



Département de pharmacie

N° d'ordre :

Mémoire de fin d'études

Présenté et soutenu publiquement

Le : 14 juillet 2020

En vue de l'obtention du diplôme de :

DOCTEUR *EN PHARMACIE*

Sous le thème :

**Contribution à l'établissement des valeurs de référence
des fractions d'électrophorèse des protéines sériques
obtenues par technique capillaire**

Réalisé par :

M^r. LACETE Massinissa
M^{lle}. KHERROUBI Yasmine

M^{lle}. IKROUBERKANE Imane
M^{lle}. IRNATENE Sarah

Encadré par :

D^r TOUDERT Amar

Membres de jury :

D^r DAHMANI Dalila MAHU

Faculté de médecine UMMTO

Président de jury

Dr KABRI Lynda AHU

Faculté de médecine UMMTO

Examinatrice

D^r TOUDERT Amar MAHU

Faculté de médecine UMMTO

Promoteur

Promotion : 2019-2020

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS MERES

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A MES GRANDS PERES

Je vous dédie ce mémoire en témoignage de gratitude d'estime et d'attachement. Puisse dieu vous accorder santé, longue vie et prospérité.

A MA TRES CHERE MERE DJAMILA

Quoi que je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là c'est bien grâce à toi, Tu m'as comblé avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours.

Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON TRES CHER PERE HACENE

Signe de fierté et d'honneur. Ce travail est ton œuvre, toi qui m'as donné tant de choses et tu continues à le faire...sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère au moins que ce mémoire y contribuera en partie...

A MES CHERS FRERES ET SŒURS MOMOH SAMIRA FARID MERIEM

En souvenirs des meilleurs moments que nous avons partagés. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unis, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour. Que dieu vous protège A toute ma famille

Qui m'entoure de toute son affection et sur laquelle je peux toujours compter.

A TOUTE MA FAMILLE IRNATENE ET AZIZI

A MES AMIES TASSADIT NASSIBA THINEHINANE IMANE

A MON QUADRINOME IMANE YASMINE MASSI

A TOUS MES AMIS

SARAH

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail ;

A mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer, mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

A mes frères et sœurs

Source de joie et de bonheur

A mon quadrinôme

Imane, Yasmine et Sarah

Source de sérieux et d'assiduité

A mes amis

Source d'espoir et de motivation

A mes amis de la promo

A notre promoteur Dr TOUDERT

Massinissa

Dédicaces

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers à mon cœur ;

***A mes parents chéris** à qui je dois la réussite, aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.*

Que Dieu tout puissant puisse vous préserver et vous accorder longue vie.

Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études

***A ma sœur** qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.*

***A mon quadrinôme,** je vous remercie pour votre sérieux, votre patience et votre enthousiasme dans la réalisation de ce travail.*

A toute personne qui, de près ou de loin, à contribué à la réalisation de notre travail.

Je vous aime tous

Yasmine

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers à mon cœur :

A mes chers parents

Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

Merci infiniment mes parents.

A mes chers frères

Pour leur appui et leur encouragement permanent.

A mon cher fiancé

Pour son encouragement et son soutien moral.

A mon quadrinôme

Pour leur sérieux et leur assiduité dans la réalisation de ce travail.

A toute personne qui, de près ou de loin, a contribué à la réalisation de notre travail.

Je vous aime tous.

Imane

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier « Dieu » le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce travail.

*Nous tenons à remercier notre promoteur **DOCTEUR TOUDERT Amar**, pour son soutien, sa disponibilité, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.*

Nous sommes très touchées par l'honneur que vous nous avez fait, en acceptant de nous confier ce travail. Un encadrement exceptionnel, un sérieux exemplaire, nous serons toujours reconnaissants envers vous cher Docteur. Nous espérons avoir mérité votre confiance.

*Nous souhaiterions remercier le chef de service du laboratoire central de biochimie du CHU Nedir Mohamed et président de jury, **Dr DAHMANI Dalila**, Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de jury de notre travail. On vous remercie également de nous avoir permis de travailler au sein de votre laboratoire.*

*Nous tenons à remercier **Dr KABRI Lynda** pour le temps que vous avez consacré à la lecture de notre travail et pour le plus que vous apportez en l'examinant.*

*Nos vifs remerciements vont également à **Docteur BEN SI SAID Hassan** et madame **DAHMOUNE Ouahiba**. Votre aide était précieuse. Veuillez recevoir le témoignage de notre profond respect.*

Un grand merci à toutes les personnes qui ont participé à cette étude, car sans vous nous n'aurions pas pu accomplir ce travail.

Enfin, nous tenons également à remercier toute l'équipe de laboratoire de biochimie et de la pharmacie centrale, ainsi que tous les enseignants du département de Pharmacie et toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail.

Liste des abréviations :

A/G :	Albumine / Globulines
A⁻ :	Anion
Ac :	Anticorps
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
AFP :	Alpha-FœtoProtéine
Ag :	Antigène
Apo B :	Apolipoprotéine B
ARN :	Acide ribonucléique
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
C3 :	Complément 3
C3a :	Complément 3a
C3b :	Complément 3b
C3Nef :	Complément 3 Facteur Néphritique
CDT :	Transferrine Désialylée
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
CL :	Chromatographie Liquide
CLHP :	Chromatographie Liquide Haute Performance
CLSI :	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMV :	Cytomégalovirus
Cp :	Céruleoplasmine
CPL :	Chromatographie en Phase Liquide
CRP :	C-Reactive Protein
DTT :	Dithiothréitol
EC :	Electrophorèse Capillaire
ECZ :	Electrophorèse Capillaire de Zone
EDTA :	Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique
EPS :	Electrophorèse des Protéines Sériques
FEO :	Flux Electro Osmotique
GBEA :	Guide de Bonne Exécution des Analyses
HA :	Acide faible
Hb :	Hémoglobine
HbA1c :	Hémoglobine glyquée
Hp :	Haptoglobine
Hp-Hb :	Complexe haptoglobine-hémoglobine
IC :	Intervalle de Confiance
ICSH :	International Council for Standardization in Haematology
IFCC :	International Federation of Clinical Chemistry
IFCC-LM :	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Médecine.

Ig :	Immunoglobulines
IR :	Intervalle de référence
ISO :	International Standards Organization
LCR :	Liquide Céphalo-Rachidien.
MGUS :	Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance
N :	Nombre d'observations
NS :	Non Significative
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
ORM :	Orosomucoïde
PAGE :	Polyacrylamide Gel Electrophoresis
pHi :	pH Isoélectrique
Pi :	Point Isotonique
R :	Radical
RBP :	Retinol Binding Protein
S :	Significative
SDS :	Sodium Dodecyl Sulfate
SDS-PAGE :	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SERPIN :	Serine protease inhibitors
SFBC :	Société Française de Biologie Clinique
TP	Taux de Protéines
T3 :	Tri-iodothyronine
T4 :	Tetra-iodothyronine
TBG :	Thyroid Binding Globulin
Trf :	Transferrine
TTR :	Transthyrétine
Tyr :	Tyrosine
UV :	Ultra-Violet
VIH :	Virus Immunodéficience Humaine
VN :	Valeur Normale
VO :	Valeur observée
VS :	Vitesse de sédimentation

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Variations physiopathologiques de l'albumine	06
Tableau 02 :	Variations physiopathologiques de l'alpha-1-antitrypsine	07
Tableau 03 :	Variations physiopathologiques de l'orosomucoïde	07
Tableau 04 :	Variations physiopathologiques de l'alpha-2-macroglobuline	08
Tableau 05 :	Variations physiopathologiques de l'haptoglobine	09
Tableau 06 :	Variations physiopathologiques de la céruléoplasmine	09
Tableau 07 :	Variations physiopathologiques de la transferrine	10
Tableau 08 :	Variations physiopathologiques de l'hémopexine	10
Tableau 09 :	Variations physiopathologiques de la fraction C3 du complément	11
Tableau 10 :	Les valeurs normales des isotopes de l'IgG chez l'adulte (g/l)	12
Tableau 11 :	Variations physiopathologiques des immunoglobulines	13
Tableau 12 :	Résumé des facteurs critiques	36
Tableau 13 :	Répartition de notre population selon l'âge	50
Tableau 14 :	Statistiques descriptives de notre population pour l'albumine (g/l)	53
Tableau 15 :	Statistiques descriptives de notre population pour la fraction d'albumine (g/l) après suppression des valeurs aberrantes	53
Tableau 16 :	Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction d'albumine(g/l)	54
Tableau 17 :	Intervalle de référence de la fraction d'albumine (g/l)	54
Tableau 18 :	Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine (g/l)	55
Tableau 19 :	Statistiques descriptives de notre population pour l'alpha-1 (g/l)	55
Tableau 20 :	Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-1 (g/l) après suppression des valeurs aberrantes	55
Tableau 21 :	Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-1 (g/l)	56
Tableau 22 :	Intervalle de référence de la fraction alpha-1 (g/l)	56

Tableau 23 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-1 (g/l)	57
Tableau 24 : Statistiques descriptives de notre population pour Alpha-2 (g/l)	57
Tableau 25 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-2 (g/l) après suppression des valeurs aberrantes	57
Tableau 26 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-2 (g/l)	58
Tableau 27 : Intervalle de référence de la fraction alpha-2 (g/l)	58
Tableau 28 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'alpha 2 (g/l)	59
Tableau 29 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-1 (g/l)	59
Tableau 30 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction de bêta-1 après suppression des valeurs aberrantes	59
Tableau 31 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-1 (g/l)	60
Tableau 32 : Intervalle de référence de la fraction bêta-1 (g/l)	60
Tableau 33 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-1 (g/l)	61
Tableau 34 : Statistiques descriptives de notre population pour bêta-2 (g/l)	61
Tableau 35 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-2 (g/l) après suppression des valeurs aberrantes	61
Tableau 36 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-2 (g/l)	62
Tableau 37 : Intervalle de référence de la fraction bêta-2 (g/l)	62
Tableau 38 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 (g/l)	63
Tableau 39 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 (g/l)	63
Tableau 40 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction gamma (g/l) après suppression des valeurs aberrantes	63

Tableau 41 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction gamma (g/l)	64
Tableau 42 : Intervalle de référence de la fraction gamma (g/l)	64
Tableau 43 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction gamma (g/l)	65
Tableau 44 : Statistiques descriptives de notre population pour le TP (g/l)	65
Tableau 45 : Statistiques descriptives de notre population pour le TP (g/l) après suppression des valeurs aberrantes	65
Tableau 46 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour le TP (g/l).....	66
Tableau 47 : Intervalle de référence de TP (g/l)	66
Tableau 48 : Vérification du transfert de l'intervalle d'ARCHITECT ci4100 de TP (g/l)	67
Tableau 49 : Statistiques descriptives de notre population pour le rapport A/G.....	67
Tableau 50 : Statistiques descriptives de notre population pour le rapport A/G après suppression des valeurs aberrantes.....	67
6Tableau 51 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour le rapport A/G.....	68
Tableau 52 : Intervalle de référence du rapport A/G.....	68
Tableau 53 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS du rapport A/G.....	69
Tableau 54 : Statistiques descriptives de notre population pour l'albumine (%)	69
Tableau 55 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction d'albumine (%) après suppression des valeurs aberrantes.....	69
Tableau 56 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction d'albumine (%).....	70
Tableau 57 : Intervalle de référence de la fraction d'albumine (%)	70
Tableau 58 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine (%).....	71
Tableau 59 : Statistiques descriptives de notre population pour l'alpha-1 (%)	71
Tableau 60 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-1 (%) après suppression des valeurs aberrantes.....	71

Tableau 61 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-1 (%).....	72
Tableau 62 : Intervalle de référence de la fraction alpha-1 (%)	72
Tableau 63 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-1 (%).....	73
Tableau 64 : Statistiques descriptives de notre population pour alpha-2 (%)	73
Tableau 65 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-2 (%) après suppression des valeurs aberrantes.....	73
Tableau 66 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-2 (%).....	74
Tableau 67 : Intervalle de référence de la fraction alpha-2(%)	74
Tableau 68 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-2 (%).....	75
Tableau 69 : Statistiques descriptives de notre population pour bêta-1 (%)	75
Tableau 70 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-1 (%) après suppression des valeurs aberrantes.....	75
Tableau 71 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-1 (%).....	76
Tableau 72 : Intervalle de référence de la fraction bêta-1 (%)	76
Tableau 73 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-1 (%).....	77
Tableau 74 : Statistiques descriptives de notre population pour bêta-2 (%)	77
Tableau 75 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-2 (%) après suppression des valeurs aberrantes.....	77
Tableau 76 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-2 (%).....	78
Tableau 77 : Intervalle de référence de la fraction bêta-2 (%)	78
Tableau 78 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 (%).....	79
Tableau 79 : Statistiques descriptives de notre population pour gamma (%)	79

Tableau 80 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction gamma (%) après suppression des valeurs aberrantes.....	79
Tableau 81 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction gamma (%).....	80
Tableau 82 : Intervalle de référence de la fraction gamma (%)	80
Tableau 83 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction gamma (%)	81
Tableau 84 : Résumé des résultats obtenus des fractions en (g/l)	82
Tableau 85 : Résumé des résultats obtenus pour le TP en (g/l)	83
Tableau 86 : Résumé des résultats obtenus des fractions en %	85

Liste des figures

Figure 01 :	Profil d'électrophorèse des protéines sériques obtenu par CAPILLARYS	5
Figure 02 :	Structure d'une molécule d'immunoglobuline (ici monomère d'IgG1, travaux de Rodney Porter et Gérard Edelman, prix Nobel 1972)	12
Figure 03 :	Schéma représentant la différence de mobilité des composés entre deux Electrodes.....	14
Figure 04 :	Représentation schématique des forces qui s'exercent sur une particule en Migration.....	15
Figure 05 :	Schéma de la double couche ionique de solvatation d'une particule.....	17
Figure 06 :	Représentation schématique d'une séparation des protéines sériques par électrophorèse en veine liquide.....	19
Figure 07 :	Schéma du principe de l'appareillage de l'électrophorèse de zone.....	20
Figure 08 :	Représentation du flux électroosmotique dans un capillaire rempli par un électrolyte.....	22
Figure 09 :	Représentation de l'effet d'un surfactant cationique sur la paroi de silice.....	22
Figure 10 :	Représentation schématique de la séparation des molécules en électrophorèse capillaire.....	23
Figure 11 :	Ordre d'élution en électrophorèse capillaire.....	24
Figure 12 :	Comparaison d'un profil électroosmotique et celui d'un flux pompé.....	24
Figure 13 :	Schéma de l'appareillage de l'électrophorèse capillaire.....	25
Figure 14 :	Schéma représentatif de l'ordre de migration des fractions des protéines sériques en électrophorèse capillaire.....	26
Figure 15 :	Profil électrophorétique normal.....	27
Figure 16 :	Profil inflammatoire aigu.....	27
Figure 17 :	Profil inflammatoire chronique.....	28
Figure 18 :	Profil néphrotique	28
Figure 19 :	Profil cirrhotique (bloc beta-gamma)	29
Figure 20 :	Profil d'une bisalbuminémie	29
Figure 21 :	Tracé d'une hypogammaglobulinémie	30

Figure 22 :	Profil oligoclonal potentiel en gamma	30
Figure 23 :	Profil avec hypergammaglobulinémie polyclonale	31
Figure 24 :	Exemple d'un profil électrophorétique avec pic monoclonal important en gamma	31
Figure 25 :	Relation entre les différents termes employés dans la définition du concept des valeurs de référence	33
Figure 26 :	Représentation schématique d'un intervalle de référence, limites de référence, intervalles de confiance (IC) des limites et intervalle de tolérance	39
Figure 27 :	Automate CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING (Sebia)	44
Figure 28 :	Automate ARCHITECT ci4100 ABBOTT ®	45
Figure 29 :	Centrifugeuse UNIVERSAL 320 HETTICH	45
Figure 30 :	Réfrigérateur ENIEM®	46
Figure 31 :	Réaction de Biuret	48
Figure 32 :	Répartition de notre population selon la région	50
Figure 33 :	Répartition de notre population selon les tranches d'âge	51
Figure 34 :	Répartition de notre population selon le sexe	51
Figure 35 :	Répartition de notre population en fonction de l'âge et du sexe	52
Figure 36 :	Détection des valeurs aberrantes de l'albumine (g/l) par le test de Tukey	53
Figure 37 :	Distribution des valeurs de l'albumine (g/l) dans notre population	54
Figure 38 :	Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-1 (g/l) par le test de Tukey	55
Figure 39 :	Distribution des valeurs de l'alpha-1 (g/l) dans notre population	56
Figure 40 :	Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-2 (g/l) par le test de Tukey	57
Figure 41 :	Distribution des valeurs de l'alpha-2 (g/) dans notre population	58
Figure 42 :	Détection des valeurs aberrantes de bêta-1 (g/l) par le test de Tukey	59
Figure 43 :	Distribution des valeurs de bêta-1 (g/l) dans notre population	60
Figure 44 :	Détection des valeurs aberrantes de bêta-2 (g/l) par le test de Tukey	61
Figure 45 :	Distribution des valeurs de bêta-2 (g/l) dans notre population	62
Figure 46 :	Détection des valeurs aberrantes de gamma (g/l) par le test de Tukey	63
Figure 47 :	Distribution des valeurs de la gamma (g/l) dans notre population	64
Figure 48 :	Détection des valeurs aberrantes de TP (g/l) par le test de Tukey	65

Figure 49 :	Distribution des valeurs de TP (g/l) dans notre population	66
Figure 50 :	Détection des valeurs aberrantes du rapport A/G par le test de Tukey	67
Figure 51 :	Distribution des valeurs du rapport A/G dans notre population	68
Figure 52 :	Détection des valeurs aberrantes de l'albumine (%) par le test de Tukey	69
Figure 53 :	Distribution des valeurs de l'albumine (%) dans notre population	70
Figure 54 :	Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-1 (%) par le test de Tukey	71
Figure 55 :	Distribution des valeurs de l'alpha-1 (%) dans notre population	72
Figure 56 :	Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-2 (%) par le test de Tukey	73
Figure 57 :	Distribution des valeurs de l'alpha-2 (%) dans notre population	74
Figure 58 :	Détection des valeurs aberrantes de bêta-1 (%) par le test de Tukey	75
Figure 59 :	Distribution des valeurs de bêta-1 (%) dans notre population	76
Figure 60 :	Détection des valeurs aberrantes de bêta-2 (%) par le test de Tukey	77
Figure 61 :	Distribution des valeurs de bêta-2 (%) dans notre population	78
Figure 62 :	Détection des valeurs aberrantes de gamma (%) par le test de Tukey	79
Figure 63 :	Distribution des valeurs de gamma (%) dans notre population	80
Figure 64 :	Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de CAPPILARYS pour chaque paramètre étudié	83
Figure 65 :	Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de CAPPILARYS pour le TP (g/l)	84
Figure 66 :	Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de CAPPILARYS pour chaque paramètre étudié (%)	86
Figure 67 :	Situation des VR de l'albumine (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	88
Figure 68 :	Situation des VR de l'albumine (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	89
Figure 69 :	Situation des VR de l'alpha-1 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	90
Figure 70 :	Situation des VR de l'alpha-1 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	90

Figure 71 : Situation des VR de l'alpha-2 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	91
Figure 72 : Situation des VR de l'alpha-2 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	92
Figure 73 : Situation des VR de bêta-1 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	93
Figure 74 : Situation des VR de bêta-1 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	93
Figure 75 : Situation des VR de bêta-2 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	94
Figure 76 : Situation des VR de bêta-2 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	95
Figure 77 : Situation des VR de gamma (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	96
Figure 78 : Situation des VR de gamma (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	96
Figure 79 : Situation des VR de TP (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur ARCHITECT ci 4100	97
Figure 80 : Situation des VR du rapport A/G déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING	98

Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des tableaux	III
Liste des figures	VIII
INTRODUCTION GENERALE	1
Objectifs	2
PARTIE I : PARTIE THEORIQUE	3
CHAPITRE I : LES PROTEINES SERIQUES	4
1 Généralités sur les protéines	3
1.1 Définition	3
1.2 Propriétés physicochimiques	3
1.2.1 Poids moléculaire	3
1.2.2 Solubilité	3
1.2.3 Stabilité et dénaturation des protéines.....	3
1.2.4 Propriétés électriques	4
1.2.5 Propriétés Optiques	4
1.2.6 Propriétés de la liaison peptidique	4
1.2.7 Propriétés des chaînes latérales	4
1.3 Classification	4
1.4 Métabolisme des protéines	4
1.5 Fonctions biologiques des protéines	5
2 Sémiologie des protéines sériques	5
2.1 Groupe des albumines	5
2.1.1 Sérum albumine	5
2.1.2 Préalbumine (ou transthyrétine TTR)	6
2.1.3 Retinol-binding protein (RBP).....	7
2.2 Groupe des alpha globulines.....	7
2.2.1 Alpha-1-globulines	7
2.2.1.1 Alpha-1-antitrypsine	7
2.2.1.2 Orosomucoïde ORM ou l'alpha-1-glycoprotéine acide.....	7
2.2.1.3 Alpha-1-antichymotrypsine	8
2.2.2 Alpha-2-globulines	8
2.2.2.1 Alpha-2-macroglobuline	8
2.2.2.2 Haptoglobine (Hp)	8
2.2.2.3 Céruléoplasmine (Cp).....	9
2.2.2.4 Alpha-fœtoprotéine (AFP)	9
2.3 Groupe des bêta globulines.....	9

2.3.1	Bêta-1-globuline	10
2.3.1.1	Transferrine (Sidérophiline).....	10
2.3.1.2	Hémopexine.....	10
2.3.2	Bêta-2-globulines.....	10
2.3.2.1	CRP	10
2.3.2.2	La fraction C3 du complément.....	11
2.4	Groupe des gammaglobulines (immunoglobulines)	11
2.4.1	IgG.....	12
2.4.2	IgA	12
2.4.3	IgM.....	12
2.4.4	IgE	13
2.4.5	IgD.....	13
 CHAPITRE II : ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES		
1	Généralités	14
1.1	Principe.....	14
1.2	Historique	14
2	Étude théorique du déplacement électrophorétique.....	15
2.1	Mobilité électrophorétique.....	15
2.2	Migration électrophorétique.....	16
2.3	Evaporation.....	16
2.4	Diffusion	16
3	Théories plus élaborées de l'électrophorèse	16
4	Facteurs influençant le déplacement électrophorétique.....	17
4.1	Nature des molécules	17
4.1.1	Charge.....	17
4.1.2	Taille.....	17
4.2	Appareillage	17
4.2.1	Nature du support.....	17
4.2.1.1	Son pouvoir adsorbant	17
4.2.1.2	Formation de la double couche électrique.....	18
4.2.2	Champ électrique	18
4.3	Force ionique.....	18
4.4	pH.....	18
4.5	Nature des solutions.....	19
5	Principales techniques électrophorétiques	19
5.1	Électrophorèse en veine liquide.....	19
5.2	Électrophorèse de zone utilisant un support.....	19
5.2.1	Électrophorèse sur papier	20
5.2.2	Electrophorèse sur acétate de cellulose.....	20

5.2.3	Electrophorèse sur gel d'agarose.....	20
5.2.4	Electrophorèse sur gel polyacrylamide PAGE.....	20
6	Electrophorèse capillaire.....	21
6.1	Principe.....	21
6.1.1	Électromigration	21
6.1.2	Électroosmose.....	21
6.2	Vitesse apparente.....	23
6.3	L'ordre d'éluion	23
6.4	Caractéristique du débit électroosmotique	24
6.5	Appareillage	24
6.6	Application de l'électrophorèse capillaire.....	25
6.7	Électrophorèse capillaire des protéines sériques	25
6.7.1	Indications de l'EPS.....	26
6.7.2	Profils électrophorétiques	26
 CHAPITRE III : ETABLISSEMENT ET VERIFICATION DES INTERVALLES DE REFERENCE AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE		
1	Généralités.....	32
2	Terminologie.....	32
3	Les recommandations et le protocole de base pour l'établissement des valeurs de référence décrits par l'IFCC-LM et la CLSI.....	33
4	Sélection des individus de référence.....	34
4.1	Choix des critères de sélection.....	34
4.1.1	Choix des critères d'inclusion	34
4.1.2	Choix des critères d'exclusion.....	35
4.2	Technique d'échantillonnage.....	35
4.2.1	Technique d'échantillonnage directe (recommandée).....	35
4.2.2	Technique d'échantillonnage indirecte	35
5	Considérations pré-analytiques et analytiques	36
5.1	Préparation du sujet.....	36
5.2	Type de spécimen, collecte, manipulation et stockage	36
5.2.1	Sang	36
5.2.2	Autres fluides corporels.....	36
5.2.3	Température.....	37
5.3	Caractéristiques des méthodes analytiques.....	37
6	Le traitement statistique des résultats obtenus	37
6.1	Nombre minimum de valeurs de référence	38
6.2	Mise en évidence et élimination des valeurs aberrantes (outliers).....	38

6.3	Partition des valeurs de référence	38
6.4	Intervalles de confiance.....	38
7	Transférabilité.....	39
7.1	Premier cas : comparaison de systèmes analytiques	39
7.2	Deuxième cas : comparaison de populations.....	40
7.2.1	Méthode subjective	40
7.2.2	Vérification de l'intervalle de référence à partir d'un échantillon de sujets apparemment sains	40
8	La traçabilité	41
PARTIE II : PARTIE PRATIQUE		
MATERIELS ET METHODES		
1	Caractéristiques de l'étude.....	43
2	Population de l'étude	43
2.1	Critères d'inclusion	43
2.2	Critères d'exclusion	43
3	Matériels	43
3.1	Le consommable	43
3.2	Appareillage	44
4	Méthodes.....	46
4.1	Préparation des sujets pour le prélèvement.....	46
4.2	Transport et conservation.....	47
4.3	Traitement des spécimens biologiques.....	47
4.4	Méthodes analytiques de dosage	47
4.4.1	Dosage de protéines sériques totales	47
4.4.2	Electrophorèse capillaire des protéines sériques	48
5	Analyse et interprétation des résultats.....	49
5.1	Matériels statistiques.....	49
5.2	Méthodes statistiques	49
RESULTATS		
1	Données épidémiologiques de notre population	50
2	Résultats des différentes fractions en (g/l).....	53
2.1.	Albumine	53
2.2	Alpha-1	55
2.3	Alpha-2	57
2.4	Bêta-1	59

2.5	Bêta-2	61
2.6	Gamma	63
2.7	TP	65
2.8	Ratio A/G.....	67
3	Résultats des différentes fractions en %	69
3.1	Albumine	69
3.2	Alpha-1	71
3.3	Alpha-2	73
3.4	Bêta-1	75
3.5	Bêta-2	77
3.6	Gamma	79
DISCUSSION		
CONCLUSION GENERALE		100
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		
ANNEXES		
RESUME		

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les cliniciens prescrivent quotidiennement des examens biologiques pour orienter un diagnostic, préciser la gravité d'une maladie ou suivre l'efficacité d'une thérapeutique. A cette étape, la question claire que l'on se pose est : où se situe le résultat de l'analyse du patient par rapport aux résultats obtenus sur des sujets sains ?

Le concept des intervalles de référence est venu pour répondre à cette question, il vise à rendre significatifs les tests biologiques prescrits en comparant les résultats obtenus à des valeurs de référence. Cette notion a comme objectif de standardiser, harmoniser, et rendre plus rigoureuse la présentation des résultats, la comparaison des résultats d'un laboratoire à l'autre, d'une technique à une autre, donc d'améliorer l'interprétation des résultats de laboratoire par le clinicien.

Les valeurs des références généralement utilisées dans notre pays sont des valeurs trouvées dans la littérature d'origine européenne ou nord-américaine.

Or, il est bien connu que ces valeurs de référence sont influencées par un grand nombre des facteurs dont : la race, la géographie et le développement socio-économique de la population sont parmi les plus déterminants.

Ces facteurs n'étant pas toujours identiques d'une population à une autre, et d'un pays à un autre, il est important que chaque pays ou chaque entité de population dispose de ses propres références biologiques.

L'objet de notre travail est de tenter une approche dans l'établissement des limites de références des différentes fractions des protéines sériques obtenues par électrophorèse capillaire sur l'automate CAPILLARYS 2 FLEX PIERCING, Sebia au niveau de laboratoire de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou chez l'adulte présumé sain de la région de Tizi-Ouzou et ses alentours.

Objectifs :

- 1- Etablissement des intervalles de référence des fractions électrophorétiques sériques, obtenues par technique capillaire au niveau de laboratoire de biochimie du CHU Nedir Mohamed de TIZI-OUZOU chez l'adulte présumé sain de la région de TIZI-OUZOU et ses alentours.
- 2- Vérification des IR des fractions électrophorétiques de l'automate CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING, Sebia®.

PARTIE I :
PARTIE
THEORIQUE

CHAPITRE I : LES PROTEINES SERIQUES

1 Généralités sur les protéines

1.1 Définition

Les protéines sont des polymères d'acides aminés unis par une liaison amide, dite liaison peptidique, établie entre le groupement alpha-carboxyle de l'un et le groupement alpha-aminé du suivant. La plupart des protéines naturelles comptent entre 100 et 2 000 résidus d'acides aminés. Toutes les protéines de toutes les espèces, du virus à l'homme, sont construites à partir de 20 acides aminés, qui constituent un alphabet universel, grâce auquel sont écrites des milliers de séquences, toutes différentes, propres chacune à une protéine [1,2].

1.2 Propriétés physicochimiques

Les propriétés physico-chimiques des protéines résultent essentiellement des groupements fonctionnels des chaînes latérales [3].

1.2.1 Poids moléculaire

La taille des protéines est très variable, elle est exprimée en Daltons (Da ou kDa) et elle est calculée à partir de la séquence primaire [3].

1.2.2 Solubilité

Les protéines sont solubles à faible concentration saline ou faible force ionique (effet dissolvant ou " salting in "). Par contre, elles sont, en général, insolubles dans ces mêmes solutions salines concentrées (relargage ou " salting out "). La température augmente la solubilité des protéines en deçà de la température de dénaturation. Les solvants organiques (acétone, alcools) insolubilisent les protéines (diminution de la constante diélectrique du milieu, d'où augmentation des interactions électrostatiques) avec risque de dénaturation [4].

1.2.3 Stabilité et dénaturation des protéines

La fonction biologique d'une protéine est déterminée par sa structure tridimensionnelle, qui est stabilisée principalement par des interactions faibles. La consolidation de la conformation des protéines fait intervenir occasionnellement des liaisons covalentes, principalement les ponts disulfures entre des résidus cystéine.

Des facteurs physiques ou chimiques qui influencent ces interactions peuvent faire évoluer une protéine d'un état « natif » fonctionnel vers un état « dénaturé » non fonctionnel. De nombreux paramètres peuvent entrer en jeu, mais trois facteurs sont particulièrement importants : la température, le pH, et la présence éventuelle d'agents dénaturants (urée, chlorure de guanidium, 2-mercaptoéthanol, dithiothréitol (DTT), dodécylsulfate de sodium (SDS, ou laurylsulfate de sodium) [5].

1.2.4 Propriétés électriques

Les protéines, polymères d'acides aminés sont porteuses de charges électriques variables en fonction du pH. Chaque protéine possède un pH isoélectrique (pHi) pour lequel la mobilité dans un champ électrique (mobilité électrophorétique) est nulle : charge globale de la protéine nulle [4].

1.2.5 Propriétés Optiques

Importantes pour l'étude et le dosage des protéines en rapport avec :

- La concentration de la solution (indice de réfraction, absorption, diffusion) ;
- La taille et la forme de la molécule (diffusion) ;
- La structure (pouvoir rotatoire, absorption à 280 nm, diffraction des rayons X par les cristaux) [4].

1.2.6 Propriétés de la liaison peptidique

- Hydrolyse de la liaison peptidique par des peptidases ou protéases.
- Action d'exopeptidases et d'endopeptidases.
- Réaction du biuret : coloration violette en présence de Cu^{2+} en milieu alcalin ; utilisation pour la caractérisation et le dosage des protéines [4].

1.2.7 Propriétés des chaînes latérales

Réactivité de chaînes latérales porteuses de groupements fonctionnels comme le groupement phénol (Tyr) ; utilisation pour la caractérisation et le dosage des protéines par des réactions colorées [4].

1.3 Classification

On classe les protéines selon leur composition :

- Les holoprotéines : ne sont composées que d'acides aminés.
- Les hétéroprotéines : comportent en plus une partie non protéique (appelée groupement prosthétique : glucides, lipides...)

On les classe encore selon leur forme globale en :

- Protéines globulaires (ex : les enzymes, les hormones, les anticorps).
- Protéines fibreuses (ex : la kératine, le collagène).
- Protéines mixtes : mi-globulaire, mi-fibreuses (ex : la myosine) [1].

1.4 Métabolisme des protéines

Les protéines sont renouvelées en permanence par des processus biochimiques consommant de l'énergie et associant synthèse et catabolisme protéique :

- ✓ La synthèse des protéines :

Elle se fait à partir d'un pool d'acides aminés libres et se déroule en plusieurs étapes : la transcription de l'ADN en ARNm suivi de la traduction de ce dernier en peptide au niveau des

ribosomes puis la maturation qui permettra d'obtenir une protéine fonctionnelle à partir d'un peptide détaché de l'ARNm.

✓ Le catabolisme des protéines (protéolyse) :

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

1.5 Fonctions biologiques des protéines

Les protéines sont des molécules biologiques " de première importance " : quantitative (elles constituent plus de la moitié du poids sec des cellules) et qualitative (elles participent à presque toutes les fonctions cellulaires). Leurs rôles sont multiples. La plupart d'entre elles possèdent une propriété élémentaire qui est la reconnaissance spécifique et la fixation de ligands. Certaines protéines, appelées enzymes, agissent en tant que catalyseurs et exercent une activité catalytique. D'autres possèdent un rôle structural, de transport, transduction de signaux, stockage, protection, régulation, mouvement ou énergie [1,7,8].

2 Sémiologie des protéines sériques

Après séparation électrophorétique des protéines sériques par technique capillaire, on obtient :

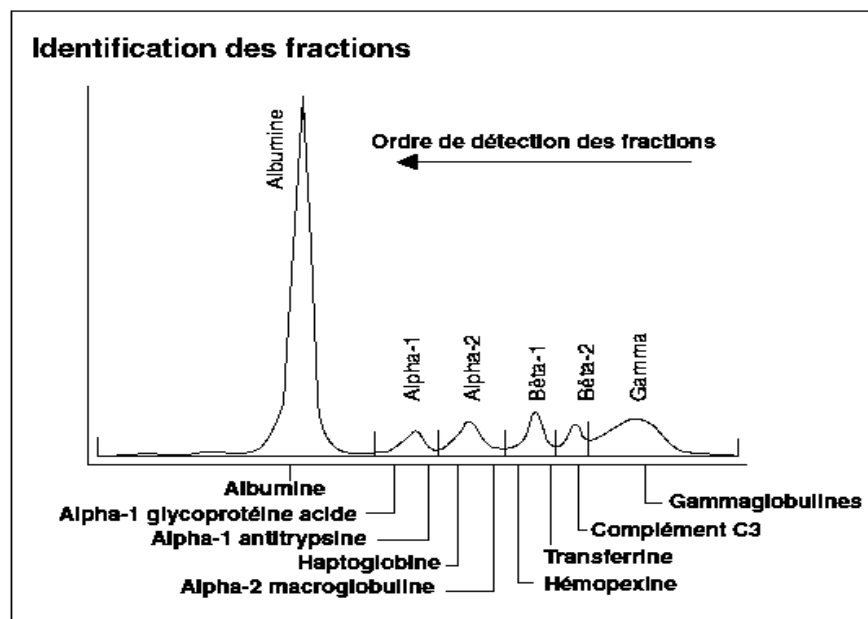


Figure 01 : Profil d'électrophorèse des protéines sériques obtenu par CAPILLARYS [9].

2.1 Groupe des albumines

2.1.1 Sérum albumine

L'albumine est la protéine plasmatique la plus abondante de l'organisme, elle représente 60 % des protéines totales circulantes. Elle est constituée d'une seule chaîne polypeptidique hydrosoluble de 585 acides aminés ; son poids moléculaire est d'environ 68 kDa. Sa concentration sérique chez

l'adulte varie entre 35 à 50 g/l et sa demi-vie est de l'ordre de 15 à 19 jours. Son pH isoélectrique est acide (il varie de 4,8 à 5,28).

L'albumine est synthétisée de façon constante et régulière uniquement au niveau hépatocytaire (10–15 g/j) ; elle représente environ 10 % de la synthèse protéique hépatique totale.

Plus de 40 à 60 % de l'albumine est dégradée dans le muscle, le foie et les reins [10].

➤ Rôle biologique

-L'albumine maintient la pression oncotique (rôle majeur), la volémie et l'équilibre des échanges liquidiens entre secteurs intravasculaire et interstitiel.

-Transporteur ubiquitaire de particules endogènes et exogènes (ex : médicaments).

-Pouvoir antioxydant majeur, action anti-inflammatoire, anticoagulante et antiagrégant plaquettaire [11].

➤ Variations physiopathologiques

Tableau 01 : Variations physiopathologiques de l'albumine [9,12].

Diminution	Augmentation
-Analbuminémie : congénitale (très rare) -Hypoalbuminémie : Physiologique : Grossesse. Pathologique : ✓ Dénutrition ou malnutrition. ✓ Insuffisance hépatocellulaire. ✓ Un hypercatabolisme dans la thyrotoxicose, le syndrome de Cushing, ou des syndromes tumoraux. ✓ Inflammation. ✓ États infectieux graves. ✓ Syndrome néphrotique. ✓ Fuites digestives ou cutanées (brûlures). ✓ Hypergammaglobulinémies monoclonales IgG ou IgA.	- Hémococoncentration. -Déshydratation sévère.

2.1.2 Préalbumine (ou transthyrétine TTR)

TTR est une protéine principalement synthétisée par le foie. Sa demi-vie est brève, de l'ordre de 2 jours. Elle joue essentiellement un rôle de transporteur plasmatique : des hormones thyroïdiennes T4 et T3(en association avec la thyroid binding globulin (TBG) et l'albumine) et du rétinol (en association avec la retinol binding protein (RBP)).

La concentration sérique de pré-albumine s'abaisse rapidement en cas de dénutrition et sa chute est proportionnelle à la sévérité de celle-ci [13].

2.1.3 Retinol-binding protein (RBP)

RBP est une protéine synthétisée par le foie et les adipocytes de demi-vie courte (12 heures), son rôle c'est de transporter la vitamine A dans la circulation, c'est un marqueur très sensible de la dénutrition [14].

2.2 Groupe des alpha globulines

2.2.1 Alpha-1-globulines

2.2.1.1 Alpha-1-antitrypsine

Alpha-1-antitrypsine est une glycoprotéine de 52 kDa, appartenant à la superfamille des SERPIN (serine protease inhibitors), c'est l'antiprotéase la plus abondante, sa concentration sérique chez l'adulte est de 0,9-2 g/l et sa demi-vie est de 4 à 5 jours. Elle inhibe les protéases pro-inflammatoires telle que l'élastase, elle est produite principalement par les hépatocytes [15].

➤ Variations physiopathologiques

Tableau 02 : Variations physiopathologiques de l'alpha-1-antitrypsine [16].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Le déficit en alpha-1-antitrypsine ✓ Insuffisance hépatique ✓ Syndrome néphrotique 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Grossesse ✓ Les œstroprogestatifs ✓ Syndrome inflammatoire

2.2.1.2 Orosomucoïde ORM ou l'alpha-1-glycoprotéine acide

ORM est une glycoprotéine synthétisée principalement par le foie, caractérisée par son pH acide, son poids moléculaire varie de 37 à 54 kDa en raison de la différence d'étendue de la glycosylation. Sa concentration sérique chez l'adulte est de : 0,5-1,2 g/l et une demi-vie de 3 jours. Elle constitue un marqueur de la réaction inflammatoire [17].

➤ Rôle biologique

Protéines de la phase aigüe, elle intervient dans l'immunorégulation et surtout dans le transport de substances endogènes (histamine, mélatonine...) et aussi le transport de nombreux médicaments basiques et neutres [17].

➤ Variations physiopathologiques

Tableau 03 : Variations physiopathologiques de l'orosomucoïde [17].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Insuffisance hépatocellulaire ✓ Syndrome néphrotique 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ L'inflammation ✓ Insuffisance rénale

2.2.1.3 Alpha-1-antichymotrypsine

Glycoprotéine de phase aigüe, synthétisée par le foie, elle appartient à la superfamille des SERPIN dont elle inhibe de plusieurs sérines protéases.

Sa quantité circulante augmente d'une façon spectaculaire au cours d'une réponse inflammatoire. Sa concentration plasmatique chez l'adulte est de 0,3 à 0,6 µg/l [18].

2.2.2 Alpha-2-globulines

2.2.2.1 Alpha-2-macroglobuline

Alpha-2-macroglobuline est une glycoprotéine soluble de masse moléculaire 720 kDa, synthétisée essentiellement par les hépatocytes, elle est constituée de quatre chaînes polypeptidiques identiques et 10% de glucides. Sa concentration sérique chez l'adulte est de 1,3-3 g/l avec une demi-vie de 5 jours [19].

➤ Rôle biologique

-Un inhibiteur de protéases le plus polyvalent du plasma (sérines, thréonine, métalloprotéase, les cytokines pro-inflammatoires...).

-Un inhibiteur de la coagulation et de la fibrinolyse.

-Elle lie et transporte de nombreux facteurs de croissances, des cytokines, des hormones...etc [19,20].

➤ Variations physiopathologiques

Tableau 04 : Variations physiopathologiques de l'alpha-2-macroglobuline [20].

Diminution	Augmentation
✓ Insuffisance hépatique	✓ Syndrome néphrotique ✓ Syndrome inflammatoire

2.2.2.2 Haptoglobine (Hp)

L'haptoglobine est une sialoglycoprotéine synthétisée principalement par le foie, capable de fixer l'hémoglobine libre plasmatique (complexe Hp-Hb) et de le neutraliser.

Elle est constituée d'un dimère de chaîne alpha et une chaîne bêta liées d'une façon covalente par une liaison disulfure. Sa concentration sérique chez l'adulte : 0,50 à 2 g/L.

C'est une protéine polymorphe, on distingue trois phénotypes : Hp 1-1 (85 kDa), Hp 1-2 (120 kDa) et Hp 2-2(170 kDa). Sa demi-vie est de 2 à 5 jours selon le phénotype [21].

➤ Rôle biologique

La fonction biologique la mieux connue est la neutralisation de l'hémolyse intravasculaire, elle assure aussi une action antioxydante et anti inflammatoire [21].

➤ Variations physiopathologiques

Tableau 05 : Variations physiopathologiques de l'haptoglobine [21].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Nulle à la naissance (croît régulièrement jusqu'à l'âge de 2 ans). ✓ Hémolyse intravasculaire 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Syndrome inflammatoire

2.2.2.3 Céruléoplasmine (Cp)

Cp est une glycoprotéine de la famille des métalloprotéines cuivriques avec une masse moléculaire de 129 kDa et un taux sérique de 0,2 à 0,35 g/l (chez l'adulte). Elle est majoritairement synthétisée par les hépatocytes. Sa demi-vie est de 5 jours [22].

➤ Rôle biologique

- Protéine de la phase aigüe, elle augmente durant les premiers stades de l'inflammation.
- C'est une protéine multifonctionnelle, elle catalyse l'oxydation de différents substrats tel que le fer (activité ferroxidasique), elle ne transporte pas le cuivre mais contient 95% du cuivre sérique [22].

➤ Les variations physiopathologiques

Tableau 06 : Variations physiopathologiques de la céruléoplasmine [23].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Acéculéoplasminémie. ✓ La maladie de Wilson. ✓ La maladie de Menkes. ✓ Le syndrome néphrotique. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Inflammation. ✓ Grossesse.

2.2.2.4 Alpha-fœtoprotéine (AFP)

AFP est une glycoprotéine oncofœtale, appartenant à la famille des albuminoïdes, elle est présente physiologiquement dans le sérum fœtal, synthétisée par vésicule vitelline puis par le foie à moindre degré.

Cette protéine joue un rôle important dans la vie embryonnaire en transportant de multitude de ligands tel que la bilirubine, les ions, les acides gras polyinsaturés...etc.

Chez l'adulte en dehors de la grossesse, l'AFP peut augmenter en cas de pathologies hépatiques ou en cas de tumeurs d'origine germinale. Sa concentration chez l'adulte est de 0-12 µg/l [24].

2.3 Groupe des bêta globulines

2.3.1 Bêta-1-globuline

2.3.1.1 Transferrine (Sidérophiline)

La transferrine (Trf) est une glycoprotéine de 80 kDa. Sa synthèse est essentiellement hépatique et inversement proportionnelle à la quantité de fer présente dans la cellule. Sa demi-vie est de 8 jours, sa concentration chez l'adulte est de 2 à 3,5 g/L. Son rôle est le transport du fer sous forme Fe³⁺ dans la circulation sanguine [25].

➤ **Variations physiopathologiques**

Tableau 07 : Variations physiopathologiques de la transferrine [26].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Les états inflammatoires. ✓ L'insuffisance hépatocellulaire. ✓ Fuites protéiques urinaires ou gastro-intestinales. ✓ Lors des surcharges en fer. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Carences en fer. ✓ Prise œstrogénique ou de médicaments (diurétiques). ✓ Cancers hépatiques primitifs ou secondaires.

2.3.1.2 Hémopexine

Hémopexine est une glycoprotéine de 60 kDa principalement synthétisée par les cellules du parenchyme hépatique formée d'une seule chaîne polypeptidique de 439 acides aminés. Chez l'adulte, les concentrations sériques sont comprises entre 0,4 et 1,5 g/l, sa demi-vie est de 7 jours. Son rôle est le transport de l'hème et l'élimination de l'hématine (produit de dégradation de l'hème) [27].

➤ **Variations physiopathologiques**

Tableau 08 : Variations physiopathologiques de l'hémopexine [28].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hémolyse intravasculaire sévère. ✓ Rhabdomyolyse. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hémochromatoses. ✓ Affections rhumatismales, inflammatoires et infectieuses.

2.3.2 Bêta-2-globulines

2.3.2.1 CRP

La CRP est décelée dès la 6ème heure dans le sang, après stimulation. Son taux sérique normal est compris entre 5 et 10 mg/L. Elle est synthétisée par le foie. Il n'y a pas de variations nyctémérales. La CRP n'augmente pas ou très peu au cours des infections virales. Son dosage est donc très

intéressant pour distinguer les infections bactériennes des infections virales. Sa demi-vie est de 12 heures. La CRP est un marqueur précoce de la réponse inflammatoire [29,30].

➤ **Variations physiopathologiques**

L'élévation de la concentration sérique de CRP peut être franche dans les infections bactériennes, dans certaines pathologies rhumatismales (polyarthrite rhumatoïde), digestives (maladie de Crohn), lors d'affections malignes (lymphome, carcinome), dans l'infarctus du myocarde, lors de traumatismes [30].

2.3.2.2 La fraction C3 du complément

C3 est une glycoprotéine sérique abondante (1,3 mg/ml) formée de deux chaînes, α (110 kDa) et β (75 kDa), reliées par un pont disulfure. Elle a un rôle central dans les trois voies d'activation du complément (classique, alternative et voie des lectines) qui aboutissent toutes à la formation de C3 convertase et à son clivage en C3a et C3b qui peuvent interagir avec différents récepteurs cellulaires présents à la surface de cellules de l'immunité et ainsi moduler la réponse immunitaire spécifique. C3a est une anaphylatoxine qui stimule l'inflammation et C3b est une opsonine qui facilite la phagocytose et l'élimination des complexes immuns, ainsi C3 joue un rôle central dans le système du complément [31,32].

➤ **Variations physiopathologiques**

Tableau 09 : Variations physiopathologiques de la fraction C3 du complément [9].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Présence d'un C3Nef (facteur néphritique). ✓ Présence d'anticorps anti C3. ✓ Rare déficit en C3 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Origine inflammatoire. ✓ Secondaire à une obstruction biliaire intra ou extra hépatique.

2.4 Groupe des gammaglobulines (immunoglobulines)

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines globulaires qui appartiennent à la superfamille des immunoglobulines, elles sont produites par les plasmocytes. Les immunoglobulines peuvent prendre la forme de récepteurs d'antigènes liés à la membrane des lymphocytes B (BCR) ou de protéines sécrétées solubles qui exercent la fonction d'anticorps (Ac) dirigés contre des antigènes (Ag) qu'elles neutralisent. Elles sont le support de l'immunité humorale spécifique. Elles ont une structure commune comprenant quatre chaînes polypeptidiques, qui se répartissent en deux chaînes lourdes (H) identiques et en deux chaînes légères (L) identiques, chaque chaîne contenant une région variable et une région constante, dont l'assemblage (ponts disulfures) évoque la forme d'un "Y". Elle présente une dualité structurale qui explique sa dualité fonctionnelle : la partie Fab responsable de la reconnaissance et la liaison à l'antigène et la partie Fc responsable des fonctions effectrices. Il existe deux types de chaîne légère, appelés κ et λ , et cinq types de chaînes lourdes, appelés μ , δ , γ , ϵ et α , ces différents isotypes de chaîne lourde définissent les 5 classes d'Ig qui sont respectivement : IgM, IgD, IgG, IgE et IgA qui diffèrent par leurs compositions en acides aminés et en sucres, et par conséquent par leurs masses moléculaires et leurs charges [32-34].

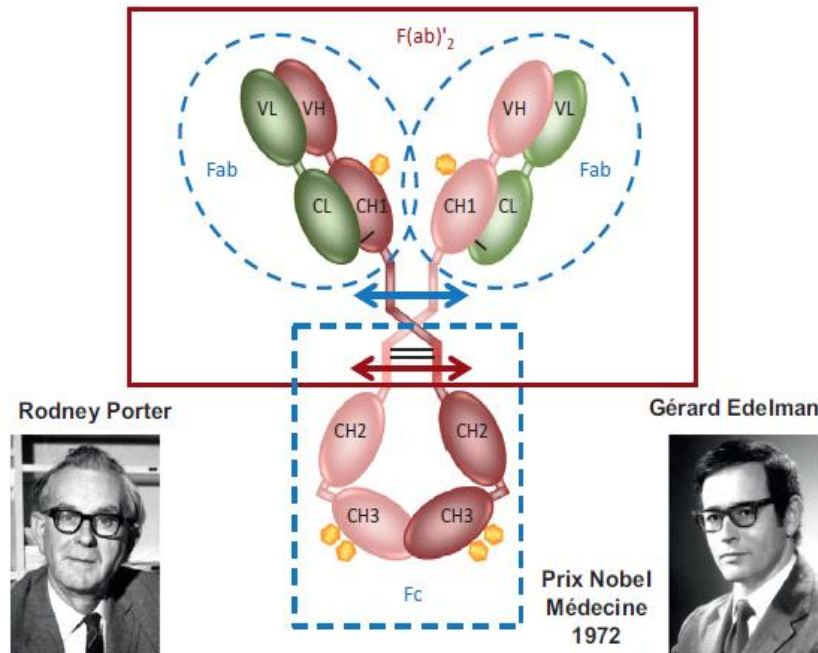


Figure 02 : Structure d'une molécule d'immunoglobuline (ici monomère d'IgG 1, travaux de Rodney Porter et Gérard Edelman, prix Nobel 1972) [32].

2.4.1 IgG

Ig monomérique, représente la classe la plus abondante dans le sérum et l'Ig majoritaire lors de la réponse secondaire, elle renferme quatre sous classes IgG 1,2,4 de (146 kDa), IgG 3 de (170 kDa). Les propriétés effectrices des IgG sont : neutralisation des microbes extracellulaires et leurs toxines, activation du complément, opsonisation pour phagocytose, cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) et l'immunité néonatale par passage placentaire [32,34].

Tableau 10 : Les valeurs normales des isotypes de l'IgG chez l'adulte (g/l) [32].

	IgG 1	IgG 2	IgG 3	IgG 4
VN chez l'adulte (g/l)	9	3	1	0,5

2.4.2 IgA

Les IgA sont majoritaires dans les sécrétions muqueuses et elles sont à plus de 80 % sous forme dimérique. Elles ont un poids moléculaire de 160 kDa et renferment deux sous classes : IgA 1 (3g/l) et IgA 2 (0,5g/l) chez l'adulte. Elles ont pour rôle d'assurer l'immunité au niveau des muqueuses [32,34].

2.4.3 IgM

Ig pentamérique de 970 kDa, elle a un rôle dans l'activation du complément et l'agglutination. L'IgM sous forme monomère est la principale Ig membranaire où sa fonction est celle de récepteur

de l'antigène. Les IgM constituent la plupart des anticorps dits « naturels » et sont majoritaires lors de la réponse primaire, sa valeur normale chez l'adulte est de 1,6 g/l [32,34].

2.4.4 IgE

Ig monomérique de 188 kDa, homocytotrope, elle joue un rôle dans l'immunité antiparasitaire contre les helminthes, et dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (type 1), sa valeur normale chez l'adulte est de 10^{-4} UI [32,34].

2.4.5 IgD

Ig monomérique de 184 kDa, soluble ou membranaire (récepteur d'antigènes des lymphocytes B naïfs), sa valeur normale chez l'adulte est de 0,03 g/l [32,34].

➤ Variations physiopathologiques

Tableau 11 : Variations physiopathologiques des immunoglobulines [9].

Diminution	Augmentation
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hypogammaglobulinémie du nourrisson (physiologique) ✓ Les déficits immunitaires primitifs isolés ou portant sur les IgA, IgG ou IgM de l'enfant ou de l'adulte. ✓ Les déficits secondaires (traitement immunosuppresseur, corticoïdes, chimiothérapie ou radiothérapie) ✓ Le myélome à chaînes légères, caractérisé par une protéinurie de Bence-Jones très importante, et une répression de synthèse des IgG, IgA et IgM. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ D'origine polyclonale dans les pathologies infectieuses, autoimmunes ou hépatiques. ✓ D'origine monoclonale dans les gammopathies malignes (myélome multiple ou maladie de Kahler, maladie de Waldenström), les gammopathies associées à une leucémie lymphoïde chronique ou à un lymphome, ou les gammopathies sans signification clinique (MGUS).

**CHAPITRE II :
ELECTROPHORESE
DES PROTEINES
SERIQUES**

1 Généralités

L'électrophorèse constitue certainement la technique de fractionnement des macromolécules la plus communément utilisée par les biologistes d'aujourd'hui. Les raisons de cette popularité sont multiples : il s'agit d'une technique analytique de haute résolution (elle peut fournir des informations sur la taille, la conformation et la charge des molécules), son coût d'utilisation est généralement faible pour les laboratoires ; c'est une technique polyvalente et qui peut être utilisée en parallèle, ou en série, avec de nombreuses autres techniques biochimiques ou biologiques [35].

1.1 Principe

L'électrophorèse est une méthode d'analyse physique de séparation reposant sur la migration différentielle de particules chargées dissoutes ou dispersées dans une solution électrolytique sous l'action d'un champ électrique continu. Les séparations électrophorétiques peuvent être conduites soit dans des systèmes sans phase support (exemple : électrophorèse capillaire libre en solution) soit dans des milieux stabilisants tels que des plaques à couche mince, des films ou des gels [36].

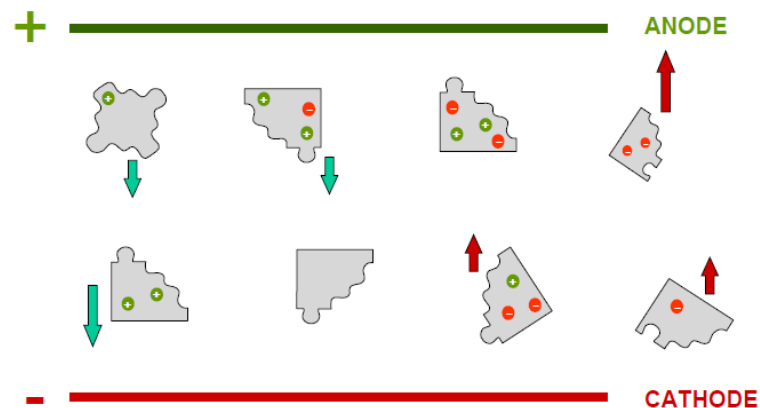


Figure 03 : Schéma représentant la différence de mobilité des composés entre deux électrodes [37].

1.2 Historique

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

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

Dans les années 90, se développe l'électrophorèse capillaire automatisée, plus performante et plus adaptée aux laboratoires de biologie clinique car rapide, quantitative et reproductible [38].

2 Étude théorique du déplacement électrophorétique

2.1 Mobilité électrophorétique

D'un point de vue expérimental, la mobilité électrophorétique d'un ion dépend principalement du pH et de la force ionique du tampon, de l'ajout d'une espèce complexante au tampon et enfin de la température [39].

Soit une particule de charge positive $+Q$, supposée sphérique (rayon r), dans un milieu liquide de viscosité η et dans un champ électrique E .

Cette particule est soumise :

-A une force électrique $\vec{F} = Q \cdot \vec{E}$ (déplacement vers le pôle de charge opposée).

-A une force de frottement \vec{F}' de sens opposé au déplacement et proportionnelle à la vitesse de déplacement v de la particule (cette force s'oppose au déplacement précédent), $\vec{F}' = f \cdot \vec{v}$ (f : coefficient de frottement) [4].

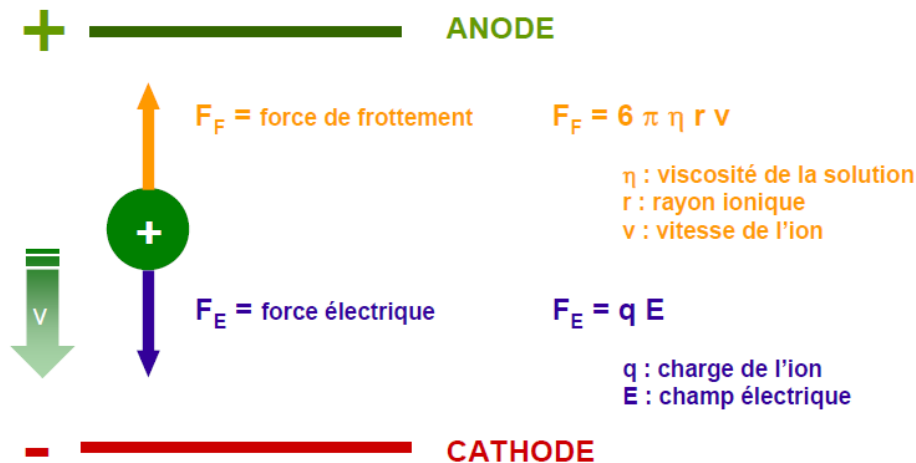


Figure 04 : Représentation schématique des forces qui s'exercent sur une particule en migration [37].

Au bout d'un certain temps la particule se déplace avec un mouvement rectiligne uniforme (égalité des forces : accélération γ nulle) : la vitesse de déplacement v atteint une valeur constante : la vitesse limite v_L :

$$\vec{F} + \vec{F}' = m \cdot \vec{\gamma} = \vec{0}$$

Soit en valeur absolue :

$$Q \cdot E - f \cdot v_L = 0$$

$$v_L = \frac{Q}{f} \cdot E = u \cdot E$$

u : mobilité électrophorétique (absolue) caractéristique de la particule.

$$u = \frac{v_L}{E} = \frac{Q}{f}$$

La particule étant supposée être une sphère de rayon r , $f = 6 \pi \cdot \eta \cdot r$, les expressions de la vitesse limite et de la mobilité électrophorétique u sont :

$$v_L = \frac{Q}{6\pi\eta r} \cdot E \quad \text{et} \quad \mathbf{u} = \frac{Q}{6\pi\eta r}$$

Chaque espèce de molécules ayant des mobilités différentes il est possible en se basant sur cette propriété d'effectuer leur séparation, c'est le principe de l'électrophorèse [4].

2.2 Migration électrophorétique

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

- Si $\text{pH} > \text{pHi}$ → charge nette négative (Anion) → migration vers l'anode.
- Si $\text{pH} < \text{pHi}$ → charge nette positive (Cation) → migration vers la cathode.
- Si $\text{pH} = \text{pHi}$ → charge nette nulle → pas de migration [40].

2.3 Evaporation

Pendant la migration électrophorétique l'intensité du courant I augmente avec la différence du potentiel V provoquant une augmentation de température du milieu par dissipation de l'énergie sous forme de chaleur ; c'est l'effet Joule.

Ce chauffage peut produire une certaine évaporation de la solution tampon, qui entraîne, par capillarité, un déplacement de la solution des extrémités vers le centre, il dépend du voltage. La force ionique tend donc à s'accroître progressivement. Il nécessite d'utiliser, surtout à haut voltage, un refroidisseur externe (par effet Peltier : couvercle de refroidissement) [36,41,42].

2.4 Diffusion

Selon la loi de Fick, lorsqu'il y a une différence de concentration entre deux régions d'une solution, des ions ou des molécules quittent la région la plus concentrée vers la plus diluée. La vitesse de diffusion est directement proportionnelle au gradient de concentration [43].

3 Théories plus élaborées de l'électrophorèse

Un modèle physique beaucoup plus en accord avec l'expérience que le précédent est celui de Gouy, Chapman et Stern, selon lequel le rayon de la particule doit faire intervenir non seulement l'espèce elle-même mais aussi plusieurs couches d'ions qui l'entourent dans la solution. Il en résulte une autre expression du potentiel électrique à la surface de la particule et donc une autre expression de la mobilité.

Selon cette théorie, l'ion central de rayon r est entouré d'une couche d'ions solidement liés par attraction électrostatique à la particule. Le rayon de l'ion central plus l'épaisseur de cette couche conduit à un rayon a ($a > r$) [44].

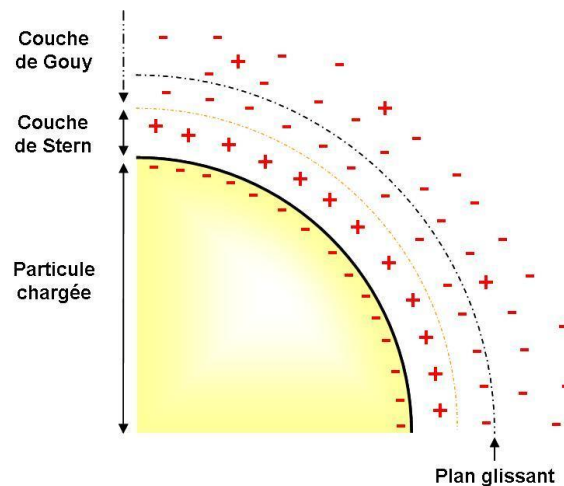


Figure 05 : Schéma de la double couche ionique de solvatation d'une particule [45].

4 Facteurs influençant le déplacement électrophorétique

4.1 Nature des molécules

4.1.1 Charge

La charge influence directement la mobilité des substances. Elle est en fonction du pH pour les molécules ionisables, de la force ionique et de la formation éventuelle de complexes. Le signe de la charge détermine le sens de migration et sa vitesse [44].

4.1.2 Taille

Les petites molécules migrent plus facilement mais leur mobilité dépend également des autres substances dissoutes susceptibles de les solvater et de diminuer leur vitesse [44].

4.2 Appareillage

4.2.1 Nature du support

4.2.1.1 Son pouvoir adsorbant

Certains supports possèdent des propriétés adsorbantes qui sont liées à la présence de certains groupements fonctionnels comme les hydroxyles et peuvent fixer les molécules de solvant ou de solutés. Il en résulte un ralentissement de la migration entraînant un élargissement des zones sur l'électrophorogramme [44].

4.2.1.2 Formation de la double couche électrique

Responsable du phénomène électro-osmose. Pour limiter cet effet, on cherche quand on le peut à se placer dans des conditions d'ionisation telles que les substances soient chargées négativement [36].

Exemple : électrophorèse des protéines (pH basique).

4.2.2 Champ électrique

Le champ électrique E représente la chute de potentiel V (en volts) par unité de longueur entre deux électrodes séparées par une distance L (en cm). $E = V/L$

On conçoit que plus la différence de potentiel V est élevée, plus le champ électrique est grand et plus la molécule migre rapidement, et plus les électrodes sont rapprochées plus le champ électrique est élevé.

D'autre part on peut exprimer V par la loi d'Ohm : $V = R.I$

Avec : I = intensité (ampères) et R = résistance (en ohms).

Pour modifier une séparation, il est donc théoriquement possible de varier l'intensité du courant. En fait, cette possibilité est relativement limitée : trop faible, la séparation est mauvaise du fait de phénomènes de diffusion ; trop élevée, la chaleur dégagée par l'effet Joule entraîne une évaporation de solvant. Si la température du milieu n'est pas homogène, les vitesses de migration deviennent inégales provoquant des déformations des zones et une diminution de la résolution.

En raison de ces deux faits il est nécessaire de choisir une différence de potentiel suffisante pour avoir une migration rapide mais pas trop élevée pour ne pas générer trop de chaleur par effet Joule et utiliser des générateurs capables de travailler à courant constant ou voltage constant et idéalement à température constante [42,44].

4.3 Force ionique

La force ionique choisie est un compromis entre rapidité et résolution, choix qui dépend en plus de la solubilité des molécules à séparer (précipitation des protéines en milieu de faible force ionique), des associations entre macromolécules (qui augmentent à faible force ionique) et de l'effet Joule (qui augmente à force ionique élevée).

La présence d'ions étant nécessaire au passage du courant, un compromis est obtenu avec une force ionique comprise entre 0,05 et 1 mol/l [42,44].

4.4 pH

Le pH influe sur l'ionisation des acides faibles et bases faibles, pour lesquels il s'avère nécessaire de travailler dans un milieu tamponné. Pour les substances amphotères, le pH joue un rôle déterminant dans l'ionisation de la molécule et donc dans la définition de sa charge électrique : (pH_i = pH isoélectrique pour lequel la substance possède une charge nulle et qui la rendra donc immobile quand le $pH = pH_i$ du tampon).

Soit un acide faible HA, il existe un déplacement de l'équilibre d'ionisation tout au long du trajet de l'acide faible entre les deux électrodes. Les équilibres successifs entre HA et A^- entraînent une diminution de la mobilité électrophorétique de A^- [44,46].

4.5 Nature des solutions

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

- La présence d'EDTA ou d'acide citrique favorise par complexation la séparation de certains ions minéraux.
- Les ions boratés forment avec les sucres des complexes chargés rendant ainsi possible leur séparation électrophorétique.
- L'addition d'urée modifie le comportement électrophorétique des macromolécules par rupture de liaisons hydrogène.
- Le SDS (agent mouillant), le β -mercaptoéthanol ou dithiothréitol (maintien des groupes thiols à l'état réduit et rupture des ponts disulfures) [42,44].

5 Principales techniques électrophorétiques

5.1. Électrophorèse en veine liquide

Il s'agit de la première méthode électrophorétique décrite. Elle a été mise au point par Tiselius. La solution échantillon est placée dans un tube en U et recouverte d'une solution tampon. Les électrodes sont placées dans le tube où l'on applique le champ électrique. Les différents constituants du mélange migrent pendant un temps t et une séparation partielle du mélange est obtenue dans chaque branche [44].

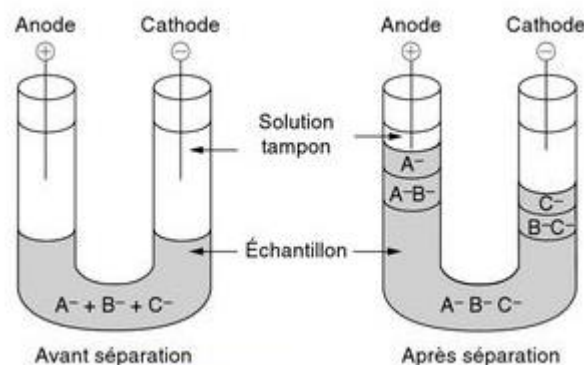


Figure 06 : Représentation schématique d'une séparation des protéines sériques par électrophorèse en veine liquide [37].

5.2 Électrophorèse de zone utilisant un support

La migration des molécules s'effectue sur un support solide imprégné d'une solution tampon. Le support sert, entre autres à minimiser la diffusion des substances lors de la migration. Il s'agit d'une séparation selon la charge et selon la taille (influence du diamètre des pores) [4,44].

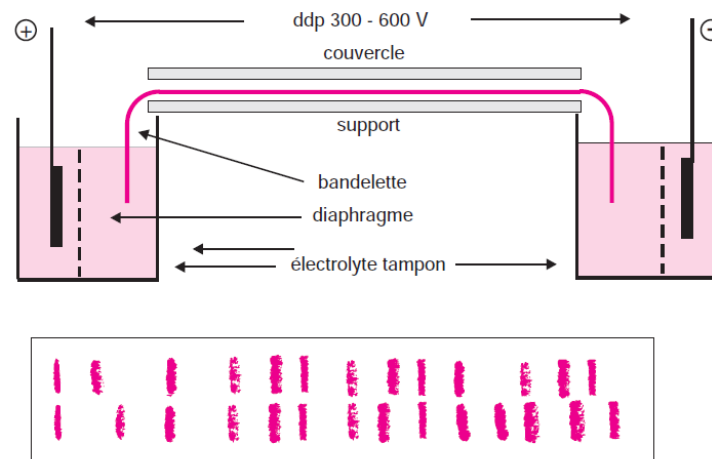


Figure 07 : Schéma du principe de l'appareillage de l'électrophorèse de zone [47].

Selon la nature du support, diverses techniques ont été décrites, on citera :

5.2.1 Électrophorèse sur papier

La forme la plus simple mais elle est de moins en moins utilisée car le papier possède des propriétés adsorbantes et entraîne ainsi un phénomène électroosmotique élevé [44,48].

5.2.2 Electrophorèse sur acétate de cellulose

La porosité des supports en acétate de cellulose est plus uniforme et homogène que celle du papier limitant ainsi le phénomène d'adsorption et améliorant la révélation mais la fragilité de ce support et sa faible résolution ont limité son utilisation [44].

5.2.3 Electrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode de choix pour la séparation de grosses molécules. Le déplacement des molécules à travers ce support est retardé par les interactions avec la matrice gel qui constitue le milieu de migration et se comporte comme un tamis moléculaire. Ce mouvement dépend de la taille et la charge des particules à séparer ainsi que la taille des pores présents dans le gel [36,49,50].

Le principal inconvénient de cette méthode est le manque de résolution suffisante pour analyser les petites protéines (<30 kDa) [51].

5.2.4 Electrophorèse sur gel polyacrylamide PAGE

Ce type de séparation électrophorétique permet le fractionnement des espèces en fonction de la charge de leur surface dans un environnement non dénaturant.

L'électrophorèse SDS-PAGE (électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du dodécyl sulfate de sodium) est l'une des techniques de séparation des protéines la plus fréquemment utilisée. Elle permet une identification quantitative et qualitative.

L'utilisation d'un détergent ionique tel que le SDS permet la dénaturation des protéines d'une manière à ce que la séparation électrophorétique soit indépendante de la charge [50].

6 Electrophorèse capillaire

6.1 Principe

L'électrophorèse capillaire est une méthode d'analyse physique reposant sur la migration à l'intérieur d'un capillaire, sous l'effet d'un champ électrique continu, de substances chargées dissoutes dans une solution d'électrolytes [36].

La séparation résulte de deux mécanismes de transport, l'électromigration et l'électroosmose.

6.1.1 Électromigration

L'électromigration résulte du déplacement d'une espèce chargée lorsqu'elle est soumise à un champ électrique. La vitesse linéaire acquise (ou vitesse électrophorétique) est alors en fonction du champ électrique et de la mobilité électrophorétique de l'ion selon la relation suivante :

$$v_{ep} = m_{ep} \cdot E$$

Avec :

v_{ep} : vitesse électrophorétique ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$).

E : champ électrique ($\text{V} \cdot \text{cm}^{-1}$).

m_{ep} : mobilité électrophorétique ($\text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$).

L'électromigration s'effectue dans le sens du champ électrique (mobilité électrophorétique positive) pour les cations et dans le sens opposé pour les anions (mobilité électrophorétique négative).

La mobilité électrophorétique d'un soluté dépend de ses caractéristiques propres (charge électrique, taille et forme moléculaires) et de celles du tampon dans lequel s'opère la migration (nature et force ionique de l'électrolyte, pH, viscosité, l'ajout d'une espèce complexante au tampon et enfin de la température) [36,52].

6.1.2 Electroosmose

Le phénomène d'électroosmose correspond à l'écoulement d'un liquide remplissant un capillaire (dont la paroi interne possède une charge de surface) lorsque celui-ci est soumis à un champ électrique. Dans le cas d'un capillaire en silice fondue, les charges de surface sont dues à l'ionisation négative des groupements silanols dès que le pH est supérieur à 2. Lorsque le capillaire est rempli d'un tampon électrophorétique, les cations du tampon sont attirés vers les charges

négatives de la surface du capillaire, formant ainsi une double couche électrique, caractérisée par un potentiel de surface ou potentiel zêta (ζ) :

$$\zeta = \frac{\delta\sigma}{\varepsilon}$$

Avec

δ : épaisseur de la double couche,

σ : densité de charges par unité de surface,

ε : constante diélectrique du milieu.

Lors de l'établissement d'un champ électrique à cette interface, les cations de charge opposée à celles de la surface du capillaire de silice fondue et présents en excès dans la couche de diffusion migrent vers la cathode et entraînent avec eux les molécules de solvant, créant ainsi un écoulement de toutes les espèces présentes au sein du capillaire, nommé électroosmose [52].

En règle générale, une surface négative provoque un flux électroosmotique dirigé vers la cathode [47].

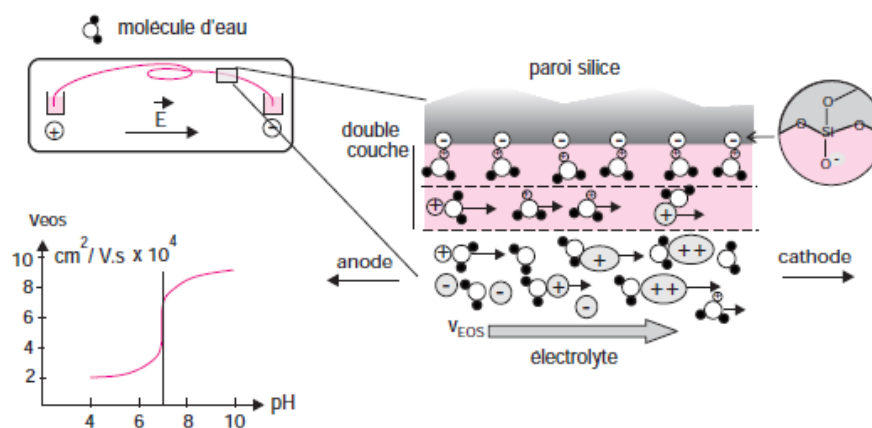


Figure 08 : Représentation du flux électroosmotique dans un capillaire rempli par un électrolyte [47].

En revanche si on ajoute un surfactant, tel un tétra alkyl ammonium, pour inverser la polarité de la paroi, le flux électroosmotique se dirige vers l'anode.

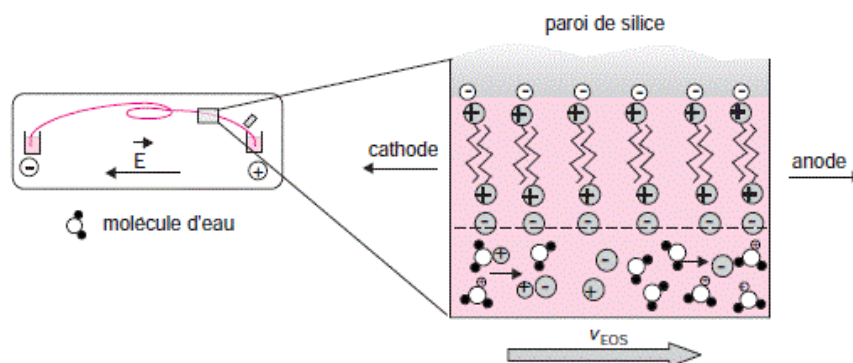


Figure 09 : Représentation de l'effet d'un surfactant cationique sur la paroi de silice [47].

La vitesse linéaire de cet écoulement (v_{eo}) est alors proportionnelle à l'intensité du champ électrique E et à la mobilité électroosmotique m_{eo} :

$$v_{eo} = m_{eo} \cdot E$$

La mobilité électroosmotique est égale à :

$$m_{eo} = \zeta \varepsilon / \eta$$

Avec η : viscosité du liquide dans la couche de diffusion.

L'écoulement électroosmotique dépend des caractéristiques du potentiel zêta, de la viscosité et de la constante diélectrique du tampon électrophorétique. Il s'exerce dans le sens du champ électrique ou dans le sens opposé selon le signe de la charge surfacique du capillaire [52].

6.2 Vitesse apparente

On définit la vitesse apparente (vitesse totale) d'un soluté v_{app} , et la mobilité apparente μ_{app} comme : [47]

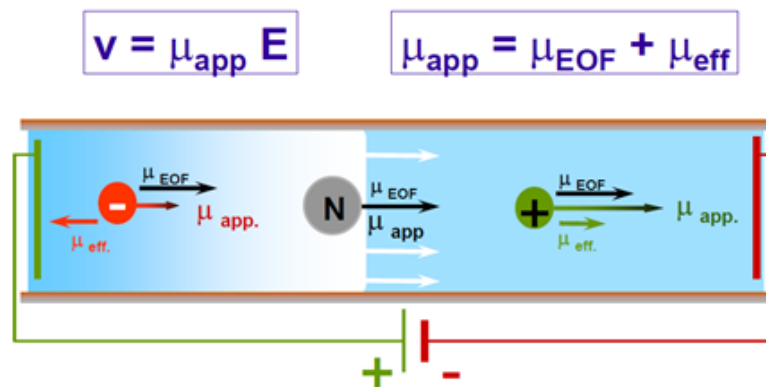


Figure 10 : Représentation schématique de la séparation des molécules en électrophorèse capillaire [37]

6.3 L'ordre d'éluion

Le FEO (Flux Electro Osmotique) entraîne vers la cathode d'abord les molécules chargées positivement puis les molécules neutres et enfin les molécules chargées négativement. De plus, les cations qui possèdent le rapport charge/masse le plus élevé migrent avant les cations dont le rapport est plus faible. Ce rapport peut être modifié en ajustant le pH du tampon de migration, affectant ainsi l'état d'ionisation et donc la mobilité électrophorétique [41].

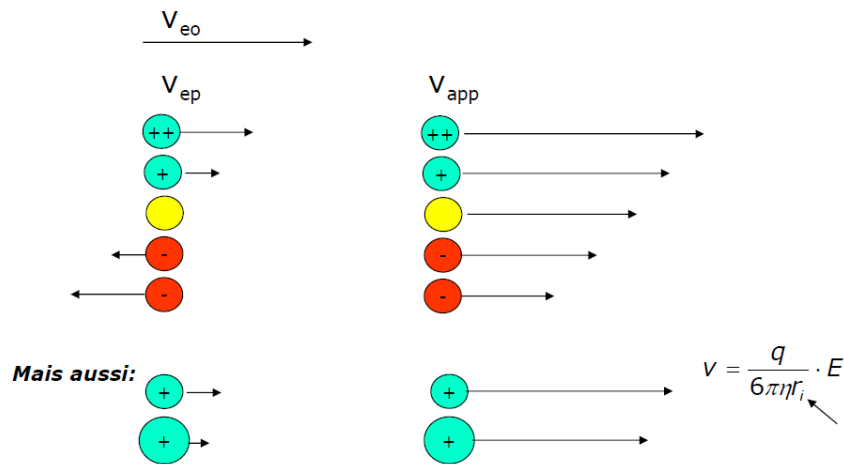


Figure 11 : Ordre d'éluion en électrophorèse capillaire [53].

6.4 Caractéristique du débit électroosmotique

Le débit électroosmotique issu de la couche diffuse est uniforme et il a un profil étroit (ne cause pas un élargissement significatif de la bande). Contrairement à la chromatographie, l'électrolyte n'est pas poussé dans le capillaire : il est tracté par l'effet de la paroi, ce qui conduit à un front de migration plan pour chaque analyte (Flux électroosmotique : profil plat = efficacité élevée) et non parabolique comme en CLHP (Flux hydrodynamique : profil parabolique = efficacité réduite) [54].

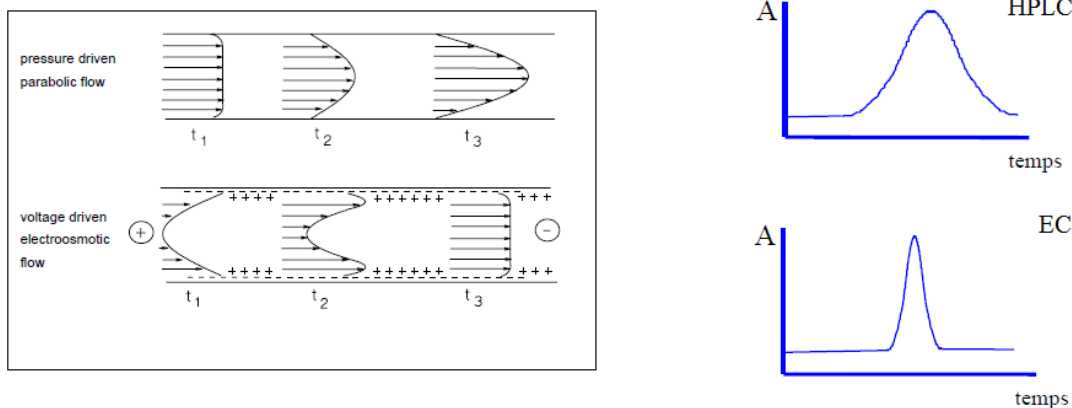


Figure 12 : Comparaison d'un profil électro-osmotique et celui d'un flux pompé [53].

6.5 Appareillage

Un appareil d'électrophorèse capillaire comprend le capillaire de séparation, les deux électrodes, le générateur haute tension, les systèmes d'injection et de détection. Le capillaire de séparation a une longueur importante (20 à 100 cm) et un diamètre faible (50 ou 75 μm). Les deux extrémités du capillaire sont plongées dans des récipients contenant des tampons ioniques. L'anode et la cathode sont en platine et reliées à une alimentation haute tension permettant de délivrer des tensions positives ou négatives allant jusqu'à 30 kV. Selon les séparations, l'injection a lieu du côté anodique ou du côté cathodique. La détection s'effectue au travers du capillaire et à quelques

centimètres de l'extrémité terminale du capillaire pour les détections les plus courantes (spectrométrie d'absorbance UV-visible et fluorimétrie) ou à l'extrémité du capillaire lors du couplage avec la spectrométrie de masse [55].

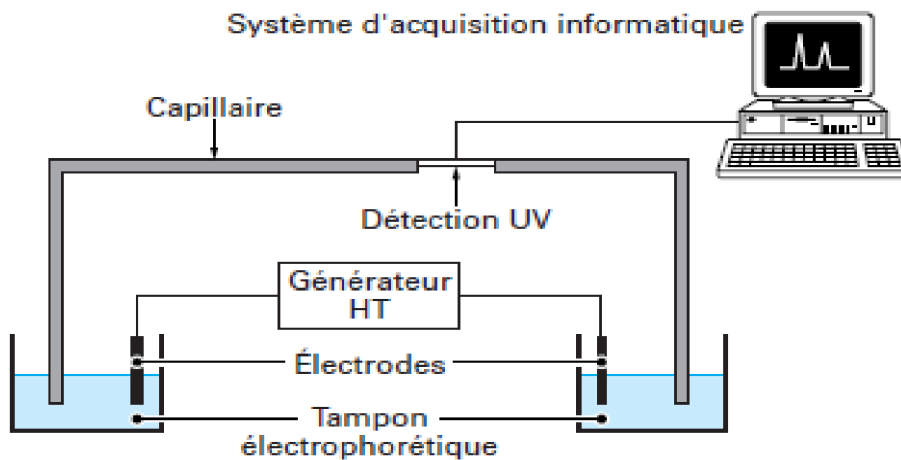


Figure 13 : Schéma de l'appareillage de l'électrophorèse capillaire [55].

6.6 Application de l'électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire (EC) a été initialement développée pour l'analyse de protéines dans les différents milieux biologiques (sang, urine et LCR) mais ces applications se sont étendues à l'immunotypage ou immunosoustraction (identification immunologique des immunoglobulines monoclonales), électrophorèse de l'hémoglobine à la recherche d'une anomalie génétique de l'hémoglobine, la séparation des différentes isoformes de la transferrine et le dosage de la transferrine désialylée (CDT) (pour le dépistage d'une consommation excessive d'alcool), la séparation des lipoprotéines, la mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), l'analyse des ions et de petites molécules neutres ou chargées, polaires ou apolaires, organiques ou inorganiques et celle des macromolécules biologiques (ADN, polysaccharides...). Les caractéristiques de cette méthode séparative (très faible volume de l'échantillon, opérations de préparations simplifiées, faible coût d'utilisation, consommation de peu de solvants polluants, robustesse de l'instrumentation) en font un puissant outil de travail en toxicologie clinique et médico-légale. L'EC est un outil performant qui trouve notamment sa place aussi bien dans l'industrie pharmaceutique (analyse chirale, dosage et détermination de la pureté des principes actifs...) que dans les domaines de l'environnement et de l'alimentaire (analyse d'eaux, de boissons...) [41,56,57,58,59].

6.7 Électrophorèse capillaire des protéines sériques

L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) est une analyse très utile en laboratoire d'analyses cliniques pour rechercher les modifications du profil protéique. Parallèlement aux techniques d'électrophorèse sur différents supports, dont le gel d'agarose, la technique d'électrophorèse capillaire s'est développée car elle offre l'avantage d'une automatisation complète de l'analyse, de séparations rapides et d'une bonne résolution. L'EPS permet la séparation de six fractions de

protéines de mobilité différente : Albumine, α -1 globulines, α -2 globulines, β -1 globulines, β -2 globulines et γ globulines [60].

La quantification est possible à partir du dosage des protéines totales et de la détermination des pourcentages des différentes fractions protéiques (chaque fraction contient un ou plusieurs constituants sériques) [61].

L'ordre de migration est inversé par rapport à l'électrophorèse sur gel car le déplacement des protéines utilise en fait le courant d'électroendosmose. L'ordre traditionnel a cependant été conservé par le fournisseur afin de ne pas perturber les habitudes des utilisateurs biologistes et médecins [9].

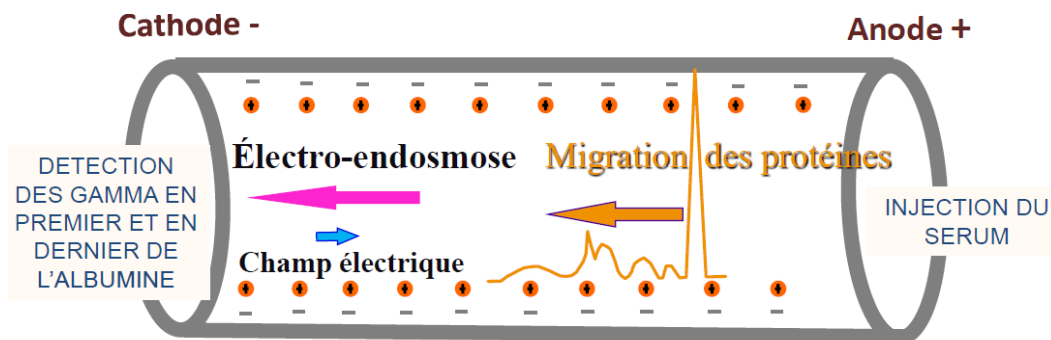


Figure 14 : Schéma représentatif de l'ordre de migration des fractions des protéines sériques en électrophorèse capillaire [62].

6.7.1 Indications de l'EPS

L'électrophorèse des protéines sériques est un examen qui permet d'aider au diagnostic et au suivi d'une pathologie ou d'efficacité d'une thérapeutique.

Sa prescription se justifie :

- Devant des signes cliniques : infections répétées, signes d'hyperviscosité, adénopathies, hépatosplénomégalie, douleurs osseuses, troubles hépatiques, neuropathies, altération de l'état général, syndrome inflammatoire inexpliqué, fracture non traumatique (en particulier vertébrale), douleurs osseuses ou articulaires inexpliquées.
- Devant des signes biologiques : VS augmentée, hypoprotidémie, insuffisance rénale, hypercalcémie, anomalies de l'hémogramme, perturbations hépatiques.
- Devant des signes radiologiques : ostéoporose non attendue, fracture, lésions ostéolytiques, compression médullaire, condensations osseuses.
- Dépistage et suivi des gammopathies [63]

6.7.2 Profils électrophorétiques

Les principaux profils électrophorétiques sont :

❖ Profil normal

Les protéines du sérum normal humain sont séparées en six fractions majeures (par technique capillaire). Le profil normal se caractérise par un aspect gaussien en gamma et aucune augmentation ou déformation ou pic additionnel en gamma, bêta-1, bêta-2, alpha-1 et alpha-2 [60,62].

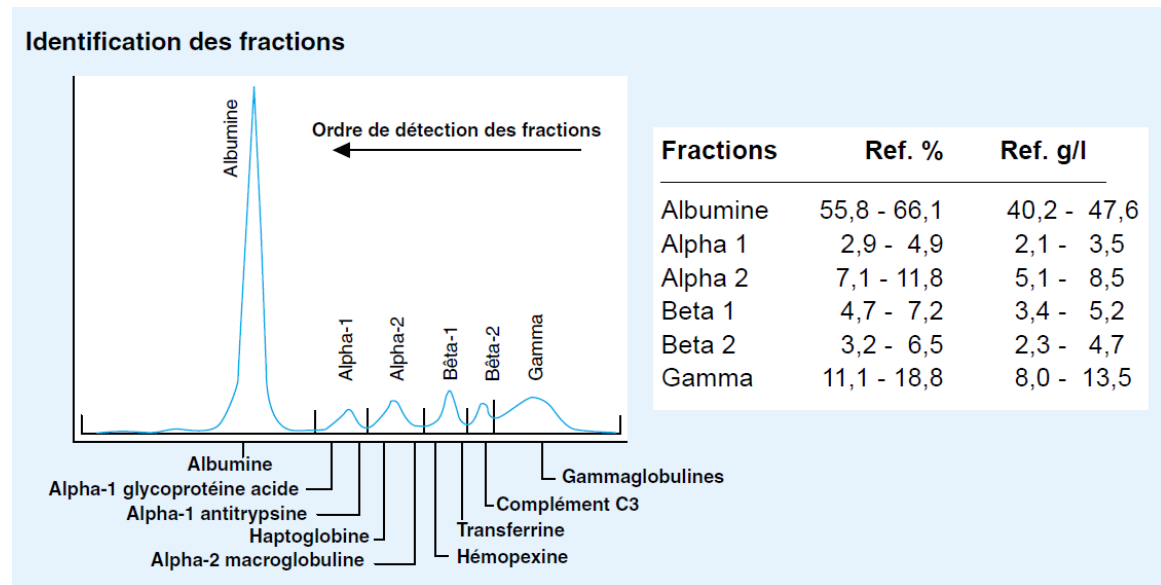


Figure 15 : Profil électrophorétique normal [9].

❖ Profil inflammatoire aiguë

Hyper alpha-1 et hyper alpha-2 liées à l'augmentation des protéines inflammatoires (alpha-1 antitrypsine, orosomucoïde et haptoglobine) et diminution de l'albumine [62,64].

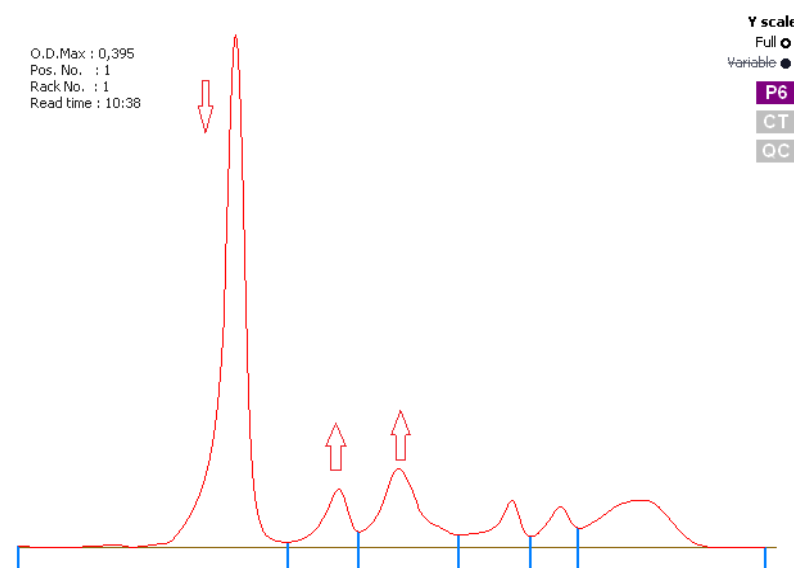


Figure 16 : Profil inflammatoire aiguë [62].

❖ Profil inflammatoire chronique

Hyper alpha-1 et hyper alpha-2 liées à l'inflammation, hypergammaglobulinémie liée à l'augmentation des Ig (Augmentation polyclonale des IgA en bêta-2 et des IgG en gamma) [62,64].

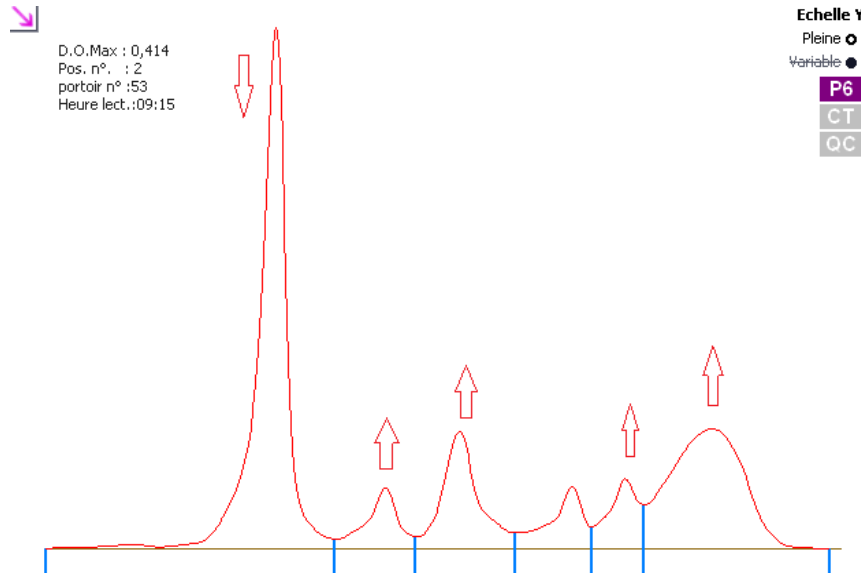


Figure 17 : Profil inflammatoire chronique [62].

❖ Profil néphrotique

Le tracé du syndrome néphrotique se caractérise par une hyper alpha-2 importante liée à l'augmentation de l'alpha-2-macroglobuline, associée à une hypoprotidémie sévère due à la fuite rénale et à une protéinurie massive et diminution de la fraction gamma [62,64].

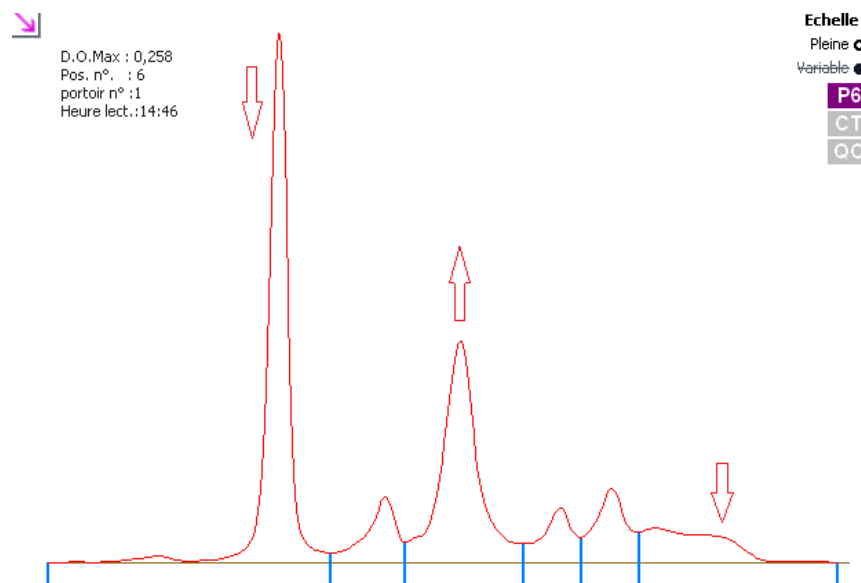


Figure 18 : Profil néphrotique [62].

❖ Profil cirrhotique

Augmentation polyclonale des Ig A en bêta-2 et des Ig G en gamma (bloc beta-gamma) [62].

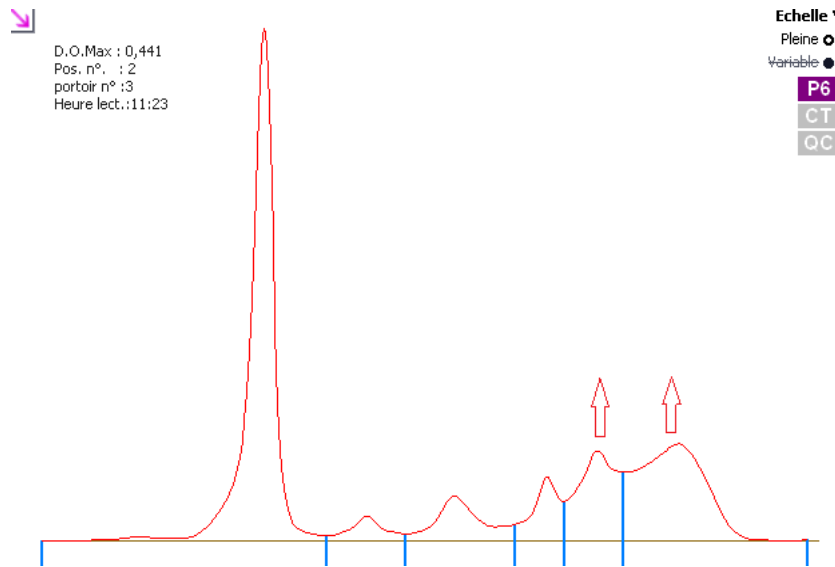


Figure 19 : Profil cirrhotique (bloc bêta-gamma) [62].

❖ Profil avec bisalbuminémie

Dédoublement du pic d'albumine lié à la présence d'un variant moléculaire ou dû à la fixation d'un médicament modifiant la charge et donc la mobilité d'une fraction de la protéine [64].

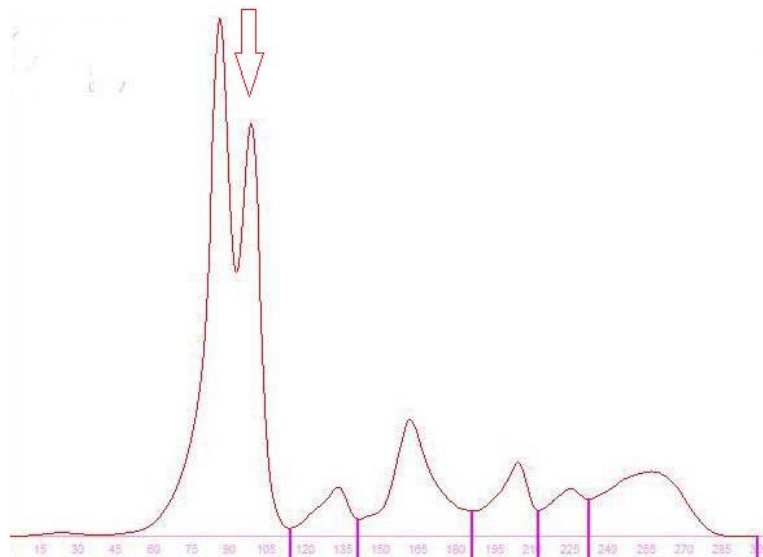


Figure 20 : Profil d'une bisalbuminémie [62].

❖ Profil avec hypogammaglobulinémie

Hypo gamma liée à une à une diminution congénitale ou acquise des IgG [64].

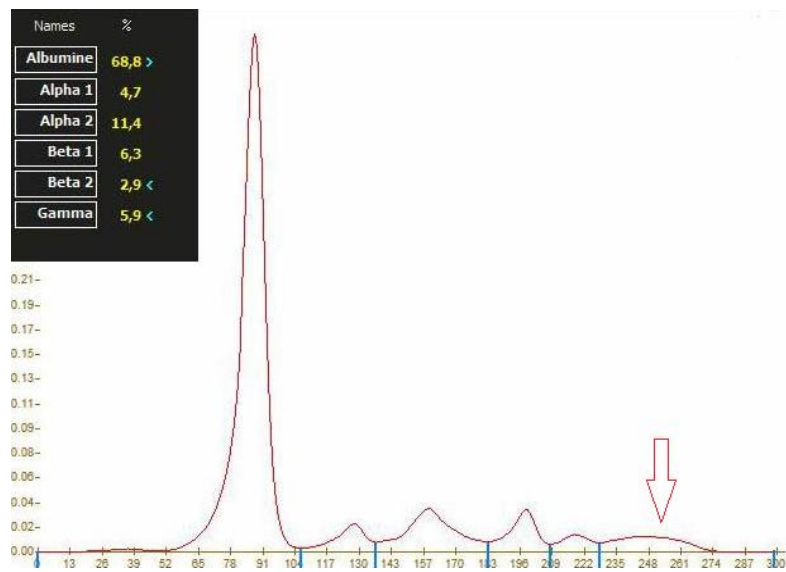


Figure 21 : Tracé d'une hypogammaglobulinémie [62].

❖ Profil oligoclonale

Présence de multiples déformations dans la zone des gamma associées à des traitements immunosuppresseurs, des infections à CMV, HIV, hépatite C et certains processus néoplasiques [62].

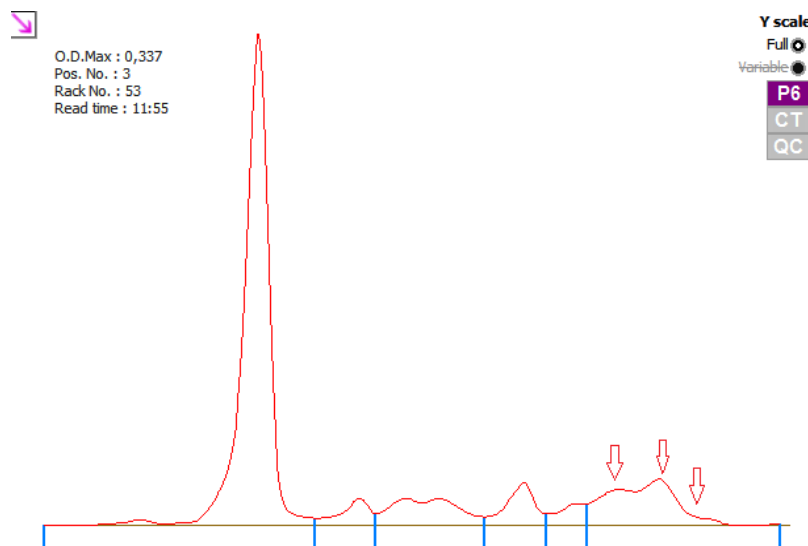


Figure 22 : Profil oligoclonal potentiel en gamma [62].

❖ Profil avec une hypergammaglobulinémie polyclonale

Hyper gamma liée à la stimulation de nombreux clones d'Ig dans le cadre de maladies infectieuses ou auto-immunes. L'augmentation polyclonale de la fraction gamma se caractérise par une base large et un sommet arrondi [62,64].

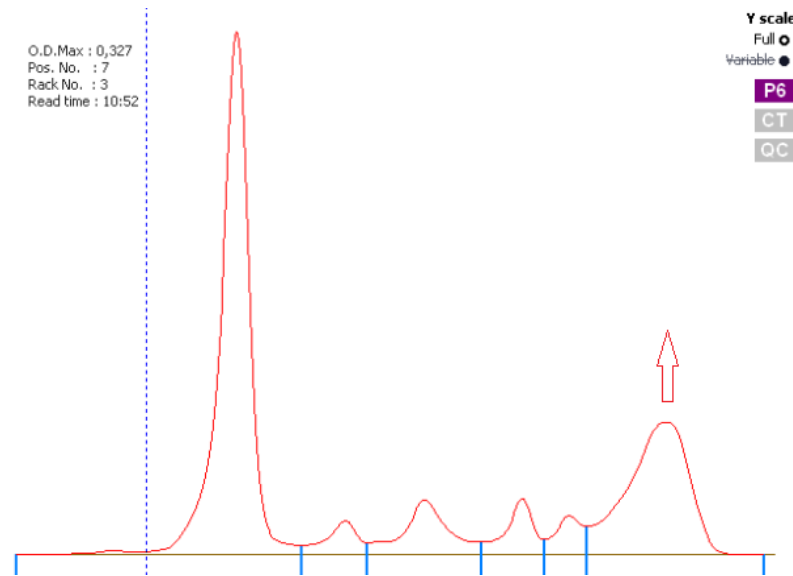


Figure 23 : Profil avec hypergammaglobulinémie polyclonale [62].

❖ Profil avec gammaglobulinémie monoclonale

Emergence d'un clone d'Ig dans les gammopathies malignes (myélome, Waldenström) ou de signification indéterminée MGUS, responsable d'un pic monoclonal d'importance variable sur le protéinogramme (zone bêta ou gamma). Le pic monoclonal se caractérise par une base étroite et un sommet pointu [62,64].

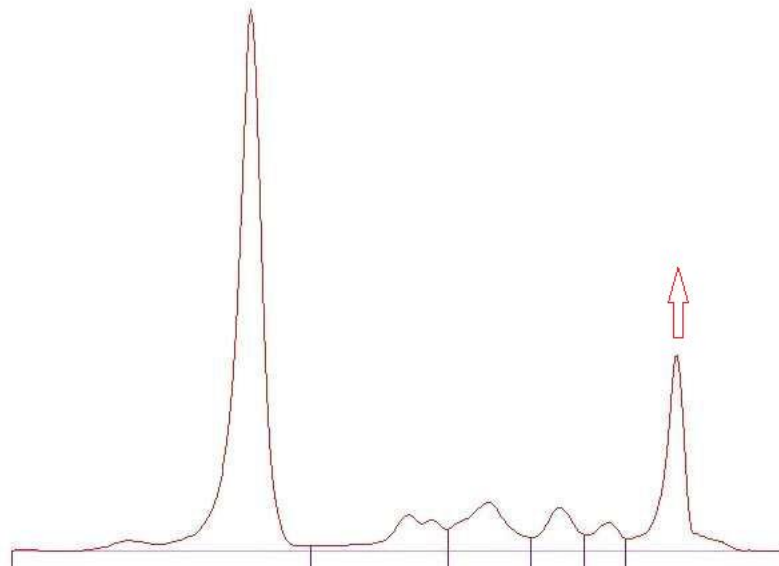


Figure 24 : Exemple d'un profil électrophorétique avec pic monoclonal important en gamma [63].

**CHAPITRE III :
ETABLISSEMENT
ET VERIFICATION
DES INTERVALLES
DE REFERENCE AU
LABORATOIRE DE
BIOLOGIE
MEDICALE**

1 Généralités

Le résultat d'un test de laboratoire mesuré ou observé chez une personne (généralement un patient) est comparé à un intervalle de référence dans le but d'établir un diagnostic médical, de prendre une décision de gestion thérapeutique ou de procéder à une autre évaluation physiologique [65].

La fourniture d'intervalles de référence fiables est une tâche importante pour les laboratoires cliniques et les fabricants de tests de diagnostic [66].

L'établissement des intervalles de référence au laboratoire d'analyses médicales repose sur les travaux de la fédération internationale de chimie clinique IFCC et du clinical and laboratory standards institute (CLSI) ainsi sur les documents de normalisation et les recommandations des sociétés savantes (le guide de bonne exécution des analyses GBEA en biologie médicale, norme ISO 15189, directive 98/79/CE...) [67].

Les valeurs de référence les plus couramment utilisées (appelées "valeurs normales" et parfois "valeurs attendues") ont traditionnellement été mal définies et ne sont certainement pas déterminées par un processus uniforme. Il est maintenant évident qu'il est important de développer des intervalles de référence en utilisant un processus plus systématique qui prend en compte les différentes influences sur les résultats des tests de laboratoire mesurés [65].

2 Terminologie

Les définitions qui suivent ont été approuvées par IFCC-LM, ICSH ainsi que par l'OMS, puis par CLSI [65].

- **Individu de référence** : une personne sélectionnée pour les tests sur la base de critères bien définis.
- **Population de référence** : un groupe composé de tous les individus de référence.
- **Échantillon de référence** : un nombre adéquat de personnes sélectionnées pour représenter la population de référence.
- **Valeur de référence** : la valeur (résultat du test) obtenue par l'observation ou la mesure d'une quantité définie sur un individu de référence.
- **Distribution de référence** : distribution des valeurs de référence.
- **Limite de référence** : valeur dérivée de la distribution de référence et utilisée à des fins descriptives.
- **Intervalle de référence** : l'intervalle entre deux limites de référence (celles-ci incluses).
- **Valeur observée** : valeur d'un analyte (résultat du test de laboratoire du patient), obtenue par observation ou mesure d'un sujet à tester (c'est-à-dire un patient), qui doit être comparée à des valeurs de référence, distributions de référence, limites de référence ou intervalles de référence.

- **Limites de décision médicales** : elles sont utilisées par le clinicien comme un seuil en-dessous ou au-dessus duquel une action médicale est recommandée. Elles sont établies soit par des méthodes statistiques, soit à partir d'études épidémiologiques ou enfin, très fréquemment, par consensus. Elles remplacent les limites de référence pour quelques analytes (ex. : cholestérol total, hémoglobine glyquée...). Pour ces analytes, il est inutile de déterminer des limites de référence ou de valider celles de la littérature [67].

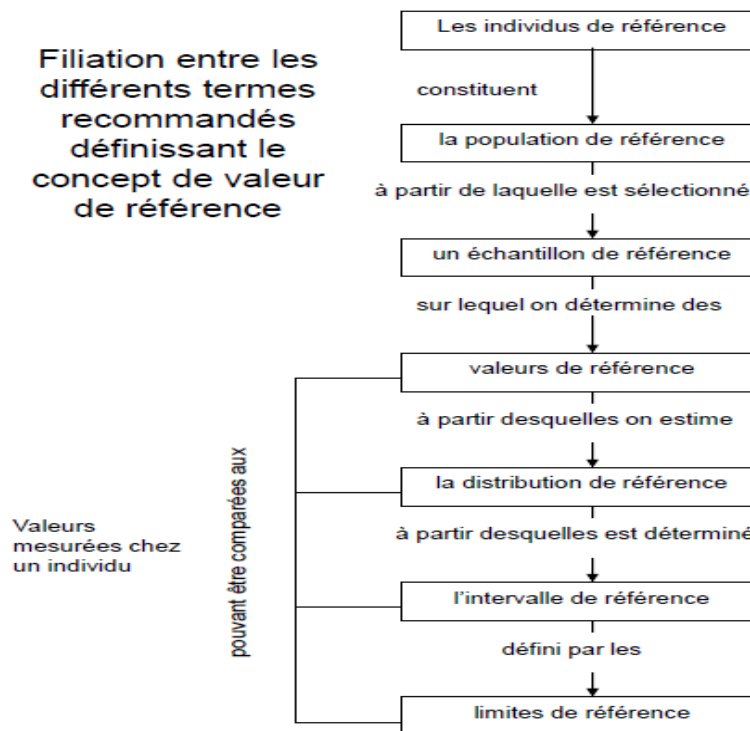


Figure 25 : Relation entre les différents termes employés dans la définition du concept des valeurs de référence [68].

3 Les recommandations et le protocole de base pour l'établissement des valeurs de référence décrits par l'IFCC-LM et la CLSI

- **Nouvel analyte ou nouvelle méthode** :
 - Etablir la liste des facteurs de variations biologiques et d'interférences analytiques à partir des données de la littérature médicale et scientifique.
 - Déterminer les critères d'exclusion et de partition sur la base d'un questionnaire adapté.
 - Rédiger un formulaire de consentement écrit et le faire signer par les individus sélectionnés.
 - Classer les individus de référence potentiels sur la base des données du questionnaire ou d'autres modes d'évaluation de l'état de santé.

- Exclure les individus de l'échantillon de référence en fonction de critères prédéterminés.
- Définir le nombre adéquat d'individus de référence : selon les recommandations internationales de l'IFCC-LM et le CLSI un nombre d'individu ≥ 120 pour chaque sous-groupe de personnes est suggéré.
- Préparer les individus sélectionnés pour la collecte de l'échantillon en adéquation avec les procédures habituellement utilisées pour les patients au laboratoire.
- Recueillir et traiter les échantillons.
- Collecter les valeurs de référence : analyser les spécimens suivant des méthodes bien définies et décrites.
- Contrôler les valeurs de référence et établir un histogramme pour évaluer la distribution des données.
- Identifier de possible erreurs et/ou des valeurs aberrantes.
- Analyser les valeurs de référence : sélectionner une méthode statistique puis calculer les limites de référence et l'intervalle de référence.
- Documenter l'ensemble des étapes et des procédures suivies [65].

Remarque : La séquence d'opérations précédente est cohérente avec l'approche a priori de sélection des individus de référence et détermination des valeurs de référence [65].

- Analyte précédemment mesuré :

Dans une situation appropriée, il peut être acceptable de transférer un intervalle de référence basé sur une étude de valeur de référence précédemment établie et valide d'un laboratoire ou fabricant donneur à un laboratoire récepteur sans avoir à effectuer une nouvelle étude à grande échelle [65].

4 Sélection des individus de référence

Les valeurs de référence doivent être établies à partir d'échantillons de populations homogènes ou ensembles de référence.

Le degré d'homogénéité est en fonction des critères d'exclusion et d'inclusion retenus pour caractériser les ensembles de référence.

Les individus de référence seront sélectionnés soit à l'issue d'un examen clinique, soit à l'aide d'un questionnaire individuel de renseignements adaptés aux objectifs poursuivis, les individus « malades » ou présentant des « facteurs de risques » seront exclus [67].

4.1 Choix des critères de sélection

4.1.1 Choix des critères d'inclusion

Ce sont des facteurs de variations individuelles mesurables, les plus fréquents sont l'âge, le sexe, le poids, la taille et le tour de taille. Une fois établis, ils permettent la sélection d'une population

homogène qui convient pour l'établissement des valeurs de référence. Les critères de partition correspondent à des facteurs de variations maîtrisables, ils visent à classer les individus de référence en différentes sous classes [69].

4.1.2 Choix des critères d'exclusion

Ce sont des facteurs non maîtrisables, ils entraînent un biais incontrôlable, variable d'un individu à l'autre, ils visent à sélectionner des groupes d'individus en bonne santé en éliminant les individus « malades » ou « à risque ». En pratique courante, il faut essentiellement chercher à exclure :

- Les sujets atteints d'affections.
- Les sujets prenant des médicaments.
- Les sujets étant dans des états physiologiques particuliers : femmes enceintes, les sportifs après un exercice important, etc.
- Les sujets atteints de déviation ou de facteurs de risque : surcharge pondérale, alcoolisme, tabagisme, etc [69].

4.2 Technique d'échantillonnage

4.2.1 Technique d'échantillonnage directe (recommandée)

❖ La sélection à priori

Lorsque les critères d'exclusion et de partition sont bien définis avant la sélection des individus de référence, on parle de sélection a priori, qui consiste à ne retenir que 50 à 150 individus de référence pour chaque classe. Le processus de sélection sera mis en place avant le prélèvement sanguin [67,69].

❖ La sélection à posteriori

Lorsque ces mêmes critères sont appliqués après que le prélèvement ait été fait on parle d'échantillonnage a posteriori, qui se fait à partir d'une population tout venant de plus de 1000 sujets. Cette méthode est utilisée pour tout nouvel analyte ou lorsque les données de la littérature sont peu riches en informations pour déterminer les critères de sélection [67,69].

4.2.2 Technique d'échantillonnage indirecte

Cette technique est relativement simple et peu coûteuse, elle est employée principalement s'il est trop difficile de recueillir des échantillons en bonne qualité (ex : LCR...). Pour cela, on utilise les informations contenues dans une base de données d'un laboratoire ou d'un hôpital, puis, on applique des méthodes statistiques sophistiquées.

Des précautions particulières seront prises pour éviter d'inclure des valeurs d'individus « malades » ou « à risques » [67].

5 Considérations pré-analytiques et analytiques

Les résultats analytiques des populations de référence doivent refléter toutes les variables pré-analytiques et analytiques qui peuvent influencer les résultats des tests. Par conséquent, tous les facteurs pré-analytiques, y compris la préparation du sujet, la collecte d'échantillon et le traitement, la méthode d'analyse et l'instrumentation doivent être soigneusement définis et utilisés pour tester à la fois les personnes de référence et la population de patients [65].

5.1 Préparation du sujet

Une préparation inadéquate du sujet ou des écarts par rapport aux critères définis peuvent donner lieu à des résultats qui sont inexacts ou qui faussent les données [65].

Tableau 12 : Résumé des facteurs critiques [65].

Facteurs biologiques	Facteurs méthodologiques	Sources de variabilité
<ul style="list-style-type: none"> - Métabolique - Hémodynamique - Induction d'enzymes - Dommage cellulaire 	<ul style="list-style-type: none"> -Prélèvement de spécimens -Transport de spécimens -Manipulation des spécimens 	<ul style="list-style-type: none"> -Age -Sexe -Groupe sanguin -Exercice

5.2 Type de spécimen, collecte, manipulation et stockage

Le laboratoire doit disposer d'un manuel décrivant la collecte, la manipulation et le stockage des échantillons afin que des applications appropriées des intervalles de référence puissent être faites par le médecin lors de l'interprétation des résultats du patient.

Après la collecte, les spécimens doivent être traités le plus rapidement possible [65].

5.2.1 Sang

Si le sang est l'échantillon de choix, il sera nécessaire de définir si l'échantillon doit être artériel, veineux, ou capillaire, prélevé sur tube sec ou avec un anticoagulant adéquat [65].

5.2.2 Autres fluides corporels

Ces fluides comprennent l'urine, les fluides cérébrospinal, pleural, péricardique, péritonéal, synovial et amniotique, et la salive [65].

5.2.3 Température

La collecte et la manipulation de certains spécimens peuvent nécessiter un approvisionnement à une température spécifique. En outre, la conservation de certains spécimens nécessitera le stockage à une température particulière ou la congélation, éventuellement à une température spécifiée (-20 °C / -70°C) [65].

5.3 Caractéristiques des méthodes analytiques

Les intervalles de référence sont liés à la méthode de mesure employée. Il convient de la décrire soigneusement en établissant leur inexactitude, imprécision, limite de détection minimale, la linéarité, la récupération, et les caractéristiques d'interférences, et de bien maîtriser les facteurs de variation au cours du temps (notamment la variation de lot-à-lot) [65,67].

6 Le traitement statistique des résultats obtenus

Les documents officiels de l'IFCC-LM et du CLSI ont décrit trois méthodes statistiques différentes, dont le choix de l'une ou l'autre pour la réalisation d'une étude particulière se fait en fonction de l'objectif de l'étude et de la taille de l'échantillon [67,69].

- ❖ **La méthode paramétrique** : elle est applicable à des populations dont la distribution est normale « gaussienne ». Elle est déterminée entièrement par deux paramètres, la moyenne et l'écart-type [67,69].
- ❖ **La méthode non paramétrique** : c'est la méthode que recommande actuellement l'IFCC-LM. Elle est appliquée lorsque la distribution ne suit pas la loi normale. Elle requiert cependant une sélection soignée des individus de référence et un nombre d'individus suffisant (≥ 120). Elle consiste à aligner les valeurs obtenues par ordre croissant et éliminer à 2,5% des valeurs basses et 2,5% des valeurs hautes, soit 5% des valeurs. Les valeurs restantes constituent l'intervalle de référence qui contient 95% des valeurs, encadré par la plus petite et la plus grande valeur de référence résiduelle ayant échappé à l'élimination. [67,69]
- ❖ **La méthode robuste** : a été introduite récemment dans le dernier document de l'IFCC/CLSI. Elle peut rendre des services lorsque le nombre de sujets est limité. Elle ne requiert pas que la distribution soit gaussienne. Sur le plan statistique c'est une méthode proche de la méthode paramétrique [67].

6.1 Nombre minimum de valeurs de référence

Le nombre de valeurs de référence conditionne directement la précision du calcul des limites de référence. Les méthodes statistiques classiques imposent un nombre minimal d'au moins 120 valeurs par classe ou sous-classe. En cas de difficulté pour atteindre ce nombre il est recommandé d'utiliser exclusivement les méthodes non paramétriques (ou la méthode robuste comme alternative) [67].

6.2 Mise en évidence et élimination des valeurs aberrantes (outliers)

Il convient de bien se rappeler que l'estimation des limites de référence suppose que l'ensemble des valeurs de référence mesurées représente un ensemble homogène.

Si la sélection des individus de référence est faite correctement et si le processus analytique est bien contrôlé, il ne doit pas y avoir de valeurs aberrantes. Si leur nombre est trop élevé, la révision des critères d'exclusion et de partition s'impose.

Pour les valeurs aberrantes, deux cas de figure peuvent se présenter : soit ces valeurs se trouvent à l'intérieur de la distribution (par ex. : erreur analytique) donc, quasiment indétectables, ou bien elles sont situées à l'extérieur et sont de ce fait facilement repérables.

- ❖ La première étape est une inspection visuelle de la distribution
- ❖ La deuxième étape on emploiera une méthode statistique. Les plus populaires sont la méthode de Dixon, la méthode de Tukey, la méthode de Grubbs [67].

6.3 Partition des valeurs de référence

Les facteurs de partition visent à classer les individus de référence en différentes sous-classes. Les deux plus courants sont l'âge et le sexe. Cette partition n'est justifiée que si cela présente un intérêt sur le plan clinique ou pour des raisons physiopathologiques. La règle généralement admise est que, si la moyenne entre deux sous-classes est statistiquement significative, une partition s'impose [67].

6.4 Intervalles de confiance

Les limites de référence calculées ne sont qu'une estimation des centiles de la population étudiée. Calculer les intervalles de confiance permettra à l'utilisateur de garder à l'esprit que cette variabilité est bien une réalité et donner ainsi une estimation objective de celle-ci.

Les intervalles de confiance se rétrécissent à mesure que la taille de l'échantillon augmente. Par conséquent, il est possible à l'utilisateur d'élargir la taille de l'échantillon de référence pour atteindre une meilleure précision de l'intervalle de référence. Il est généralement admis que l'intervalle de confiance pour chaque limite de référence doit être inférieur à 0,2 fois la largeur de l'intervalle de référence concerné [65,67].

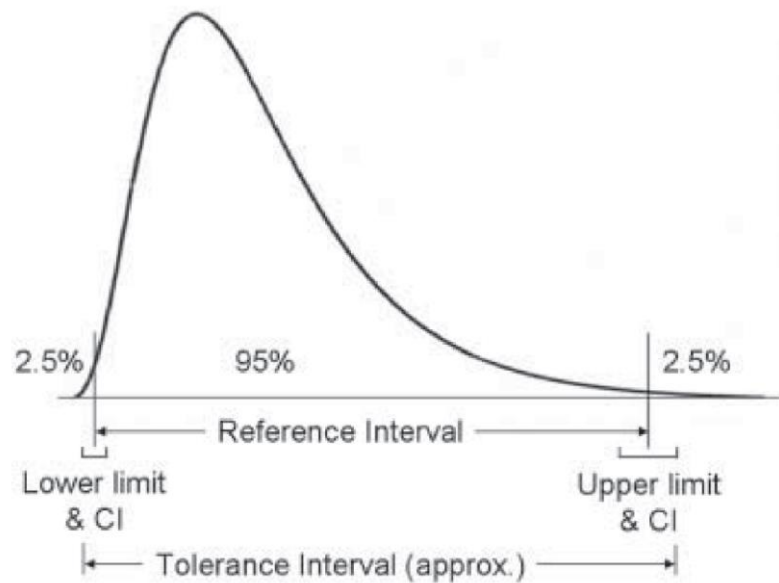


Figure 26 : Représentation schématique d'un intervalle de référence, limites de référence, intervalles de confiance (IC) des limites et intervalle de tolérance [70].

7 Transférabilité

Chaque laboratoire doit déterminer ses propres intervalles de référence pour chaque nouveau test, méthode ou système analytique introduit au laboratoire car il n'existe pas de méthode simple et universelle à l'heure actuelle.

La principale difficulté vient de la sélection de la population et de la définition d'un individu en « bonne santé ». Pour tenter de contourner cette difficulté, il est proposé de procéder seulement à une « vérification » des limites de référence publiées à l'usage des laboratoires.

Le transfert de données produites par d'autres laboratoires ou de fabricants du diagnostic in vitro, associé à un processus de validation simple pourrait ainsi être d'une grande utilité. En revanche, il convient de respecter certaines conditions pour que le processus de transfert soit acceptable, notamment que les processus de sélection de la population et de mesure (pré analytique et analytique) soient similaires [67].

7.1 Premier cas : comparaison de systèmes analytiques

Des limites de référence ont été déterminées à partir de la population du laboratoire pour un système analytique donné : si le laboratoire décide de changer de méthode, la transférabilité à l'intérieur du même laboratoire vers un autre couple méthode-instrument se résume à une « comparaison de systèmes analytiques ». Il n'est donc pas nécessaire dans ce cas de sélectionner des individus de référence. L'opération se résume à une comparaison de méthodes suivant un protocole reconnu (SFBC). On calcule l'équation de la droite de régression et le coefficient de corrélation. On utilisera des sérums frais de patients en veillant à respecter l'étendue du domaine de mesure de la méthode concernée. La précision de chaque méthode devra être du même ordre de grandeur et les calibrants similaires [67].

7.2 Deuxième cas : comparaison de populations

Lorsqu'un laboratoire souhaite transférer les intervalles de référence établis par un autre laboratoire ou par un fabricant de matériel ou de réactifs, la traçabilité de l'intervalle de référence dépasse le cadre strict d'une comparaison de systèmes analytiques, elle devient une question de comparaison de populations de référence. Plusieurs approches sont proposées dans les dernières recommandations de l'IFCC-LM et du CLSI [67].

7.2.1 Méthode subjective

Les principaux éléments à prendre en compte sont :

- Les critères géographiques et démographiques.
- Les procédures pré-analytiques.
- Les performances analytiques.
- La description de la population de référence et du protocole utilisé.
- La méthode statistique de détermination de l'intervalle de référence.

Si tel est le cas, l'intervalle de référence de l'étude originelle peut être transféré sans vérification. La difficulté à disposer de l'ensemble des informations requises reste la principale limite [67].

7.2.2 Vérification de l'intervalle de référence à partir d'un échantillon de sujets apparemment sains

Si la méthode subjective n'est pas applicable, le laboratoire vérifie l'intervalle de référence communiqué ou publié suivant le Protocol :

- Sélection de 20 individus de référence.
- Détermination des valeurs de référence avec une méthode statistique.
- Elimination des valeurs aberrantes, Les conditions pré-analytiques et analytiques entre la méthode testée et l'originelle seront cohérentes.
- Les limites de référence à vérifier sont acceptées si le nombre de résultats en dehors des limites est inférieur ou égal à 2.
- Une nouvelle sélection de 20 échantillons biologiques est analysée si le nombre de résultats en dehors des limites proposées est égal à 3 : le même protocole que précédemment est appliqué. Dans ces conditions, les limites de référence à vérifier sont acceptées si le nombre de résultats de la nouvelle sélection en dehors des limites est inférieur ou égal à 2.
- Dans le cas où quatre résultats ou plus sont en dehors des limites proposées, il est conseillé de revoir la procédure analytique, d'envisager la présence de possibles différences biologiques et/ou démographiques et de déterminer les limites de référence de la méthode utilisée suivant le protocole originel [67].

8 La traçabilité

La traçabilité de toutes les opérations réalisées sera assurée. Elle consiste notamment à documenter et à archiver les éléments du processus de détermination des intervalles de référence [67] :

- Conditions pré-analytiques.
- Méthode analytique.
- Sélection de l'échantillon de référence.
- Méthode statistique.

PARTIE II : PARTIE PRATIQUE

Objectifs

- 1- Etablissement des valeurs de référence des fractions de l'électrophorèse capillaire des protéines sériques pour notre population.
- 2-Vérification de la transférabilité des IR de CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

MATERIELS ET METHODES

1 Caractéristiques de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive. La partie pratique de notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire central de biochimie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, s'étalant du 09 février 2020 au 5 mars 2020, sous l'encadrement de Dr A. TOUDERT MAHU en immunologie.

L'objectif de cette étude est l'établissement des valeurs de références des fractions d'électrophorèse capillaire des protéines sériques selon les recommandations IFCC/CLSI.

2 Population de l'étude

Notre étude a été réalisée sur un groupe de 158 sujets adultes sains, provenant des trois wilayas suivantes : Tizi-Ouzou, Bouira et Boumerdès, sélectionnés parmi les étudiants de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou, les donneurs de sang au niveau du centre de transfusion sanguine de Tizi-Ouzou, ainsi que nos familles et nos proches.

La sélection des individus de référence s'est basée sur des critères d'inclusion et d'exclusion bien définis en utilisant une technique d'échantillonnage directe basée sur une sélection à priori.

2.1 Critères d'inclusion

Les sujets inclus dans notre étude sont :

- Âgés de 16 à 60 ans pour hommes et de 16 à 50 ans pour femmes en apparence bonne santé et sans antécédents personnels.
- Ayant donné leurs consentements éclairés pour participer à l'étude.

2.2 Critères d'exclusion

- Présence d'une pathologie aiguë ou chronique avec ou sans traitement.
- Prise des médicaments dans les dix jours précédents le prélèvement.
- Grossesse et allaitement.
- Contraception.
- Hospitalisation courante ou récente.
- Chirurgie récente.
- Transfusion sanguine récente.
- Consommation d'alcool, tabac, produit dopant et toute autre drogue illicite.

3 Matériels

3.1 Le consommable

❖ Pour réaliser le prélèvement sanguin :

- Alcool chirurgical à 70° et coton pour la désinfection.
- Gants et garrot en plastique.
- Épicrâniennes de taille 20 G et 21 G.

- Tubes secs 5 cc et bouchons.
- Sparadrap.
- Étiquettes.
- Portoir.
- Conteneur de déchets.

❖ Pour le traitement de l'échantillon :

- Un portoir.
- Micropipette 1000µl et embouts.
- Bande à gaze.
- Tubes secs 5 cc, bouchons et étiquettes.

3.2 Appareillage

❖ CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING utilisé pour l'électrophorèse capillaire des protéines sériques

Le système CAPILLARYS est un automate d'électrophorèse capillaire multiparamétrique muni de 8 capillaires en silice de diamètre interne inférieur à 100 µm permettant d'effectuer plusieurs séparations électrophorétiques simultanées et à une cadence élevée. Il est équipé du logiciel PHORESIS qui permet l'affichage et le traitement des résultats obtenus.



Figure 27: Automate CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING (Sebia).

- ❖ ARCHITECT ci4100 Abbott ® utilisé pour le dosage des protéines totales.



Figure 28 : Automate ARCHITECT ci4100 ABBOTT ®.

- ❖ Centrifugeuse UNIVERSAL 320 HETTICH utilisée pour la centrifugation des échantillons de 5 min à 3500 tr/mn.



Figure 29 : Centrifugeuse UNIVERSAL 320 HETTICH.

- ❖ Réfrigérateur de la marque ENIEM® utilisé pour la conservation des échantillons à une température allant de 2 à 8°C.



Figure 30 : Réfrigérateur ENIEM®.

4 Méthodes

4.1 Préparation des sujets pour le prélèvement

❖ Questionnaire

Avant le recrutement, un entretien préalable avec les sujets est primordial afin d'expliquer le but de notre étude, et leur contribution à notre travail.

La sélection des individus s'est basée sur un questionnaire qui renferme tous les critères d'inclusion et d'exclusion nécessaires pour notre étude, sous forme de questions claires et bien précises, et selon les réponses obtenues toute personne qui ne répond pas aux critères préétablis est exclue, ainsi une liste des individus de référence est établie. Il faut noter que le questionnaire est soumis aux règles de confidentialité afin de protéger toute information fournie par les participants (voir annexe 1).

Les personnes sélectionnées doivent signer un formulaire indiquant leur consentement.

❖ Prélèvement

Le prélèvement sanguin destiné à la réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques est recueilli sur tube sec (bouchon rouge), par ponction veineuse en général au pli du coude, à l'aide d'un garrot.

Il est préférable, mais pas indispensable, de faire cet examen à jeun, mais il faut éviter les repas gras car les lipides et les lipoprotéines interfèrent avec la fraction d'albumine en EPS.

4.2 Transport et conservation

L'analyse se fait sur sérums frais.

Les échantillons peuvent être conservés au maximum 10 jours au réfrigérateur (entre 2 et 8°C). Pour des conservations prolongées, congeler rapidement les échantillons à -18 / -30°C (au maximum dans les 8 heures après le prélèvement). Les sérums congelés sont stables 2 mois.

Le transport se fait dans l'immédiat au laboratoire dans un sac isotherme.

4.3 Traitement des spécimens biologiques

-Centrifuger à 3500 tr/mn pendant 5 min.

-Récupérer le sérum de chaque tube sur des tubes secs bien étiquetés pour être analysés par la suite.

-Utiliser directement les échantillons de sérums non dilués

-Éviter les échantillons de sérums hémolysés. L'hémolyse peut entraîner un dédoublement de la fraction alpha-2.

-Ne pas utiliser des échantillons de sérums anciens ou conservés dans de mauvaises conditions, les fractions bêta seraient fortement modifiées.

-Ne pas utiliser de plasma. Le fibrinogène migre en position bêta-2 (pic épaulé en bêta-2 ou confondu avec la fraction bêta-2 avec éventuellement augmentation du pourcentage de cette fraction).

4.4 Méthodes analytiques de dosage

Sur chaque sérum un dosage du taux de protides et une EPS capillaire ont été effectués.

4.4.1 Dosage de protéines sériques totales

Le dosage des protéines totales est effectué par automate ARCHITECT ci4100 ABBOTT ® selon la méthode de Biuret (voir annexe 2).

En milieu alcalin, les protéines qui possèdent au moins 4 liaisons peptidiques forment avec les ions de cuivre (Cu^{2+}) du réactif Biuret un complexe de coloration bleue violacée, selon la réaction suivante :

- Retirer du plateau de sortie, situé à gauche de l'appareil, les portoirs dont le contenu des tubes a déjà été analysé.
- Retirer avec précaution la barrette de dilution usagée et la jeter.
- Introduire les renseignements des patients selon leur répartition dans chaque portoir dans le logiciel PHORESIS : nom/code spécifique associé, taux de protide, remarque.

Remarque

- Pour l'analyse des protéines sériques utiliser le kit CAPILLARYS PROTEIN 6.
- Afin d'éviter les contaminations microbiennes, changer l'eau distillée chaque jour.
- Vérifier le niveau des bidons de tampon et de la solution de lavage, pour les remplacer il faut suivre les étapes indiquées par le système.

5 Analyse et interprétation des résultats

Les résultats sont classés sur un fichier Excel avec le sexe et l'âge propre à chaque participant.

5.1 Matériels statistiques

Les logiciels utilisés sont : Excel, MedCalc, RefValAdv et Analyse it.

5.2 Méthodes statistiques

- Méthode non paramétrique : elle nécessite une sélection soigneuse des individus de référence et un nombre d'individus suffisant (≥ 120). C'est la méthode recommandée par CLSI C28-A3 pour la détermination des IR.
- Test de Tukey : pour la détection des valeurs aberrantes.
- Test binomial : recommandé par la CLSI pour la comparaison des différents IR observés avec ceux de CAPILLARYS. Il teste aussi la transférabilité ou la validation des IR.
- La valeur P : c'est un outil permettant d'interpréter la sortie d'un test statistique en calculant la probabilité que la différence observée soit due uniquement au hasard.

Pour un seuil de significativité statistique α :

- Si $P < \alpha$: la différence statistique est significative (il est peu probable que la différence observée soit due au hasard).
- Si $P > \alpha$: la différence statistique est non significative (la probabilité que la différence observée soit due au hasard est grande).

RESULTATS

1 Données épidémiologiques de notre population

❖ Distribution de la population d'étude selon la région

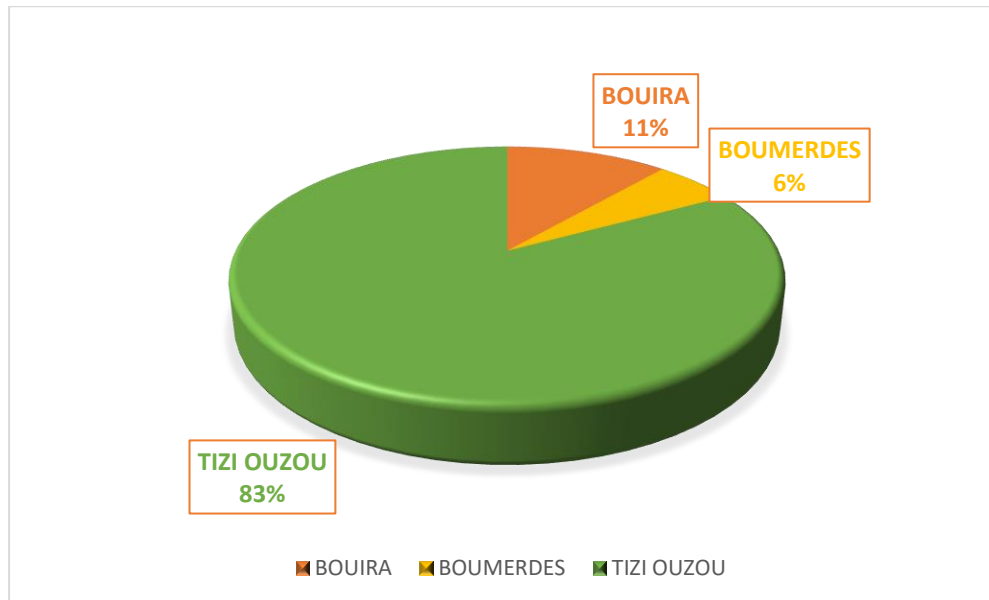


Figure 32 : Répartition de notre population selon la région.

✓ Interprétation

D'après la figure, nous remarquons une différence concernant la localisation géographique de la population d'étude, avec la dominance des individus de Tizi Ouzou.

❖ Distribution de la population d'étude selon l'âge

Tableau 13 : Répartition de notre population selon l'âge.

Tranche d'âge	Nombre d'effectif	Pourcentage %
[16-25[41	26
[25-34[74	47
[34-43[25	16
[43-52[13	8
[52-61[5	3
Total	158	100

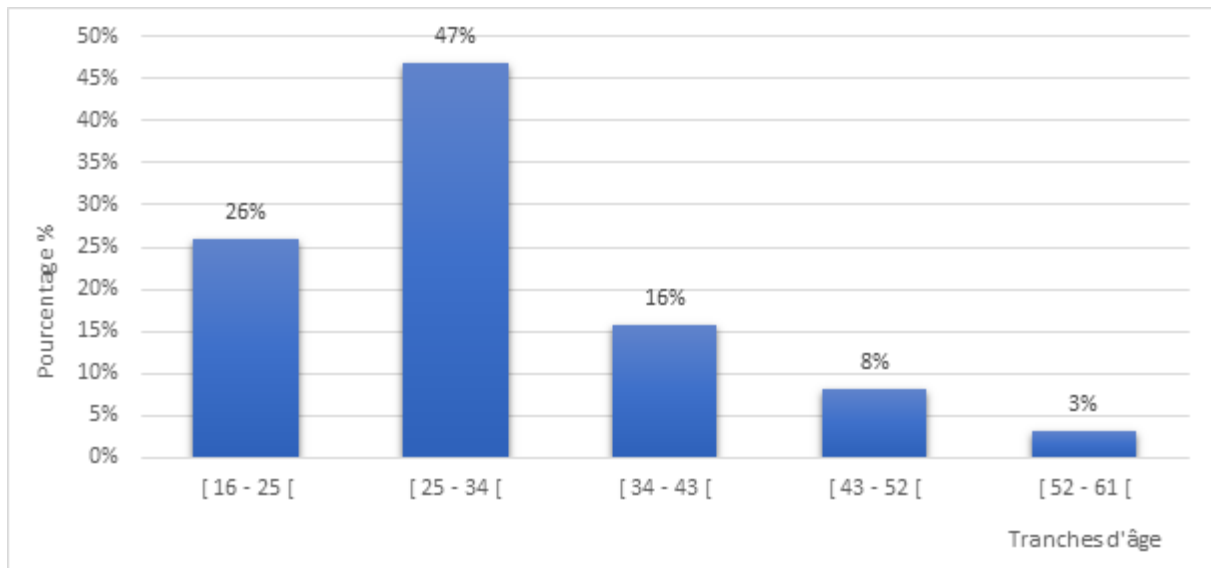


Figure 33 : Répartition de notre population selon les tranches d'âge.

✓ Interprétation

La tranche d'âge de [25-34[ans a été la plus représentée d'un nombre de 74 individus soit 47 %, contrairement aux individus de la tranche d'âge [52-61[ans qui représentent seulement 3 % de la population d'étude.

L'âge de nos individus de référence a été en moyenne de 30.06 ans \pm 9.06, avec des extrêmes allant de 19 à 59 ans.

❖ Distribution de la population d'étude selon le sexe

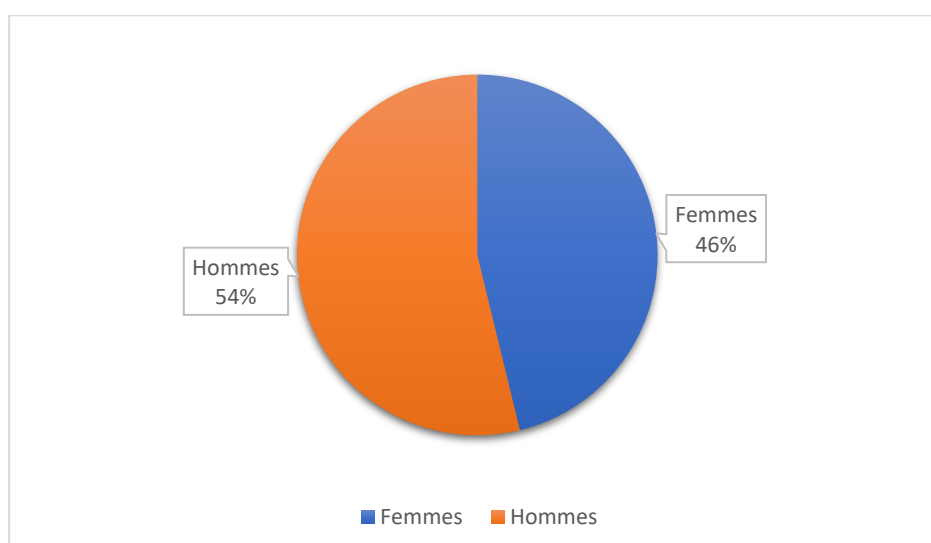


Figure 34 : Répartition de notre population selon le sexe.

✓ Interprétation

Nous avons recensé 158 individus de référence, 85 individus ont été de sexe masculin soit 54 %, et 73 ont été de sexe féminin soit 46 %. Le sexe masculin a été prédominant avec un sexe ratio homme femme de 1,17.

❖ Distribution de la population d'étude en fonction de l'âge et du sexe

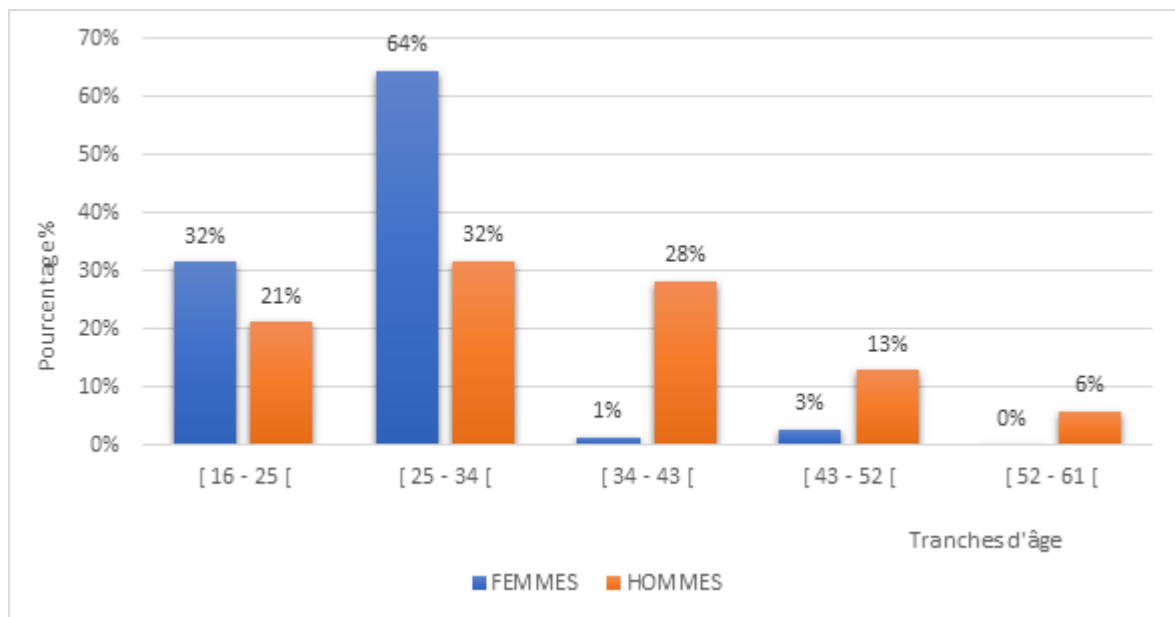


Figure 35 : Répartition de notre population en fonction de l'âge et du sexe.

✓ Interprétation

- La répartition des femmes sur les différentes classes d'âge n'est pas homogène on remarque une classe dominante 64% entre 25 et 34 ans et à l'opposé 0% entre 52 et 61 ans.
- La répartition des hommes selon l'âge est homogène.

2 Résultats des différentes fractions en (g/l)

2.1. Albumine

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs d'albumine (g/l)

Tableau 14 : Statistiques descriptives de notre population pour l'albumine (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Albumine (g/l)	158	30,700	55,100	43,103	3,314

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

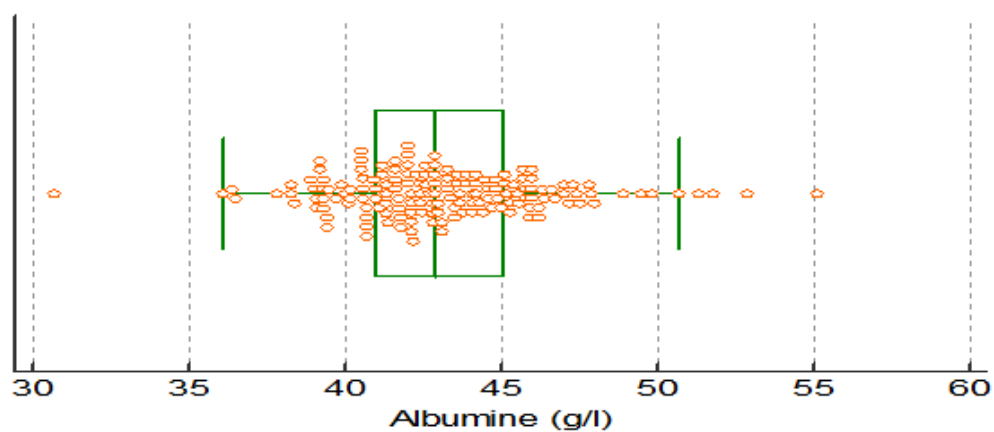


Figure 36 : Détection des valeurs aberrantes de l'albumine (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 15 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction d'albumine (g/l) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Albumine (g/l)	153	36,1	50,7	42,931	2,790

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 16 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction d'albumine(g/l).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Albumine (g/l)	0.7022	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 (N =153>120).

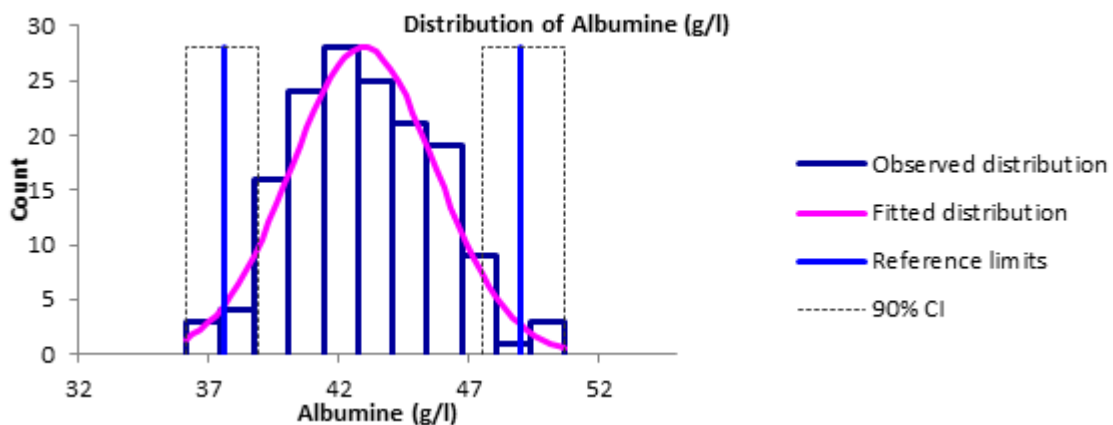


Figure 37 : Distribution des valeurs de l'albumine (g/l) dans notre population.

Tableau 17 : Intervalle de référence de la fraction d'albumine (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	37.6	49
IC [90%] (g/l)	[36.1-38.9]	[47.5-50.7]

❖ IR observé d'albumine (g/l) : [37,6 – 49].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 18 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine (g/l).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Albumine (g/l)	[40.2-47.6]	153	5 %	P< 0.0001 S ($p<\alpha$) Transfert non accepté	80	20

S : Significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.2 Alpha-1

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs d'alpha-1 (g/l)

Tableau 19 : Statistiques descriptives de notre population pour l'alpha-1 (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-1 (g/l)	158	1.9	4.2	2.889	0.366

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

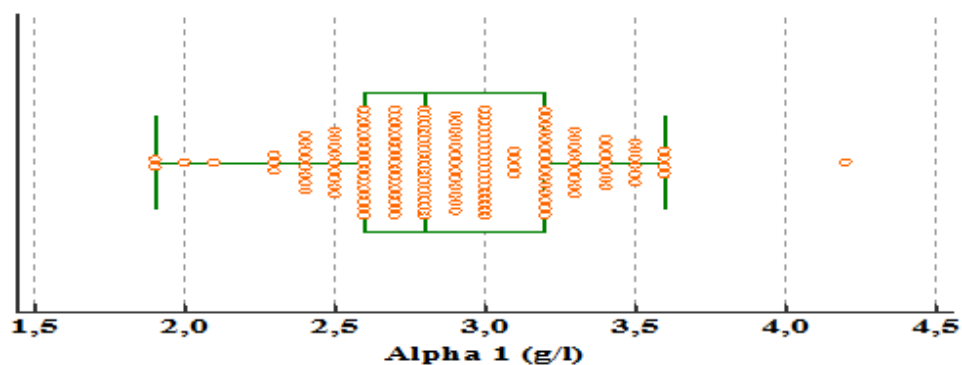


Figure 38 : Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-1 (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 20 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-1 (g/l) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-1 (g/l)	157	1,9	3,6	2,88	0,352

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 21 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-1 (g/l).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Alpha-1 (g/l)	P=0,9510	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N=157 > 120$).

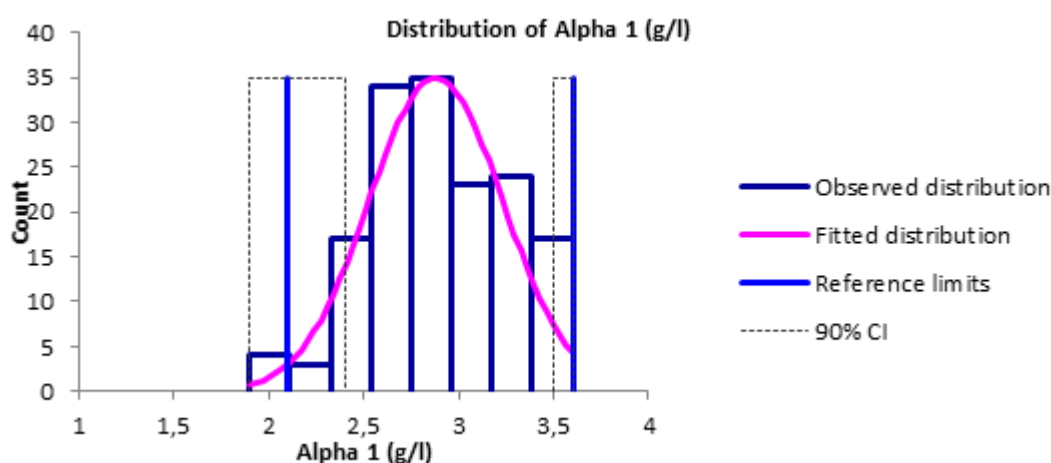


Figure 39 : Distribution des valeurs de l'alpha-1 (g/l) dans notre population.

Tableau 22 : Intervalle de référence de la fraction alpha-1 (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	2,1	3,6
IC [90%] (g/l)	[1,9 - 2,4]	[3,5 - 3,6]

❖ IR observé d'alpha-1 (g/l) : [2,1-3,6].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-1 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 23 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-1 (g/l).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Alpha-1 (g/l)	[2,1 - 3,5]	157	5%	P=0.674 NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	96	4

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.3 Alpha-2

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs d'alpha-2 (g/l)

Tableau 24 : Statistiques descriptives de notre population pour Alpha-2 (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-2 (g/l)	158	5,3	10,6	7,194	1,039

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

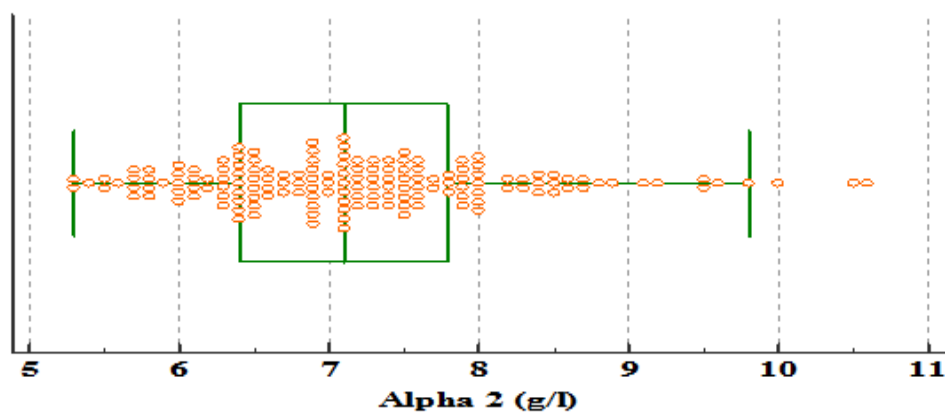


Figure 40 : Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-2 (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 25 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-2 (g/l) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-2 (g/l)	154	5,3	9,6	7,116	0,926

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 26 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-2 (g/l).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Alpha-2 (g/l)	0,1928	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significant

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 154 > 120$).

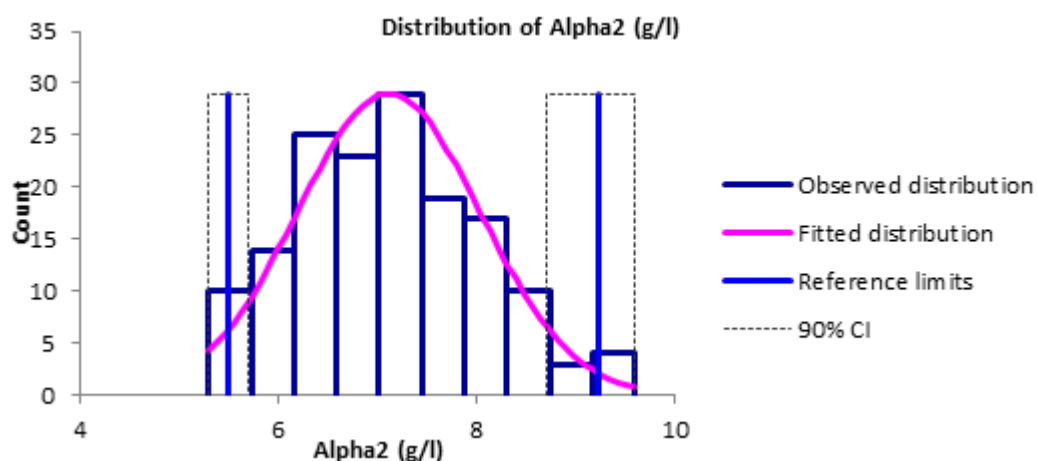


Figure 41 : Distribution des valeurs de l'alpha-2 (g/l) dans notre population.

Tableau 27 : Intervalle de référence de la fraction alpha-2 (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	5,5	9,2
IC [90%] (g/l)	[5,3 – 5,7]	[8,7 – 9,6]

❖ IR observé d'alpha-2 (g/l) : [5,5 – 9,2].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-2 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 28 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'alpha-2 (g/l).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Alpha-2 (g/l)	[5,1 – 8,5]	154	5 %	P=0,150 NS ($p>\alpha$) Transfert accepté	93	7

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.4 Bêta-1

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de bêta-1 (g/l)

Tableau 29 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-1 (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-1 (g/l)	158	2,9	6,4	4,5500	0,5740

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

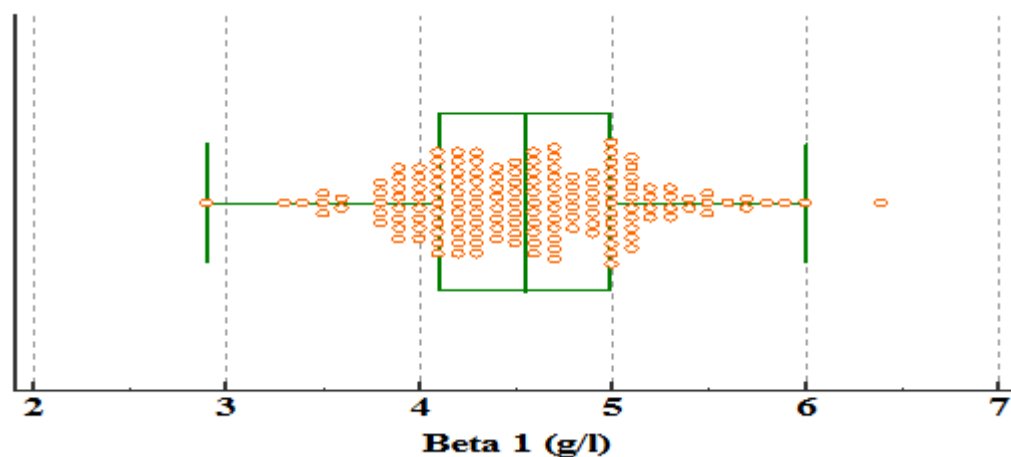


Figure 42 : Détection des valeurs aberrantes de bêta-1 (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 30 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction de bêta-1 après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-1 (g/l)	157	2,9	6	4,547	0,556

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité

Tableau 31 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-1 (g/l)

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Bêta-1 (g/l)	0,9574	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 157 > 120$).

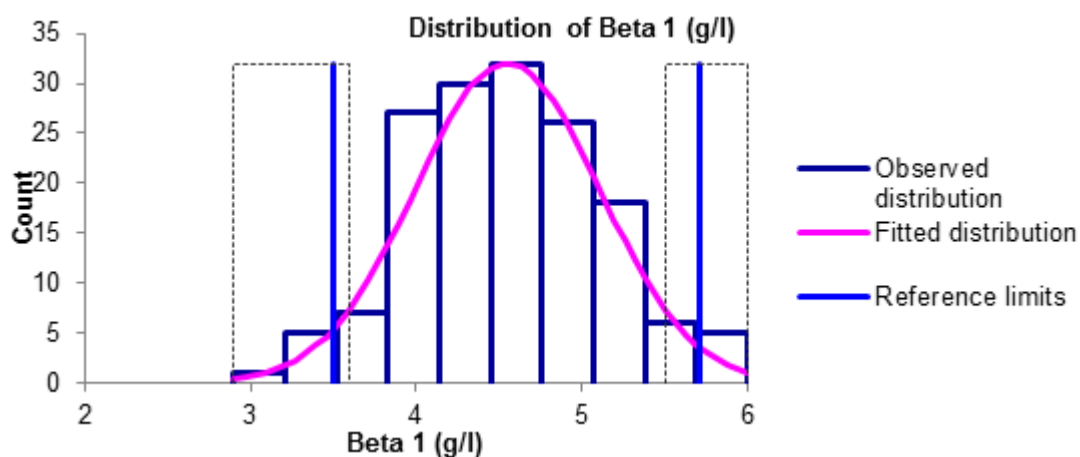


Figure 43 : Distribution des valeurs de bêta-1 (g/l) dans notre population.

Tableau 32 : Intervalle de référence de la fraction bêta-1 (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	3,5	5,7
IC [90%] (g/l)	[2,9 -3,6]	[5,5- 6]

❖ IR observé de bêta-1 (g/l) : [3,5 – 5,7]

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta 1 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 33 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-1 (g/l).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Bêta-1 (g/l)	[3,4-5,2]	157	5 %	P= 0.0024 S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	89	11

S : Significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.5 Bêta-2

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de bêta-2 (g/l)

Tableau 34 : Statistiques descriptives de notre population pour bêta-2 (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-2 (g/l)	158	2,4	8,2	3,9392	0,9281

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

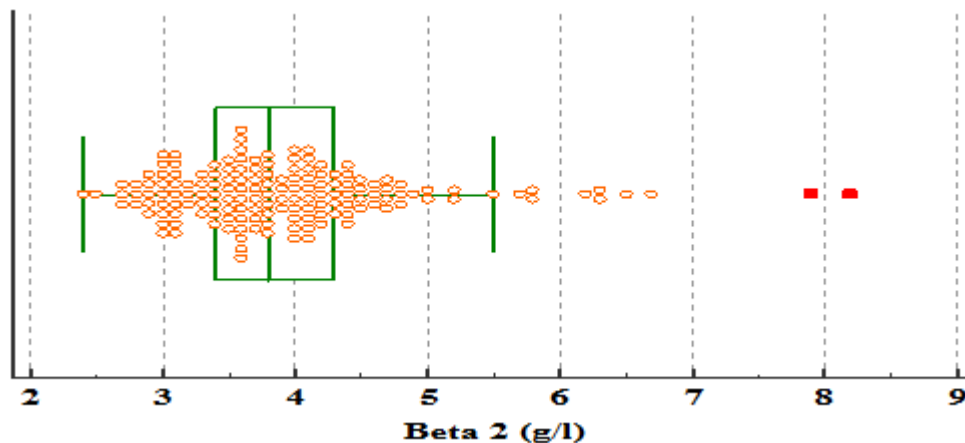


Figure 44 : Détection des valeurs aberrantes de bêta-2 (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 35 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-2 (g/l) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-2 (g/l)	148	2,4	5,5	3,764	0,619

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 36 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-2 (g/l).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Bêta-2 (g/l)	0,3111	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 148 > 120$).

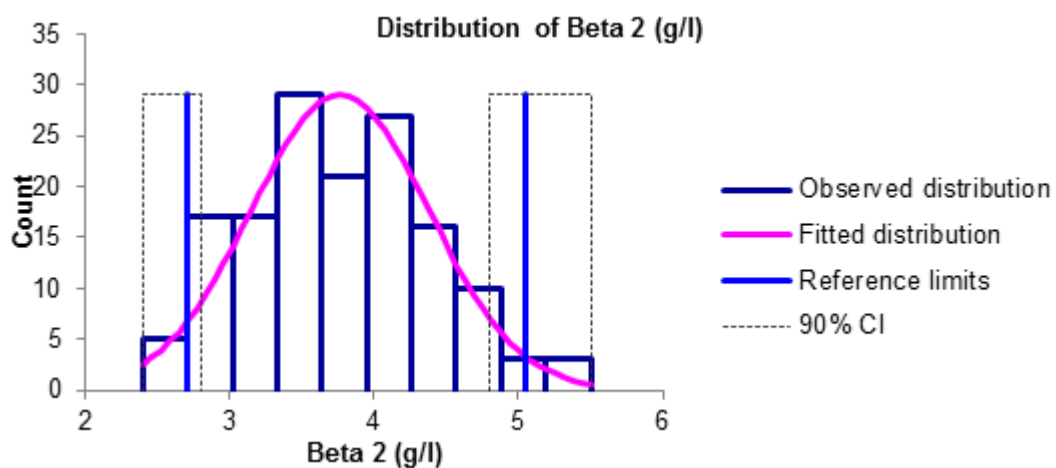


Figure 45 : Distribution des valeurs de bêta-2 (g/l) dans notre population.

Tableau 37 : Intervalle de référence de la fraction bêta-2 (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	2,7	5,1
IC [90%] (g/l)	[2,4-2,8]	[4,8-5,5]

❖ IR observé de bêta-2 (g/l) : [2,7-5,1]

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 38 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 (g/l).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Bêta-2 (g/l)	[2,3 – 4,7]	148	5 %	P=0,322 NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	94	6

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.6 Gamma

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de gamma (g/l)

Tableau 39 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction gamma (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Gamma (g/l)	158	7.6	19.2	12.78	2.08

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

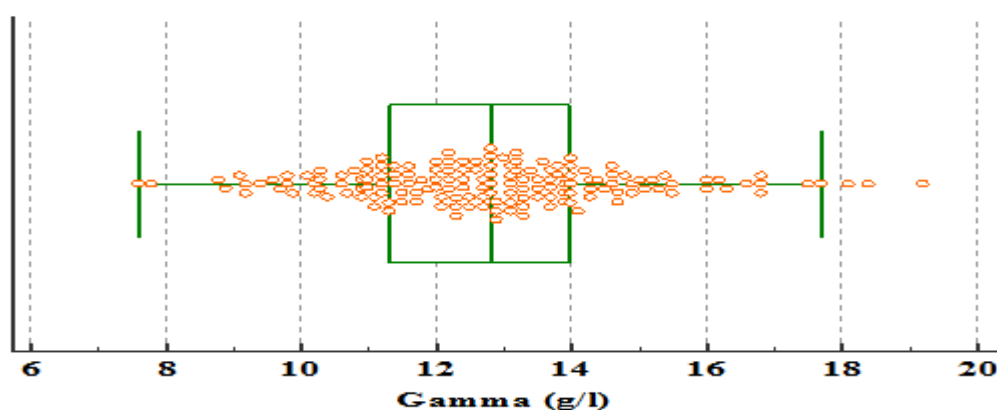


Figure 46 : Détection des valeurs aberrantes de gamma (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 40 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction gamma (g/l) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Gamma (g/l)	155	7,6	17,7	12,675	1,938

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 41 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction gamma (g/l).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Gamma (g/l)	0,9202	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 155 > 120$).

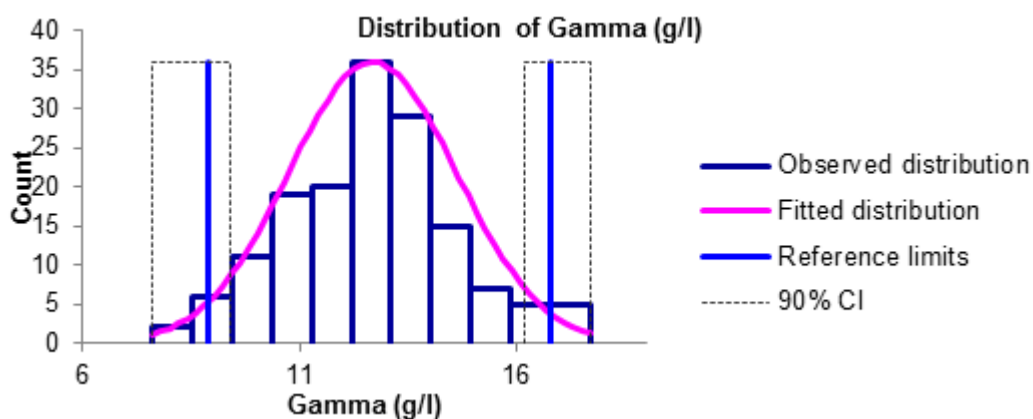


Figure 47 : Distribution des valeurs de la gamma (g/l) dans notre population.

Tableau 42 : Intervalle de référence de la fraction gamma (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	8,9	16,8
IC [90%] (g/l)	[7,6- 9,4]	[16,2- 17,7]

❖ IR observé de gamma (g/l) : [8,9– 16,8]

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction gamma sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 43 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction gamma (g/l).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Gamma (g/l)	[8-13,5]	155	5%	P < 0.0001 S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	67	33

S : Significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.7 TP

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de TP (g/l)

Tableau 44 : Statistiques descriptives de notre population pour le TP (g/l).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
TP (g/l)	158	57	93	74.46	4.95

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

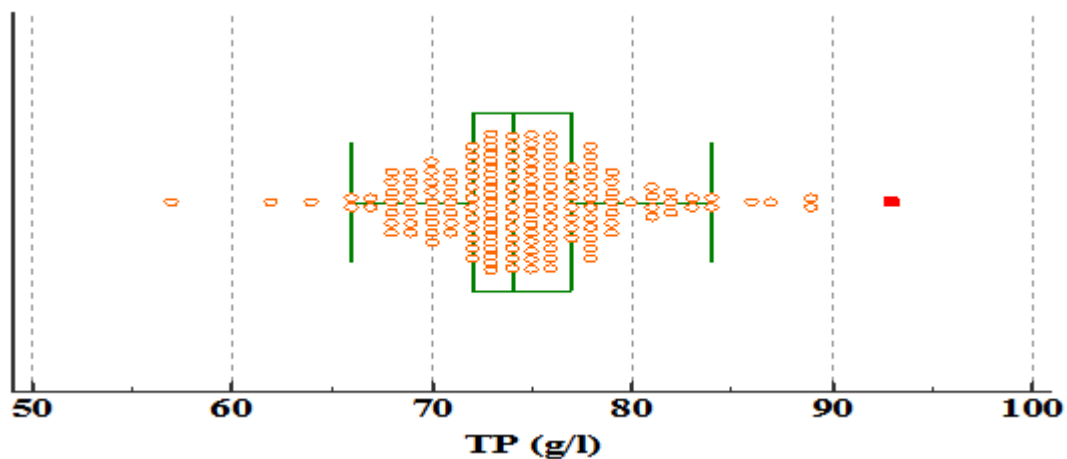


Figure 48 : Détection des valeurs aberrantes de TP (g/l) par le test de Tukey.

Tableau 45 : Statistiques descriptives de notre population pour le TP (g/l) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
TP (g/l)	150	66	84	74,2533	3,8568

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 46 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour le TP (g/l).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
TP (g/l)	0,4847	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 150 > 120$).

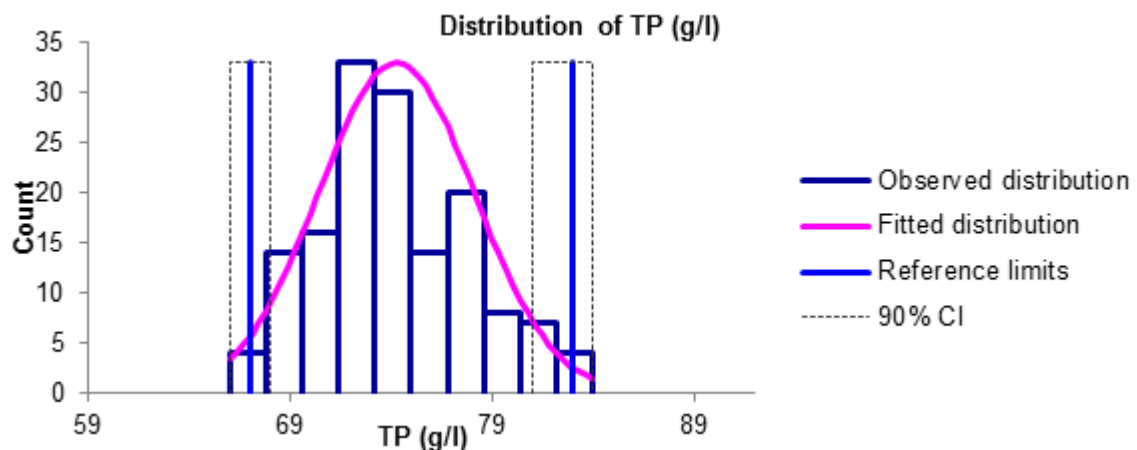


Figure 49 : Distribution des valeurs de TP (g/l) dans notre population.

Tableau 47 : Intervalle de référence de TP (g/l).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (g/l)	67	83
IC [90%] (g/l)	[66-68]	[81-84]

❖ IR observé de TP (g/l) : [67-83]

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle d'ARCHITECT ci4100 de taux de protides (TP) sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 48 : Vérification du transfert de l'intervalle d'ARCHITECT ci4100 de TP (g/l).

Variable	IR ARCHITECT	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR ARCHITECT	% des témoins $\not\subseteq$ IR ARCHITECT
TP (g/l)	[64-83]	150	5 %	P= 0,995 NS ($p>\alpha$) Transfert accepté	99	1

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

2.8 Ratio A/G

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs du rapport A/G

Tableau 49 : Statistiques descriptives de notre population pour le rapport A/G.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
A/G	158	0,98	1,95	1,39	0,1684

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

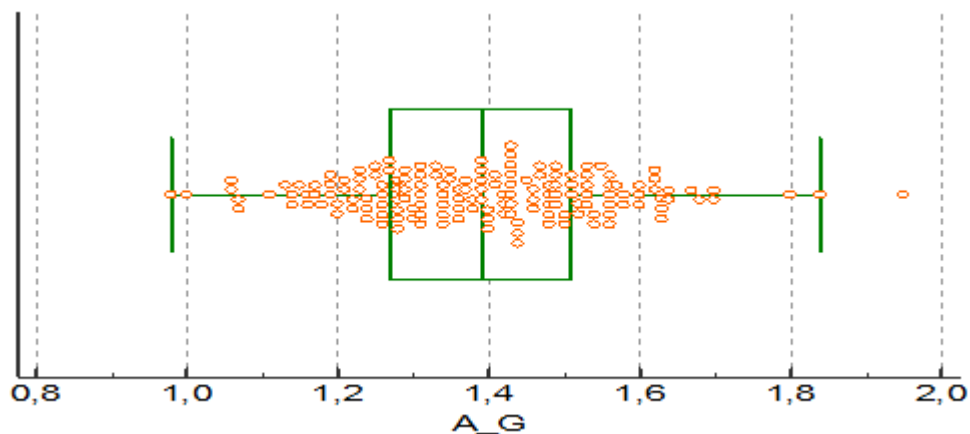


Figure 50 : Détection des valeurs aberrantes du rapport A/G par le test de Tukey.

Tableau 50 : Statistiques descriptives de notre population pour le rapport A/G après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
A/G	157	0,98	1,84	1,38	0,1628

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 51 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour le rapport A/G.

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
A/G	0,8355	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 157 > 120$).

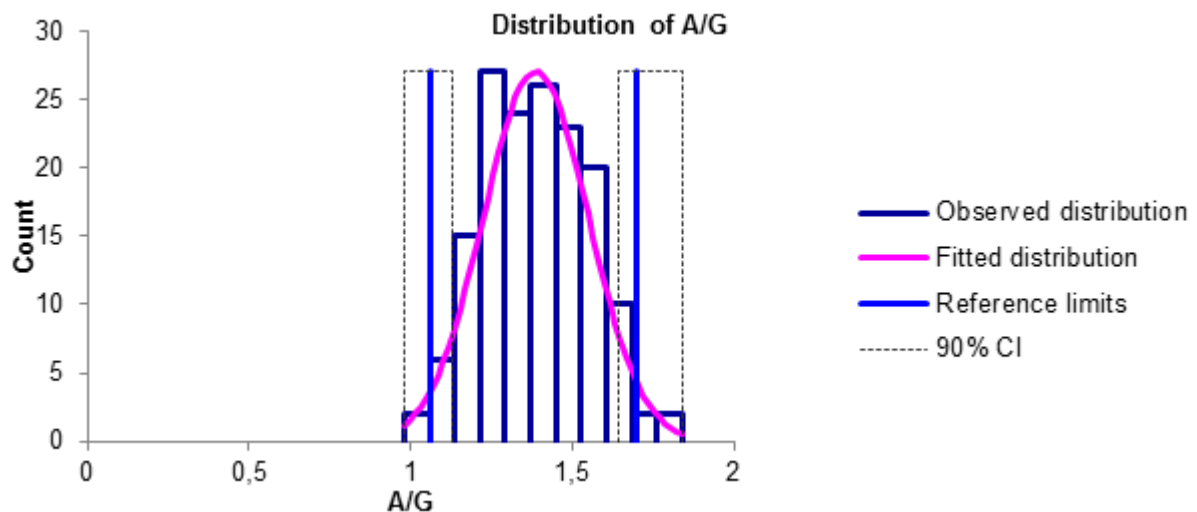


Figure 51 : Distribution des valeurs du rapport A/G dans notre population.

Tableau 52 : Intervalle de référence du rapport A/G.

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé	1,1	1,7
IC [90%]	[1 - 1,1]	[1,6 - 1,8]

❖ IR observé de A/G : [1,1-1,7]

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS du rapport A/G sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 53 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS du rapport A/G.

Variable	IR CAPILLARYS	N	A	Test Binomial	% des témoins ⊆ IR CAPILLARYS	% des témoins ⊄ IR CAPILLARYS
A/G	[1.2-1.8]	157	5%	P < 0.0001 S (p < α) Transfert non accepté	87	13

S : Significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

3 Résultats des différentes fractions en %

3.1 Albumine

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs d'albumine (%)

Tableau 54 : Statistiques descriptives de notre population pour l'albumine (%).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Albumine (%)	158	49,50	64,8	57,914	2,884

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey

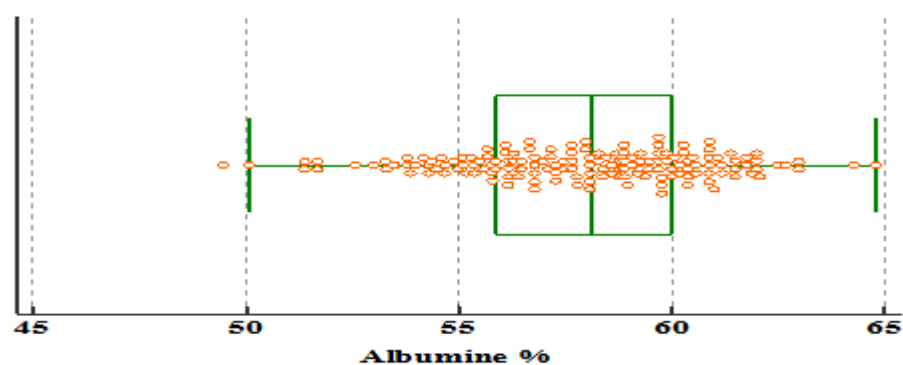


Figure 52 : Détection des valeurs aberrantes de l'albumine (%) par le test de Tukey.

Tableau 55 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction d'albumine (%) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Albumine (%)	157	50,1	64,8	57,966	2,812

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 56 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction d'albumine (%).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Albumine (%)	0,3366	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 157 > 120$).

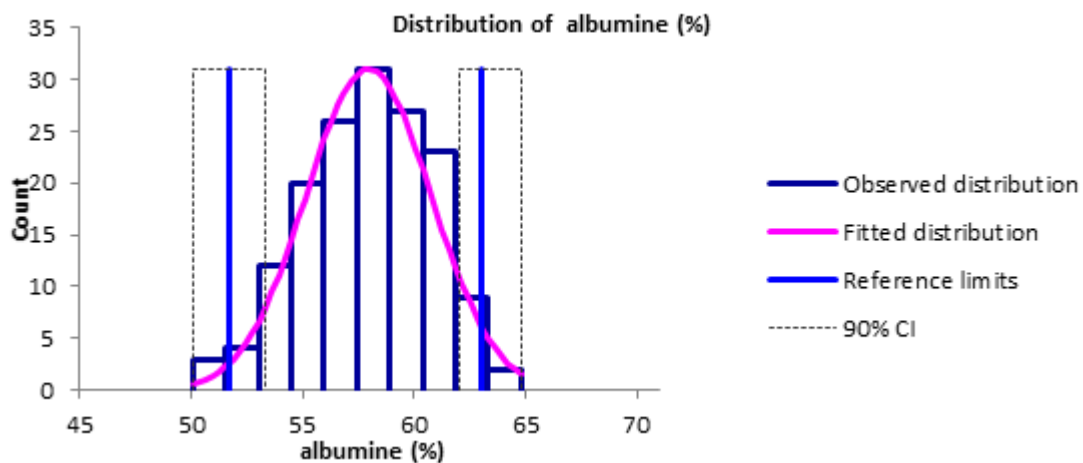


Figure 53 : Distribution des valeurs de l'albumine (%) dans notre population.

Tableau 57 : Intervalle de référence de la fraction d'albumine (%).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (%)	51,7	63
IC [90%] (%)	[50,1 – 53,3]	[62 – 64,8]

❖ IR observé d'albumine (%) : [51,7 – 63].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité :

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 58 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine (%).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Albumine (%)	[55,8 – 66,1]	150	5 %	P< 0.0001 S ($p<\alpha$) Transfert non accepté	78	22

S : Significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

3.2 Alpha-1

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs d'alpha 1 (%)

Tableau 59 : Statistiques descriptives de notre population pour l'alpha-1 (%).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-1 (%)	158	2,5	5,8	3,885	0,466

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes :

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

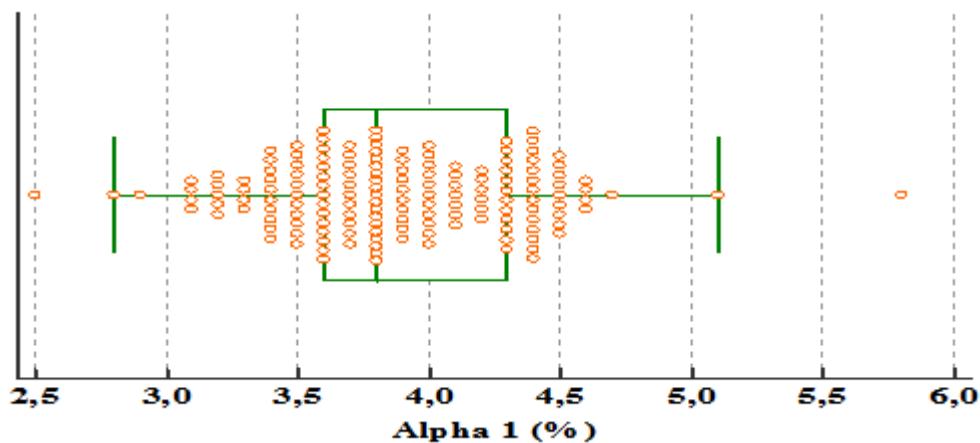


Figure 54 : Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-1 (%) par le test de Tukey.

Tableau 60 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-1 (%) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-1 (%)	156	2,8	5,1	3,881	0,429

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 61 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-1 (%).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Alpha-1 (%)	P=0,2124	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 156 > 120$).

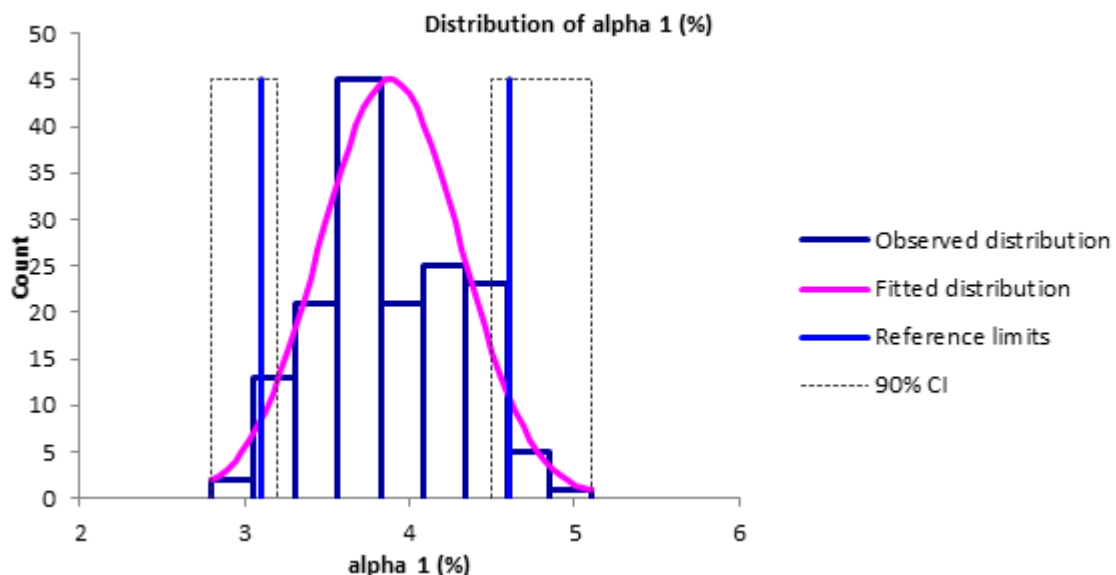


Figure 55 : Distribution des valeurs de l'alpha-1 (%) dans notre population.

Tableau 62 : Intervalle de référence de la fraction alpha-1 (%).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (%)	3,1	4,6
IC [90%] (%)	[2,8 – 3,2]	[4,5 – 5,1]

❖ IR observé d'alpha-1 (%) : [3,1 – 4,6].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha 1 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 63 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-1 (%).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Alpha-1 (%)	[2,9 – 4,9]	156	5%	P=0,996 NS ($p>\alpha$) Transfert accepté	99	1

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

3.3 Alpha-2

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs d'alpha-2 (%)

Tableau 64 : Statistiques descriptives de notre population pour alpha-2 (%).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-2 (%)	158	6,5	14,5	9,665	1,281

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

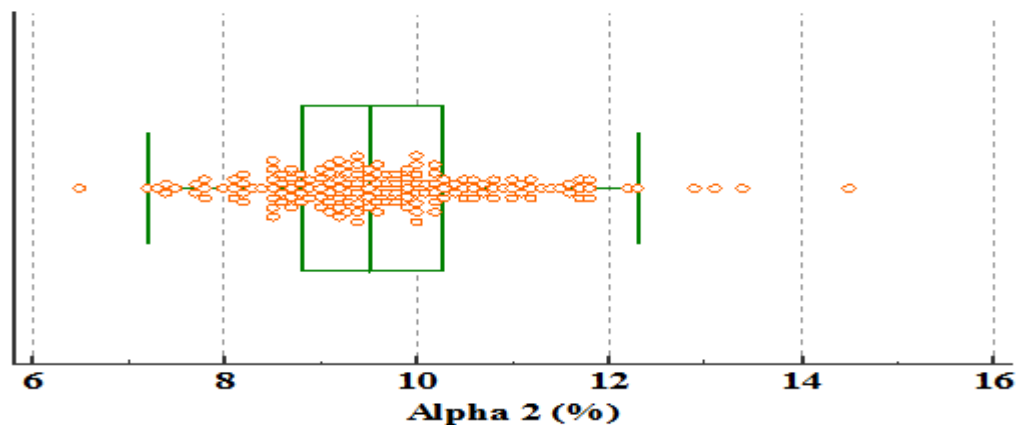


Figure 56 : Détection des valeurs aberrantes de l'alpha-2 (%) par le test de Tukey.

Tableau 65 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction alpha-2 (%) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Alpha-2 (%)	153	7,2	12,3	9,586	1,109

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 66 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction alpha-2 (%).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Alpha-2 (%)	0,3446	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 153 > 120$).

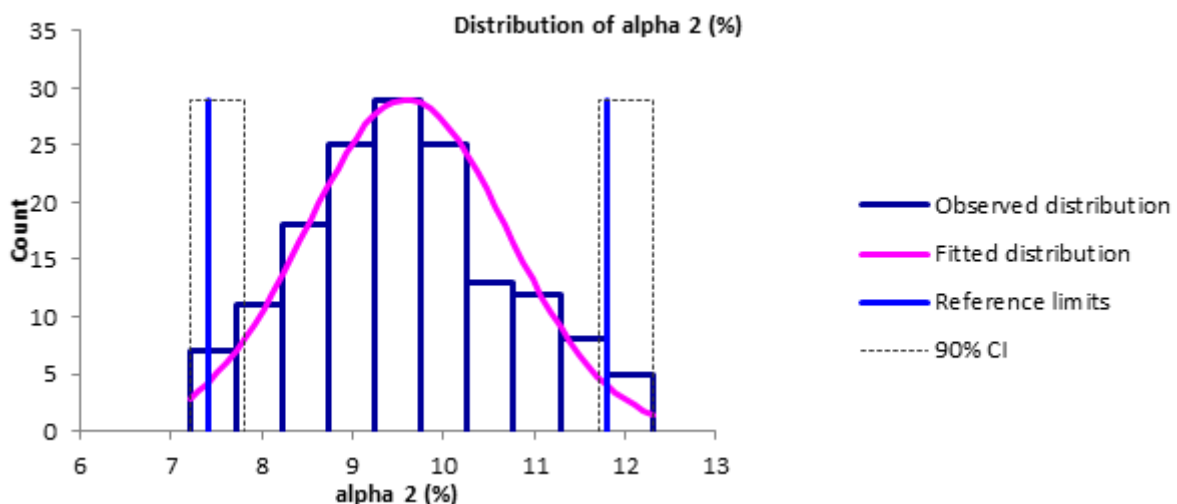


Figure 57 : Distribution des valeurs de l'alpha-2 (%) dans notre population.

Tableau 67 : Intervalle de référence de la fraction alpha-2(%).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (%)	7,4	11,8
IC [90%] (%)	[7,2 – 7,8]	[11,7 – 12,3]

❖ IR observé d'alpha-2 (%) : [7,4 – 11,8].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-2 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 68 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction alpha-2 (%).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Alpha-2 (%)	[7,1 – 11,8]	153	5%	P=0,996 NS ($p>\alpha$) Transfert accepté	99	1

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

3.4 Bêta-1

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de bêta-1 (%)

Tableau 69 : Statistiques descriptives de notre population pour bêta-1 (%).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-1(%)	158	4.6	8.7	6.11	0.65

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

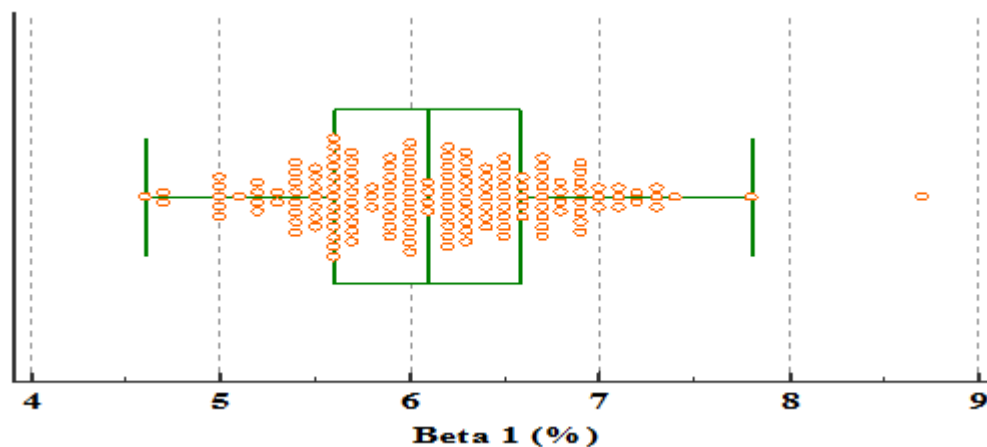


Figure 58 : Détection des valeurs aberrantes de bêta-1 (%) par le test de Tukey.

Tableau 70 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-1 (%) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-1 (%)	157	4.6	7.8	6.1	0.62

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 71 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-1 (%).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Bêta 1 (%)	0.4373	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 157 > 120$).

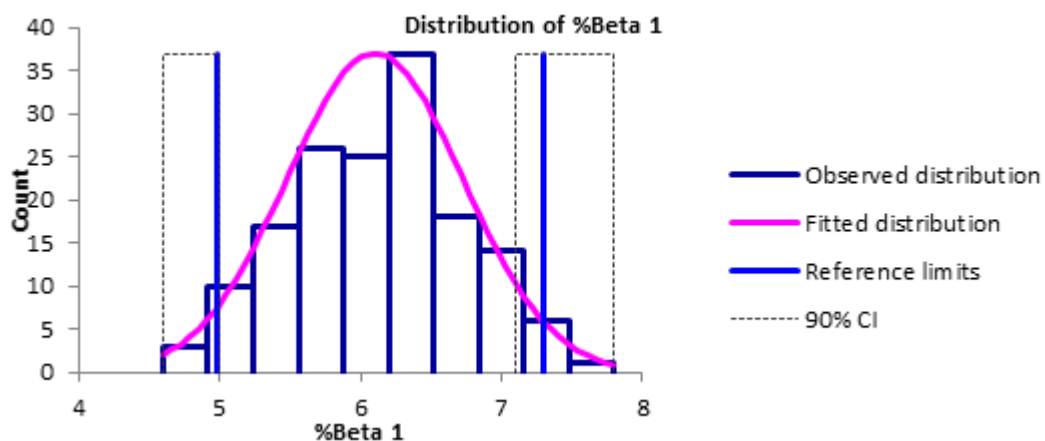


Figure 59 : Distribution des valeurs de bêta-1 (%) dans notre population.

Tableau 72 : Intervalle de référence de la fraction bêta-1 (%).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (%)	5	7.3
IC [90%] (%)	[4.6 - 5]	[7.1 - 7.8]

❖ IR observé de bêta-1 (%) : [5-7.3].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-1 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 73 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-1 (%).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Bêta-1 (%)	[4.7-7.2]	157	5 %	P=0.801 NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	96	4

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

3.5 Bêta-2

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de bêta-2 (%)

Tableau 74 : Statistiques descriptives de notre population pour bêta-2 (%).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-2 (%)	158	3.5	11.8	5.29	1.22

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

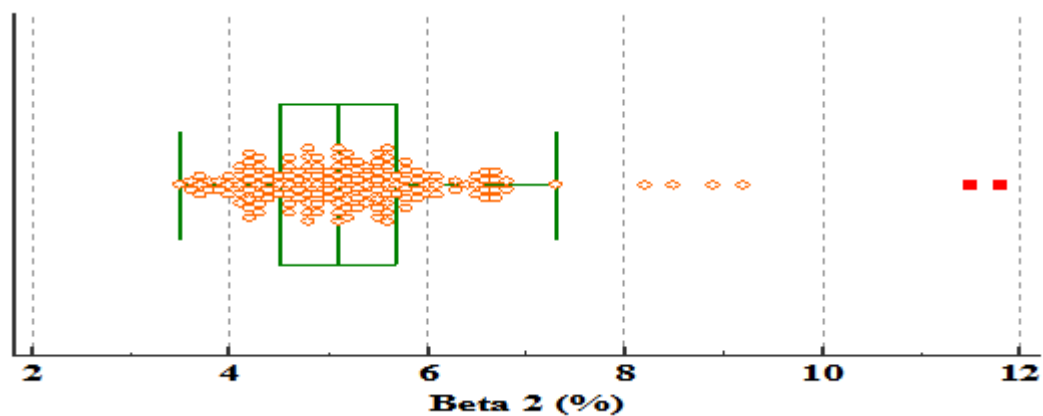


Figure 60 : Détection des valeurs aberrantes de bêta-2 (%) par le test de Tukey.

Tableau 75 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction bêta-2 (%) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Bêta-2 (%)	151	3.5	6.8	5.1	0.80

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 76 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction bêta-2 (%).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Bêta-2 (%)	0.0697	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 151 > 120$).

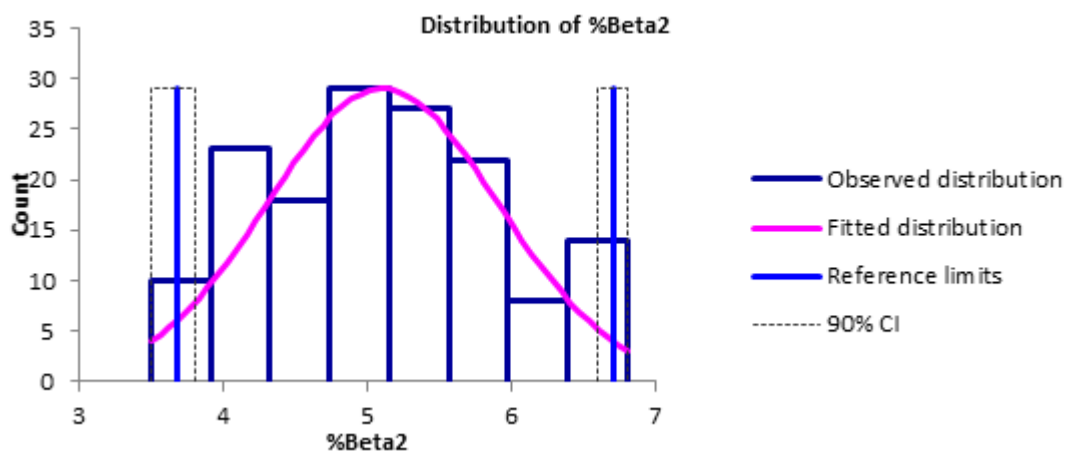


Figure 61 : Distribution des valeurs de bêta-2 (%) dans notre population.

Tableau 77 : Intervalle de référence de la fraction bêta-2 (%).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (%)	3.7	6.7
IC [90%] (%)	[3.5-3.8]	[6.6-6.8]

❖ IR observé de bêta-2 (%) : [3.7-6.7].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 78 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction bêta-2 (%).

Variable	IR CAPILLARYS	N	α	Test Binomial	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Bêta-2 (%)	[3.2-6.5]	151	5 %	P=0.225 NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	93	7

NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

3.6 Gamma

Etape 01 : Statistiques descriptives des valeurs de gamma en (%)

Tableau 79 : Statistiques descriptives de notre population pour gamma (%).

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Gamma (%)	158	6,2	23,7	17,0671	2,4166

Etape 02 : Détection et suppression des valeurs aberrantes

Pour la détection des valeurs aberrantes de notre fraction, on applique la méthode de Tukey.

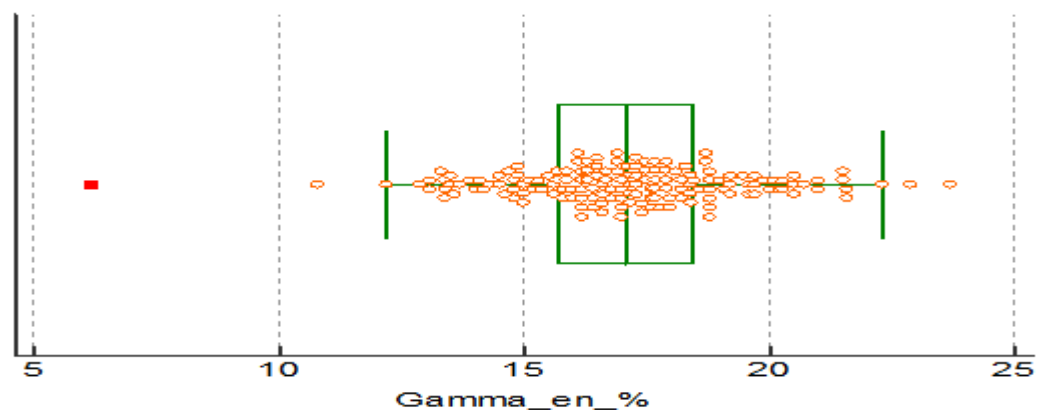


Figure 62 : Détection des valeurs aberrantes de gamma (%) par le test de Tukey.

Tableau 80 : Statistiques descriptives de notre population pour la fraction gamma (%) après suppression des valeurs aberrantes.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Gamma (%)	154	12,2	22,3	17,0974	2,1103

Etape 03 : Ajustement de la loi de probabilité :

Afin de déterminer le type de distribution statistique de notre fraction, on applique un test non paramétrique : Ajustement de la loi de probabilité.

Tableau 81 : Application du test de la distribution normale d'Agostino-Pearson pour la fraction gamma (%).

Variable	P valeur	Seuil de signification α	Interprétation
Gamma (%)	0,6068	0,05	NS ($P > \alpha$) Distribution normale

NS : Non Significantive

Etape 04 : Essai d'établissement d'IR de notre population

Pour la détermination de l'IR, nous avons utilisé la méthode non paramétrique recommandée par CLSI C28-A3 ($N = 154 > 120$).

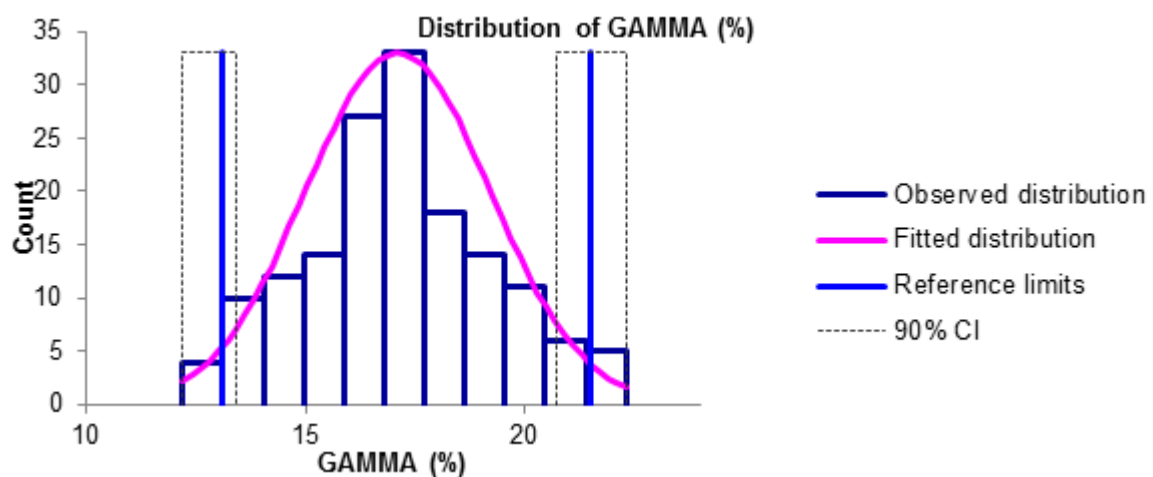


Figure 63 : Distribution des valeurs de gamma (%) dans notre population.

Tableau 82 : Intervalle de référence de la fraction gamma (%).

	Limite de référence inférieure	Limite de référence supérieure
IR observé (%)	13,1	21,5
IC [90%] (%)	[12,2-13,4]	[20,7-22,3]

❖ IR observé de gamma (%) : [13,1-21,5].

Etape 05 : Vérification de la transférabilité

Les résultats de vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction gamma sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 83 : Vérification du transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction gamma (%).

Variable	IR CAPILLARYS	N	A	Test Binomial	% des témoins ⊆ IR CAPILLARYS	% des témoins ⊄ IR CAPILLARYS
Gamma (%)	[11,1- 18,8]	154	5%	P< 0,0001 S (p<α) Transfert non accepté	82	18

S : Significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

Nos résultats sont résumés dans les tableaux et graphes ci-dessous :

Tableau 84 : Résumé des résultats obtenus des fractions en (g/l).

Fraction (g /l)	N	IR CAPILLARYS	IR observé	P	Transfert	% des témoins \subseteq IR CAPILLARYS	% des témoins $\not\subseteq$ IR CAPILLARYS
Albumine	153	[40,2-47,6]	[37,6 – 49]	< 0,0001	S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	80	20
Alpha-1	157	[2,1-3,5]	[2,1-3,6]	0,674	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	96	4
Alpha-2	154	[5,1-8,5]	[5,5 – 9,2]	0,150	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	93	7
Bêta-1	157	[3,4-5,2]	[3,5 – 5,7]	0,0024	S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	89	11
Bêta-2	148	[2,3-4,7]	[2,7-5,1]	0,322	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	94	6
Gamma	155	[8 ,0-13,5]	[8,9– 16,8]	< 0,0001	S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	67	33
A/G	157	[1.2 – 1.8]	[1.1- 1.7]	< 0,0001	S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	87	13

S : Significative NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

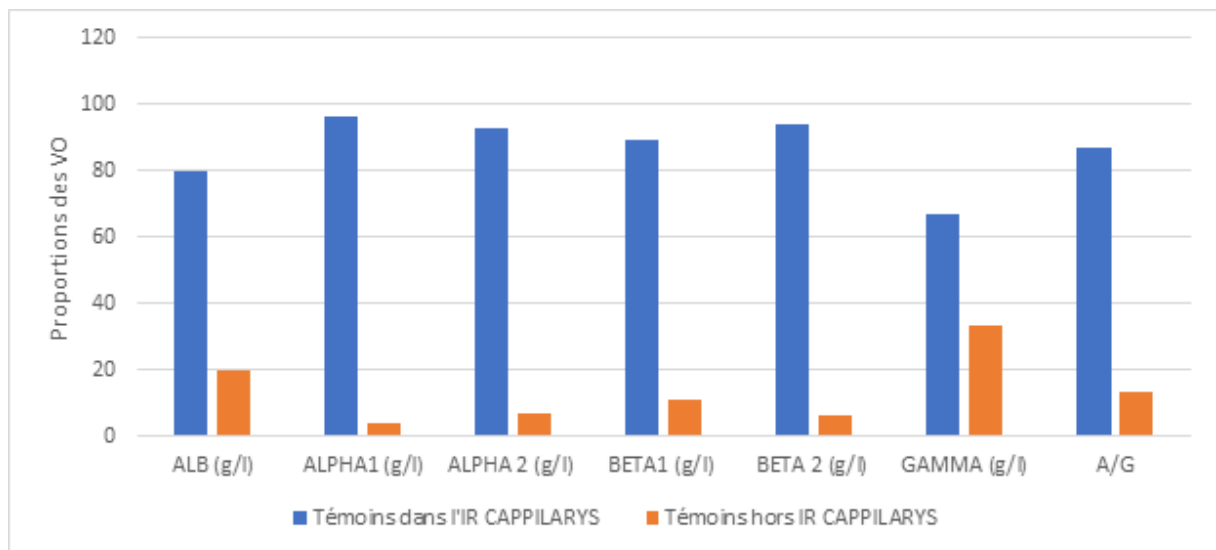


Figure 64 : Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de CAPILLARYS pour chaque paramètre étudié.

Tableau 85 : Résumé des résultats obtenus pour le TP en (g/l).

Paramètre (g /l)	N	IR ARCHITE CT	IR observé	P	Transfert	% des témoins \subseteq IR ARCHITE CT	% des témoins $\not\subseteq$ IR ARCHITE CT
TP	150	[64-83]	[67-83]	0,995	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	99	1

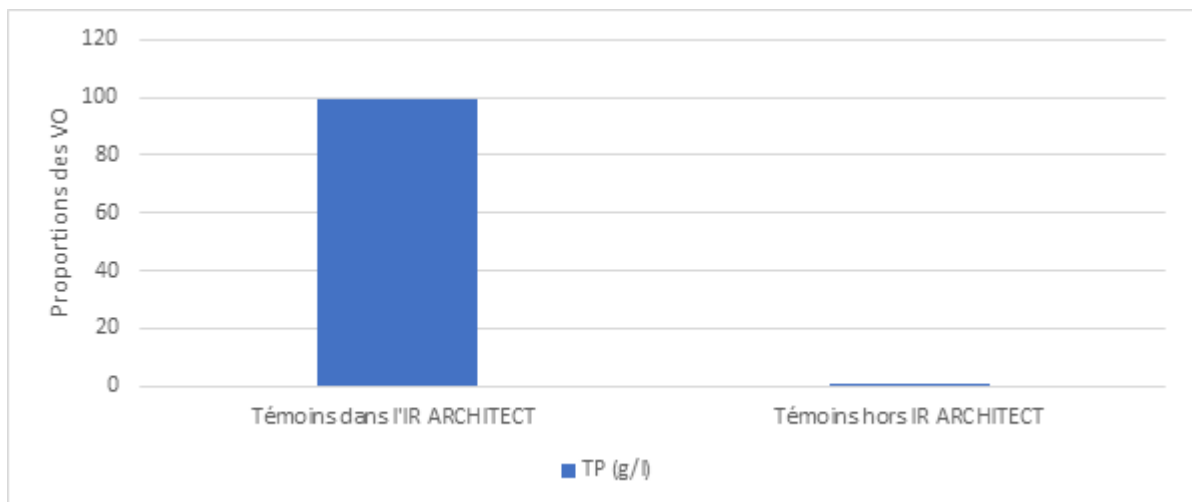


Figure 65 : Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de CAPILLARYS pour le TP (g/l).

Tableau 86 : Résumé des résultats obtenus des fractions en %.

Fraction %	N	IR CAPILLAR YS	IR observé	P	Transfert	% des témoins ⊆ IR CAPILLA RYS	% des témoins ⊄ IR CAPILLA RYS
Albumine	157	[55,8-66,1]	[51,7-63]	< 0,0001	S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	78	22
Alpha-1	156	[2,9-4,9]	[3,1-4,6]	0,996	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	99	1
Alpha-2	153	[7,1-11,8]	[7,4-11,8]	0,996	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	99	1
Bêta-1	157	[4,7-7,2]	[5-7,3]	0,801	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	96	4
Bêta-2	151	[3,2-6,5]	[3,7-6,7]	0,225	NS ($p > \alpha$) Transfert accepté	93	7
Gamma	154	[11,1-18,8]	[13,1- 21,5]	<0,0001	S ($p < \alpha$) Transfert non accepté	82	18

S : Significative NS : Non significative N : Nombre d'observations α : Seuil de signification

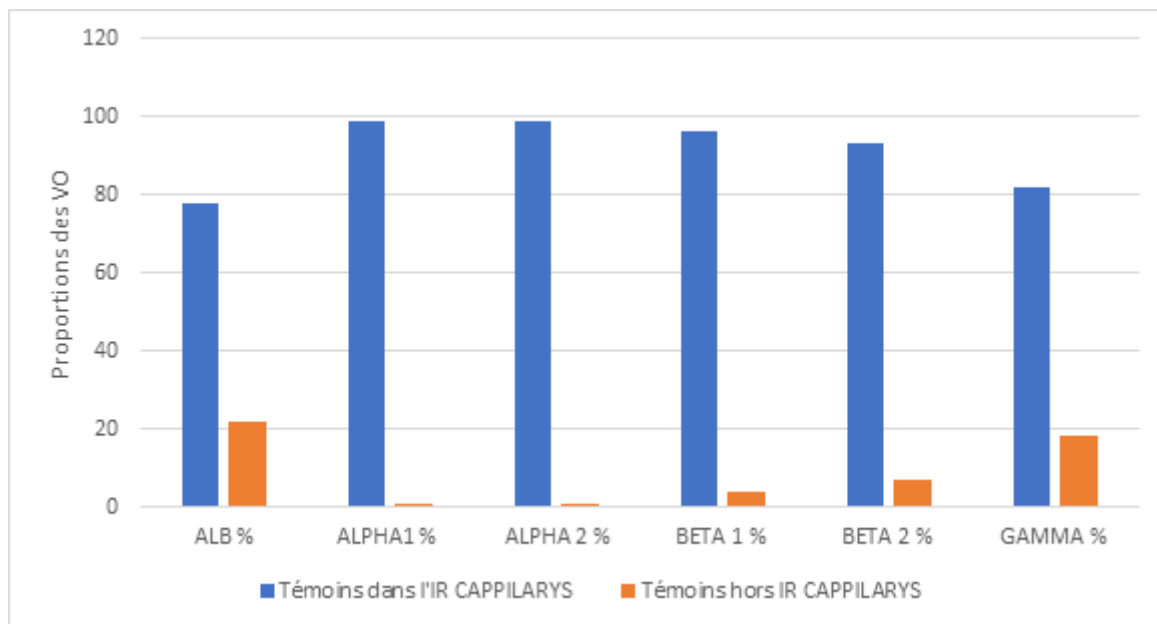


Figure 66 : Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de CAPILLARYS pour chaque paramètre étudié (%).

DISCUSSION

Notre étude consiste en l'établissement des valeurs de référence des différentes fractions de l'électrophorèse capillaire des protéines sériques et la vérification des IR de CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING chez l'adulte, pour cela nous avons procédé à une sélection de 158 sujets adultes sains ce qui est un nombre satisfaisant selon les recommandations internationales de CLSI/IFCC (N>120) sur la base d'un questionnaire poussé et approfondi pour une meilleure sélection de la population de référence.

Nous avons aussi essayé d'établir un intervalle de référence propre à notre population pour le TP et le ratio A/G et d'étudier sa transférabilité.

Les résultats de cette vérification sont résumés dans les tableaux (84,85 et 86).

Nos résultats montrent que la transférabilité de l'IR CAPILLARYS est acceptée pour 3 fractions en (g/l) et en % (alpha-1, alpha-2 et bêta-2) et rejetée pour Albumine et Gamma.

Pour la fraction bêta-1, le transfert a été accepté pour la concentration en % et rejeté pour l'intervalle en (g/l).

❖ **Albumine**

✓ **Valeurs en g/l**

L'intervalle de référence observé à 95% est : [36,7 – 49] g/l avec une valeur moyenne de 42,93.

Le transfert de l'IR de CAPILLARYS [40,2-47,6] (g/l) n'est pas possible, la différence est statistiquement significative (P<0.0001). 20% des valeurs observées sont en dehors de l'IR du fournisseur. On observe que l'intervalle de CAPILLARYS est plus étroit que l'intervalle calculé, ce qui peut donner de fausses hypo ou hyper albuminémies.

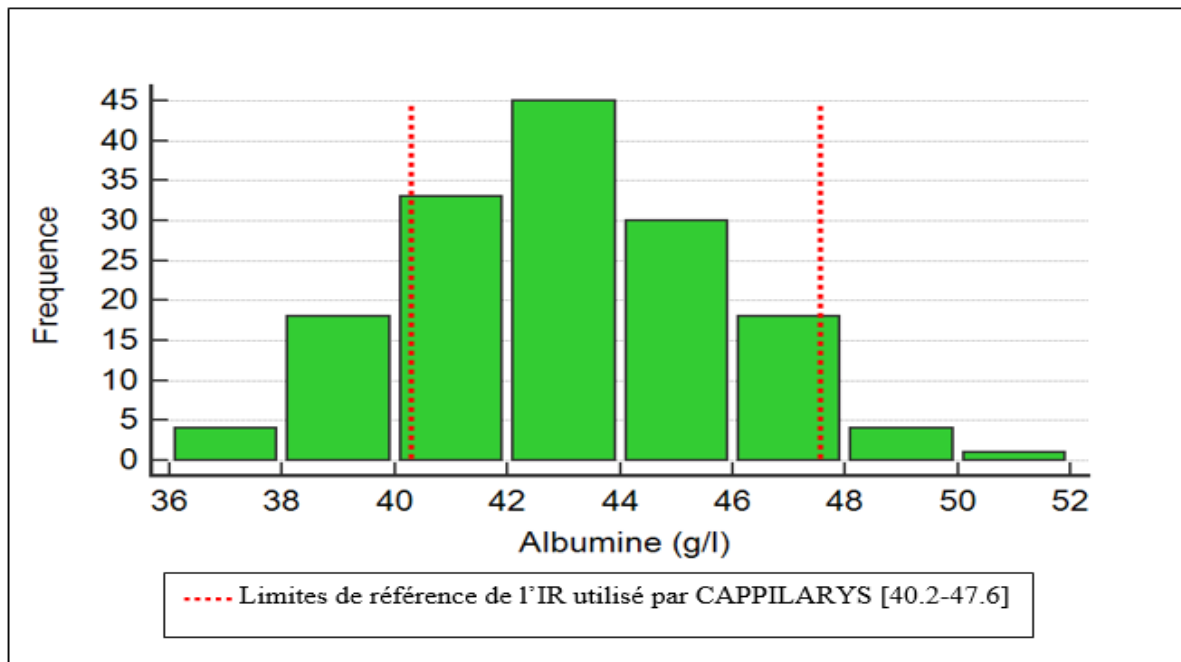


Figure 67 : Situation des VR de l'albumine (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ Valeurs en %

Nous avons obtenu un intervalle de référence de [51,7 – 63] qui est distinct de celui de CAPILLARYS avec un intervalle de [55,8 – 66,1] et une valeur moyenne observée de 57,7%.

On observe que la limite inférieure de l'intervalle obtenu est en dessous de la limite inférieure de l'intervalle de CAPILLARYS avec 22% des valeurs observées en dehors de cet IR et une P valeur <0.0001 ce qui n'autorise pas le transfert. Cet écart peut être expliqué par la différence dans le régime alimentaire (le régime alimentaire des populations occidentales est riche en protéines et en lipides ce qui fait augmenter le taux d'albumine).

Le transfert de l'intervalle de CAPILLARYS de la fraction d'albumine n'est pas accepté dans les deux cas, pour cela nous préconisons l'utilisation de l'IR observé qui reflète mieux l'albuminémie de notre population.

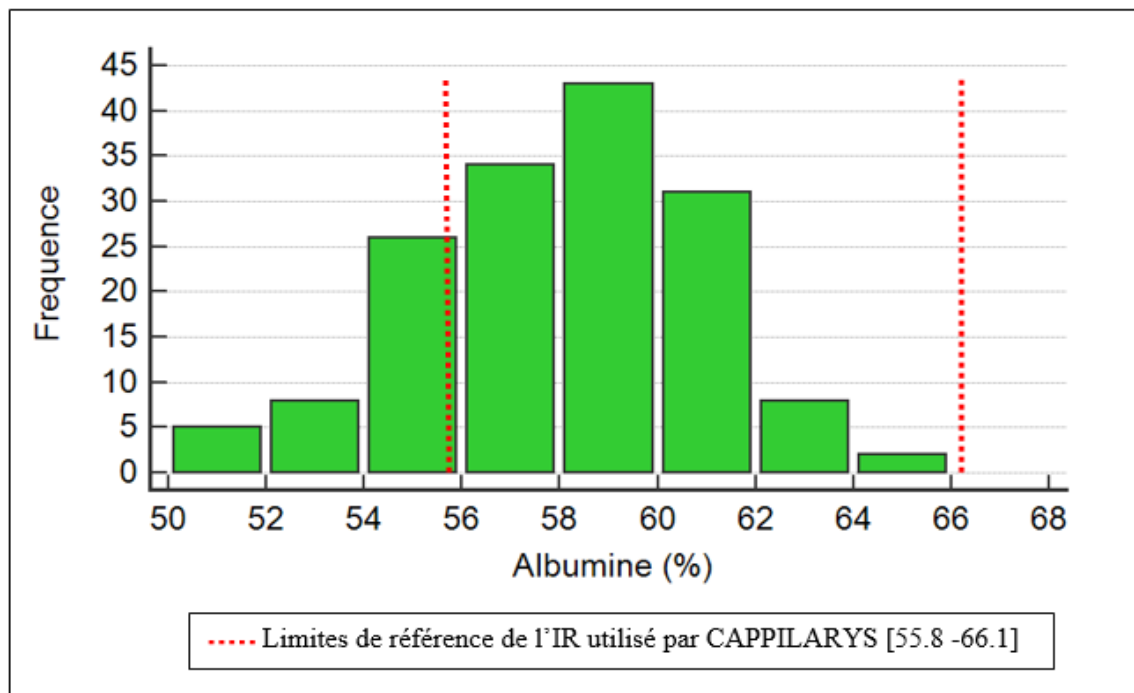


Figure 68 : Situation des VR de l'albumine (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

❖ Alpha-1

✓ Valeurs en g/l

L'intervalle de référence observé à 95% est : [2,1 – 3,6] g/l avec une moyenne de 2.88 (g/l). Il est presque identique à celui fournis par CAPILLARYS [2,1 – 3,5] g/l qui inclut 96% des valeurs observées ; le transfert est donc possible.

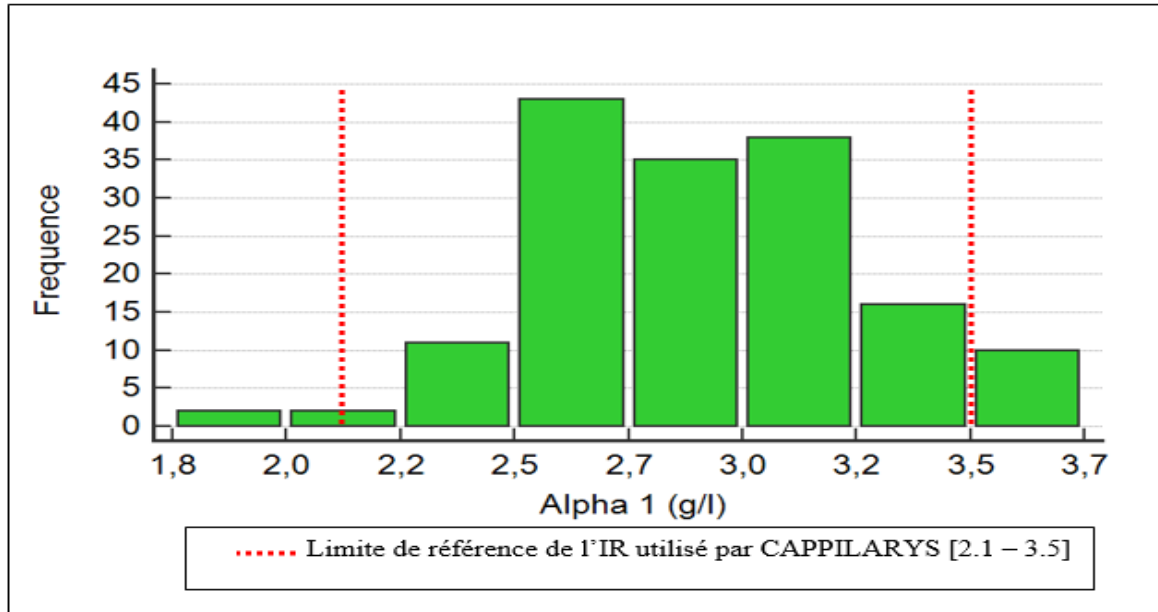


Figure 69 : Situation des VR de l'alpha-1 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ Valeurs en %

L'intervalle de référence observé à 95% est : [3,1 – 4,6] % avec une moyenne égale à 3,88 % et une majorité de la population ayant un taux entre 3,5 et 4,5 %.

La différence est non significative voire inexistante ($P=0.9969$) entre les valeurs observées et les valeurs de CAPILLARYS, ce qui nous permet d'accepter la transférabilité de IR.

Le transfert est possible, on peut donc garder l'IR du fournisseur ou utiliser l'IR propre à notre population.

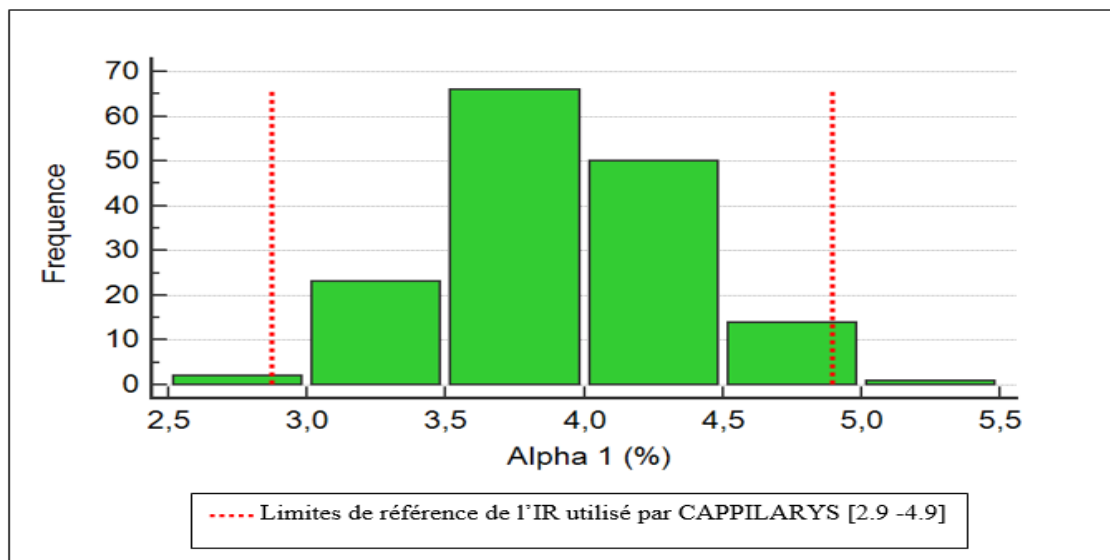


Figure 70 : Situation des VR de l'alpha-1 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

❖ Alpha-2

✓ Valeurs en g/l

L'intervalle de référence observé à 95% : [5,5 – 9,2] avec une moyenne de 7,1 (g/l).

93% des valeurs observées sont incluses dans l'intervalle de CAPILLARYS, le transfert est donc accepté avec une P valeur de 0.15, il n'y a pas de différence significative entre les valeurs observées et celles du fournisseur.

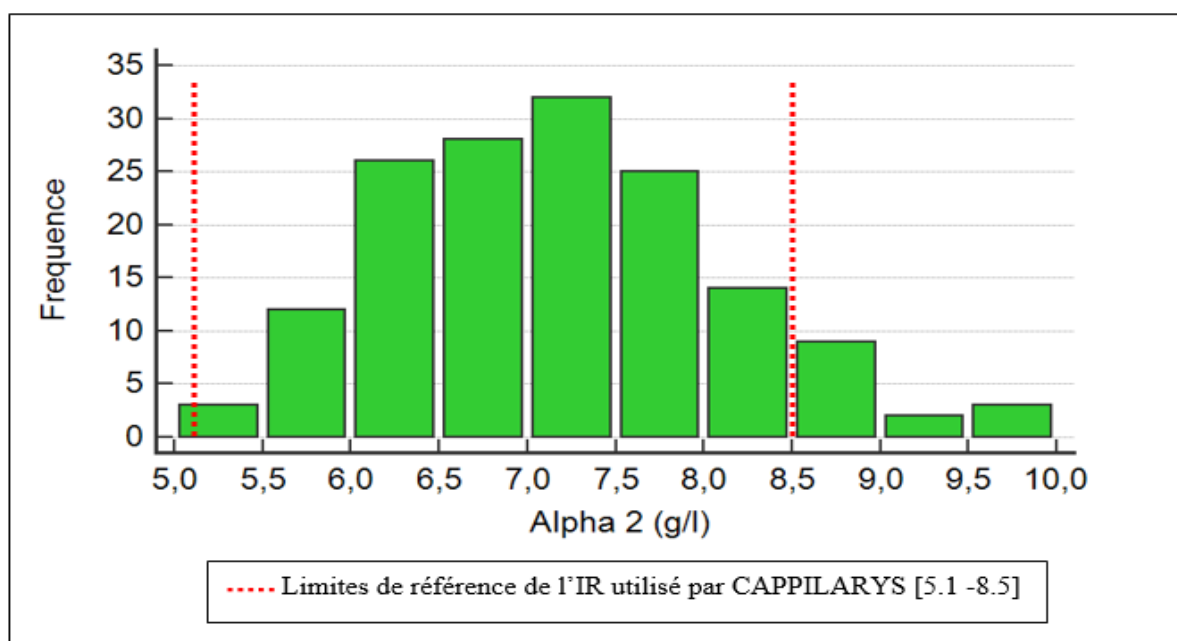


Figure 71 : Situation des VR de l'alpha-2 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ Valeurs en %

La limite inférieure de l'IR observé [7,4 – 11,8] se situe en dessus de la limite inférieure de l'IR du fournisseur [7,1 – 11,8] mais la différence est non significative voire inexistante ($P=0,9965$) avec 99% des témoins entrant dans l'intervalle de référence de CAPILLARYS. Le transfert est accepté.

Le pourcentage moyen de la population est 9,58%.

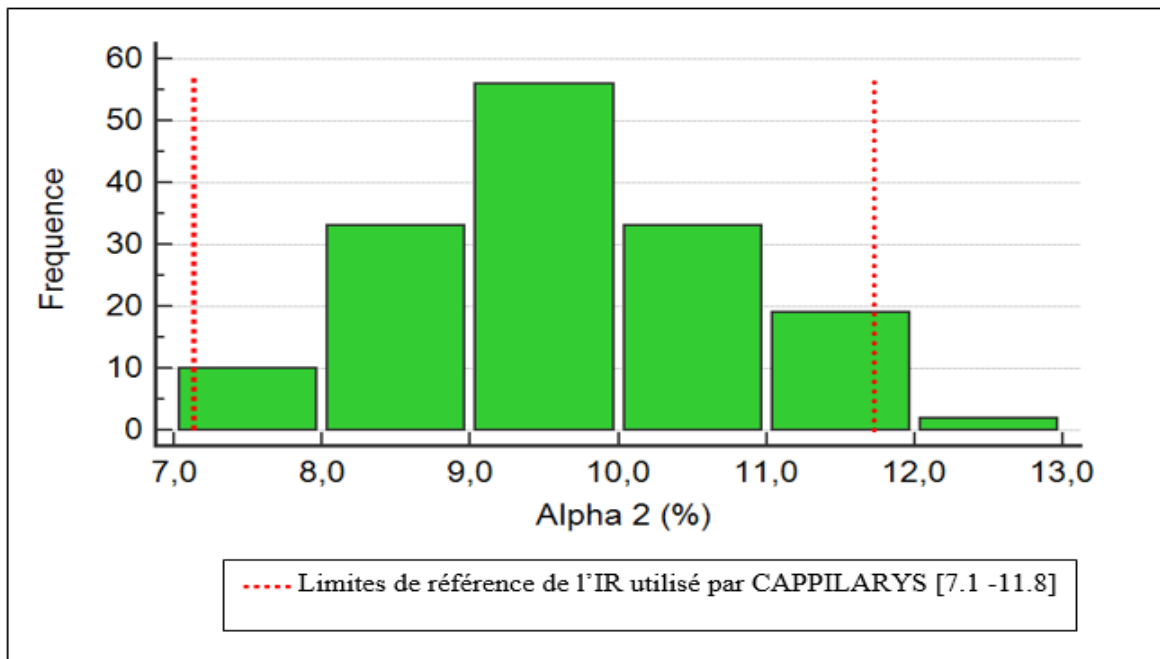


Figure 72 : Situation des VR de l'alpha-2 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

Les valeurs de référence de notre population sont proches des valeurs du fournisseur donc on a le choix d'utiliser nos propres VR ou de garder l'IR de CAPILLARYS.

❖ Bêta-1

✓ Valeurs en g/l

L'intervalle de référence établi à 95% est : [3,5 – 5,7] g/l avec une majorité de la population ayant des valeurs allant de 4 à 5,5 (g/l) et une moyenne de 4,5 (g/l).

Les deux limites inférieure et supérieure de l'IR observé se trouvent en dessus des limites de l'IR de CAPILLARYS [3,4 – 5,2], la différence est significative (P=0.0024), le transfert a été rejeté.

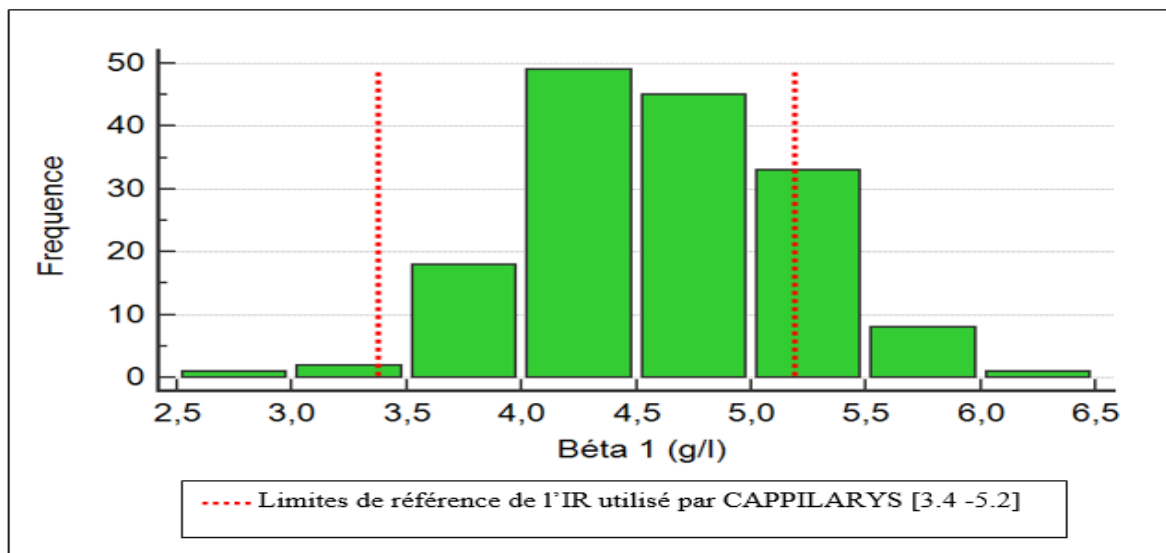


Figure 73 : Situation des VR de bêta-1 (g/l) déterminées par rapport à l’IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ Valeurs en %

L’intervalle observé à 95% est : [5 – 7,3] avec une moyenne de 6,1%. La majorité de la population ont des valeurs entre 5,5 et 7 %.

Les résultats de test binomial montrent que 96% des valeurs observées sont à l’intérieur de l’intervalle de CAPILLARYS [4,7 – 7,2], la différence est non significative (P=0,8017), on peut donc accepter le transfert.

Pour la fraction bêta-1 nous avons remarqué que le transfert est accepté pour les valeurs en % et rejeté pour les résultats en (g/l) mais nous estimons que la différence entre les deux limites des IR en (g/l) même si elle est statistiquement significative elle reste faible et n’influence pas l’interprétation biologique.

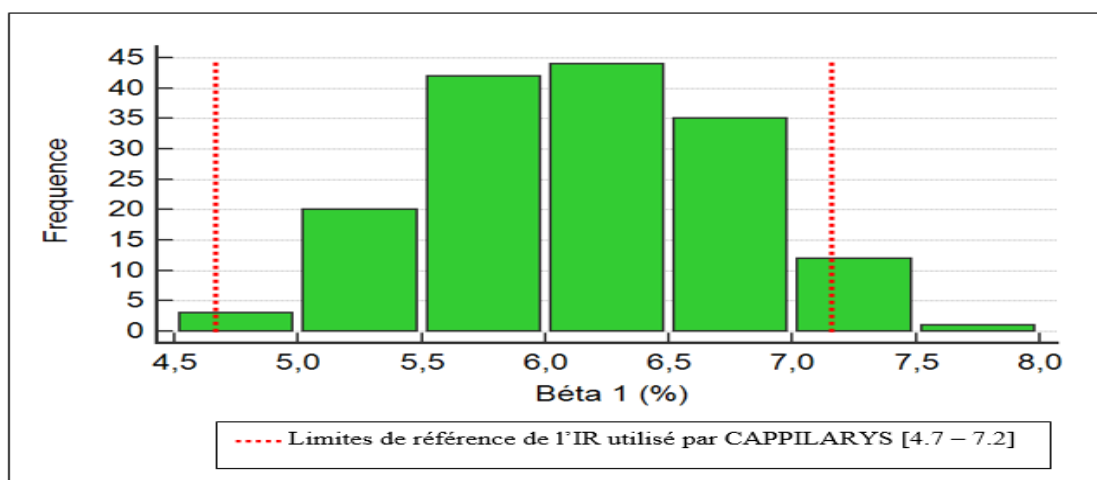


Figure 74 : Situation des VR de bêta-1 (%) déterminées par rapport à l’IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

❖ **Bêta-2**✓ **Valeurs en g/l**

L'intervalle de référence observé à 95% est : [2,7 – 5,1] g/l avec une moyenne de 3,76 g/l. La majorité des valeurs de notre population se situent entre 3 et 4,5 g/l.

La différence entre les valeurs observées et les VR de CAPILLARYS [2,3 – 4,7] est non significative ($P=0.3222$), 94% des valeurs sont incluses dans l'IR du fournisseur le transfert est donc accepté.

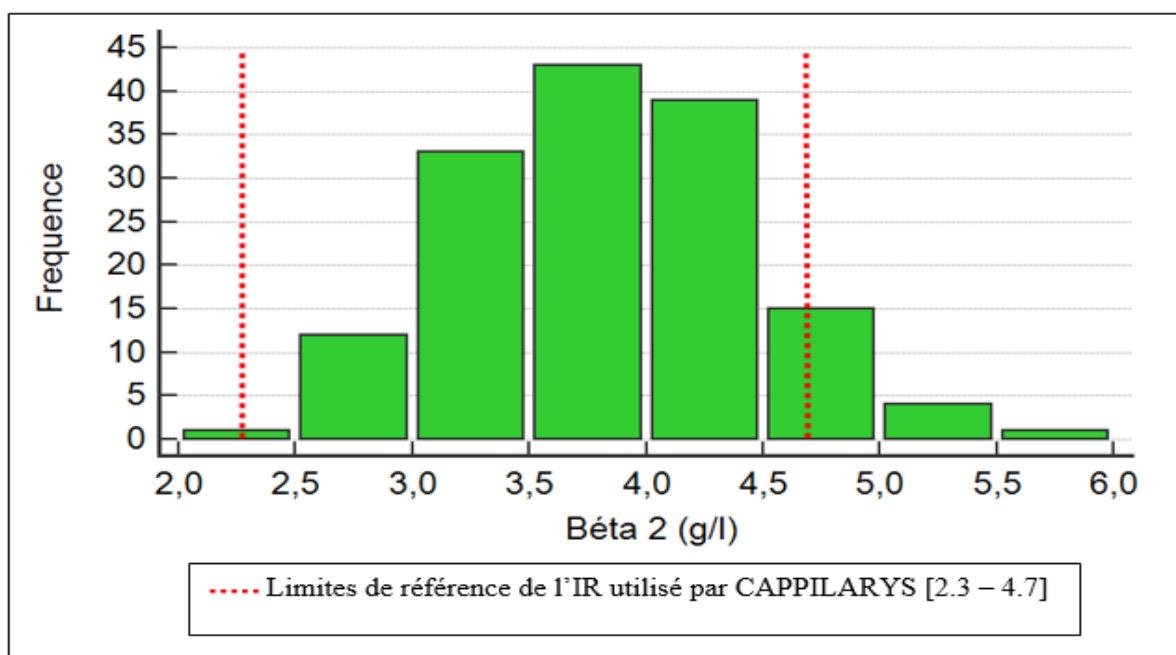


Figure 75 : Situation des VR de bêta-2 (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ **Valeurs en %**

L'intervalle de référence observé à 95% est [3,7 – 6,7] avec une valeur moyenne de 5,1%.

Le transfert de l'intervalle de CAPILLARYS [3,2 – 6,5] est accepté avec un P valeur de 0.225, 93% de nos valeurs sont à l'intérieur de cet IR.

La majorité des valeurs observées sont comprises entre 4 et 6%.

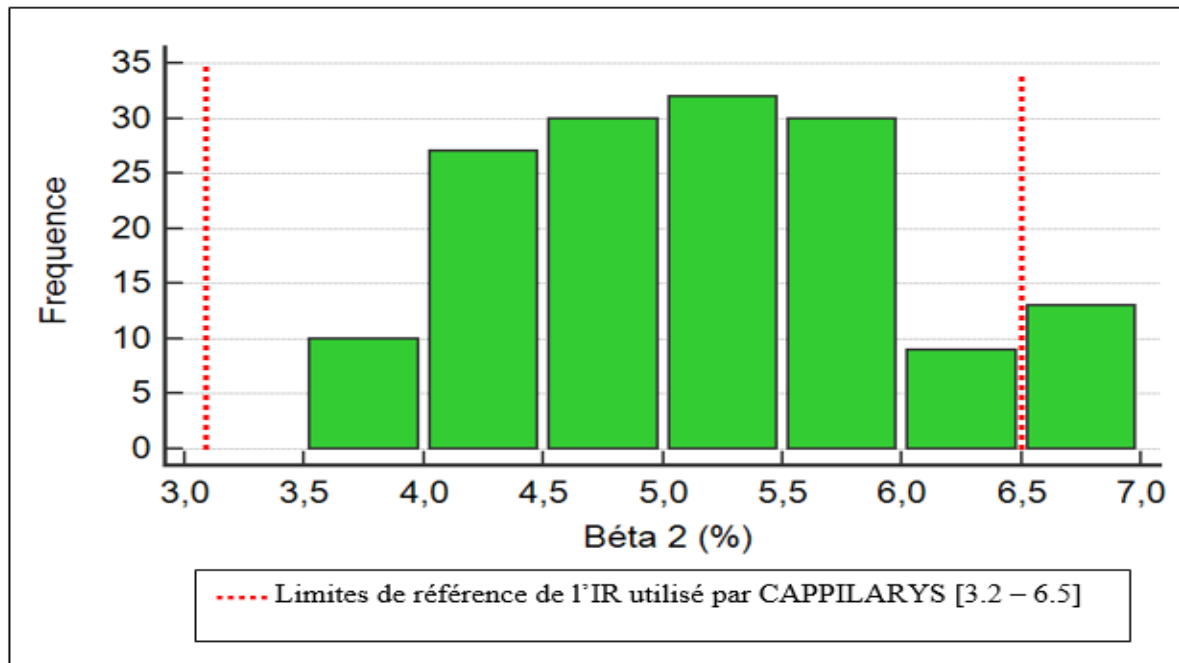


Figure 76 : Situation des VR de bêta-2 (%) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

Pour notre population on peut donc garder l'IR de CAPILLARYS comme on peut utiliser l'IR observé.

❖ Gamma

✓ Valeurs en g/l

L'intervalle de référence observé en g/l est de [8.9-16.8] avec une valeur moyenne de 12.67 g/l.

Le transfert de l'IR de CAPILLARYS [8 - 13.5] (g/l) n'est pas accepté car la différence est statistiquement significative ($p < 0.0001$), d'ailleurs on observe que 33% de nos individus de référence sont hors l'intervalle préalablement établie.

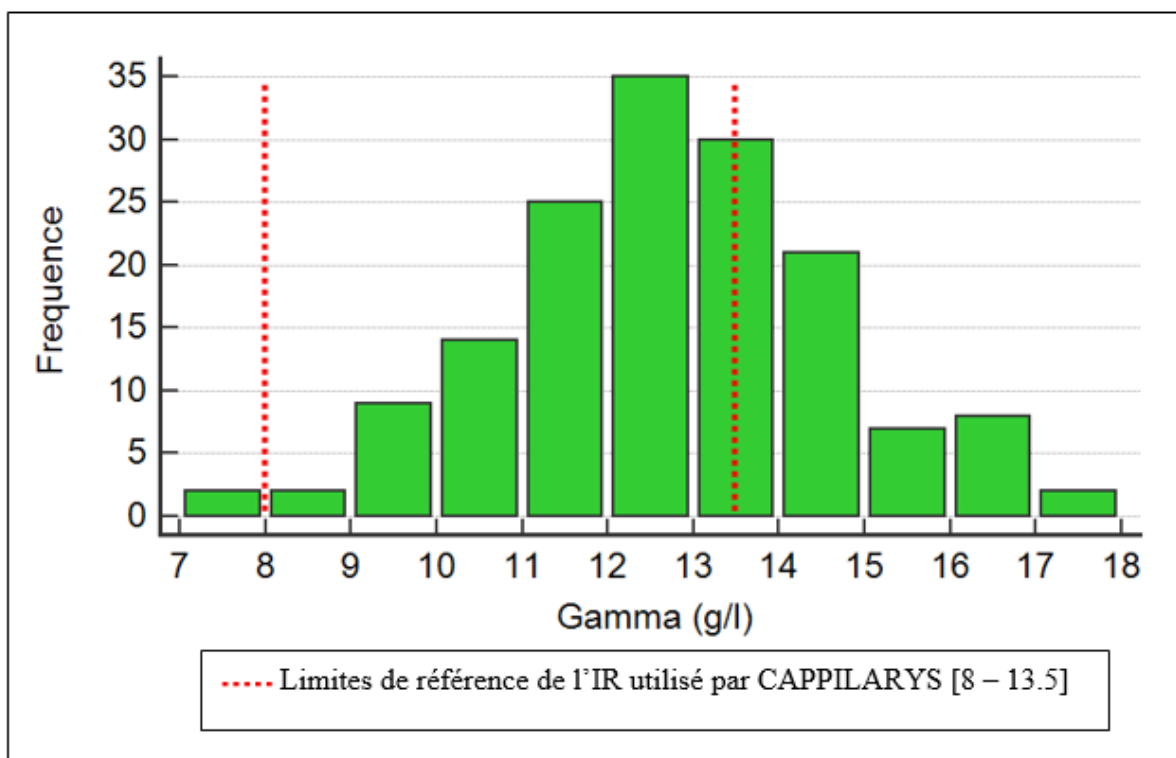


Figure 77 : Situation des VR de gamma (g/l) déterminées par rapport à l’IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ Valeurs en %

Nous avons obtenu un intervalle de référence de [13.1-21.5] % qui est distinct de celui de CAPILLARYS avec un intervalle de [11.1-18.8] % avec une valeur moyenne observée de 17.09 %.

On constate que 18% des valeurs observées sont en dehors de l’IR de CAPILLARYS et une P valeur <0.0001 ce qui n’autorise pas le transfert.

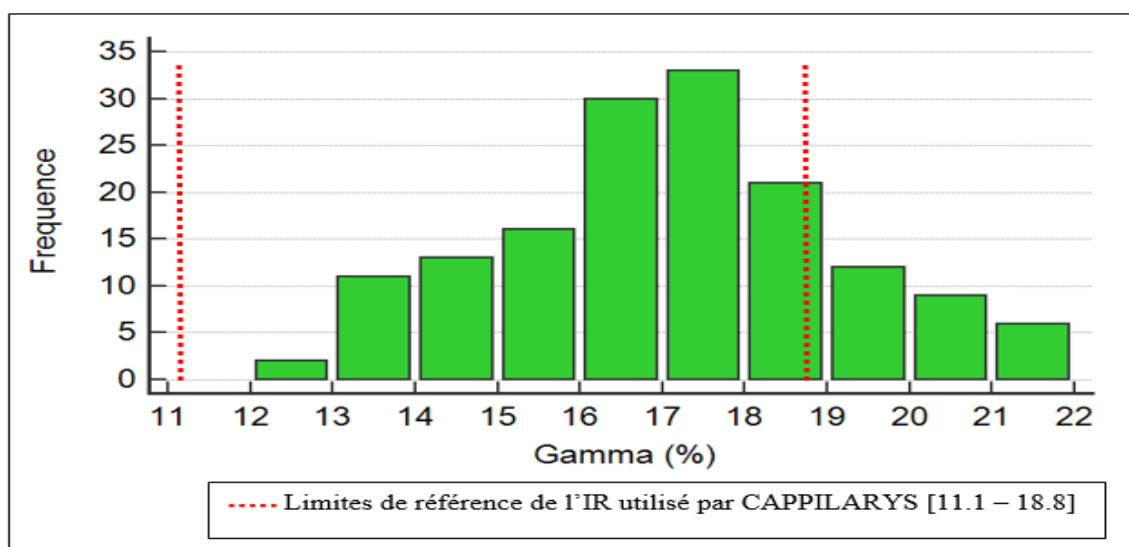


Figure 78 : Situation des VR de gamma (%) déterminées par rapport à l’IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

Nous constatons que les valeurs de gammaglobulines en g/l et en % sont nettement augmentées dans notre population. Ceci soulève des questions : une erreur analytique ? Notre population à un IR plus élevé ?

En effet, Cette augmentation polyclonale de la fraction gamma chez notre population peut être normale, nos valeurs se rapprochent de celles décrites chez certaines populations africaines. On peut donc penser que les pays africains sont faces à des agressions constantes contre lesquelles l'organisme doit lutter ce qui contribue à l'élaboration des anticorps et de ce fait à l'exacerbation de la fraction γ -globulines [71].

Néanmoins, l'échantillonnage a été effectué en hiver (la période où les maladies virales telles que le rhume commun et la grippe sont fréquentes). L'absence d'un examen clinique ou biologique antérieur au prélèvement qui exclut tout état pathologique sans manifestations cliniques, le non-respect des critères d'exclusion par les individus de référence peuvent être à l'origine de cette fluctuation.

Afin de répondre à ces questions, une étude plus approfondie est préconisée, afin de déterminer le bon IR de notre population.

❖ TP

La valeur moyenne de la protéinémie observée dans notre population d'étude est égale à 74,25 g/l avec un intervalle de référence de [67 – 83] g/l. Nos résultats se rapprochent de ceux de ARCHITECT ci4100 [64 – 83] (voir annexe 2) avec 99% des valeurs observés entrant dans l'IR préalablement établie donc le transfert est accepté avec $P=0,9959$.

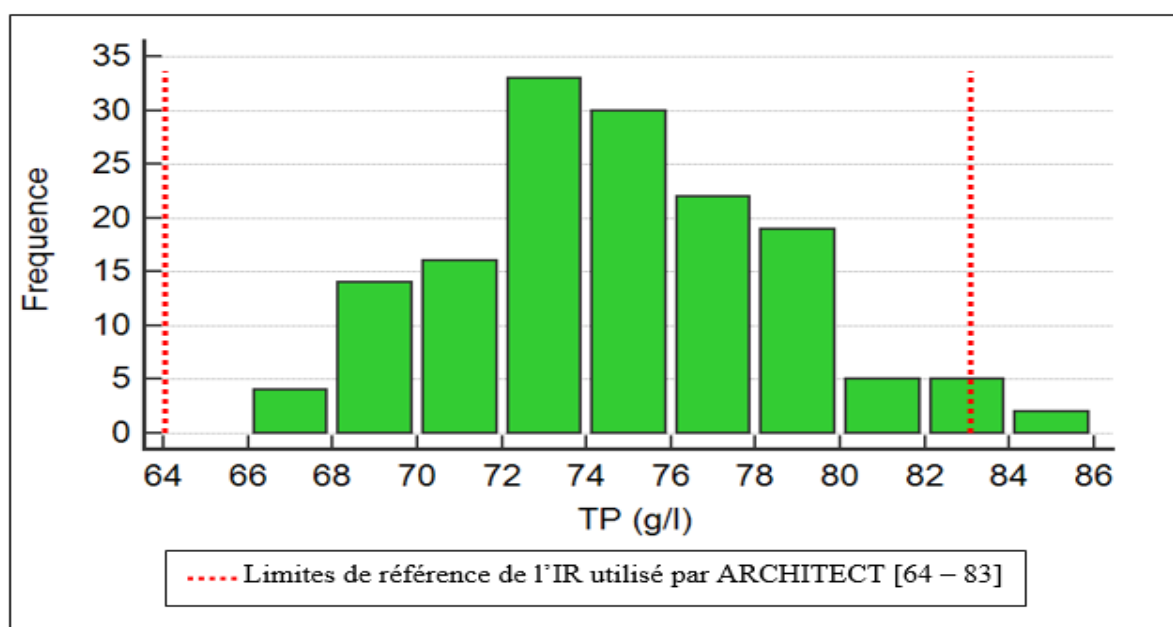


Figure 79 : Situation des VR de TP (g/l) déterminées par rapport à l'IR utilisé sur ARCHITECT ci4100.

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre l'IR observé et les VR de la littérature [60 – 80] g/l, le transfert est accepté avec $P=0.1320$.

Nos résultats sont très proches de ceux de fournisseur et comparables avec les données de la littérature ce qui nous permet de les utiliser dans notre laboratoire comme on peut garder les VR déjà utilisées.

❖ Ratio A/G

La valeur moyenne du rapport A/G observé dans notre population d'étude est égale à 1.38 avec un intervalle de référence de [1.1-1.7].

Le transfert de l'intervalle de CAPILLARYS [1.2-1.8] n'est pas accepté car la différence est statistiquement significative ($p < 0.0001$), en outre on observe que 13% de nos individus de référence sont hors l'intervalle préalablement établie.

Ainsi, nous constatons que les limites de référence inférieure et supérieure de l'intervalle obtenu sont en-dessous de l'intervalle théorique de CAPILLARYS est ceci est lié à l'élévation des taux de la fraction gamma.

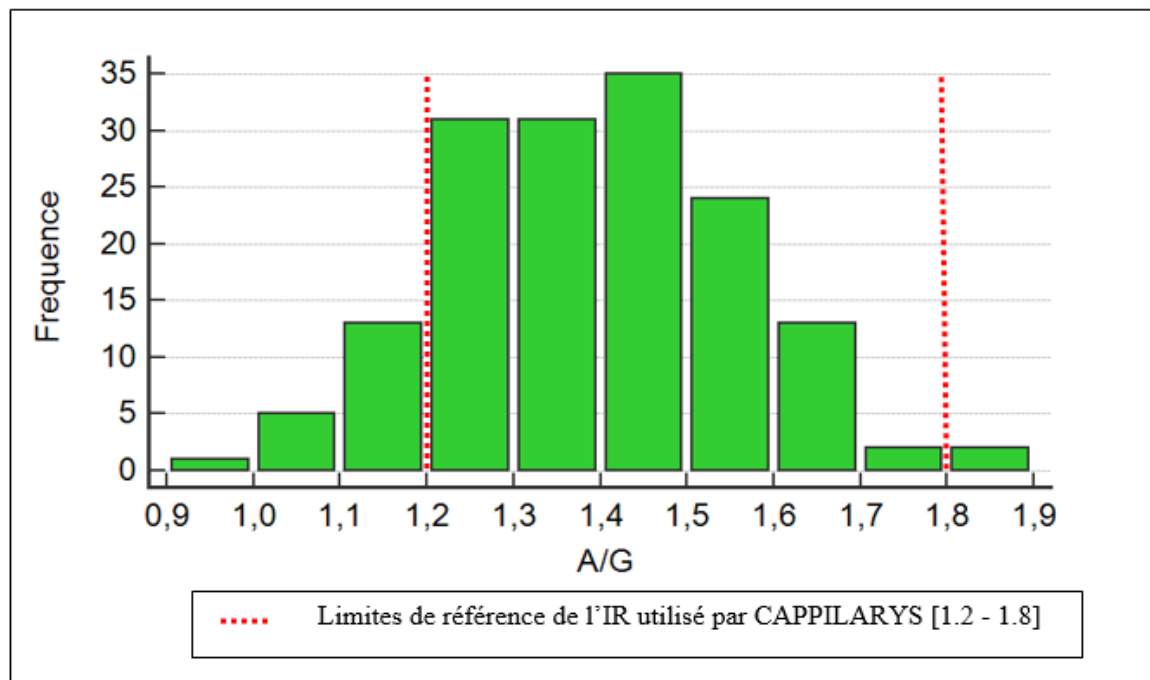


Figure 80 : Situation des VR du rapport A/G déterminées par rapport à l'IR utilisé sur CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING.

✓ Les limites de notre étude

- Difficultés de recrutement des individus de références répondant à tous les critères d'inclusion et d'exclusion de notre études.
- A cause de l'absence de salle de prélèvement au niveau du CHU de TIZI OUZOU les prélèvements des spécimens ne sont pas effectués dans le même endroit.
- Existence d'une classe d'âge dominante : 58% des participants sont âgés entre 20 et 27 ans ce qui influence un peu l'homogénéité de notre échantillon. Cela peut avoir plusieurs causes : la survenue de maladies chroniques chez les personnes âgées qui présente un facteur d'exclusion dans notre étude, la majorité des participants sont des étudiants, la non-coopération de certaines personnes.
- Prédominance des hommes sur les femmes : cela est dû à la prise de contraceptifs, la grossesse, la ménopause qui présentent des critères d'exclusion pour notre étude.
- Absence d'examen clinique antérieur au prélèvement ce qui pose une certaine incertitude sur l'état physiologique et pathologique.

CONCLUSION GENERALE

Les valeurs de référence des fractions de l'électrophorèse capillaire des protéines sériques utilisées en Algérie ont été établies à partir des populations occidentales alors que ces paramètres sont influencés par plusieurs facteurs liés le plus souvent au régime alimentaire mais aussi à l'environnement. Ces considérations sont à l'origine de l'étude que nous avons réalisée, elle est portée sur l'établissement des valeurs de référence propres à notre population.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont permis d'établir de façon fiable des intervalles de références des protéines sériques totales et les fractions qui en résultent par l'électrophorèse capillaire sur un échantillon de 85 hommes et 73 femmes se réclamant tous en bonne santé.

D'une manière générale, les résultats obtenues ne subissent pas l'influence de sexe et de ce fait les deux sexes ont été confondus en un seul échantillon de 158 individus sur lequel a porté l'estimation des intervalles de références.

Les intervalles de référence pour le taux de protides, α_1 , α_2 , et β_1 et β_2 globulines sont proches des annoncés de la littérature et des intervalles du fournisseur. Les γ globulines, l'albumine et le ratio A/G par contre, révèlent une différence significative, ceci justifie pleinement nos appréhensions et le bien-fondé de la présente recherche, et nous convainquons de ce fait de la nécessité pour chaque population ou pour chaque pays d'élaborer ses propres références biologiques.

Une étude à grande échelle utilisant un échantillon plus large pour une grande représentativité de la population algérienne en générale est recommandée.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Biochimie structurale et métabolique Christian moussard 3ème édition de boeck
- [2] Toute la biochimie Serge Weinman, Pierre Méhul © Dunod, Paris, 2004
- [3] L'indispensable en Biochimie Françoise Valentini © Bréal 2005
- [4] Coutouly G, Klein E, Barbieri E, Kriat M. Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique. 3ème édition. Doin éditeurs, groupe liaison SA, Wolters Kluwer France 2006.
- [5] Maxi fiches biochimie en 84 pages 2ème édition © Dunod, Paris, 2011, 2015
- [6] Métabolisme protéique y. Boirie, b. Beaufrère Cah. Nutr. Diét., 40, 1, 2005
- [7] La structure des protéines Jeannine Yon-Kahn Guy Hervé Jean-Luc Popot © EDP Sciences 2019.
- [8] Développement de potentiels statistiques pour l'étude in silico des protéines et analyse de structuration alternatives. Dehouck Yves Mai 2005.
- [9] Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac JP, Gibaud C, Poulin G, Rivière H, Le Carrer D. Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. Ann Biol Clin 2006 ; 64/4 : 367-380.
- [10] Ann Fr AwrrhRPunirn 1996 : 15 :464-469 0 Elsevier. Paris F. Tamion / Annales Francaises d'Anesthesie et de Réanimation 29 (2010) 629-634 SCIENCE DIRECT.
- [11] Arques S. Albumine sérique et maladies cardiovasculaires : une revue approfondie de la littérature. Ann CardiolAngeiol (Paris) (2017).
- [12]https://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_498407/fr/albumine-sang?fbclid=IwAR1L2JYf87x_L1EBFDklZlBriYPxUNhHErk4QkRyaRdEX-OZcbC0flzOWG4
- [13] © 2013 Biomnis – PRÉCIS DE BIOPATHOLOGIE ANALYSES MÉDICALES SPÉCIALISÉES Nutr. Clin. Métabol. (1987) 1, 7-15.
- [14] © 2012 Biomnis – PRÉCIS DE BIOPATHOLOGIE ANALYSES MÉDICALES SPÉCIALISÉES.
- [15] Bouchecareilh, M. (2014). Le déficit en alpha-1-antitrypsine. Médecine/sciences, 30(10), 889-895.
- [16] Variation : alpha-1-antitrypsine, Biomnis, consulté le 19/01/2020.
- [17] Luo, Z., Lei, H., Sun, Y., Liu, X., & Su, D.-F. (2015). Orosomucoïd, an acute response protein with multiple modulating activities. Journal of Physiology and Biochemistry, 71(2), 329-340.
- [18] Frontiers in Bioscience 12, 2823, May 1, 2007.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [19] Atkinson, H. M., Parmar, N., Berry, L. R., & Chan, A. K. C. (2012). Determination of alpha-2-macroglobulin complexes by a new immuno-activity assay. *Thrombosis Research*, 129(5), 635–640.
- [20] Zia, M. K., Siddiqui, T., Ali, S. S., Ahsan, H., & Khan, F. H. (2019). Understanding the binding interaction between methotrexate and human alpha-2-macroglobulin : Multi-spectroscopic and computational investigation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 675, 108118.
- [21] Haptoglobine, Biomnis consulté le 19-01-2020.
- [22] Harris, Z. L. (2019). Ceruloplasmin. *Clinical and Translational Perspectives on WILSON DISEASE*, 77–84.
- [23] Variation : Céruloplasmine, biomnis consulté le 19-01-2020
- [24] Desbene, C., & Gaillard, O. (2013). Caractéristiques immuno-analytiques de l'alpha fœtoprotéine. *Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée*, 28(2-3), 158–165.
- [25] <https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/TRANSFERRINE.pdf>
- [26] <https://www.eurofins-biomnis.com/fr-int/services/referentiel-des-examens/page/SIDER/>
- [27] <https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/HEMOPEXINE.pdf>
- [28] <https://www.eurofins-biomnis.com/services/referentiel-des-examens/page/HEMOP/>
- [29] Thèse : UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ - NANCY 1/FACULTÉ DE PHARMACIE
Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie
- [30] <https://www.eurofins-biomnis.com/services/referentiel-des-examens/page/CRP/>
- [31] C3, protéine du complément : une molécule aux multiples capacités Christian Villiers
médecine/scùmr.es 1 995 ; 11 : 1419-29
- [32] Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2e édition, de l'ASSIM : Collège des Enseignants d'Immunologie © 2018, Elsevier Masson SAS
- [33] Immunoglobulines : des cibles multiples Actualités pharmaceutiques • n° 529 • octobre 2013
- [34] Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman
Traduction de la 3e édition anglaise : Pierre L. Masson
- [35] Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales B. Godon , W. Loisel Éle(2)
Pharmacopée européenne 7e édition tome 1
- [36] Pharmacopée européenne 7e édition tome 1
- [37] Electrophorèse capillaire Historique et perspectives Jean-Luc Veuthey, Serge Rudaz Club Lyonnais de chromatographie 20 Janvier 2005. Laboratoire de Chimie Analytique Pharmaceutique Université de Genève

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [38] Marie Minville. Prescription d'une électrophorèse des protéines sériques : à propos de 295 examens réalisés en laboratoire de biologie médicale de ville. Médecine humaine et pathologie .2018. Dumas- 01969620
- [39] Électrophorèse capillaire Principe par Myriam TAVERNA Isabelle LE POTIER et Philippe MORIN © Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation
- [40] Électrophorèse des protéines sériques : principes généraux – vérification de méthode – interprétation OptionBio | lundi 28 janvier 2013 | n° 483
- [41] Applications de l'électrophorèse capillaire en toxicologie clinique et médico-légale Laurence LABAT, Marc DEVEAUX, Jean-Pierre DUBQST Annales de Toxicologie Analytique, vol. XII, n° 3, 2000
- [42] Nouvelles techniques d'électrophorèse : applications aux protéines et à l'ADN F. Trivin , T. Le Bricon Immuno-analyse & Biologie spécialisée 18 (2003) 11–22 © 2003 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés.
- [43] Chimie analytique / Skoog, West, Holler ; traduction et révision scientifique de la 7e édition américaine par Claudine Buess-Herman, Josette Dauchot-Weymeers et Freddy Dumont De Boeck
- [44] méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications Gwenola Burgot Jean Louis Burgot 3 édition
- [45] <http://p.21-bal.com/buhgalteriya/3634/index.html?page=11>
- [46] Association française des ingénieurs biomédicaux : panorama des automates de laboratoires (actualisation) ITBM-RBM News 2004 ; 25 (2) © éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés
- [47] Analyse chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes Cours et exercices corrigés Francis Rouessac Annick Rouessac avec la collaboration de Daniel Cruché 6e édition © Dunod
- [48] Smith, I. (1976). GENERAL PRINCIPLES OF ZONE ELECTROPHORESIS. Zone Electrophoresis, 1–1
- [49] ProteinSeparation in Agarose Gels Section_XIII, Benchguides , LONZA
- [50] Drabik, A., Bodzoń-Kuślakowska, A., Silberring, J. (2016). Gel Electrophoresis. Proteomic Profiling and Analytical Chemistry, 115–143
- [51] SDS Agarose Gels for Analysis of ProteinsMinjie Wu and NorikoKusukawa, avril 1998
- [52] [P 3 365] : Électrophorèse capillaire. Principe ; © Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation.
- [53] http://www.esi.umontreal.ca/~badiaa/CHM3102_CE1a.pdf
- [54] Techniques instrumentales d'analyse chimique en 23 fiches Annick Rouessac, Francis Rouessac
- [55] [P 3 366] : Électrophorèse capillaire. Appareillage ; © Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [56] [P 3 367] : Électrophorèse capillaire. Applications ; © Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation
- [57] Intégration du Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia) dans un laboratoire de biologie médicale spécialisée Laurence Guisa,,Anelise Chaumier, Virginie Le Gall, Sabine Havrez © 2013 – Elsevier Masson SAS
- [58] Capillaryelectrophoresis and its application in the clinicallaboratory J.R. Petersen et al. / ClinicaChimica Acta 330 (2003) 1–30 D 2003 Elsevier Science B
- [59] Analyse de la CDT par électrophorèse capillaire : comparaison de deux analyseurs Immuno-analyse et biologie spécialisée 22 (2007) 325–328 © 2007 Elsevier Masson SAS
- [60] Capillaryprotein(e) 6 - 2019/12 notice d'utilisation Sebia
- [61] Quand prescrire une électrophorèse des protéines sériques (EPS) et conduite à tenir en cas d'une immunoglobuline monoclonale © Haute Autorité de santé – 2017
- [62] Electrophorèse des protéines sériques en milieu capillaire Lionel BEY Département Diagnostic SEBIA 22 Octobre 2013
- [63] BIOCENTRE Laboratoire d'Analyse Electrophorèse et immunoélectrophorèse.
- [64] D. Le Carrer. Profils électrophorétiques ou profils protéiques ? Intérêts respectifs et limites d'utilisation : 1re partie : les profils électrophorétiques
- [65] CLSI Document C28-A2 Vol. 20 No. 13. How to Define and Determine Reference Intervals in the ClinicalLaboratory;Approved Guideline—Second Edition
- [66] TietzTextbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics - Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns 5ème Éd
- [67] Henny J. Établissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. Ann Biol Clin 2011 ; 69(2) : 229-37
- [68] Joseph Henny, Inserm U 011 UVSQ, Villejuif. L'interprétation d'un examen de biologie médicale : forces et limites du concept de « valeurs de référence » Journée des Académies nationales de médecine, pharmacie et de la Société française de biologie clinique Paris, Académie de médecine, 24 janvier 2018
- [69] Contribution à l'établissement des valeurs de référence de paramètres biologiques chez le Burkinabè adulte : Évaluation de cinq constituants biochimiques au service de chimie biologie du Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo (C.H.N.Y.O) à Ouagadougou. (Thèse)
- [70] Reference values : areview. Anne Geffre, Kristen Friedrichs, Kendal Harr, Didier Concordet, Catherine Trumel, Jean-Pierre Braun
- [71] <http://www.research-journal.net/fr/Assay-determination-of-reference-intervals-for-serum-proteins-within-the-Congolese-population.html?fbclid=IwAR1GHV1-TGxbIGx7vHZXYYxddY-oeiEhXBai2Cg3i6-QXU6nZJsvVo5hiSM>

ANNEXES

Annexe 01 : Fiche de renseignement de l'étude

CHU Mohamed Neddar TIZI OUZOU
Laboratoire de biochimie

**Contribution à l'établissement des valeurs de référence des fractions de l'électrophorèse capillaire
des protéines sériques**

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Identification de
[] [] []

l'échantillon :

Nom :

Prénom :

Age (ans) : [] []

Sexe : Homme

Femme

Taille (cm) : [] [] []

Poids (Kg) : [] [] []

Adresse :

Numéro de téléphone : [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Critères d'inclusion :

1. Considérez-vous sain ? Oui Non
2. Êtes-vous âgé entre 16-60 ans pour homme
16-50 ans pour femme Oui Non

Critères d'exclusion :

1. Avez-vous une maladie ? Oui Non Si oui, préciser [] [] [] [] [] [] [] [] [] []
2. Avez-vous pris des médicaments les 10 derniers jours ? Oui Non
3. Si oui, préciser [] [] [] [] [] [] [] [] [] []
4. Êtes-vous hospitalisé avant 1 mois de cela ? Oui Non
5. Avez-vous subi une chirurgie ? Oui Non
6. Avez-vous donné/transfusé du sang il y a 3 mois de cela ? Oui Non
7. Activité physique : Sédentaire Modérée Intense
8. Régime alimentaire : Restreint Equilibré
9. Consommation d'alcool ou tabac : Oui Non

Critères spécifiques aux femmes :

1. Etes-vous enceinte ? Oui Non
2. Êtes-vous allaitante ? Oui Non
3. Êtes-vous ménopausée ? Oui Non
4. Avez-vous pris des contraceptifs oraux ou implantés ? Oui Non

Annexe 02 : Fiche technique du TP

NAME

TOTAL PROTEIN

INTENDED USE

The Total Protein assay is used for the quantitation of total protein in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Plasma proteins derive primarily from synthesis in the liver, plasma cells, lymph nodes, spleen, and bone marrow. In disease states both the total plasma protein level and the ratio of the individual fractions may be dramatically altered from their normal values. Hypoproteinemia may be caused by such conditions as nephrotic syndrome, extensive bleeding, sprue (deficient protein absorption), severe burns, salt retention syndromes, and Kwashiorkor (acute protein starvation). Hyperproteinemia may be observed in cases of severe dehydration and disease states such as multiple myeloma. Changes in the proportions of the plasma proteins may occur in one or several of the protein fractions and often without alterations in the quantity of the total protein. The A/G ratio has commonly been used as an index of the distribution between the albumin and globulin fractions. This ratio can be significantly altered in such conditions as cirrhosis of the liver, glomerulonephritis, nephrotic syndrome, acute hepatitis, lupus erythematosus, and in some acute and chronic infections.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

Polypeptides containing at least two peptide bonds react with biuret reagent. In alkaline solution, cupric ion forms a coordination complex with protein nitrogen with very little difference between albumin and globulin on a protein-nitrogen basis.

Methodology: Biuret

REAGENTS**Reagent Kit**

[REF] 7D73 Total Protein is supplied as a liquid, ready-to-use, single reagent kit which contains:

[R1] 10 x 84 mL

Estimated tests per kit: 3,622

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
Sodium Potassium Tartrate	23.4 mmol/L
Sodium Hydroxide	613 mmol/L
Potassium Iodide	6.6 mmol/L
Copper Sulfate	13.2 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE**Reagent Handling**

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 15 to 30°C.

Reagent stability is 23 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS**Precautions for Users**

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens¹. Biosafety Level 2² or other appropriate biosafety practices^{3,4} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.
- [R1] contains sodium hydroxide and copper sulfate and is classified per applicable European Community (EC) Directives as: Irritant (Xi). The following are the appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases:



R38	Irritating to skin.
R41	Risk of severe damage to eyes.
R52/53	Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.
S26	In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice immediately.
S35	This material and its container must be disposed of in a safe way.
S36/37/39	Wear suitable protective clothing, gloves, and eye/face protection.
S46	If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.
S61	Avoid release in the environment. Refer to special instructions/safety data sheet.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING**Suitable Specimens**

Serum and plasma are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Separate serum from red blood cells or gel as soon after collection as possible.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. Separate plasma from red blood cells or gel as soon after collection as possible.

Refer to the specimen collection tube manufacturer's instructions for processing and handling requirements.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Serum and plasma: Total protein is stable in serum and plasma for 1 week at room temperature, for at least 1 month when refrigerated, and for up to 2 months at -20°C.⁵

An in-house study confirmed total protein is stable in serum for 34 days at 2 to 8°C.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE**Materials Provided**

[REF] 7D73 Total Protein Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- [REF] 1E65 Multiconstituent Calibrator, [CAL 1-2] 3 x 5 mL
- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to Section 5 of the instrument-specific operations manual.

PROCEDURE (Continued)

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and plasma: Specimens with total protein values exceeding 18.4 g/dL (184 g/L) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 23 days (552 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

For information on calibrator standardization, refer to the Multiconstituent Calibrator package insert.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent or calibrator lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- **ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C**
- **AEROSSET System Operations Manual—Appendix A**

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum ⁶	Range (g/dL)	Range (g/L)
	Premature	3.6 to 6.0
Newborn	4.6 to 7.0	46 to 70
Cord	4.8 to 8.0	48 to 80
1 week	4.4 to 7.6	44 to 76
7 months to 1 year	5.1 to 7.3	51 to 73
1 to 2 years	5.6 to 7.5	56 to 75
≥ 3 years	6.0 to 8.0	60 to 80
Adult, Ambulatory	6.4 to 8.3	64 to 83
Adult, Recumbent	6.0 to 7.8	60 to 78
> 60 years	lower by ~ 0.2	lower by ~ 2

To convert results from g/dL to g/L, multiply g/dL by 10.

Plasma

Plasma values are generally 0.3 to 0.5 g/dL higher than serum values due to the presence of fibrinogen.⁷ This difference has been shown to vary among specific populations.⁸

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Total Protein is linear up to 18.4 g/dL (184 g/L). Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.⁹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for Total Protein is 0.5 g/dL (5.0 g/L). The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem and an AEROSSET System produced an LOD for Total Protein of 0.07 g/dL (0.7 g/L).

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for Total Protein is 0.76 g/dL (7.6 g/L). The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances¹⁰

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹¹ Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (g/dL)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 μmol/L)	3	6.6	96.2
	60 mg/dL (1,026 μmol/L)	3	6.6	93.4
Hemoglobin	125 mg/dL (1.25 g/L)	3	5.2	106.2
	250 mg/dL (2.50 g/L)	3	5.2	112.1
Human triglyceride	750 mg/dL (8.5 mmol/L)	4	8.9	100.2
	1,000 mg/dL (11.3 mmol/L)	4	8.9	99.5

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Human triglyceride solutions at the above concentrations were prepared by mixing a high triglyceride level human serum pool with a normal triglyceride level human serum pool.

RESUME

Dans le but d'une meilleure connaissance de la biologie de notre population, 158 sujets dont 85 hommes et 73 femmes ont fourni des prélèvements sanguins pour évaluer le taux des différentes fractions de protéines sériques obtenues par électrophorèse capillaire afin de pouvoir définir l'intervalle de référence au sein de notre population. Les valeurs de référence obtenues, ont été comparées à celles des populations européennes et nord-américaines, les résultats montrent que : le taux de fractions d'alpha-1, alpha-2, bêta-1, bêta-2 ainsi que le TP sont très proches de celles rencontrées dans la littérature, cependant des différences significatives ont été notées en ce qui concerne la fraction d'albumine qui reste faible au sein de notre population tandis que le taux de gammaglobulines se trouve nettement élevé justifiant ainsi une faible valeur du rapport A/G.

Les mots clés : protéines sériques, électrophorèse capillaire, intervalle de référence, valeurs de référence.

ABSTRACT

In order to better understand the biology of our population, 158 subjects including 85 men and 73 women provided blood samples to evaluate the level of different serum protein fractions obtained by capillary electrophoresis in order to define the reference interval in our population. The reference values obtained were compared to those of the European and North American populations, the results show that: the rate of alpha-1, alpha-2, beta-1, beta-2 fractions as well as the TP are very close to those found in the literature, however significant differences were noted with regard to the albumin fraction which remains low in our population while the gamma globulin rate is clearly high thus justifying a low A/G ratio value.

Key words: serum proteins, capillary electrophoresis, reference interval, reference values.