

### **III. Principes d'interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques**

#### **A. Artefacts**

L'électrophorèse des protéines sériques doit être réalisée selon un protocole strict afin d'obtenir des tracés interprétables et similaires. De nombreux facteurs peuvent conduire à des erreurs d'interprétation. Nous développerons ici les principaux pièges à éviter.

##### **1. Effet de l'hémolyse**

Une mauvaise technique de prélèvement ou la mauvaise conservation de l'échantillon sanguin destiné à l'électrophorèse des protéines peut conduire à une hémolyse de ce prélèvement. L'hémolyse est la destruction du globule rouge, permettant ainsi la libération d'hémoglobine libre dans le plasma à analyser.

Différentes études ont montré que l'hémoglobine migre avec les  $\beta$ -globulines (AMOG *et al.*, 1977 ; MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2002). De plus, la libération d'hémoglobine libre dans le plasma entraîne la formation de complexes haptoglobine-hémoglobine. Ceux-ci vont migrer avec les  $\alpha_2$ -globulines (AMOG *et al.*, 1977). Pour ces raisons, un sérum hémolysé ne devrait pas être utilisé pour une électrophorèse. Le cas échéant, lors de l'interprétation de l'électrophorèse, il faudra :

- sous-estimer les  $\alpha_2$ -globulines,
- sous-estimer les  $\beta$ -globulines.

## 2. Effet du fibrinogène

Par définition, l'électrophorèse des protéines sériques est réalisée sur du sérum et non sur du plasma. Le sérum ne diffère du plasma que par l'absence de fibrinogène, la présence de thrombine et de fibrinoglobuline (GARNIER, 2000). S'il n'est pas possible d'avoir du sérum, l'électrophorèse des protéines peut être réalisée sur du plasma. Cependant, il faut rappeler que le fibrinogène est une des protéines dont la concentration augmente dans les états inflammatoires (TRUMEL *et al.*, 1996) et que sa présence provoque des interférences sur le tracé électrophorétique (MEDAILLE, 1997).

Le fibrinogène migre entre les fractions  $\beta$ - et  $\gamma$ -globulines (MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2002). Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur du plasma, il faudra donc sous-estimer les  $\beta$ -globulines.

## 3. Effet de la lipémie

Lorsque l'animal n'est pas à jeun, il existe un risque d'obtenir un sérum lipémique. Les lipides produisent un pic au sein de la fraction des  $\alpha_2$ -globulines. Cela peut entraîner des erreurs d'interprétation, la présence d'un pic en  $\alpha_2$  étant retrouvée lors d'états inflammatoires (MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2002). Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur du sérum lipémique, il faudra donc sous-estimer les  $\alpha_2$ -globulines.

## 4. Effet de la bilirubinémie

Lors d'ictère, de pathologie hépatique, de malformation des voies biliaires ou de troubles excrétoires biliaires, la bilirubine peut être retrouvée de manière anormalement élevée dans le sang. Cette bilirubinémie modifie les résultats de l'électrophorèse.

La bilirubine interfère avec l'albumine, les  $\alpha$ -globulines et les  $\beta$ 2-globulines. Elle provoque une augmentation de l'albumine et des  $\alpha$ 1-globulines et une diminution des  $\alpha$ 2- et  $\beta$ 2-globulines (MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2002).

Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur du sérum bilirubinémique, il faudra donc :

- sous-estimer l'albumine,
- sous-estimer les  $\alpha$ 1-globulines,
- surestimer les  $\alpha$ 2-globulines,
- surestimer les  $\beta$ 2-globulines.

## 5. Effet des corticoïdes

Il arrive souvent au praticien de réaliser une électrophorèse des protéines sériques sur un animal ayant déjà reçu des traitements médicamenteux. Parmi ceux-ci, la corticothérapie est à prendre particulièrement en compte. En effet, elle va modifier sensiblement les résultats de l'électrophorèse.

La corticothérapie induit une augmentation de la concentration sanguine en haptoglobine. Ainsi les corticoïdes provoquent une augmentation des globulines de la fraction  $\alpha$ 2 (HARVEY et WEST, 1987). Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur le sérum d'un animal ayant été traité par des corticoïdes dans les 15 jours précédents, il faudra donc sous-estimer les  $\alpha$ 2-globulines.

## B. Interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques

Avant tout début d'interprétation, il est nécessaire de recueillir une bonne anamnèse du cas :

- concernant l'animal lui-même (espèce, âge, sexe, état physiologique),
- commémoratifs, traitements en cours, hypothèses diagnostiques,
- examen clinique lors du prélèvement (déshydratation...),

- mesure de la protidémie sérique.

Une fois ces renseignements pris, l'interprétation de l'électrophorèse se base sur l'observation du tracé, sur le rapport albumine / globulines puis sur l'étude des différentes fractions.

### 1. Rapport albumine/globulines normal

Lorsque que le rapport albumine/globulines est normal, le tracé est très souvent normal. En effet, cela signifie que les proportions entre les différentes fractions ont été conservées. La demande d'électrophorèse fait suite dans ce cas au résultat d'une valeur anormale de la protidémie. Le tableau 1 présente les causes possibles des dysprotéinémies avec un rapport albumine/globulines normal.

**Tableau 1** : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines normal.

<b>Protidémie</b>	<b>Etiologie</b>
Augmentée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Déshydratation</li> </ul>
Diminuée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hyperhydratation</li> <li>• Hémorragie</li> <li>• Fuite plasmatiques (brûlures, abrasions, lésions exsudatives, parasitisme, maladie gastro-intestinale)</li> </ul>

On remarque l'importance de l'examen clinique et la mise en évidence de la déshydratation de l'animal. Une mesure de l'hématocrite et des protéines totales permet d'identifier une anomalie de l'hydratation ou une hémorragie.

### 2. Rapport albumine/globulines bas

Ce cas est le plus couramment observé en clinique. Il a pour origine soit une diminution de l'albumine soit une augmentation des globulines. Le tableau 2 présente les causes possibles des dysprotéinémies avec un rapport albumine/globulines diminué.

**Tableau 2** : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines diminué.

<b>Origines</b>	<b>Causes</b>	<b>Etiologie</b>
Albumine diminuée	Pertes sélectives	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glomérulonéphrite</li> <li>• Syndrome néphrotique</li> <li>• Maladie gastro-intestinale</li> <li>• Parasitisme</li> </ul>
	Défaut de synthèse	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie chronique du foie</li> <li>• Malnutrition</li> <li>• Maladie inflammatoire chronique</li> </ul>
Globulines augmentées	$\alpha$ 1-globulines augmentées	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie inflammatoire aigüe</li> </ul>
	$\alpha$ 2-globulines augmentées	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie inflammatoire aigüe</li> <li>• Hépatite aigüe</li> <li>• Néphrite aigüe</li> <li>• Syndrome néphrotique</li> </ul>
	$\beta$ -globulines augmentées	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hépatite aigüe</li> <li>• Syndrome néphrotique</li> <li>• Dermatite suppurative</li> </ul>
	Pont $\beta$ - $\gamma$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hépatite chronique (cirrhose)</li> </ul>
	$\gamma$ -globulines augmentées avec un pic large (polyclonal)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie inflammatoire chronique</li> <li>• Infection</li> <li>• Hépatite chronique</li> <li>• Abscess hépatique</li> <li>• Maladie suppurative (dermatite, tuberculose)</li> <li>• Maladie auto-immune (anémie hémolytique, thrombocytopenie, anémie infectieuse équine, lupus érythémateux disséminé, polyarthrite, glomérulonéphrite)</li> <li>• Lymphosarcome</li> </ul>
	$\gamma$ -globulines augmentées avec un pic étroit (monoclonal)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphosarcome</li> <li>• Myélome multiple</li> <li>• Macroglobulinémie</li> <li>• Ehrlichiose</li> </ul>

### 3. Rapport albumine/globulines élevé

Ce cas est plus rare. Il a pour origine soit une augmentation de l'albumine soit une diminution des globulines. Le tableau 3 présente les causes les plus fréquentes des dysprotéinémies avec un rapport albumine/globulines augmenté.

**Tableau 3** : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines augmenté.

<b>Origines</b>	<b>Etiologie</b>
Globulines diminuées ( $\gamma$ -globulines diminuées)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nouveau-né avant la prise du colostrum</li><li>• Immunodéficience du poulain arabe</li><li>• Agammaglobulinémie acquise ou héréditaire</li></ul>

## **IV. Exemples de profils électrophorétiques pathologiques**

### **A. Le myélome multiple ou maladie de Kahler**

#### **1. Présentation**

Le myélome multiple, aussi appelé maladie de Kahler, est une prolifération plasmocytaire anormale associée à une sécrétion excessive d'une immunoglobuline anormale. Les principales formes d'immunoglobulines sécrétées sont les IgG et les IgA. Plus rarement on observe des sécrétions d'IgD ou d'IgM (LAUTZENHISER *et al.*, 2003). C'est une affection tumorale que l'on rencontre dans de nombreuses espèces animales (canine, féline, équine...).

Le myélome multiple se manifeste souvent chez l'animal par des symptômes non spécifiques. Ainsi on peut observer des troubles généraux (léthargie, perte de poids...), des troubles ostéo-articulaires (boiterie, douleur squelettique, fracture pathologique), des troubles digestifs (anorexie, vomissement, diarrhée...), des troubles urinaires (insuffisance rénale, protéinurie, polyuro-polydipsie...). On observe aussi parfois des troubles de la coagulation ou un syndrome d'hyperviscosité sanguine ayant pour conséquence des saignements (épistaxis, méléna, hémorragie rétinienne...) et des atteintes centrales du système nerveux (dépression...) (DAY *et al.*, 1987).

Une suspicion de myélome multiple entraîne l'exploration radiographique du squelette à la recherche de lésions spécifiques dites « géode en emporte-pièce » et la recherche de protéines de Bence-Jones (chaînes légères des immunoglobulines éliminées par voie urinaire) dans les urines. A l'examen cytologique, on note une infiltration plasmocytaire de la moelle osseuse ou de la rate (TRIPP *et al.*, 2009).

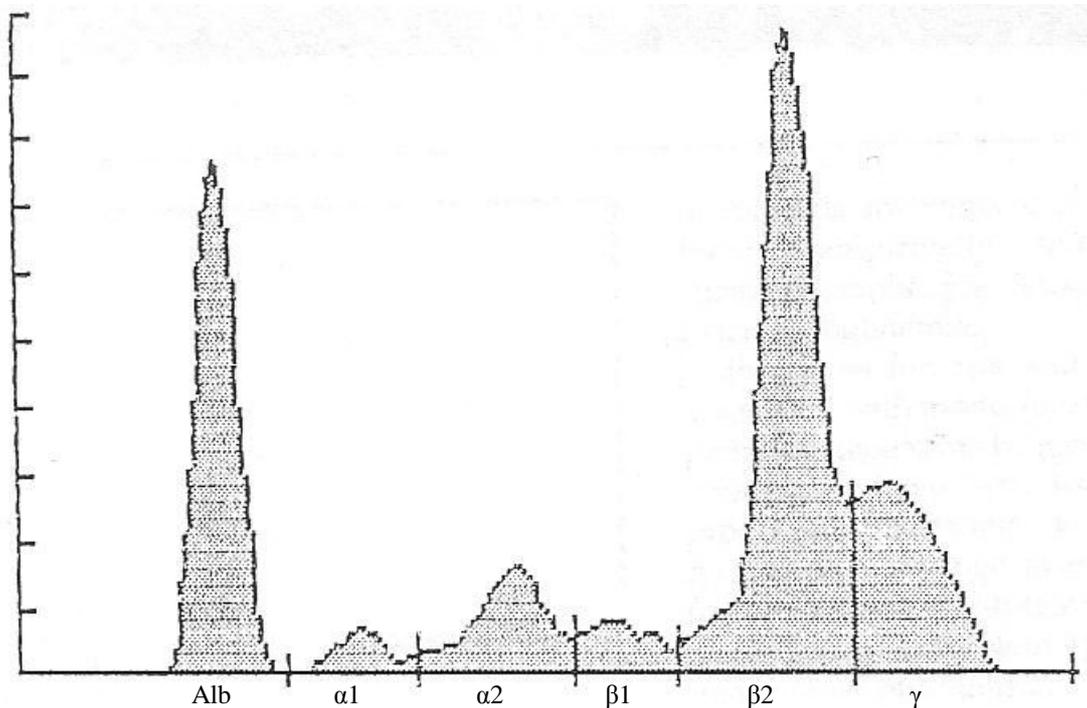
Outre l'infiltration plasmocytaire, le diagnostic du myélome multiple repose sur la mise en évidence d'une hyperparaprotéïnémie par électrophorèse des protéines sériques et l'identification de cette paraprotéine (IgG, IgA, IgD ou IgM) par immunoélectrophorèse.

## 2. Profil électrophorétique

Lors de myélome multiple, l'électrophorèse des protéines sériques est caractérisée par un rapport albumine/globulines diminué dû à une hyperglobulinémie et la présence d'un pic monoclonal (parfois biclonal) dans la région des  $\beta_2$ - ou des  $\gamma$ -globulines.

La figure 1 présente un tracé électrophorétique des protéines sériques chez un chat atteint d'un myélome multiple (LYON, 1994).

**Figure 1** : Electrophorèse des protéines sérique chez un chat atteint de myélome multiple (source : LYON, 1994).



On observe sur le tracé (figure 1) un pic étroit et plus élevé que celui de l'albumine dans la région des  $\beta_2$ -globulines. Ce pic est caractéristique d'une gammopathie monoclonale.

## B. La macroglobulinémie de Waldenström

### 1. Présentation

La macroglobulinémie de Waldenström est une prolifération lymphocytaire ou lymphoplasmocytaire anormale associée à une sécrétion excessive d'une immunoglobuline anormale. L'immunoglobuline sécrétée est l'IgM (HILL et CLATWORTHY, 1971). C'est une affection tumorale que l'on rencontre dans de nombreuses espèces animales (canine, féline, équine, etc.).

La macroglobulinémie de Waldenström se manifeste le plus souvent chez l'animal par des troubles généraux (dépression, anorexie, perte de poids), des troubles sanguins (saignements, hémorragie rétinienne, anémie), un syndrome d'hyperviscosité sanguine, une lymphadénopathie, une splénomégalie ou une hépatomégalie (MEJIA *et al.*, 1979).

A l'examen cytologique, on observe une infiltration lymphocytaire ou lymphoplasmocytaire de la moelle osseuse ou des organes hématopoïétiques.

Le diagnostic de la macroglobulinémie de Waldenström repose sur la mise en évidence d'un hyperparaprotéïnémie par électrophorèse des protéines sériques et l'identification de cette paraprotéine (IgM) par immunoélectrophorèse, associée à l'infiltration lymphocytaire ou lymphoplasmocytaire.

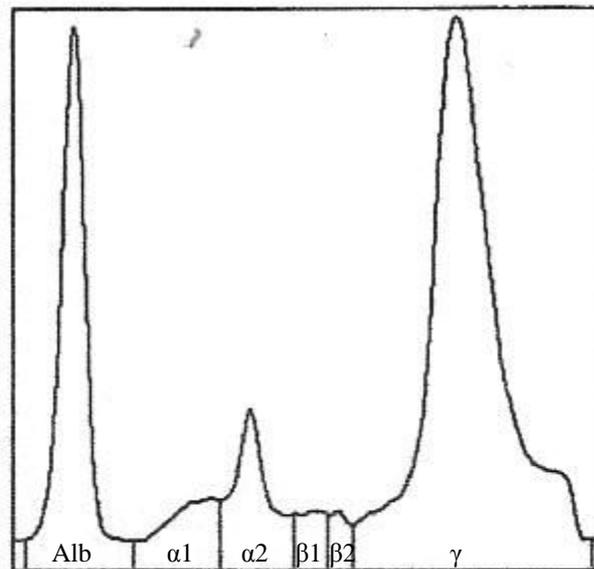
### 2. Profil électrophorétique

Lors de macroglobulinémie de Waldenström, l'électrophorèse des protéines sériques est caractérisée par un rapport albumine/globulines diminué dû à une hyperglobulinémie et la présence d'un pic monoclonal dans la région des  $\gamma$ -globulines.

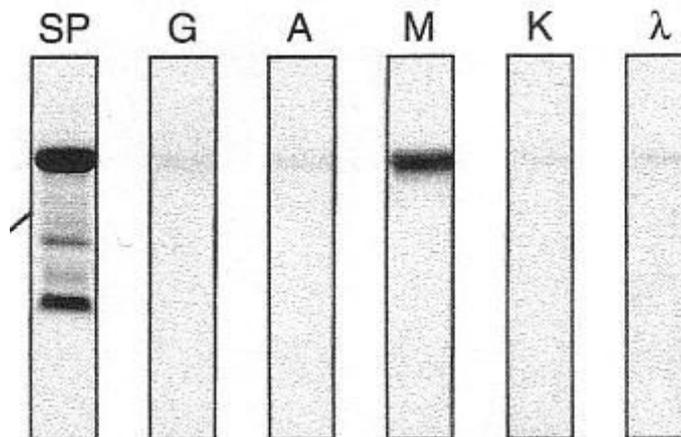
La figure 2 présente un tracé électrophorétique des protéines sériques chez un chien atteint d'une macroglobulinémie de Waldenström (GENTILINI *et al.*, 2005).

**Figure 2** : Electrophorèse des protéines sériques et immunoelectrophorèse chez un chien atteint de macroglobulinémie de Waldenström (source : GENTILINI *et al.*, 2005).

a) Profil électrophorétique : présence d'un pic monoclonal dans la région des  $\gamma$ -globulines.



b) Immunoelectrophorèse du sérum : identification des IgM dans le pic monoclonal.



On observe sur le tracé (Figure 2a) un pic étroit et aussi élevé que celui de l'albumine dans la région des  $\gamma$ -globulines. Cet aspect est caractéristique d'une gammapathie monoclonale. L'immunoelectrophorèse (Figure 2b) confirme le constituant principal de ce pic : des IgM.

## C. La péritonite infectieuse féline (PIF)

### 1. Présentation

La péritonite infectieuse féline est une infection virale due à un coronavirus chez le chat. Elle se présente sous deux formes : la forme sèche et la forme humide.

La forme humide est la plus courante et est caractérisée par une péritonite ou une pleurésie avec la présence d'un épanchement péritonéal ou pleural. Il s'agit d'un exsudat stérile visqueux et de couleur jaune. Il se caractérise par une densité élevée (1.017 à 1.047), un taux de protéines élevé (50 à 120 g/L) et une cellularité variable (1600 à 25000 et plus) (WEISS et SCOTT, 1980).

La forme sèche se présente sous la forme de granulomes ou pyogranulomes disséminés dans les viscères, les yeux et le système nerveux central.

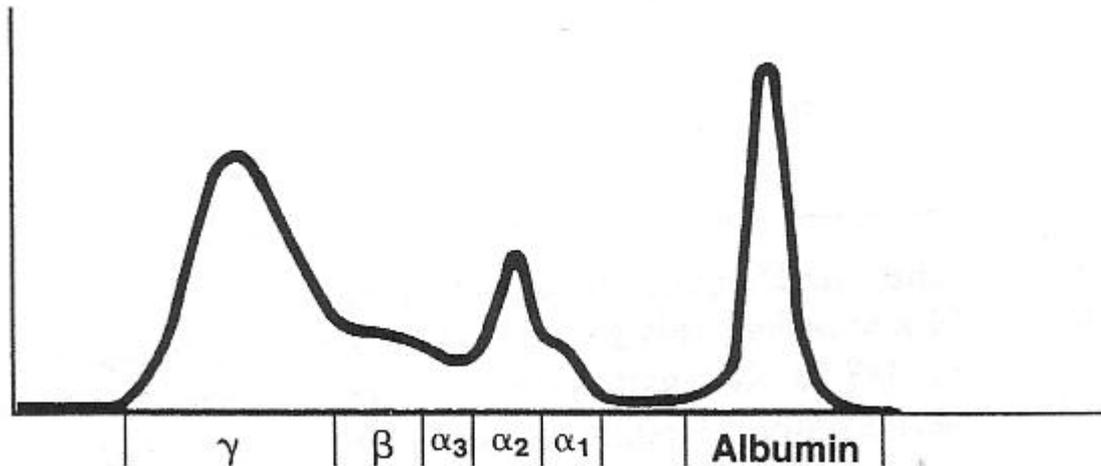
Le diagnostic de la PIF est difficile surtout sous sa forme sèche. En effet, il n'existe pas de test discriminant le coronavirus de la PIF des coronavirus intestinaux bénins. L'électrophorèse des protéines sériques peut aider le clinicien dans le cas d'une forme sèche (WEISS, 1991).

### 2. Profil électrophorétique

Dans le cas d'une PIF, le chat présente une hyperprotéïnémie par hyperglobulinémie et un rapport albumine/globulines diminué. On observe la présence d'un pic polyclonal dans la zone des  $\gamma$ -globulines.

La figure 3 présente le profil électrophorétique d'un chat atteint d'une PIF sous sa forme sèche (WEISS, 1991).

**Figure 3** : Electrophorèse des protéines sériques chez un chat atteint de la PIF sous sa forme sèche  
(source : WEISS, 1991).



Sur le tracé électrophorétique (figure 3), on observe un pic large dans la zone des  $\gamma$ -globulines qui a tendance à se confondre avec les  $\beta$ -globulines. Ce pic est caractéristique d'une gammapathie polyclonale.

## D. La leishmaniose

### 1. Présentation

La leishmaniose est une infection parasitaire des mammifères due à un protozoaire du genre *leishmania*. Elle se transmet à l'animal par l'intermédiaire d'un vecteur : le phlébotome. En France, on la rencontre dans la zone de vie de l'insecte qu'est le bassin méditerranéen. Le parasite se multiplie dans les macrophages de l'hôte vertébré.

La maladie se développe sous deux formes possibles : une forme viscérale et une forme cutanée. Dans ces deux formes on observe des symptômes généraux (amaigrissement, anémie, fièvre), une lymphadénomégalie locale ou générale, une boiterie. Dans la forme viscérale, on peut observer des troubles digestifs (diarrhée chronique du côlon avec méléna), une insuffisance rénale (glomérulonéphrite), une insuffisance hépatique. Dans la forme cutanée, on peut observer une

alopécie, une séborrhée sèche avec des lésions ulcéraives, une kératoconjonctivite bilatérale associée parfois à une uvéite (HEBERT, 2002).

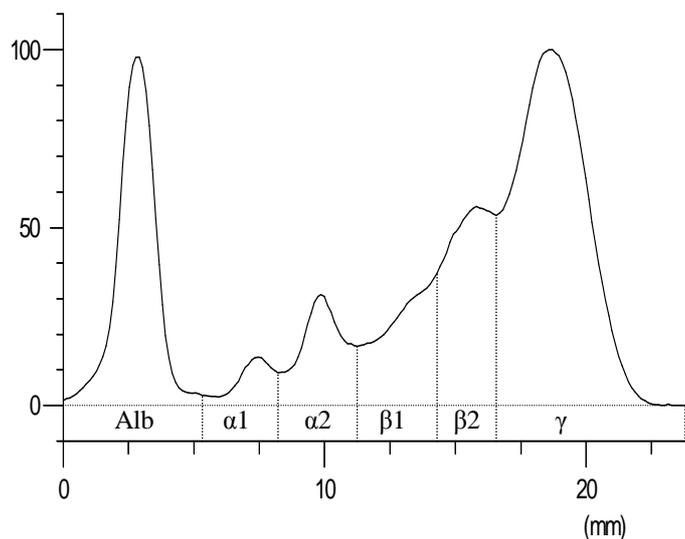
Le diagnostic se fait par la visualisation du parasite dans des ponctions de moelle osseuse, de nœud lymphatique ou de liquide synovial ou dans des biopsies de lésion cutanée, de rate ou de foie (MC CONKEY *et al.*, 2002). Des sérologies de type ELISA existent et doivent être interprétées en fonction des signes cliniques. L'électrophorèse des protéines sériques peut orienter le clinicien dans sa démarche diagnostique.

## 2. Profil électrophorétique

Lors de leishmaniose, l'animal présente une hyperprotéïnémie par hyperglobulinémie avec un rapport albumine/globulines diminué. On observe un pic polyclonal dans la zone des  $\gamma$ -globulines pouvant être associé à un bloc  $\beta$ - $\gamma$  (c'est-à-dire une union des fractions  $\beta$ - et  $\gamma$ -globulines).

La figure 4 présente le profil électrophorétique d'un chien atteint de leishmaniose.

**Figure 4 :** Electrophorèse des protéines sériques d'un chien atteint de leishmaniose.



Sur le tracé électrophorétique (figure 4), on observe un pic large dans la zone des  $\gamma$ -globulines pouvant être associé à un bloc  $\beta$ - $\gamma$ . Ce pic est caractéristique d'une gammapathie polyclonale.