

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie**



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème

**Intérêt de l'électrophorèse capillaire dans le
diagnostic du syndrome inflammatoire**

Présenté par :

BOUDJIDA LYNDA

HALIT- SAHNOUN RADIA

Soutenu le : 04 juillet 2017

Devant le jury composé de :

M^r HOUALI. K	Professeur	UMMTO	Président
D^r BELKAID. N	Maitre assistante	CHU	Encadreur
M^{me} ZENNIA. S	Maitre de conférences	UMMTO	Co-encadreur
M^{me} SALMI. D	Maitre assistante	UMMTO	Examineur
M^{me} TALEB. K	Maitre de conférences	UMMTO	Examineur

Remerciements

Nous tenons avant tout à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur Dr BELKAID N., pharmacienne, maitre assistante en Biochimie, de nous avoir proposé ce thème très intéressant et fort passionnant. Nous la remercions de nous avoir laissé prendre les initiatives tout en étant à l'écoute de nos questions. Merci pour son soutien, son aide et la confiance qu'elle nous accordé tout au long de ce travail.

Nous tenons également à exprimer notre profonde reconnaissance à notre Co-encadreur Madame SI AHMED-ZENNIA S, Maitre de conférences à l'université de Mouloud Mammeri. Nous la remercions pour son aide, son soutien, pour tous les conseils prodigieux qu'elle nous a apporté et pour tous les enseignements prodigués.

Nous adressons nos remerciements à Monsieur HOUALI K., Professeur à l'université Mouloud Mammeri pour avoir accepté de présider le jury et pour sa précieuse contribution à notre formation.

Nous tenons à remercier également Madame SALMI D., Maitre Assistante à l'université Mouloud Mammeri et Madame TALEB K., Maitre de conférences à l'université mouloud Mammeri, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Qu'il nous soit aussi permis d'exprimer nos vifs remerciements à notre responsable de formation Monsieur MATI A., Professeur à l'université Mouloud Mammeri, pour avoir assuré une formation de qualité et pour tous les enseignements prodigués. Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect.

Nous sommes très reconnaissantes à Madame MATI-MOULTI F., Professeur à l'université Mouloud Mammeri, pour son précieux apport dans notre cursus et pour l'intérêt qu'elle nous a toujours porté tout au long de ces années. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.

Nous remercions aussi Dr DAHMANI, chef de service du laboratoire central de Biochimie au CHU de Tizi-Ouzou, qui nous a ouvert les portes de son service pour la réalisation de ce travail, ainsi que toute l'équipe du laboratoire et plus particulièrement Dr TOUDERT et Mademoiselle Abbas pour leur aide et leur soutien.

Nous tenons à remercier également Monsieur SI SALEM et Monsieur AIT ADDI pour leur aide et leurs encouragements.

Enfin nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon merveilleux mari qui m'a toujours soutenu et encouragé tout au long de ces années d'études. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon amour inconditionnel.

A mes deux chers enfants Nadine et Yasten, ma source de bonheur.

A mes chers parents, je vous remercie pour tous les principes inculqués, votre soutien et votre amour. Je vous dédie ce travail témoignage de mon amour absolu et inconditionnel.

A Fadhila qui m'a beaucoup aidé et soutenu. Je la remercie pour son aide, son soutien moral et ses encouragements quotidiens.

A mes sœurs particulièrement Laila qui m'ont toujours soutenue et encouragé.

A ma belle-famille.

A mon binôme Lynda

A toutes mes amies, Sofia, Laila, Samira et Taous. Je vous dédie ce travail témoignage de notre amitié.

A tous ceux qui me sont chers et qui m'ont aidé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Radia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A l'être le plus cher à mon cœur, à ma très chère maman, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites. Je te remercie pour l'éducation que tu m'as donnée, ton amour, tes conseils et tous les sacrifices que tu as faits pour moi. Je te dédie ce travail témoignage de mon profond amour, puisse dieu t'accorder santé et bonheur, en espérant que tu sois toujours fière de moi.

A la mémoire de mon père, que dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A ma chère sœur qui m'a soutenue tout au long de ces années d'études. Je la remercie d'être toujours à mes côtés.

A mes deux frères qui m'ont toujours soutenue et encouragé. Je vous remercie d'être là pour moi.

A mes belles sœurs : merci de m'avoir soutenue.

A mon neveu et mes nièces : que dieu vous protège et j'espère que ce modeste travail va vous donner envie de bien étudier.

A madame HIMEUR qui m'a toujours encouragée et soutenue. Je vous dédie ce travail témoignage de ma profonde gratitude et de mon profond respect.

A mon binôme Radia : c'est un plaisir de travailler avec toi.

A mes meilleures amies, Tinhinane et Celia. Je vous remercie pour toutes ces années passées ensemble. Je vous dédie ce travail témoignage de notre amitié.

A tous ceux qui me sont chers et qui m'ont aidé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Lynda

Résumé

La réponse inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire. La fonction primaire de cette réponse est d'éliminer l'agent agresseur du reste de l'organisme et de permettre, le plus rapidement possible, la réparation des tissus. Cette réponse, dénommée inflammation aigue, est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui peut ainsi retrouver son intégrité physiologique. L'aspect négatif de cette réponse intervient quand cette dernière se pérennise et devient chronique.

L'exploration biologique du syndrome inflammatoire repose sur des examens d'orientation qui comprennent la vitesse de sédimentation, l'hémogramme et l'électrophorèse des protéines sériques, ainsi que sur des examens spécifiques dont les protéines inflammatoires comme la CRP, l'haptoglobine, l'orosomucoïde, la transferrine.

L'électrophorèse capillaire permet la séparation des protéines sériques en fractions afin d'en étudier les modifications qualitatives et quantitatives. Elle présente cependant des limites car elle permet une séparation relativement grossière des protéines sériques en six fractions (albumine, α 1-globulines, α 2-globulines, β -globuline et les γ -globulines).

Dans cette présente étude, nous avons réalisé dans un premier temps des électrophorèses capillaires des sérums de patients présentant des résumés cliniques en faveur d'un état inflammatoire. Les protéinogrammes obtenus sont des profils en faveur d'une réaction inflammatoire.

Dans un second temps, nous avons effectué des dosages des différents marqueurs inflammatoires dont la CRP, l'haptoglobine, le fer, la fraction C4 du complément et l'albumine. Nous avons constaté que les patients ayant un profil pathologique présentent des taux élevés en CRP et haptoglobine, des concentrations légèrement élevées en fraction C4 et des taux bas en fer et en albumine.

Enfin, nous avons étudié la corrélation entre l'albumine estimée par l'électrophorèse capillaire et celle dosée puis entre la concentration des marqueurs spécifiques et les différentes fractions protéiques obtenues par électrophorèse capillaire. Nous avons constaté la présence d'une bonne corrélation entre l'albumine dosée et celle calculée et une corrélation positive et/ou négative entre les fractions en électrophorèse capillaire et les marqueurs dosés. L'électrophorèse capillaire des protéines sériques est bien adaptée au diagnostic et au suivi du syndrome inflammatoire.

Mots clés : inflammation, électrophorèse capillaire, protéines sériques, protéinogrammes.

Abstract

The inflammatory response is a physiological process of defense of the organism against an aggression that leads to tissue damage. The primary function of this response is to eliminate the aggressor agent from the rest of the body and to allow tissue repair as quickly as possible. This response, known as acute inflammation, is a beneficial phenomenon for the body, which can thus regain its physiological integrity. The negative aspect of this response occurs when the latter is perpetuated and becomes chronic.

Biological exploration of the inflammatory syndrome is based on orientation examinations that include sedimentation rate, blood count and serum protein electrophoresis, as well as specific examinations including inflammatory proteins such as CRP, haptoglobin, Orosomucoide, transferrin.

Capillary electrophoresis allows the separation of serum proteins into fractions in order to study their qualitative and quantitative changes. However, it has limitations because it allows a relatively rough separation of the serum proteins into six fractions (albumin, α 1-globulins, α 2-globulins, β 1-globulins, β 2-globulins and γ -globulins).

In this study, we first performed capillary electrophoresis of serum from patients with clinical abstracts in favor of an inflammatory state. Proteinograms obtained are profiles in favor of an inflammatory reaction.

In a second step, we carried out determinations of the various inflammatory markers including CRP, haptoglobin, iron, complement C4 fraction and albumin. We found that patients with a pathological profile had high CRP and haptoglobin levels, slightly elevated C4 concentrations, and low iron and albumin levels.

Finally, we studied the correlation between the albumin estimated by capillary electrophoresis and that measured and then between the concentration of the specific markers and the different protein fractions obtained by capillary electrophoresis. We found a good correlation between the measured and the calculated albumin and a positive and / or negative correlation between the fractions in capillary electrophoresis and the measured markers.

Capillary electrophoresis of serum proteins is well suited for the diagnosis and follow-up of the inflammatory syndrome.

Keys words: inflammation, capillary electrophoresis, serums proteins, proteinograms.

Liste des abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales

AINS : Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens

AIS : Anti Inflammatoires Stéroïdiens

C3 : Complément 3

C4 : Complément 4

CRP : Protéine C-Réactive

COX : Cyclooxygénase

ELAM-1 : Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1

FR : Facteur rhumatoïde

HP : Haptoglobine

ICAM-1 : Intracellular Adhesion Molecule-1

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

LFA-1 : Leucocyte Function-associated Antigen-1

MBL : Mannose Binding lectin

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales

PAF : Platelet Activating Factor

PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns

PCT : Procalcitonine

PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule

PLA2 : Phospholipase A 2

PN : Polynucléaires Neutrophiles

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

PRR : Pattern Recognition Receptors

SAA : Serum Amyloid A

TNF : Tumor Necrosis Factor

VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule-1

Liste des figures

N° des figures	page
Figure 1 : Activation plaquettaire au cours de la phase vasculaire.....	6
Figure 2 : Mécanismes d'adhérence des leucocytes à l'endothélium vasculaire.....	8
Figure 3 : Profil électrophorétique d'allure normale.....	34
Figure 4 : Profil électrophorétique sans anomalies majeurs.....	35
Figure 5 : Profil électrophorétique en faveur d'une réaction inflammatoire aigue.....	35
Figure 6 : Profil électrophorétique en faveur d'une réaction inflammatoire chronique évolutive.....	36
Figure 7 :Profil électrophorétique en faveur d'une hypergammaglobulinémie polyclonale...	36
Figure 8 : Répartition des états inflammatoires selon les tranches d'âge.....	37
Figure 9 : Répartition des états inflammatoires selon le sexe et les tranches d'âge.....	37
Figure 10 : Répartition selon le service.....	38
Figure 11 : Répartition des états inflammatoires.....	38
Figure 12 : Répartition selon les résultats de l'électrophorèse capillaire.....	39
Figure 13 : Box plots montrant la concentration de la CRP chez les patients présentant un profil pathologique et ceux ayant un profil normal.....	40
Figure 14 : Box plots montrant les concentrations sériques du fer chez les patients ayant un profil pathologique et ceux présentant un profil normal.....	41
Figure 15 : Box plots montrant les concentrations de l'albumine dosée par le Cobas chez les patients ayant un profil pathologique et les patients ayant un profil normal.....	41
Figure 16 : Box plots montrant les taux de protides chez les patients ayant un profil pathologique et ceux présentant un profil normal.....	42
Figure 17 : Box plots montrant les concentrations sériques en haptoglobine chez les patients présentant un profil pathologique et ceux ayant un profil normal.....	42
Figure 18 : Box plots montrant les concentrations de la fraction C4 chez les patients présentant un profil pathologique et les patients ayant un profil normal.....	43
Figure 19 : Box plots montrant les concentrations d'albumine calculée par le Capillarys chez les patients présentant un profil normal et ceux ayant un profil pathologique.....	44
Figure 20 : Box plots montrant les concentrations des fractions alpha, beta et gamma globulines chez les patients ayant un profil en faveur d'une réaction inflammatoire aigue et chronique et ceux ayant un profil normal.....	44

Figure 21 : Comparaison entre les valeurs de l'albumine dosées par le Cobas et celles trouvées en électrophorèse capillaire.....46

Figure 22 : Cercle de corrélation entre les fractions protéiques et les marqueurs dosés.....47

Liste des tableaux

N° des tableaux	page
Tableau I : Principales protéines sériques de l'inflammation en fonction de leur fraction de migration.....	13
Tableau II : Valeurs normales de différentes fractions protéiques obtenues par le Capillarys TM (Sebia).....	34
Tableau III : Projection des variables sur les axes factoriels 1 et 2.....	47
Tableau IV : Projection des individus sur les deux axes 1 et 2.....	48

Liste des annexes

Annexe 1 : Composition des réactifs utilisés

Annexe 2 : Résultats de l'analyse en composantes principales



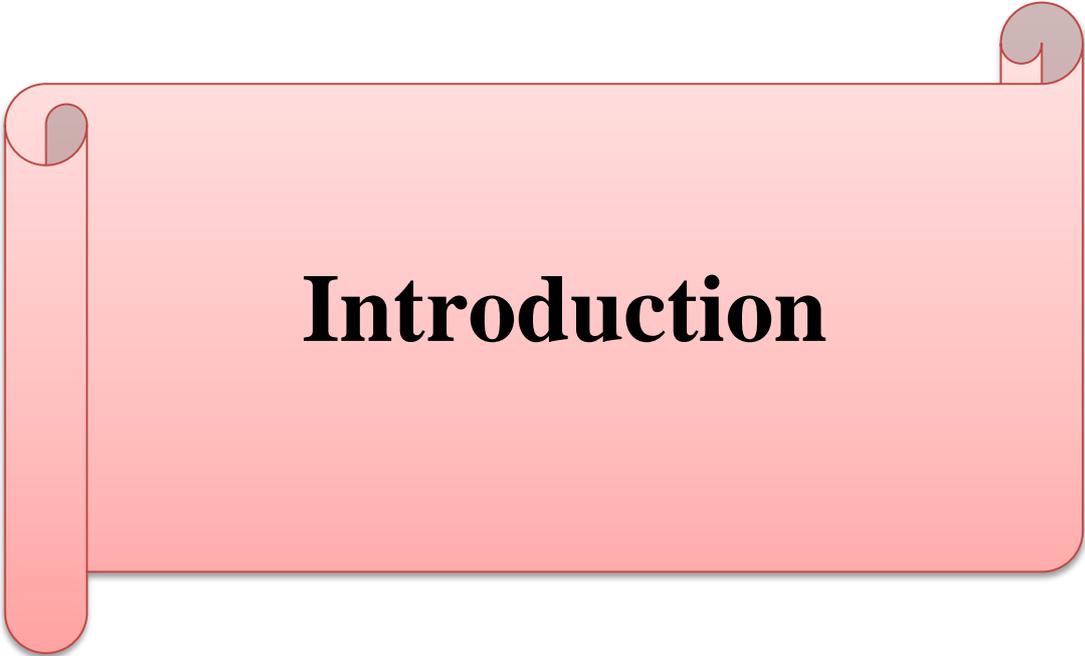
Table des matières

Table des matières

	Page
Introduction	01
I. Synthèse bibliographique	
1.1. Généralités	03
1.1.1. Immunité	03
1.1.1.1. Définition.....	03
1.1.1.2. Immunité innée	03
1.1.1.3. Immunité adaptative	03
1.1.1.4. Système du complément.....	04
1.1.2. L'inflammation	05
1.1.2.1. Définition.....	05
1.1.2.2. Mécanismes de l'inflammation.....	05
1.1.2.3. Médiateurs de l'inflammation.....	08
1.1.2.4. Formes cliniques de l'inflammation	10
1.2. Exploration biologique des états inflammatoires.....	11
1.2.1. Tests d'orientation.....	12
1.2.1.1. L'hémogramme	12
1.2.1.2. La vitesse de sédimentation	12
1.2.1.3. L'électrophorèse des protéines sériques	13
1.2.2. Les dosages spécifiques	14
1.2.2.1. Les protéines de l'inflammation	14
1.2.2.1.1. La protéine C- reactive	14
1.2.2.1.2. La procalcitonine	15
1.2.2.1.3. L'orosomucoïde.....	16
1.2.2.1.4. L'haptoglobine.....	16
1.2.2.1.5. La ferritine	17
1.2.2.1.6. La transferrine.....	18
1.2.2.1.7. Le fibrinogène.....	18
1.2.2.1.8. L' α 1-antitrypsine	19
1.2.2.1.9. L' α 2-macroglobuline	20
1.2.2.1.10. Les composants du complément.....	21

1.2.2.1.11. La serum amyloïde A.....	23
1.2.2.1.12. La céruléoplasmine	23
1.2.2.1.13. Les facteurs rhumatoïdes	24
1.3. Les pathologies inflammatoires et stratégie de diagnostic	24
1.4. Les thérapeutiques de l'inflammation.....	27
1.4.1. Les anti-inflammatoires conventionnels	27
1.4.2. Les anti-inflammatoires traditionnels	28
II. Etude expérimentale	
2.1. Matériel et méthodes.....	29
2.1.1. Matériel	29
2.1.1.1. Matériel biologique.....	29
2.1.1.2. Appareillage.....	29
2.1.1.3. Réactifs	29
2.1.2. Méthodes	29
2.1.2.1. Electrophorèse capillaire	29
2.1.2.2. Dosage de la CRP	30
2.1.2.3. Dosage des protéines totales.....	30
2.1.2.4. Dosage du fer	31
2.1.2.5. Dosage de l'haptoglobine	31
2.1.2.6. Dosage de l'albumine	31
2.1.2.7. Dosage de la fraction C4.....	32
2.1.2.8. Outils statistiques.....	32
2.2. Résultats et discussion	34
2.2.1. Exemples de profils électrophorétiques obtenus.....	34
2.2.2. Etude épidémiologique.....	37
2.2.2.1. Répartition selon le sexe et les tranches d'âge	37
2.2.2.2. Répartition selon le service.....	38
2.2.2.3. Répartition des états inflammatoires	39
2.2.2.4. Répartition selon les résultats de l'électrophorèse capillaire	39
2.2.3. Etude des marqueurs biochimiques inflammatoires	40
2.2.4. Etude de la corrélation	46
2.2.4.1. La corrélation entre l'albumine dosée et l'albumine calculée.....	46

2.2.4.2. La corrélation entre les fractions du profil électrophorétique Inflammatoire et les marqueurs dosés	46
2.2.5. Discussion générale.....	48
Conclusion.....	51
Références bibliographiques	
Annexes	



Introduction

Introduction

L'inflammation est un processus physiologique complexe, qui implique des centaines de médiateurs et différents types de tissus et de cellules et qui peut être initié par tout stimulus causant une lésion cellulaire. Souvent l'inflammation est une réponse à une infection. Cependant des agents chimiques, physiques, immunologiques et traumatiques peuvent également induire cette réaction.

Le but ultime de cette réaction est l'élimination de l'agent causal avec une destruction minimale des tissus hôtes et la réparation des dommages causés par le facteur initiateur. La réponse inflammatoire est un processus fortement contrôlé par de nombreux systèmes régulateurs. En général, elle protège l'organisme en participant à la réaction immunitaire naturelle, en favorisant la réponse immunitaire spécifique et la réparation des tissus lésés.

La durée de la réponse inflammatoire dépend de la réussite de la résolution et de la neutralisation de l'agent initiateur. L'inflammation aiguë est un processus relativement court, et ses principales caractéristiques sont une exsudation des protéines plasmatiques et des fluides et la migration des leucocytes dans le compartiment extravasculaire.

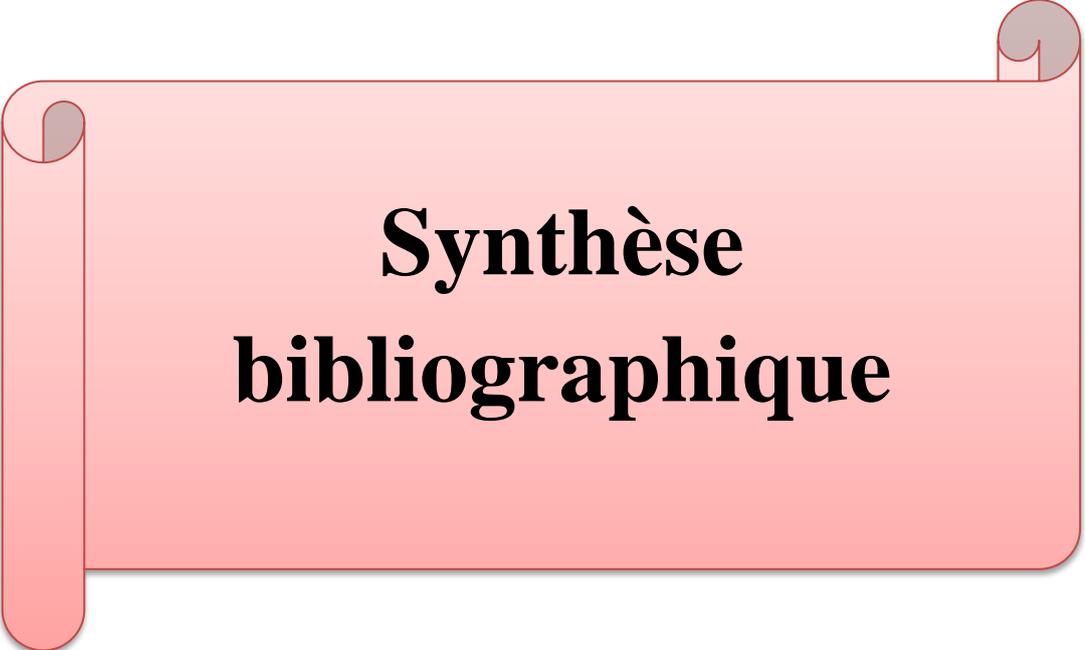
Si la réponse aiguë est incapable d'éliminer l'agent causal ou de réparer le tissu lésé, un processus chronique, dans lequel la destruction et la réparation des tissus se produisent pendant la poursuite de la réaction inflammatoire, peut se développer, c'est l'inflammation chronique.

L'exploration du syndrome inflammatoire repose sur des examens biologiques qui apportent des informations utiles pour le diagnostic (la vitesse de sédimentation, l'hémogramme, l'électrophorèse des protéines sériques et les protéines de l'inflammation) et des examens réservés aux protocoles de recherches cliniques.

L'électrophorèse des protéines sériques peut être prescrite lorsque les symptômes que présentent le patient suggèrent une inflammation, une infection aiguë ou chronique ou une maladie auto-immune, car elle donne une bonne estimation des différentes fractions protéiques dans le sérum. Chaque fraction dans le profil regroupe un ensemble de protéines spécifiques (marqueurs), l'évaluation des taux de ces dernières, permet une détection efficace de certaines pathologies. Surtout dans certaines situations cliniques qui nécessitent d'évaluer rapidement les complications associées à l'inflammation par le dosage de plusieurs protéines en parallèle.

Le dosage plasmatique de ces marqueurs est réalisable en pratique clinique. Il aide à conforter un diagnostic de syndrome inflammatoire et permet surtout le «monitorage biologique» de la réponse inflammatoire. L'intérêt du dosage plasmatique d'un marqueur peut être fonction de l'étiologie, des circonstances de survenue, et de l'existence de certaines pathologies associées. La valeur pronostique d'un marqueur dépend directement de son aptitude à être un reflet de la réaction inflammatoire à tout moment de l'évolution.

L'objectif de cette présente étude est d'étudier le profil électrophorétique des patients atteints de pathologies inflammatoires et de réaliser un dosage des marqueurs spécifiques de l'inflammation afin d'établir une corrélation entre les fractions protéiques et les marqueurs correspondant et d'expliquer la nécessité de ces dosages pour conforter le diagnostic du syndrome inflammatoire.



**Synthèse
bibliographique**

1.1. Généralités

1.1.1. L'immunité

1.1.1.1. Définition

L'immunologie a pour but d'étudier les phénomènes de l'immunité. Ce terme, d'origine latine, s'adressait initialement à la résistance des individus vis-à-vis des infections bactériennes. Cette définition s'est élargie aujourd'hui à l'ensemble des réactions tendant à éliminer les substances étrangères. L'ensemble des cellules, des tissus et des molécules qui coopèrent pour éliminer les agents étrangers est appelé système immunitaire et la réaction coordonnée de ces cellules et molécules contre les germes pathogènes porte le nom de réponse immunitaire. Cette dernière est de deux types : innée et adaptative.

1.1.1.2. Immunité innée

L'immunité innée constitue la première ligne de défense contre les agents pathogènes. Elle se met en place d'une manière rapide et spontanée et ne nécessite pas de contact préalable avec l'agent étranger. Elle met en jeu des modules consécutifs comme la barrière peau-muqueuse et des modules induits comme la phagocytose et la réaction inflammatoire (CHATENOUD, 2012).

La réponse immunitaire innée est induite par un signal danger émis suite à l'interaction entre les récepteurs du soi appelés PRR (Pattern Recognition Receptors) et des molécules du non-soi appelées PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns) présentes au niveau des microorganismes (DELNESTE *et al*, 2008). Il s'agit d'une réponse transitoire qui n'engendre pas de mémoire immunologique, c'est-à-dire qu'une fois la réponse terminée il ne restera aucune trace de la rencontre de l'agent pathogène qui l'a suscitée. Certains des acteurs cellulaires de l'immunité innée une fois activés vont jouer un rôle déterminant dans le déclenchement des réponses immunitaires adaptatives. Ces cellules qui constituent le lien entre les deux types de réponses sont les cellules dendritiques (CHATENOUD, 2012).

1.1.1.3. Immunité adaptative

L'immunité adaptative constitue la seconde ligne de défense qui permet d'éliminer les pathogènes qui ont échappé à la réponse innée ou qui persistent malgré cette réponse. Elle repose sur l'action coordonnée de différents types de cellules fonctionnellement distinctes dont les cellules présentatrices d'antigène, les lymphocytes B qui produisent des anticorps et les différentes catégories de lymphocytes T dont les lymphocytes T auxiliaires, les lymphocytes T cytotoxiques et les lymphocytes T régulateurs.

Les réactions immunitaires adaptatives se distinguent des réponses immunitaires innées par leur spécificité pour les substances étrangères qui les induisent : les antigènes.

Les antigènes sont des substances capables de provoquer une réponse immunitaire adaptative, puis de réagir spécifiquement avec le produit de cette réaction : anticorps ou lymphocytes B et T sensibilisés. Chaque clone lymphocytaire B ou T exprime un récepteur unique, spécifique d'un antigène, engendré par réarrangement somatique de fragments de gènes distincts. Cela constitue la base moléculaire de la diversité du répertoire lymphocytaire.

Les anticorps sont des substances dont la production est provoquée par interaction avec un antigène et qui sont capables de se lier spécifiquement à lui. Sous forme soluble, ils constituent les immunoglobulines plasmatiques (Ig) dont on connaît 5 classes différant par leur structure et leur fonction (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE). Sous forme membranaire constituent leur récepteur pour la reconnaissance de l'antigène (AYMERIC et LEFRANC, 2009).

Une autre caractéristique essentielle propre aux réponses immunitaires adaptatives est qu'elles engendrent une mémoire immunitaire. Une fois la réponse terminée, il persiste chez l'hôte des clones lymphocytaires B et T spécifiques de l'antigène qui a engendré la réponse. Lors d'une nouvelle rencontre avec ce même antigène, grâce à cette mémoire les clones lymphocytaires se réactivent de manière rapide.

1.1.1.4. Le système du complément

Le système du complément est un ensemble complexe de plus de 30 protéines, produites par le foie, les macrophages et les cellules intestinales. Ce système se distingue par (PUNDIR et KULKA, 2012 ; ROSAIN *et al* ,2014) :

- les protéines plasmatiques s'activant séquentiellement par cascade enzymatique;
- les protéines de régulation, plasmatiques et membranaires, permettant d'éviter l'auto activation du système et la limitant au niveau de la cible désirée;
- les récepteurs de membrane, par l'intermédiaire desquels le complément peut exercer ses fonctions biologiques.

L'activation de ce système se fait selon 3 voies distinctes (AYMERIC et LEFRANC, 2009 ; ROSAIN *et al* ,2014) :

- la voie classique qui s'active en présence de complexes immuns et d'ions bivalents. Elle conduit à la formation des convertases C3 et C5 « classiques » ;

-la voie alterne indépendante des anticorps, elle peut être activée spontanément ou par certains polysaccharides bactériens et représente ainsi un système de résistance naturel à l'infection avant même le développement de la réponse spécifique.

-la voie des lectines fait intervenir une protéine structurellement très proche du C1q, la Mannose binding lectin (MBL) qui, alors qu'elle interagit avec des dérivés des mannoses à la surface des agents pathogènes peut interagir avec soit la protéine MASP-1 (MBL Associated Serine protease) qui assure des fonctions proches de celles du C1, clivant le C4 et le C2, soit la protéine MASP-2 qui clive directement le C3, et amplifie l'activation de la voie alterne.

Ces 3 voies aboutissent à la formation d'anaphylatoxines : C3a et C5a, médiateurs de l'inflammation, et à la formation du complexe d'attaque membranaire conduisant à la destruction de la cellule cible.

1.1.2. L'inflammation

1.1.2.1. Définition

La réaction inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire. Elle fait partie des mécanismes de défense de l'immunité innée. Cette dernière repose sur les barrières naturelles et la mise en place d'une réaction inflammatoire précoce face à toute agression quelle qu'en soit la cause (physique, chimique, infectieuse, tumorale, etc.). Cette réponse est déclenchée par la libération de nombreux médiateurs issus de l'activation cellulaire et l'activation du complément. Elle met en jeu dans un premier temps, la libération de différentes substances de défense (protéines du complément, médiateurs lipidiques, radicaux libres) et de substances vasoactives qui augmentent la vasodilatation des capillaires et le recrutement rapide de cellules phagocytaires qui vont pénétrer dans le site inflammatoire et assurer la phagocytose des agents pathogènes, ainsi que des cellules infectées .

1.1.2.2. Mécanismes de l'inflammation

L'inflammation peut être divisée en 3 grandes phases :

- une phase vasculaire immédiate;
- une phase cellulaire;
- une phase de résolution et de réparation.

La phase de latence est la phase qui s'écoule entre l'introduction de l'agent « étranger » et les manifestations de l'inflammation. Elle correspond à la reconnaissance de l'agent étranger par des récepteurs. C'est la réaction agent étranger – récepteur qui induit l'activation initiale des systèmes plasmatiques et cellulaires.

1.1.2.2.1. La phase vasculaire

La phase vasculaire consiste en une vasoconstriction réflexe très brève suivie d'une vasodilatation durable avec ralentissement du flux sanguin et augmentation de la perméabilité vasculaire, ce qui entraîne une fuite de liquide plasmatique et donc la formation d'œdèmes. L'augmentation de la perméabilité entraîne aussi la diapédèse et la migration extravasculaire des leucocytes.

La vasoconstriction brève perturbe le mouvement de la lignée thrombocytaire dans la circulation sanguine et entraîne l'activation des plaquettes. Ce phénomène est déterminant car les plaquettes interviennent en colmatant les brèches spontanées ou provoquées. La plaquette ainsi activée est capable de synthétiser la tromboxane A2 qui est douée de propriétés agrégantes et vasoconstrictrices puissantes (outre son rôle dans l'hémostase).

Cette phase vasculaire immédiate permet également d'isoler les microorganismes pathogènes, susceptibles de pénétrer dans l'organisme par la plaie. De plus, l'activation des facteurs de coagulation en présence de facteurs tissulaires aboutit à la formation de fibrine qui vient consolider le clou hémostatique formé par l'agrégation des plaquettes (figure 1).

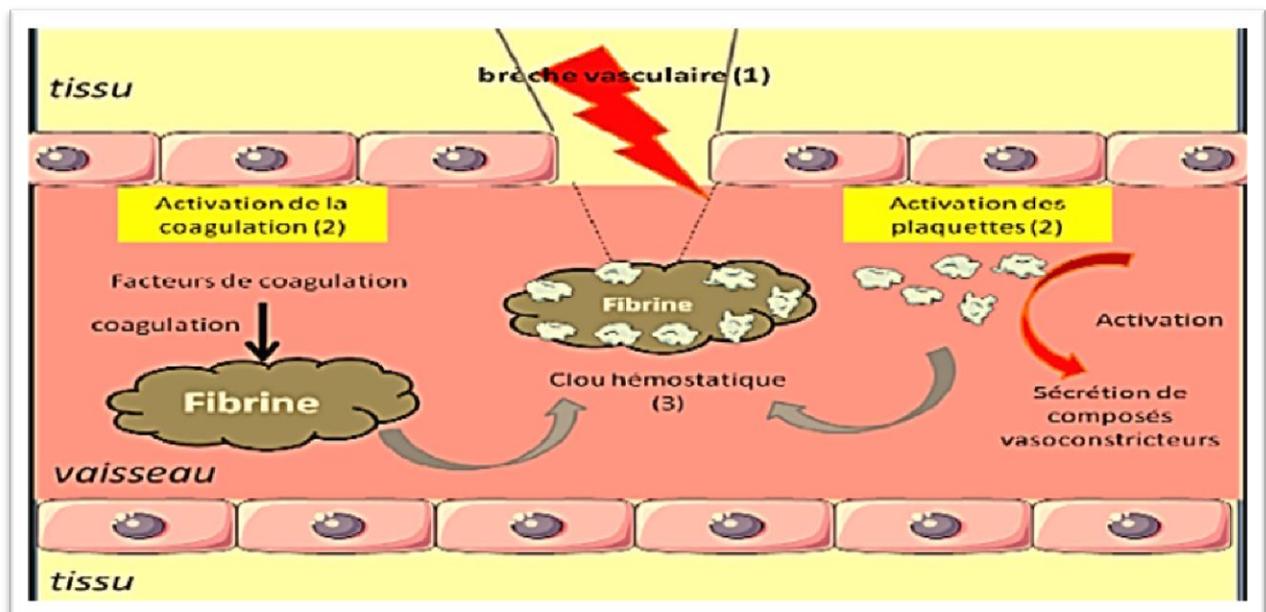


Figure 1 : Activation plaquettaire au cours de la phase vasculaire (Schwartz, 2011).

Les phénomènes vasculaires dépendent de la libération de médiateurs tels que l'histamine, les prostaglandines et les anaphylatoxines C3a et C5a générées par l'activation du complément (MACGLASHAN, 2003; MARKIEWSKI et LAMBRIS, 2007). La libération de ces médiateurs induit également une augmentation des fenêtrures intercellulaires permettant l'extravasation des protéines plasmatiques et des cellules vers les tissus.

L'altération des parois vasculaires entraîne l'apparition de nouveaux récepteurs des cellules endothéliales comme ELAM-1 (Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1) et ICAM-1 (Intracellular Adhesion Molecule-1), ce qui accentue les phénomènes d'extravasation et de margination des cellules vers les tissus lésés (figure 2). Ce phénomène est amplifié sous l'effet de la sécrétion de chimiokines par les cellules des parois vasculaires altérées.

1.1.2.2.2. La phase cellulaire

L'étape initiale de la phase cellulaire consiste en une margination des cellules de la circulation sanguine vers le site de l'agression. Dès le début des phénomènes vasculaires, les polynucléaires neutrophiles (PN) et les monocytes quittent la partie centrale du flux sanguin pour gagner la paroi des vaisseaux, c'est la « margination », et y adhèrent, c'est l'« adhérence », les neutrophiles ainsi marginés visibles le long des cellules endothéliales de la zone lésée, vont traverser la paroi (diapédèse) sous l'effet des chimiokines (IL8, MCP1, IP-10) et vont tenter de nettoyer la zone lésée (AYMERIC et LEFRANC, 2009). La première étape implique la fixation réversible des leucocytes à l'endothélium et leur ligand présent sur les leucocytes : l'antigène sialyl-Lewis^x (figure 2). Cette interaction ne permet pas l'ancrage stable du leucocyte qui va simplement rouler à la surface de l'endothélium. La fixation stable nécessite des interactions plus fortes qui mettent en jeu le couple ICAM-1 sur l'endothélium et LFA-1 sur le leucocyte. Cette interaction bloque le leucocyte et permet sa migration à travers l'endothélium (figure 2). La migration dépend de la concentration en chimiokines sécrétées par les cellules phagocytaires et endothéliales présentes sur le site de l'infection. Au niveau des tissus infectés, les PN peuvent éliminer de nombreux pathogènes par phagocytose. Cette dernière peut être directe par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques des structures présentes à la surface de la bactérie, ou indirecte après opsonisation par des anticorps et des protéines du complément.

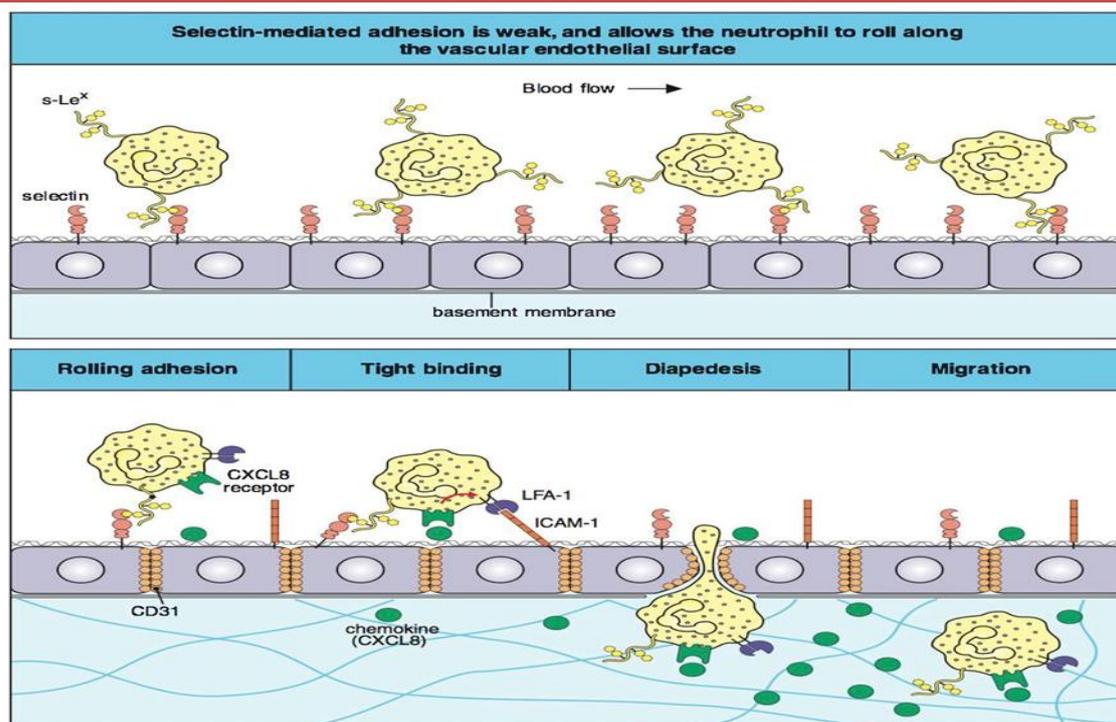


Figure 2 : Mécanismes d'adhérence des leucocytes à l'endothélium vasculaire (GOODRUM, 2005)

1.1.2.2.3. La phase de résolution

Cette phase dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PN et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Ces derniers vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes. Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intracellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus (ORTEGA-GOMEZ *et al*, 2013).

1.1.2.3. Les médiateurs de l'inflammation

1.1.2.3.1. Facteurs de coagulation

L'activation du facteur XII par des éléments figurés ou solides (collagène), des composés biologiques (LPS des bactéries, plasmine) et immunologiques (complexes immuns) déclenche la coagulation et aboutit à la formation de fibrine qui vient consolider le clou hémostatique,

formé par l'agrégation plaquettaire. La fibrine ainsi formée est un puissant agent chimiotactique des polynucléaires neutrophiles mais elle intervient aussi dans la perméabilité vasculaire en agissant sur le système des kinines (BATTEUX *et al*, 2003).

1.1.2.3.2. Le système de kinines

Les kininogènes, précurseurs inactifs des kinines, donnent naissance sous l'effet des kallikreines à de nombreux petits peptides vaso-actifs qui augmentent la chaleur locale et la douleur. Ces peptides sont rapidement détruits sous l'effet des kininases. La bradykinine, produit emblématique de cette famille, est un nanopeptide qui augmente la perméabilité vasculaire, elle est responsable de la douleur par interaction avec des récepteurs spécifiques sur les neurones sensoriels et elle agit avec la plasmine en activant la voie alterne du complément ce qui amplifie la réaction inflammatoire (BATTEUX *et al*, 2003).

1.1.2.3.3. Les dérivés de l'acide arachidonique

La bradykinine potentialise l'effet des prostaglandines et stimule la phospholipase A2. Cette dernière favorise la formation de l'acide arachidonique des phospholipides membranaires des plaquettes et des cellules endothéliales. Le métabolisme de l'acide arachidonique conduit par la voie de la cyclooxygénase à la synthèse de prostaglandines, des agents vasodilatateurs et algogènes qui contribuent à l'érythème, la douleur et la fièvre, et par la voie de la 5-lipooxygénase aux leucotréines qui ont une forte activité chimiotactique et chimiocénétique sur le PN.

1.1.2.3.4. Le PAF-acéther

Le PAF-acéther (platelet activating factor) est un médiateur produit au cours de l'activation plaquettaire. C'est un phospholipide membranaire produit aussi par les monocytes, les macrophages et les cellules endothéliales, il est le plus puissant des agrégants plaquettaires connus, il a aussi une action chimiotactique sur les PN, active les phagocytes et agit sur les fibroblastes et les fibres musculaires.

1.1.2.3.5. Les cytokines et les chimiokines

Une des fonctions de la réponse innée est le recrutement sur le site infectieux d'un grand nombre de cellules phagocytaires et de molécules effectrices. Ce recrutement est assuré par la sécrétion de cytokines par les cellules de l'immunité innée. Les cytokines produites en réponse à une infection sont l'IL1, l'IL6, l'IL8, IL12 et le TNF. Elles exercent des actions locales et systémiques.

Les cytokines proinflammatoires (l'IL1, l'IL6 et TNF) jouent un rôle primordial dans la régulation des cellules phagocytaires et sont susceptibles d'intervenir lors de chacune des

étapes qui gouvernent la fonction proinflammatoire de ces cellules. Elles interviennent en particulier dans les phénomènes d'adhérence à l'endothélium, de déplacement orienté vers le site de l'agression et de phagocytose.

Les chimiokines sont des petits peptides, synthétisés par les phagocytes, qui ont la propriété d'être chimiotactique pour les leucocytes. Elles permettent le recrutement des monocytes et des polynucléaires du sang vers le site de l'infection. Ainsi les phagocytes tissulaires et leur nombre est rapidement augmenté par l'action des chimiokines qui recrutent de nombreuses cellules phagocytaires sur le site infectieux. Certaines chimiokines comme MCP-1, l'IL8 ou IP-10 interviennent aussi dans la réponse inflammatoire, en attirant des PN. Ces trois chimiokines sont produites par les cellules endothéliales agressées (BATTEUX *et al*, 2003).

1.1.2.3.6. Les molécules d'adhérence

Les mécanismes de la diapédèse des leucocytes reposent sur l'expression de plusieurs types de molécules d'adhérence à la surface des cellules endothéliales vasculaires et des leucocytes (LEY, 2003; HERTER et ZARBOCK, 2013) :

- les sélectines (L, E et P) sont responsables d'une interaction cellulaire transitoire, entraînant le roulement des leucocytes sur la paroi vasculaire ;
- les $\beta 2$ intégrines leucocytaires, activées par un ensemble de molécules pro-adhérentes (agents chimiotactiques, chimiokines), assurent une adhérence de forte affinité des leucocytes en interagissant avec leurs contre-récepteurs endothéliaux ICAM-1 et VCAM-1 dont l'expression est sous le contrôle de cytokines inflammatoires;
- la migration trans-endothéliale, dirigée selon un gradient chimiotactique, paraît alors dépendre des molécules PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule) exprimées à la surface des leucocytes et au niveau des jonctions endothéliales;
- enfin, la rétention tissulaire des leucocytes est assurée par interaction de leurs intégrines (principalement $\beta 1$) avec les protéines de la matrice extracellulaire ou avec des cellules résidentes des tissus.

1.1.2.4. Les formes cliniques de l'inflammation

1.1.2.4.1. L'inflammation aigue

L'inflammation aigue est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui peut ainsi retrouver son intégrité physiologique. L'aspect négatif de la réponse inflammatoire intervient quand cette dernière se pérennise et devient chronique. Dans ce cas, elle devient défavorable et doit être contrôlée par des traitements médicamenteux.

La réaction inflammatoire aiguë est caractérisée par 4 signes typiques : tumor, dolor, calor, color, signes cardinaux de Celsius, qui sont la tuméfaction (œdème), la douleur, la chaleur et la rougeur. Cette réaction peut s'accompagner d'atteintes fonctionnelles régionales selon la gravité de l'agression (BATTEUX *et al*, 2003).

1.1.2.4.2. L'inflammation chronique

Les signes d'une inflammation chronique au début sont identiques à ceux d'une inflammation aiguë, mais les destructions tissulaires sont plus graves et ont des conséquences fonctionnelles profondes. Cette inflammation chronique laisse des séquelles anatomiques et fonctionnelles. La définition du caractère chronique d'une inflammation n'est pas toujours aisée : le meilleur critère de chronicité est une durée supérieure à 6 semaines.

Dans de nombreux cas l'inflammation semble chronique d'emblée, comportant dès le départ des phénomènes de remodelage du tissu conjonctif, de destruction et de réparation. Le mécanisme de la chronicité n'est pas toujours évident. Dans certains cas, elle tient à la persistance d'une substance pathogène que l'organisme est incapable d'éliminer : l'inflammation échoue dans sa finalité première qui est le maintien de l'intégrité du soi. Dans d'autres cas, on peut supposer qu'elle est auto entretenue, les mécanismes intermédiaires continuant à opérer alors que la substance pathogène qui l'a déclenchée a été éliminée.

L'inflammation chronique se caractérise par l'existence de certains phénomènes spécifiques (BATTEUX *et al*, 2003):

- les phénomènes vasculaires et tissulaires au lieu de se succéder dans le temps comme c'est le cas pour l'inflammation aiguë, sont intriquées de telle sorte qu'on ne parle plus de phases mais de composantes vasculaires et cellulaires.
- les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages sont au premier plan de l'inflammation chronique, alors que dans l'inflammation aiguë, un rôle central est dévolu aux polynucléaires neutrophiles. Des formes différenciées des macrophages sont propres à certaines inflammations comme les cellules épithélioïdes ou les cellules géantes multi nucléés qui proviennent de la fusion de plusieurs macrophages. Les polynucléaires neutrophiles jouent un rôle de destruction tissulaires et les polynucléaires éosinophiles dans la réaction d'hypersensibilité type I;
- présence des lymphocytes T et des plasmocytes, spécialement dans les inflammations chroniques d'origine immunitaire, traduit la mise en place de la réponse immunitaire adaptative tardive. Avec le temps se constitue peu à peu un infiltrat mixte lympho-macrophagique;

-le remodelage précoce du tissu conjonctif aboutit à sa destruction locale et à son remplacement par un tissu riche en collagène. Ces phénomènes de remodelage sont sous la dépendance de phagocytes et de fibroblastes. Les premiers interviennent dans le déversement extracellulaire d'enzymes hydrolytiques actives sur les composants protéiques et polysaccharidique de la matrice extracellulaire, et les seconds par la production du collagène et d'autres composants du tissu de remplacement;

-la une phase de réparation succède la destruction tissulaire. Les fibroblastes et les cellules endothéliales responsables de la néoangiogenèse produisent un tissu cicatriciel de remplacement monomorphe et fibreux n'ayant pas de propriétés fonctionnelles du tissu initial.

1.2. Exploration biologique des états inflammatoires

1.2.1. Tests d'orientation

1.2.1.1. L'hémogramme

L'hémogramme ou la numérotation et formule sanguine est un examen hématologique qui consiste en l'analyse des éléments figurés du sang. Au cours du syndrome inflammatoire, l'hémogramme peut s'accompagner de certaines anomalies (BATTEUX *et al*, 2003), dont on peut citer:

-l'hyperplaquettose qui est fréquente en cas d'inflammation chronique, pouvant parfois atteindre jusqu'à 700 000 éléments par mm³;

-l'hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles est plutôt un marqueur d'infection notamment à pyogènes mais peut aussi se voir au cours de certaines maladies inflammatoires: polyarthrite rhumatoïde, vascularites;

-l'anémie inflammatoire se voit au cours des inflammations prolongées, après 3 à 4 semaines d'évolution. C'est une anémie normochrome et microcytaire, arégénérative et à ferritine sérique élevée.

1.2.1.2. La vitesse de sédimentation (VS)

La VS est un examen biologique simple, très utilisé pour détecter un syndrome inflammatoire mais dont il faut bien en connaître les limites (BATTEUX *et al*, 2003).

Cette analyse repose sur la méthode de westergreen, elle consiste à mesurer à une heure la hauteur de la colonne de plasma au-dessus des hématies qui ont sédimentés dans un tube à hémolyse, dressé à la verticale.

La VS est augmentée par certaines protéines de l'inflammation (fibrinogène, β globulines), qui modifient la viscosité plasmatique, conduisant ainsi à l'empilement des hématies en rouleaux qui sédimentent plus vite que les hématies isolées.

En cas d'élévation de la VS, avant de conclure que cette élévation est due à un problème inflammatoire, il est indispensable de réaliser une électrophorèse des protéines sériques pour éliminer une dysglobulinémie mono ou polyclonale.

1.2.1.3. Electrophorèse des protéines sériques

Les protéines sériques peuvent être séparées par électrophorèse sur un support solide. Cette technique sépare les protéines du sérum en les soumettant à un champ électrique. Placées dans un milieu basique, ces molécules amphotères acquièrent une charge globale négative et, sous l'influence du champ électrique, migrent de la cathode vers l'anode (ZERBATO, 2010).

Au cours du syndrome inflammatoire, on note des modifications des taux des protéines plasmatiques. Certaines de ces modifications sont liées à l'activité de cytokines proinflammatoires, qui agissent sur la synthèse protéique des hépatocytes. Le profil électrophorétique normal permet d'individualiser cinq fractions de l'anode vers la cathode : l'albumine, les α_1 -globulines, les α_2 -globulines, les β globulines et les γ -globulines (Tableau I).

Tableau I : Principales protéines sériques en fonction de leur fraction de migration

Fraction de migration	Valeurs normales	Principales protéines de la réaction inflammatoire
albumine	33 à 50 g/l	
α_1 -globulines	1,5 à 4 g/l	α_1 -antitrypsine orosomucoïde α_1 -antichymotrypsine
α_2 -globulines	6 à 10 g/l	α_2 -macroglobuline haptoglobine céruléoplasmine
β -globulines	6 à 13 g/l	transferrine fraction C3 β lipoprotéines
γ -globulines	7,5 à 16 g/l	IgA IgM IgG

L'électrophorèse des protéines peut confirmer le syndrome inflammatoire en cas d'augmentation des fractions α_1 et α_2 globulines associée à une hypoalbuminémie mais doit être obligatoirement complétée par le dosage quantitatif des protéines totales du sérum.

1.2.2. Les dosages spécifiques

1.2.2.1. Les protéines de l'inflammation

1.2.2.1.1. La protéine C-réactive (CRP)

La CRP est un polypeptide non glycosylé de 120 kDa constitué de 5 sous unités identiques (protomères) reliées entre elles par des liaisons non covalentes. Chaque sous unité est composée de 206 acides aminés et de deux sites : un site de reconnaissance et un site effecteur (CHANDRASHEKARA, 2014). Cette protéine a été découverte pour la première par Tillet et Francis en 1930 dans le sérum des patients atteints de pneumonie et elle a été nommée ainsi en raison de sa propriété à précipiter lorsqu'elle est mise en contact avec le polysaccharide C de la paroi des cellules pneumococciques (RAMAMOORTHY *et al*, 2012).

La CRP est synthétisée par les hépatocytes sous l'action de cytokines proinflammatoires en particulier IL6 et est classée parmi les protéines de la phase aiguë de l'inflammation sur la base de l'augmentation de sa concentration durant l'infection et l'inflammation.

➤ Rôles biologiques

Le rôle physiologique de la CRP réside dans ses propriétés anti-infectieuses et anti-inflammatoires. En effet de par sa conformation, elle reconnaît la phosphocholine à la surface de nombreuses bactéries, elle active également la voie classique du complément et facilite la phagocytose par les polynucléaires grâce à l'opsonisation (DUPUY *et al*, 2003 ; CHANDRASHEKARA, 2014). Elle neutralise les cytokines et les radicaux libres ce qui lui confère un rôle anti inflammatoire et elle a aussi une activité procoagulante par surexpression du facteur tissulaire des monocytes (CHANDRASHEKARA, 2014).

➤ Variations physiopathologiques

Chez le sujet sain la concentration plasmatique de la CRP est habituellement inférieure à 6 mg/l. En cas d'inflammation cette protéine augmente dans les 6-9 premières heures, pour atteindre un pic après 24-72 heures. La concentration de cette protéine diminue rapidement après résolution du syndrome inflammatoire, avec une demi-vie de 24 heures. Sa concentration sérique ne connaît pas de variations avec l'âge ni le sexe, mais elle est élevée durant la grossesse, après prise d'œstrogènes et après inhalation de fumée de cigarette.

La concentration sérique de la CRP augmente dans les rhumatismes inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde et spondyloarthropathies) et dans les maladies systémiques (lupus érythémateux, vascularites...), dans la maladie d'Horton, la CRP peut atteindre une valeur de 100 mg/l (CERBA, 2007; BENEYTOU *et al*, 2011).

Cette protéine constitue un marqueur biochimique précoce des maladies infectieuses, en effet sa concentration augmente fortement en cas d'infections bactériennes. Elle est utilisée dans le dépistage d'une infection de fin de grossesse, d'une infection néonatale et des infections post-opératoires.

1.2.2.1.2. La procalcitonine (PCT)

La PCT est une protéine de la phase aigüe de l'inflammation, elle est une prohormone, précurseur de la calcitonine qui est une hormone produite par les cellules C de la glande thyroïdienne, en réponse à des stimuli hormonaux.

La PCT est un polypeptide de 116 acides aminés et d'environ 12.6 kDa. Elle est composée de 3 peptides distincts dont la calcitonine, la katacalcitonine et l'aminocalcitonine constituant la partie bioactive (BECKER *et al*, 2010). Elle est produite de façon physiologique dans les cellules C thyroïdiennes en réponse à un stimulus hormonal chez le sujet sain, par ailleurs, elle peut être synthétisée par d'autres cellules notamment les hépatocytes et ceci en réponse à des stimuli proinflammatoires et en particulier sous l'effet des substances bactériennes, sa production est en effet très spécifique de l'origine bactérienne du syndrome inflammatoire. (WOLFF et JULY-GUILLOU, 2011)

➤ Rôles biologiques

Hormis le rôle de précurseur de la calcitonine, la PCT joue un rôle physiologique dans le sepsis (RHEE, 2017; TRAN *et al*, 2016), elle exerce un effet chimioattractant sur les leucocytes et module la synthèse de monoxyde d'azote par les cellules endothéliales et elle intervient également dans l'augmentation de l'expression des marqueurs de surface des neutrophiles et des lymphocytes (CD16, CD14 respectivement) (BECKER *et al*, 2010).

➤ Variations physiopathologiques

La PCT n'est pas détectable dans les premières heures de l'infection, elle le devient vers la quatrième heure ce qui en fait d'elle le marqueur le plus précoce de la phase aigüe de l'inflammation. Elle est sécrétée précocement lors des états septiques, en 3 à 4 heures puis son taux s'élève rapidement jusqu'à atteindre un plateau vers la sixième heure et reste ainsi pendant au moins 24 heures. Sa demi-vie d'élimination est de 22 à 35 heures.

Chez le sujet sain, la concentration plasmatique de PCT est inférieure à 0,05 µg/l, chez les patients septiques en situation de sepsis sévère ou de choc septique cette concentration peut augmenter jusqu'à 1000 µg/l.

1.2.2.1.3. L'orosomucoïde

L'orosomucoïde ou $\alpha 1$ glycoprotéine acide est une protéine glycosylée de 44 kDa et très acide. Elle est composée de 183 acides aminés et de cinq oligosaccharides N-liés. Les cinq chaînes de glucides représentent environ 40% de la masse totale et rendent cette protéine très soluble et lui confèrent des propriétés acides (pHi ~ 2,8-3,8) avec une charge négative nette au pH physiologique (TAGUCHI *et al*, 2013; LUO *et al*, 2015).

Elle est principalement synthétisée dans le foie sous l'action des cytokines proinflammatoires et sécrétée dans la circulation sanguine, par ailleurs d'autres organes, y compris le cœur, l'estomac et les poumons, peuvent également synthétiser cette protéine.

➤ Rôles biologiques

Les rôles biologiques de l'orosomucoïde sont mal connus, cependant, selon des études *in vivo* et *in vitro*, cette protéine intervient dans la défense anti infectieuse, inhibe la prolifération lymphocytaire, diminue la phagocytose des polynucléaires et l'agrégation plaquettaire et de par son caractère acide, elle se lie fortement aux molécules basiques notamment à certains stéroïdes et certains médicaments. Elle intervient également dans le transport de certains médicaments et la médiation du métabolisme des sphingolipides (HOICHEPIED *et al*, 2003; TAGUCHI *et al*, 2013; LUO *et al*, 2015).

➤ Variations physiopathologiques

La concentration sérique en orosomucoïde chez le sujet sain est de 0,5 à 1,4 g/l et sa demi vie est de 3 à 6 jours. Cette concentration augmente dans le cas du rhumatisme articulaire aigu, des collagénoses, infarctus du myocarde et dans les états infectieux et inflammatoires et elle diminue en cas d'insuffisance hépatique, de fuites urinaires et de dénutrition sévère (BENEYTOU *et al*, 2011).

1.2.2.1.4. L'haptoglobine (Hp)

L'Hp est une $\alpha 2$ glycoprotéine formée de deux chaînes β identiques et de deux chaînes α différentes ($\alpha 1$ et $\alpha 2$) lui conférant un polymorphisme génétique (GALICIA et CEUPPENS, 2011; VANUYTSEL *et al*, 2013). On distingue 3 phénotypes : Hp 1-1 (85 kDa), Hp 1-2 (120 kDa) et Hp 2-2 (170 kDa). Cette glycoprotéine est synthétisée par le foie ainsi que par d'autres cellules telles que les neutrophiles et les monocytes.

➤ Rôles biologiques

L'Hp est une protéine qui se lie à l'hémoglobine empêchant ainsi la perte de fer et la destruction rénale. En effet, elle fixe l'hémoglobine libre pour former des complexes Hp-Hb. Ces derniers sont rapidement éliminés et dégradés par les macrophages via le récepteur de

surface cellulaire CD163 (NIELSEN *et al*, 2013). Elle agit également comme antioxydant, possède une activité antibactérienne et un rôle immunomodulateur (QUAYE, 2008).

➤ **Variations physiopathologiques**

La concentration sérique normale d'Hp est de 0,3 à 2 g/l. Elle augmente 3 à 4 jours après le début de la réaction inflammatoire. Sa demi-vie est de 3 à 6 jours et le retour à la valeur normale s'effectue entre 10 et 15 jours. Elle est une protéine majeure de l'inflammation: sa concentration sérique peut être multipliée par un facteur de 2 à 4, Elle permet avec la CRP, soit de confirmer soit d'infirmer un syndrome inflammatoire lorsque la VS a été déjà pratiquée (BENEYTOUT *et al*, 2011). Sa concentration sérique est abaissée en cas d'insuffisance hépatique et d'hémolyses intravasculaires.

1.2.2.1.5. La ferritine

La ferritine est une macromolécule formée d'un assemblage de 24 sous unités de types H et L (H=heavy, L= light), La sous-unité H est impliquée dans le transport du fer, alors que la sous-unité L est responsable du stockage à long terme du fer dans le foie et la rate (BERTINI *et al*, 2012). Cette macromolécule est présente dans les monocytes-macrophages du foie, de la moelle osseuse et de la rate, elle est également retrouvée dans le cytoplasme des hépatocytes, des leucocytes, des hématies et dans les cellules de divers organes notamment le rein, le cœur, le poumon et le placenta. La ferritine sans fer associé est connue sous le nom d'Apo-ferritine.

➤ **Rôles biologiques**

En plus de son rôle dans le stockage du fer, la ferritine joue aussi un rôle dans les macrophages où elle recycle le fer à partir des vieux globules rouges et le transfère à l'Apo ferritine. Elle est également une protéine de la phase aigüe de l'inflammation, sa production augmente en cas d'activation macrophagique (KELL et PRETORIUS, 2014).

➤ **Variations physiopathologiques**

La concentration normale en ferritine se situe entre 20 et 200 µg/l chez l'homme et entre 30 et 300 µg/l chez la femme. Elle est basse à la puberté et varie selon l'âge et le sexe. (BENEYTOUT *et al*, 2011). La concentration sérique en ferritine baisse en cas de carence en fer et augmente dans les anomalies de l'érythropoïèse, les syndromes inflammatoires, la cirrhose et l'hyperthyroïdie.

1.2.2.1.6. La transferrine

La transferrine ou sidérophiline est une glycoprotéine sérique d'environ 80 kDa, migrant avec les β 1-globulines en électrophorèse. Elle présente un polymorphisme génétique se traduisant par l'existence d'une vingtaine d'isotransferrines.

La synthèse de la transferrine a lieu essentiellement dans les hépatocytes et les macrophages des organes lymphoïdes. Le taux de synthèse dans l'hépatocyte est inversement proportionnel à la quantité de fer présente dans la cellule. Ainsi, une diminution des réserves en fer entraîne une augmentation de la transferrine alors qu'une surcharge martiale la diminue (CERBA, 2007).

➤ Rôles biologiques

Le rôle physiologique de la transferrine est le transport du fer. Elle intervient dans le métabolisme martial à plusieurs niveaux :

-elle assure le transfert du fer des macrophages médullaire aux érythroblastes pour les besoins de l'érythropoïèse. En effet, seul le fer lié à la transferrine peut être fixé par les érythroblastes du fait de la présence des récepteurs membranaires de la transferrine à leur surface (MOURA *et al*, 2015);

-elle transporte également le fer du plasma vers l'hépatocyte pour sa mise en réserve et le capte des réserves (foie, cellules du système réticulo-endothélial);

-elle joue un rôle capital dans la régulation de l'absorption intestinale du fer.

➤ Variations physiopathologiques

La concentration sérique normale de la transferrine est de 2 à 3 g/l et sa demi-vie est de 8 jours. Cette concentration baisse dans le cas du syndrome inflammatoire (3 à 4 jours après le début de la réaction inflammatoire), mais également en cas de dénutrition, d'insuffisance hépatocellulaire et de fuite protéique (atteinte glomérulaire, brûlures).

Elle augmente en cas de carence en fer, d'hépatite virale et pendant la grossesse sous l'influence des œstrogènes. L'intérêt du dosage de cette protéine réside dans le diagnostic des carences en fer qui peuvent accompagner un syndrome inflammatoire (CERBA, 2007 ; BENEYTOU *et al*, 2011).

1.2.2.1.7. Le fibrinogène

Le fibrinogène est une glycoprotéine soluble hexamérique de 360 kDa, composée de trois paires de chaînes peptidiques homologues, dites alpha, bêta et gamma, liées entre elles par des ponts disulfures (ARBUSTINI *et al*, 2013). Cette glycoprotéine est synthétisée au niveau

hépatique, elle est un facteur de coagulation, protéine du plasma sanguin qui se transforme en fibrine lors de la coagulation.

➤ **Rôles biologiques**

Le fibrinogène est un acteur majeur dans la formation du thrombus, il est clivé par la thrombine pour former la fibrine, qui est le composant le plus abondant du caillot sanguin.

Il intervient également dans l'inflammation, comme facteur proinflammatoire des maladies auto-immunes et inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques et les maladies inflammatoires intestinales en interférant avec les réponses immunoinflammatoires en se liant aux cellules immunitaires par des interactions ligand-récepteur (DAVALOS et AKASSOGLU, 2012), stimule l'angiogenèse dans les tumeurs et favorise la prolifération des fibroblastes.

➤ **Variations physiopathologiques**

La valeur de référence du fibrinogène est de 2 à 4 g/l et sa demi vie est de 120 heures. La concentration plasmatique du fibrinogène augmente au cours des syndromes inflammatoires et des cancers, au cours des syndromes néphrotiques, chez les patients infectés par le VIH et chez les sujets tabagiques.

Son élévation est également associée à l'angor, l'infarctus du myocarde et les accidents vasculaires. La concentration du fibrinogène baisse en cas d'insuffisance hépatocellulaire et en cas des syndromes des défibrination : coagulation intravasculaire disséminée ou fibrinolyse primitive ou thérapeutique (CERBA, 2007).

1.2.2.1.8. L' α 1-antitrypsine

L' α 1 antitrypsine, appelée aussi α 1-protease ou encore α 1-antiprotéinase inhibiteur, est une glycoprotéine unipeptidique de 52 kDa, comportant trois chaînes d'oligosaccharides (LUSSIER et WILSON, 2016). Sa biosynthèse est hépatique et elle constitue 80 % des α 1-globulines du protéinogramme normal, à côté de l'orosomucoïde. Elle est retrouvée dans la plupart des liquides biologiques du fait de sa faible taille, et en particulier dans les liquides bronchiques.

➤ **Rôles biologiques**

L' α 1 antitrypsine est un inhibiteur puissant des enzymes protéolytiques, elle inactive seulement les sérines protéases (famille des serpins) dont l'élastase leucocytaire de façon prédominante, la trypsine, la thrombine, la plasmine et la chymotrypsine. La molécule de l' α 1 antitrypsine forme avec la molécule de protéase un complexe qui est détruit par les

macrophages. Cette action protège les tissus, en particulier pulmonaires, de l'action des protéases leucocytaires ou bactériennes.

Elle est également une protéine de la réaction inflammatoire aiguë dont le taux sérique double ou triple au cours de cette réaction, présentant ainsi une fonction anticoagulante. Elle est impliquée également dans la phase de restauration cellulaire postinflammatoire sous forme de complexes avec les IgA sécrétoires, protégeant ainsi les fibres élastiques néoformées de la protéolyse.

➤ Variations physiopathologiques

La concentration sérique de l' α 1 antitrypsine augmente dans les rhumatismes, les infections, les processus de nécrose tissulaire, de tumeurs malignes et de traumatisme. Elle est aussi augmentée, physiologiquement au cours de la grossesse, après administration de médicaments (contraceptifs oraux, stéroïdes). Une perte protéique importante d'origine rénale ou intestinale, un mécanisme d'hyperconsommation locale au niveau du foyer inflammatoire, la maladie des membranes hyalines chez l'enfant entraînent une diminution des taux sériques d' α 1 antitrypsine (CERBA, 2007).

1.2.2.1.9. L' α 2-macroglobuline

L' α 2-macroglobuline est une glycoprotéine relativement abondante dans le sérum de 720 kDa environ, constituée de quatre sous-unités identiques reliées par des ponts disulfures (REHMAN *et al*, 2011). Elle est synthétisée en majeure partie par le foie, mais les macrophages, les fibroblastes et certaines cellules tumorales peuvent aussi la synthétiser et la sécréter.

➤ Rôles biologiques

L' α 2-macroglobuline inhibe l'activité protéolytique de nombreuses protéases, comme la trypsine et la plasmine (CHEN *et al*, 2014). Une molécule d' α 2-macroglobuline comporte deux cavités pouvant lier une ou deux molécules de protéases. Cette liaison induit un changement de conformation de l' α 2-macroglobuline, provoquant une inhibition de l'activité protéasique et faisant apparaître à sa surface un récepteur reconnu par le système réticulo-endothélial qui assure l'élimination du complexe (WONG et DESSEN, 2014). Elle inhibe aussi l'activité de protéases issues de cellules tumorales, réduisant la progression des métastases.

Présente à concentration élevée chez le nouveau-né et l'enfant, elle exerce un rôle anticoagulant en complexant l' α -thrombine, mais elle possède aussi une activité procoagulante en inhibant la protéine C activée, une protéine anticoagulante. A côté de son

rôle d'inhibiteur de protéases, l' α 2-macroglobuline sert de protéine de transport pour de nombreux facteurs de croissance et hormones, ce qui suggère un rôle de l' α 2-macroglobuline dans la distribution et la clairance des cytokines et des facteurs de croissance (CERBA, 2007).

➤ **Variations physiopathologiques**

Les valeurs usuelles sont de 1,3 à 3 g/l. On observe une augmentation de l' α 2-macroglobuline dans le syndrome néphrotique, par augmentation de synthèse, dans la fibrose hépatique, chez le diabétique, étant un marqueur précoce et spécifique des complications vasculaires de la microcirculation, dans le syndrome inflammatoire et dans certains cancers (CERBA, 2007). Une diminution, en général très modérée, est retrouvée dans les pneumopathies aiguës, les pleurésies, la lithiase biliaire ou rénale, l'infarctus du myocarde, les ulcères gastroduodénaux et les gastrites. Une diminution marquée d' α 2-macroglobuline (<0.5 g/l) est associée à la présence des métastases osseuses de patients souffrant de cancer de la prostate.

1.2.2.1.10. Les composants du complément

Les protéines du complément sont synthétisées par l'hépatocyte et les macrophages. Dans la réaction inflammatoire, on observe une augmentation des concentrations sériques des protéines du complément et de leur activité fonctionnelle. Cela peut être mis en évidence par le complément hémolytique (CH50) qui est un test hémolytique qui explore l'activité fonctionnelle de la voie classique et de la voie finale commune (CERBA, 2007).

- **La fraction C3**

Le C3 est le constituant majeur du système du complément, système impliqué dans la défense anti-infectieuse, dans la clairance des complexes immuns, dans l'inflammation et dans la régulation de la réponse immunitaire spécifique. C'est une β -globuline formée de deux chaînes polypeptidiques, α (100 kDa) et β (75 kDa). Il est synthétisé par les hépatocytes (90%) et les macrophages.

L'activation du C3 par hydrolyse spontanée ou par clivage par une C3 convertase, est l'étape clé du processus d'activation du complément. La C3 convertase peut être générée par la voie classique ou par la voie alterne.

➤ **Rôles biologiques**

Les C3 convertase de la voie classique et de la voie alterne induisent dans le plasma le clivage de C3 en fragments doués d'activités biologiques différentes :

-libération dans la phase fluide d'un fragment de 10 kDa (C3a), qui a les propriétés d'anaphylatoxines. Ce fragment possède de nombreuses cibles : muscles lisses, mastocytes, macrophages, monocytes, polynucléaires et l'endothélium vasculaire.

La liaison de C3a à sa cible provoque la degranulation des basophiles et mastocytes, une libération d'histamine, une augmentation de la perméabilité vasculaire, une vasodilatation avec augmentation du flux sanguin et une contraction des muscles lisses c'est la réaction inflammatoire;

-le C3b active à son tour la séquence terminale lytique de C5 à C9. Ce fragment peut se fixer par liaison covalente à l'antigène ou à la surface activatrice (opsonisation), et aussi se lier à plusieurs récepteurs du complément (CR1, 2, 3, 4,5) répartis sur toutes les cellules impliquées dans la réponse immunitaire notamment les polynucléaires, les monocytes, les lymphocytes B et T. Ainsi, lorsque des complexes immuns sont opsonisés par le C3b, la liaison au CR1 des érythrocytes permet la solubilisation des complexes, et leur clairance par le système monophagocytaire (foie, rate).

➤ Variations physiopathologiques

Les valeurs usuelles de la fraction C3 vont de 0,9 à 1,8 g/l. Cette fraction du complément est la plus abondante du sérum. Elle augmente dans le syndrome inflammatoire, la cirrhose biliaire primitive. Elle baisse lors de l'activation du complément, en cas de polyarthrite à un stade avancé, de lupus érythémateux systémique et d'anémie hémolytique.

• La fraction C4

La fraction C4 du complément est une protéine d'environ 200 kDa, qui participe à l'activation de la voie classique du complément. Elle entre dans la constitution de la C3/C5 convertase de la voie classique d'activation du complément par reconnaissance d'anticorps complexés à leur antigène.

La concentration sérique du C4 est augmentée lors de maladies infectieuses systémiques, lors d'états inflammatoires chroniques non infectieux (principalement dans les formes chroniques de la polyarthrite rhumatoïde) et physiologiques (grossesse).

Une diminution du taux de C4 ou une absence totale de C4 se rencontrent en cas de maladie à complexes immuns, de lupus érythémateux disséminé, de thyroïdite auto-immune et de dermatomyosite juvénile. Les infections telles que les méningites bactériennes et virales, ainsi que les infections à streptocoques, staphylocoques et les pneumonies, s'accompagnent également d'une diminution du taux de C4.

Le dosage du C4 permet une plus grande différenciation lorsque le taux de C3 est diminué. Si la concentration en C4 est normale, il existe avec une certaine probabilité une activation de la voie alterne. Le dosage de C4 est principalement utilisé pour le suivi d'états qui sont accompagnés d'une hypocomplémentémie.

1.2.2.1.11. Sérum amyloïde A protéine (SAA)

La protéine SAA est une protéine de 104 acides aminés et de 12.5 Da. Elle est une protéine la phase aigüe de l'inflammation, synthétisée par les hépatocytes, sous l'action de cytokines notamment l'IL1. Dans la circulation sanguine, cette protéine est associée aux lipoprotéines de haute densité (HDL) sous forme d'une apolipoprotéine.

Au site inflammatoire, les macrophages accumulent du cholestérol provenant des débris des membranes cellulaires. Cette apolipoprotéine participe à l'évacuation et au catabolisme du cholestérol de ces macrophages, en contribuant à la formation, à partir des HDL circulantes, d'HDL3 dites inflammatoires, captés au niveau du foie (POITOU *et al*, 2008). Chez le sujet sain, les valeurs usuelles sont habituellement <15 mg/l. on observe une élévation précoce du taux de la SAA lors de la réaction inflammatoire, et son amplitude peut être très importante ($\times 1000$).

1.2.2.1.12. La Céruléoplasmine

La céruléoplasmine est une glycoprotéine de 135 kDa, migrant dans la zone de $\alpha 2$ globulines. Elle est synthétisée dans les microsomes du foie en deux étapes: élaboration de l'apocéruléoplasmine, puis incorporation des atomes de cuivre et formation de l'enzyme active. Celle-ci transporte 6 atomes de cuivre, ce qui lui confère une couleur bleue foncé. Elle est liée à 80% du cuivre plasmatique (LINDER, 2016).

Les rôles physiologiques de la céruléoplasmine sont multiples : transporteur du cuivre, synthèse du collagène, agent antioxydant et relation avec le métabolisme du fer (le Fe^{++} est oxydé par la céruléoplasmine) (MAHAJAN *et al*, 2011; LINDER, 2016). Chez l'adulte, les valeurs usuelles de la céruléoplasmine sont de 0.2 à 0.6 g/l. Il existe des variations en fonction de l'âge. À la naissance, les taux sont environ deux fois plus faibles, le taux adulte étant atteint à l'âge de 3 à 6 mois.

Une augmentation de la céruléoplasmine est observée dans les infections aiguës ou chroniques, les syndromes inflammatoires associés à des affections rhumatismales ou

dermatologiques et au cours de la grossesse et lors de la prise d'estrogènes (contraceptifs oraux, traitement hormonal substitutif de la ménopause). Une diminution de la céruléoplasmine est observée dans les états de dénutrition sévère, les néphropathies et les hépatites chroniques.

1.2.2.1.13. Les facteurs rhumatoïdes

Les facteurs rhumatoïdes (FR) sont des auto-anticorps dirigés contre le fragment cristallisable (Fc) des Immunoglobulines (Ig) G humaines et animales. Ils sont classiquement de type IgM, ceux-ci sont des FR agglutinants détectables par les tests d'agglutination classiques (test de Waaler-Rose) ou par des tests immunologiques (néphélobimétrie, dosage immuno-enzymatique), mais il en existe des FR non agglutinants de type IgA et IgG, détectables uniquement par des tests immunologiques (CERBA, 2007).

Les FR sont présents au cours de nombreuses pathologies rhumatologiques et infectieuses. Ils sont très utilisés pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (PR) (GERHARD, 2014). En faible quantité, ils facilitent l'élimination des complexes immuns et participe à la première ligne de défense anti infectieuse. Au cours des maladies auto-immunes, ils empêchent la capture des complexes immuns par les récepteurs glomérulaires, ce qui diminue le risque d'atteinte rénale. Dans la PR, ils favorisent l'inflammation en activant le complément (SONG et KANG, 2010).

1.3. Pathologies inflammatoires et stratégie de diagnostic

1.3.1. Pathologies infectieuses

La plupart des infections aiguës bactériennes peuvent être responsables d'un syndrome inflammatoire comme la tuberculose sous toutes ses formes, l'endocardite subaiguë, les foyers infectieux pulmonaires, urinaires digestifs, ORL, dentaires, gynécologiques, osseux ou hépatobiliaires.

1.3.2. Les maladies systémiques

- **Les vascularites**

Les vascularites sont des maladies caractérisées par une inflammation de la paroi des vaisseaux sanguins. Certaines vascularites peuvent apparaître au décours d'une infection, mais dans de nombreux cas les causes de l'inflammation restent inconnues.

La maladie de Behçet est une vascularite caractérisée par des poussées inflammatoires aiguës récurrentes. Elle se manifeste par des aphtes buccaux récidivants, des atteintes inflammatoires oculaires et une atteinte fréquente des articulations.

- **Les connectivites**

Les connectives sont caractérisées par une inflammation des tissus conjonctifs, le plus souvent au niveau de la peau, des articulations, des muscles et des organes interne. Les principaux types de connectivites sont le lupus érythémateux systémique, qui peut provoquer une inflammation dans pratiquement tous les organes du corps, et la sclérodermie qui est une maladie chronique inflammatoire des tissus conjonctifs et des artérioles dont la principale caractéristique est un durcissement de la peau.

- **Les rhumatismes inflammatoires**

Les rhumatismes inflammatoires sont des maladies systémiques caractérisées par des douleurs articulaires inflammatoires. La PR et les spondyloarthropathies dont la spondylarthrite ankylosante sont les rhumatismes inflammatoires les plus fréquents.

La PR est une maladie auto-immune multifactorielle caractérisée par une inflammation chronique de la membrane synoviale (MOREL et COMBE, 2004) et la spondylarthrite ankylosante est un rhumatisme inflammatoire touchant principalement les sacro-iliaques et le rachis (PHAM, 2008).

- **Maladies inflammatoire du système nerveux central (SNC)**

Les maladies inflammatoires du SNC telles que la vascularite du SNC et les maladies démyélinisantes comme la sclérose en plaques et l'encéphalomyélite aigue disséminée, sont caractérisées par une inflammation du cerveau ou de la moelle épinière, entraînant une irritation et un gonflement du tissu cérébral ou des vaisseaux sanguins. Ces maladies sont dues à des processus inflammatoires provoqués par un dysfonctionnement du système immunitaire.

1.3.3. Les pathologies néoplasiques

Les maladies de hodgkin et les lymphomes malins non hodgkiniens s'accompagnent souvent d'un syndrome inflammatoire. Environ un cancer sur 2 est associé à un syndrome inflammatoire biologique, il s'agit surtout du cancer du poumon et du rein et des cancers digestifs.

1.3.4. Les maladies spécifiques d'organes

- **Maladies inflammatoires chroniques intestinales**

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) regroupent la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Ses dernières se caractérisent par une inflammation de la paroi digestive. Dans la maladie de Crohn, cette inflammation peut être localisée à tous les niveaux du système digestif, de la bouche à l'anus. Dans la rectocolite hémorragique, elle est localisée au niveau du rectum et du côlon (ABRAHAM et CHO, 2009).

- **La cirrhose biliaire primitive**

La cirrhose biliaire primitive est une maladie inflammatoire chronique du foie, caractérisée par une destruction des petites et moyennes voies biliaires intrahépatiques. Le diagnostic de cette maladie est fondé sur les signes biochimiques de cholestase avec augmentation des phosphatases alcalines sériques, la présence d'anticorps antimitochondries et les signes de cholangite chronique à la biopsie hépatique (ERLINGER et CHAZOILLERES, 2013).

1.3.5. Stratégie de diagnostic

L'affirmation du diagnostic inflammatoire ou d'infection nécessite la réalisation d'examen complémentaire, notamment un bilan biologique. Ce dernier permet, d'une part de confirmer le syndrome inflammatoire, d'une autre part d'évaluer l'importance la réaction inflammatoire.

Les conséquences biologiques de la réaction inflammatoire résultent de l'action des cytokines et s'observe par différents examens sanguins. Les analyses portent plus précisément sur l'identification des marqueurs et la mise en évidence de l'agent infectieux.

Les examens demandés reposent en premier lieu sur la recherche de marqueurs biologiques sanguins non spécifiques, spécifiques et d'autres examens non spécifiques également modifiés lors d'un processus inflammatoire et leur dosage conjoint comportent parfois une valeur d'orientation diagnostique.

Dès qu'une maladie inflammatoire chronique auto-immune est suspectée, des recherches d'auto-anticorps spécifiques sont réalisées, ces derniers sont les témoins de phénomènes d'auto-immunité physiologiques et surtout pathologiques (TOUSSIROT, 2011).

1.4. Thérapeutiques de l'inflammation

Le mécanisme de défense de l'organisme peut parfois évoluer de façon anormale et déclencher des maladies inflammatoires auxquelles on oppose des médicaments dits anti-inflammatoires, qui peuvent être conventionnels ou traditionnels.

1.4.1. Les anti-inflammatoires conventionnels

Les anti-inflammatoires sont nombreux et appartiennent à des familles de médicaments différents puisqu'on y trouve des analgésiques, des corticoïdes, des antihistaminiques. Ils sont subdivisés en deux catégories :

- les anti-inflammatoires non stéroïdiens ;
- les anti-inflammatoires stéroïdiens.

1.4.1.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des molécules qui appartiennent à des familles chimiques de structures hétérogènes et qui n'ont pas de structure chimique stéroïdienne. Ils sont avant tout analgésiques mais aussi antipyrétiques et anti-inflammatoires. Ils agissent sur la phase initiale de l'inflammation en inhibant par action sur la cyclooxygénase, la synthèse des prostaglandines et par action sur la lipooxygénase la formation de superoxydes. Ils ont également la capacité de stabiliser la membrane lysosomiale empêchant ainsi la libération des composés proinflammatoires et d'inhiber l'élaboration des kinines.

Les AINS présentent comme effet indésirable un risque d'ulcère d'estomac par inhibition de la synthèse des autres prostaglandines qui protègent la muqueuse gastrique. Gastralgies, ulcérations gastroduodénales et saignements digestifs sont attribués essentiellement à l'inhibition des COX-1. Les AINS inhibant sélectivement la COX-2 ont une action anti-inflammatoire et antalgique à peu près identique à celle des AINS non sélectifs mais entraînent moins de troubles digestifs. On distingue sur le plan biochimique plusieurs familles d'AINS : les dérivés salicylés, les pyrazolés, les propioniques, les oxicam, les indoliques, les fénamates (NUHRICH, 2015).

1.4.1.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les AIS de référence (les glucocorticoïdes) sont représentés par la cortisone et l'hydrocortisone. Dans leurs tissus

cibles, les glucocorticoïdes se fixent sur des récepteurs intracellulaires dont l'activation aboutit à la régulation de gènes spécifiques (BASCHANT et TUCKERMANN, 2010).

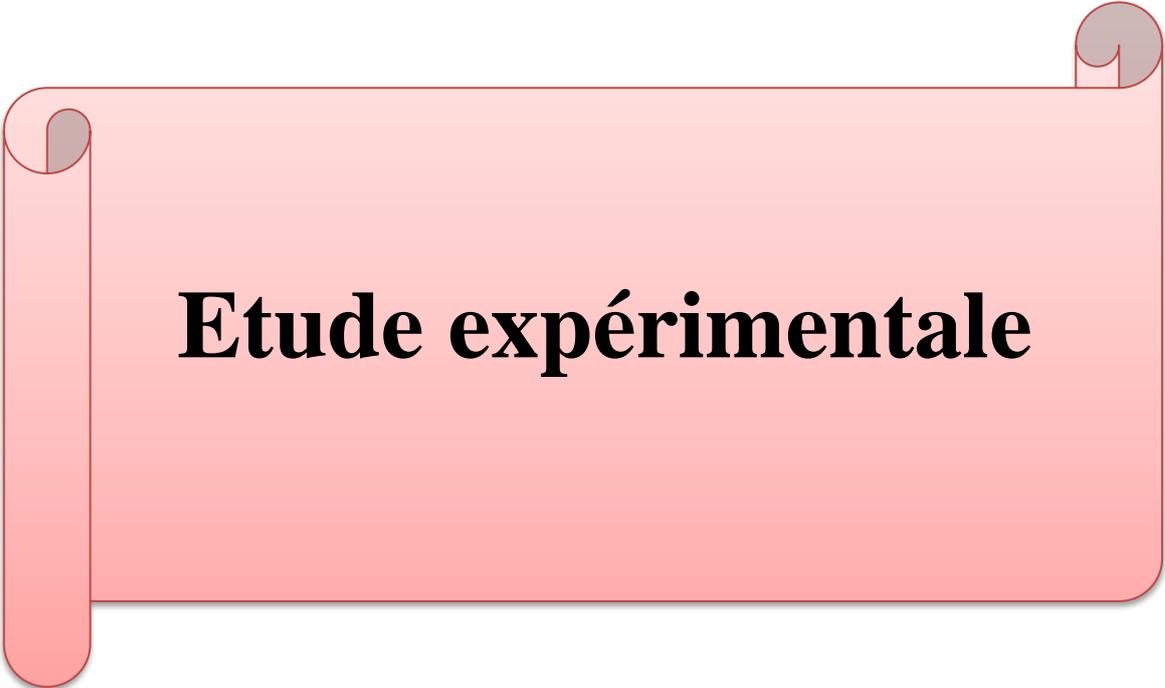
Ces AIS agissent sur de nombreux métabolismes de l'organisme. Ils inhibent la production de prostaglandines et de leucotréines par blocage de la phospholipase A2. Ce blocage est obtenu par l'induction de la synthèse de la lipocortine, protéine de 40 kDa qui inhibe directement la phospholipase A2. Ils réduisent également la perméabilité cellulaire et la production d'autres médiateurs inflammatoires tels que l'histamine et la sérotonine

1.4.2. Les anti-inflammatoires traditionnels

L'incorporation et l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des réactions inflammatoires, en particulier le rhumatisme, sont des pratiques communes dans la médecine traditionnelle. Le nombre de composés phytochimiques est très vaste et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés présentent des propriétés anti-inflammatoires et sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipooxygénase et par d'autres mécanismes.

Des études menées *in vivo* et *in vitro* ont démontré que les polyphénols de certaines plantes pouvaient agir sur le métabolisme de l'acide arachidonique (YOON et BAEK, 2005), ils exercent leur effet anti-inflammatoire en agissant *in vivo* et *in vitro* sur l'activation du facteur de transcription NF- κ B (SANTANGELO *et al*, 2007). Il a également été démontré que les flavonoïdes comme la lutéoline et l'apigénine inhibent la production des cytokines telles qu'IL4, IL5, que la quercétine inhibe la production de TNF α par les macrophages et que la kaempférol inhibe la production de TNF α , de l'IL 1 β et de l'IL6 dans les mastocytes (GONZALEZ-GALLEGO *et al*, 2010).

Les principales plantes anti-inflammatoires et antalgiques inscrites à la Pharmacopée sont le saule (*Salix sp.*), la reine-des-prés (*Filipendula ulmaria*), le cassis (*Ribes nigrum*), l'ortie (*Urtica urens*, *U. dioica*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), l'harpagophyton (*Harpagophytum procumbens*), la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) et le curcuma (*Curcuma longa*) (HEYMONET, 2013).



Etude expérimentale

II. étude expérimentale

2.1. Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au laboratoire de Biochimie du centre hospitalo-universitaire, Nedir Mohammed, de Tizi-Ouzou.

2.1.1. Matériel

2.1.1.1. Matériel biologique

Les échantillons sériques utilisés proviennent des différents services du CHU de Tizi Ouzou. Durant 2 mois de travail, nous avons passés 85 échantillons en électrophorèse capillaire. Cette dernière a été effectuée sur des échantillons sériques issus de prélèvements sanguins sur des tubes secs, après centrifugation à 3000 t/min et pendant 2 minutes.

Après l'électrophorèse des protéines sériques, les sérums ont été congelés. Par la suite, 38 sérums dont 19 représentent une allure normale en électrophorèse et 18 un profil pathologique, ont été décongelés pour le dosage des autres marqueurs de l'inflammation.

2.1.1.2. Appareillage

- centrifugeuse ;
- automate Capillarys™ (Sebia) ;
- automate COBAS INTEGRA (Roche).

2.1.1.3. Réactifs

- cassette COBAS INTEGRA C-Reactive Protein (Latex) (CRPLX) ;
- cassette COBAS INTEGRA Total Protein Gen.2 (TP2) ;
- cassette COBAS INTEGRA Iron Gen.2 (IRON2);
- cassette COBAS INTEGRA Tina-quant Complement C4 ver.2 (C4-2);
- cassette COBAS INTEGRA Tina-quant Haptoglobin ver.2 (HAPT2);
- cassette COBAS INTEGRA Albumin Gen.2 (ALB2).

2.1.2. Méthodes

2.1.2.1. Electrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire est une technique analytique qui permet la séparation et la quantification de nombreux paramètres biologiques dont les protéines sériques. Elle consiste en la séparation des espèces chargées par migration à travers un capillaire de silice

très fin (10 à 100 μm de diamètre) sous un champ électrique de hautes tensions (20000 à 60000 volts). Cette méthode de séparation est considérée comme très performante (en particulier sur le plan de résolution), rapide, reproductible et offrant en outre l'avantage d'une automatisation complète de l'analyse.

Le principe de l'électrophorèse capillaire repose sur la séparation des constituants d'un mélange dans le temps par effets de deux facteurs principaux appelés mobilité électrophorétique et flux ou écoulement électro-osmotique. Le premier facteur correspond au déplacement des molécules chargées, dans un électrolyte supposé immobile, vers l'électrode de signe opposé, et le second paramètre contrôlant le mouvement des solutés est dû à l'écoulement de l'électrolyte sur la paroi interne du capillaire. En effet la paroi de silice est tapissée de groupements silanols qui se déprotonisent lorsque le pH est acide (supérieur à 2) pour former une couche polyanionique de type Si-O^- (LABAT *et al*, 2000).

Des contre ions provenant de la solution d'électrolyte ont tendance à se plaquer contre la paroi du capillaire et à neutraliser ces charges négatives, formant ainsi une double couche d'ions et créant une différence de potentiel, appelée potentiel zêta. Sous l'action du champ électrique, les cations les moins retenus de cette double couche migrent vers la cathode entraînant avec eux les molécules du tampon, ainsi le flux crée donne aux particules une mobilité électro-osmotique qui s'ajoute à leur mobilité propre.

L'électrophorèse des protéines sériques a été réalisée sur automate CapillarysTM (Sebia), muni de 8 capillaires permettant d'effectuer huit séparations simultanées. L'injection des échantillons dans les capillaires se fait par aspiration à l'anode. La détection des fractions séparées se fait par spectrophotométrie d'absorption moléculaire et à l'aide d'un système de détection en UV. Les capillaires sont ensuite lavés par une solution de lavage, puis par le tampon d'analyse. Avec le tampon basique utilisé, six fractions sont séparées dans l'ordre suivant : γ -globulines, β_1 - et β_2 -globulines, α_1 - et α_2 - globulines et albumine. La composition du kit de réactif Capillarys® comprend un tampon d'analyse à pH = 10, une solution de lavage concentrée contenant de la soude caustique, des barrettes de dilution à usage unique pour la dilution des échantillons de sérum par l'automate et des filtres à usage unique pour les flacons de réactifs. Le logiciel « PhoresisTM » incorporé dans le CapillarysTM permet le traitement des résultats, l'affichage de l'état de fonctionnement de l'automate et les résultats des analyses en cours.

2.1.2.2. Dosage de la CRP

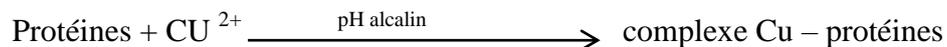
Le dosage de la CRP est effectué sur un automate COBAS INTEGRA (Roche) en utilisant le réactif COBAS INTEGRA C-Reactive Protein (Latex) (CRPLX). Le principe de cette

méthode repose sur l'agglutination de la CRP humaine sur les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux (de souris) anti-CRP. Ce précipité est mesuré par turbidimétrie à 552 nm.

2.1.2.3. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines totales est réalisé sur l'autoanalyseur COBAS INTEGRA (Roche) en utilisant la cassette COBAS INTEGRA Total Protein Gen.2 (TP2) et en se basant sur la méthode de Biuret. Le principe de cette méthode est le suivant :

Les ions cuivriques réagissent en solution alcalines avec les liaisons peptidiques des protéines et forment un complexe de couleur pourpre.

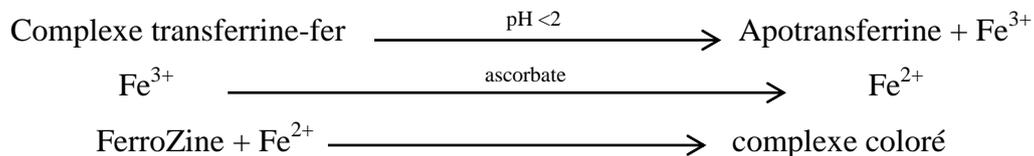


L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration des protéines. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

2.1.2.4. Dosage du fer

Le dosage du fer a été effectué sur l'automate COBAS INTEGRA (Roche) et selon les indications de la cassette COBAS INTEGRA Iron Gen.2 (IRON2). La méthode utilisée est une méthode de dosage qui fait appel à la FerroZine.

A un pH acide, les ions Fe^{3+} sont détachés de la transferrine. Les échantillons lipémiques sont clarifiés par un détergent, l'ascorbate, qui réduit les ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} qui forment ainsi un complexe coloré avec la FerroZine.



L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en fer. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

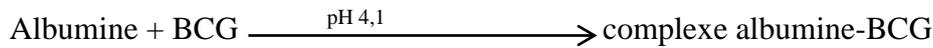
2.1.2.5. Dosage de l'haptoglobine

Le dosage de l'haptoglobine a été réalisé sur l'automate COBAS INTEGRA (Roche) en utilisant la cassette COBAS INTEGRA Tina-quant Haptoglobin ver.2 (HAPT2). L'haptoglobine humaine forme un précipité en présence d'antisérum spécifique, ce précipité est mesuré par turbidimétrie à 340 nm.

2.1.2.5. Dosage de l'albumine

Le dosage de l'albumine a été effectué sur l'autoanalyseur COBAS INTEGRA (Roche) en utilisant la cassette COBAS INTEGRA Albumin Gen.2 (ALB2). Le principe de cette méthode est le suivant:

A un pH de 4,1, l'albumine présente un caractère suffisamment cationique pour se combiner avec le vert de bromocrésol (BCG : bromocresol green) sous forme d'anion pour former un complexe bleu-vert.



L'intensité de la coloration bleu-vert est développée est directement proportionnelle à la concentration en albumine et est mesurée par photométrie. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm.

2.1.2.6. Dosage du C4

Le dosage du C4 a été réalisé sur l'automate COBAS INTEGRA (Roche) et selon les indications de la cassette COBAS INTEGRA Tina-quant Complement C4 ver.2 (C4-2). Le principe de cette méthode repose sur la formation d'un précipité par le C4 humain en présence d'un antisérum spécifique, qui est mesurée par turbidimétrie à 340 nm.

2.1.2.7. Outils statistiques

2.1.2.7.1. Test t de student pour deux échantillons indépendants

Ce test est un test paramétrique, utilisé pour comparer les moyennes de deux échantillons indépendants. Il s'agit de comparer les moyennes de la variable quantitative étudiée sur les deux groupes d'échantillons selon un certain facteur (la variable quantitative). Il consiste à énoncer deux hypothèses, l'hypothèse nulle (notée H_0) : les deux moyennes sont égales et l'hypothèse alternative (notée H_1) les deux moyennes sont différentes. Le logiciel fait le calcul et donne une probabilité notée p . A partir de cette probabilité, le choix final de l'hypothèse se base sur la règle suivante :

Si $p \leq \alpha$, H_0 est rejetée et H_1 est acceptée

Si $p > \alpha$, H_1 est rejetée et H_0 est acceptée

Dans la littérature scientifique, il est très fréquent de trouver les termes de différences significatives accompagnées de la valeur de p qui est interprétée comme un niveau de preuve, le seuil de significativité étant défini par α (5% ou 0.05). Ce test a été réalisé par le logiciel XLSTAT.

2.1.2.7.2. Test de Mann Whitney U

Lorsque les conditions de test t de student ne sont pas réunies, on a recours à un test non paramétrique de même équivalence, ce test est celui de Mann Whitney U. C'est un test qui

s'intéresse non pas aux valeurs des variables mais aux rangs des variables, il a été réalisé par le logiciel XLSTAT.

2.1.2.7.3. L'analyse des composantes principales (ACP)

L'ACP est une méthode statistique multidimensionnelle dite descriptive. Elle permet de résumer graphiquement un ensemble de données quantitatives et a pour objet l'étude de la relation qui existe entre k variables quantitatives.

Le graphe des variables est donné par le cercle des corrélations, de rayon $R=1$, il permet de voir quelles variables sont expliquées par les axes factoriels et de savoir quelles sont celles qui sont corrélés les unes avec les autres (celles qui sont sur l'axe factoriel). Deux variables perpendiculaires ne sont pas corrélées et deux variables opposées sont corrélées négativement. Cette analyse a été réalisée par le logiciel statistica.



Résultats et discussion

2.2. Résultats et discussion

2.2.1. Exemples de Profils électrophorétiques obtenus

Un profil électrophorétique est une représentation des résultats des dosages de plusieurs protéines. Ces résultats sont exprimés en g/l et/ou en pourcentage.

Ce profil permet de suivre l'évolution d'une maladie avec un profil ciblé et d'orienter le diagnostic d'une infection avec un profil élargi d'orientation par dosages de plusieurs fractions. La répartition de ces fractions apporte de nombreux renseignements qui aident au diagnostic des différentes pathologies notamment le syndrome inflammatoire.

- **Profil électrophorétique normal**

La représentation graphique d'un profil électrophorétique normal est représentée dans la figure 3 et les valeurs normales des différentes fractions sont résumées dans le tableau II.

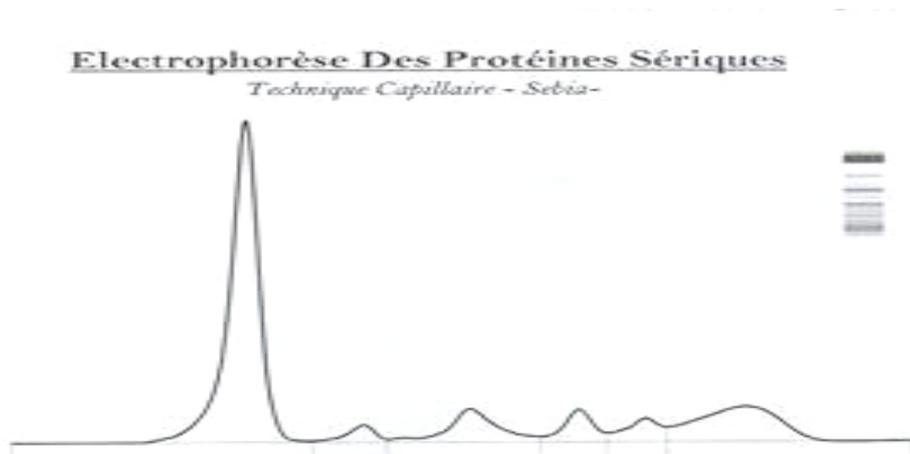


Figure 3 : Profil électrophorétique d'allure normale.

Tableau II : Valeurs normales des différentes fractions protéiques obtenues par le Capillarys™ (Sebia).

Fractions	%	g/l
Albumine	55.8-66.1	40.2-47.6
Alpha 1	2.9-4.9	2.1-3.5
Alpha 2	7.1-11.8	5.1-8.5
Beta 1	4.7-7.2	3.4-5.2
Beta 2	3.2-6.5	2.3-4.7
Gamma	11.1-18.8	8.0-13.5

- Profils protéiques pathologiques

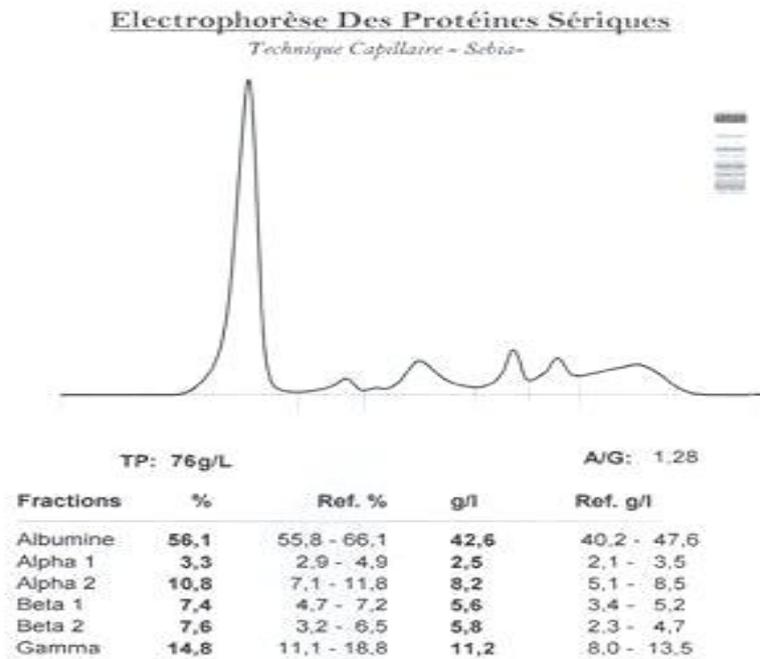


Figure 4 : Profil électrophorétique sans anomalies majeures.

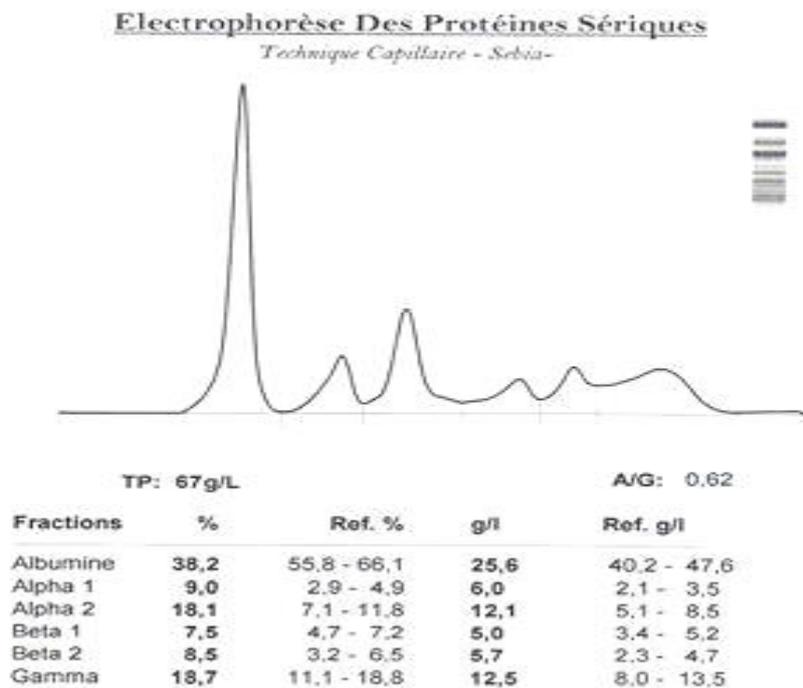


Figure 5 : Profil électrophorétique en faveur d'une réaction inflammatoire aigue.

2.2.2. Etude épidémiologique

2.2.2.1. Distribution selon l'âge et le sexe

L'âge moyen de nos patients est de 45 ans, avec des valeurs extrêmes de 12 et 90 ans. Un maximum de fréquences est observé dans la tranche d'âge comprise entre 30 et 50 ans. La fréquence la plus basse est constatée dans la tranche d'âge allant de 70 à 90 ans (figure 8).

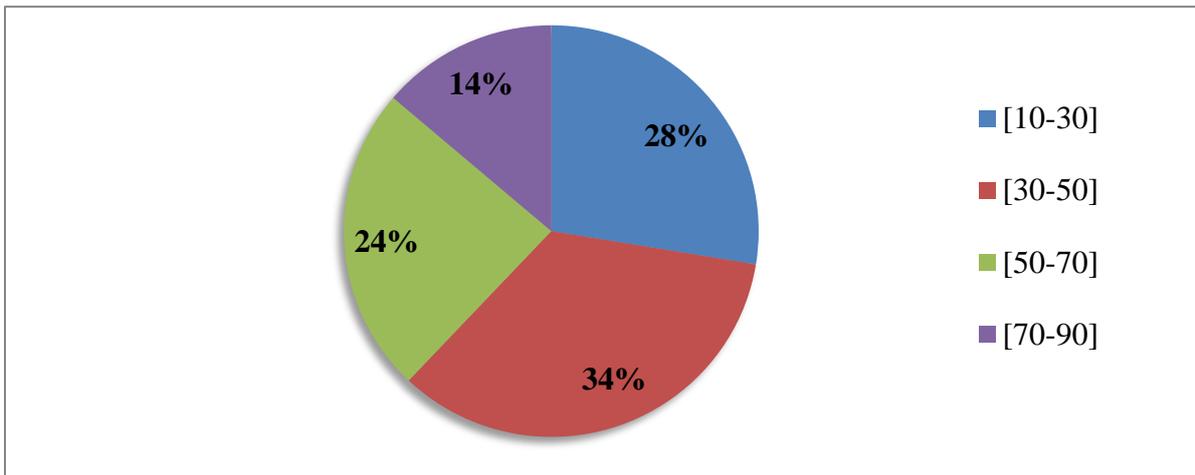


Figure 8 : Répartition des états inflammatoires selon les tranches d'âge.

Notre série a compris 50 femmes et 30 hommes, soit respectivement 62% et 38 %. Il y a une prédominance féminine avec un sexe ratio de 0,6.

La distribution en fonction du sexe et des tranches d'âge fait apparaitre un pic de fréquence entre 30 et 50 ans avec un pourcentage plus élevé chez les femmes. Il existe une prédominance féminine dans la plupart des tranches d'âges excepté celle comprise entre 10 et 30 ans, où on a noté une égalité des fréquences entre les deux sexes (figure 9).

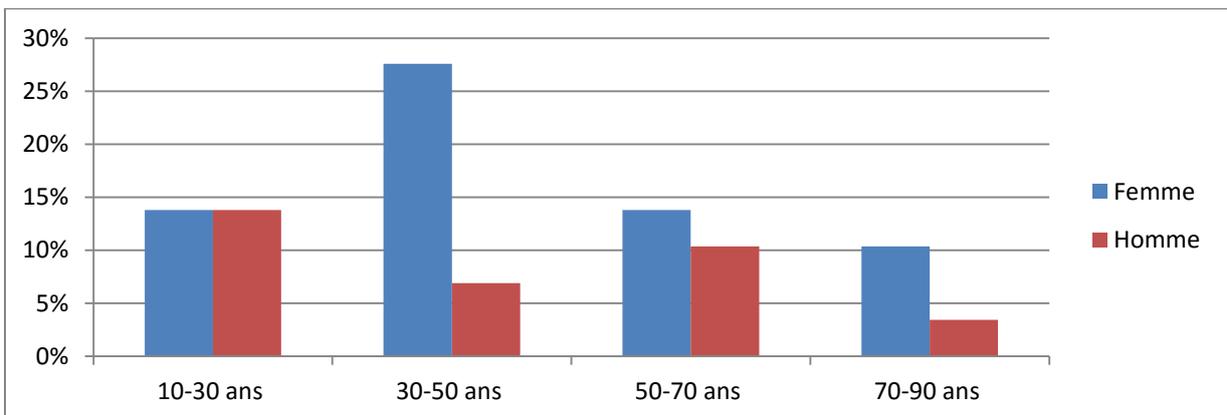


Figure 9 : Répartition selon le sexe et les tranches d'âge.

2.2.2.2. Distribution selon le service

Notre série est constituée d'individus provenant de 10 services différents (médecine interne, neurologie, néphrologie, cardiologie, rhumatologie, pédiatrie, maladies infectieuses et pneumo-phtisiologie, ophtalmologie et neurochirurgie).

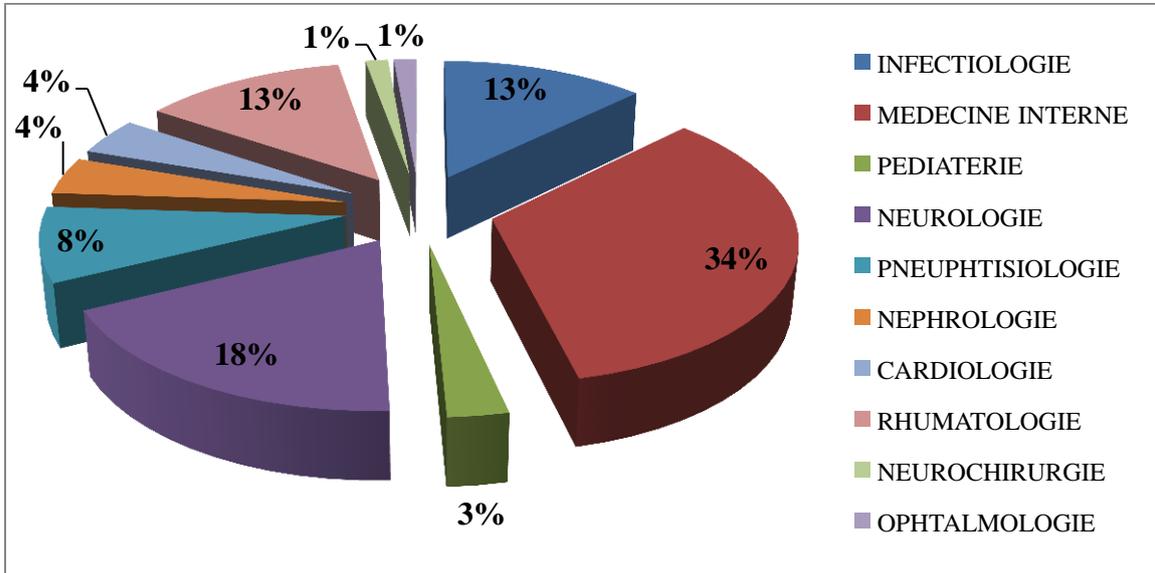


Figure 10 : Répartition selon le service

La fréquence la plus élevée est observée dans le service de médecine interne avec un pourcentage de 34%. La fréquence la plus basse est constatée dans le service de neurochirurgie et le service d'ophtalmologie avec un pourcentage de 1 % (figure 10).

2.2.2.3. Répartition des états inflammatoires

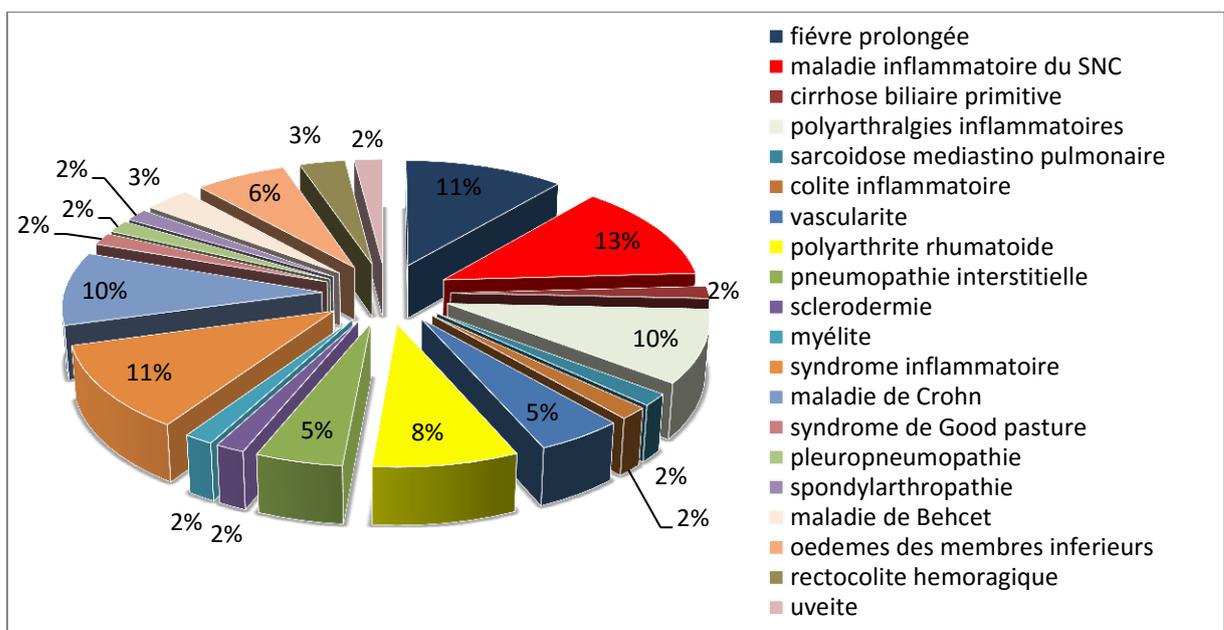


Figure 11 : Répartition des états inflammatoires.

La répartition des états inflammatoires montre que la maladie inflammatoire la plus fréquente est la maladie inflammatoire du SNC avec un pourcentage de 13% suivie de fièvre prolongée et syndrome inflammatoire avec 11 %, maladie de Crohn et polyarthralgies inflammatoires avec 10%, la polyarthrite rhumatoïde avec 8%, les œdèmes des membres inférieurs 6 % et la pneumopathie interstitielle avec 5 % (figure 11).

2.2.2.4. Répartition selon les résultats de l'électrophorèse capillaire

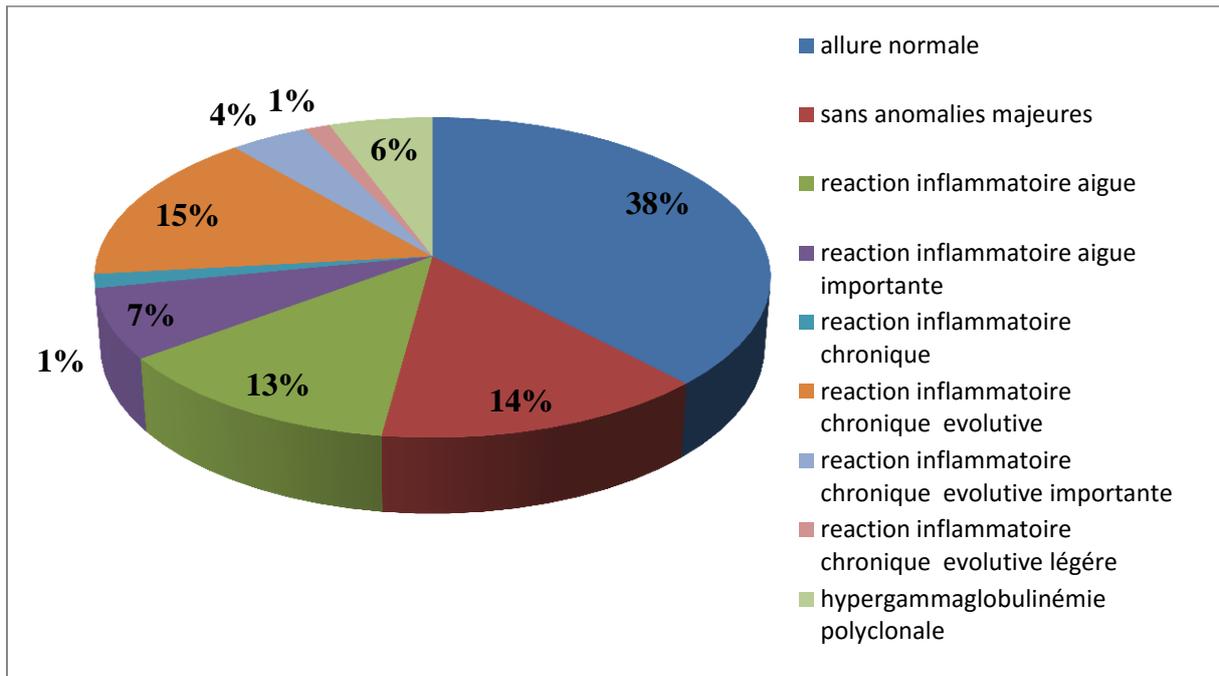


Figure 12 : Répartition selon les résultats de l'électrophorèse capillaire.

D'après la figure 12, on constate que 38% des profils obtenus par électrophorèse capillaire sont identiques aux profils dits normaux (allure normale), 15% sont des profils en faveur d'une réaction inflammatoire chronique évolutive, 14% sont sans anomalies majeures, 13% sont en faveur d'une réaction inflammatoire aiguë, 7% sont en faveur d'une réaction inflammatoire aiguë importante, 6% ont montrés une hypergammaglobulinémie polyclonale, 4% sont en faveur d'une réaction inflammatoire chronique évolutive importante et enfin 1% sont des profils en faveur d'une réaction inflammatoire chronique et une réaction inflammatoire chronique légère.

2.2.3. Etude des marqueurs biochimiques inflammatoires

Afin de comparer la distribution des variables de concentration d'un marqueur selon les deux profils pathologique et normal, on a fait appel aux box plots (la représentation sous forme de boîte à moustache) qui permettent la visibilité de dispersion des diverses concentrations étudiés pour chaque profil. Les graphiques obtenues donnent une vision différente des données.

2.2.3.1. La CRP

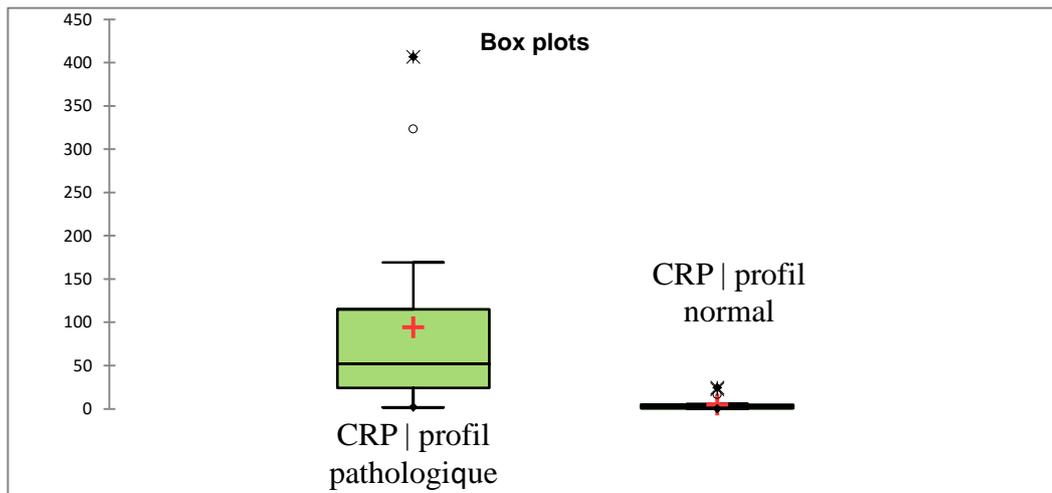


Figure 13 : Box plots montrant les concentrations sériques de la CRP chez les patients présentant un profil inflammatoire pathologique et ceux ayant un profil normal.

Les concentrations sériques de la CRP sont plus élevées chez les patients présentant un profil inflammatoire pathologique (moyenne : 89.98 ; max : 406.43 ; min : 1.68) par rapport aux patients ayant un profil normal (moyenne 3.21 ; max : 22.43 ; min : 0.09). Une augmentation du taux de la CRP est observée chez deux patients présentant une allure normale.

L'analyse statistique analytique utilisant le test de Mann-Whitney U a été réalisé afin de confirmer la présence d'une différence significative entre les deux profils. Ce test a révélé une p value inférieure à 0.05 ($p\text{-value}=1.37\text{e-}6$), ce qui signifie que l'hypothèse $H_0: m_1 = m_2$ est rejetée exprimant ainsi une différence significative entre les valeurs de la CRP chez les patients présentant un profil pathologique et les patients présentant avec un profil normal.

2.2.3.2. Le fer

Les concentrations sériques du fer sont plus basses chez les patients ayant un profil pathologique (moyenne : 43,39 ; max : 119,17 ; min : 19,92) par rapport aux patients présentant un profil normal (moyenne : 92,9 ; max : 156,17 ; min : 57,82).

Le test de student a révélé une p-value inférieure à 0.05 ($p\text{-value} < 0.0001$), ce qui signifie que l'hypothèse H_0 est rejetée, exprimant ainsi une différence significative entre les valeurs du fer chez les patients ayant un profil pathologique et ceux ayant un profil normal (figure 14).

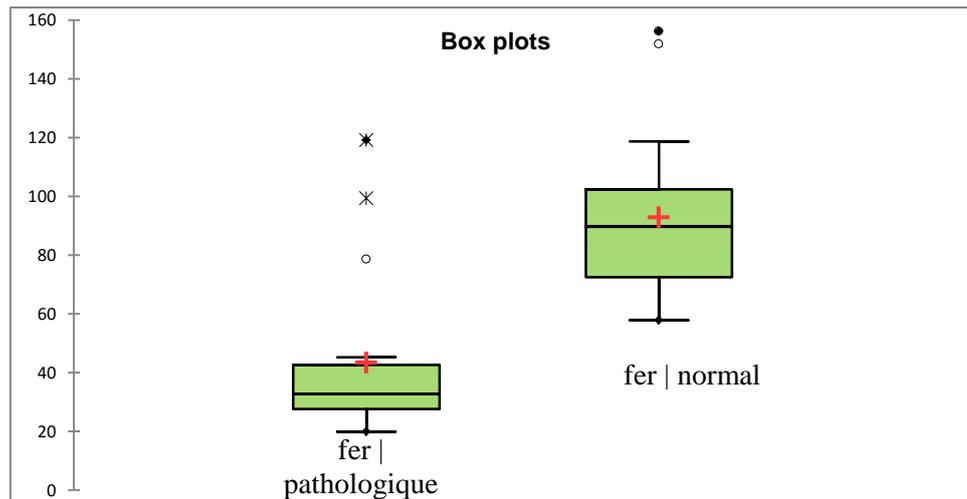


Figure 14 : Box plots montrant les concentrations sériques du fer chez les patients ayant un profil pathologique et ceux présentant un profil normal.

2.2.2.4. Albumine

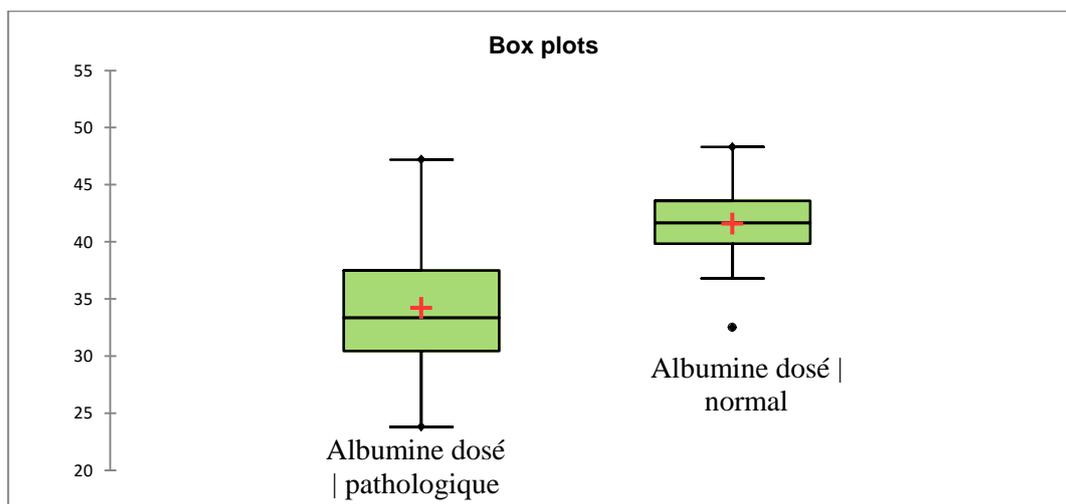


Figure 15 : Box plots montrant les concentrations de l'albumine dosé par le Cobas chez les patients ayant un profil pathologique et les patients ayant un profil normal.

Les concentrations en albumine dosée par le Cobas chez les patients ayant un profil pathologique sont plus basses (moyenne : 34.2 ; max : 47.2 ; min 23.8) par rapport aux patients présentant un profil normal (moyenne 41.57 ; max : 48.3 ; min 32.5).

Le test de student a révélé une p-value inférieure à 0.05 (p-value<0.0001), ce qui signifie que l'hypothèse H_0 est rejetée, exprimant ainsi une différence significative entre les concentrations d'albumine dosé par le Cobas chez les patients présentant un profil pathologique et les patients ayant un profil normal.

2.2.2.5. Taux de protides

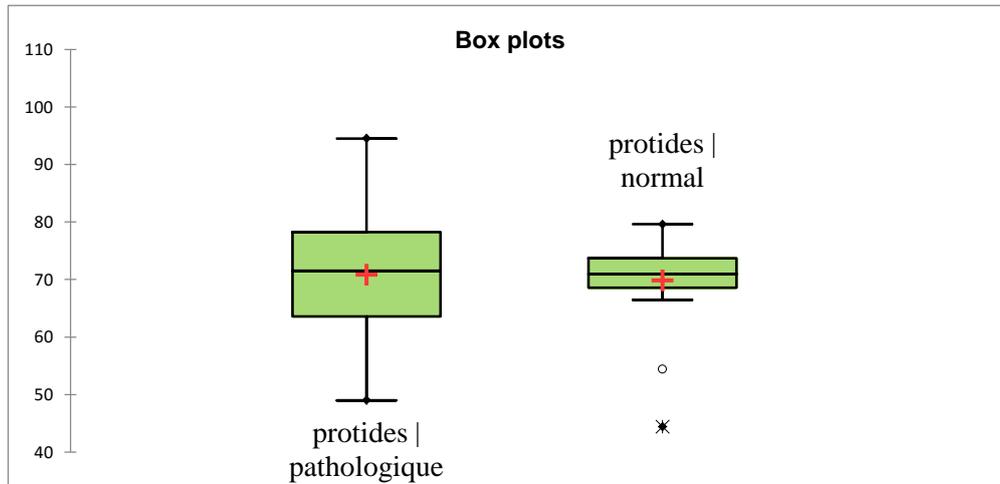


Figure 16 : Box plots montrant les taux de protides chez les patients ayant un profil pathologique et les ceux présentant un profil normal.

La figure 16 montre une légère différence entre le taux de protides chez les patients ayant un profil pathologique (moyenne : 70.82 ; max : 94.5 ; min : 49) et les patients présentant un profil normal (moyenne : 69.83 ; max : 79.6 ; min : 44.4).

Le test de student a révélé une p-value supérieure à 0.05 ($p=0.16$), ce qui signifie que l'hypothèse H_0 est acceptée exprimant ainsi une différence non significative entre les deux profils.

2.2.2.6. Haptoglobine

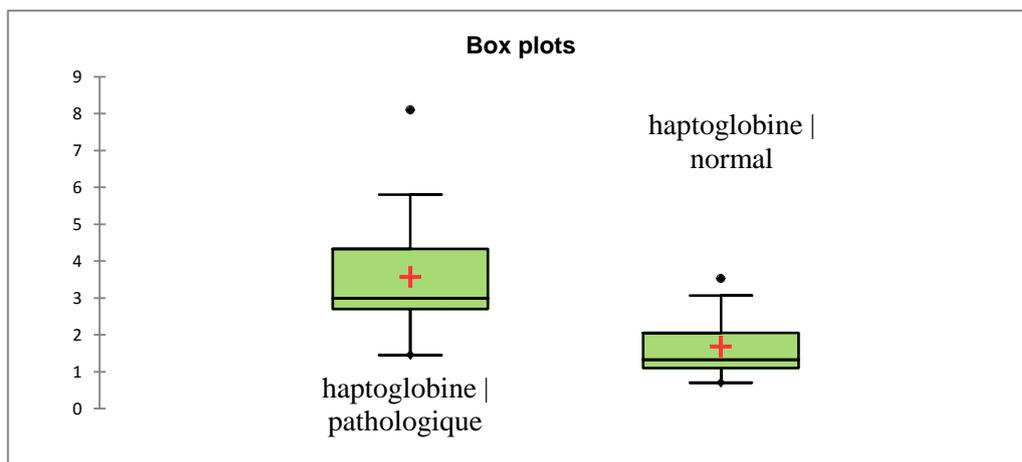


Figure 17 : Box plots montrant les concentrations sériques en haptoglobine chez les patients présentant un profil pathologique et ceux ayant un profil normal.

Les concentrations en haptoglobine sont plus élevées chez les patients présentant un profil pathologique (moyenne : 3.56; max : 8.09; min : 1.45) par rapport aux patients ayant un profil

normal (moyenne : 1.67; max : 3.52 ; min : 0.7). Ces observations ont été confirmées par le test de Mann Whitney U, qui a révélé une p-value inférieure à 0.05 ($p < 0.0001$), ce qui signifie que l'hypothèse H_0 est rejetée exprimant ainsi une différence significative entre les deux patients.

2.2.2.7. La fraction C4

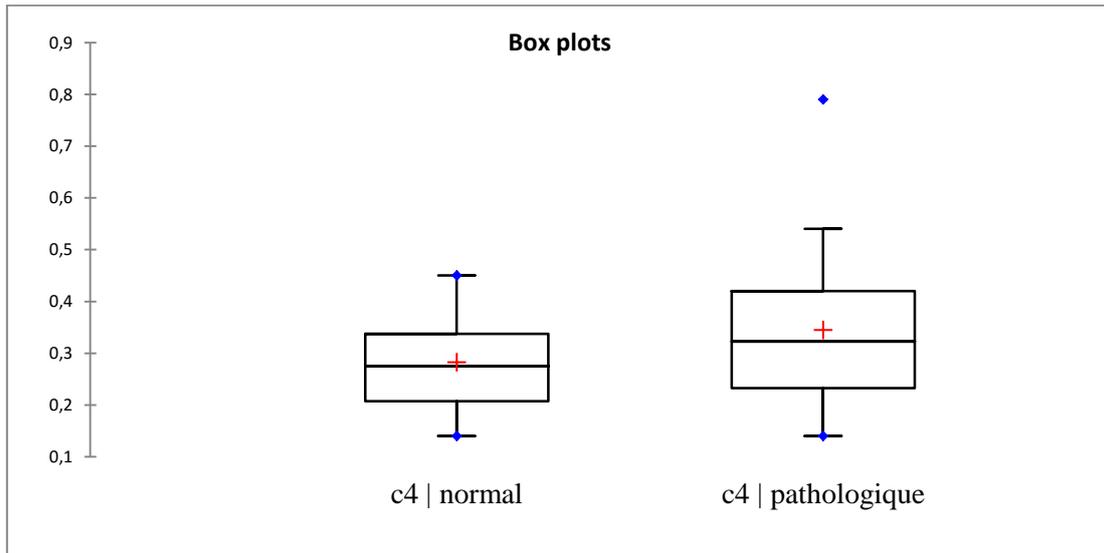


Figure 18 : Box plots montrant les concentrations de la fraction C4 chez les patients présentant un profil pathologique et les patients ayant un profil normal.

Les concentrations sériques de la fraction C4 sont légèrement élevées chez les patients présentant un profil pathologique (moyenne : 0.35 ; max : 0.79 ; min : 0.14) par rapport aux patients ayant un profil normal.

Le test de student a révélé une p-value supérieure à 0.05 ($p=0.16$), ce qui signifie que l'hypothèse H_0 est acceptée, exprimant ainsi une différence non significative entre les deux profils.

2.2.2.8. Les différentes fractions protéiques

• Albumine calculée par le Capillarys

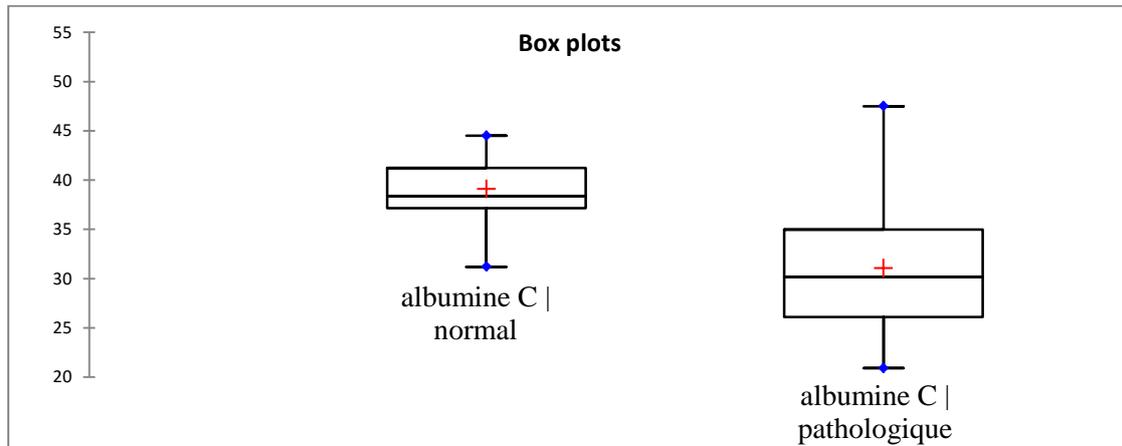


Figure 19 : Box plots montrant les concentrations d’albumine calculée par le Capillarys chez les patients présentant un profil normal et ceux ayant un profil pathologique.

L’albumine est une protéine de grande taille (environ 69 kDa), elle est la plus abondante des protéines du sérum et elle représente 55,8 à 66,1 % soit 40,2 à 47,6 g/l. Nous avons constaté que les concentrations d’albumine estimée par le Capillarys sont très basses chez les patients présentant un profil pathologique par rapport à ceux ayant un profil normal

• Les globulines

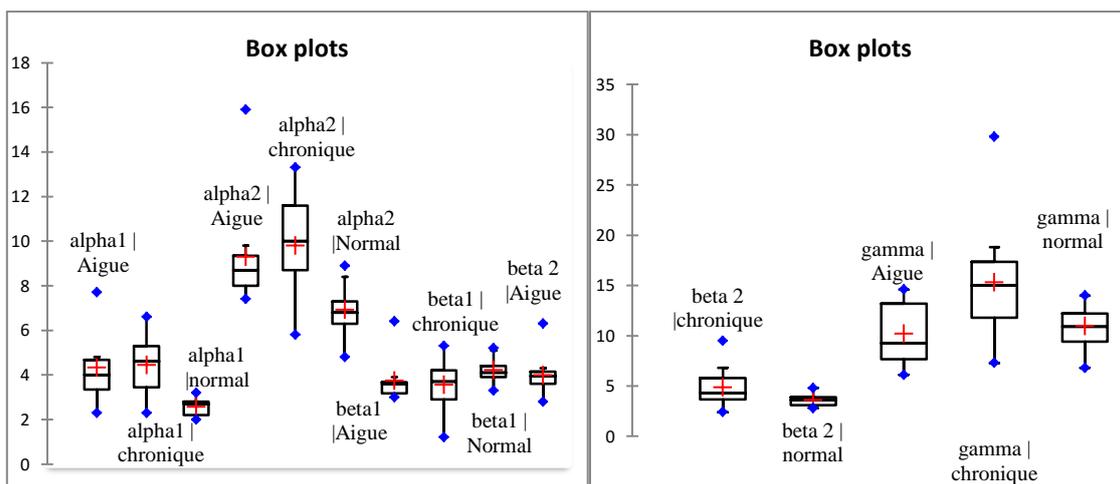


Figure 20 : Box plots montrant les concentrations des fractions alpha, beta et gamma globulines chez les patients ayant un profil en faveur d’une réaction inflammatoire aigue et chronique et ceux ayant un profil normal.

La fraction α_1 globuline est une fraction très hétérogène présentant des rôles biologiques variables. Ces protéines sont principalement l'orosomucoïde, l'alpha 1 antitrypsine et l'alpha 1 antichymotrypsine. Cette fraction représente 2,9 à 4,9 % des protéines sériques totales soit 2,1 à 3,5 g/l. L'électrophorèse capillaire a révélé une augmentation de la concentration de la fraction α_1 globuline et cela pour tous les patients présentant un profil en faveur d'une réaction inflammatoire qu'elle soit aiguë ou chronique (figure 20).

La fraction α_2 globuline est elle aussi composée d'un mélange hétérogène de protéines, dont les principales sont l'haptoglobine, la céruléoplasmine et l'alpha 2 macroglobuline. Cette fraction représente 7,1 à 11,8 % des protéines sériques totales soit 5,1 à 7,5 g/l. tous les patients ayant un profil en faveur d'une réaction inflammatoire aiguë et chronique présentent des concentrations élevées en cette fraction (figure 20).

La fraction β_1 globuline est composée principalement de la transferrine et l'hémopexine, elle représente 4,7 à 7,2 % des protéines totales soit une concentration de 3,4 à 5,2 g/l. Nous avons constaté une diminution de cette fraction chez tous les patients présentant un profil pathologique inflammatoire aiguë et chronique (figure 20).

La fraction β_2 globuline est constituée principalement de la fraction C3 du complément et la CRP. Elle représente 3,2 à 6,5 % du total des protéines sériques soit une concentration de 2,3 à 4,7 g/l. Une augmentation de la concentration de cette fraction est observée chez les patients ayant un profil inflammatoire aiguë et chronique (figure 20).

La fraction gamma est composée essentiellement des différentes immunoglobulines. Elle représente 11,1 à 18,8 % des protéines sériques totales soit une concentration de 8 à 13,5 g/l. nous avons constaté que les patients ayant un profil en faveur d'une réaction inflammatoire chronique présentent des concentrations élevées en gamma globulines, tandis que les patients présentant un profil en faveur d'une réaction inflammatoire aiguë et ceux ayant un profil normal présentent des concentrations normales en cette fraction (figure 20).

2.2.4. Etude de la corrélation

2.2.4.1. La corrélation entre l'albumine dosée et l'albumine calculée

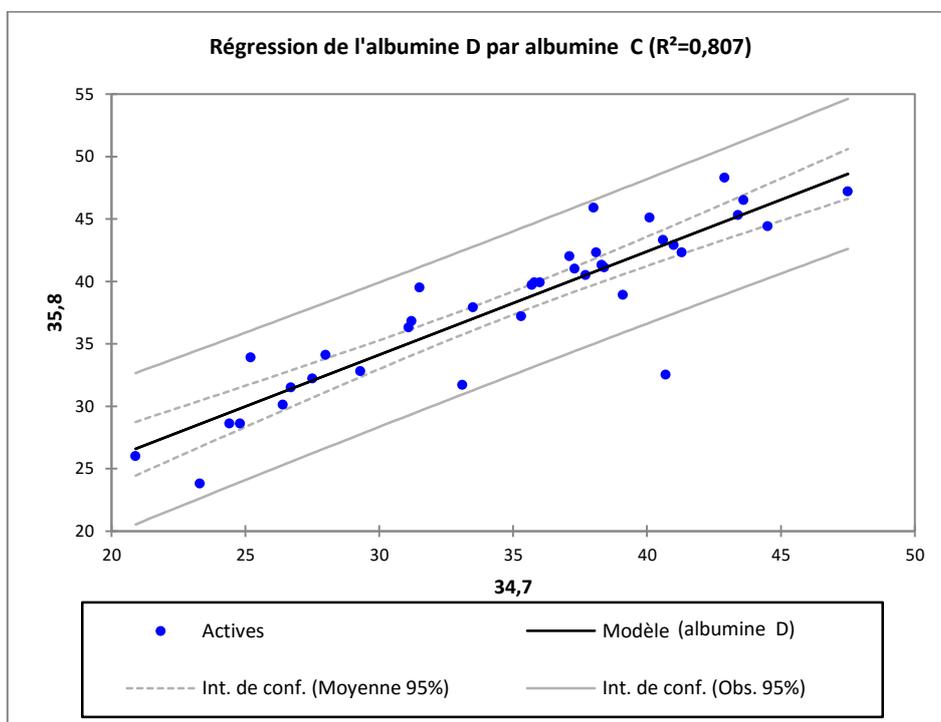


Figure 21 : Comparaison entre les valeurs de l'albumine dosées par le Cobas et celles trouvées en électrophorèse capillaire.

D'après la figure 21, nous constatons qu'il y a une bonne corrélation ($R^2=0,8$; $P<0.0001$) entre le taux d'albuminémie dosés par l'automate COBAS INTEGRA et les taux d'albuminémie estimés par l'électrophorèse capillaire.

2.2.4.2. Etude de la corrélation entre les fractions du profil électrophorétique et les marqueurs dosés

Les résultats de l'ACP sont donnés sous forme de graphes: un graphe de variables et un graphe d'individus. Le graphe des variables est donné par le cercle des corrélations, il permet de voir quelles variables sont expliquées par les axes factoriels. Le graphe des individus est lu simultanément avec celui des variables, il permet de déduire l'individu qui donne la meilleure valeur de la variable considérée dans la lecture.

Le nombre d'axes factoriels à retenir est celui qui permet de restituer une variance maximale (en général > 75%). Les 2 axes factoriels ont restitué une variance de (39,76 + 21,35 = 61,11), à cet effet un recours à un troisième axe factoriel est de vigueur. Les résultats obtenus en termes de projections de variables et d'individus sur les trois axes factoriels sont donnés dans l'annexe 2.

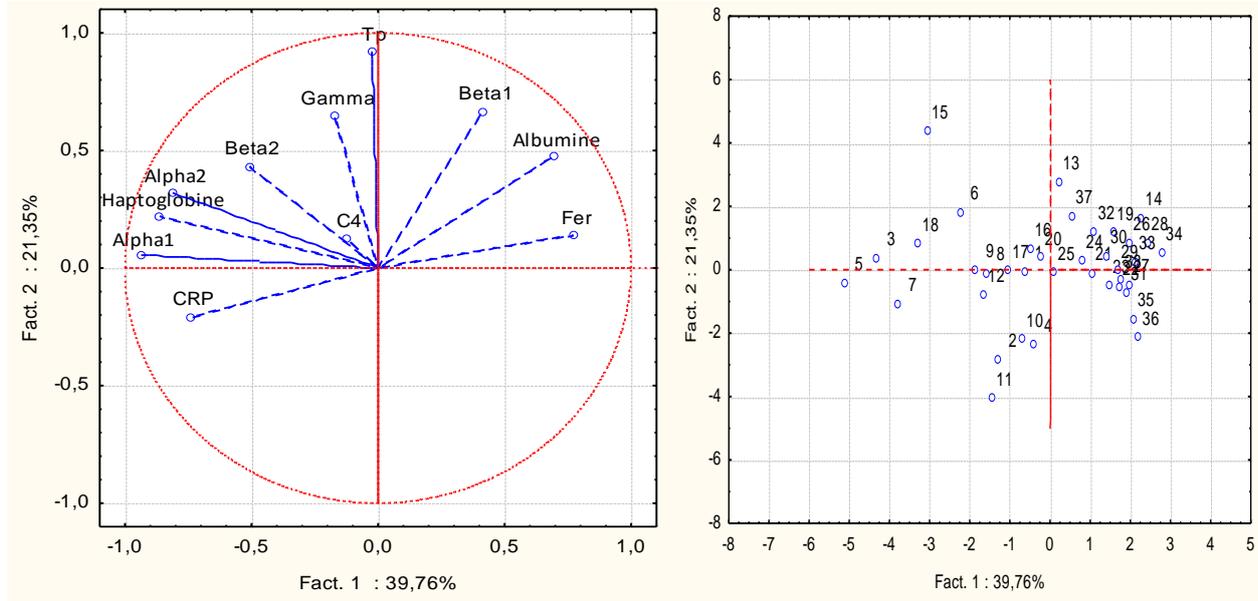


Figure 21 : Cercle de corrélation entre les fractions protéiques et les marqueurs dosés.

• Projection sur les axes factoriels 1 et 2

Tableau III : Projection des variables sur les axes factoriels 1 et 2

Sens négatif de l'axe (-)	Sens positif de l'axe (+)
Alpha1, Alpha2, CRP et Haptoglobine	Albumine, fer, beta 1

Tableau IV : Projection des individus sur les axes factoriels 1 et 2

Sens négatif de l'axe (-)	Sens positif de l'axe (+)
5, 3, 7 et 18	34, 28 et 33

Les résultats montrent une corrélation positive entre deux groupes de variable : l'albumine, le fer et la fraction beta 1 (Groupe1) ; Alpha1, Alpha 2, CRP et Haptoglobine (Groupe 2).

Cependant, nous constatons qu'une augmentation des fractions alpha 1 et alpha 2 en électrophorèse capillaire est liée à une augmentation de la CRP et de l'haptoglobine dosées par immunoturbidimétrie.

Par ailleurs, ces deux groupes sont corrélés négativement, ceci explique que l'augmentation de la CRP, Alpha1, alpha 2 et haptoglobine est accompagnée par une diminution de l'albumine, du fer et de la fraction beta 1. D'autre part, les stations 34, 28 et 33 (patients ayant un profil normal) sont bien représentées par les variables du Groupe 1. En revanche, les individus 5, 3, 7 et 18 (patients ayant un profil pathologique) ont des taux élevés des variables du Groupe 2.

2.2.5. Discussion générale

Le syndrome inflammatoire peut toucher les deux sexes et toutes les tranches d'âge. Dans notre étude, nous avons observé une prédominance féminine avec un sexe-ratio de 0,6. L'augmentation de l'incidence chez les femmes semble être due à des différences physiologiques, notamment hormonales, en effet, les œstrogènes chez femme semblent augmenter la sécrétion de cytokines proinflammatoires et la testostérone à taux élevé chez l'homme favorisent la voie anti-inflammatoire (TINTORE et ARRAMBIDE, 2009; BAKHRU et SU, 2016). La tranche d'âge la plus touchée est la tranche comprise entre 30 et 50 ans, ceci corrobore ce qui a été rapporté par AZOUNI-RAJHI en 2015 dans son étude sur la sclérose en plaques, cet auteur suggère que cette maladie touche l'adulte jeune entre 20 et 40 ans. Nos résultats concordent aussi avec ceux obtenus par DOSS-BENNANI dans son étude sur la maladie de Crohn, cet auteur a constaté que la tranche d'âge la plus touchée par la maladie est située entre 20 et 39 ans. L'étude épidémiologique a montré que les pathologies inflammatoires sont multidisciplinaires et les plus fréquentes sont la pathologie inflammatoire du système nerveux, les rhumatismes inflammatoires et les MICI.

D'après les résultats de l'électrophorèse capillaire, nous constatons que la majorité des cas sont au stade de la chronicité, et que presque 50% des profils obtenus sont des profils normaux et sans anomalies majeures, ceci reviendrait à dire que le diagnostic clinique est très vaste et non spécifique, ce qui justifie l'importance du diagnostic biologique.

Le fractionnement des protéines sériques par l'électrophorèse capillaire montre que les patients atteints de pathologies inflammatoires présentent des taux élevés en fractions alpha (1 et 2) et gamma. L'augmentation des α -globulines est constatée chez les patients présentant une inflammation aiguë, mais également chez ceux ayant une inflammation chronique, ceci peut être expliqué par l'augmentation des différentes protéines de l'inflammation (JAIN *et al*, 2011), par ailleurs, l'augmentation des γ -globulines n'est observée que chez les patients présentant une inflammation chronique, ceci est due à une production d'anticorps. Nous avons également constaté chez ces patients une diminution des β 1 et une augmentation des β 2 globulines. La diminution de la fraction β 1 est due à une hyposidérémie d'origine

inflammatoire corrélée positivement avec la diminution du fer. En revanche l'augmentation de la fraction β_2 est due à une augmentation modérée des fractions C3 et C4 dans les hypercomplémentémie d'origine inflammatoire.

En parallèle, le dosage des différents marqueurs inflammatoires par l'automate COBAS INTEGRA a révélé chez les patients présentant un profil pathologique en électrophorèse capillaire une augmentation de certains marqueurs tels que la CRP et l'Hp, celles-ci sont nommées protéines positives, et une diminution de l'albumine, une protéine négative de l'inflammation.

La concentration normale de la CRP est habituellement inférieure à 6 mg/l. Dans notre étude, les patients ayant un profil pathologique ont des valeurs nettement supérieures à cette valeur de référence, ceci reviendrait à dire que nos résultats sont conformes à ce qui a été rapporté dans la littérature, en effet en cas d'inflammation cette protéine augmente dans les 6-9 premières heures, pour atteindre un pic après 24-72 heures (CERBA, 2007; BENEYTOU *et al*, 2011).

Dans notre série, pratiquement tous les patients ayant un profil en faveur d'une réaction inflammatoire présentent des concentrations basses en fer, celles-ci sont inférieures à la concentration sérique normale qui est comprise entre 65 et 180 $\mu\text{g/dl}$. Ceci concorde avec ce qui a été rapporté par CELLI *et al* (2011) et NEMETH et GANZ (2014). Ces auteurs suggèrent que les états inflammatoires induisent la libération de cytokines inflammatoires qui peuvent conduire à une anémie suite à une diminution du fer par synthèse de l'hepcidine, une molécule centrale dans l'homéostasie du fer.

La production d'hepcidine est augmentée dans les situations de séquestration de fer lors d'inflammation et d'infection (VAULONT, 2006). Protéine de réponse précoce par le biais de stimulation hépatique par l'IL6 (ARLET *et al*, 2009), elle pourrait expliquer les modifications de la régulation du métabolisme du fer lors des anémies chroniques inflammatoires avec ferritinémie normale voir augmentée.

Dans les syndromes inflammatoires, le fer provenant de l'hémolyse physiologique est mal recyclé et reste piégé dans le système réticulo-histiocytaire, la concentration de la transferrine plasmatique diminue par exacerbation de son catabolisme, alors que sa biosynthèse est normale voir augmentée (ANDREWS, 2004). Au début l'anémie est normochrome, normocytaire légèrement hyposidérémique puis elle évolue vers une anémie microcytaire et hyposidérémique. La sidérémie et la capacité totale de fixation de la transferrine étant toutes deux abaissées.

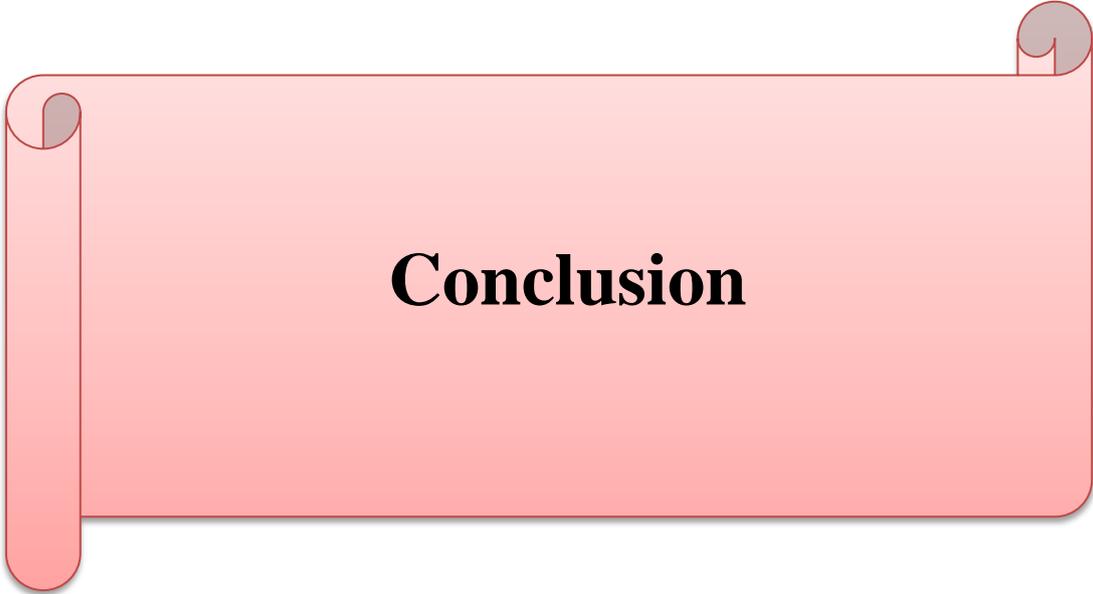
Notre étude montre également que les patients ayant un profil électrophorétique inflammatoire présentent des concentrations élevées en Hp. Selon WANG *et al* (2001) et BENEYTOU *et al* (2011), l'Hp est une protéine majeure de l'inflammation: sa concentration sérique peut être multipliée par un facteur de 2 à 4.

Nous avons également constaté chez ces patients une diminution du taux d'albumine. D'après BACH-NGOHOU *et al* (2005), cette hypoalbuminémie est liée à l'action des cytokines libérées au cours de l'inflammation, il s'agit notamment de l'IL6, IL1 et TNF α qui réorientent la synthèse hépatique de nombreuses protéines, favorisant celles de l'inflammation au détriment de l'albumine (par augmentation de la biodisponibilité des acides aminés pour la synthèse des protéines inflammatoires).

A partir du secteur intravasculaire, l'albumine s'échange avec le compartiment interstitiel, sa distribution dans le secteur extravasculaire est de l'ordre de 60% (BALLMER, 2001). Dans les conditions physiologiques, 5%/heure de l'albumine intravasculaire rejoint le secteur extravasculaire. Ce flux augmente grandement lors des syndromes inflammatoires notamment sous l'influence des cytokines proinflammatoires (ISO-O et al, 1998) et participe à l'hypoalbuminémie.

L'analyse des composante principale montre qu'il existe une forte corrélation positive et /ou négative entre les concentrations de la plupart des marqueurs de l'inflammation et les tracés électrophorétiques.

Les résultats obtenus lors de cette étude concordent avec les résultats obtenus par LE CARRER et BACH-NGOHOU, (2004). Ces auteurs ont démontré la présence d'une très bonne corrélation entre certaines valeurs des fractions de l'électrophorèse et les dosages néphélométrique de différentes protéines correspondantes. Ils ont également observés une corrélation significative entre l'albuminémie estimée par l'électrophorèse capillaire et dosée par néphélométrie.



Conclusion

Conclusion

Le diagnostic des syndromes inflammatoires nécessite des investigations souvent longues, coûteuses et généralement répétées. Un moyen de réduire le cheminement diagnostique serait de disposer de tests d'orientation destinés à mieux sélectionner les procédures diagnostiques décisives. Nous avons testé l'intérêt du profil protéique dans une telle indication au cours de notre étude conduite depuis février 2017 chez 85 patients, orientés pour un syndrome inflammatoire défini par une vitesse de sédimentation et d'un hémogramme dans certains cas. Nous avons essayé de préciser dans cette étude l'intérêt de l'association des marqueurs spécifiques de l'inflammation à l'électrophorèse des protéines sériques.

L'électrophorèse capillaire des protéines sériques est un examen de biologie médicale qui a pour but la séparation et l'analyse des protéines sériques. Elle permet la séparation de six fractions de protéines : albumine, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ -globulines. La quantification est possible à partir du dosage des protéines totales et de la détermination des pourcentages des fractions protéiques, elle peut confirmer le syndrome inflammatoire en cas d'augmentation des fractions α_1 et α_2 ainsi que les fractions β , mais elle peut être en défaut et être tout à fait normale lorsque le syndrome inflammatoire est très précoce.

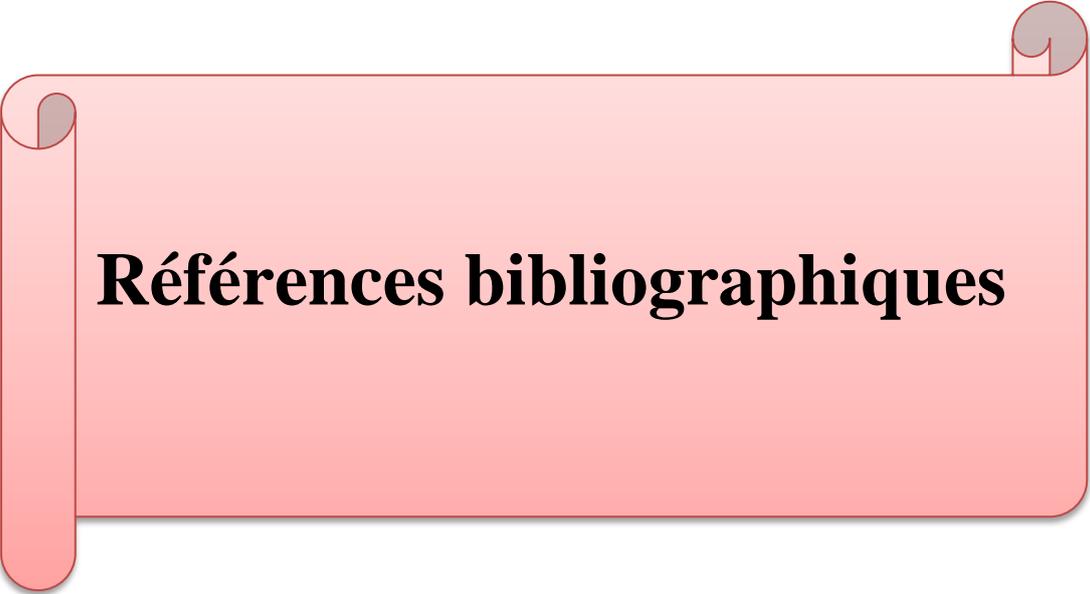
Le profil protéique ciblé dans notre étude est le dosage de la CRP, l'haptoglobine, l'albumine et la fraction C4 du complément, l'élévation des taux sériques de ces marqueurs confirme l'existence d'un syndrome inflammatoire, la CRP augmentée s'accompagne d'une élévation du taux d'haptoglobine et du taux de C4. L'haptoglobine a une migration α_2 et explique les hyper- α_2 -globulinémies que l'on peut observer au cours des syndromes inflammatoires. La CRP a une migration β - γ mais son taux reste trop faible pour modifier le tracé électrophorétique. Les composants du complément, notamment le C4, ont une migration β à l'électrophorèse des protéines et peuvent expliquer parfois une tendance à l'hyper- β -globulinémie. Le dosage du fer réalisé au cours de notre étude montre des hyposidérémies expliquées par la baisse de la fraction β où il y a migration de la transferrine, protéine responsable du transport du fer. La principale protéine négative de l'inflammation est l'albumine dont la diminution de la synthèse est associée à l'augmentation des protéines de l'inflammation.

Il semble désormais qu'il existe une forte corrélation positive et /ou négative entre les concentrations de la plupart des marqueurs de l'inflammation et les tracés du protéinogramme.

Enfin, les résultats obtenus dans cette présente étude ont montré d'une part que le dosage de la CRP représente un marqueur biologique fiable dès le stade précoce d'une réaction

inflammatoire pour cela on demande une électrophorèse des protéines sérique afin d'obtenir un diagnostic étiologique et évolutif, et d'une autre part le dosage de l'haptoglobine n'est pas d'un grand intérêt. Le dosage de l'albumine semble également être inutile puisque l'électrophorèse des protéines sérique permet de définir la fraction albumine. Les taux de C3 et C4 sont fréquemment élevés lors de la réponse inflammatoire. Ils sont considérés comme des dosages fonctionnels utiles à l'exploration de l'immunité innée, en dehors de la réponse inflammatoire.

Le mécanisme inflammatoire met en jeu des phénomènes complexes au cours desquels les concentrations de protéines inflammatoires évoluent rapidement. Il convient de signaler qu'il est le plus souvent inutile de mesurer l'ensemble des paramètres suscités. En revanche, aucun d'entre eux n'étant totalement spécifique de l'étiologie de l'inflammation, il peut être utile dans certaines situations d'en mesurer deux, voire trois. L'électrophorèse des protéines sériques reste le paramètre le plus adapté au diagnostic et au suivi des affections inflammatoires et un indicateur important de l'activité de la maladie et de l'efficacité du traitement.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ABRAHAM C. et CHO J. H.** (2009). Inflammatory bowel disease. The New England Journal of Medicine, 361(21):2066-2078.
- ANDREWS N. C.** (2004). Anemia of inflammation: the cytokine hepcidin-link. The Journal of Clinical Investigation, 113(9):1251-1253.
- ARBUSTINI E., NARULA N. et D'ARMANI A. M.** (2013). Fibrinogen A Circulating Factor in Search of Its Genetic Architecture. Circulation AHA, 128 :1276-1280.
- ARLET J. B., HERMINE O., DARNIGE L., BADOUAL C., POUCHOT J. et CAPRON L.** (2009). Un nouveau mécanisme de l'anémie inflammatoire : la voie interleukine 6/hepcidine. La Revue de Médecine interne, 20(S4):S323-S384.
- AYMERIC J. L. et LEFRANC G.** (2009). Immunologie humaine. De Boeck supérieur. Bruxelles, Belgique.
- AZOUNI-RAJHI M.** (2015). LA SCLEROSE EN PLAQUES : PHYSIOPATHOLOGIE, THERAPEUTIQUES ACTUELLES ET FUTURES. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université JOSEPH FOURIER, Grenoble.
- BACH-NGOHO K., SHMITT S., LE CARRER D., MASSON D. et DENIS M.** (2005). Les dysalbuminémies. Annales de Biologie Clinique, 63(2):127-134.
- BAKHURU P. et SU M. A.** (2016). Estrogen turns down “the AIRE”. The Journal of Clinical Investigation, 126(4):1239-1241.
- BALLMER P. E.** (2001). Causes and mechanisms of hypoalbuminaemia. Clinical Nutrition, 20(3):271-273.
- BASCHANT U. et TUCKERMAN J.** (2010). The role of the glucocorticoid receptor in inflammation and immunity. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 120(2-3):69-75.
- BATTEUX F., CHEREAU C. et WEILL B.** (2003). Réaction inflammatoire, conduite à tenir : Aspects biologiques et cliniques ; in <<Immunopathologie et Réactions Inflammatoires>>ed. De Boeck supérieur, 1^{ère} éd, Bruxelles, Belgique.

BECKER K. L., SNIDER R. et NYLENE S. (2010). Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation : A harmful biomarker and a therapeutic target. *British Journal of Pharmacology*, 159:253-264.

BENEYTOU J. L., SALLE P. V. et LIAGRE B. (2011). Les marqueurs biochimiques de l'inflammation ; in <<Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives>>, Lavoisier, Paris, 99-112.

BERTINI I., LALLI D., MANGANI S., POZZI C., ROSA C., THEIL E.C. et TURANO P. (2012). Structural insights into the ferroxidase site of ferritins from higher eukaryotes. *Journal of The American Chemical Society*, 134(14) : 6169-6176.

CERBA P. (2007). Guide d'analyses spécialisées. Elsevier, 5^{ème} éd, ISBN 978242998370.

CHANDRASHEKARA S. (2014). C-Reactive Protein : An inflammatory marker with specific role in physiology, pathology, and diagnosis. *Internet Journal of Rheumatology and Clinical Immunology*, 2(S1):SR3.

CHATENOUD L. (2012). Immunité innée et immunité adaptative ; in <<Immunologie >>, 6^{ème} éd, Lavoisier, Paris, 17-54.

CHEN X., KANG X. et FANG S. (2014). Alpha-2-macroglobin as a radioprotective agent : a review. *Chinese Journal of Cancer Research*, 26(5) :661-621.

CELLI J., RENY J. L., PERRIER A. et SAMI K. (2011). Anémie ferriprive, inflammatoire ou mixte : comment orienter le diagnostic ?. *Revue Médicale Suisse*, 7:2018-2023.

DAVALOS D. et AKASSOGLU K. (2012). Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol*, 34:43-62.

DELNESTE Y., BEAUVILLAIN C. et JEANNIN P. (2007). Immunité naturelle : structure et fonction des Toll-Like Receptors. *Medecine sciences*, 23(1):67-74.

DOSS-BENNANI D. (2016). LES FORMES CHIRURGICALES DE LA MALADIE DE CROHN. Doctorat en Médecine. Université SI MOHAMED BEN ABDELAH, MAROC.

DUPAY A. M., TERRIER N., SENECA L., MORENA M., LERAY H., CANAUD B. et CRISTOL J. P. (2003). La CRP est-elle plus qu'un marqueur de l'inflammation. *Néphrologie*, 7(24):337-341.

ERLINGER S. et CHAZOILLERES O. (2013). Cirrhose biliaire primitive. *Hépatogastro et Oncologie Digestive*, 20(6) :433-440.

GALACIA G. et CEUPPENS J. L. (2011). Haptoglobin Function and Regulation in Autoimmune diseases. *Acute Phase Proteins-Regulation and Functions of Acute Phase Proteins*, 229-246.

GANZALEZ-GALLEGO J., GARCIA-MEDIAVILLA M. V., SANCHEZ-COMPOS S. et TUNON M. J. (2010). Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*, 104: S15–S27.

GERHAD W. (2014). LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DE L'ADULTE: STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES ET CONCEPT DU PATIENT-EXPERT. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université De LORRAINE, France.

GOODRUM K.J. (2005). Innate Immunity (part 1) BIOS 486A/586A. Disponible sur: <http://slideplayer.com/slide/3252576>.

HERTER J. et ZARBOCK A. (2013). Integrin Regulation during Leukocyte Recruitment. *The Journal of Immunology*, 190(9) :4451-4457.

HEYMONET C. (2013). Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université De LORRAINE, France.

HOCHEPIED T., BERGER F. G., BAUMANN H. et LIBERT C. (2003). α 1-Acid Glycoprotein : an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 14:25-34.

ISO-O N., HASHIMOTO N., TANAKA A., SUNAGA S., OKA T., KUROKAWA K. et WATANABE T. (1998). Case Report: Cytokine-Induced Hypoalbuminemia in a Patient with Hemophagocytic Syndrome (Direct in Vitro Evidence for the Role of Tumor Necrosis Factor- α). *Digestive Diseases and Sciences*, 43(1):67-73.

JAIN S., GAUTAM V. et NASEEM S. (2011). Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(1):118-127.

- KELL D.B. et PRETORIUS E.** (2014). Serum ferritin is an important inflammatory disease marker, as it is mainly a leakage product from damage cells. *The Royal Society of Chemistry. Metallomics*, 6 :748-773.
- LABAT L., DEVEAUX M. et DUBQST J. P.** (2000). Applications de l'électrophorèse capillaire en toxicologie clinique et médico-légale. *Annales de Toxicologie Analytique*, 12(3):179-195.
- LE CARRER D. et BACH-NGOHOU K.** (2004). L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. *Spectra Biologie*, 146:47-52.
- LEY K.** (2003). The role of selectins in inflammation and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 9(6) :263-268.
- LINDER M.C.** (2016). Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their function : an update. *Metallomics*, 8:887-905.
- LUO Z., LEI H., SUN Y. et LIU X.** (2015). Orosomucoid, an acute response protein with multiple modulating activities. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 71(2):329-340.
- LUSSIER B. et WILSON A.** (2016). Alpha-1 Antitrypsin: The Protein. *Alpha-1 Antitrypsin-Role in Health and Disease*, 17-30.
- MACGLASHAN D.** (2003). Histamine : A mediator of inflammation. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 112(4) :53-59.
- MAHAJAN R. D., MISHRA B. et SINGLA P.** (2011). CERULOPLASMIN-AN UPDATE. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Articles*, 9(2):116-119.
- MARKIEWSKI M. M. et LAMBRIS J.D.** (2007). The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. *The American Journal of Pathology*, 171(3) :715-727.
- MOREL J. et COMBE B.** (2004). Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. *La Lettre du Rhumatologue*, 306:19-26.
- MOURA I. C., HERMINE O., LACOMBE C. et MAYEUX P.** (2015). Erythropoiesis and Transferrin Receptors. *Current Opinion in Hematology*, 22(3):193-198.
- NATHAN C.** (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917):846-852.

NEMETH E. et GANZ T. (2014). Anemia of inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 28(4):671-681.

NIELSEN M.J., FOLSTED ANDERSEN C.B. et MOESTTRUP S.K. (2013). CD163 Binding to Haptoglobin-Hemoglobin complexes Involves a Dual-Point Electrostatic Receptor-Ligand Pairing. *The Journal of Biological chemistry*, 288(6):834-841.

NUHRICH A. (2015). ANTI-INFLAMMATOIRES NON STERODIENS. UFR Des Sciences Pharmaceutiques. Université de BORDEAUX.

ORTEGA-GOMEZ A., PERRETI M. et SOEHNLEIN O. (2013). Résolution of inflammation : an integrated view. *EMBO Molecular Medicine*, 5(5) :661-674.

PHAM T. (2008). Physiopathologie de la spondylarthrite ankylosante, *Actualités. Revue du Rhumatisme*, 75 :925-930.

POITOU C., DIVOUX A. et CLEMENT K. (2008). La sérum amyloïde A : une apolipoprotéine majeure de l'inflammation. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 20(7): 362-368.

PUNDIR P. et KULKA M. (2012). Complement Receptors in Inflammation. *Inflammation, Chronic Diseases and Cancer-Cell and Molecular Biology, Immunology and Clinical Bases*, 162-204.

QUAYE I.S. (2008). Haptoglobin, inflammation and disease. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102:735-742.

RAMAMOORTY R. D., NALLASAMY V. et MARUTHAPPAN Y. (2012). A review of C-reactive protein: A diagnostic indicator in periodontal medicine. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(2):442-426.

RHEE C. (2016). Using Procalcitonin to Guide Antibiotic Therapy. *Open Forum Infections Diseases*, 4(1).

REHMAN A. A., AHSAN H. et KHAN F. H. (2012). Alpha-2-Macroglobin: A Physiological Guardian. *Journal of Cellular Physiology*, 1665-1675.

ROSAIN J., NGO S., BORDEREAU P., POULAIN N., RONCELIN S., MARTINS P. V., DRAGON-DURAY M. A. et FREMEAUX-BACCHI V. (2014). Déficiences en protéines du complément et pathologies humaines. *Annales de Biologie Clinique*, 72(3) : 271-280.

SANTANGELO C., VARI R., SCAZZOCCHIO B., DI BENEDETTO R., FILESI C. et MASELLA R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 43(4):394-405.

SHWARTZ K. (2011). *INFLAMMATION ET MALADIES : Clés de compréhension.*

SONG Y. W. et KANG E. H. (2010). Autoantibodies in rheumatoid arthritis : rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. *An International Journal of Medecine*, 103(2) :139-146.

TAGUCHI K., NISHI K., CHUANG T.G., MARYAMA T. et OTAGIRI M. (2013). Molecular Aspects of Human Alpha-1- Acid Glycoprotein-structure and function. *Acute Phase Proteins*, Intech, 139-162.

TINTORE M. et ARRAMBIDE G. (2009). Early onset multiple sclerosis: The role of gender. *Journal Of The Neurological Sciences*, 286:31-34.

TOURISSOT E. (2011). Quel bilan immunologique demander devant un rhumatisme inflammatoire débutant ?. *Médecine thérapeutique*, 17(1):51-59.

TRAN L., FERLAND C. et ANG A. (2016). Utilisation de la procalcitonine pour le diagnostic et le suivi du traitement des infections respiratoires et du sepsis au centre hospitalier de l'université de Montréal. *Pharmactuel*, 49(2):95-100.

VANUYTSEL T., VERMEIRE S. et CLEYNEN I. (2013). The role of Haptoglobin and its related protein, Zonulin in inflammatory bowel disease. *Tissue Barriers*, 1(5), e27321.

VAULONT S. (2006). L'HEPCIDINE, LA GRANDE DAME DU FER. *FLAMMARION MÉDECINE-SCIENCES — ACTUALITÉS NÉPHROLOGIQUES*, 224-227.

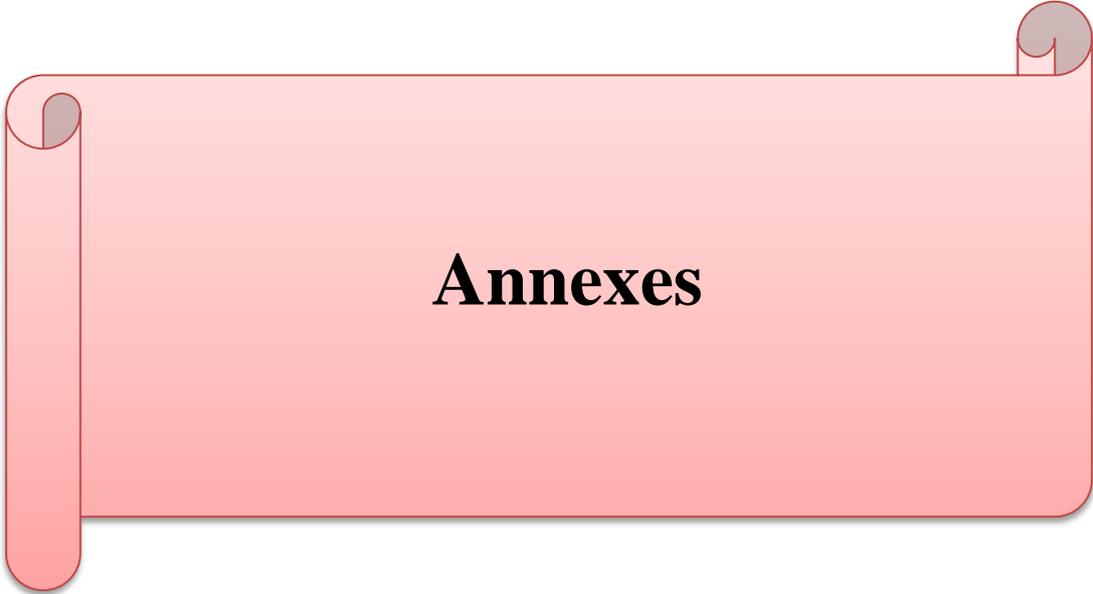
WANG Y., KINZIE E., BERGER F.G., LIM S.K. et BAUMANN H. (2001). Haptoglobin, an inflammation-inducible plasma protein. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 6(6):379-385.

WOLFF M. et JULLY-GUILLOU M. L. (2011). La procalcitonine (PCT) : un outil diagnostique et de stratégie thérapeutique. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 434:39-43.

WONG S. G. et DESSEN A. (2014). Structure of a bacterial α 2-macroglobin reveals mimicry of eukaryotic innate immunity. *Nature Communications*, 5:4917.

YOON J. H. et BAEK S. J. (2005). Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. *Yonsei Medical Journal*, 46(5):585-596.

ZERBATO M. (2010). Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université HENRI POINCARÉ-NANCY 1, Faculté de Pharmacie, France.



Annexes

Annexes

Annexe 1 : Composition des différents réactifs utilisés

1. Composition de la cassette COBAS INTEGRA C-Reactive Protein (Latex) (CRPLX)

R1 : Tampon TRIS avec sérumalbumine bovine et immunoglobulines (de souris) stabilisé par de l'azide de sodium (0,09%) (Liquide).

R2 : SR Particules de latex recouvertes d'anticorps (de souris) anti-CRP dans un tampon glycine stabilisé avec de l'azide de sodium (0,09%) (Liquide).

2. Composition de la cassette COBAS INTEGRA Iron Gen.2 (IRON2)

R1 : acide citrique

Thio-urée

R2 : Ascorbate de sodium

FerroZine

Le réactif R1 un tensioactif non réactif et le réactif R2 contient un conservateur.

3. Composition de la cassette COBAS INTEGRA Tina-quant Complement C4 ver.2 (C4-2)

R1 : Tampon TRIS : 100 mmol/l, pH 8,0 ; PEG : 3,0% ; conservateur, flacon B (liquide).

R2 : Anticorps de chèvre anti-C4 humain : dépend du titre de l'antisérum ; tampon TRIS : 33 mmol/l ; conservateur, flacon C (liquide).

4. Composition de la cassette COBAS INTEGRA Tina-quant Haptoglobin ver.2 (HAPT2)

R1 : Tampon phosphate : 12,7 mmol/l, pH 7,2 ; NaCl : 130 mmol/l ; PEG : 40 g/l ; conservateur (liquide).

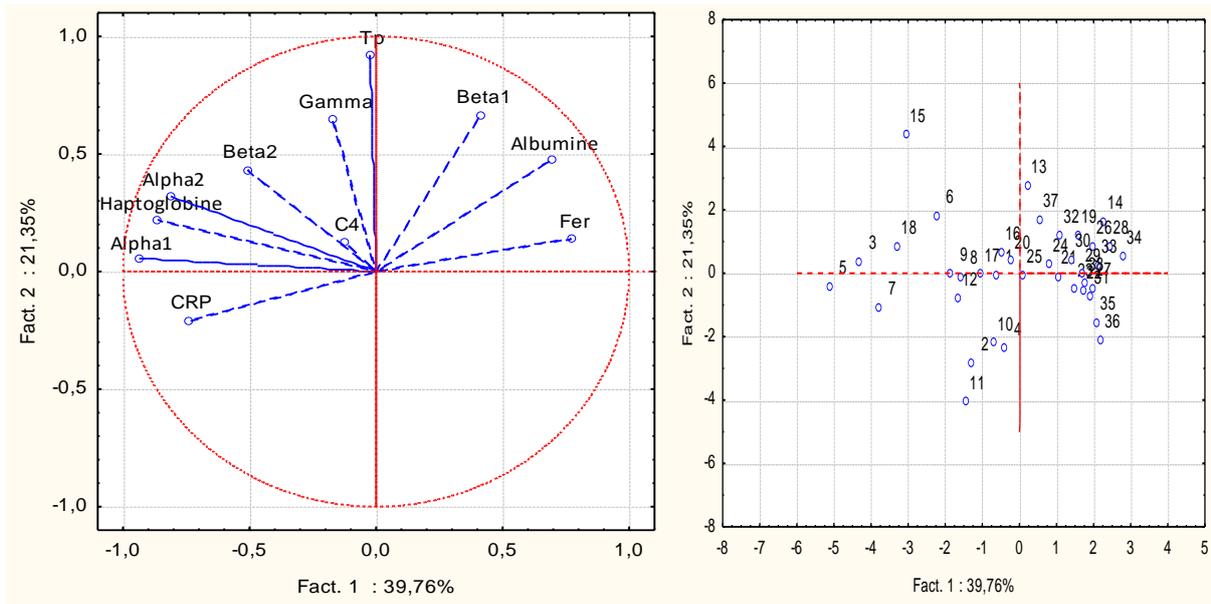
R2 : SR anticorps (de lapin) anti-haptoglobine humaine > 1,1 g/l ; chlorure de sodium : 100 mmol/l ; conservateur (liquide).

5. Composition de la cassette COBAS INTEGRA Albumin Gen.2 (ALB2).

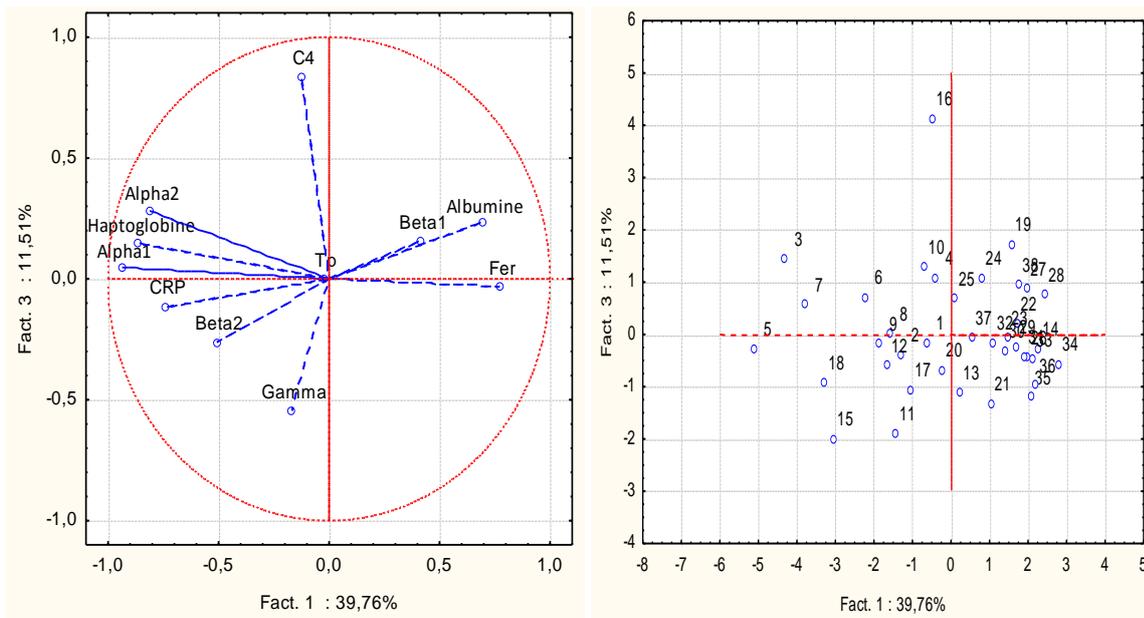
R1 : citrate, conservateur liquide

R2 : SR vert de bromocrésol, conservateur liquide

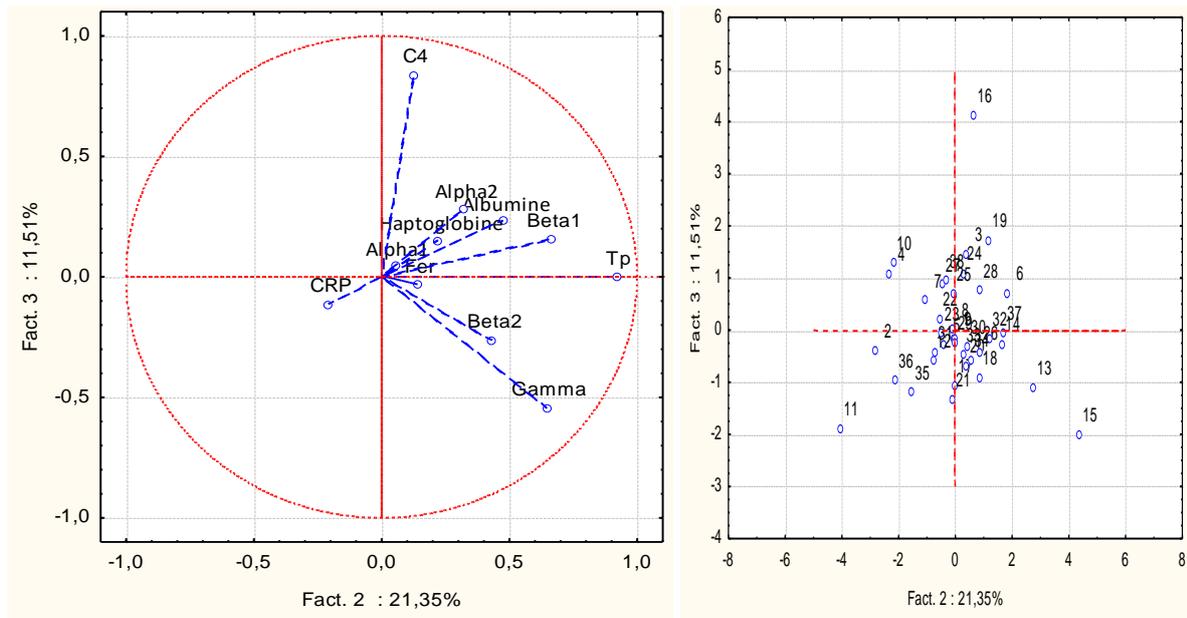
Annexe 2 : Résultats de l'analyse en composantes principales.



Projection des variables et des individus sur les axes factoriels 1 et 2



. Projection des variables et des individus sur les axes factoriels 1 et 3



Projection des variables et des individus sur les axes factoriels 2 et 3