le centre, il dépend du voltage. La force ionique tend donc à s'accroître progressivement. Il nécessite d'utiliser, surtout à haut voltage, un refroidisseur externe (par effet Peltier : couvercle de refroidissement) [11].

4.4. Diffusion

Les phénomènes de diffusion pure sont des exemples de transition de grand volume sans mouvement apparent à l'échelle macroscopique. Elle est gouvernée par le gradient de densité du volume local de la grandeur considérée (c'est-à-dire le passage de la concentration la plus élevée à la plus faible), et le coefficient de diffusion D caractéristique du phénomène et du milieu [18].

5. Théories plus élaborées de l'électrophorèse

Le fait que les particules soient chargées est indispensable pour qu'elles se déplacent sous l'application du champ et créer un contraste sur la surface de l'appareil. Cependant, ces charges vont permettre aux particules d'être électrostatiquement stables. Avant d'arriver à cette installation, il convient de noter que toute surface chargée entraînera la répartition des charges dans le milieu, et ce phénomène, il a été décrit en 1870 par Gouy-Chapman [19].

Dans le cas de particules chargées dispersées dans un milieu, la couche diffuse contiendra des ions liés à la particule qui scannera l'envoi de particules. Le potentiel électrique sera donc élevé à la surface de la particule et décroîtra jusqu'à ce qu'il se stabilise au niveau de l'épaisseur de couche diffusante [19] (Figure 4).

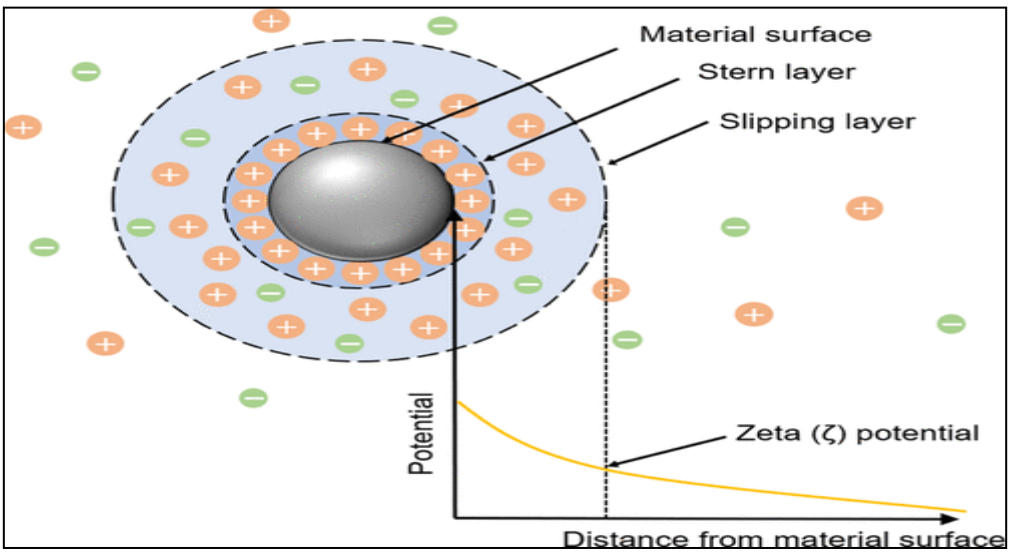


Figure 04 : Schéma de la double couche ionique de solvatation d'une particule [20].

6. Facteurs influençant le déplacement électrophorétique

6.1. Nature des molécules

6.2. Charge

Plus la charge est importante, plus la vitesse de migration sera importante. Cette charge native peut varier en fonction du pH, qui est le plus souvent fixé par l'expérimentateur au moyen de l'utilisation d'une solution tampon. Selon le signe de la charge native, les molécules pourront migrer vers l'anode (molécules chargées négativement) ou vers la cathode (molécules chargées positivement) et que, pour les protéines, il convient donc de faire le dépôt à mi-chemin des deux électrodes, sauf à vouloir séparer une protéine dont on connaît la charge. Enfin, toutes les molécules non chargées ne seront pas séparées puisqu'elles ne migreront pas du tout [21].

6.3. Taille

Plus la molécule est grosse et plus sa masse est importante, plus sa migration est faible et lente [21].

6.4. Appareillage

6.5. Nature du support

6.6. Son pouvoir adsorbant

6.7. Formation de la double couche électrique

A l'interface solide-liquide, des régions de charge appelées double couche électrique apparaissent. Une mise dans un écoulement de fluide génère un phénomène dit « d'électrification par écoulement » qui conduit notamment à un courant d'écoulement, ce potentiel pouvant atteindre des valeurs suffisantes pour initier des décharges électrostatiques et provoquer des accidents. Bien que ce phénomène soit identifié depuis des siècles, la description physique du phénomène (production et déplacement de charges, équilibre, etc.) est encore mal connue [22].

6.8. Champ électrique

L'influence des champs électriques E appliqués parallèlement au support pendant le dépôt de couches très minces d'aluminium sur leur résistance R a été étudiée (V est exprimé par la loi d'Ohm : V = R.I). Une augmentation de l'intensité et de la fréquence du champ sinusoïdal

provoque une augmentation de la résistance. La résistance des couches diminue lorsque l'intensité du champ électrique continu augmente. Sous l'action des impulsions rectangulaires d'une durée constante, la résistance devient maximale à une certaine valeur de la fréquence de répétition des impulsions. Les mesures effectuées sur des clichés obtenus au microscope électronique des couches étudiées ont montré qu'il y a une étroite liaison entre la structure des couches et leurs propriétés électriques [23].

6.9. Force ionique

La force ionique caractérise la concentration de tous les ions (cations chargés positivement et anions chargés négativement) présents dans une solution, en tenant compte des charges portées par ces ions [24].

6.10. PH

Le pH et la force ionique vont influencer la barrière d'énergie potentielle en affectant les forces expulsives de la double couche. Les forces attractives de van der Waals, sont indépendantes des changements chimiques de la solution. Les forces de surfaces peuvent être reléguées en modifiant le pH, la force ionique ou bien la concentration de certaines espèces aqueuses qui vont altérer la charge de surface [25].

6.11. Nature des solutions

La nature des ions présents dans le tampon influence le pouvoir de résolution en électrophorèse, ainsi que la présence d'additifs :

La présence d'EDTA ou d'acide citrique facilite la séparation de certains ions minéraux.

Les ions borate forment des complexes chargés avec les sucres, leur permettant la séparation électrophorétique.

L'ajout d'urée modifie le comportement électrophorétique des macromolécules en détruisant de liaisons hydrogène.

Le SDS (agent mouillant), le β-mercaptoéthanol ou le dithiothréitol maintiennent les groupes thiol à l'état réduit et ruptures de liaison disulfure [11].

7. Principales techniques électrophorétique

7.1. Électrophorèse en veine liquide

Elle a été mise au point par Tiselius, cette technique correspond à la première méthode électrophorétique décrite. Le support de ce champ est constitué par une solution tampon de pH et de concentration convenables dont les ions conduisent le courant d'un pôle à un autre. La solution d'échantillon est placée dans un tube en U au sein d'un tampon de composition déterminée soumis à un champ électrique de courant continu [25] (Figure 5).

Cette méthode permet la détermination des mobilités électrophorétique des différents constituants d'un mélange, cependant elle est très coûteuse. La mise en œuvre est longue et délicate. Les particules se séparent partiellement dans chaque branche dont les frontières sont mises en évidence par des méthodes optiques telles que l'absorption ultra-violette pour les protéines [26]. Le support est choisi en fonction de la nature des particules à séparer, où les gels forment la plus grande partie [21].

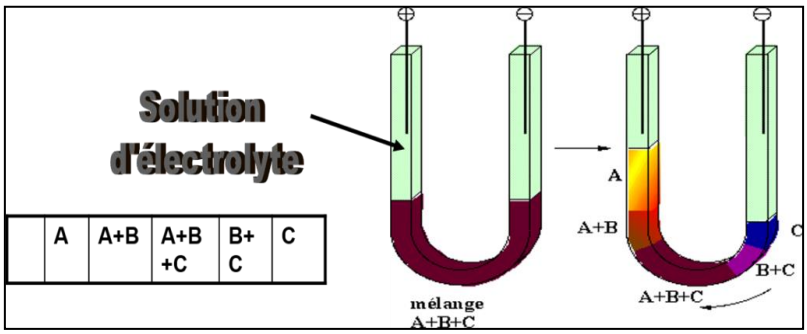


Figure 05 : Électrophorèse en veine liquide [27].

7.2. Électrophorèse de zone utilisant un support

7.2.1. Électrophorèse sur papier

Une technique à basse résolution pour séparer les petites molécules telles que les acides aminés. Une goutte de la solution contenant l'échantillon à analyser est déposée en un point au milieu d'une bande de papier filtre ou d'acétate de cellulose imbibée de solution tampon. Les deux extrémités de la bande sont plongées dans deux réservoirs contenant le tampon. Chaque réservoir est relié à une électrode. Un champ électrique est appliqué à une certaine valeur, les ions de l'échantillon se déplacent vers l'électrode marquée en face. A la fin de l'électrophorèse, la bande de papier est séchée et ses constituants sont prélevés par une réaction colorimétrique [26] (Figure 6).

7.2.2. Electrophorèse sur acétate de cellulose

Elle est similaire à l'électrophorèse sur papier. Elle est peu coûteuse et permet une analyse rapide du sérum. Les bandelettes d'acétate de cellulose sont fragiles mais limitent l'expansion et la diffusion des particules. Les protéines sont détectées par une réaction colorimétrique (rouge de Ponson par exemple), cette technique est moins précise mais permet la séparation de groupes de protéines [26].

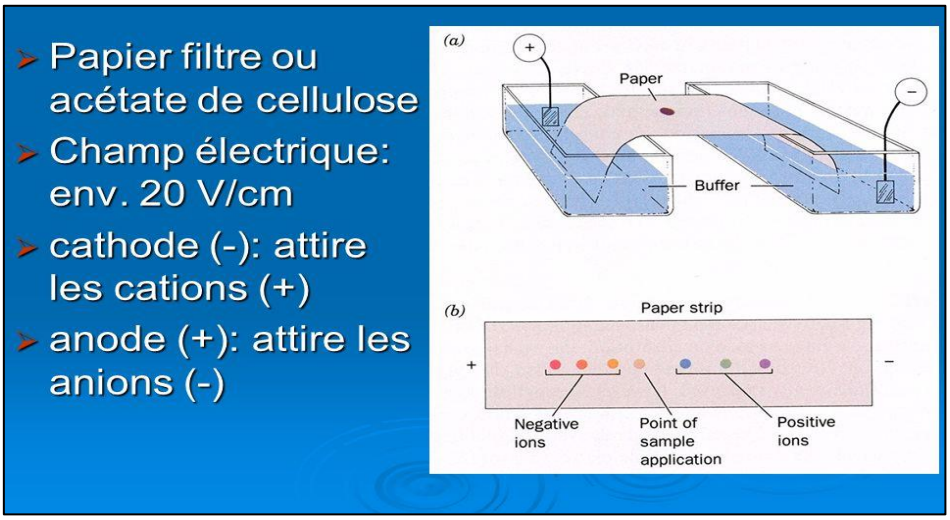


Figure 06 : d'électrophorèse sur papier [28].

7.2. 3. Electrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour séparer les protéines, l'ADN, l'ARN en fonction de leurs poids moléculaires. Les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures [29] (Figure 7) .

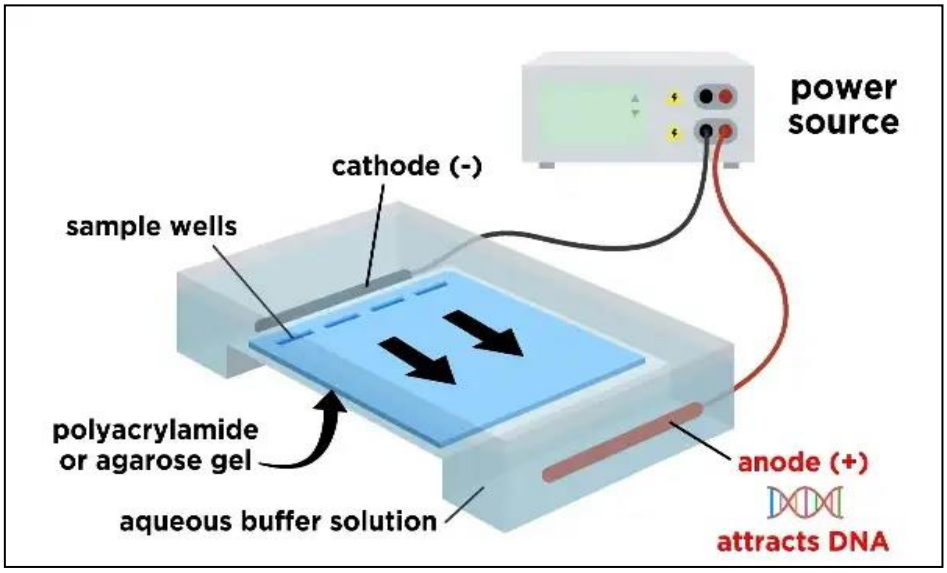


Figure 07: Electrophorèse sur gel d'agarose [30].

7.2.4. Electrophorèse sur gel polyacrylamide PAGE

Le gel de polyacrylamide est utile pour séparer les molécules en fonction de leur taille et de leur transport. Il existe de nombreux systèmes différents en fonction de l'échantillon et des applications en aval. Le SDS-PAGE est un outil très utile pour séparer les particules de protéines par taille. Le système SDS-PAGE est un gel intermittent avec empilement aérien. Le gel et la solution de gel inférieure ont des pH et des concentrations de polyacrylamide différents. Le gel supérieur empilé contient un pourcentage plus faible de polyacrylamide permettant aux protéines de se déplacer rapidement et de s'empiler étroitement avant d'entrer dans une solution de polyacrylamide à pourcentage plus élevé. Les petites protéines se déplacent dans la solution du gel plus rapidement que les grosses protéines [29] (Figure 8).

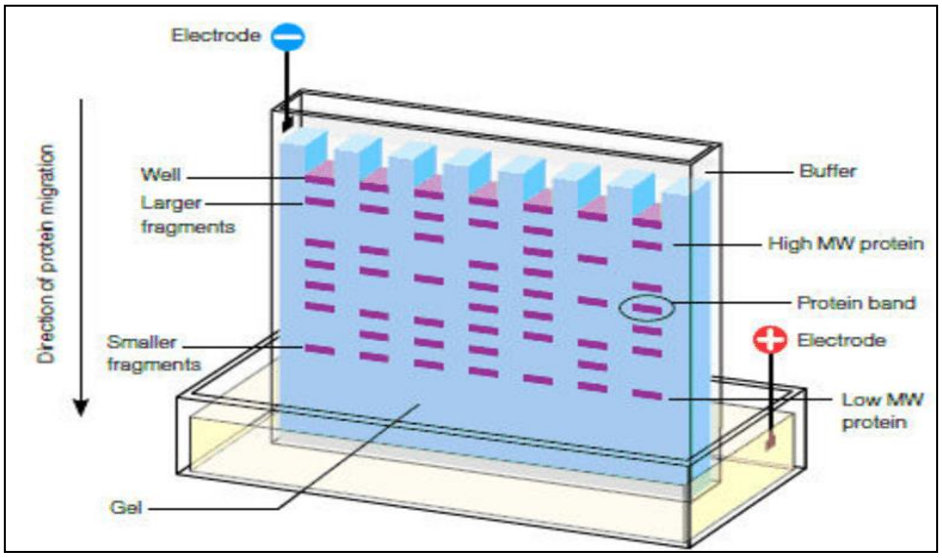


Figure 08: Electrophorèse sur gel polyacrylamide PAGE [31].

8. Profils électrophorétique

8.1. Définition du profil électrophorétique

Un profil électrophorétique est représentation graphique des résultats des dosages de plusieurs protéines. Les résultats étant exprimés en g/L ou en % de la valeur normale en fonction de l'âge du patient [32].

8.2. Interprétation du profil électrophorétique d'un sérum normal

Les techniques dites de haute résolution (électrophorèse gel haute résolution et électrophorèse capillaire) séparent les protéines en 7 fractions : pré-albumines, albumines, α1-globulines, α2-globulines, β1-globulines, β2-globulines, γ-globulines [33] (Figure 9).

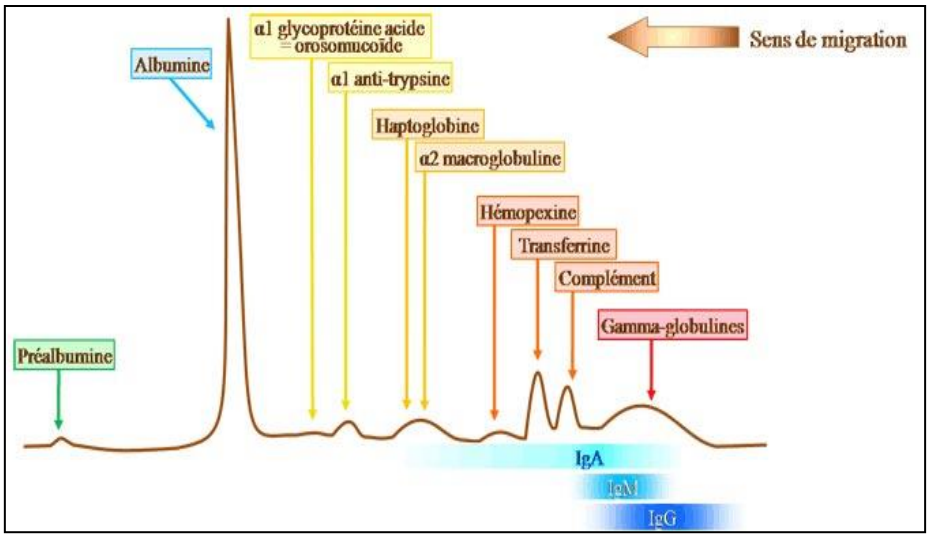


Figure 09 : Profil électrophorétique d'un sérum normal [33] .

9. Interprétation de profil électrophoritique pathologique

9.1. Bisalbuminémie

La bisalbuminémie, qu'elle soit héréditaire ou acquise, représente une anomalie électrophorétique rare de l'albumine, caractérisée par un dédoublement de la fraction d'albumine sur le tracé d'électrophorèse des protéines sériques. Ce dédoublement traduit la présence chez un même individu d'une albumine plasmatique normale et d'une albumine modifiée [34] (Figure 10).

9.2. Syndrome inflammatoire aigue

Il est caractérisé par une hyper α1 et hyper α2 globulines, dû à l'augmentation des protéines de la réaction inflammatoire aiguë causée par une inflammation, une maladie infectieuse, tumorale, ou traumatique [16](Figure 11).

9.3. Syndrome inflammatoire chronique

L'inflammation chronique donne lieu à une franche altération du profil électrophorétique, avec une hyper α1et α2 globulines liées à l'inflammation, et une hypergammaglobulinémie liée à l'augmentation du taux d'immunoglobulines témoignant de la chronicité de la maladie Inflammatoire [16](Figure 12).

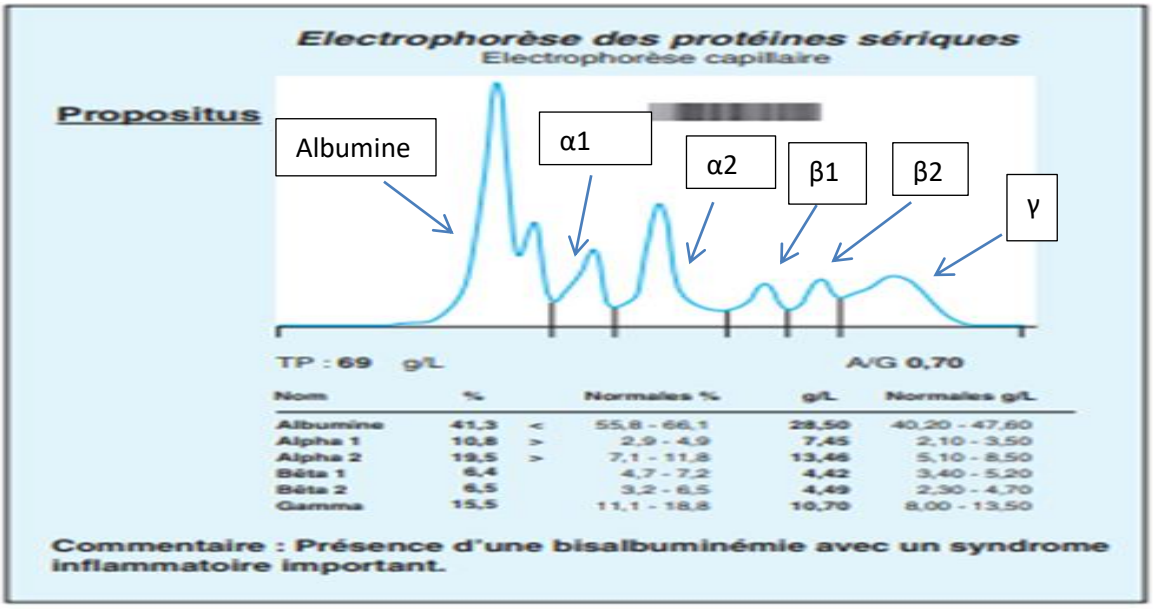


Figure 10 : Profil électrophorétique de la patiente montrant une bisalbuminémie [33].

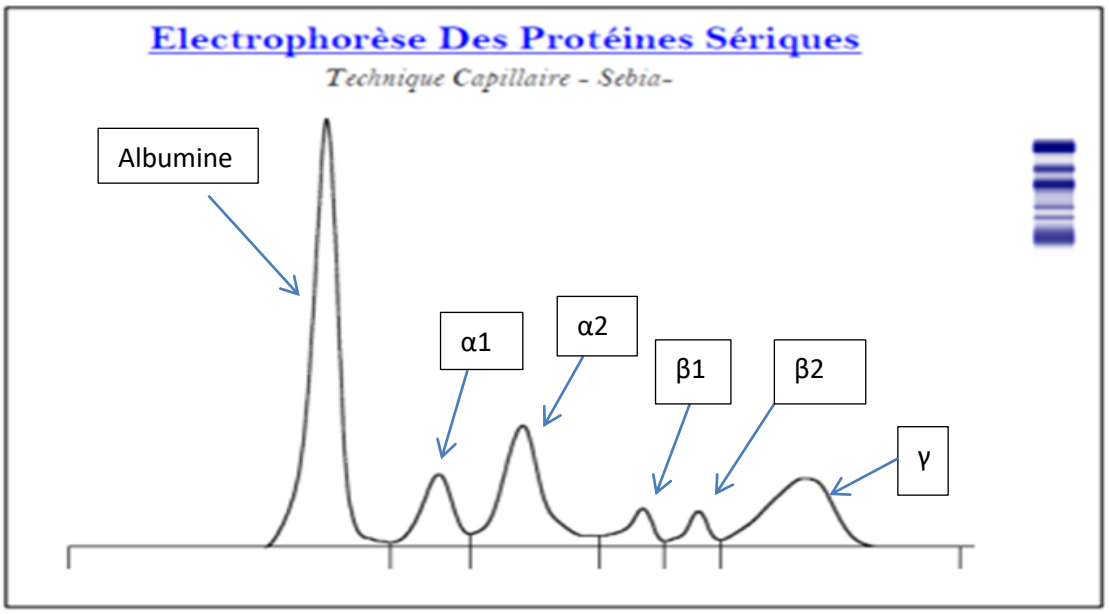


Figure 11 : Profil électrophorétique d'un syndrome inflammatoire aigue [16]

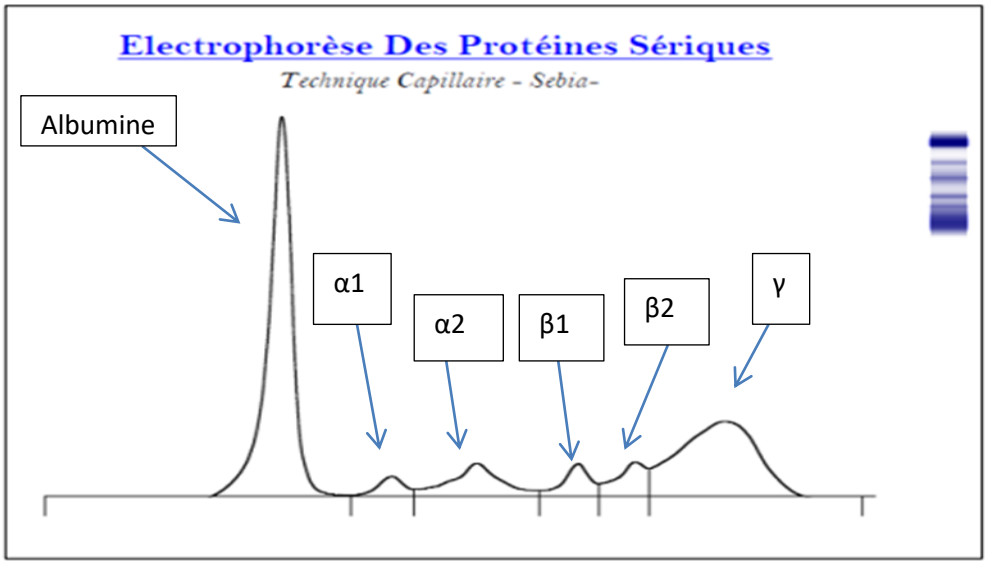


Figure 12 : Profil d'un syndrome inflammatoire chronique [16]

9.4. Cirrhose hépatique

La cirrhose hépatique se caractérise par, les IgG, IgM et surtout les IgA sont augmentées (bloc β-γ), tandis que l'albumine et la transferrine diminuent progressivement. La diminution de la production d'albumine au cours de la cirrhose hépatique conduit également à une diminution du transport des sels et des pigments biliaires. Enfin les α 2-globulines sont également diminuées par insuffisance de synthèse [26] (Figure 13).

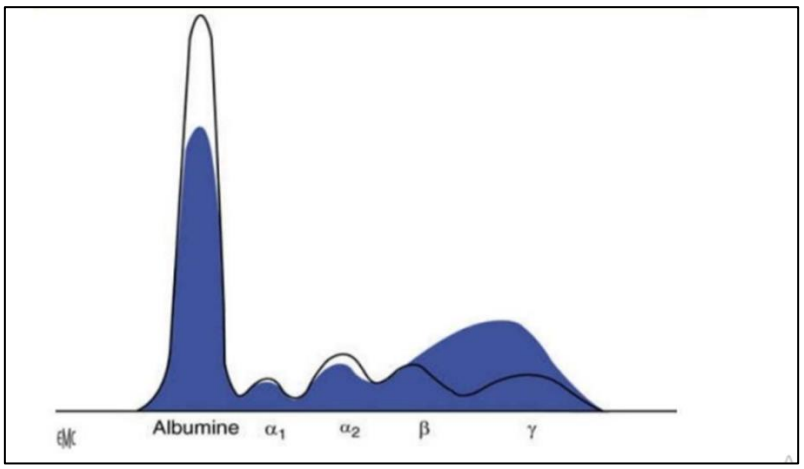


Figure 13 : Un profil électrophorèse de cirrhose hépatique [26].

9.5. Syndrome néphrotique

Une diminution de certaines fractions par fuite glomérulaire des molécules de petite taille (pré-albumine, albumine, α1 antitrypsine, transferrine, IgG). Une Augmentation de la synthèse hépatique de macro protéines pour limiter la diminution de la pression oncotique et formation œdèmes (α2 macroglobulines, et haptoglobuline) [35] (Figure 14).

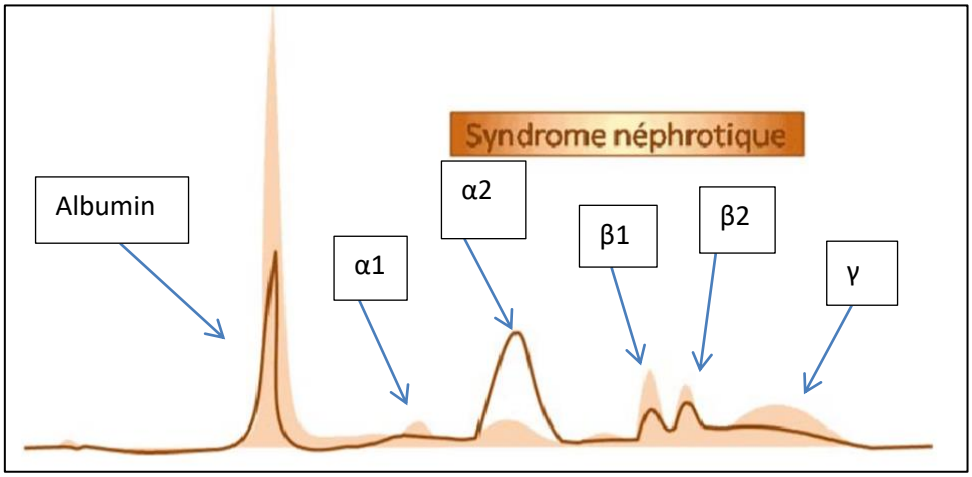


Figure 14 : Un profil électrophorèse de syndrome néphrotique [35].

9.6. Anomalies des gammaglobulines

9.7. Hypogammaglobulinémie

Chez l'enfant, les déficits immunitaires sont souvent d'origine génétique et constituent fréquemment une composante d'une maladie plus complexe. Il peut s'agir de déficit sélectif ou de déficit global : déficit isolé en IgA ou en IgM.

Chez l'adulte, les déficits immunitaires sont le plus souvent secondaires soit à une gammapathie monoclonale, soit à l'instauration d'un traitement immunosuppresseur soit enfin au syndrome d'immunodéficience acquise [26].(Figure 15).

9.8. Hypergammaglobulinémie polyclonale

L'augmentation globale et diffuse de la fraction gamma est l'anomalie de l'électrophorèse la plus fréquente après l'hypoalbuminémie (Figure 16). Elle peut survenir dans de multiples

circonstances pathologiques : affections hépatiques chroniques, maladies du collagène, infections chroniques, maladies malignes, fibrose kystique, et brûlures [26].

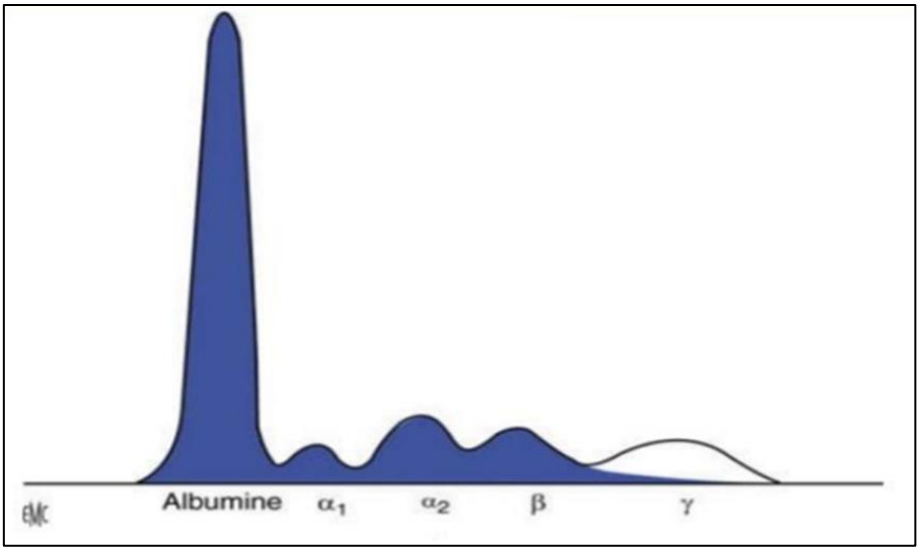


Figure 15 : Déficits immunitaires [26].

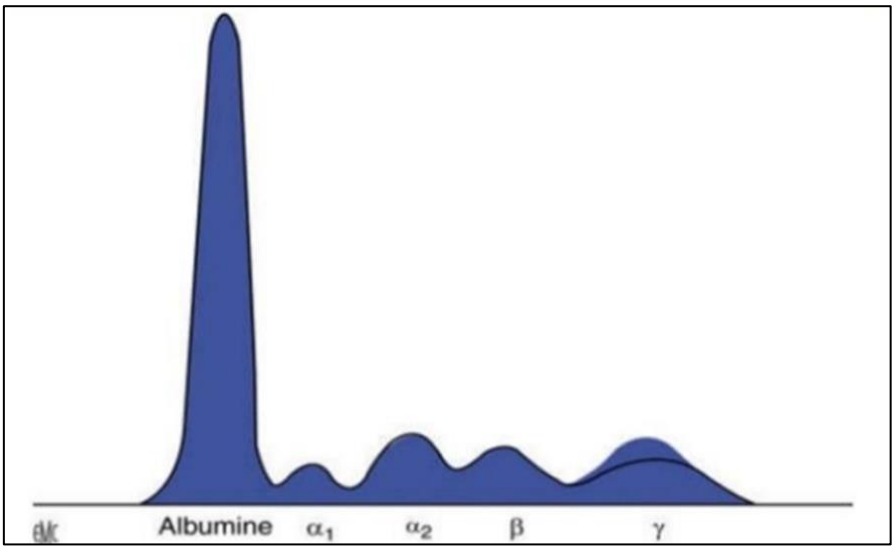


Figure 16 : Profil électrophorèse d'hypergammaglobulinémie polyclonale [26].

9.9. Déficit en alpha 1 antitrypsine

Il est caractérisé par une diminution marquée de la fraction a1-globuline. La concentration normale d'alpha 1-antitrypsine est de 2 à 4 g/l [27] (Figure 17).

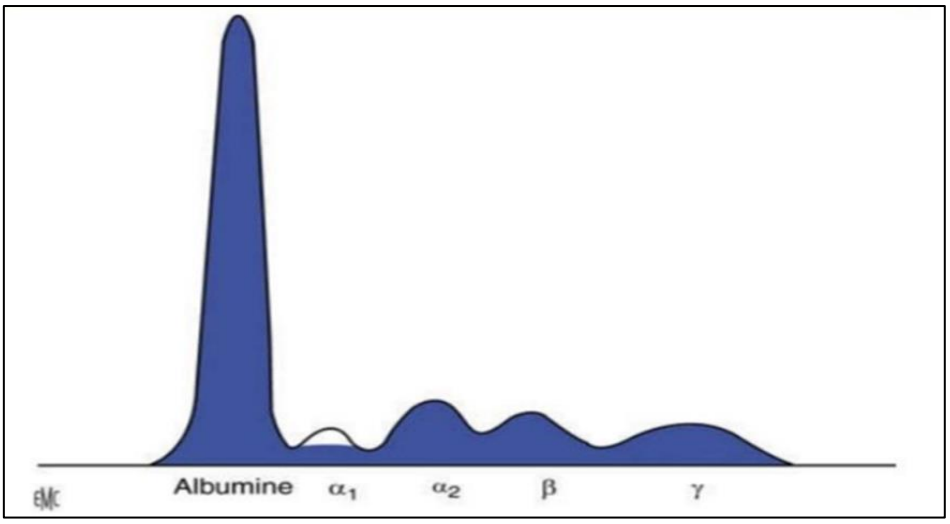


Figure 17 : Un profil électrophorèse de déficit en α1-antitrypsine [26].

10. Pathologie diagnostiquées par l'électrophorèse des protéines sériques

10.1. Hypogammaglobulinémies

10.2. Hypogammaglobulinémies constitutionnelles

L'hypogammaglobulinémie constitutionnelle la plus fréquente est l'immunodéficience commune variable (DICV), Il s'agit du déficit immunitaire symptomatique. Une pathologie rare de révélation tardive touchant entre 1/50 000 à 1/100 000 à l'échelon mondial est caractérisée par un défaut de production d'anticorps responsable d'une hypogammaglobulinemie d'expression variable. Il est défini par une diminution d'au moins deux écarts-types des taux sériques d'au moins deux classes d'Ig, en absence d'autres causes secondaires d'hypogammaglobulinemie. Le DICV touche les hommes et les femmes de manière équivalente, avec une origine génétique variable [36].

10 .3. Gammapathies monoclonales

Une affection caractérisée par une prolifération d'un clone (ou >1) plasmocytaire ou lymphoplasmocytaire avec synthèse (ou non) d'un (ou >1) composant monoclonal (CM) pouvant être une immunoglobuline monoclonale (IM) complète, ou bien une immunoglobuline monoclonale incomplète (chaîne H ou L) [37].

Une immunoglobuline monoclonale peut être découverte dans les situations suivantes :

- Une immunoglobuline monoclonale « dite réactionnelle » associée à des infections aiguës ou chroniques (VIH, VHB, VHC…etc.), maladies auto-immunes, maladies hépatiques chroniques, un déficit immunitaire, etc.
- Une immunoglobuline monoclonale associée à une hémopathie maligne généralement lymphoïde B : myélome multiple, maladie de Waldenström, lymphome malin, leucémie lymphoïde chronique.
- Une immunoglobuline monoclonale de signification indéterminée (IMSI) [39].

Elle peut également être découverte à cause de ses propriétés propres : propriétés physico-chimiques ou propriétés auto-anticorps [39].

10.4. Epidémiologie

La prévalence des immunoglobulines monoclonales augmente avec l'âge. D'après une étude de dépistage dans la population générale (n = 21 463 habitants de 50 ans ou plus, du comté d'Olmsted, Minnesota), une IMSI a été identifiée chez 694 personnes. La prévalence augmentait avec l'âge, elle était de 1,7 % de 50 à 59 ans, 3 % de 60 à 69 ans, 4,6 % de 70 à 79 ans et 6,6 % au-delà de 80 ans (6,0 % chez les femmes et 8,3 % chez les hommes) [39].

Une immunoglobuline monoclonale ne signifie pas une hémopathie maligne. Il s'agit le plus souvent d'une immunoglobuline monoclonale de signification indéterminée. Une étude portant sur 1 684 patients traités avec des immunoglobulines monoclonales a montré que la répartition des affections était la suivante : IMSI (55 %), myélome multiple (16,5 %), amylose AL (11,5 %), lymphocytose (6 %), y compris la maladie de Waldenström (2 %), myélome indolent (3 %), plasmocytome (2 %), autre (6 %) [38].

10.5. Immunoglobuline monoclonale associée à une hémopathie maligne

10.6. Myélome multiple (MM)

Le myélome multiple (MM), ou maladie de Kahler, est un cancer hématologique défini par un envahissement médullaire par des plasmocytes malins produisant généralement une immunoglobuline (Ig) monoclonale. La prolifération clonale au sein de la moelle est souvent responsable de complications telles que des destructions osseuses pouvant aller jusqu'à la fracture pathologique (Figure 18). Alors qu'il ne représente que 1 à 2 % de tous les néoplasies, le MM arrive deuxième par ordre de fréquence parmi les hémopathies malignes, après les lymphomes. Il touche préférentiellement les hommes, avec un âge moyen au diagnostic de 66 ans. Malgré l'amélioration de la survie ces dernières années avec

l'avènement de nouvelles molécules thérapeutiques, le MM reste incurable à l'heure actuelle [40].

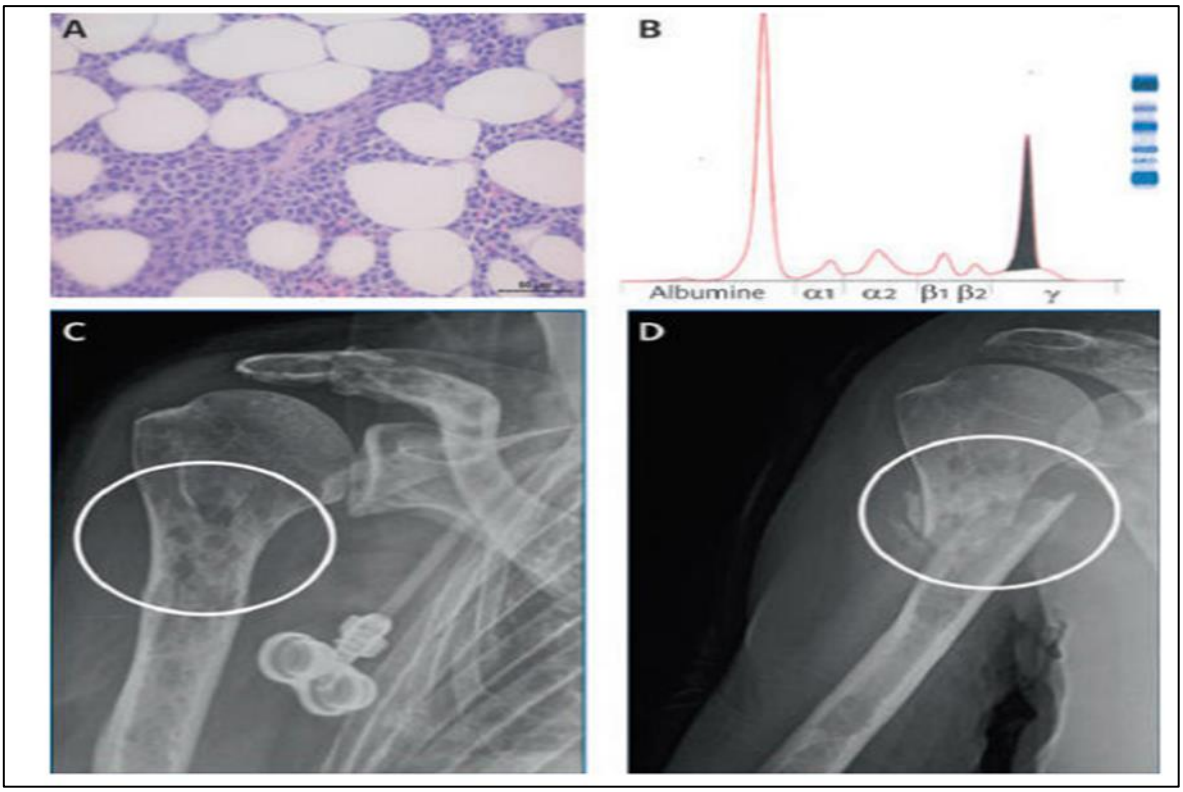


Figure 18 : Eléments diagnostiques d'un myélome multiple [40] .

A. Infiltration de la moelle osseuse par des plasmocytes malins (HE x 40) ; B. Electrophorèse des protéines sériques qui montre un pic monoclonal dans la région des gammaglobulines ; C. et D. Lésions osseuses liées au MM qui entraînent une fracture pathologique [41].

10.7. Maladie de Waldenström

La maladie de Waldenström est liée à la prolifération de cellules lymphoïdes (lymphocytes B) au niveau de la moelle osseuse, et plus rarement au niveau des ganglions et de la rate. Parallèlement, ces lymphocytes anormaux produisent tous le même anticorps, que l'on appelle une immunoglobuline M (IgM) monoclonale. Elle est produite en quantité parfois très importante, cette IgM circule dans le sang [42].

10.8. Leucémies lymphoïdes chroniques (LLC)

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la leucémie la plus fréquente de l'adulte et représente 12 % de toutes les hémopathies. Il s'agit d'une hémopathie avec une évolution clinique hétérogène : un tiers des patients ne nécessiteront jamais de traitement, un tiers est

symptomatique et nécessite un traitement d'emblée, et le dernier tiers sera traité au cours du suivi. Cette hétérogénéité est liée aux caractéristiques de la cellule tumorale, en particulier moléculaires. La survie globale, en amélioration depuis les 15 dernières années, est de 59 % chez la femme et 52 % chez l'homme à 10 ans [43].

10.9. Lymphomes non hodgkiniens

Le lymphome non hodgkinien (LNH) est un cancer du système immunitaire. Il se développe à partir de deux types de cellules appelées lymphocytes : les lymphocytes B (85 % des cas) ; et les lymphocytes T (15 % des cas).

En 2018, 22 000 nouveaux cas de lymphomes non hodgkiniens ont été diagnostiqués. Globalement, ces lymphomes se classent en deux grands groupes. Les lymphomes qui évoluent très vite, dits "agressifs". Ils touchent 50 à 60 % des personnes souffrant de la maladie, et doivent être pris en charge très rapidement [47].

Les lymphomes d'évolution lente, appelés "indolents". Ils concernent 40 à 50 % des patients atteints et peuvent se développer sur plusieurs années [44].

10.10. Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI ou MGUS)

A. Définition

Le terme de gammapathie monoclonale fait référence à la migration d'une Ig à un endroit précis de la zone des gammaglobulines sur le tracé d'électrophorèse des protéines. Le caractère monoclonal reflète l'existence d'un pic. Avec la modernisation des techniques de laboratoire, les gammapathies monoclonales sont fréquemment détectées dans la population. Elles représentent une prolifération clonale asymptomatique de cellules appartenant à la lignée B, lymphocytes ou plasmocytes, producteurs d'une Ig monoclonale, et peuvent être révélatrices d'une hémopathie maligne. Lorsqu'un tel diagnostic est exclu, on parle de gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) [50].

La GMSI est actuellement définie par l'association d'un taux de protéine monoclonale inférieur à 30 gr/l et d'une plasmocytose médullaire inférieure à 10%, en l'absence d'atteinte organique (lésions osseuses lytiques, anémie, hypercalcémie ou insuffisance rénale en rapport avec la dysglobulinémie). Elle correspond à une pathologie lymphoplasmocytaire monoclonale de malignité réduite, qui peut évoluer vers une hémopathie lymphoïde avérée, principalement un myélome [50].

Le risque principal de la GMSI est la transformation soit en myélome multiple en cas d'isotype IgG ou IgA soit en maladie de Waldenström ou autre hémopathie lymphoïde B indolente en cas d'isotype IgM. Si la GMSI est à chaînes légères, l'évolution peut se faire soit en myélome multiple, soit en maladie de dépôts de chaînes légères ou en amylose AL. Le risque annuel de transformation est évalué à 1% mais la stratification du risque peut être affinée par certains facteurs prédictifs. En effet, un pic supérieur à 15 g/L, un isotype non IgG et un rapport Kappa/Lambda anormal sont des facteurs de risque de progression. Un score de risque, développé par la Mayo Clinic basé sur ces 3 paramètres, peut facilement être calculé. Celui-ci propose 4 catégories de risque : faible risque (0 point), risque intermédiaire faible (1 point), risque intermédiaire élevé (2 points) et risque élevé (3 points) avec un risque absolu de transformation à 20 ans évalué respectivement à 5%, 21%, 37% et 58% [51].

B. Epidémiologie

L'incidence de la GMSI est estimée à 3.4% dans la population générale au-delà de 50 ans. Elle augmente avec l'âge, passant de 1,7% entre 50 et 59 ans à 6.6% au-delà de 80 ans. L'âge médian au diagnostic est de 72 ans. La GMSI est plus fréquente chez l'homme (3,7%) que chez la femme (2,9%). Elle est moins fréquente sur le continent asiatique mais, comme pour le myélome, 2 à 3 fois plus fréquente dans la race noire. Cependant, la prévalence est différente si on compare les noirs africains (stable quel que soit l'âge) et les afro-américains (augmentant avec l'âge), suggérant le rôle de facteurs environnementaux. La GMSI est également plus fréquente en cas d'antécédents familiaux de GMSI ou de myélome. L'exposition aux pesticides et l'obésité ont également été impliqués comme facteurs étiologiques [45].

10.11. Gammapathie monoclonales secondaires

Elles sont associées à une pathologie non lymphoïde : infection ; maladie hépatique chronique ; maladie auto-immune (polyarthrite rhumatoïde : 3,7 % ; lupus érythémateux systémique : 2,2-3,3 % ; spondylarthrite ankylosante : 1,3 %) ; déficit immunitaire ; et néoplasie [37].

I.3. Facteurs interférant avec l'électrophorèse des protéines sériques

L'intérêt diagnostique de l'électrophorèse des protéines sériques n'est plus à démontrer. Cependant, comme toute méthode analytique de biologie médicale, les interférences et les facteurs confondants qui en découlent sont classés en fonction de la méthode de révélation des protéines utilisée : coloration des protéines suivie d'une densitométrie ou mesure de

l'absorption en ultra-violet. Elles peuvent être en rapport avec un événement pré-analytique, (hémolyse, lactescence), ou avec des substances issues d'une perturbation du métabolisme du patient (bilirubine, fibrinogène, hyperlipémie, acides biliaires, protéine C réactive) ou avec des substances exogènes administrées au patient dans un but thérapeutique (antibiotiques, anticorps monoclonaux, immunoglobulines polyvalentes humaines) ou diagnostique (produits de contraste iodés) [46].

1. Interférences d'origine endogène

Elles ont pour cible principale l'albumine en raison de ses propriétés de transport, une élévation de concentration des molécules transportées étant susceptible de modifier l'aspect électrophorétique de la fraction albumine en général et plus spécifiquement l'aspect du pic de l'albumine lui-même. Parmi les substances endogènes à l'origine de modification de l'aspect du pic de l'albumine on retrouve notamment la bilirubine libre et les hyperlipémies [46].

1.1. Hyperlipémie

Elle est à l'origine de l'apparition dans l'échantillon de sang d'un aspect lactescent résultant de la présence de chylomicrons. En effet, tous les composés de nature lipidique (cholestérols et triglycérides) sont déplacés au niveau du pic de l'albumine. Il en résulte une majoration de la concentration de l'albumine ce qui rend impropre la mesure de l'albumine dans ces cas [26].

1.2. Bilirubine

La bilirubine pigment biliaire de coloration jaune, est un acide dicarboxilique tétrapyrole linéaire lipophile abondant dans le plasma humain. C'est le produit endogène de dégradation de l'hème. L'hème dérive de l'hémoglobine des globules rouges [47].

Les fortes concentrations de bilirubine semblent modifier légèrement le tracé électrophorétique soit par un étirement de la fraction de l'albumine du côté anodique, soit par l'apparition d'une fraction supplémentaire bien individualisée [48].

1.3. Anticorps anti-animaux

Un autre type d'interférence endogène peut être trouvé sous la forme d'anticorps humains antianimaux (HAAAs). Les HAAAs se forment généralement après exposition à des protéines animales, soit par manipulation des animaux ou par traitement médical (vaccination, traitement par immunoglobulines animales).

En plus des HAAAs, il existe également des anticorps hétérophiles qui sont des immunoglobulines de classe IgM qui réagissent de manière croisée avec de multiples antigènes avec une faible affinité, typiquement sans exposition préalable à des protéines animales spécifiques. Les HAMAs et les anticorps hétérophiles sont non pathologiques mais au cours d'une électrophorèse des protéines sériques ils peuvent simuler un pic étroit au niveau de la zone gamma orientant vers une gammapathie monoclonale [16].

1.4. Hémolyse

L'hémolyse est une interférence fréquemment rencontrée avec de nombreux tests de laboratoire. L'hémolyse se réfère à la rupture des globules rouges qui provoque la libération de leur contenu cytoplasmique dans le sérum ou le plasma et peut affecter les méthodes de test de plusieurs façons. Les deux principaux mécanismes d'interférence sont l'interférence spectrale due aux concentrations élevées d'hémoglobine et la libération directe d'analytes par les globules rouges [49]. Deux types d'hémolyse ont été distinguées : hémolyse in vivo et in vitro

1.4.1. Hémolyse in vivo

Les causes de l'hémolyse in vivo sont nombreuses et comprennent les agents microbiologiques, la pré-éclampsie, l'anémie hémolytique et les erreurs innées, telles que la drépanocytose [49].

1.4.2. Hémolyse in vitro

Les causes in vitro résultent généralement de ruptures mécaniques par des tailles d'aiguille incorrectes (force de cisaillement), une aspiration excessive de l'aiguille, ou d'un stockage prolongé. En outre, il existe des conditions qui rendent les globules rouges plus fragiles, comme la rigidité accrue de la membrane chez les nouveau-nés , la fragilité accrue des globules rouges chez les personnes âgées hospitalisées patients âgés hospitalisés, et ceux qui suivent une chimiothérapie peuvent être sensibles à anémie hémolytique auto-immune d'origine médicamenteuse [49].

1.4.3. Mécanisme d'interférence de l'hémolyse sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques

Indépendamment de la cause de l'hémolyse, la libération du contenu cytoplasmique des globules rouges affecte directement l'électrophorèse des protéines sériques. Dans l'EPS,

l'hémoglobine et les complexes d'hémoglobine apparaissent comme des bandes discrètes dans les régions alpha-2 et bêta dans les régions alpha-2 et bêta. Ces bandes supplémentaires peuvent être interprétées à tort comme des protéines monoclonales [49].

1.5. Fibrinogène

Le fibrinogène, une glycoprotéine, est le substrat de la thrombine clivée en fibrine pour former le caillot de fibrine lors de la dernière étape de la cascade de coagulation [49].

1. 5.1. Mécanisme d'interférence du fibrinogène sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques

Dans le cas d'une pré-analyse adéquate, le fibrinogène n'est pas normalement pas présent dans les échantillons de sérum. Cependant, le fibrinogène peut être présent dans le sérum des patients souffrant de troubles de la coagulation, ou des patients recevant un traitement anticoagulant. Il peut également être rencontré lorsqu'un échantillon de plasma est fourni par erreur à la place du sérum. Lorsque SPE est effectuée sur ces échantillons, le fibrinogène migre vers le système β/γ et il peut être interprété à tort comme une immunoglobuline monoclonale. L'absence de la protéine monoclonale apparente après l'électrophorèse d'immunofixation, combinée à la localisation caractéristique de la bande dans la région β/γ, devrait établir l'identité de cette bande comme étant du fibrinogène. Dans la pratique diagnostique, la reconnaissance opportune de ce phénomène est importante pour éviter que la bande en SPE soit mal classée comme une protéine monoclonale (protéine M). Bien qu'il ne soit pas systématiquement réalisé dans la pratique diagnostique, l'IFE avec des anticorps anti-fibrinogène fournit une preuve solide que la bande est bien du fibrinogène (Figure 19). D'une manière générale, les spécialistes de laboratoire qui interprètent SPE doivent être conscients des artefacts potentiels (fibrinogène), et ils devraient utiliser l'IFE pour confirmer les anomalies apparentes du SPE. L'utilisation de l'IFE pour les tests de confirmation est utile pour la détection d'autres types d'artefacts et devrait être largement utilisée pour confirmer toute anomalie notée par SPE ou par l'électrophorèse des protéines urinaires (EPU) [49].

1.6. Protéine C réactive

La protéine C réactive (CRP) est considérée comme une protéine plasmatique associée à la phase aiguë puisque sa concentration plasmatique peut s'élever rapidement suite à une inflammation ou à un dommage tissulaire. Bien que la concentration peut grandement varier d'un individu à l'autre, la valeur médiane chez les adultes sains se situe entre 0.1 et 3 tg/ml.

Durant une phase aiguë, lorsqu'une réponse systémique se manifeste suite à un dommage tissulaire ou à une infection, la concentration plasmatique de CRP peut augmenter jusqu'à 1000 fois [50].

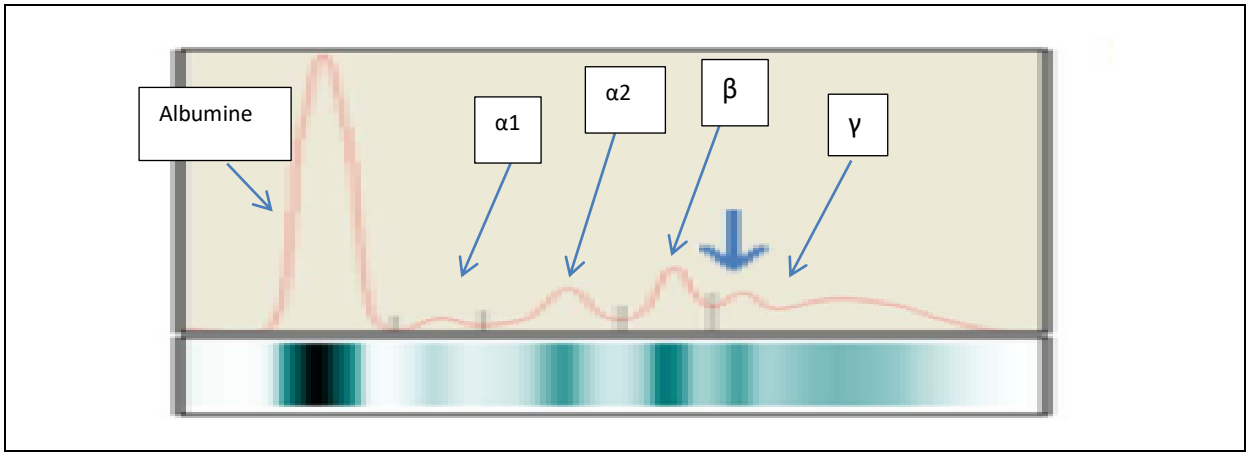


Figure 19 : Schéma représente électrophorèse des protéines sériques avec la fibrinogène Bande de fibrinogène (flèche)[49].

1.6.1. Mécanisme d'interférence de la CRP sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques

L'inflammation est une réaction normale de défense de l'organisme et quelle qu'en soit la cause elle est à l'origine d'un ensemble complexe de réactions dont certaines vont aboutir à l'augmentation de synthèse des protéines dites positives de la réaction inflammatoire. La visibilité de la CRP sur le protéinogramme au cours d'une forte inflammation est un fait à connaître car elle peut être à l'origine d'une confusion avec une Ig monoclonale [46] (Figure 20).

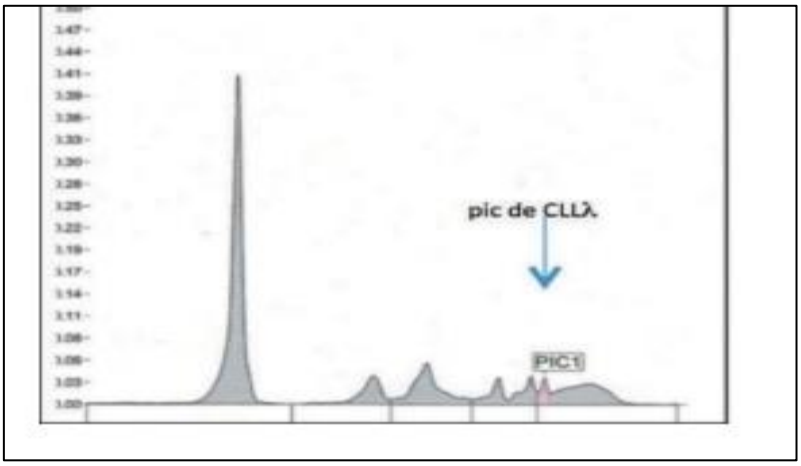


Figure 20 : Dédoublement du pic béta 2 résultant la présence de la chaine légère libre monoclonal de type gamma [46]

2. Interférences d'origine exogènes

2.1. Produits de contraste

Les produits de contraste sont des médicaments injectés dans le corps pour augmenter la visualisation d'un tissu par rapport à son environnement. Ils peuvent être couplés à de l'iode qui est le seul produit utilisé pour obtenir un produit de contraste hydrosoluble filtrable par le rein [46].

Comme l'électrophorèse est basé sur la détection des liaisons peptidiques à 200 nm à ultraviolet, tous les agents radio-opaques absorbant à la même longueur d'onde peuvent être observée par SPS. En effet, quand un échantillon de sang est recueilli après avoir effectué une injection de colorant de contraste, un pic supplémentaire, une distorsion, une modification ou une augmentation d'une fraction peut se produire, simulant la présence d'un composant monoclonal. De nombreux agents radio-opaques ont été décrits, interférant dans la fraction α2-globuline ou moins fréquemment la fraction β2-globuline [16].

2.2. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances qui ont la propriété d'interrompre ou de réduire la multiplication des bactéries. Il en existe plusieurs classes au sein desquelles tous ceux qui absorbent entre 200 et 214 nm, à l'instar des PCI, constituent donc des interférences qui selon leur mobilité électrophorétique seront source de confusion avec une Ig monoclonale particulièrement s'ils sont de mobilité β (ofloxacine, piperacilline, tazocillin) ou γ (rifadin) [46].

2.3. Anticancéreux biologiques

Malgré que les thérapies monoclonales existent depuis plusieurs décennies, il a fallu attendre les essais cliniques avec siltuximab pour le traitement du myélome multiple pour que ces thérapies ont été reconnues comme une interférence potentielle avec l'électrophorèse et l'immunofixation des protéines [51].

En effet, bien que la plupart des thérapies monoclonales disponibles puissent apparaître comme des IgG kappa monoclonales par l'immunofixation à des concentrations pharmacologiques, une étude de Ruinemans-Koerts et *al*, a montré que parmi les nombreux

médicaments biologiques couramment utilisés (qui sont utilisés pour les maladies à base de dyscrasie non plasmocytaire), seuls le rituximab et le bevacizumab à des doses thérapeutiques produisaient une protéine monoclonale (protéine M) visible sous ESP/ IFE [52]. L'interférence de ces protéines M n'est considérée que si elle mène à des investigations supplémentaires et inutiles ou à la sous-estimation de l'efficacité thérapeutique antitumorale. En général, la principale préoccupation liée à la présence de ces thérapies est la classification erronée de la réponse de la maladie. En particulier, les patients avec une petite bande monoclonale due à une thérapie monoclonale peuvent être mal classés comme ayant une très bonne réponse partielle au lieu de répondre aux critères par une réponse complète [49] .

2.4. Produits de remplissage

Le remplissage vasculaire est une méthode consistant à perfuser un soluté de remplissage par l'intermédiaire d'une voie veineuse pour lutter contre une chute du débit sanguin, maintenir la pression artérielle et le transport de l'oxygène aux tissus [46].

2.4.1. Substituts du plasma à base de gélatine

Les substituts du plasma à base de gélatine sont des collagènes dénaturés et contiennent des mélanges complexes de protéines [26]. Ils produisent une augmentation de la fraction gamma-globuline avec un aspect polyclonale décalé vers la fraction β2-globuline, simulant un bloc β-γ [53]. Ils sont rapidement éliminés (demi-vie : 2-5 heures), ce qui rond le risque d'interférence rare du fait de leur nature protéique, les produits de remplissage absorbent à 200 nm et seront détectés par ECP, induisant une élévation d'aspect polyclonal de la fraction gamma avec le plasmion [54] (Figure 21). Pour éviter alors toute confusion, un délai de temps entre perfusion des produits de remplissage et le prélèvement pour ESP doit être respecter [54].

2.5. Immunoglobulines polyvalentes humaines

Les immunoglobulines polyvalentes humaines (IPH) sont constituées d'immunoglobulines humaines normales obtenues à partir d'un pool de plasmas et essentiellement d'IgG intactes dont les pourcentages respectifs des 4 sous-classes sont identiques à ceux observés dans les plasmas normaux. Elles s'administrent par voie intraveineuse (IV) ou sous-cutanée dans les déficits immunitaires notamment, et en IV exclusivement dans les maladies auto-immunes ou inflammatoires. Un prélèvement trop précoce par rapport à l'injection IV peut amener à une fausse interprétation d'hypergammaglobulinémie [46].

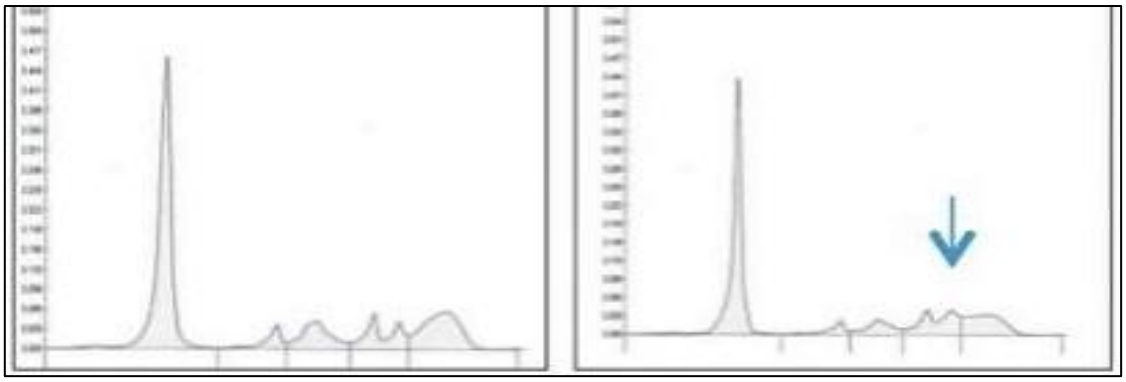


Figure 21 : Aspect en cul de sac en béta 2-gamma rapide sous plasmion Bande de plasmion (flèche) [54].

2.6. Hydroxocobalamine

L'Hydroxocobalamine est un antidote de l'intoxication par le cyanide, c'est un colorant rouge hydrosoluble, ce qui colore les produits biologiques et cause des interférences dans plusieurs essais cliniques. Les premières interférences étaient décrites chez des patients ayant reçu de l'hydroxocobalamine suite à leur intoxication par le cyanide. L'ESP obtenue par ECP a présenté un pic additionnel entre les fractions albumine et alpha 1 globuline (Figure 22). Pour confirmer l'interférence de l'hydroxocobalamine, des études par ajout au sérum control normal ont été réalisé. Différentes concentrations ont été préparées : 100, 500 et 1000 mg/l. l'interférente n'était pas observée à 100 mg/l, mais clairement observée à partir de 500 mg/l (Figure 22) [49].

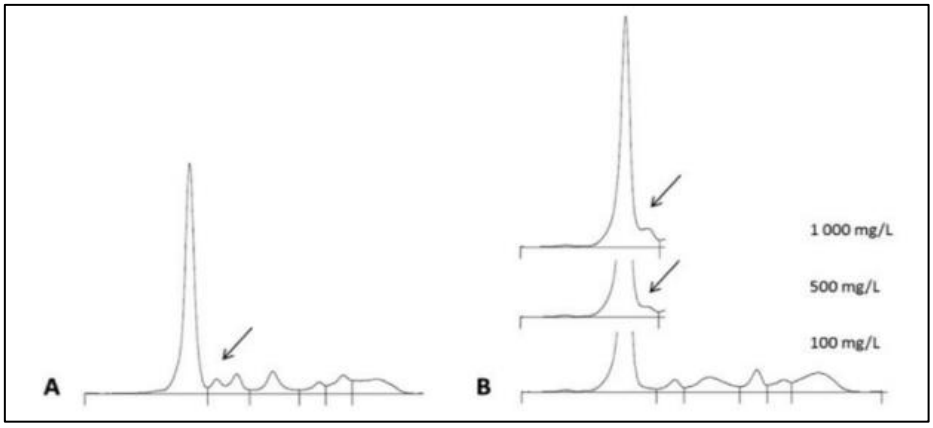


Figure 22 : Interférence de l'hydroxocobalamine avec l'ESP [49].

I .4. Examen immunologique complémentaire

1. Immunofixation

L'immunofixation (IF) est réalisée à la suite d'une découverte de pic effilé à base étroite à l'électrophorèse migrant dans la zone des γ, β, ou α2 globulines ; et d'une hypogammaglobulinémie [55].

L'immunofixation des protéines sériques est une technique immunochimique qualitative connue depuis 1969, cet examen est utilisé pour la révélation et l'identification des immunoglobulines monoclonales dans le sérum [56].

1.1. Principe

Lors de la réalisation de l'immunofixation, des réactifs spécifiques appelés antisérums, sont utilisés. Chacun de ces antisérums réagit avec un type particulier de chaînes lourdes ou de chaînes légères. Les protéines monoclonales réagissent habituellement avec un type d'antisérum anti-chaîne lourde et un type d'anti-chaîne légère. Certains plasmocytes peuvent produire uniquement des chaînes légères libres ; dans ce cas, la protéine monoclonale réagira uniquement avec l'un ou l'autre antisérum des deux types de chaînes légères [56].

C'est une technique d'immunprécipitation en gel ; sur les gels sont prédéfinies des pistes de migration électrophorétiques sur lesquelles sont déposés les échantillons plus au moins dilués. Apres séparation électrophorétique des constituants du sérum ; les différentes pistes sont incubées en présence d'antisérum spécifique. L'immunoglobuline lorsqu'elle est présente est immunoprécipitée dans le gel. Apres lavage ; l'application d'un colorant des protéines permet de visualiser la réaction [56] (Figure 23).

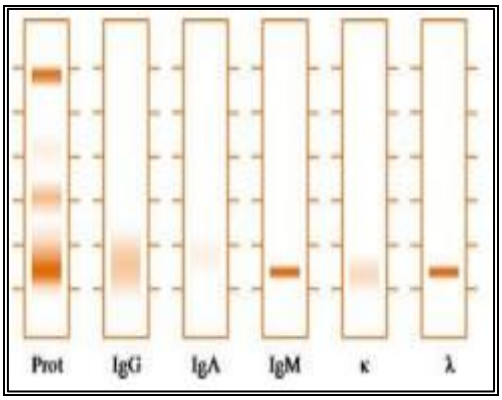


Figure 23 : Résultat d'une immunofixation montrant une IgM λ monoclonale [56]

II. Matériel et Méthodes

1. Caractéristiques de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive concluante afin de prouver l'intérêt d'électrophorèse en diagnostic des maladies de système immunitaire. Notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire d'analyses médicales « ZITONI » s'étalant du 20 Janvier au 5 avril 2023, et dirigée par « Docteur A. ZITONI ». L'objectif de cette étude est de montrer l'intérêt de l'électrophorèse dans l'exploration biologique de différentes maladies, notamment les anomalies du système immunitaire.

2. Population de l'étude

Notre étude a été réalisée sur un groupe de 200 patients, au niveau du laboratoire ZITONI. Tous les patients sont originaires de la wilaya de Médéa.

3. Matériel

L'électrophorèse des protéines sériques a été réalisée sur automate Hydrasys®. Le dosage des protéines totales a été réalisé par la méthode de Biuret sur automate ARCHITECT ci4100 ABBOTT®. Les immunofixations ont été réalisées sur des gels d'agarose sur automate Hydrasys®.

3.1. Électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose (hydragel)

L'électrophorèse sur gel d'agarose (hydragel) est une technique semi automatisée permettant la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (pH= 9.2) sur un gel d'agarose (Hydragel protéine 15/30). Le système Hydrasys® est un instrument multiparamétrique qui assure le traitement des hydrogels selon les étapes suivantes : application des échantillons non diluée, migration électrophorètique à 20W constants, séchage, coloration, décoloration, séchage final et lecture sur un densitomètre/scanner à 570 nm, qui donne une séparation des protéines en 6 fractions : albumine, α1et α 2- globulines, β1 et β2 globulines et γ globulines (Figure 24).



Figure 24 : Électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose

3.2. Principe

L'électrophorèse est basée sur la mobilité des protéines chargées électriquement dans un champ électrique

Les protéines avec une charge négative migreront vers l'anode (électrode positive) tandis que les protéines avec une charge positive migreront vers la cathode (électrode négative). Les protéines neutres resteront près de leur point d'application.

Plus la molécule est grosse et plus sa masse est importante, plus sa migration est faible et lente .

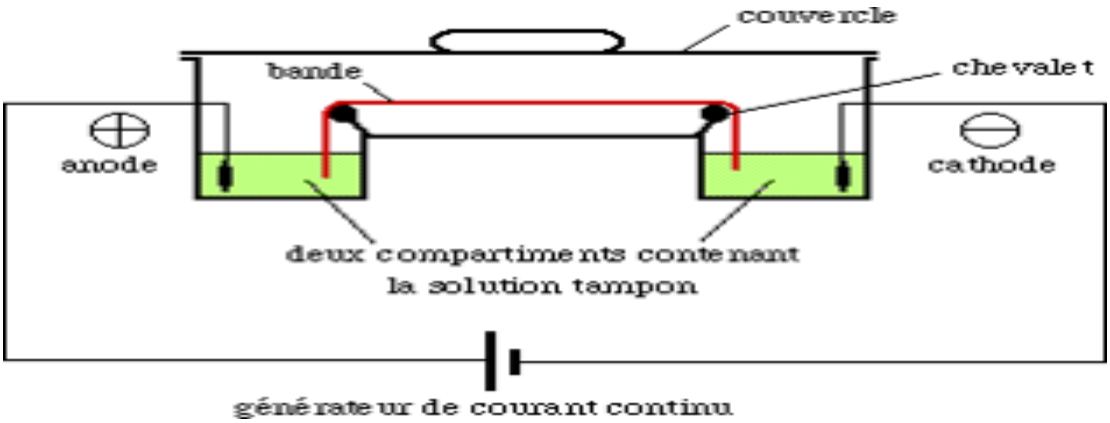


Figure 25 :Le principe d'electrophorse [27]

4. Méthodes

4.1. Traitement d'échantillon

Le prélèvement sanguin destiné à la réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques est recueilli en tube sec, obtenu par ponction veineuse en général au pli du coude, à l'aide d'un garrot. Il est préférable, mais pas indispensable, de faire cet examen à jeun, mais il faut éviter les repas gras car les lipides et les lipoprotéines interfèrent avec la fraction d'albumine en EPS.

L'analyse est réalisée sur sérum après centrifugation à 3500 tours/min pendant 15min. Les échantillons peuvent être conservés au maximum 10 jours au réfrigérateur (entre 2 et 8°C). Pour des conservations prolongées, il est possible de réaliser une analyse sur des échantillons congelés. Les échantillons sont congelés rapidement à -18 /-30°C (au maximum dans les 8 heures après le prélèvement). Les sérums congelés sont stables 2 mois.

Remarque :

- Utiliser directement les échantillons de sérums non dilués.
- Éviter les échantillons de sérums hémolysés. L'hémolyse peut entraîner un dédoublement de la fraction alpha-2.
- Ne pas utiliser de plasma. Le fibrinogène migre en position bêta-2 (pic épaulé en bêta-2 ou confondu avec la fraction bêta-2 avec éventuellement augmentation du pourcentage de cette fraction).

4.2. Dosage de protéines sériques totales

Le dosage des protéines sériques se fait par automate ARCHITECT ci4100 ABBOTT ® selon la méthode de Biuret .En milieu alcalin Les ions cuivre interagissent avec les liaisons protéiques des protéines et forment un complexe pourpre caractéristique, avec une coloration violette photométrique selon l'équation suivante :

$$\text{Protéines} + Cu^{+2} \longrightarrow \text{complexe Cu-protéines}$$

L'intensité de coloration du complexe Cu-protéines est proportionnelle à la concentration en protéines. Le complexe formé présente un maximum d'absorption à 546 nm.

4.3. Mode opératoire de l'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose (hydragel)

4.3.1. Préparation des échantillons

- Utiliser les sérums pour éviter l'action négative du fibrinogène sur la migration des protéines.
- Placer l'applicateur sur une surface plane (avec les numéros de puits et le logo vers le haut).
- Agiter le sérum 15 secondes au vortex, Appliquer 10 µl d'échantillon de sérum pure (Figure 25A).
- Charger l'applicateur rapidement (≤ 2 minutes) (Figure 25B**).**
- Placer l'applicateur dans la chambre de stockage humide avec les dents vers la haute (Figure 25C).
- Laisser les échantillons se diffuser dans les dents pendant 5 minutes après la dernière application d'échantillon (les dents doivent être en position haute).

Les applicateurs peuvent être conservés dans la chambre humide jusqu'à 8 heures à 2-8°C.

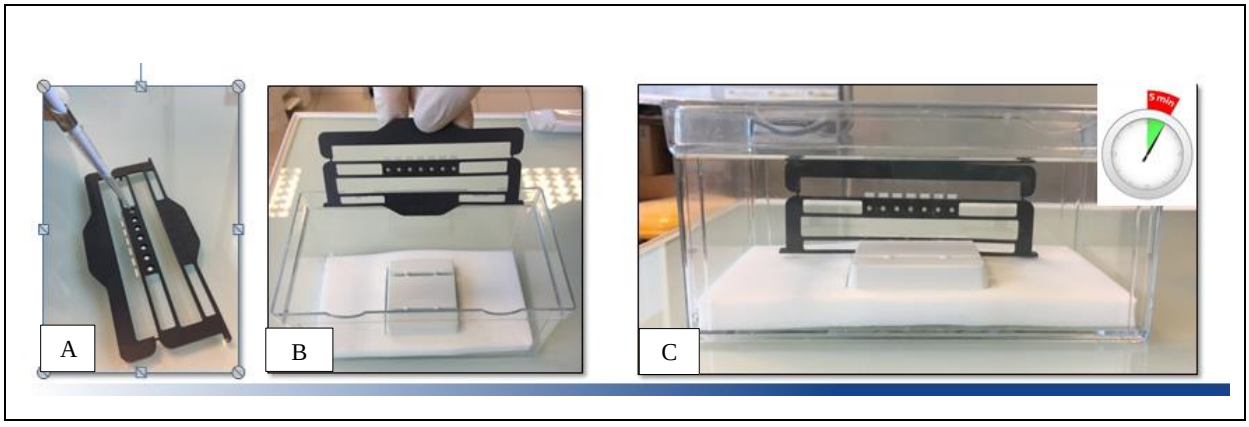


Figure 26 : Préparation des échantillons

4.3.2. Préparation de la migration

- Sélectionner le programme de migration "15/30 PROTEIN(E)" pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 dans le menu.
- Fixer les deux mèches tamponnées sur le chariot porte électrodes (Figure 26).

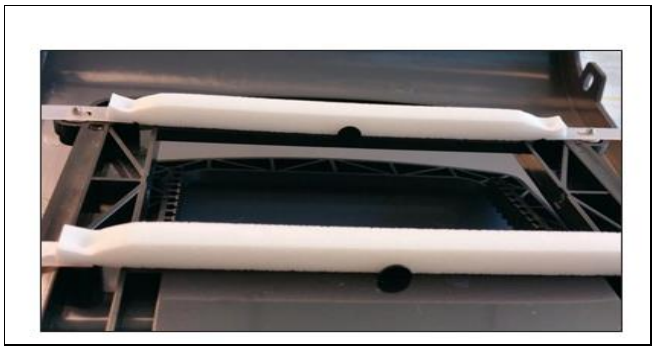


Figure 27 : Fixer les deux mèches

- Déposer 200 µl d'eau distillée sur le tiers inférieur du cadre imprimé (Figure 27).

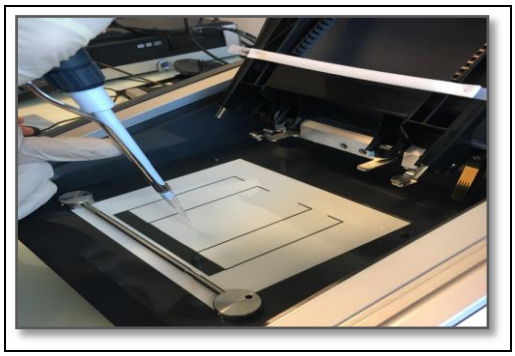


Figure 28 : l'addition de l'eau distillée

- Déballer la plaque HYDRAGEL (Figure 28A).
- Faire rouler rapidement et uniformément un papier filtre fin sur la surface du gel pour absorber l'excès de liquide (Figure 28B).
- Retirer le papier immédiatement (1 seconde au contact).

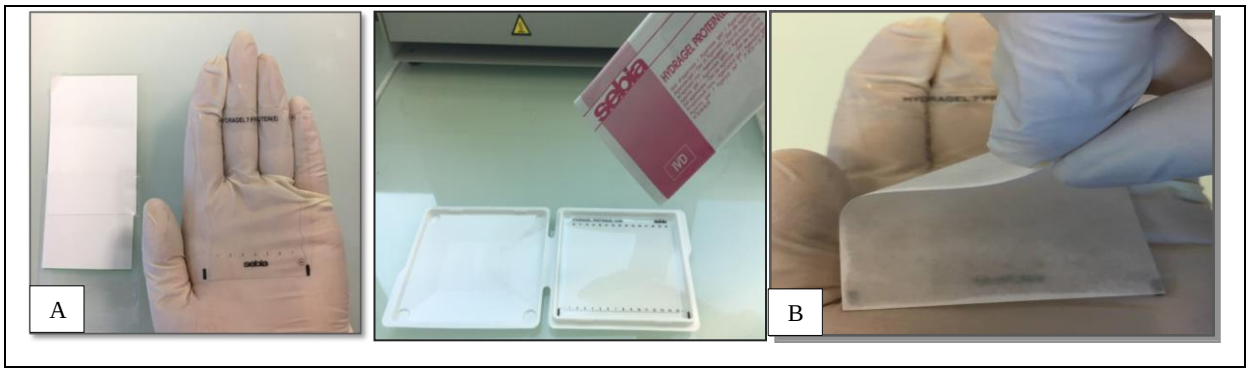


Figure 29 : Préparation de gel

- Placer la plaque de gel en utilisant la barre grise comme support.
- Pliez le gel et déposez-le sur le bassin d'eau (en évitant les bulles) (Figure 29).

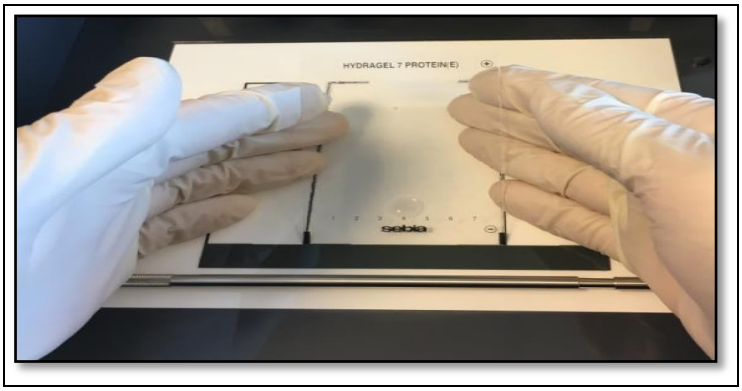


Figure 30 : placement de la plaque de gel

- Retirer l'applicateur de la chambre humide et retirer le cadre de protection des dents de l'applicateur en le pliant délicatement (Figure 30A).
- Placer l'applicateur sur le support dans la position indiquée à l'écran (Figure 30B).

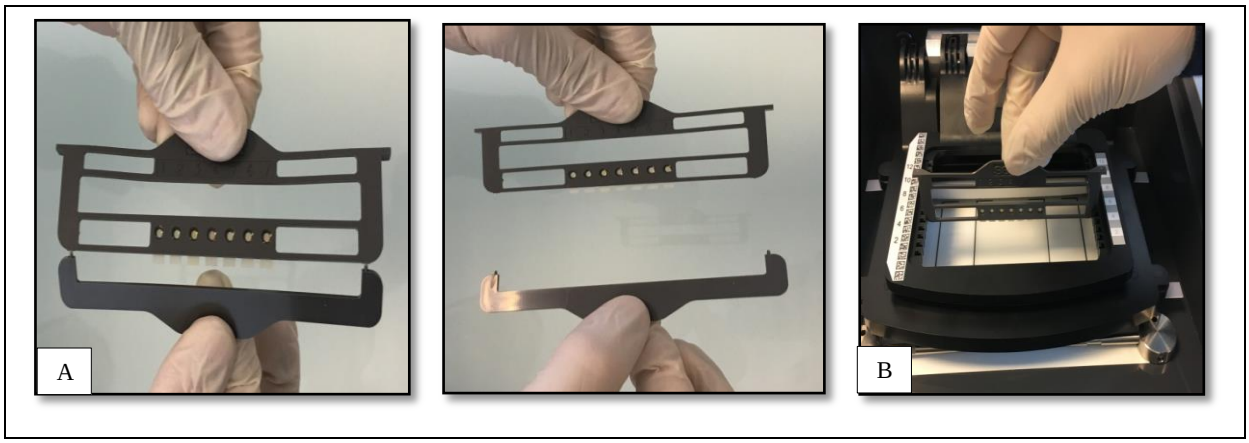


Figure 31 : Placement d'applicateur

- Lancez la procédure en appuyant sur le bouton vert "START" (Figure 31).

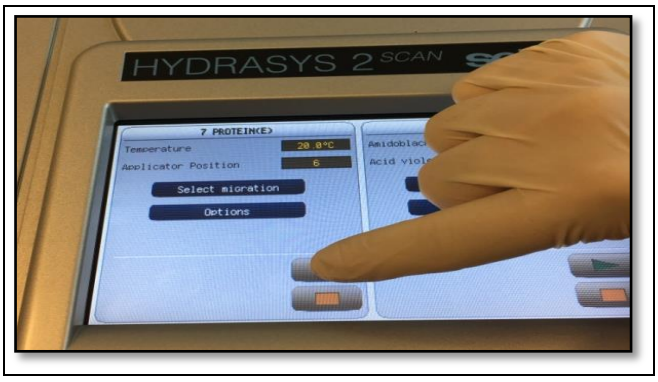


Figure 32 : Lancement de la migration

-Une fois l'étape de migration est terminée :

- Ouvrir le couvercle, retirer l'applicateur et le jeter.
- Soulever les deux supports, retirer les bandes tamponnées par leurs extrémités en plastique et les jeter.
- Préparation des séquences de traitement du gel.
- Retirer le film de gel séché (Figure 32A).
- Ouvrez le porte-gel : placez le gel séché dans les rainures des deux tiges et refermez le porte-gel (Figure 32B).
- Placer le porte-gel dans le module de coloration (Figure 32C).

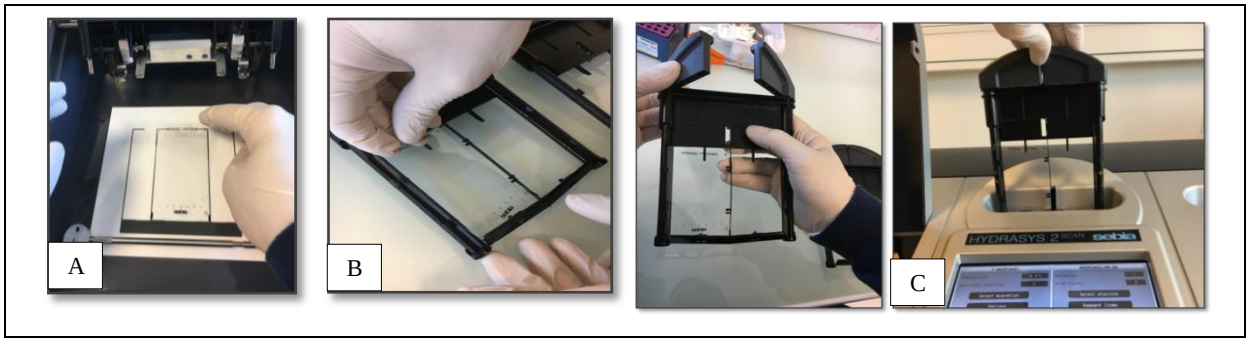


Figure 33 : Placement de gel dans le module de coloration

- Appuyez sur "Select staining" dans le menu de l'instrument (Figure 33A).
- Sélectionnez le programme de coloration "PROTEIN(E)/β1- β2" et démarrez l'opération en appuyant sur la touche "START" (Figure 33B).



Figure 34 : Lancement de coloration

- Retirer le porte-gel du compartiment de coloration.
- Placer le porte-gel avec le gel coloré dans le compartiment Gelscan (Figure 34).

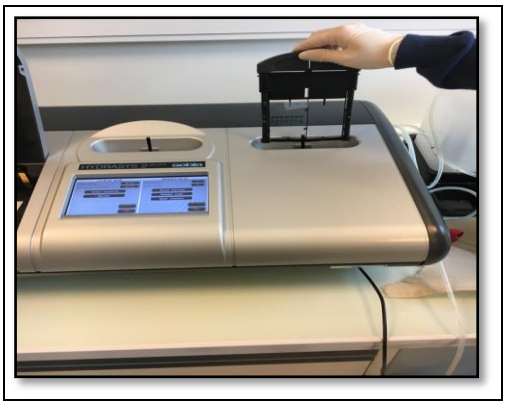


Figure 35 : Placement de porte gel dans le compartiment Gelscan

Remarque :

- Utilisation d'instruments de lecture (densitomètres, scanners) pour quantifier les fractions et détecter les anomalies.
- Si la présence d'un composé monoclonal est suspectée, le médecin doit confirmer par immunofixation.

4.4. Principe de l'immunofixation

Le système d'immunofixation sérique qui a été utilisé est le système Sebia constitité du coffret Hydragel immunofixation et de l'automate Hydrasys®. Le coffret est composé de mèches tamponnées, de l'hydragel, de l'applicateur, du colorant acide violet, du diluant pour l'échantillon du patient, de trois types de papier filtre, et d'une solution de lavage. Son principe est le suivant séparation des protéines par électrophorèse, précipitation des différentes immunoglobulines à l'aide d'anticorps monospécifiques (G, A, M, K, L) et enfin coloration des immunoglobulines précipitées. Le gel est composé de six pistes différentes. La première piste sert de référence grâce à la précipitation de toutes les protéines (électrophorèse des protéines totales). Les cinq autres pistes permettent de caractériser la ou les bandes monoclonales grâce à des anticorps spécifiques anti-chaînes lourdes (G, A, M) et anti-chaînes légères kappa (K) et lambda (L). Selon les recommandations du fabricant, la dilution du sérum se fait avec le diluant fourni dans le coffret (bleu de bromophénol). La dilution est variable en fonction des pistes : dilution au 1/6 pour la piste IgG car ce sont les immunoglobulines majoritaires dans le sérum et dilution au 1/3 pour les autres pistes.

- Remplire le puit n°3 IgG par 20 µl du sérum et 100 µl du diluant (Figure 35A).
- Continuer à remplir d'autres puits par 20 µl du sérum et 60 µl du diluant (Figure 35B).

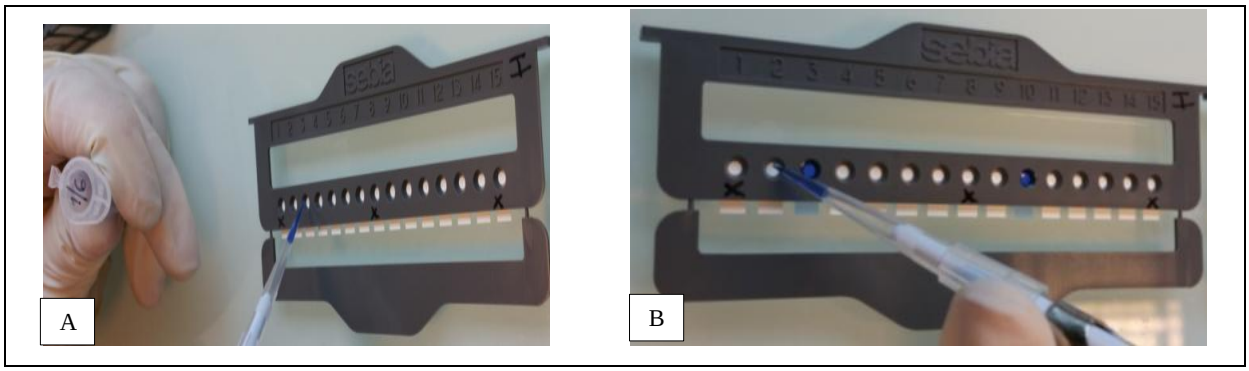


Figure 36 : Chargement de l'applicateur

- Charger l'applicateur rapidement (≤ 2 minutes).
- Les applicateurs sont conservés dans la chambre humide (Figure 36).



Figure 37 : Placement de l'applicateur dans la chambre humide

- Configuration de la migration.
- Ouvrez le couvercle du module de migration et soulevez les porte-électrodes et applicateurs.
- Fixer les deux mèches tamponnées sur le chariot porte électrodes (Figure 37).

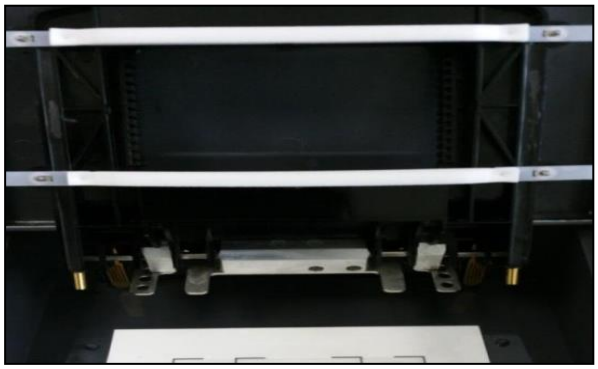


Figure 38 : Fixation les deux mèches sur le chariot porte électrodes

- Déposer 120 µl d'eau distillée sur le tiers inférieur du cadre imprimé (figure 38).

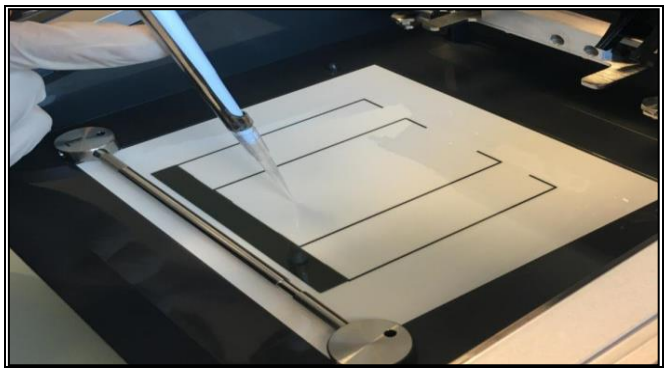


Figure 39 : Addition de l'eau distillée

- Déballer la plaque de gel (Figure 39A).
- Faire rouler rapidement et uniformément un papier filtre fin sur la surface du gel pour absorber l'excès de liquide (Figure 39B).

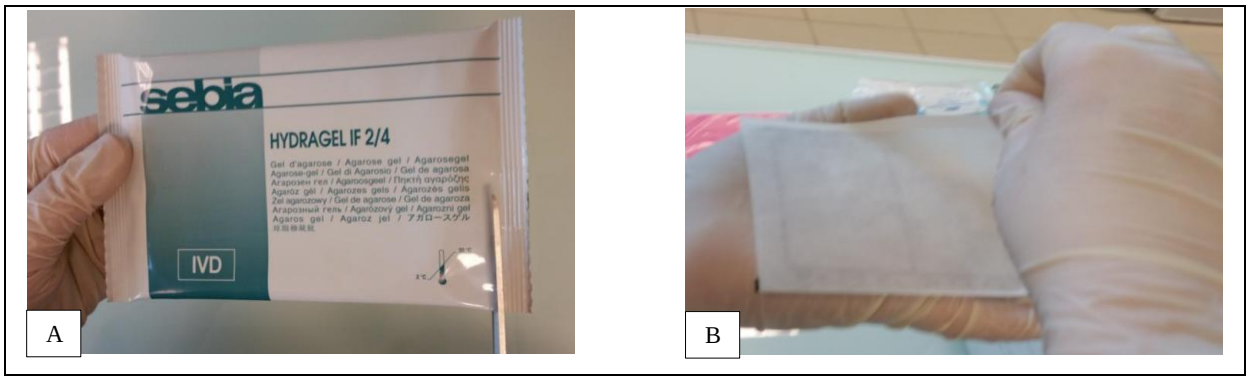


Figure 40 : Préparation de gel

- Évitez les bulles sous le gel et placez-le dans le cadre imprimé (Figure 40).

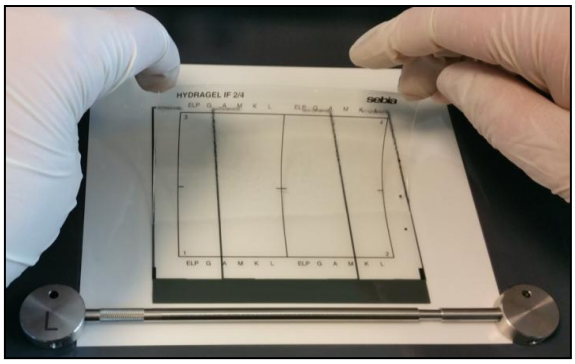


Figure 41 : Placement de la plaque de gel

- Sortez l'applicateur de la chambre humide et retirez le cadre de protection des dents de l'applicateur en le pliant doucement.
- Placer l'applicateur sur le support (Figure 41).



Figure 42 : Placement d'applicateur

- Lancez la procédure en appuyant sur le bouton vert "START» (Figure 42).

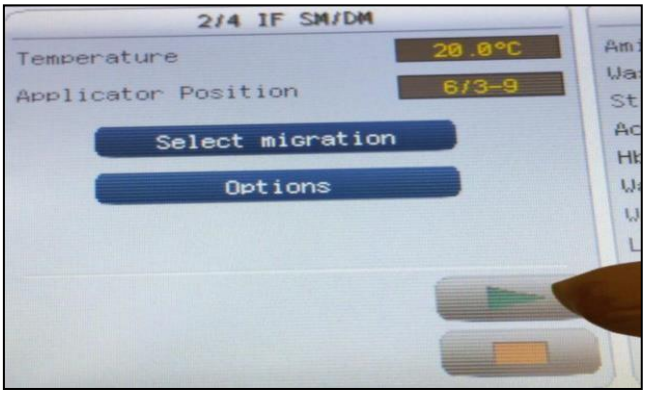


Figure 43 : Lancement la migration

➢ Fin de migration et préparation pour l'application d'antisérums.

- Le volume d'antisérum appliqué est de 40 µl pour la piste ELP (électrophorèse des protéines totales) et 25 µl pour A, G, M, K, L (Figure 43).

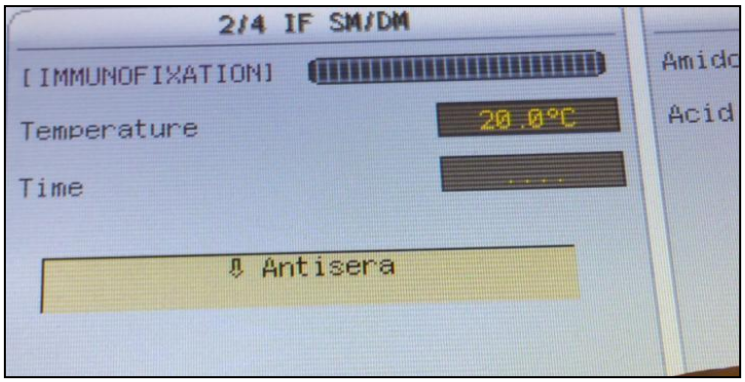


Figure 44 : Application des antisérums

- Retirez les applicateurs, les bandes tampons ; porte-électrodes et porte-applicateurs.
- Placez le masque standard au-dessus du gel (Figure 44).



Figure 45 : Placement du masque standard

- Charger les antisérums (Figure 45).

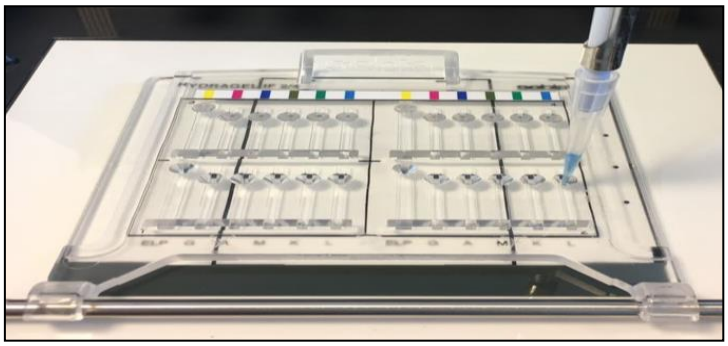


Figure 46 : Chargement les antisérums

- Lancez la procédure en appuyant sur le bouton vert "START.

- Elimination de l'excès d'antisérums par le peigne à papier (Figures 46A et 46 B).

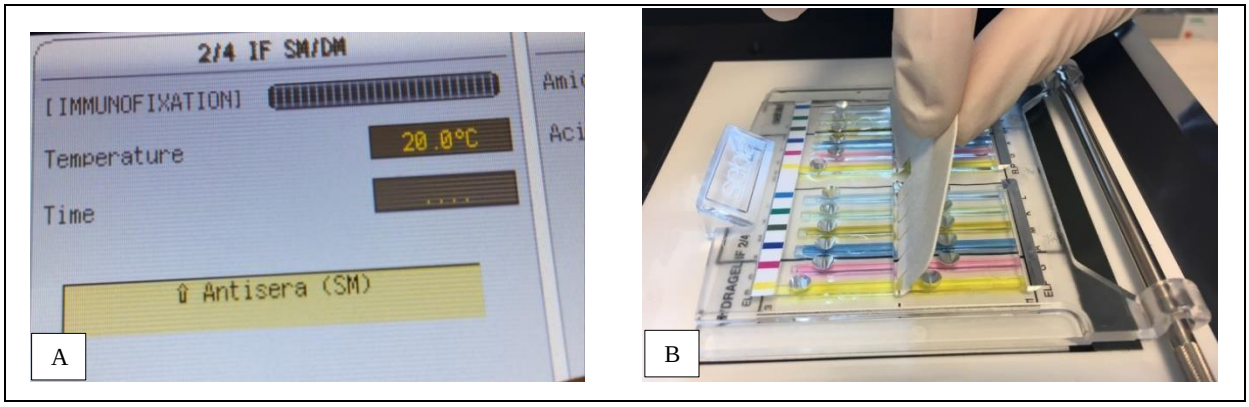


Figure 47 : Elimination de l'excès d'antisérums

- Retirer les peignes et le masque standard (Figure 47).

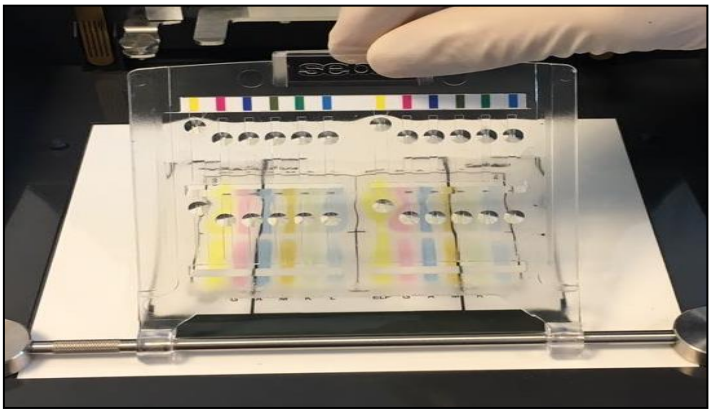


Figure 48 : Retirer les peignes et le masque standard

- Placez le papier épais et appuyez doucement sur le gel pour l'absorption des antisérums (Figure 48).

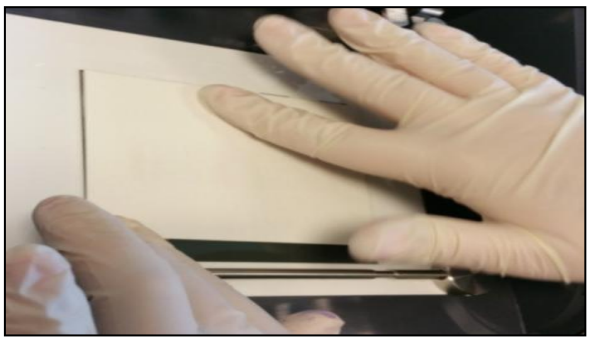


Figure 49 : Absorption des antisérums par papier épais

- Préparation pour la coloration.

- Retirez le film de gel (Figure 49A).
- Ouvrez le porte-gel : placez le gel dans les rainures des deux tiges et fermez le porte-gel.
- Placez le support de gel dans le module de coloration (Figure 49B).

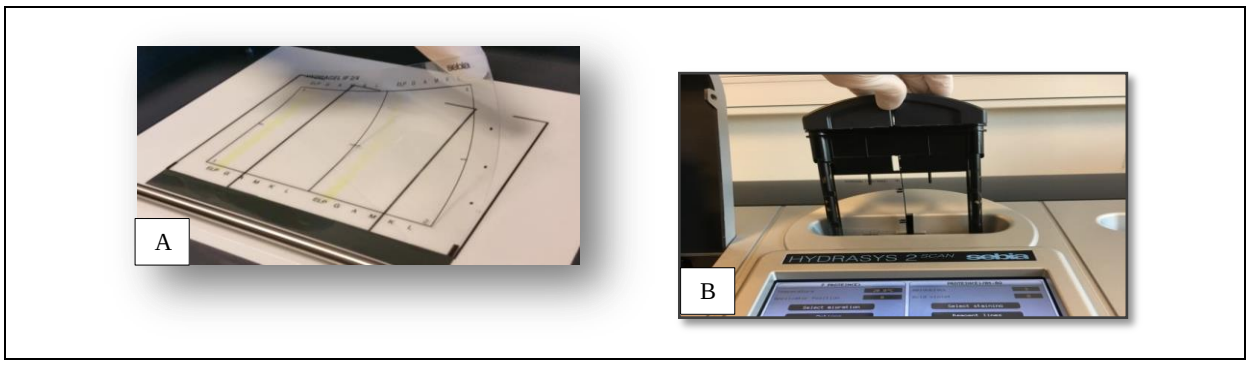


Figure 50 : Préparation pour la coloration

- Appuyer sur le bouton Start (Figure 50).

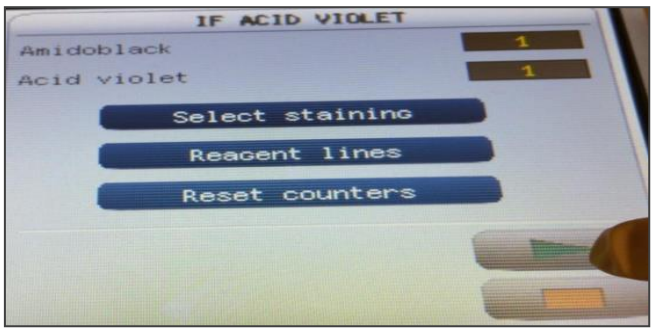


Figure 51 : Lancement de la coloration

- Lecture du gel avec Hydrasys 2 Scan / Gelscan S.
- Retirez le porte-gel du compartiment de coloration.
- Placez le support de gel avec le gel coloré dans le compartiment de Gelscan (Figure 51).

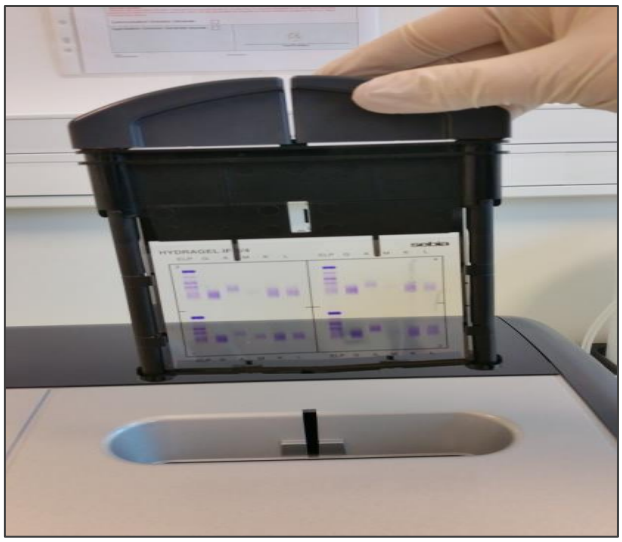


Figure 52 : Placement de porte gel dans le compartiment Gelscan

- Lorsqu'à l'immunofixation des protéines sériques, on met en évidence une bande monoclonale sur la piste des chaînes légères kappa ou lambda sans correspondance sur la piste des chaînes lourdes G, A, M, on procède à la recherche des chaînes légères libres monoclonales sériques.

5. Etude statistique

Le logiciel utilisé est l'Excel, épi-INFO.

5.1. Méthodes statistiques

Moyenne : $\Sigma x_i/N$ N : nombre d'individus

La variance : s= VAR X X : moyenne

Ecart type : $S^2=\sqrt{varx}$

Intervalle de confiance :

$IC=[x-z_\alpha *S/\sqrt{n}; x+z_\alpha *S/\sqrt{n}]$ pour n > 30

$IC=[x-t_\alpha *S/\sqrt{n}; x+t_\alpha *S/\sqrt{n}]$ pour n < 30

$Z_0 = x-\mu h_0 /\sqrt{s^2/n}$ pour n > 30 et $T_0 = x-\mu h0 /\sqrt{s^2/n}$ pour n < 30

III. Résultats

1.Caractéristiques de la population

Notre échantillon de la population étudié est 200 patients dont 151 femmes et 49 hommes, répartis selon plusieurs critères.

1.1. Distribution de la population selon les cas normaux/anormaux

Les résultats ont montré que 31% des cas ont un profil d'électrophorèse des protéines sériques sans anomalies, et 69% des cas présentant des anomalies différentes (Figure 52).

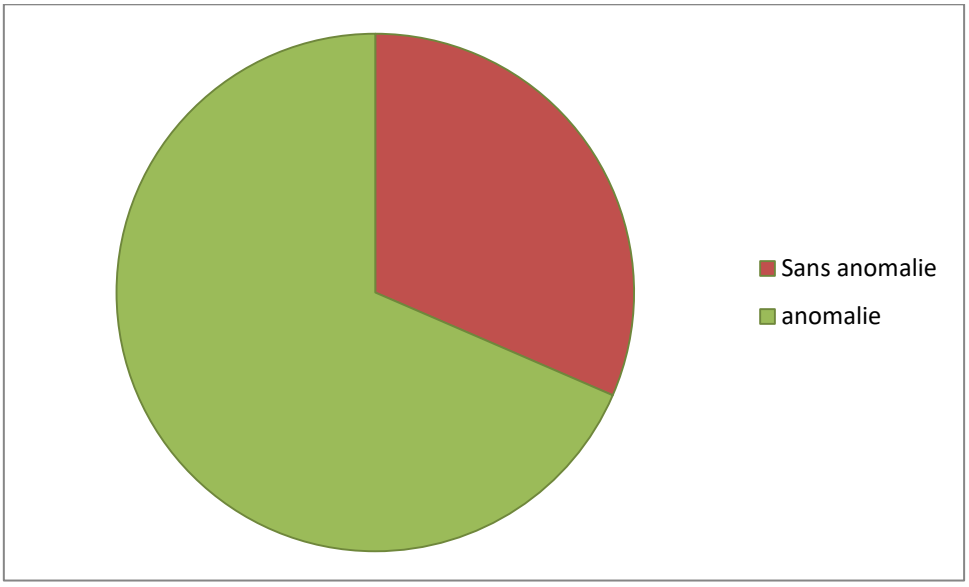


Figure 53 : Répartition de la population selon les cas sans anomalie et avec anomalie

1.2. Distribution de la population selon l'âge

Les patients sont âgés de 1 à 90 ans avec une moyenne d'âge de 53,15 ans. Elle est subdivisée selon les classes d'âge d'amplitude de 10 ans (Tableau 1). La tranche d'âge de [40 ; 50[ans est prédominante avec 39 patients soit 19,5% contrairement à la tranche d'âge-là moins fréquente de [0 ; 10 [ans qui représente seulement 2% de la population d'étude (Figure 53).

1.3. Distribution de la population d'étude selon le sexe

Nous avons recensé 200 patients, dont 49 patients de sexe masculin soit 24٪ et 151 cas de sexe féminin soit 76٪. Le sexe féminin est prédominant avec un sexe ratio (H/F) de 0, 32(Figure 54).

Tableau 1 : Répartition des cas selon l'âge

Tranche d'âge	Nombre des cas	pourcentage
[0-10[	4	2%
[10-20[	8	4%
[20-30[	17	8,5%
[30-40[	23	11,5%
[40-50[	39	19,5%
[50-60[	32	16%
[60-70[	25	12,5%
[70-80[	30	15%
[80-90]	22	11%

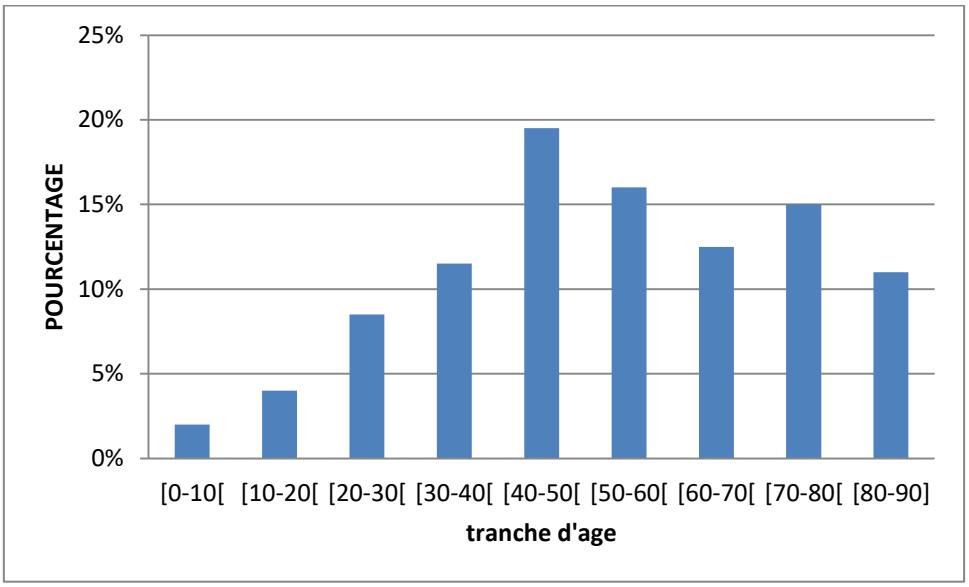


Figure 54 : Répartition de la population selon les tranches d'âge.

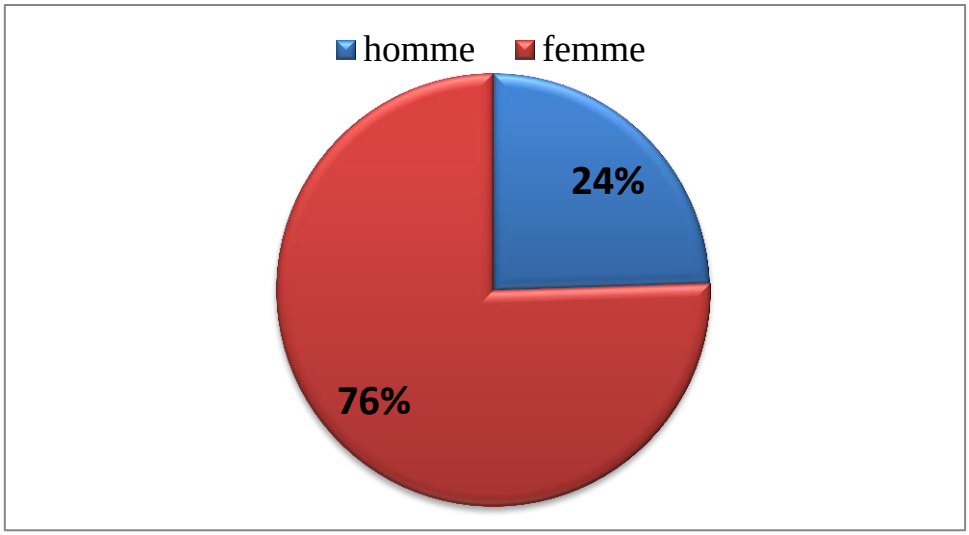


Figure 55 : Répartition de la population selon le sexe

2. Profil électrophorétique

Les résultats du profil électrophorétique sont résumés dans la figure 55. 63 cas (31,5%) ont un profil électrophorétique normale (Figure 55 et 56). 45 cas (22,5%) ont un montré un profil avec un syndrome inflammatoire chronique contre 1 cas qui a montré un profil avec un syndrome néphrotique (Figure 56).

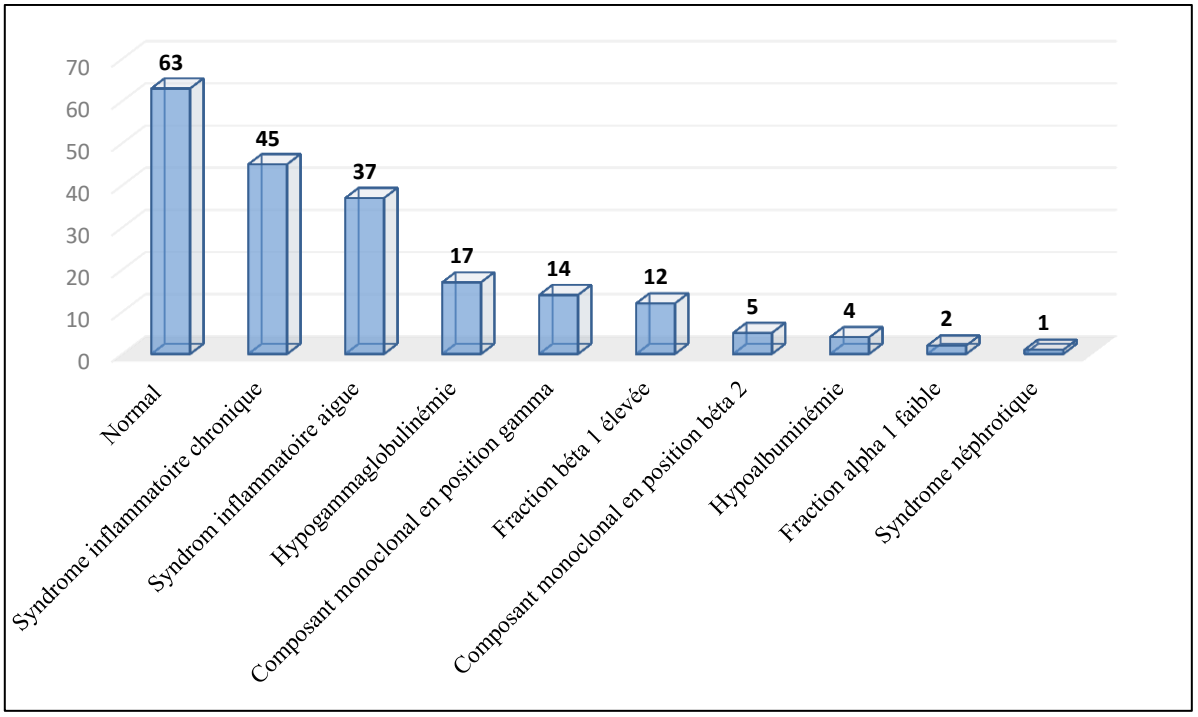


Figure 56 : Répartition des cas en fonction des résultats d'électrophorèse

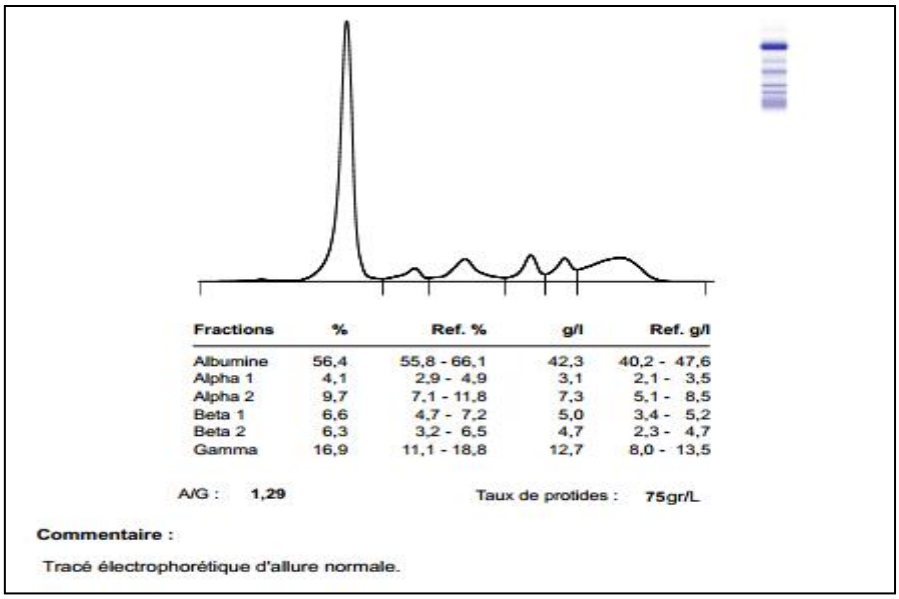


Figure 57 : Electrophorèse de protéines sériques de référence (cas normaux)

Le tableau 2 représente la moyenne des fractions des protéines sériques retrouvées chez les cas sans anomalies (cas normaux), ainsi leurs indices de confiances.

Tableau 2 : Fractions des protéines sériques dans les cas normaux

	Moyenne	**IC**	**Normes**	**Z_0**
albumine	46,77	[45,93 ; 47,62]	40,2 - 47,6	/
α 1	2,62	[2,48 ; 2,75]	2,1 - 3,5	/
α 2	7,22	[7,03 ; 7,42]	5,1 - 8,5	/
β 1	4,71	[4,59 ; 4,83]	3,4 - 5,2	/
β 2	3,92	[3,70 ; 4,13]	2,3 - 4,7	/
γ	10,99	[10,57 ; 11,41]	8 - 13,5	/
Taux de protéines	76,21	[75,22 ; 77,19]	62 - 77	/

2.1. Syndrome inflammatoire chronique

Le tableau 3 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec syndrome inflammatoire chronique, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs Z_0.

Tableau 3 : Fractions des protéines sériques dans le cas de syndrome inflammatoire chronique.

	Moyenne	**IC**	**Normes**	**Z_0**
albumine	44,13	[42,76 ; 45,49]	40,2 - 47,6	/
α 1	3,29	[2,92 ; 3,67]	2,1 - 3,5	/
α 2	8,32	[7,83 ; 8,81]	5,1 - 8,5	/

β 1	5,04	[4,88 ; 5,21]	3,4 - 5,2	/
β 2	4,52	[4,21 ; 4,83]	2,3 - 4,7	/
γ	16,05	[15,42 ; 16,69]	8 - 13,5	7,85
Taux de protéines (tp)	81,11	[79,85 ; 82,37]	62 - 77	6,40

$Z_{0\gamma} > Z_{\alpha}$: On rejette l'hypothèse nulle (H_0), donc la différence est significative

$Z_{0tp} > Z_{\alpha}$: On rejette l'hypothèse nulle (H_0), donc la différence est significative

La figure 57 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'un syndrome inflammatoire chronique.

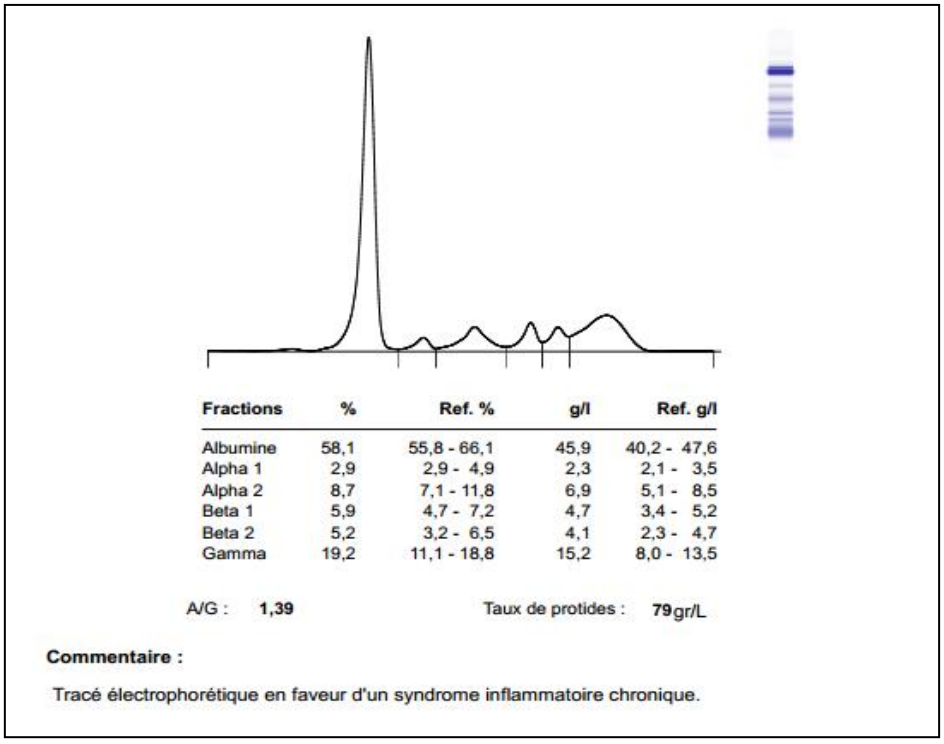


Figure 58 : Electrophorèse d'un sujet avec syndrome inflammatoire chronique

2.2. Hypogammaglobulinémie

Le tableau 4 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec hypogammaglobulinémie, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs T_0.

Tableau 4 : Fractions des protéines sériques dans le cas d'Hypogammaglobulinémie.

	Moyenne	IC	Normes	T_0
albumine	48,91	[46,94 ; 50,88]	40,2-47,6	1,41
α 1	2,06	[1,74 ; 2,37]	2,1-3,5	/
α 2	7,77	[7,03 ; 8,52]	5,1-8,5	/
β 1	4,95	[4,51 ; 5,38]	3,4-5,2	/
β 2	3,18	[2,81 ; 3,56]	2,3-4,7	/
γ	6,72	[6,18 ; 7,25]	8-13,5	5,1
Taux de protéines	73,59	[71,69 ; 75,49]	62-77	/

$\mathbf{T_{0albumine} < T_{\alpha}}$ **:** On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

$\mathbf{T_{0\gamma} > T_{\alpha}}$ **:** On rejette H_0, donc la différence est significative

La figure 58 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'une hypogammaglobulinémie.

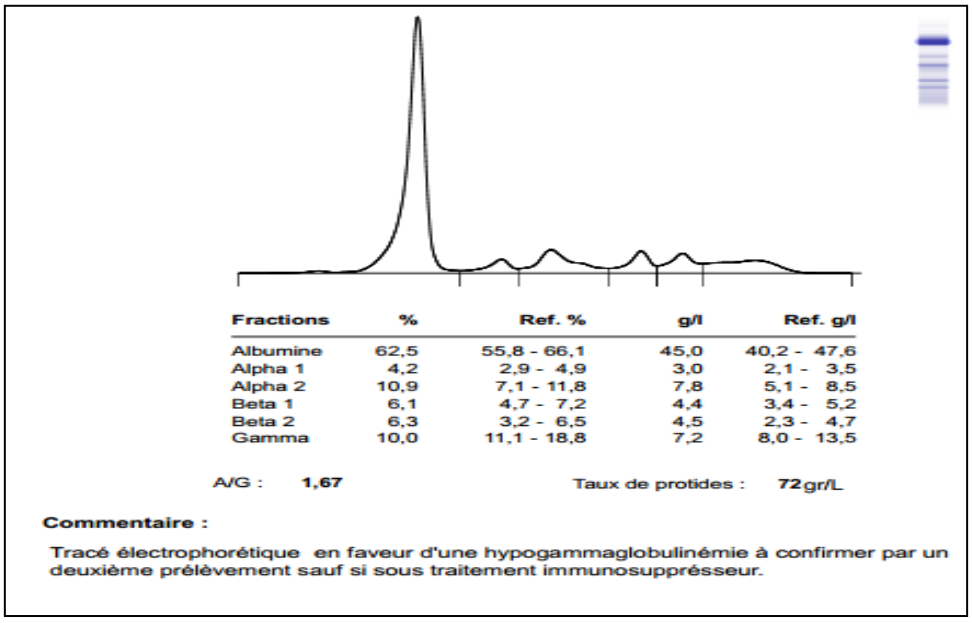


Figure 59 : Electrophorèse d'un sujet avec hypogammaglobulinémie

2.3. Augmentation de la fraction beta 1

Le tableau 5 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec fraction β 1 élevée, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs T_0.

Tableau 5 : Tableau représente les fractions des protéines sériques dans le cas d'augmentation de la fraction beta 1.

	Moyenne	IC	Normes	T_0

albumine	48,82	[47,36 ; 50,29]	40,2 - 47,6	1,84
α 1	2,32	[1,88 ; 2,75]	2,1 - 3,5	/
α 2	7,44	[7,08 ; 7,80]	5,1 - 8,5	/
β 1	5,88	[5,57 ; 6,18]	3,4 - 5,2	4,94
β 2	3,5	[3,12 ; 3,88]	2,3 - 4,7	/
γ	10,86	[9,83 ; 11,89]	8 - 13,5	/
Taux de protéines (tp)	78,83	[77,19 ; 80,48]	62 - 77	2,45

$T_{0albumine} < T_{\alpha}$: On accepte H_0, donc il n'y a pas de différence significative

$T_{0\beta1} > T_{\alpha}$: On rejette H_0, la différence est significative

$T_{0tp} > T_{\alpha}$: On rejette H_0, la différence est significative

La figure 59 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'une augmentation de la fraction β 1.

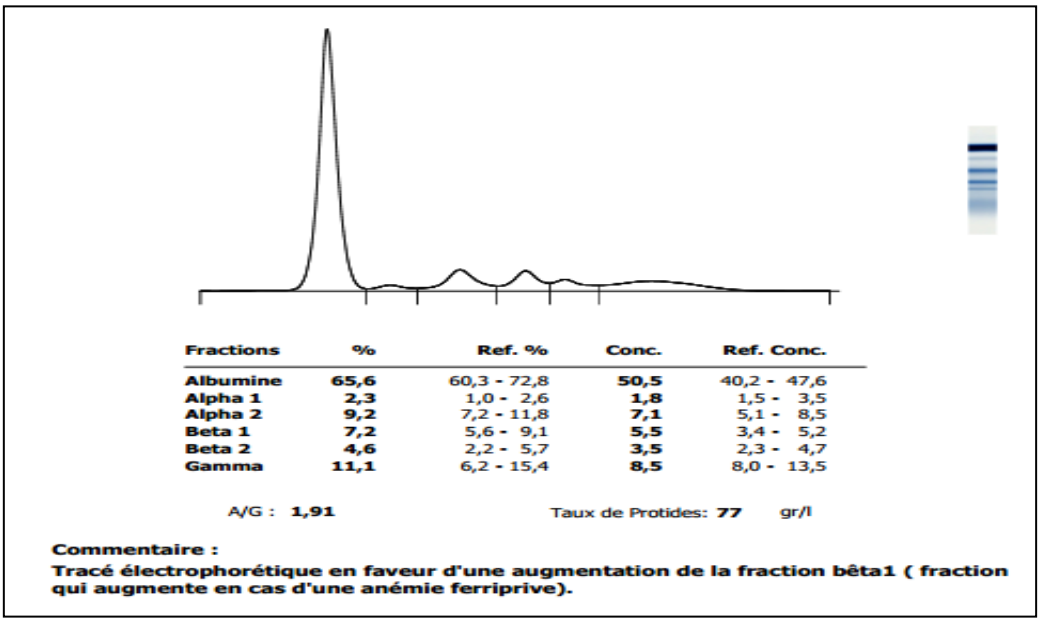


Figure 60 : Electrophorèse d'un sujet avec une augmentation de la fraction beta 1

2.4. Composant monoclonal en position beta 2

Le tableau 6 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec composant monoclonal en position beta 2, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs T_0.

Tableau 6 : Fractions des protéines sériques dans le cas de composant monoclonal en position beta 2.

	Moyenne	IC	Normes	T_0
albumine	39,46	[28,64 ; 50,28]	40,2-47,6	0,19
α 1	3,08	[2,08 ; 4,08]	2,1-3,5	/
α 2	6,62	[3,56 ; 9,68]	5,1-8,5	/
β 1	3,74	[3,48 ; 4]	3,4-5,2	/
β 2	10,76	[7,56 ; 13,96]	2,3-4,7	5,26
γ	11,96	[6,76 ; 17,16]	8-13,5	/
Taux de protéines	75,6	[69,17 ; 82,03]	62-77	/

$T_{0albumine} < T_{\alpha}$: On accepte H_0 et il n'y a pas de différence significative

$T_{0\beta2} > T_{\alpha}$: On accepte H_0 la différence est significative

La figure 60 représente le profil electrophorétique d'un patient avec la présence d'un pic monoclonal en position beta 2.

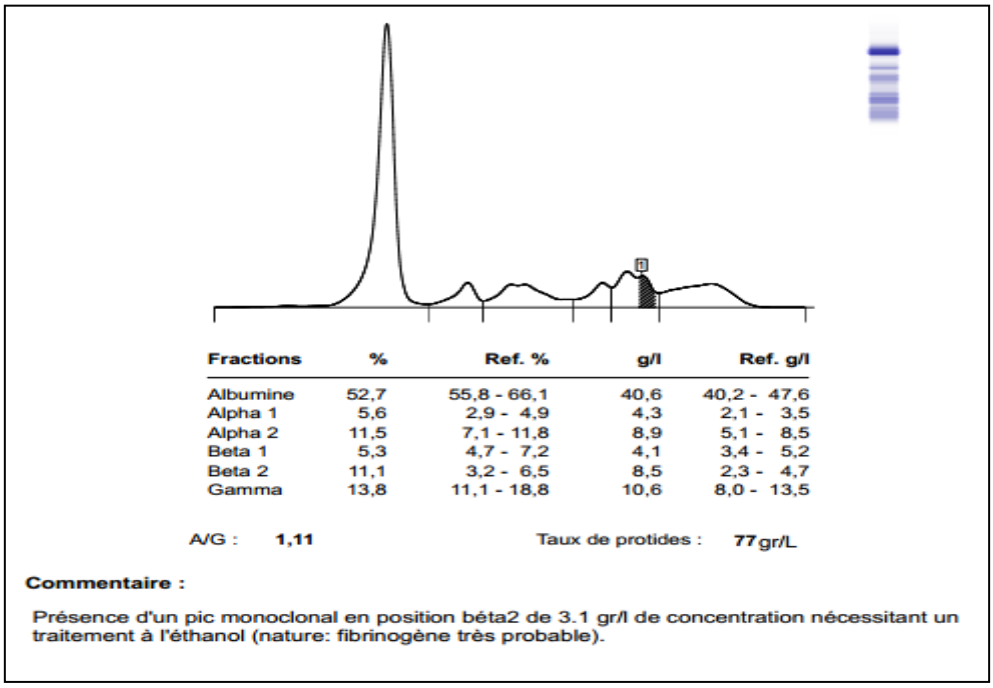


Figure 61 : Electrophorèse d'un sujet avec composant monoclonal en position beta 2

2.5. Syndrome inflammatoire aigue

Le tableau 7 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec syndrome inflammatoire aigue, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs Z_0.

Tableau 7 : Fractions des protéines sériques dans le cas de Syndrome inflammatoire aigue

	Moyenne	IC	Normes	Z_0
albumine	43,45	[41,65 ; 45,25]	40,2 - 47,6	/

α 1	3,51	[3,14 ; 3,88]	2,1 - 3,5	0,06
α 2	9,43	[8,92 ; 9,93]	5,1 - 8,5	3,58
β 1	4,95	[4,69 ; 5,21]	3,4 - 5,2	/
β 2	4,33	[4,07 ; 4,60]	2,3 - 4,7	/
γ	11,02	[10,48 ; 11,57]	8 - 13,5	/
Taux de protéines	76,84	[74,74 ; 78,93]	62 -77	/

$Z_{0\alpha1} < Z_{\alpha}$: On accepte H_0 il n'y a pas de différence significative

$Z_{0\alpha2} > Z_{\alpha}$: On rejette H_0 et la différence est significative

La figure 61 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'un syndrome inflammatoire aigu.

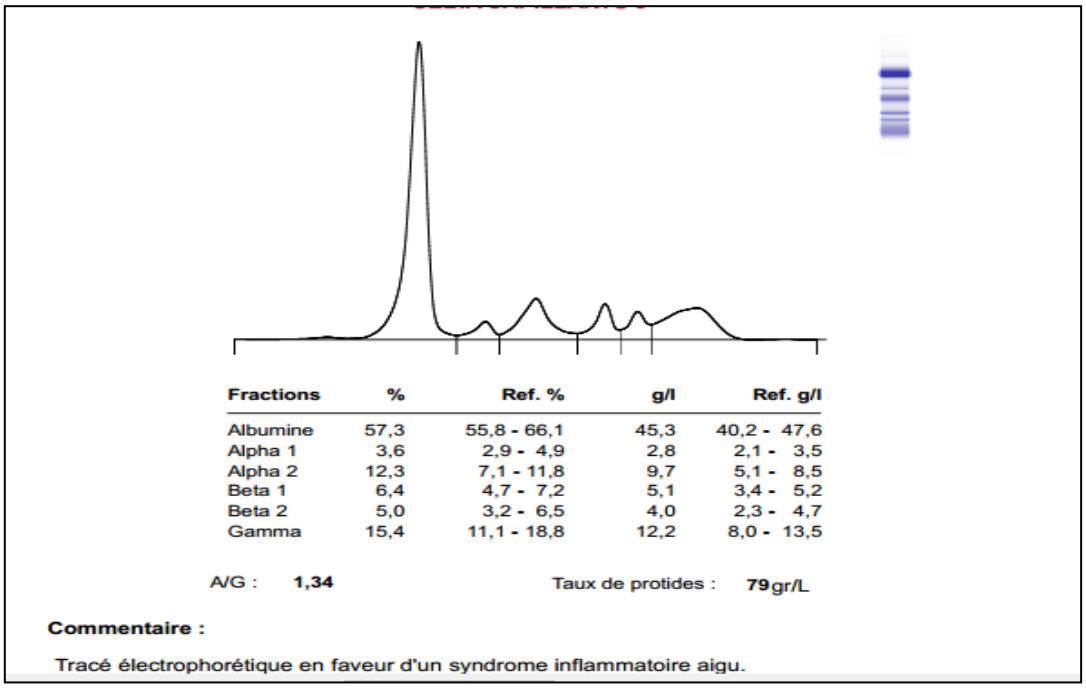


Figure 62 : Electrophorèse d'un sujet avec syndrome inflammatoire aigue

2.6. Composant monoclonal en position gamma

Le tableau 8 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec composant monoclonal en position gamma, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs T_0.

Tableau 8 : Fractions des protéines sériques dans le cas de composant monoclonal en position gamma.

	Moyenne	IC	Normes	T_0
albumine	42,33	[38,47 ; 46,19]	40,2-47,6	/
α 1	3,13	[2,64 ; 3,62]	2,1-3,5	/
α 2	8,36	[7,56 ; 9,17]	5,1-8,5	/
β 1	4,59	[4,03 ; 5,14]	3,4-5,2	/
β 2	4,04	[3,43 ; 4,66]	2,3-4,7	/
γ	11,22	[9,80 ; 12,64]	8-13,5	/
Taux de protéines	74	[69,20 ; 78,80]	62-77	/

La figure 62 représente le profil electrophorétique d'un patient avec la présence d'un pic monoclonal en position gamma.

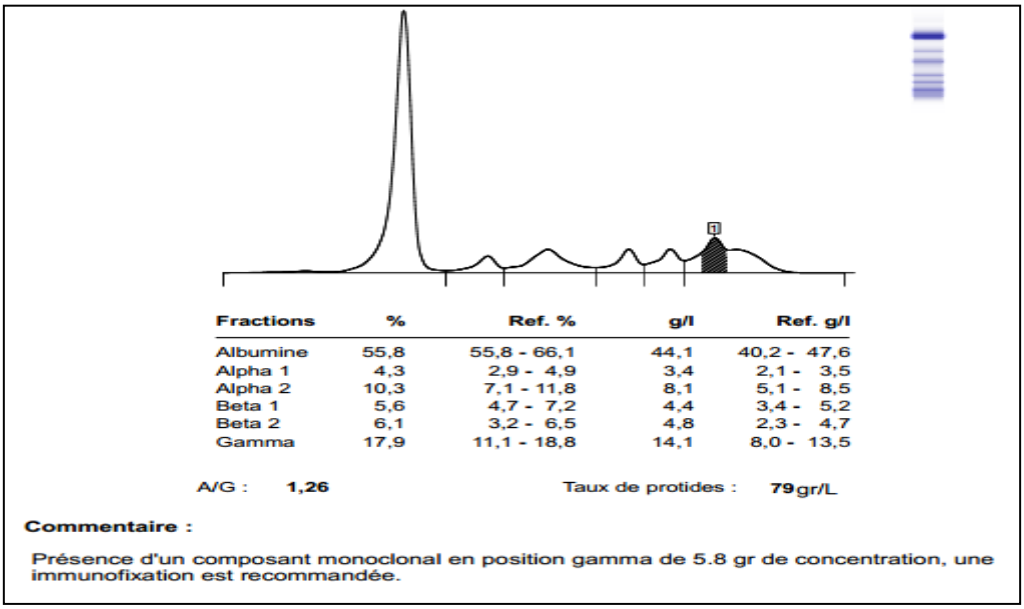


Figure 63 : Electrophorèse d'un sujet avec composant monoclonal en position gamma

2.7. Hypoalbuminémie

Le tableau 9 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec hypo-albuminémie, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs T_0.

Tableau 9 : Fractions des protéines sériques dans le cas d'hypo-albuminémie.

	Moyenne	IC	Normes	T_0
albumine	38,16	[34,97 ; 41,28]	40,2-47,6	2,09
α 1	2,8	[2,12 ; 3,49]	2,1-3,5	/

α 2	7,68	[6,06 ; 9,29]	5,1-8,5	/
β 1	4,78	[3,73 ; 5,81]	3,4-5,2	/
β 2	4,75	[1,86 ; 7,64]	2,3-4,7	0,05
γ	10,65	[9,18 ; 12,12]	8-13,5	/
Taux de protéines	68,75	[63,33 ; 74,16]	62-77	/

$T_{0albumine} < T_{\alpha}$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

$T_{0\beta2} < T_{\alpha}$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

La figure 63 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'une hypo-albuminémie.

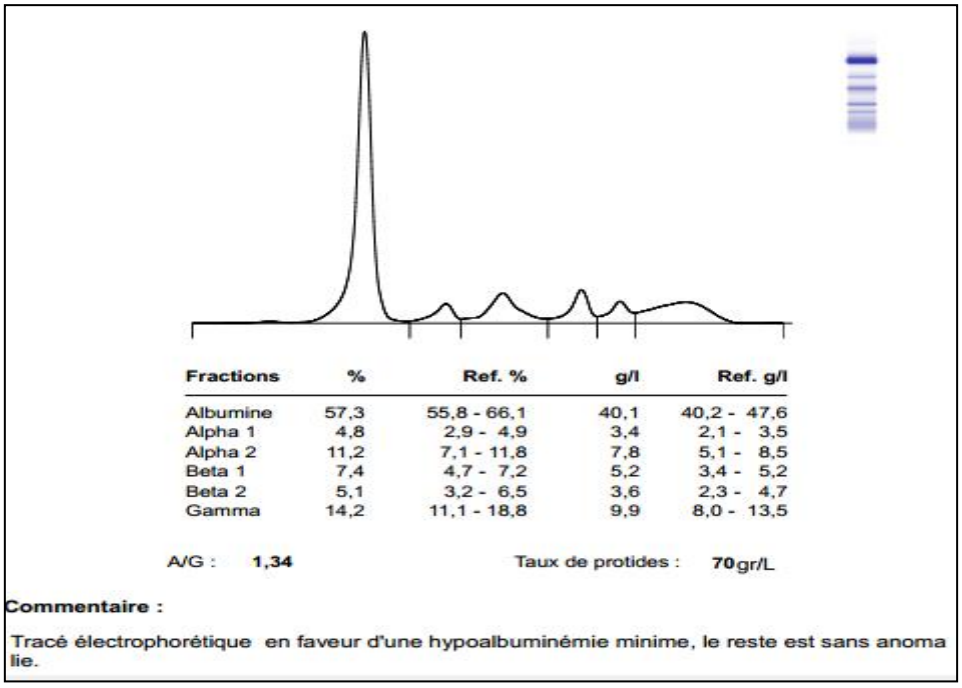


Figure 64 : Electrophorèse d'un sujet avec d'hypoalbuminémie

2.8. Diminution de la fraction alpha 1

Le tableau 10 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec **α 1** faible, ainsi leurs indices de confiances et leurs valeurs T_0.

Tableau 10 : Fractions des protéines sériques dans le cas de diminution de la fraction α 1.

	Moyenne	**IC**	**Normes**	**T_0**
albumine	49,65	[42,5 ; 56,80]	40,2-47,6	0,56

α 1	1,6	[0,81 ; 2,38]	2,1-3,5	1,25
α 2	6,55	[6,27 ; 6,84]	5,1-8,5	/
β 1	4,75	[4,47 ; 5,04]	3,4-5,2	/
β 2	3,05	[0,9 ; 5,11]	2,3-4,7	/
γ	9,9	[9,31 ; 10,49]	8-13,5	/
Taux de protéines	76	[72,08 ; 79,92]	62-77	/

$T_{0albumine} < T_{\alpha}$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

$T_{0\alpha1} < T_{\alpha}$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

La figure 64 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'une diminution de la fraction alpha 1.

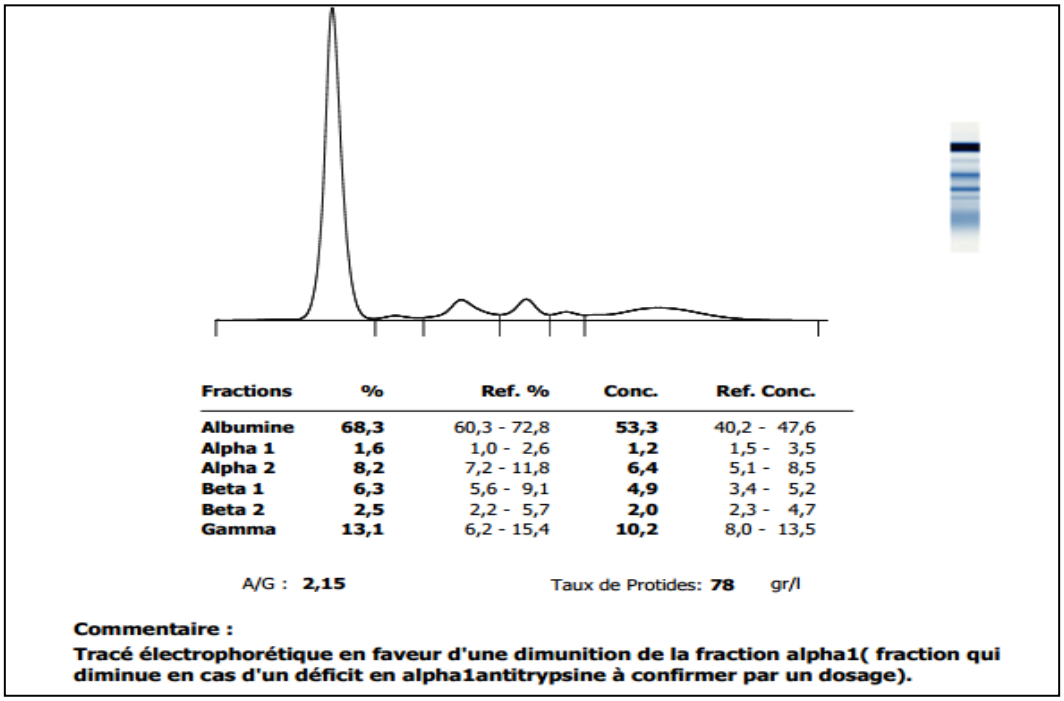


Figure 65 : Electrophorèse d'un sujet avec une diminution de la fraction alpha 1

2.9. Syndrome néphrotique

Le tableau 11 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec syndrome néphrotique.

Tableau 11 : Fractions des protéines sériques dans le cas de Syndrome néphrotique.

	Moyenne	**Normes**	**Commentaire**
albumine	38,7	40,2-47,6	Taux faible
α 1	4,2	2,1-3,5	α 1 élevée

α 2	12,1	5,1-8,5	α 2 élevée
β 1	3,5	3,4-5,2	Normal
β 2	4,7	2,3-4,7	Normal
γ	13,8	8-13,5	γ élevée
Taux de protéines	77	62-77	Normal

La figure 65 représente le profil electrophorétique d'un patient en faveur d'un syndrome néphrotique.

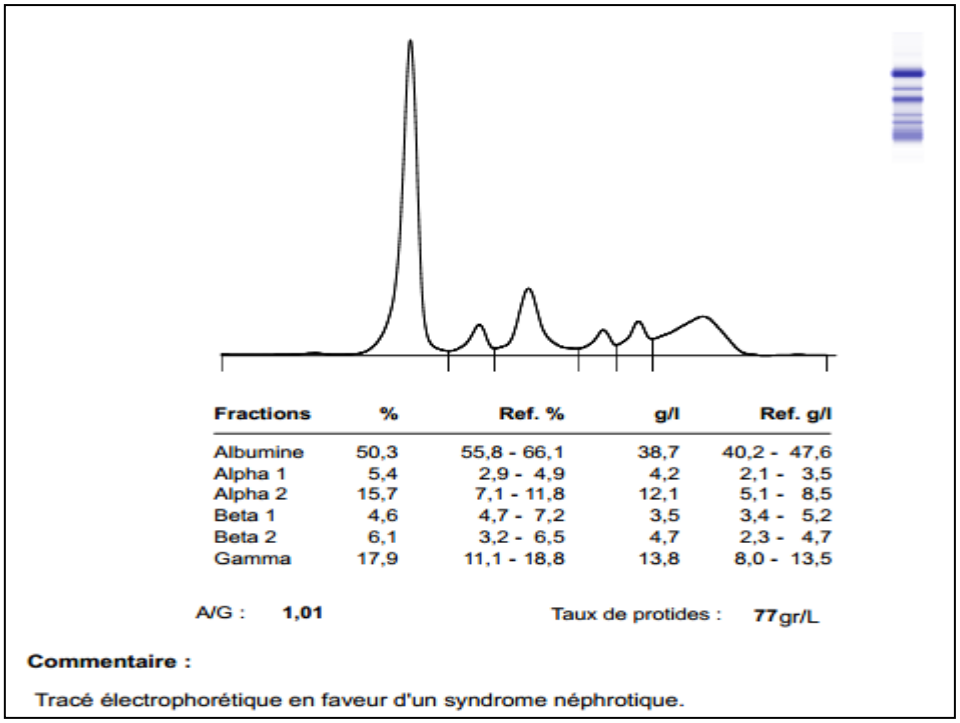


Figure 66 : Electrophorèse d'un sujet avec syndrome néphrotique

3. Immunofixation

Sur les 200 prélèvements : 7 immunofixations ont été réalisées (Figure 66) dont 1 est positive (objectivant une gammapathie monoclonale de type IgA à chaines légères lambda).

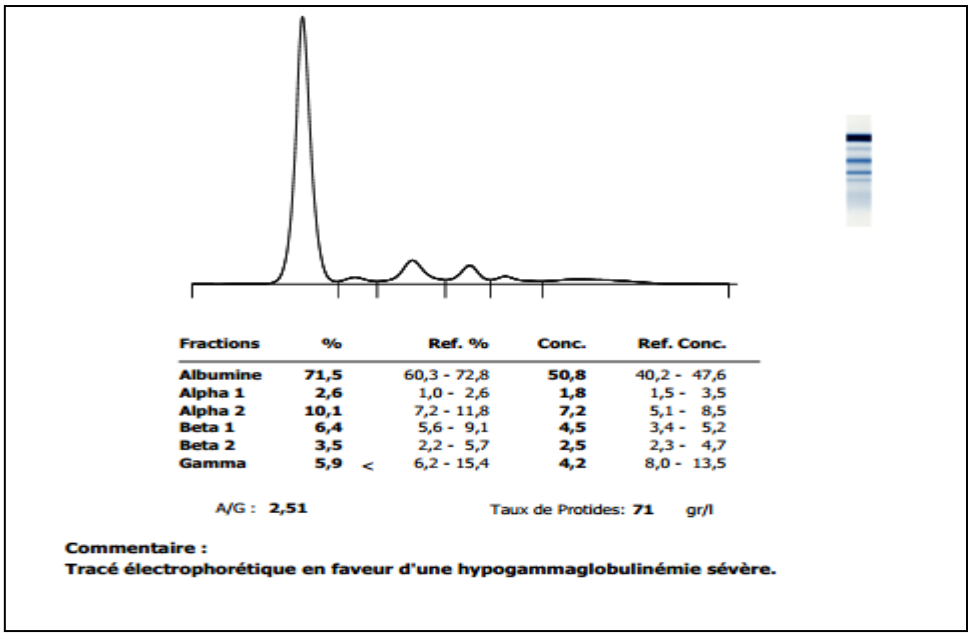


Figure 67 : Electrophorèse dont l'immunofixation est recommandée

Le tableau 12 représente la moyenne des fractions de protéines sériques retrouvées chez les cas avec immunofixation.

Tableau 12 : Fractions des protéines sériques dans le cas d'immunofixation.

	Moyenne	**IC**	**Normes**	**T_0**
Albumine	42,76	[34,99 ; 50,53]	40,2-47,6	/
α 1	3,43	[1,92 ; 4,94]	2,1-3,5	/
α 2	8,29	[6,85 ; 9,72]	5,1-8,5	/
β 1	4,76	[4,08 ; 5,43]	3,4-5,2	/
β 2	4,91	[2,36 ; 7,47]	2,3-4,7	0,21
Γ	13,86	[9,71 ; 18]	8-13,5	0,21
Taux de protéines	78	[71,20 ; 84,80]	62-77	0,36

$T_{0\beta 2} < T_\alpha$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

$T_{0\gamma} < T_\alpha$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

$T_{0tp} < T_\alpha$: On accepte H_0 donc il n'y a pas de différence significative

La figure 67 représente le profil electrophorétique de l'immunofixation sérique.

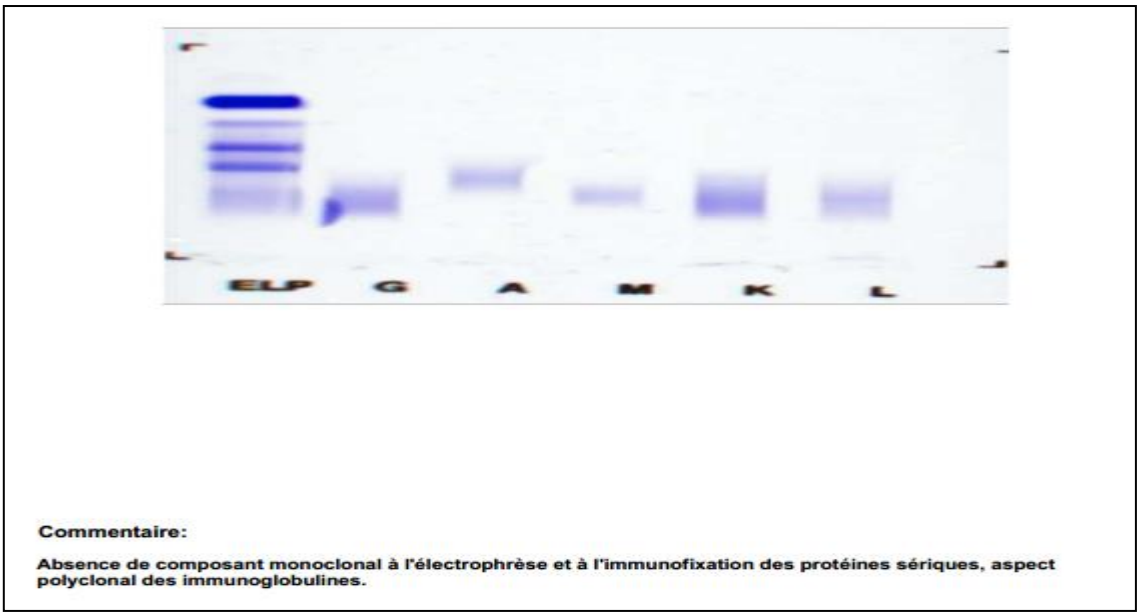


Figure 68 : Résultats de l'immunofixation sérique

IV. Discussion

L'électrophorèse des protéines sériques est une analyse de routine visant à rechercher les modifications qualitatives et semi-quantitatives du profil protéique. Cette analyse renseigne, entre autres, sur la présence de gammapathies monoclonales, mais également sur un déficit en α1-antitrypsine, un état inflammatoire, un syndrome néphrotique, etc. Parmi les techniques disponibles sur le marché, l'électrophorèse en gel d'agarose. Elle permet la séparation en six fractions protéiques majeures (albumine, α1-, α2-, β1-, β2-, et γ-globulines.

L'analyse de l'électrophorèse des protéines sériques doit être à la fois qualitative et quantitative pour les 6 fractions protéiques. L'électrophorèse donne, d'autre part, un reflet panoramique de l'ensemble des protéines sériques et peut à ce titre dépisté, notamment: un syndrome inflammatoire aigu: avec une hyper alpha-1 et alpha-2 liées à l'augmentation des protéines de l'inflammation; un syndrome inflammatoire chronique: avec une hyper α1 et α2 associées à l'hyper-gammaglobulinémie polyclonale liée à l'augmentation des immunoglobulines témoignant de la chronicité de la maladie; une carence martiale (augmentation de la zone bêta-1 globuline); une hémolyse intra-vasculaire (déformation de la zone alpha-2 globuline); une cirrhose (bloc bêta-gamma: fusion des fractions béta et gamma liée à l'hyper IgA polyclonal); syndrome néphrotique: hyper-alpha-2 importante liée à l'augmentation de l'alpha-2 macroglobuline, associée à une hypo-protidémie sévère due à la fuite urinaire et à la protéinurie massive; une maladie infectieuse, auto-immune ou de système (zone alpha-1, alpha-2, bêta et surtout gamma); un déficit congénital ou acquis des immunoglobulines ou d'autres protéines (albumine, alpha-1 antitrypsine et gammaglobulines notamment) [57, 58].

Dans notre étude, on note une prédominance de cas de différentes anomalies (68,5%) sur le plan électrophorétique, ce qui reflète que l'électrophorèse est demandée par le médecin lorsqu'il suspecte une anomalie précise.

On note une prédominance féminine avec un sexe ratio (H/F) de 49/151, et une moyenne d'âge de 53,15 ans, avec la prédominance de la tranche d'âge de [40 ; 50[ans, contrairement à la tranche d'âge-là moins fréquente de [0 ; 10 [ans qui représente seulement 2% de la population d'étude.

On note un taux élevé des cas avec des anomalies en électrophorèse (68,5%), avec prédominance remarquable de syndrome inflammatoire chronique (22,5%), le syndrome

inflammatoire aigue est présent dans 18,5% des cas, l'hypo-gamma-globulinémie est présente dans 8,5% des cas, le composant monoclonal en position gamma est présent dans 7% des cas, la fraction béta-1 élevée est présente dans 6% des cas, le composant monoclonal en position béta-2 est présent dans 2,5% des cas, l'hypo-albuminémie est présente dans 2% des cas, la fraction alpha faible est présente dans 1% des cas et le syndrome néphrotique a été objectivé chez 1 patient (0,5%).

Dans notre étude, le syndrome inflammatoire chroniques représente 22,5% des cas, et qui est due à un dysfonctionnement du système immunitaire. Selon l'étude de Perdriger ce dysfonctionnement est à l'origine de nombreuses maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires et intestinales (maladie de Crohn), arthrite et polyarthrite rhumatoïdes, le cancer, les tendinites, et les hypersensibilités (allergies) [59].

Nos résultats ont montré que l'hypogammaglobulinémie représente 8,5% des cas. L'étude de Saintenoy a montré que l'hypogammaglobulinémie aboutit à une diminution des résistances immunitaires, plus ou moins sévère qui fait suite à certaines pathologies comme les maladies auto-immunes et les infections (SIDA) [60]. On note aussi que les maladies présentant un taux élevé de béta-1 globulines élevé (6% des cas), peuvent souffrir de cirrhose, ou de carence en fer.

Selon le calcul de Z_0 de la loi normale centrée réduite, la moyenne de fractions gamma séparés par électrophorèse des cas de syndrome inflammatoire chronique, on note la présence d'une différence significative avec les normes de référence (borne supérieur normal), et un taux élevé de protéines (tableau 3).

Chez les cas interprétés comme syndrome inflammatoire aigue, on note la moyenne de α 1 globulines légèrement supérieur à la norme de référence mais considérée comme une différence non significative selon la loi normale centrée réduite, mais la moyenne de α 2 globulines est supérieur à la norme de référence avec une différence significative (tableau 7).

Chez les cas interprétés comme hypogammaglobulinémie, on note la moyenne de la fraction albumine est légèrement supérieure à la norme de référence mais cette différence non significative statistiquement, alors on note la moyenne de gamma globuline inférieure à la norme de référence et avec une différence significative (tableau 4).

Chez les cas interprétés comme gammapathie monoclonal, malgré le nombre d'échantillon non représentatif ($n<30$), on a calculé T_0 de la loi de STUDENT, et on n'a remarqué aucune

anomalie quantitative en moyenne de fractions des protéines sériques, mais l'interprétation se fait directement sur la courbe et la recherche d'un pic monoclonal malgré la concentration est dans les normes de référence (tableau 8).

Parmi les 200 électrophorèses faites, le laboratoire d'analyse médical de ZITONI a décidé de faire 7 examens complémentaires (immunofixation), malgré l'échantillon non significatif ($n<30$), on a décidé de vérifier statistiquement les moyennes par la loi de STUDENT (T_0), on a noté une légère augmentation de β2-globulines et γ-globulines et le taux de protéines total par rapport aux normes de référence, mais cette différence est non significative (tableau 12).

Conclusion

L'électrophorèse des protéines sériques est un examen facile à réaliser peu coûteux et de grand intérêt clinique notamment pour le dépistage de gammapathies monoclonales, et la surveillance des myélomes multiples, d'autres indications sont plus subjectives dépendantes de la pratique de chaque médecin, ce qui implique la nécessité de pouvoir disposer de recommandations de bonne pratique de prescription et d'interprétation de cet examen.

A travers l'étude que nous avons menée sur 200 patients, on a conclu que l'électrophorèse permet la détection de plusieurs maladies.

Il ressort de cette étude que le syndrome inflammatoire chronique est prédominant avec 22,5% des cas ; suivi par le syndrome inflammatoire aigue avec 18,5% des cas ; l'hypo-gamma-globulinémie avec 8,5% des cas ; une gammapathie monoclonal avec 7% des cas, la fraction béta-1 élevée avec 6% des cas, le composant monoclonal en position béta-2 avec 2,5% des cas, l'hypo-albuminémie avec 2% des cas ; la fraction alpha faible avec 1% des cas ; et à la fin le syndrome néphrotique avec 0,5% des cas.

Il y a des substances endogènes comme l'hémolyse, le fibrinogène et des substances exogènes comme produits de contraste et les antibiotiques interférent dans les résultats d'électrophorèse et peuvent être interprétées à tort comme des composants monoclonaux.

Il y a des examens immunologiques complémentaires, comme immunofixation, qui est réalisée à la suite d'une découverte de pic effilé. Elle est utilisée dans notre étude pour la révélation et l'identification des immunoglobulines monoclonales.

[1] Francoise valentini .Maitre de conférence . L'université pierre et marie curie docteur en médecine .Joelle parreau . Bréal ,2005 .« indispensable en biochimie .pdf ».

[2] G.Coutouly , E.Klein ,E.Barbieri, M.Kriat . BIOSCIENCES ET TECHNIQUES coleection dirigée par J.Figarella et A.Calas . 3_{eme} edition .« Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique (PDFDrive).pdf ».

[3] Pascal DHULSTER . Claudine MAYER . Université Paris Diderot ; institut Pasteur .« session_2_Mayer_SFPP_230915.pdf »

[4] « BTS-Dietetique-Les-protéines-structures-et-propriétés.pdf ». Biochimie – Structure des protides Les protéines structures et propriétés https://www.formationsbacplus2.com/cours-bts-diététique

[5] Docteur BENZIDANE NADIA VVE DJENANE .« biochimie. protéines (1).pdf ».

[6] Y. Boirie et B. Beaufrère, « MÉTABOLISME PROTÉIQUE », *Cah. Nutr. Diét.*, 2005.

[7] B. G. Chousterman, Didier Payen « L'albumine en anesthésie-réanimation ». Département d'anesthésie-réanimation-Smur, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, 2 rue Ambroise Paré, 75010, Paris, France

[8] M. BAHJI, A. HAMAMA, N. BENKIRANE AGOUMI. « 874-3113-1-PB.pdf ». Maroc Médical, tome 24 n°3, Septembre 2002

[9] Bach-Ngohou K, Bettembourg A, Le Carrer D, Masson D, Denis M.
Évaluation clinico-biologique de la dénutrition.
Ann Biol Clin 2004 ; 62/4 : 395-403 « 0084F.pdf »

[10] Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac JP, Gibaud C, Poulin G, Rivière H, Le Carrer D.
Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques.
Ann Biol Clin 2006 ; 64/4 : 367-380 .« 0213F.pdf ».

[11] Mr LACETE Massinissa , Mlle IKROUBERKANE Imane , Mlle. KHERROUBI Yasmine ,Mlle. IRNATENE Sarah . Université Mouloud MAMMERI« electrophorese memoire pharmacie.pdf ». Contribution à l'établissement des valeurs de référence des fractions d'électrophorèse des protéines sériques obtenues par technique capillaire Le : 14 juillet 2020

[12] IT HEBOUCHE Amel , GABA Anfel . UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA.« AIT-HEBOUCHE-GABA.pdf ». tude des profils électrophorètiques pathologiques des protéines sériques dans la région de Ouargla . 11/10/2020

[13] LABORATOIRE D'ANALYSES BIO - val« lettre-info-n3-bio-val-monoclonales (1).pdf ». LETTRE INFO N °3 - SEPTEMBRE 2018

[14] O. Bouayadi, M. Bensalah, N. Rahmani, S. Assoufi, et M. Choukri, « Electrophorèse des protéines sériques: étude de 410 profils électrophorétiques », *Pan Afr Med J*, vol. 32, 2019, doi: 10.11604/pamj.2019.32.161.11455.

[15] I. Hellara, O. Fekih, S. Triki, A. Elmay, F. Neffati, et M. F. Najjar, « Does bilirubin interfere with capillary electrophoresis of serum proteins? », *Annales de biologie clinique*, vol. 72, n° 1, p. 124-128, janv. 2014, doi: 10.1684/abc.2013.0926.

[16] CHOHRA Yasmina, DEBIANE Mélissa, FIROUD Djouher, Université Mouloud Mammeri, « memoire.pdf ». LES INTERFERENCES ANALYTIQUES EN ELECTROPHORESE CAPILLAIRE DES PROTEINES SERIQUES ,08 JUILLET 2018

[17] « INFLUE~1.DOC ». consulté le 20 février 2023

[18] BOUBEKKAI Amina, MEBREK Sabrina , Université Dr. Yahia Farés de MEDEA « M12276.pdf ». Etude de la convection thermosolutal dans une cavité poreuse saturée par une solution aqueuse ,Juin 2022

[19] Déborah MIRBEL , UNIVERSITé de BORDEAUX ,« MIRBEL_DEBORAH_2015.pdf ». Synthèse et formulation d'encres électrophorétiques pour le papier électronique , le 17 décembre 2015

[20] « Surface Zeta Potential of ALD-Grown Metal-Oxide Films Langmuir . httpspubs.acs.orgdoi10.1021acs.langmuir.1c02028.docx ».

[21] « Planet-Vie. « L'électrophorèse ».. httpsplanet-vie.ens.frthematiquesmanipulations-en-laboratoirel-electrophorese..docx ».

[22] T. Paillat, O. Moreau, J. M. Cabaleiro, F. Perisse, et G. Touchard, « Electrisation par écoulement: Modélisation electrique », *Journal of Electrostatics*, vol. 64, n° 7-9, p. 485-491, juill. 2006, doi: 10.1016/j.elstat.2005.10.031.

[23] V. Valiukenas, B. Petretis, et V. Bogomolov, « Influence de l'intensité et de la fréquence d'un champ électrique sur la structure et la résistance des couches minces d'aluminium », *Thin Solid Films*, vol. 24, n° 2, p. 333-340, déc. 1974, doi: 10.1016/0040-6090(74)90177-1.

[24] « Comment calculer la force ionique d'une solution ». httpfr.scienceaq.comChemistry100111072.html.docx ».

[25] G. Benosman, « Migration de particules fines dans un milieux poreux: Application au phénomène de colmatage ».

[26] S. Meissa et M. Hadjer, Université des Frères Mentouri Constantine « INTERFÉRENCES MÉDICAMENTEUSES DE L'ÉLECTROPHORÈSE CAPILLAIRE DES PROTÉINES SERIQUES ». 2019/2020

[27] « administrateur, Électrophorèse — Chimie Analytique champ electrique migration chargée séparation Chimie Analytique, 7 septembre 2020. httpschimieanalytique.comelectrophorese.docx ».

[28] « Techniques d'étude et d'analyse des protéines 1- introduction - ppt video online télécharger httpsslideplayer.framp468599.docx ».

[29] J. L. Brunelle et R. Green, « One-dimensional SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (1D SDS-PAGE) », in *Methods in Enzymology*, Elsevier, 2014, p. 151-159. doi: 10.1016/B978-0-12-420119-4.00012-4.

[30] « Gel-Electrophoresis principle and Application ~ Biotechfronthttpswww.biotechfront.com202012gel-electrophoresis-principle-and.html.docx ».

[31] « H. Liza et C. Chambon, Déplétion et immobilisation sur différents gels acrylamide des protéines plasmatiques évaluation des différents workflow testés par LC-MSMS.docx ».

[32] « Memoire Online - Etude comparative de l'électrophorèse sur gel et l'électrophorèse sur l'automate capillarys - Mohamed Nabil ATIG ». httpswww.memoireonline.com04148834.docx ».

[33] « Tracé électrophorétique normal. httpswww.memobio.frhtmlimmuim_el_no.html.docx ».

[34] F. Z. Hajoui *et al,* « A case of bisalbuminemia in a patient with digestive adenocarcinoma », *Annales de biologie clinique*, vol. 73, n° 2, p. 190-194, mars 2015, doi: 10.1684/abc.2015.1028.

[35]Dr Caroline THOMAS « Interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques. ». Mardi 15 décembre 2015

[36] F. Ezzaitouni *et al.*, « Le déficit immunitaire commun variable à révélation tardive par des manifestations digestives: à propos d'un cas », *Pan Afr Med J*, vol. 28, 2017, doi: 10.11604/pamj.2017.28.48.12049.

[37] « gammapathies.pdf ».

[38] D. Muriel, « Haute Autorité de santé », / Service des bonnes pratiques professionnelles / janvier 2017

[39] Marie MINVILLE, UNIVERSITé de BORDEAUX. « Electrophorese 2018.pdf ». Prescription d'une électrophorèse des protéines sériques : A propos de 295 examens réalisés en laboratoire de biologie médicale de ville. le 8 novembre 2018

[40] L. Vrancken *et al,* « Nouveautés dans la prise en charge du myélome », *Revue Médicale Suisse*, vol. 14, n° 615, p. 1438-1442, 2018, doi: 10.53738/REVMED.2018.14.615.1438.

[41] J. R. Berenson, « (Myélome; myélome à plasmocytes) ». ttps://www.msdmanuals.com/fr/professional/hématologie-et-oncologie/troubles-plasmocytaires/myélome-multiple# 2021

[42] « maladiedewaldenstrom.pdf ». Fiche d'information rédigée par les médecins de la Société Française d'Hématologie (mars 2009)

[43] N. Jacque et V. Leblond, « La leucémie lymphoïde chronique : mise au point », *La Presse Médicale*, vol. 48, n° 7-8, p. 807-815, juill. 2019, doi: 10.1016/j.lpm.2019.07.019.

[44] Qu'est-ce qu'un lymphome non hodgkinien _ _ ameli.fr _ Assuré.pdf ». https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/lymphome-non-hodgkinien/definition-facteurs-favorisants#:~:text=Le lymphome non hodgkinien est,baisse globale de l'immunité ,09 février 2022

[45] M. C. Vekemans, J. Caers, C. Doyen, et L. Michaux, « GAMMAPATHIES MONOCLONALES DE SIGNIFICATION INDÉTERMINÉE ». 2013

[46] C. C. Cellier, C. Lombard, I. Dimet, et M.-N. Kolopp Sarda, « L'électrophorèse des protéines sériques en biologie médicale : interférences et facteurs confondants », *Revue Francophone des Laboratoires*, vol. 2018, n° 499, p. 47-58, févr. 2018, doi: 10.1016/S1773-035X(18)30054-6.

[47] E. Husseini, UNIVERSITÉ LAVAL QUÉBEC « Effet des fibrates sur la synthèse périphérique et le métabolisme hépatique dela bilirubine, un endobiotique aux propriétés anti-oxydantes et athéro-protectrices ». 2009

[48] I. Hellara, O. Fekih, S. Triki, A. Elmay, F. Neffati, et M. F. Najjar, « Does bilirubin interfere with capillary electrophoresis of serum proteins? », *Annales de biologie clinique*, vol. 72, n° 1, p. 124-128, janv. 2014, doi: 10.1684/abc.2013.0926.

[49] C. R. McCudden, J. F. M. Jacobs, D. Keren, H. Caillon, T. Dejoie, et K. Andersen, « Recognition and management of common, rare, and novel serum protein electrophoresis and immunofixation interferences », *Clinical Biochemistry*, vol. 51, p. 72-79, janv. 2018, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.08.013.

[50] Tarek KHREIS, Université de Montréal,« Khreiss_Tarek_2005_these.pdf ». Régulation de]'activation et de l'adhésion des leucocytes, des cellules endothéliales et des plaquettes par la protéine C-réactive Décembre 2005

[51] C. R. McCudden *et al.*, « Interference of Monoclonal Antibody Therapies with Serum Protein Electrophoresis Tests », *Clinical Chemistry*, vol. 56, n° 12, p. 1897-1899, déc. 2010, doi: 10.1373/clinchem.2010.152116.

[52] J. Ruinemans-Koerts *et al.*, « Interference of therapeutic monoclonal immunoglobulins in the investigation of M-proteins », *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 52, n° 11, janv. 2014, doi: 10.1515/cclm-2013-0898.

[53] K. Gijbels, J. De Coster, et X. Bossuyt, « Interference by Gelatin-Based Plasma Substitutes in Capillary Zone Electrophoresis », *Clinical Chemistry*, vol. 50, n° 8, p. 1473-1475, août 2004, doi: 10.1373/clinchem.2004.033712.

[54] C. Gay-Bellile *et al.*, « Automated Multicapillary Electrophoresis for Analysis of Human Serum Proteins », *Clinical Chemistry*, vol. 49, n° 11, p. 1909-1915, nov. 2003, doi: 10.1373/clinchem.2003.017756.

[55] Raoul Karfo1,2,3,&, Elie Kabré2,4, Nadia Safir1,5, Mounya Bouabdellah1,5, Laila Benchekroun1,5, Jean Sakandé2,4, Layachi Chabraoui« PAMJ-30-130.pdf ».
Received: 23/08/2017 - Accepted: 15/05/2018 - Published: 14/06/2018

[56] UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA BOUKRIF Feriel , HADJOU Dallia « L'intérêt de l'électrophorèse des protéines sériques et de l'immunofixation dans le diagnostic du myélome multiple..pdf ». 2019/2020

[57] Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac JP, Gibaud C, Poulin G, Rivière H et al. Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. Ann Biol Clin. 2006; 64 (4): 367-803.

[58] Le Carrer D. Profils électrophorétiques ou profile protéiques? Intérêts respectives et limites d'utilisations. Rev Fr Lab. Novembre 1995; 279: 79-85.

[59] Pr Aleth Perdriger, sante.journaldesfemmes.p45.47. 08/06/2015

[60] Pr Gaël Saintenoy sante.journaldesfemmes .27/11/2020

Résumé :

L'électrophorèse des protéines sériques est une méthode d'analyse médicale utilisée pour exploration de nombreuses maladies. C'est un moyen indispensable pour le diagnostic. Sans oublier qu'il existe plusieurs substances internes et externes qui interfèrent avec le résultat de l'électrophorèse des protéines sériques.

L'objectif de ce travail est de trouver la fréquence et l'intérêt de l'électrophores des protéines sériques dans le domaine biologique.

Dans l'objectif de notre étude, nous avons étudié un échantillon de 2OO personnes dont 49 hommes et 151 femmes, et on a évalué par des tests statistiques les taux de différentes fractions de protéines sériques obtenues par électrophorèse.

Les résultats obtenu par cette étude a montré que il y'a des différentes anomalies détecte par l'électrophorèse et les plus fréquentées respectivement comme syndromes inflammatoire chroniques, syndromes inflammatoire aigue et hypogammaglobulinémie

Mots clefs : électrophorèse des protéines sériques (EPS), gel d'agarose. syndromes inflammatoire chroniques ,syndromes inflammatoire aigue , hypogammaglobulinémie

. Summary:

Serum protein electrophoresis is a medical analysis method used to investigate many diseases. It is an indispensable diagnostic tool. However, there are many internal and external substances that interfere with the results of serum protein electrophoresis.

The aim of this work is to find out the frequency and interest of serum protein electrophoresis in the biological field.

For this purpose, we studied a sample of 200 people, including 49 men and 151 women, and statistically tested the levels of different serum protein fractions obtained by electrophoresis.

The results of this study showed that there are different anomalies detected by electrophoresis, the most frequent being chronic inflammatory syndromes, acute inflammatory syndromes and hypogammaglobulinemia.

Key words: serum protein electrophoresis (SPE), agarose gel. chronic inflammatory syndromes, acute inflammatory syndromes, hypogammaglobulinemia

ملخص

الفصل الكهربي لبروتين الدم هو طريقة تحليل طبية تستخدم لاستكشاف العديد من الأمراض. إنها أداة أساسية للتشخيص. ناهيك عن وجود العديد من المواد الداخلية والخارجية التي تتداخل مع نتيجة الرحلان الكهربي لبروتين الدم

الهدف من هذا العمل هو العثور على تواتر وفوائد البروتينات الكهربية لبروتين المصل في المجال البيولوجي.

لغرض دراستنا ، درسنا عينة من2OO شخصًا من بينهم 49 رجلاً و 151 امرأة ، وقمنا بتقييم مستويات الكسور المختلفة من بروتينات المصل التي تم الحصول عليها عن طريق الرحلان الكهربي من خلال الاختبارات الإحصائية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة أن هناك حالات شاذة مختلفة تم الكشف عنها عن طريق الرحلان الكهربائي وأكثرها شيوعًا على التوالي مثل المتلازمات الالتهابية المزمنة والمتلازمات الالتهابية الحادة ونقص غاماغلوبولين الدم.

الكلمات المفتاحية: الرحلان الكهربائي لبروتين المصل (SPE) ، هلام الاغاروز. المتلازمات الالتهابية المزمنة ، المتلازمات الالتهابية الحادة ، نقص السكر في الدم