

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CHNU	:	Centre Hospitalier National Universitaire
Da	:	Dalton
KDa	:	Kilo Daltons
pH	:	Potentiel hydrogène
pHi	:	pH isoélectrique
ADN	:	Acide désoxyribonucléique
ARN	:	Acide ribonucléique
ARN_m	:	ARN messager
ARN_t	:	ARN de transfert
T₄	:	Thyroxine
T₃	:	Triiodothyronine
TBG	:	Thyroxine binding globulin
LDL	:	Low density lipoproteins
CRP	:	Protéine C réactive
SBHG	:	Sex hormone-binding globulin
Ig	:	Immunoglobulines
IgG	:	Immunoglobuline de type G
IgA	:	Immunoglobuline de type A
IgM	:	Immunoglobuline de type M
IgD	:	Immunoglobuline de type D
IgE	:	Immunoglobuline de type E
m/z	:	Rapport masse sur charge
MGUS	:	Monoclonal gammopathy of undetermined significance

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des différentes structures des protéines.....	7
Figure 2 : Transcription de l'ADN en ARN _m	11
Figure 3 : Traduction de l'ARN _m en protéines.....	12
Figure 4 : Profil électrophorétique d'allure normale.	25
Figure 5 : Profil électrophorétique de l'inflammation aigue.	26
Figure 6 : Profil électrophorétique de l'inflammation chronique.....	26
Figure 7 : Profil électrophorétique du syndrome néphrotique.	27
Figure 8 : Profil électrophorétique montrant le bloc β-γ	28
Figure 9 : Profil électrophorétique de l'hypogammaglobulinémie.	28
Figure 10 : Profil électrophorétique d'un pic d'allure monoclonale.....	29
Figure 11 : Profil électrophorétique d'une hyper γ-globulinémie polyclonale.	30
Figure 12 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de traitement des prélèvements pour l'électrophorèse des protéines sériques.....	34
Figure 13 : Automate BA 400 [©] de Biosystèmes [©]	35
Figure 14 : Automate Hydrasis 2 Scan [©] de Sebia [©]	36
Figure 15 : Répartition des patients selon l'âge.....	39
Figure 16 : Répartition des patients selon le sexe.	40
Figure 17 : Répartition des patients suivant l'âge et le sexe.	40
Figure 18 : Répartition des patients selon les services prescripteurs de l'analyse....	41
Figure 19 : Répartition des patients selon le profil électrophorétique.	43

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Valeurs usuelles des différentes fractions des protéines sériques.	24
Tableau II : Caractéristiques épidémiologiques de la population.	38
Tableau III : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques chez la population étudiée.	44
Tableau IV : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques chez les patients avec un profil normal.	45
Tableau V : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques dans les profils objectivant un syndrome inflammatoire chronique et un syndrome néphrotique.	47
Tableau VI : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques dans les profils objectivant une réaction immunitaire et un pic monoclonal.	48

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	4
I. GENERALITES SUR LES PROTEINES.....	5
1. Définition	5
2. Structure	5
3. Propriétés physico-chimiques.....	8
3.1. Poids moléculaire	8
3.2. pH et charge	8
3.3. Solubilité	8
3.4. Mobilité.....	9
3.5. Stabilité	10
4. Métabolisme des protéines.....	10
4.1. Biosynthèse	10
4.2. Catabolisme.....	13
II. CLASSIFICATION DES PROTEINES SERIQUES.....	14
1. Albumine.....	14
2. α -Globulines	15
3. β -Globulines	15
4. γ -Globulines	16
III. METHODES D'ETUDE DES PROTEINES SERIQUES	17
1. Dosage des protéines totales	17
2. Séparation des protéines sériques par chromatographie	18
3. Électrophorèse des protéines sériques.....	19
4. Spectrométrie de masse.....	22
IV. VALEURS USUELLES DES PROTEINES SERIQUES	22
1. Protéines totales	23
2. Différentes fractions protéiques.....	23

V. PRINCIPAUX PROFILS ELECTROPHORETIQUES DES PROTEINES.....	25
1. Profil normal.....	25
2. Inflammation aiguë	25
3. Inflammation chronique	26
4. Syndrome néphrotique	27
5. Cirrhose hépatique « bloc bêta-gamma ».....	27
6. Hypogammaglobulinémie	28
7. Gammapathie monoclonale	29
8. Hypergammaglobulinémie polyclonale	30
DEUXIÈME PARTIE : TRAVAIL EXPÉRIMENTAL.....	31
I. MATERIELS ET MÉTHODES.....	32
1. Cadre d'étude.....	32
2. Type et période d'étude	32
3. Population d'étude.....	32
3.1. Critères d'inclusion.....	32
3.2. Critères de non inclusion	32
4. Paramètres étudiés	32
4.1. Paramètres socio-démographiques	32
4.2. Paramètres biologiques.....	33
5. Méthodes	33
5.1. Prélèvement.....	33
5.2 Dosage des protéines totales	34
5.3. Électrophorèse des protéines sériques.....	35
6. Exploitation statistique.....	37
II. RESULTATS	38
1. Caractéristiques générales de la population d'étude.....	38
2. Répartition des patients selon l'âge	38
3. Répartition des patients selon le sexe	39

4. Répartition des patients selon les services prescripteurs de l'analyse.....	41
5. Répartition des patients selon le type de profil électrophorétique	42
6. Résultats des protéines totales et des différentes fractions protéiques chez la population étudiée.....	44
7. Evaluation des protéines totales et des différentes fractions protéiques chez les patients avec un profil normal	45
8. Evaluation des protéines totales et des différentes fractions protéiques dans les différents types de profils pathologiques.....	46
III. DISCUSSION.....	49
CONCLUSION	50
RÉFÉRENCES	50

Rapport-Gratuit.com

INTRODUCTION

Parmi les grandes familles de molécules essentielles au vivant, on trouve les protéines. Les protéines sont un assemblage d'acides aminés, elles peuvent être simples ou conjuguées à d'autres éléments tels des métaux, des glucides ou des lipides. Ce sont les constituants les plus abondants du sérum, remplissant ainsi des fonctions essentielles à la survie. La diversité et l'importance de ces protéines laisse supposer que toute variation (synthèse, structure, concentration...) les touchant entraînera une variation de l'état physiopathologique [1].

Parmi les techniques d'exploration des protéines sériques au laboratoire de biologie médicale on trouve l'électrophorèse, qui est une technique physico-chimique qui permet de séparer et de quantifier les différents constituants d'un liquide. Ce phénomène est obtenu grâce à l'application d'un champ électrique.

Utilisée à des fins médicales chez l'homme depuis plus de 50 ans, l'électrophorèse des protéines sériques a bénéficié de toutes les améliorations acquises au fil des années. Initialement réalisées sur support de papier, puis sur acétate de cellulose, les électrophorèses sont maintenant couramment réalisées sur gel d'agarose, et en électrophorèse capillaire. Les principales indications de l'électrophorèse des protéines sériques sont :

- Un syndrome inflammatoire aigu ou chronique ;
- Une hypogammaglobulinémie ;
- Une gammapathie monoclonale ;
- Une cirrhose ;
- Un syndrome néphrotique ;
- Un déficit congénital ou acquis des immunoglobulines.

Ainsi l'objectif général de notre étude était d'analyser les différents profils électrophorétiques réalisés au niveau de notre laboratoire en routine.

Les objectifs spécifiques étaient :

- D'établir la répartition des patients selon l'âge et le sexe ;
- D'identifier les différents services prescripteurs de l'analyse ;
- De déterminer la fréquence de chaque type de profil électrophorétique ;
- D'évaluer les valeurs moyennes des protéines totales et des différentes fractions protéiques chez les patients avec un profil électrophorétique d'allure normale.

Pour cela, notre travail s'articule en deux parties :

- La première partie comporte les généralités sur les protéines et les différentes techniques utilisées pour les étudier, ainsi qu'une monographie sur l'électrophorèse des protéines sériques avec les différents profils rencontrés.
- La deuxième partie concerne notre travail expérimental où seront présentés la méthodologie utilisée, puis les résultats obtenus qui seront discutés pour en tirer une conclusion et proposer des recommandations.



PREMIÈRE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. GENERALITES SUR LES PROTEINES

1. Définition

Les protéines sont des macromolécules biologiques formées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques. Chacune de ces chaînes est constituée de l'enchaînement d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques [2].

Les protéines assurent une multitude de fonctions au sein de l'organisme parmi lesquelles :

- Maintien de l'intégrité structurel au sein du cytosquelette ou des tissus (actine, collagène...).
- Transport (albumine, canaux membranaires).
- Défense immunitaire (immunoglobulines).
- Transmission de signaux cellulaires (récepteurs membranaires).
- Hémostase (facteurs de coagulation).
- Enzymatique en catalysant les réactions chimiques de synthèse et de dégradation nécessaires au métabolisme de la cellule [3].

2. Structure

Une protéine est un polypeptide constitué d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques, mais en réalité, dans des conditions physico-chimiques données, cette protéine se replie et adopte une conformation tridimensionnelle compacte et spécifique [2, 4].

Pour décrire ces structures complexes, plusieurs niveaux ont été définis.

❖ Structure primaire

La structure primaire d'une protéine correspond à l'enchaînement des acides aminés liés par des liaisons peptidiques. Cette chaîne peptidique est de taille très variable allant de l'association de 30 à 30000 acides aminés [2-4].

❖ Structure secondaire

On appelle structure secondaire la chaîne peptidique présentant une structure périodique stable maintenue par des liaisons hydrogène entre des acides aminés non voisins.

En effet, du fait du grand nombre de liaisons hydrogène qui les constituent, ces structures sont plus stables et sont largement favorisées dans les structures protéiques.

Plusieurs types de structure secondaire ont été décrits, les plus retrouvés sont :

- **Hélice α** : formée par l'enroulement régulier du squelette peptidique de façon hélicoïdale avec 3,6 acides aminés par boucle, elle est stabilisée par des liaisons hydrogène entre des acides aminés relativement proches (séparés par 3 ou 4 acides aminés).
- **Feuillet β** : constitué de brins β reliés latéralement par au moins deux ou trois liaisons hydrogène entre des atomes du squelette carboné de la chaîne polypeptidique pour former un plan plissé (figure 1) [2-4].

❖ Structure tertiaire

La structure tertiaire correspond au repliement tridimensionnel de la protéine. Elle est stabilisée par tout un ensemble d'interactions faibles telles que des liaisons hydrogène ou des interactions de Van-der-Waals, des interactions hydrophobes, des interactions électrostatiques entre un groupement cationique et un groupement anionique des

chaînes latérales, ou encore par formation covalente de ponts disulfures entre deux groupements cystéines (figure 1) [2-4].

❖ Structure quaternaire

La structure quaternaire décrit le complexe résultant de l'assemblage de plusieurs protéines entre elles (appelées dans ce cas sous-unités protéiques), ou avec des lipides, des glucides ou des métaux (Fer, Cuivre, Zinc...) pour former un complexe protéique unique actif dans l'organisme.

Cette structure est stabilisée par des liaisons non-covalentes telles que des liaisons hydrogène, des liaisons ioniques, ou des interactions hydrophobes faibles entre les résidus présents à la surface des polypeptides constituant la molécule [2-4].

Comme exemple de structure quaternaire d'une protéine, nous avons l'hémoglobine, en effet, c'est une protéine constituée de 2 sous-unités α et 2 sous-unités β , ainsi que quatre molécules d'hème (Fer + noyau porphyrine) (figure 1).

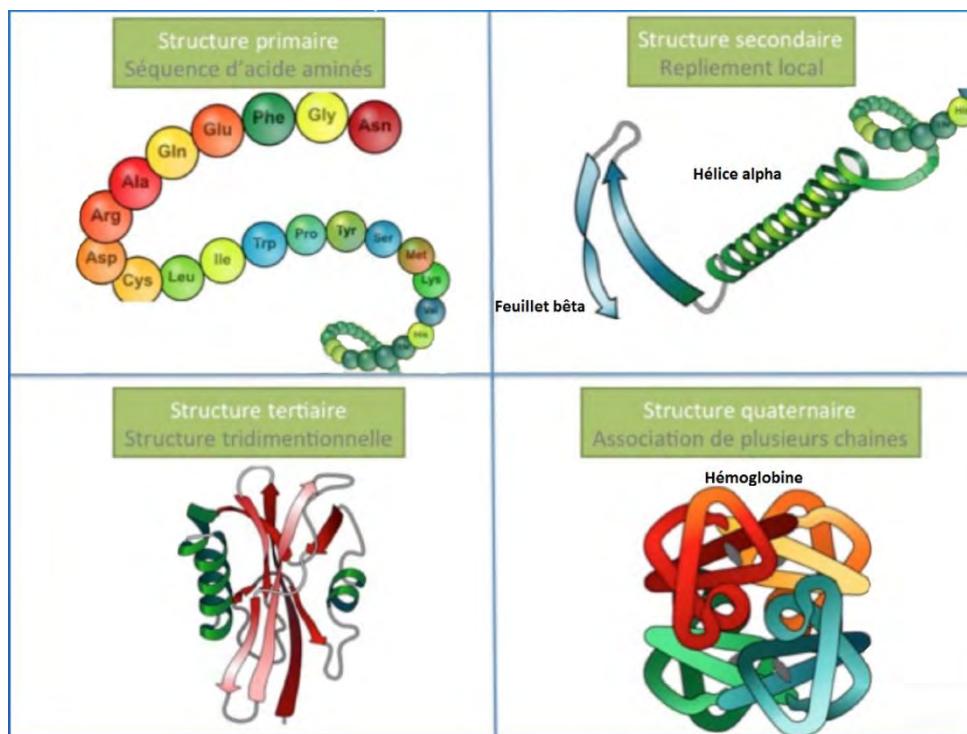


Figure 1 : Représentation schématique des différentes structures des protéines [3].

3. Propriétés physico-chimiques

3.1. Poids moléculaire

C'est une caractéristique fondamentale de chaque protéine, généralement exprimée en daltons (Da ou kDa). Le poids moléculaire des protéines est très variable pouvant aller de quelques milliers à 1 million voire plus [5].

3.2. pH et charge

Les protéines sont des molécules porteuses de charges au pH physiologique à cause des charges sur les groupements C et N terminaux et sur les groupements fonctionnels des carbones α des acides aminés polaires.

Cette charge varie avec le pH : en milieu acide, les protéines s'ionisent comme des bases et sont chargées positivement. En milieu alcalin, elles forment des anions ; ce sont des amphotères.

Il existe un point de pH pour lequel les charges + et - sont équivalentes, la charge nette étant donc nulle ; c'est le point isoélectrique, ou pH_i, de la protéine qui alors ne se déplace plus dans un champ électrique [3, 5].

3.3. Solubilité

La solubilité de la protéine est sa capacité à se dissoudre dans l'eau pour former un mélange homogène. Deux phénomènes peuvent influencer la solubilité des protéines en solution aqueuse.

❖ La charge

Si les protéines sont électriquement chargées de la même façon, elles auront tendance à se repousser, donc à ne pas s'agrégner. Au contraire, si elles sont électriquement neutres, cette répulsion disparaît, et l'agrégation devient possible.

On peut utiliser ce phénomène soit en jouant sur le pH de la solution ou sa concentration en électrolytes. Dans les deux cas, les protéines dans la solution ne précipiteront pas toutes en même temps puisque leurs points isoélectriques ne sont pas identiques [3, 5].

❖ La conformation

A leur état natif, les groupes latéraux des acides aminés composant la protéine leur permettent d'être solubles en milieu aqueux. En effet, les chaînes latérales chargées (glu, asp, lys, arg. etc.) forment des ponts hydrogène avec l'eau et sont souvent dirigées vers l'extérieur de la molécule maximisant leur contact avec le milieu aqueux, au contraire, les acides aminés possédant des chaînes latérales hydrophobes (phe, trp, tyr) sont généralement camouflés à l'intérieur de la molécule [6].

3.4. Mobilité

Les protéines soumises à un champ électrique se déplacent suivant leur charge et leur taille, cette mobilité permet de séparer les mélanges de protéines. En effet, quel que soit le point de départ de la protéine soumise à un champ électrique, elle se trouvera focalisée et concentrée à son pHi.

La mobilité des protéines dépend de plusieurs facteurs :

- Charge électrique nette, celle-ci dépend de la différence entre le pH du milieu et le pl de chacune des particules.
- Intensité du champ électrique.
- Température.
- Taille et géométrie de la molécule (forces de frottement).
- Viscosité du tampon [3-6].

3.5. Stabilité

Les protéines sont des molécules sensibles à leur environnement et peuvent être facilement dénaturées.

Une protéine est dénaturée lorsque sa conformation tridimensionnelle spécifique est changée sans atteinte de sa structure primaire. La dénaturation peut être réversible ou irréversible, et entraîne une perte totale ou partielle de l'activité biologique.

Les agents de dénaturation sont nombreux :

- Agents physiques : température, radiations, pH.
- Agents chimiques : solution d'urée qui forme de nouvelles liaisons hydrogène dans la protéine, solvants organiques, détergents [3-6].

4. Métabolisme des protéines

4.1. Biosynthèse

Les protéines plasmatiques sont synthétisées par le foie (sauf les immunoglobulines qui sont synthétisées par les plasmocytes), et leur synthèse se fait principalement par deux mécanismes biologiques : la transcription et la traduction [2].

❖ Transcription

La première étape de la synthèse des protéines est la transcription d'un gène de l'ADN en une molécule d'acide ribonucléique messager (ARN_m). L'étape se déroule à l'intérieur du noyau de la cellule.

Pour cela, la molécule d'ADN est partiellement déroulée et les deux brins sont séparés, puis les ribonucléotides qui vont former l'ARN_m sont assemblés en se servant du brin complémentaire comme matrice grâce à l'ARN polymérase. Derrière elle, les deux brins se rassemblent et l'ADN se réenroule (voir figure 2) [2].

Après la transcription, l'ARN n'est pas directement utilisable. Il doit subir une maturation. Les gènes ne sont pas des séquences d'ADN codantes continues du début

à la fin du gène, mais plutôt constituées de morceaux de séquences codantes (exons) séparées par des zones non codantes (introns). Pour obtenir une molécule d'ARN fonctionnelle, il faut donc tout d'abord enlever les introns et relier les exons les uns aux autres, cette phase s'appelle l'épissage [7].

L'ARNm est ensuite exporté du noyau via les pores nucléaires vers le cytoplasme où a lieu l'étape de traduction.

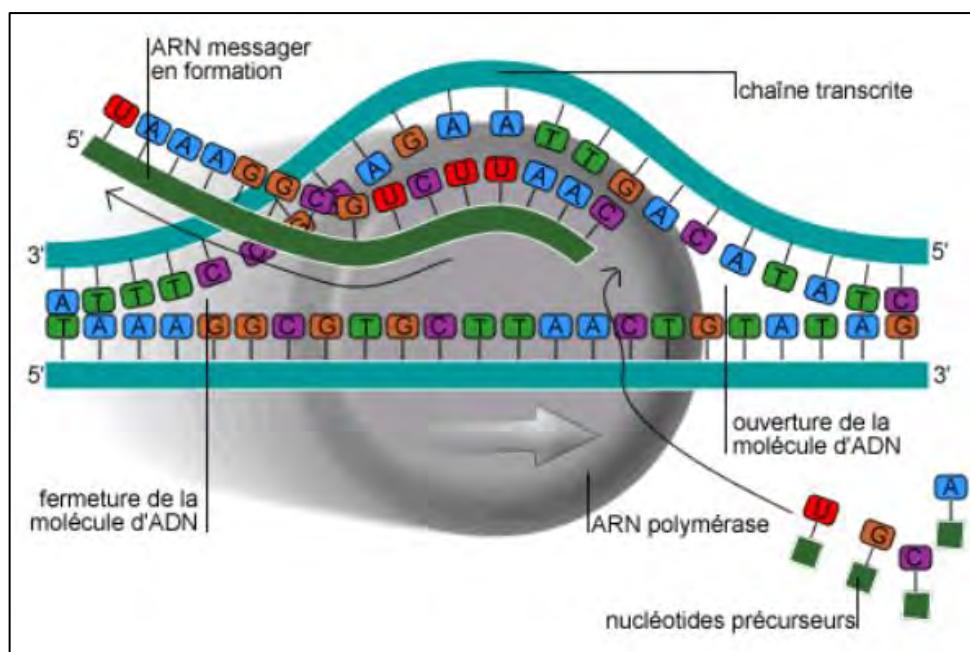


Figure 2 : Transcription de l'ADN en ARNm [11].

❖ Traduction

De façon très simplifiée, ce mécanisme s'appuie sur le code génétique qui, à chaque triplet de nucléotides de l'ARNm, nommé codon, fait correspondre un acide aminé à l'exception de trois d'entre eux qui sont nommés codons-stop et provoquent l'arrêt de la traduction. Le codon AUG, appelé codon-initiateur, permet, quant à lui d'amorcer la traduction en formant l'acide aminé méthionine, qui se détachera par la suite de la chaîne polypeptidique [2].

En premier lieu, l'ARNm se fixe à un ribosome qui parcourt ensuite le brin d'ARNm codon par codon et, par l'intermédiaire d'un ARN de transfert (ARN_t), ajoute, en fonction du codon lu et du code génétique, un acide aminé à la protéine en cours de fabrication. Une fois le codon-stop atteint, la synthèse s'arrête. La traduction est complète et le ribosome se détache (voir figure 3).

La nouvelle protéine va subir des modifications post traductionnelles qui déterminent sa fonction et sa localisation, parmi ces modifications on a :

- Acquisition des structures secondaires, tertiaires et quaternaires (par exemple, acquisition de ponts disulfures).
- Glycosylation.
- Coupures de pré-protéines pour arriver à la forme fonctionnelle.
- Modifications de certains acides aminés (méthylation de l'histidine, hydroxylation de la proline...).

Cette protéine est exportée vers d'autres tissus suivant alors la voie sécrétoire du réticulum endoplasmique puis de l'appareil de Golgi [2, 7].

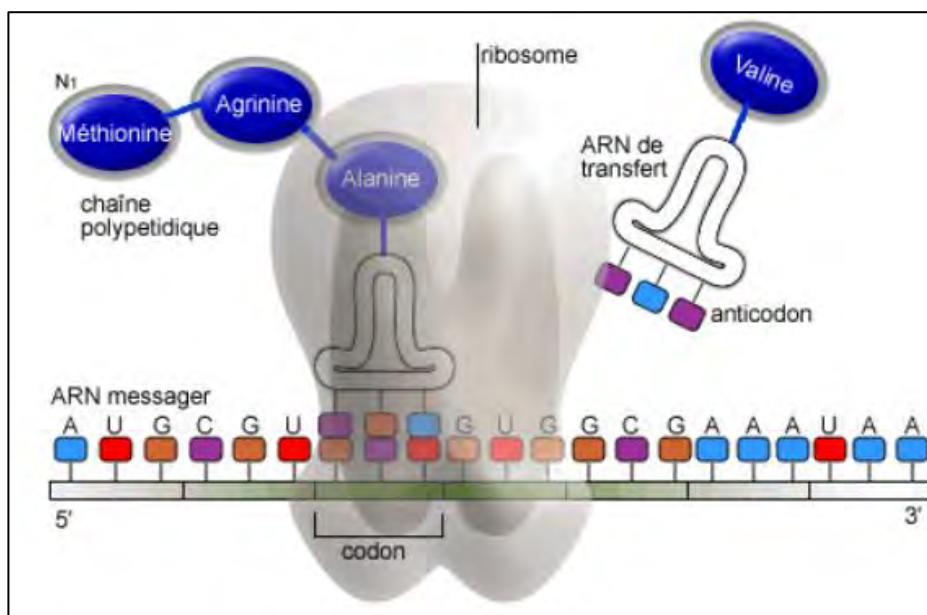


Figure 3 : Traduction de l'ARN_m en protéines [11].

4.2. Catabolisme

Comme toutes les molécules biologiques, les protéines ont une durée de vie limitée, et doivent être dégradées et remplacées. Cette dégradation est finement régulée par les circonstances nutritionnelles et hormonales [7].

Le catabolisme des protéines est réalisé par les organes à haute activité métabolique (rein, foie, rate, ganglions, muscles...) par des enzymes protéolytiques, les protéases (ou hydrolases) réparties en trois systèmes principaux :

- Système lysosomal :

Les enzymes concernées sont des protéases actives en milieu acide, les cathepsines. Ces enzymes sont localisées essentiellement à l'intérieur des vésicules lysosomales qui incorporent par endocytose les protéines à dégrader. À l'intérieur de la vésicule, les cathepsines vont dégrader la protéine en peptides et en acides aminés qui seront libérés dans le cytosol.

- Système calpaïne-calpastatine :

Les calpaïnes sont des protéases cytosoliques dont l'activité est étroitement fonction de la concentration intracellulaire en calcium. La calpastatine est un inhibiteur puissant des calpaïnes, l'activité protéolytique globale dépend de l'équilibre entre calpaïnes et calpastatine.

- Système protéasome :

Il s'agit d'un volumineux complexe enzymatique composé de nombreuses sous-unités. Préalablement à l'action du protéasome, un marquage de la protéine à dégrader par l'ubiquitine (petit peptide de 76 acides aminés) est nécessaire. Une fois la protéine poly-ubiquitinée, elle est reconnue par le protéasome qui la dégrade en acides aminés et en peptides [2, 7].

II. CLASSIFICATION DES PROTEINES SERIQUES

Les protéines sériques sont les protéines contenues dans le sérum ou plasma sanguin, parmi ces protéines, on distingue essentiellement l'albumine et les différents types de globulines (α , β et γ -globulines) [8].

1. Albumine

L'albumine est la protéine la plus abondante dans le plasma humain, elle est synthétisée par le foie, et représente environ 60 % des protéines totales. C'est une holoprotéine d'une seule chaîne peptidique de 564 acides aminés et une masse moléculaire de 69kDa [9].

C'est une protéine remarquablement stable avec une demi-vie biologique d'environ 20 jours, et un pH isoélectrique bas (pH = 4,8) ce qui explique sa vitesse de migration rapide à l'électrophorèse.

L'albumine est responsable de 80 % de la pression oncotique, et permet le contrôle des échanges hydriques entre le secteur vasculaire et le secteur interstitiel [10, 11].

L'albumine assure aussi le transport plasmatique de substances variées par une liaison solide mais non covalente. Parmi ces substances nous avons :

- Les ions (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} ...).
- La bilirubine libre.
- Les acides gras libres
- Les hormones (T_3 , T_4 ...).
- Les médicaments (pénicilline, l'aspirine, les barbituriques...).
- Les vitamines [1, 8].

2. α -Globulines

Les α -globulines sont un groupe de protéines globulaires dans le plasma, généralement de poids moléculaire d'environ 95 kDa, synthétisées au niveau du foie et qui sont très mobiles dans des solutions alcalines [11].

Les α -globulines sont divisées en deux sous-fractions :

❖ Les α_1 -globulines :

- **L' α_1 -antitrypsine et l' α_1 -antichymotrypsine** ont pour fonction d'inactiver les protéases, dont la trypsine et la chymotrypsine.
- **L'orosomucoïde ou α_1 -glycoprotéine** a un rôle d'immunorégulation.
- **La thyroxine binding globulin (TBG)** comme son nom l'indique, a pour fonction de se lier à la thyroxine et de la transporter.
- **L'antithrombine III** a pour fonction d'inhiber la thrombine.

❖ Les α_2 -globulines :

- **L' α_2 -macroglobuline** inactive les protéases et possède un rôle anti-inflammatoire.
- **L'haptoglobine** se lie à l'hémoglobine libre et permet ainsi son transport.
- **La transcortine** qui se lie et transporte le cortisol.
- **La céruleoplasmine** permet le transport du cuivre [9].

3. β -Globulines

Les β -globulines sont un groupe de protéines globulaires plasmatiques caractérisé par une mobilité inférieure à celles des α -globulines lors d'une électrophorèse.

Les β -globulines sont majoritairement synthétisées au niveau du foie, et regroupent des protéines nombreuses et variées qui sont divisées en deux sous-fractions :

❖ **Les β_1 -globulines :**

- **La transferrine ou sidérophilin** qui a pour fonction de lier et transporter le fer.
- **La Sex hormone-binding globulin ou SBHG**, globuline liant les hormones sexuelles androgènes et œstrogènes.
- **La β -lipoprotéine** aussi appelés LDL, ayant pour fonction le transport du cholestérol et des triglycérides.

❖ **Les β_2 -globulines :**

- **La protéine C réactive** ou CRP dont le rôle est d'activer le complément, protéine permettant le mieux de diagnostiquer l'inflammation aiguë.
- **La protéine C₃ du complément** permettant l'initiation de l'inflammation.
- **Le fibrinogène** précurseur de la fibrine, joue un rôle important dans la coagulation [9, 10].

4. γ -Globulines

Appelées aussi Immunoglobulines (Ig) ou anticorps, les γ -globulines sont des protéines de poids moléculaire de 156 kDa en moyenne, synthétisées par les plasmocytes et retrouvées dans le plasma et dans d'autres liquides biologiques.

Les γ -Globulines jouent un rôle majeur dans les processus de défense de l'organisme, en effet ce sont le support de l'immunité humorale [8].

On distingue cinq classes d'immunoglobulines, chacune possédant des propriétés biologiques propres :

- **IgM** sont les premiers anticorps synthétisés au cours de la réponse immunitaire.
- **IgG** sont produites lors d'un contact prolongé avec un antigène ou lors d'un second contact de l'organisme avec le même antigène. Elles jouent un rôle primordial dans la défense de l'organisme contre les maladies.

- **IgA** représentent la classe principale des anticorps présents dans la salive, les larmes, le lait, et les sécrétions muqueuses. Elles constituent donc la première ligne de défense locale contre les agents infectieux.
- **IgD** sont en concentration faible dans le sérum, ont la propriété d'apparaître à la surface des lymphocytes B en voie de différenciation.
- **IgE** sont présents à l'état de traces dans le sérum. Ils jouent un rôle bénéfique dans l'immunité antiparasitaire et un rôle dans certains types d'allergies (hypersensibilité) [9, 10].

III. METHODES D'ETUDE DES PROTEINES SERIQUES

1. Dosage des protéines totales

Les méthodes de dosage des protéines totales sont nombreuses et présentent chacune des caractéristiques différentes.

Parmi ces méthodes nous avons :

❖ Méthode du biuret

C'est une méthode de dosage colorimétrique, les liaisons peptidiques des protéines forment, en milieu alcalin, un complexe bleu-violet avec les ions Cu^{2+} (réactif de Gornall). La lecture se fait à une longueur d'onde maximale d'absorption de 540 nm et l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en protéines.

C'est une méthode simple, automatisable, reproductible, rapide et peu onéreuse, mais elle peut être influencée par divers solutés [3].

❖ Méthode de Folin-Lowry

C'est aussi une méthode de dosage des protéines dérivée de la méthode de biuret. En effet, la protéine réagit tout d'abord avec un réactif cuivreux alcalin (réactif de Gornall) puis un second réactif, dit phosphotungsto-molybdique (réactif de Folin-

Ciocalteu), est ajouté. Ce réactif permet la réduction des acides aminés conduisant à la formation d'un complexe coloré bleu foncé dont on mesurera l'absorbance entre 650 et 750 nm [12].

Cette technique bénéficie d'une meilleure sensibilité. Il est ainsi possible de réaliser des mesures dans des mélanges pauvres en protéines (LCR) ou dans des solutions relativement diluées. Les interférences dues aux détergents et aux lipides sont également supprimées [12].

❖ Méthode de Bradford (au bleu de Coomassie)

C'est une méthode basée sur le changement de la couleur du bleu de Coomassie, en milieu acide, après liaison (complexation) avec les acides aminés. La lecture se fait à une longueur d'onde maximale d'absorption de 595 nm, et le changement d'absorbance est proportionnel à la concentration en protéines dans l'échantillon.

C'est une méthode rapide, fiable, automatisable et moins sensible aux interférences. Cependant, elle est linéaire sur un intervalle étroit, ce qui rend nécessaire des dilutions préliminaires de l'échantillon avant analyse [3].

2. Séparation des protéines sériques par chromatographie

La chromatographie est une méthode physico-chimique de séparation des différentes substances présentes dans un mélange.

Elle est devenue un outil incontournable pour les analyses de protéines en raison de sa rapidité, son haut pouvoir de résolution et sa grande reproductibilité [13].

Les modes les plus fréquemment utilisés pour l'analyse de protéines sont :

❖ Chromatographie liquide haute performance

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie. Le débit d'écoulement de la

phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système [4].

Les pics obtenus (chromatogramme) sont étroits et bien séparés, ce qui témoigne d'une excellente résolution et d'un seuil de détection bas [3].

❖ Chromatographie d'échange d'ions

La chromatographie d'échange d'ions est une technique chromatographique qui permet de séparer les protéines de leurs produits de dégradation selon une différence de charges de surface. Le principe de séparation est basé sur des interactions électrostatiques entre les chaînes latérales des acides aminés et la phase stationnaire. Selon la charge nette de la protéine, on emploiera une colonne échangeuse d'anions ou de cations forts (colonne greffée avec des groupements SO_3^- ou NH_4^+ , respectivement) [4].

❖ Chromatographie d'exclusion stérique

Dans la chromatographie d'exclusion stérique, la séparation s'effectue selon la taille ou le volume hydrodynamique de la protéine et la taille ou la forme des pores de la phase stationnaire. Son principal avantage provient des conditions douces employées pour la phase mobile, ce qui permet de préserver au mieux la structure des protéines. La méthode présente une bonne résolution entre ces différentes espèces. Elle est très sensible avec des limites de détection inférieures à 32 ng/ml, et présente une excellente répétabilité [4].

3. Électrophorèse des protéines sériques

L'électrophorèse est une méthode de séparation de protéines, d'ADN et d'ARN, reposant sur les différences de charge électrique et de taille des molécules qui migrent dans un milieu soumis à un champ électrique.

La direction et la vitesse de migration des particules sont régies par le type de charge (négative ou positive) de la protéine, la taille de la protéine, l'intensité du champ électrique et le type de support sur lequel se réalise la migration [14].

À pH alcalin, la plupart des protéines sont chargées négativement et migrent de la cathode vers l'anode et vont se séparer en fractions selon leurs tailles respectives.

On obtient un tracé électrophorétique (électrophorégramme), la longueur et la hauteur de chacune des sections de cet électrophorégramme indiquent la proportion relative d'une protéine en particulier ou d'un groupe de protéines. Cette proportion peut être traduite en pourcentage puis, en la combinant avec la valeur de la concentration en protéines totales, il est possible de calculer les valeurs absolues de concentration de chaque protéine ou de chaque groupe de protéines [15, 16].

Il existe de nombreux types d'électrophorèse parmi lesquels :

❖ **Electrophorèse sur gel d'agarose**

Le principe consiste à soumettre un mélange de molécules à un champ électrique, pendant le test, un courant électrique déplace les protéines à travers une fine couche de gel d'agarose. La distance de déplacement de chacune des protéines dépend de sa taille, de sa forme et de sa charge électrique. Les protéines séparées peuvent être détectées par l'emploi d'un colorant qui se lie à toutes les protéines et révèle un profil caractéristique de bandes colorées. Chaque bande indique la présence d'une protéine particulière (ou d'un groupe de protéines ayant des caractéristiques proches), la largeur et l'intensité de la coloration de la bande donnent une indication sur sa quantité. Ce profil de bandes est converti en un graphique qui montre des pics verticaux très élevés où l'on trouve beaucoup de protéines, des pics plus petits où il y en a moins et des vallées où il y en a très peu. Chaque pic présente une position caractéristique de son contenu en protéines [17].

❖ Electrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire est une technique analytique d'introduction relativement récente, où la séparation repose sur les différences de mobilité électrophorétique existant entre les analytes à séparer dans le tampon à l'intérieur du capillaire. Le courant d'electroendosmose joue un rôle majeur ; il est significativement plus important que la mobilité électrophorétique des ions individuels renfermés dans l'échantillon, ce qui permet dans la même manipulation de séparer à la fois les anions et les cations. Les cations sont attirés vers la cathode et leur vitesse de migration est augmentée par le courant d'electroendosmose. Les anions, bien qu'attirés électrophorétiquement vers l'anode, sont également entraînés vers la cathode par le courant d'electroendosmose. Dans ces conditions, les cations, qui possèdent le rapport masse sur charge (m/z) le plus élevé, migrent les premiers, suivis par les cations avec un rapport plus faible, les composants neutres, et enfin les anions. Le courant d'electroendosmose est dépendant de la puissance du champ électrique, du pH de l'électrolyte, de la composition du tampon, de sa force ionique et de la viscosité de la surface du capillaire [17].

❖ Immunofixation

L'immunofixation est une technique d'immunoprécipitation, qui permet d'identifier des immunoglobulines monocloniales dans un mélange en fonction de leur mobilité électrophorétique. Pour permettre cette identification, on utilise des anticorps spécifiques à ces immunoglobulines, c'est-à-dire que lorsque l'on met en contact l'immunoglobuline soluble avec l'anticorps correspondant, il se produit un phénomène de précipitation, visible à l'œil nu ou avec un appareil.

Après séparation électrophorétique des constituants du sérum, et incubation en présence d'antisérum spécifiques, l'immunoglobuline, lorsqu'elle est présente, est

immunoprécipitée dans le gel. Après lavage et application d'un colorant on peut visualiser la réaction. Elle a l'avantage d'être rapide (délai de réponse en moins de trois heures), sensible, automatisable et facile à lire et à interpréter [18].

4. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse a connu un essor considérable dans le domaine de la biologie, c'est une méthode analytique qui permet de déterminer la masse moléculaire précise d'un composé chimique ou biologique en mesurant son rapport masse sur charge (m/z).

Les molécules à analyser sont dans un premier temps ionisé et amenées en phase gazeuse au niveau de la source. Les ions ainsi formés sont ensuite focalisés et transmis à l'analyseur où ils sont séparés en fonction de leur rapport m/z , qui leur confère un comportement différent au sein d'un champ électro-magnétique. Ils sont enfin collectés par le détecteur qui quantifie leur intensité et amplifie le signal. Ces dernières étapes se déroulent dans un vide poussé afin d'éviter toute collision entre les ions et les molécules de gaz. Après la détection, un système informatique effectue le traitement des données et génère un spectre de masse qui reflète la variation du courant ionique observé en fonction du rapport m/z et permet de déterminer la masse moléculaire des espèces ionisées [13].

IV. VALEURS USUELLES DES PROTEINES SERIQUES

L'interprétation du profil électrophorétique nécessite une connaissance du tracé électrophorétique normal et de la composition protéique de chacune des fractions qui le composent, ainsi que les processus physiopathologiques qui produisent des modifications qualitatives ou quantitatives de celles-ci.

1. Protéines totales

Le taux moyen des protéines sériques est de 60 à 80 g/L chez l'adulte sain. Pendant la grossesse, le taux de protéines totales diminue par hémodilution. A la naissance, les protéines totales ne dépassent pas 40 à 60 g/L. Par ailleurs, on observe des variations du taux avec l'âge, l'état nutritionnel et l'activité physique [8].

2. Différentes fractions protéiques

La composition et les valeurs chiffrées pour chacune des fractions des protéines sériques : le pourcentage par rapport aux protéines totales ainsi que la concentration (en g/L) sont donnés par le tableau I [11, 14].

Le ratio calculé de l'albumine rapportée aux globulines (le ratio A/G), dont les valeurs normales se situe entre 1 ,2 et 1,8 fournit une information importante pour savoir quelle catégorie de protéines est modifiée. Un ratio A/G abaissé (< 1 : albumine \downarrow et globulines \uparrow) suggère une production trop importante de globulines (par exemple en cas de myélome multiple ou de maladie auto-immune), une diminution de la production d'albumine (en cas d'insuffisance hépatocellulaire et de cirrhose). Un rapport A/G augmenté (>2 : globulines \downarrow) évoque une production insuffisante d'immunoglobulines, ce que l'on peut voir dans hypo ou agammaglobulinémie.

Tableau I : Valeurs usuelles des différentes fractions des protéines sériques [11].

FRACTIONS	PROTEINES	%	g/L
ALBUMINE	• Albumine	55 – 66	40,2 – 48
α_1-GLOBULINES	• α_1 -antitrypsine • Orosomucoïde • TBG	2,9 - 4,9	2,1 – 3,5
α_2-GLOBULINES	• α_2 -macroglobuline • Haptoglobine • Céruloplasmine	7,1 – 11,8	5,1 – 8,5
β_1-GLOBULINES	• Transferrine • SBHG	4,7 – 7,2	3,4 – 5,2
β_2-GLOBULINES	• CRP • Protéine C3	3,2 – 6,5	2,3 – 4,7
γ-GLOBULINES	• IgG, IgE • IgM, IgD • IgA	11,1 – 18,8	8,1 – 13,5

V. PRINCIPAUX PROFILS ELECTROPHORETIQUES DES PROTEINES

L'électrophorèse des protéines sériques explore des domaines physiopathologiques variés. Nous aborderons les principaux profils rencontrés lors d'interprétation en routine.

1. Profil normal

Un profil électrophorétique normal est caractérisé par des pourcentages et des concentrations dans la limite des valeurs usuelles pour les différentes fractions de protéines sériques (figure 4).

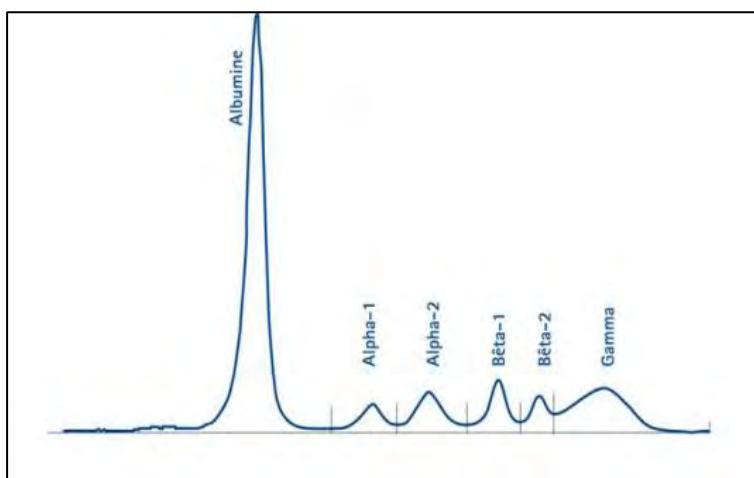


Figure 4 : Profil électrophorétique d'allure normale [8].

2. Inflammation aiguë

La réaction inflammatoire aiguë est caractérisée par la synthèse hépatique de protéines de l'inflammation. Ce sont l' α_1 -antitrypsine et l' α_1 -antichymotrypsine qui sont des α_1 -globulines, l'haptoglobine et la céroloplasmine qui sont des α_2 -globulines, la CRP et le fibrinogène qui sont des β -globulines.

Le profil inflammatoire aiguë met en évidence une diminution de l'albumine, avec une augmentation des 2 fractions protéiques α_1 -globulines et α_2 -globulines (voir figure 5) [8, 19].

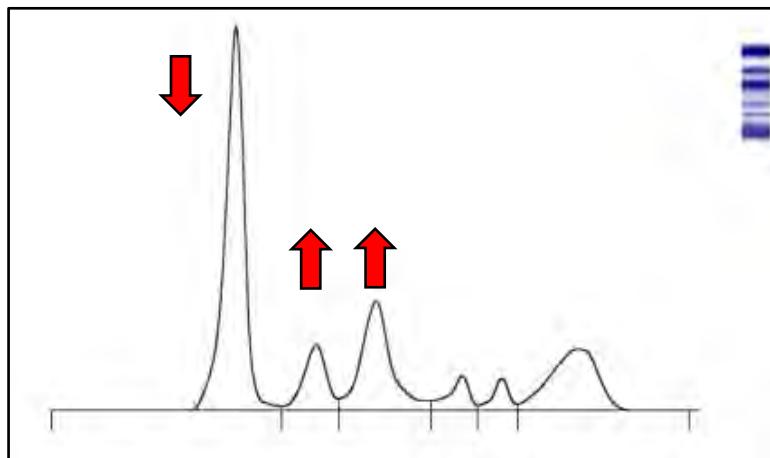


Figure 5 : Profil électrophorétique de l'inflammation aigue [8].

3. Inflammation chronique

L'inflammation chronique donne lieu à une diminution de l'albumine, une augmentation des α_1 - et α_2 -globulines liées à l'inflammation, et une hypergammaglobulinémie polyclonale liée à l'augmentation du taux d'immunoglobulines témoignant de la chronicité de la maladie inflammatoire (voir figure 6) [8, 19].

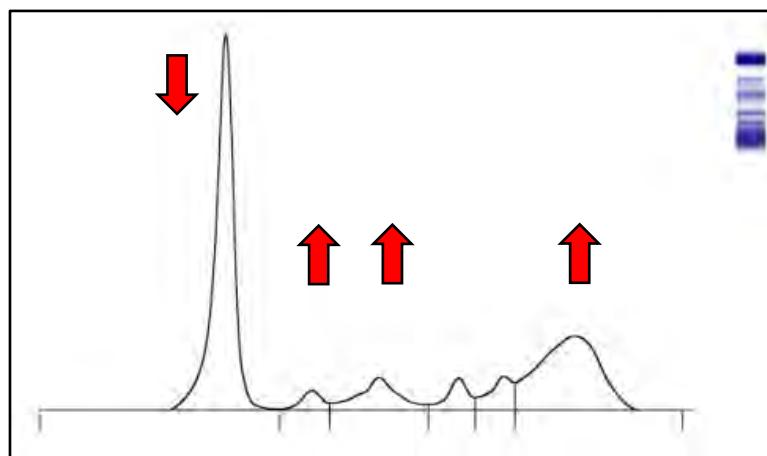


Figure 6 : Profil électrophorétique de l'inflammation chronique [8].

4. Syndrome néphrotique

Se caractérise par la diminution de certaines fractions par fuite glomérulaire des protéines de petite taille (préalbumine, albumine, α_1 -antitrypsine, orosomucoïde, transferrine, IgG...), et l'augmentation de la synthèse hépatique de macroprotéine (PM >100 kDa) pour limiter la diminution de la pression oncotique et la formation d'œdème. Ceci se traduit par une augmentation des α_2 -globulines liée à l'augmentation de la synthèse de l' α_2 -macroglobuline et des β -lipoprotéines (LDL), associée à une hypoprotidémie sévère due à la fuite rénale et à une protéinurie massive (figure 7) [8, 19].

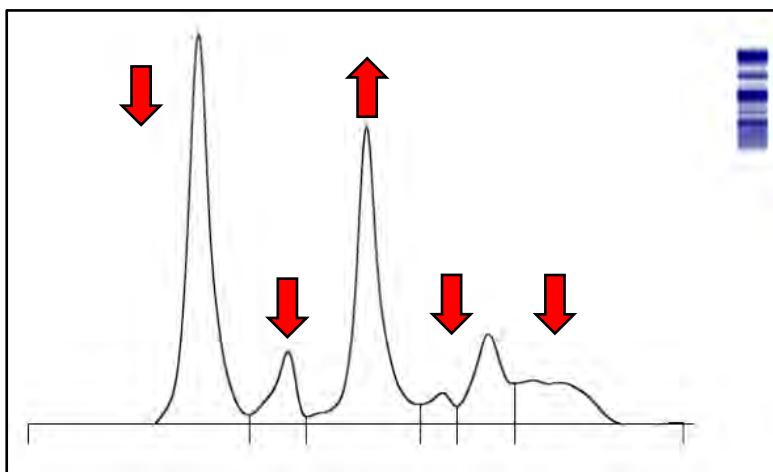


Figure 7 : Profil électrophorétique du syndrome néphrotique [8].

5. Cirrhose hépatique « bloc bêta-gamma »

Le profil électrophorétique montre une diminution de l'albumine, des α_1 et α_2 - globulines (due à une insuffisance hépatocellulaire), associée une fusion de la fraction β et γ (bloc bêta-gamma) avec un aspect en « dos de chameau », lié à l'augmentation de la synthèse des IgA et des IgM, qui dépasse celle des IgG et qui se positionne à l'électrophorèse dans la zone entre β et γ -globulines (voir figure 8). Par ailleurs on note un ratio A/G abaissée ($A/G < 1$) [8, 19].

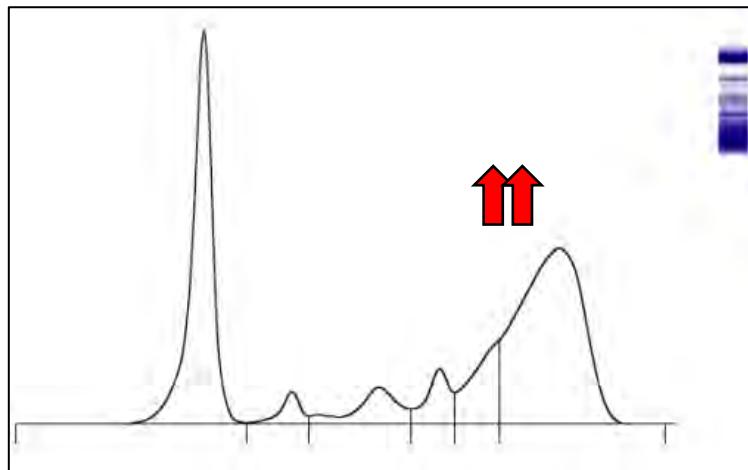


Figure 8 : Profil électrophorétique montrant le bloc β - γ [8].

6. Hypogammaglobulinémie

L'hypogammaglobulinémie est liée à une diminution congénitale ou acquise de la production des immunoglobulines, qui est causée soit par un déficit immunitaire soit par un syndrome lymphoprolifératif ou une immunosuppression acquise (figure 9) [8, 19].

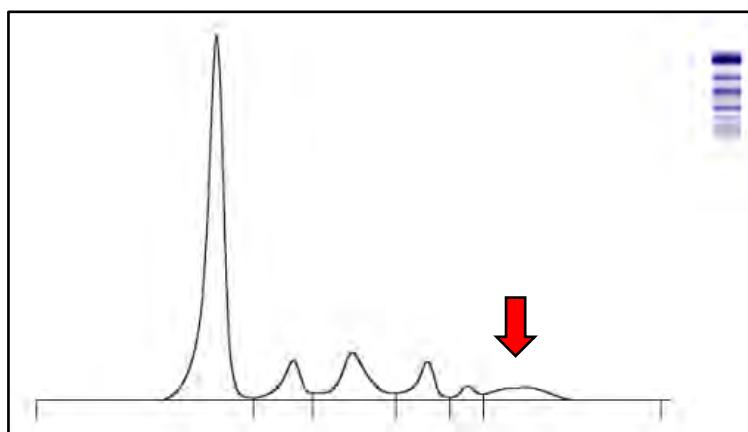


Figure 9 : Profil électrophorétique de l'hypogammaglobulinémie [8].

7. Gammapathie monoclonale

On évoque une gammapathie monoclonale devant un pic étroit homogène (une seule Ig) le plus souvent dans la zone des γ -globulines (voir figure 10). Comme pathologie liée à l'augmentation monoclonale des Ig, on peut citer : myélome multiple des os ou maladie de Kahler, la maladie de Waldenström, les leucémies lymphoïdes chroniques, les lymphomes et des gammapathies monoclonales de signification indéterminée ou (MGUS).

Lorsque le profil d'une gammapathie monoclonale est détecté, il est nécessaire de confirmer la présence d'une protéine monoclonale et de déterminer sa nature en identifiant le type de chaînes lourdes et légères qui la composent par une immunofixation [8, 19].

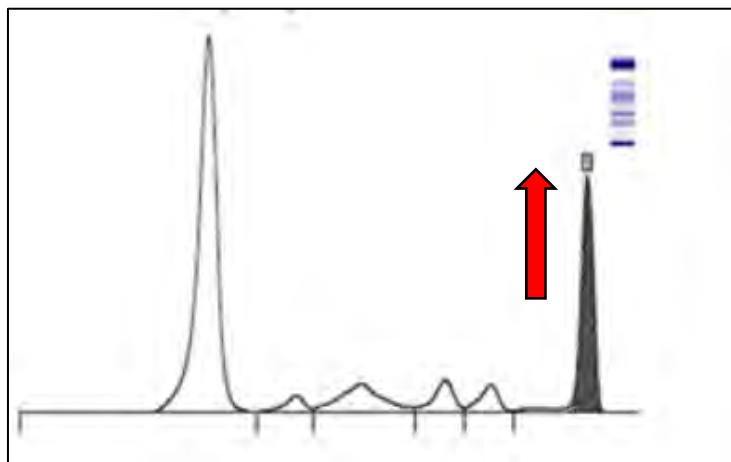


Figure 10 : Profil électrophorétique d'un pic d'allure monoclonale [8].

8. Hypergammaglobulinémie polyclonale

Les gammapathies polyclonales sont rencontrées au cours des maladies auto-immunes, des pathologies hépatiques, des infections virales, parasitaires et bactériennes ainsi que dans des maladies systémiques (figure 11) [8, 19].

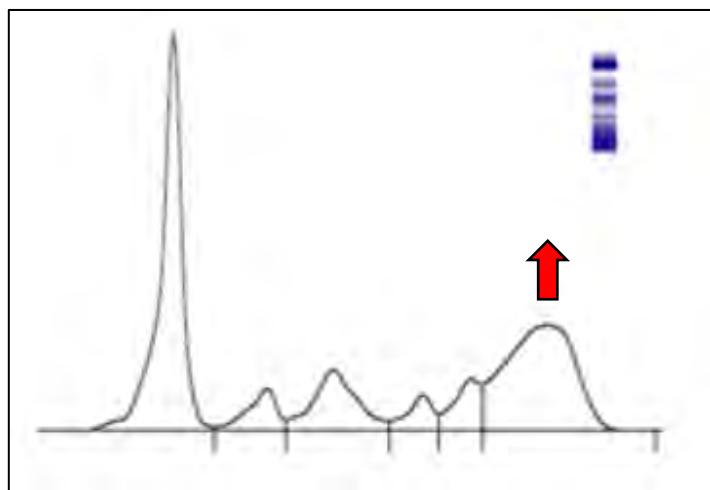


Figure 11 : Profil électrophorétique d'une hyper γ -globulinémie polyclonale [8].

DEUXIÈME PARTIE : TRAVAIL EXPÉRIMENTAL

I. MATERIELS ET MÉTHODES

1. Cadre d'étude

Nous avons mené une étude portant sur des échantillons sériques de patients adressés au Laboratoire de Biochimie du CHUN de Fann pour une électrophorèse de protéines sériques réalisée dans le cadre de la routine.

2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective transversale et analytique couvrant la période du 05 Janvier 2018 au 16 Octobre 2020.

3. Population d'étude

3.1. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude tous les patients qui étaient venus au Laboratoire de Biochimie du CHUN de Fann durant cette période pour une électrophorèse des protéines sériques et dont l'analyse a été faite sur Hydrasys 2 Scan[®].

3.2. Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus les données inexploitables, les patients dont les renseignements (sexe, âge...) sont absents ou incomplets.

4. Paramètres étudiés

Deux types de paramètres ont été étudiés : socio-démographiques et biologiques.

4.1. Paramètres socio-démographiques

Les données recueillies étaient analysées en fonction de l'âge, du sexe et du service prescripteur de l'analyse.

4.2. Paramètres biologiques

Les paramètres biologiques étudiés pour chaque patient étaient le dosage des protéines totales et l'électrophorèse des protéines sériques.

5. Méthodes

5.1. Prélèvement

Le prélèvement sanguin destiné à la réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques était recueilli sur tube sec, à jeûn, par ponction veineuse au pli du coude. Les échantillons étaient acheminés au Laboratoire de Biochimie de Fann où ils étaient centrifugés à 4000 tours/min pendant 5 min, puis le sérum était séparé du culot de globules rouges.

L'aspect de chaque échantillon était noté et les échantillons hémolysés, opalescents et lactescents étaient exclus.

L'analyse était immédiatement réalisée et au cas échéant les sérums étaient conservés au réfrigérateur à + 4°C sans dépasser une semaine, ou conservés à - 20°C jusqu'à utilisation (voir figure 12).

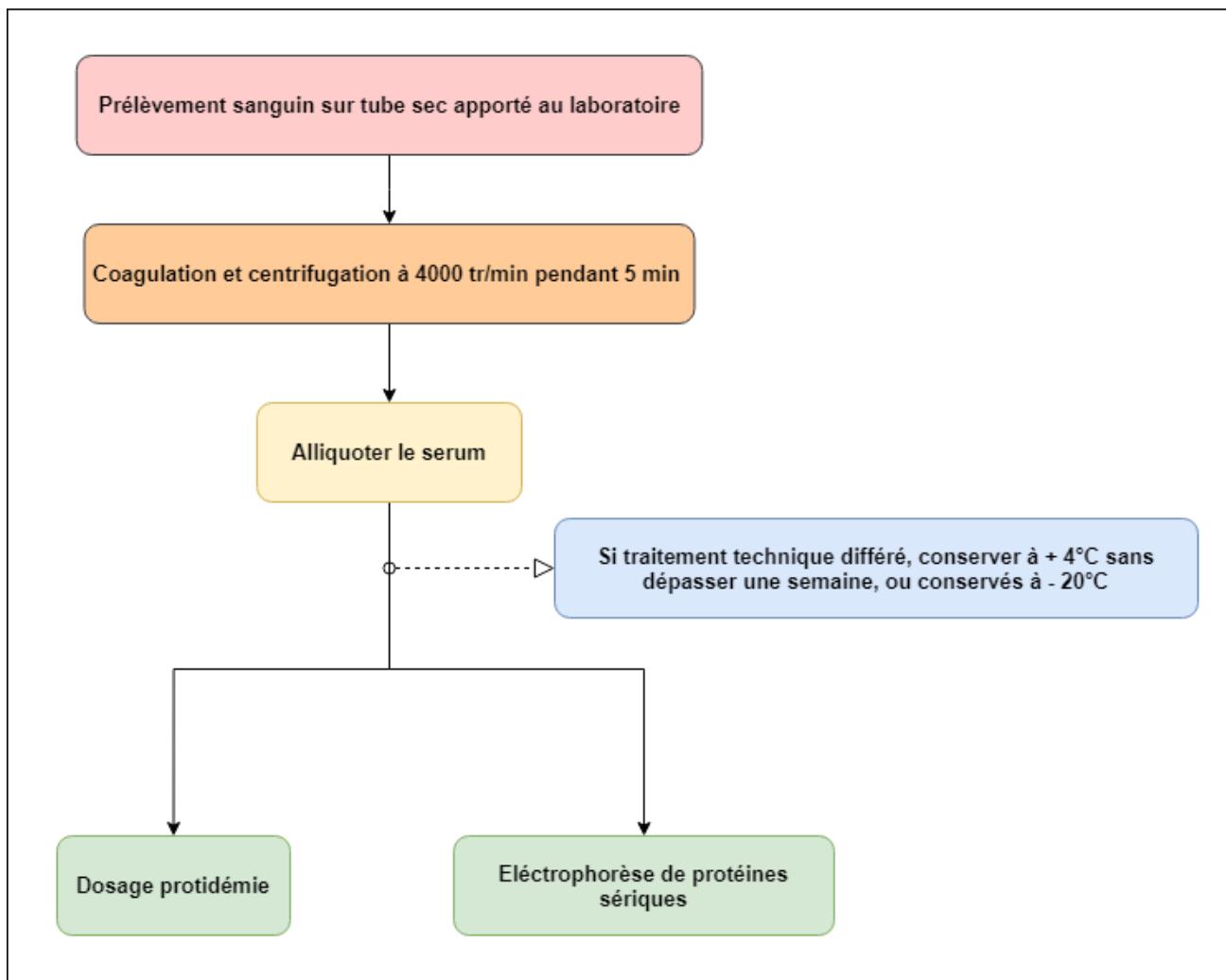


Figure 12 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de traitement des prélevements pour l'électrophorèse des protéines sériques.

5.2 Dosage des protéines totales

Pour l'interprétation des résultats de l'électrophorèse, nous avons dosé les protéines totales de chaque prélèvement. Cela nous permettra d'exprimer chaque fraction en gramme par litre (g/L).

❖ Appareillage

Le taux de protéines totales a été déterminé par la méthode de Biuret sur l'automate BA 400[©] (Biosystèmes[©] Barcelone, Espagne) (figure 13).



Figure 13 : Automate BA 400[©] de Biosystèmes[©] [24].

❖ Principe

Le principe repose sur la réaction de Biuret : Les protéines dans l'échantillon réagissent avec les ions Cuivre en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à 535 nm. L'intensité de la coloration du complexe Cuivre-protéines est proportionnelle à la concentration en protéines [3].

5.3. Électrophorèse des protéines sériques

❖ Appareillage

L'électrophorèse des protéines sériques est réalisée sur gel d'agarose par l'automate Hydrasis 2 Scan[©] de (Sebia[©] Cedex, France).

Hydrasis 2 Scan[©] se compose de trois modules : module d'application et de migration, module de coloration, et module de lecture, en plus d'un écran LCD pour le choix du programme (figure 14).

- Module d'application/migration :

Il intègre un espace dédié au gel d'agarose (HYDRAGEL 7 PROTEIN(E), ou HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30) en plus de l'emplacement réservé à l'applicateur nécessaire au dépôt des échantillons biologiques et de Contrôle qualité.

- Module de coloration :

Il est le lieu de la réalisation de la coloration des protéines séparées par une solution d'amidoschwarz, de la décoloration en milieu acide pour éliminer l'excès du colorant et du séchage.

- Module de lecture :

Ce compartiment est propre à la quantification des fractions protéiques séparées par densitométrie à 570 nm. Le gel scanné est transformé en une courbe ou profil (électrophorégramme) consultable sur le logiciel Phoresis[©].

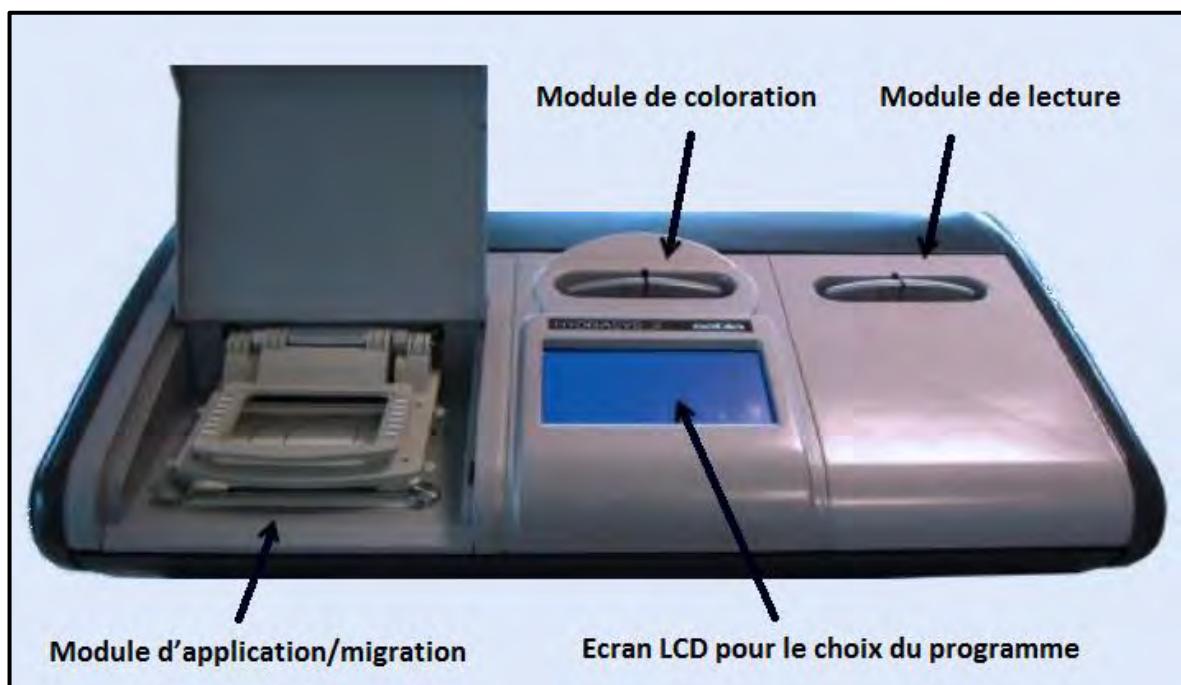


Figure 14 : Automate Hydrasis 2 Scan[©] de Sebia[©] [25].

❖ Principe

L'électrophorèse sur gel d'agarose (Hydrasys®) est une technique semi-automatisée permettant la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (pH = 9,2) sur un gel. Les protéines sont séparées en cinq fractions : albumine, α_1 - et α_2 -globulines, β -globulines et γ -globulines. Ces protéines séparées sont colorées par une solution d'amidoschwarz et l'excès de colorant est éliminé en milieu acide.

La densitométrie (à 570 nm) donne une quantification relative précise de chaque zone individualisée.

6. Exploitation statistique

Les données ont été exportées à partir du logiciel Phoresis® puis exploitées par Microsoft® Excel® 2016.

II. RESULTATS

1. Caractéristiques générales de la population d'étude

Ont été inclus dans notre étude 1098 patients reçus au niveau du Laboratoire de Biochimie du CHUN de Fann de Dakar. L'âge moyen de cette population était de $51,7 \pm 22,25$ ans avec un sex-ratio (H/F) de 0,68 (tableau II).

Tableau II : Caractéristiques épidémiologiques de la population.

Inclus	1098
Age Moyen (Ans)	$51,7 \text{ ans} \pm 22,25$
Sex-Ratio (H/F)	0,68

2. Répartition des patients selon l'âge

L'âge moyen des patients était de $51,7 \pm 22,25$ ans, avec des extrêmes de 1 an et 100 ans (figure 14). Il ressort de notre étude que la tranche d'âge la plus représentée était celle comprise entre 61 et 80 ans, soit 34 % de notre population. Les autres tranches d'âges étaient réparties comme suit 13 % d'individus âgés entre 1 et 20 ans, 21 % âgés entre 21 et 40 ans, 22 % âgés entre 41 et 60 ans et 11 % âgés entre 81 et 100 ans (figure 15).

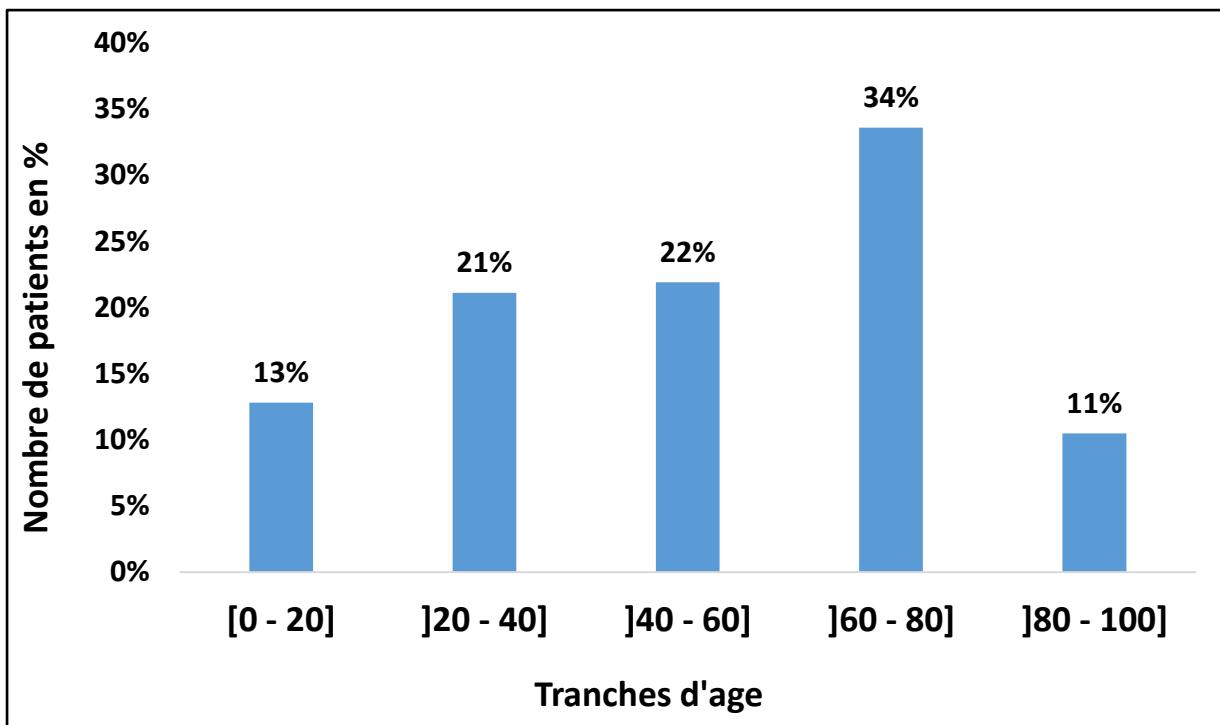


Figure 15 : Répartition des patients selon l'âge.

3. Répartition des patients selon le sexe

La série étudiée comprenait 448 patients de sexe masculin et 650 de sexe féminin, soit respectivement 41% et 59%. Le sex-ratio H/F était de 0,68 montrant ainsi une prédominance féminine (voir figure 16 et 17).

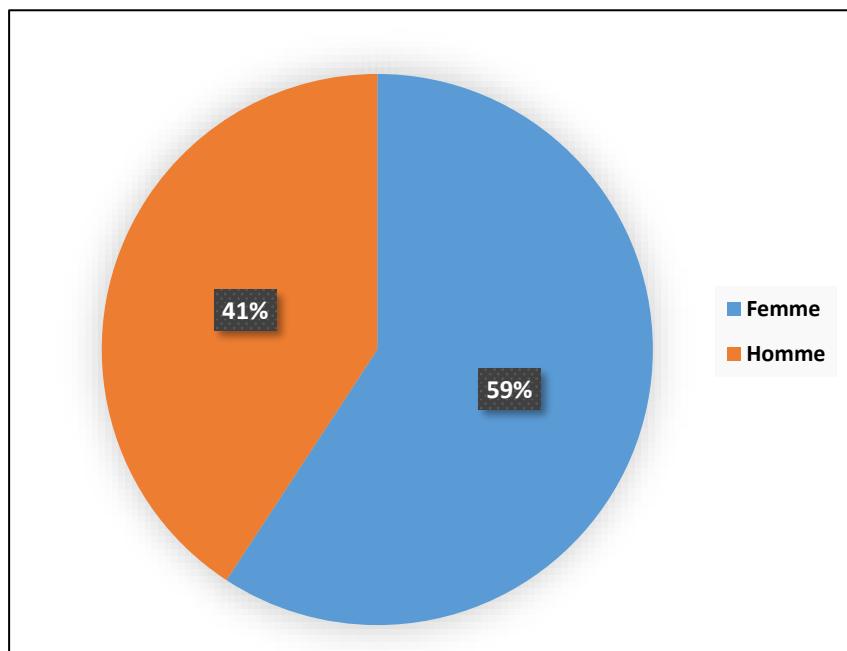


Figure 16 : Répartition des patients selon le sexe.

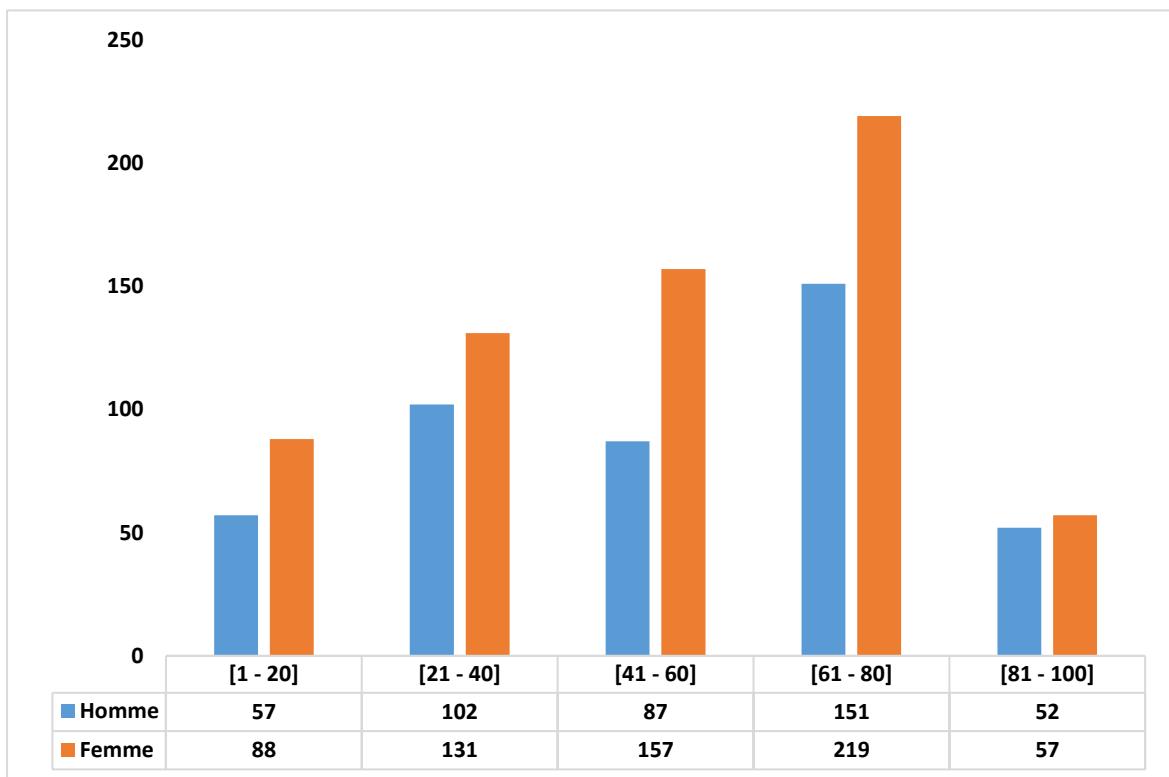


Figure 17 : Répartition des patients suivant l'âge et le sexe.

4. Répartition des patients selon les services prescripteurs de l'analyse

La majorité des patients étaient des malades consultant à titre externe (61 %). Pour les patients internes, le service neurologie représentait 8 %, le reste des patients de notre population étaient distribués entre les autres services du CHNU de Fann avec des pourcentages ≤ 4 % chacun (figure 18).

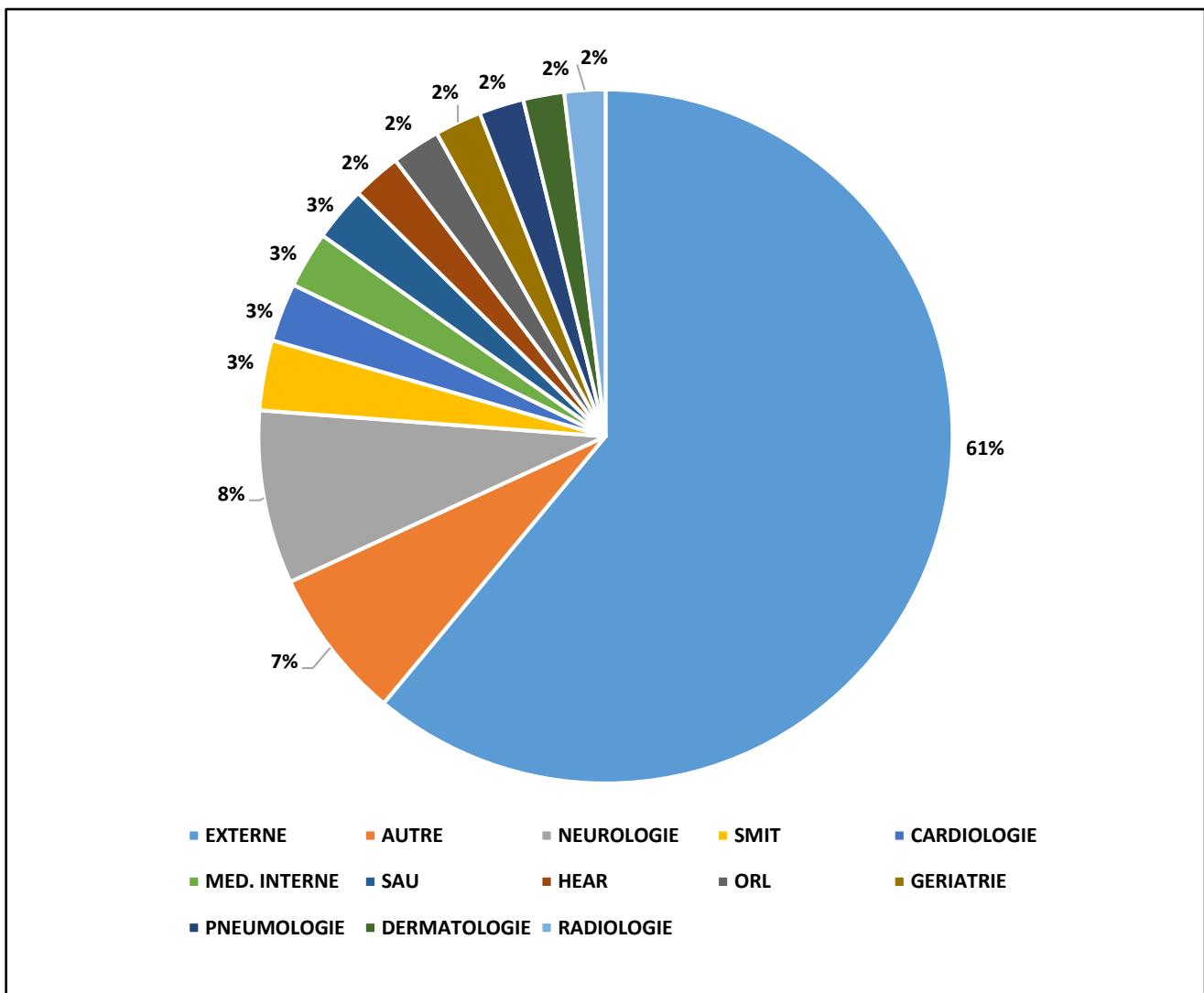


Figure 18 : Répartition des patients selon les différents services prescripteurs de l'analyse.

5. Répartition des patients selon le type de profil électrophorétique

Nous avons trouvé que chez notre population, 20 % des patients présentaient un profil d'allure normale et 80 % un profil anormal.

Le profil le plus représenté était le syndrome inflammatoire chronique associé ou non à une réaction immunitaire (31,3 %), suivi par le syndrome inflammatoire chronique seul (30,1 %) et le profil en faveur d'une réaction immunitaire (11,4 %).

Un pic monoclonal a été observé chez 4,7 % de la population étudiée, et un syndrome néphrotique chez 1,4 %. Le syndrome inflammatoire aigue et le bloc béta-gamma caractérisé par une fusion des fractions béta et gamma ont été observé respectivement chez 0,5 % et 0,1 % de la population (figure 19).

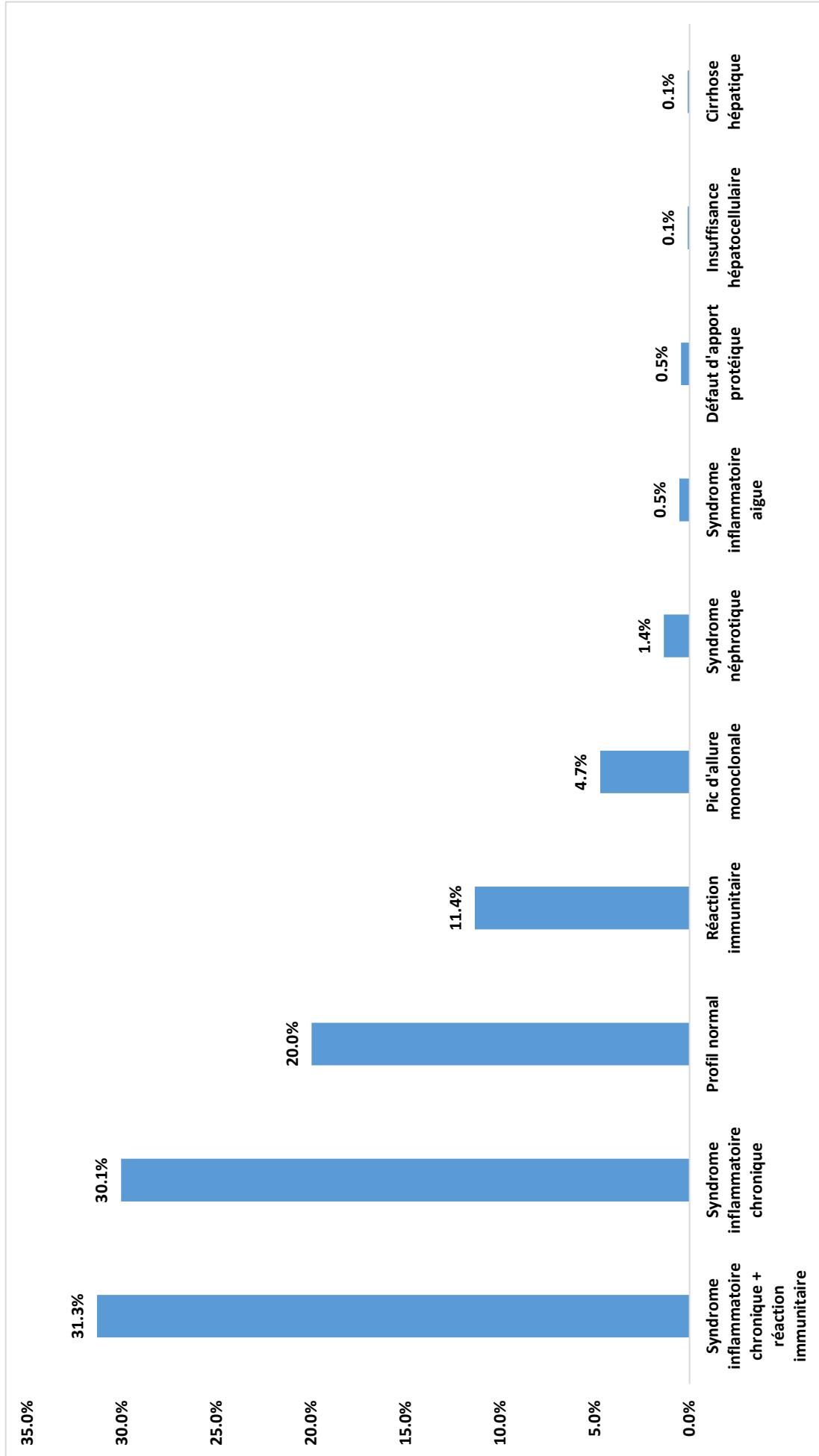


Figure 19 : Répartition des patients selon le profil électrophorétique.

6. Résultats des protéines totales et des différentes fractions protéiques chez la population étudiée

Dans notre population, le taux moyen de protéines totales était de $74,7 \text{ g/L} \pm 10,9$, avec des valeurs extrêmes de 29,5 et 150,7 g/L. L'hyperprotidémie a été retrouvée dans 12 % des cas, tandis que l'hypoprotidémie dans 11 % des cas, et une protidémie normale dans 77 % des cas (Tableau III).

On constate au sein de cette population que les pourcentages des différentes fractions protéiques se distribuent autour de quelques valeurs descriptives telles que la moyenne, le minimum et le maximum qui sont rassemblés dans le tableau III.

Tableau III: Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques chez la population étudiée.

	MOYENNE	ECART TYPE	VALEUR MINIMALE	VALEUR MAXIMALE
PROTEINES TOTALES (g/L)	74,7	10,9	25,5	150,7
ALBUMINE (g/L)	36,48	9,49	11,41	90,12
α_1-GLOBULINES (g/L)	2,38	1,18	0,43	13,86
α_2-GLOBULINES (g/L)	8,72	2,42	0,86	21,39
β-GLOBULINES (g/L)	8,75	2,56	1,61	21,21
γ-GLOBULINES (g/L)	17,51	7,81	1,36	72,14
RAPPORT A/G	1,06	0,40	0,22	2,50

7. Evaluation des protéines totales et des différentes fractions protéiques chez les patients avec un profil normal

Dans l'ensemble de la population étudiée, nous avons trouvés 217 patients (soit 20 % de la population) avec un profil électrophorétique d'allure normale. Ce qui nous a permis de déterminer les valeurs moyennes des protéines totales, ainsi que les différentes fractions protéiques : albumine, α_1 -, α_2 -, β - et γ -globulines (tableau IV).

Tableau IV : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques chez les patients avec un profil normal.

	MOYENNE	ECART TYPE	VALEUR MINIMALE	VALEUR MAXIMALE
PROTEINES TOTALES (g/L)	73	5,18	52,20	82,70
ALBUMINE (g/L)	44,66	4,49	29,55	65,40
α_1-GLOBULINES (g/L)	1,80	0,58	0,43	4,39
α_2-GLOBULINES (g/L)	7,19	1,12	3,80	10,65
β-GLOBULINES (g/L)	7,36	1,18	3,64	11,85
γ-GLOBULINES (g/L)	12,22	2,14	5,41	18,06
RAPPORT A/G	1,58	0,26	1,04	2,06

8. Evaluation des protéines totales et des différentes fractions protéiques dans les différents types de profils pathologiques

Nous avons calculé les paramètres de dispersion (moyenne, écart-type, valeur minimale et maximale) du taux de protéines totales, des différentes fractions protéiques et du rapport A/G pour les différents types de profils pathologiques rencontrés chez notre population. Les résultats obtenus pour chaque type de profil sont donnés par le tableau V et VI.

Tableau V : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques dans les profils objectivant un syndrome inflammatoire chronique et un syndrome néphrotique.

	PROTEINES TOTALES (g/L)	Albumine (g/L)	α_1-GLOBULINES (g/L)	α_2-GLOBULINES (g/L)	β-GLOBULINES (g/L)	γ-GLOBULINES (g/L)	A/G
Moyenne	72,8	37,35	2,43	8,72	8,85	17,25	1,08
SYNDROME INFLAMMATOIRE CHRONIQUE	Ecart-type	8,16	9,49	1,18	2,53	2,70	0,40
	Min.	46,0	11,41	0,43	1,03	1,61	0,22
	Max.	91,8	58,61	10,33	21,39	21,21	2,52
Moyenne	44,8	38,45	2,09	7,28	7,30	14,89	1,28
SYNDROME NEPHROTIQUE	Ecart-type	6,83	7,66	1,19	2,27	1,82	4,25
	Min.	34,0	23,34	0,68	3,83	2,93	0,33
	Max.	56,3	54,32	5,43	10,35	9,43	8,64
						25,40	0,47
						25,40	1,78

Tableau VI : Paramètres de dispersion des valeurs de protéines totales et des différentes fractions protéiques dans les profils objectivant une réaction immunitaire et un pic monoclonal.

	PROTEINES TOTALS (g/L)	Albumine (g/L)	α_1-GLOBULINES (g/L)	α_2-GLOBULINES (g/L)	β-GLOBULINES (g/L)	γ-GLOBULINES (g/L)	A/G
REACTION IMMUNITAIRE	Moyenne	73,9	36,4	2,4	8,7	8,8	17,6
	Ecart-type	7,6	8,9	1,4	1,9	2,4	5,7
	Min.	55,4	25,62	0,5	0,9	4,4	2,3
	Max.	93,2	62,4	13,9	12,5	19,8	34,6
PIC MONOCLONAL	Moyenne	74,7	36,48	2,38	8,72	8,75	17,51
	Ecart-type	23,74	8,69	0,96	2,04	2,70	7,71
	Min.	31,1	12,55	0,99	4,86	1,75	6,31
	Max.	150,7	55,06	5,40	13,94	20,48	44,29

III. DISCUSSION

L'objectif général de notre travail était d'évaluer la répartition des différents profils électrophorétiques rencontrés dans notre pratique courante. Pour cela, nous avons mené une étude rétrospective portant sur 1098 échantillons sériques qui ont été traités dans le cadre de l'analyse de routine au sein du laboratoire de biochimie du CHNU de Fann à Dakar de la période allant de Janvier 2018 à Octobre 2020.

L'âge moyen de nos patients était de $51,7 \pm 22,25$ ans avec des extrêmes de 1 et 100 ans et la tranche d'âge la plus représentée était celle de 60 à 80 ans. Ceci est en accord avec l'étude de BOUAYADI O. et al. [20] qui a objectivée une moyenne d'âge proche de la nôtre (49 ans) avec des extrêmes de 1 et 91 ans.

Dans notre population nous avons relevé une prédominance féminine avec un sex-ratio de 0,68 (H/F). De plus, cette prédominance était plus particulièrement observée chez les patients de plus de 60 ans. La nette prédominance féminine dans cette tranche d'âge pourrait être attribuée à l'espérance de vie relativement plus grande chez les femmes [28, 29].

Notre étude a permis de constater que l'électrophorèse est un examen prescrit par quasiment tous les services de l'Hôpital Fann. Les services en tête de liste étaient le service neurologie (8 %), service de maladies infectieuses et tropicales (5 %), service cardiologie (4,5 %). Cependant, la majorité des demandes reçues (61 %) était faite à titre « externes » de patients venant d'autres hôpitaux (HALD, HOGGY, Dalal Jamm, Abass Ndao...), centre médicaux sociaux, cliniques et cabinets privés.

Ceci peut être expliquée d'une part par la situation géographique stratégique de l'Hôpital de Fann, et d'autre part, par le prix relativement plus accessible de l'analyse par rapport au prix affichées par les laboratoires privés.

Sur les 1098 échantillons qui ont été analysés, 20 % des profils électrophorétiques étaient normaux, et 80 % des profils présentaient des anomalies.

Les profils pathologiques les plus représentés étaient : le syndrome inflammatoire chronique associé ou non à une réaction immunitaire (31,3 %), le syndrome inflammatoire chronique seul (30,1 %) et les hypergammaglobulinémies d'allure polyclonale (11,4 %).

Ces résultats peuvent être expliqués par les étiologies du syndrome inflammatoire qui sont d'origine multifactorielle, notamment les risques infectieux fréquents chez la population sénégalaise et africaine en générale marquée par des infections bactériennes et parasitaires récurrentes, de même que les complications des abords vasculaires chez les patients hospitalisés ou hémodialysés, ainsi que les différents problèmes articulaires qui peuvent induire des états inflammatoires et/ou infectieux [19].

Dans notre étude, 55 profils (soit 4,7 % de la population étudiée) avaient un pic d'aspect monoclonale, tous ces patients avaient un âge plus de 55 ans. Nos résultats étaient en conformité avec l'étude de BOUAYADI O. et al. [20] qui avait objectivée une gammapathie monoclonale chez 7 % de la population étudiée.

Le syndrome néphrotique était représenté avec un taux de 1,6 % de la population étudiée. Ce résultat est diminué par rapport à une étude antérieure réalisée par YANDI M. [17] (6 %) dans le même laboratoire. Cette différence peut trouver une explication par le fait que l'étude de YANDI M. [17] a été restrictive sur une durée de 6 mois contrairement à notre étude qui a pris en charge plus de patients et sur une plus longue période.

Dans l'évaluation des valeurs plasmatiques des protéines totales et des différentes fractions protéiques dans l'ensemble de la population, nos résultats avaient pour les protéines totales une valeur moyenne de $74,7 \pm 10,9$ g/L avec des extrêmes de 25,5 g/L et 150,7 g/L. De plus, 71 % de notre population avaient une protidémie « normale » située dans l'intervalle des valeurs usuelles (60 à 80 g/L). L'hyperprotidémie a été retrouvée chez 23 % des patients, elle était en partie en rapport avec l'augmentation

de la masse protéique totale circulante lors des gammapathies monoclonales. Tandis que l'hypoprotidémie a été retrouvée chez 6 % des patients et était surtout liée à la diminution de protéines circulantes chez les patients atteints de syndrome néphrotique où nous avons une fuite urinaire massive des protéines due à l'atteinte glomérulaire.

Chez les patients qui présentaient un profil électrophorétique d'allure normale, la valeur moyenne des protéines totales était de $73 \pm 5,18$ g/L avec des extrêmes de 52,20 g/L et 82,70 g/L. Ces résultats sont concordants avec ceux retrouvés dans l'étude d'IBRAHIM. M [22] à Bamako qui avait rapporté une valeur de protéines totales moyenne de 75 g/L $\pm 6,54$ avec des extrêmes de 64 g/L et 90 g/L. De même, l'étude d'ESTEPA L. [11] avait aussi retrouvé des résultats similaires aux nôtres.

Concernant les différentes fractions protéiques sériques chez les patients qui présentaient un profil électrophorétique d'allure normale, les valeurs moyennes étaient de 44,66 g/L, 1,80 g/L, 7,19 g/L, 7,36 g/L et 12,22 g/L pour respectivement l'albumine, α_1 -globulines, α_2 -globulines, β -globulines et γ -globulines. Le ratio A/G était en moyenne $1,58 \pm 0,26$, avec des extrêmes de 1,04 et 2,06. Ces résultats sont en accord avec l'étude de DURIEZ P. et al. [30] qui a retrouvé des valeurs quasi-similaires, ainsi qu'avec l'étude de LE CARRER D. [31] qui a obtenu des valeurs moyennes superposables aux nôtres.

Chez les patients qui présentaient un profil électrophorétique en faveur d'un syndrome néphrotique, la valeur moyenne des protéines totales était de $44,8 \pm 6,83$ g/L, les valeurs moyennes de l'albumine, α_1 -globulines, α_2 -globulines, β -globulines et γ -globulines étaient respectivement $38,45 \pm 7,66$ g/L, $2,09 \pm 1,19$ g/L, $7,28 \pm 2,27$ g/L, $7,30 \pm 1,82$ g/L et $14,89 \pm 4,25$ g/L. Ces résultats sont concordants avec ceux retrouvés dans l'étude de YANDI M. [17] qui avait rapporté une valeur de protéines totales moyenne de $42,73 \pm 5,76$ g/L et $15,42 \pm 3,81$ g/L, $2,41 \pm 0,88$ g/L, $12,35 \pm 2,85$ g/L, 5,62

\pm 2,08 g/L et $6,91 \pm 3,48$ g/L respectivement pour l'albumine, α_1 -globulines, α_2 -globulines, β -globulines et γ -globulines.

En ce qui concerne les patients qui présentaient un profil électrophorétique montrant un pic monoclonal, la valeur moyenne des protéines totales était de $74,7 \pm 23,74$ g/L avec des extrêmes allant de 31,1 g/L à 150,7 g/L. Ces résultats sont concordants avec ceux retrouvés par l'étude de SADOUKE K [23], qui avait trouvé un taux moyen des protéines sériques de 83.16 ± 23.28 g/l, avec des extrêmes de 37 g/L et 149.7g/L.

CONCLUSION

L'électrophorèse des protéines sériques est une analyse de routine dans la pratique quotidienne d'un laboratoire de biologie médicale, visant à rechercher les anomalies du profil protéique. Elle est extrêmement utile dans la démarche diagnostique, le pronostic et le suivi de nombreuses affections.

L'électrophorèse permet une séparation rapide et résolutive des protéines sériques en cinq fractions majeures (albumine, α_1 -, α_2 -, β et γ -globulines) qui sont évaluées de manière semi-quantitative relativement à l'aire totale de l'ensemble du profil et exprimées en pourcentage (%), puis transformées en valeurs pondérales en g/L, une fois le taux de protéines sérique déterminée.

L'objectif de notre étude était d'analyser les différents profils électrophorétiques rencontrés dans notre pratique durant la période d'étude. Pour cela, nous avons mené une étude rétrospective portant sur 1098 échantillons sériques qui ont été traités dans le cadre de l'analyse de routine au sein du laboratoire de biochimie du CHNU de Fann à Dakar de la période allant de Janvier 2018 à Octobre 2020.

L'âge moyen de la population étudiée était de $51,7 \pm 22,25$ ans avec des extrêmes d'âge allant de 1 à 100 ans. La tranche d'âge la plus représentée était celle de 60 à 80 ans avec un taux de 34 % du nombre total des patients. Le sex-ratio était de 0,68 avec 59% de femmes.

Nous avons noté que la majorité des prélèvements (61 %) provenait de patients à titre externes et 49 % provenaient des services d'hospitalisation du CHNU de Fann.

L'exploitation des différents tracés électrophorétiques nous a permis de déterminer que le syndrome inflammatoire chronique associé ou non à une réaction immunitaire était le profil le plus fréquent avec un taux de 31,3 % suivi du syndrome inflammatoire chronique seul avec un taux de 30,1 %, profil d'allure normale 20 %, et le profil en faveur de réaction immunitaire seule regroupant les hypergammaglobulinémies d'allure polyclonale avec un taux de 11,4 %.

Les gammapathies monoclonales représentaient 4,7 % de l'ensemble de la population étudiée et le syndrome néphrotique était représenté à hauteur de 1,4 %.

L'évaluation des valeurs plasmatiques dans notre population avait retrouvé une valeur moyenne de protéines totales de $74,7 \text{ g/L} \pm 10,9$ avec des valeurs extrêmes de 29,5 et 150,7 g/L. L'hyperprotidémie était retrouvée dans 12 % des cas, tandis que l'hypoprotidémie dans 11 % des cas, et une protidémie normale dans 77 % des cas.

Nous avions calculé chez les patients présentant un profil électrophorétique d'allure normale les valeurs moyennes des protéines totales (73 g/L), ainsi que de l'albumine, α_1 -, α_2 -, β - et γ -globulines qui étaient respectivement de 44,66 g/L, 1,8 g/L, 7,19 g/L, 7,36 g/L et 12,22 g/L et le ratio A/G était en moyenne $1,58 \pm 0,26$, avec des extrêmes de 1,04 et 2,06.

Ainsi nous pouvons dire que l'électrophorèse des protéines sériques constitue un des paramètres les plus demandés et ceci du fait de son importance capitale dans l'exploration de nombreuses pathologies. Cependant, des études évaluant les valeurs usuelles des différentes fractions protéiques restent nécessaires afin de mieux optimiser son interprétation.

A l'issue de notre étude, nous formulons les recommandations suivantes :

- Disposer des renseignements cliniques qui doivent impérativement accompagner toute demande d'électrophorèse des protéines sériques ;
- Tenir compte de l'aspect du serum pour l'interprétation des résultats, ceci permet d'éviter certaines anomalies sur les tracés pouvant être liées à des interférences ;
- Utiliser le gel pour s'aider à interpréter les résultats si l'électrophorèse a été réalisée sur gel d'agarose.

RÉFÉRENCES

[1] MAMMAR T, TAREB S.

Etude comparative de deux techniques électrophorétiques : électrophorèse capillaire et électrophorèse sur acétate de cellulose des protéines plasmatiques.

[Mémoire Master Sciences Biologiques], Université MAMMERI, Algérie 2015.

[2] MARTIN C.

Sélection immersive et guidée par des motifs géométriques spécifiques de sites d'intérêt pour l'amarrage protéine-protéine.

[Thèse Doctorat Spécialité Informatique], Université D'ORSAY, France 2008.

[3] METHODES D'ANALYSE ET DE SEPARATION DES PEPTIDES ET PROTEINES

Disponible sur l'URL : shorturl.at/dgBZ6

Consulté le 27/11/2020.

[4] MARIE A.

Electrophorèse capillaire couplée ou non à la spectrométrie de masse pour l'évaluation ou le contrôle qualité de protéines à visée thérapeutique.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université PARIS-SACLAY, France 2015.

[5] PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES PROTEINES.

Disponible sur l'URL : shorturl.at/ntLPT

Consulté le 27/11/2020.

[6] DENATURATION ET PRECIPITATION DES PROTEINES

Disponible sur l'URL : shorturl.at/yBTY5

Consulté le 27/11/2020.

[7] BOIRIE Y.

Métabolisme protéique.

Cahier de Nutrition et Diététique, 2005, p54-64.

[8] CHOHRA Y, DEBIANE M, FIROUD D.

Les interférences analytiques en électrophorèse capillaire des protéines sériques.

[Mémoire de fin d'études génie biomédical], Université d'Alger Algérie, 2018.

[9] DE CLAVIERE F.

Place et intérêt de l'électrophorèse des protéines dans la gestion des cas de diarrhée chronique chez le chien.

[Thèse de Doctorat de Médecine Vétérinaire], Université Claude-Bernard – Lyon, France 2005.

[10] OUADANI ML.

Vérification des performances analytiques du Capillarys® 2 Flex Piercing et du Hydrasys® 2 Scan.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université Mohammed V, Maroc 2018.

[11] AHOUANSOU DJ.

Etude comparative de deux techniques d'électrophorèse des protéines sériques : sur gel d'agarose Hydrasys® et en capillaire Capillarys®.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université Mohammed V, Maroc 2010.

[12] ESTEPA L.

Protéines totales.

Encyclopédie Médico-Biologique, Elsevier Masson, PARIS, 90-10-0790, 2006.

[13] GAUTIER V.

Développement de méthodes quantitatives sans marquage pour l'étude protéomique des cellules endothéliales.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université de TOULOUSE, France 2012.

[14] CELLIER CC, LOMBARD C, DIMET I, et al.

L'électrophorèse des protéines sériques en biologie médicale : interférences et facteurs confondants.

Revue francophone des laboratoires, N° 499, 2018, p47-58.

[15] SCHMIDT M.

Passage de l'électrophorèse sur gel à l'électrophorèse capillaire.

ADMED, Analyses et diagnostics médicaux.

[16] INTERNATIONAL MYELOMA FOUNDATION.

Comprendre L'électrophorèse des protéines, Brochure 2011.

[17] YANDI MP.

Prévalence hospitalière du syndrome néphrotique : analyse des tracés de l'électrophorèse des protéines sériques au CHUN de Fann.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université EUROMED, Sénégal 2017.

[18] BIOMNIS

Immunofixation.

Précis de Biopathologie, Analyses Médicales Spécialisées, 2012.

[19] OUALLA J.

Profil d'électrophorèse des protéines sériques chez une population des hémodialysés chroniques.

[Thèse de Doctorat en Médecine], Université CADI AYYAD, Maroc 2018.

[20] BOUAYADI O, BENSALAH M, RAHMANI N, et al.

Electrophorèse des protéines sériques étude de 410 profils électrophorétiques.

Pan African Medical Journal, 32.161.11455, 2019.

[21] YAYO S, ATTOUNGBREA ML, HOUPHOUET F, et al.

Apport du protidogramme sérique dans la sélection de donneurs de sang à Abidjan.

Immun analyse et biologie spécialisée 24, p32—36, 2009.

[22] IBRAHIM M.

Le Protidogramme chez les donneurs de sang à Bamako.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université de BAMAKO, 2003.

[23] SADOUKE K.

Les immunoglobulinopathies monoclonales : Etude épidémiologique, biochimique et étiologique d'une cohorte de 214 cas.

[Thèse de Doctorat de Pharmacie], Université Mohamed V, Maroc 2009.

[24] Site internet de BIOSYSTEMS[®]

Disponible sur l'URL : shorturl.at/mQWY1

Consulté le 27/11/2020.

[25] GOODFELLOW KJ, BOWYER AE, NOUADJE G, et al.

Sheffield Hemophilia and Thrombosis Centre, UK Sebia, France.

[26] THOREN K.

Mass spectrometry methods for detecting monoclonal immunoglobulins in multiple myeloma minimal residual disease.

Semin Hematology. 2018 Jan;55(1):41-43, Copyright[®] 2018 Elsevier Inc.

[27] ZAJEC M, LANGERHORST P, VANDUIJN M, et al.

Mass Spectrometry for Identification, Monitoring, and Minimal Residual Disease Detection of M-Proteins.

Clinical Chemistry, Volume 66, Issue 3, 2020, Pages 421–433.

[28] MESLÉ F.

Gender gap in life expectancy: the reasons for a reduction of female advantage.

Revue Epidémiologie Santé Publique, 2004, 52: 333-352.

[29] MOISY M.

Les Français vivent plus longtemps, mais leur espérance de vie en bonne santé reste stable.

DREES, Études et Résultats, n°1046, 2018.

[30] DURIEZ P, TETE-BENISSAN A,, PARRA H.J.

Etude du profil protéique des Adélé du Togo.

Cahiers d'études et de recherches francophones, Volume 10, numéro 4, Août 2000, Page(s) : 261-6.

[31] LE CARRER D.

Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques : Interprétations illustrées.

Issy-les-Moulineaux : Laboratoires SEBIA, 1994 ; p 122.

ANALYSE DES TRACÉS DE L'ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES AU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE DU CHUN DE FANN

RESUMÉ

Introduction : L'électrophorèse des protéines sérées (EPS) est une analyse de routine dans la pratique quotidienne d'un laboratoire de biologie médicale. L'objectif général de notre étude était d'analyser les différents profils électrophorétiques rencontrés à notre laboratoire dans notre pratique courante.

Méthodologie : Il s'agit d'une étude rétrospective couvrant la période du 05 Janvier 2018 au 16 Octobre 2020, et portant sur des échantillons sérées de patients adressés au laboratoire de Biochimie du CHUN de Fann pour une électrophorèse de protéines sérées. Le taux de protéines totales a été déterminé sur l'automate BA 400[®] (Biosystèmes[®]). L'électrophorèse des protéines sérées a été réalisée sur l'automate Hydrasis 2 Scan[®] de (Sebia[®]) et les données ont été exportées à partir du logiciel Phoresis[®] puis exploitées par Microsoft[®] Excel[®] 2016.

Résultats : Notre étude a inclus 1098 patients âgés de 1 à 100 ans avec une moyenne d'âge de $51,7 \pm 22,25$ ans avec un sex-ratio (H/F) de 0,68. La majorité des patients (61 %) étaient des malades consultant à titre externe. 20% des EPS étaient normales, le profil le plus représenté était le syndrome inflammatoire chronique associé ou non à une réaction immunitaire (31,3 %). Un pic monoclonal a été observé chez 4,7 % de la population et un syndrome néphrotique chez 1,4 %. Le taux moyen de protéines totales était de $74,7 \text{ g/L} \pm 10,9$, avec des valeurs extrêmes de 29,5 et 150,7 g/L. Chez les patients qui présentaient un profil électrophorétique d'allure normale, la valeur moyenne des protéines totales était de $73 \pm 5,18 \text{ g/L}$ avec des extrêmes allant de 52,20 g/L à 82,70 g/L.

Conclusion : L'électrophorèse des protéines sérées est une analyse de routine visant à rechercher les anomalies du profil protéique. Elle est extrêmement utile dans la démarche diagnostique, le pronostic et le suivi de nombreuses affections.

Mots clés : Electrophorèse des protéines sérées, profils électrophorétiques.