

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**

**Département de Biochimie-Microbiologie**



## *Mémoire de fin d'études*

**En vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Spécialité : Sciences Biologiques**

**Option : Biochimie Appliquée**

### *Thème*

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

**Réalisé par :**

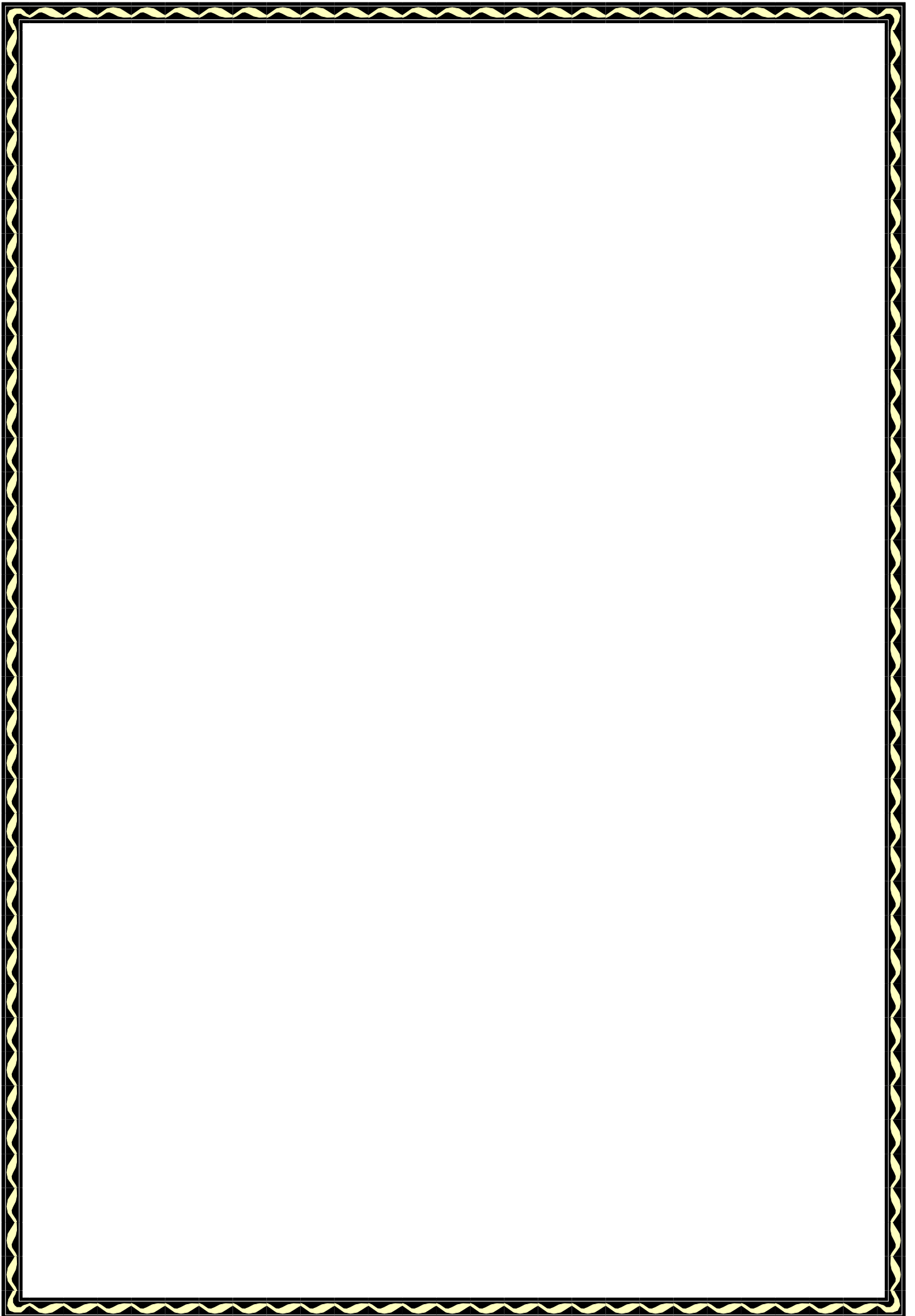
**AIT MAMMAR Tassadit**

**TAREB Samira**

**Devant le jury :**

<b>M<sup>me</sup> ZENNIA Saliha</b>	<b>Maître assistante classe1</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>r</sup> CHIBAH Ammar</b>	<b>Maître assistant</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Promoteur</b>
<b>M<sup>me</sup> SENOUSSE Chahra</b>	<b>Maître assistante classe1</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> ALMI-SEBANE Dalila</b>	<b>Maître assistante classe1</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>

**Promotion 2014/2015**



# Remerciements

*« Avant toute chose, nous remercions Dieu le tout puissant, le clément, pour nous avoir donné le courage, la patience et la santé pour accomplir ce modeste travail »*

*Nous tenons à remercier notre encadreur Mr CHIBAH, maître assistant à la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques pour la proposition du thème, pour son Orientation et ses précieux conseils qui nous ont beaucoup aidés dans notre travail*

*Nous remercions les membres de jury, qui nous feront l'honneur de participer au jugement de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à Dr TOUDERT qui nous a aidé jusqu'au dernier moment avec un grand savoir et des orientations éclairantes accompagner d'une grande gentillesse et Qu'il trouve ici l'expression d'un respect absolu et d'une estime sans faille*

*A Dr DAHMANI chef de service du laboratoire central de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou, qui nous a ouvert les portes de son service pour la réalisation de notre stage pratique, ainsi que tout le personnel de laboratoire central de biochimie en particulier DR DAHMOUH et M<sup>elle</sup> AMAL MAMAR*

*Un simple merci n'est pas suffisant pour nos très chers parents pour leur contribution, leur soutien et leurs encouragements tout au long de nos études.*

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

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents qui ont sacrifié pour que je puisse arriver jusqu'au là et qui m'ont beaucoup soutenu durant mon cursus et qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras, J'espère ne jamais vous décevoir et d'être toujours à la hauteur de ce que vous attendez de moi. Que Dieu vous préserve et vous accorde santé, bonheur et longue vie.*

*Mes adorables frères Madjid et Ahmed*

*Mes adorables sœurs FARIDA, TAOUS, NADIA et ROSA*

*qui sont toujours à mes coté et n'ont jamais cessé de me soutenir.*

*A mes neveux et nièces : NAWEL, IMANE, ANIS, AMAR et AMINE*

*A mes beaux frères : ALI, REZKI et MAKHLOUF*

*A mes oncles et tantes, spécialement SALIHA*

*A mon binôme TASSADIT et à toute sa famille*

*A tous mes amies : KARIMA, MELHA, MELISSA, ZAHIA, FATIHA*

*ANISSA ET SAFIA*

*A toute la promotion 2015*

**SAMIRA**

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie,*

*que je dédie ce travail :*

*A ma chère mère BEN OUMELGHAR ZOUBIDA pour l'éducation qu'elle m'a donnée, tous les principes inculqués, l'amour et le soutien qu'elle ne cesse de m'apporter et en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont elle m'a toujours su me combler, Vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection*

*A mon défunt père ACHOUR, qui durant toute son existence nous à toujours entourés d'amour, de tendresse, même après sa disparition son souvenir ne cesse de me combler de toute l'affection paternelle, je lui dois la vie et ce que je suis devenue, il m'a apporté rigueur et discipline qu'il repose en paix;*

*A l'âme de mes grands parents : BEN OUMELGHAR AMAR, AIT KACI FETA, AIT MAMMAR  
MOULOUD ET ADIDI*

*A tous mes frères et sœurs en particulier : mon frère Nazim qui est pour moi un ange gardien, qui veille à ce que je ne perds jamais le nord, Qu'il trouve ici un symbole du respect que je lui porte ; et ma petite sœur Chérie (THIZIRI), à qui je souhaite une bonne continuation.*

*A mon mari pour ses encouragements, son soutien, son amitié et surtout son humour qui me permet de prendre tout le recul nécessaire face aux situations difficiles.*

*A tous ceux que j'aime et qui m'aime sans exception ; tous les membres de ma belle famille surtout ma belle mère Djouhar, tous mes oncles en particulier KHALI SLIMANE, mes amis proches (SIHAM, KARIMA, MELISSA, ANISSA, ZAHIA, FATIHA, HAYET, HAKIMA...) et sans oublier mon binôme SAMIRA et toute la promotion de Biochimie appliquée 2014-2015.*

*A toutes les personnes qui ont croisé ma route et qui ont contribué à ce que je devienne quelqu'un de meilleur.*

**TASSADIT**

## **Résumé :**

L'évolution de la biologie est à l'origine de l'apparition de plusieurs automates d'électrophorèse des protéines sériques du sang avec parfois d'importantes variations entre les résultats rendus. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la comparaison de deux techniques d'électrophorèse des protéines sériques, l'électrophorèse capillaire (capillarys 2 FLEX-PIERCING, SEBIA) et électrophorèse sur acétate de cellulose (TITAN III, HELENA). Cette étude est réalisée au niveau de laboratoire central de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou.

Notre étude a porté sur 118 sérums passés simultanément sur les deux techniques d'électrophorèse. Au terme de notre étude, il en ressort que les deux techniques présente une certaine similitude en terme de spécificité et de la sensibilité pour la détection des fractions protéiques sauf pour la fraction  $\alpha 1$ -globuline où le Capillarys est mieux sensible (52%) et moins spécifique (49%) pour la détection de cette fraction par rapport à l'électrophorèse sur acétate de cellulose. En ce qui concerne la corrélation, l'ensemble des fractions présente une bonne corrélation à l'exception de la fraction  $\beta$  globuline ( $r=0.57$ ). Les deux techniques présentent une bonne concordance pour la détection de l'albumine ( $\kappa=0.67$ ) et une concordance modéré pour les fractions  $\alpha 1$  et  $\gamma$  globuline ( $\kappa=0.52$  et  $\kappa=0.44$  respectivement) et enfin médiocre pour  $\alpha 2$  et  $\beta$  ( $\kappa=0.22$  et  $\kappa=0.39$  respectivement). Le Capillarys présente plusieurs avantages par rapport au support d'acétate de cellulose (meilleure cadence, moins de risque d'erreurs, meilleure résolution). Cependant, l'inconvénient majeur de ce dernier est l'absence de support visuel d'interprétation auquel sont habitués les biologistes avec l'électrophorèse sur acétate de cellulose.

**Mots-clés :** protéines plasmatiques, électrophorèse capillaire, électrophorèse sur acétate de cellulose, résolution.

**Abstract:**

The evolution of biology is at the origin of the emergence of several automated electrophoresis of serum proteins, with sometimes many important significant variations between the returned results. In this case, we are interested in comparing two techniques of electrophoresis of serum proteins, capillary electrophoresis (capillarys 2 FLEX-PIERCING, SEBIA) and cellulose acetate membrane electrophoresis (TITAN III HELENA). This study is carried out on the level of the central laboratory of biochemistry of Tizi-Ouzou. Our study related to 118 serums passed simultaneously on both electrophoresis. At the end of our study, this reveals that the two techniques has unquestionable a similarity of specificity and sensitivity for detection of the proteinic fractions except for the  $\alpha_1$  fraction where the capillarys is better sensitive (52%) and less specific for the detection of this fraction (49%) compared to the cellulose acetate membrane electrophoresis . With regard to the correlation, the whole of the fractions presents a good correlation except for the  $\beta$  fraction ( $r=0.57$ ). The two techniques present a good agreement for the detection of albumin ( $k=0.67$ ) and an agreement moderated for the  $\alpha_1$  fractions and  $\gamma$  ( $k=0.52$  and  $k=0.44$  respectively) and finally poor for  $\alpha_2$  and  $\beta$  ( $k=0.22$  and  $k=0.39$  respectively). Capillarys offers several advantages compared to acetate (better rate, less risk of errors, better resolution). However, the major drawback of the latter is the absence of visual aids of interpretation to which the biologists with the cellulose acetate membrane electrophoresis accustomed.

**Keywords:** plasmatic proteins, capillary electrophoresis, cellulose acetate membrane electrophoresis, resolution.

# Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

**Introduction**..... 1

## I- SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur le sang ..... 2

I.1.1. Définition et fonction du sang ..... 2

I.1.2. Composition du sang ..... 2

I.1.2.1. Les éléments figurés..... 2

I.1.2.2. Le plasma ..... 3

I.2. Les protéines plasmatiques ..... 3

I.2.1. Etude descriptive des principales protéines sériques ..... 4

I.2.1.1. Sérum-Albumine ..... 4

I.2.1.2. Groupe des globulines ..... 6

I.2.1.2.1. Groupe des  $\alpha$ -globulines ..... 6

I.2.1.2.1.1. Les  $\alpha$ 1-globulines ..... 6

I.2.1.2.1.1.1. L'Alpha 1 antitrypsine ..... 6

I.2.1.2.1.1.2. Orosomucoïde ou  $\alpha$ 1-glycoprotéine acide ( $\alpha$ <sub>1</sub>-GPA)..... 7

I.2.1.2.1.1.3. L'alpha-foetoprotéine ..... 7

I.2.1.2.1.2. Les  $\alpha$ 2-globulines ..... 8

I.2.1.2.1.2. 1. Alpha 2 macroglobuline ( $\alpha$ <sub>2</sub>-M)..... 8

I.2.1.2.1.2. 2. Haptoglobuline (Hp) ..... 8

I.2.1.2.1.2.3. La Céruléoplasmine ..... 8

I.2.1.2.2. Groupe des  $\beta$ -globulines ..... 8

I.2.1.2.2.1. La Transferrine ..... 9

I.2.1.2.2.2. La protéine C-réactive (CRP) ..... 10

I.2.1.2.2.3. Le fibrinogène .....	10
I.2.1.2.3. Groupe des gammaglobulines.....	11
I.2.2. Exploration des protéines sériques par électrophorèse .....	13
I.2.2.1. Principe général de l'électrophorèse .....	14
I.2.2.2. Facteurs influençant la mobilité électrophorétique .....	14
I.2.2.3. Électrophorèse des protéines sériques sur acétate de cellulose .....	15
I.2.2.3.1. Principe .....	15
I.2.2.4. Electrophorèse capillaire (EC) .....	16
I.2.2.4.1. Principe .....	16
I.2.2.4.2. Mécanisme de migration .....	16
I.2.2.4.2.1. La migration électrophorétique (Électromigration).....	16
I.2.2.4.2.2. La migration électroendosmotique .....	16
I.2.2.4.3. Les modes de séparation en électrophorèse capillaire .....	18
I.2.2.4.4. Les applications de l'électrophorèse capillaire .....	20

## **II- PARTIE EXPERIMENTALE**

Objectif .....	22
II.1. Matériels et méthodes :.....	22
II.1.1. Matériels.....	22
II.1.2. Méthodes.....	25
II.1.3. Répartition des profils.....	31
II.1.4. Exploration statistique.....	33
II.2. Résultats et discussions :.....	37
II.2.1. Résultats.....	37
II.2.2. Discussions.....	46
II.2.3. Limites du travail .....	48
<b>Conclusion.....</b>	<b>49</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>50</b>
<b>Annexes</b>	



## Liste des abréviations

**$\alpha_1$** : Alpha 1

**$\alpha_2$** : Alpha 2

**$\beta$**  : Béta

**$\gamma$** : Gamma

**kDa**: kilo Dalton

**$\alpha_1$ -GPA** :  $\alpha_1$ -glycoprotéine acide ou Orosomucoïde

**$\alpha_2$ -M** : Alpha 2 Macroglobuline

**PRI** : Protéine de la phase aigüe de la réaction inflammatoire

**Hp**: Haptoglobuline

**Tf** : Transferrine

**Fe<sup>3+</sup>** : Ion Fer (Ferrique)

**CRP** : La protéine C-réactive

**IL** : Interleukine

**Ig** : Immunoglobuline

**IgG** : Immunoglobuline G

**IgM** : Immunoglobuline M

**IgE** : Immunoglobuline E

**IgD** : Immunoglobuline D

**pH** : potentiel d'hydrogène

**EC** : Electrophorèse Capillaire

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance

**SiOH** : groupement silanol

$v_{ep}$  : vitesse électrophorétique

$m_{ep}$  : Mobilité électrophorétique

**E** : Champ électrique

**CZE** : Électrophorèse capillaire de zone

**MECC** : Electrophorèse en mode micellaire ou chromatographie électrocinétique micellaire

**SDS** : Dodécyle Sulfate de Sodium

**CGE** : Électrophorèse capillaire sur gel

**CIEF** : Électrophorèse à focalisation isoélectrique

**NaOH** : Hydroxyde de Sodium

**H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>** : Acide phosphorique

**ECC** : Électrochromatographie capillaire

**CIEF** : Isoélectrofocalisation capillaire

**ITP** : Isotachophorèse Capillaire

**ppm** : Partie par million

**GC**: Chromatographie sur Gel

**EP**: Electrophorèse

**LDL**: Light Density Lipoprotein

**HDL**: High Density Lipoprotein

**pKa**: Constante d'acidité

**Pi** : Point isoélectrique

**PEG** : Polyéthylène glycol

**TP** : Taux de Protide.

**Cu** : Cuivre.

**EPP** : Electrophorèse des Protéines Plasmatiques.

**R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation.

**P** : Degré de signification.

**Igm** : Immunoglobuline monoclonale.

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Aspect sur gel d'agarose - Hydragel Protéine b1-b2 ® Sebia – et intégration densitométrique d'un sérum analbuminémique (sérum n° 2) par rapport à un sérum humain normal (sérum n° 1).....	<b>05</b>
<b>Figure 2 :</b> Structure générale d'une Immunoglobuline.....	<b>12</b>
<b>Figure 3 :</b> Principe de l'électrophorèse .....	<b>14</b>
<b>Figure 4 :</b> Plaque d'acétate de cellulose .....	<b>15</b>
<b>Figure 5 :</b> Profil électrophorétique avec 5 fractions .....	<b>15</b>
<b>Figure 6 :</b> Représentation de la mobilité électrophorétique .....	<b>17</b>
<b>Figure 7 :</b> Représentation du flux électroosmotique .....	<b>17</b>
<b>Figure 8 :</b> Principe de la séparation en électrophorèse capillaire .....	<b>18</b>
<b>Figure 10 :</b> Appareil d'électrophorèse capillaire Capillarys 2 FLEX-PIERCING, SEBIA....	<b>23</b>
<b>Figure 12 :</b> Appareil d'électrophorèse sur acétate de cellulose : chambre de migration et densitomètre.....	<b>24</b>
<b>Figure 13 :</b> Portoir et barrette de dilution de l'électrophorèse capillaire.....	<b>26</b>
<b>Figure 14:</b> Résultat d'immunotypage par Immunosoustraction obtenu sur Capillarys (laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou).....	<b>27</b>
<b>Figure 15 :</b> Résultat d'une EPP réalisée sur acétate de cellulose (laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou).....	<b>29</b>
<b>Figure 16 :</b> Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'exploration électrophorétiques par les deux techniques.....	<b>30</b>
<b>Figure 17 :</b> Profil d'allure normal obtenu sur Capillarys.....	<b>32</b>
<b>Figure 18 :</b> Profil d'allure normale obtenu sur acétate de cellulose.....	<b>32</b>

**Figure 19 :** Exemple de profils pathologique obtenus sur Capillarys (laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou) : A) une réaction inflammatoire chronique évolutive importante.

B) une gammapathie monoclonale.....**32**

**Figure 20 :** Représentation graphique de la répartition des patients selon l'âge.....**37**

**Figure 21 :** Représentation graphique de la répartition des patients selon le sexe.....**38**

**Figure 22 :** Répartition des patients selon le service d'admission.....**38**

**Figure 23:** Droite de corrélation de la fraction albumine en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose .....**41**

**Figure 24:** Droite de corrélation de la fraction alpha1 en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose .....**41**

**Figure 25:** Droite de corrélation de la fraction alpha2 en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose .....**42**

**Figure 26 :** Droite de corrélation de la fraction beta en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose.....**42**

**Figure 27 :** Droite de corrélation de la fraction gamma en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose.....**43**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Les principales fonctions des immunoglobulines.....	<b>12</b>
<b>Tableau II</b> : Quelques domaines d'application de l'électrophorèse capillaire .....	<b>21</b>
<b>Tableau III</b> : Valeurs normales (en %) de Capillarys et sur bandes d'acétate de cellulose pour les fractions protéiques .....	<b>31</b>
<b>Tableau IV</b> : Degré d'accord et valeur de Kappa proposé par <i>Landis et Koch</i> .....	<b>36</b>
<b>Tableau V</b> : Description des différentes fractions protéiques en fonction de la technique de mesure.....	<b>39</b>
<b>Tableau VI</b> : Valeurs des moyennes et de degré de significativité de chaque fraction protéique mesurée par les deux techniques électrophorétiques.....	<b>40</b>
<b>Tableau VII</b> : Valeurs diagnostiques de Capillarys par apport à acétate de cellulose .....	<b>43</b>
<b>Tableau VIII</b> : Valeurs diagnostiques de l'acétate de cellulose par apport à Capillarys.....	<b>44</b>
<b>Tableau IX</b> : Concordance entre l'électrophorèse capillaire et l'électrophorèse sur bandes d'acétate de cellulose pour chaque fraction électrophorétique .....	<b>45</b>
<b>Tableau X</b> : Durée d'analyse des échantillons par les deux méthodes.....	<b>45</b>

# Liste des annexes

**Annexe 1 :** Tampons et solutions utilisées en électrophorèse sur acétate de cellulose.

**Annexe 2 :** Images de certains matériels utilisés en électrophorèse sur acétate de cellulose.

**Annexe 3 :** Quelques plaques d'électrophorèse sur acétate de cellulose après migration.

**Annexe 4 :** Quelques profils de migration et protéinogrammes obtenus par électrophorèse sur acétate de cellulose pour les différents échantillons.

**Annexe 5:** Quelques protéinogrammes obtenus par électrophorèse Capillaire pour les différents échantillons.

**Annexe 6 :** Tableau de répartition des patients selon le service d'admission.

### **Introduction :**

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

Le clinicien dans son diagnostic fait parfois appel à des examens complémentaires tels que le dosage de certains paramètres biologiques et/ou l'exploration des protéines. Parmi les techniques d'exploration des protéines sériques au laboratoire on trouve l'électrophorèse, qui est une technique physicochimique qui permet de mettre en évidence et de séparer les différents constituants d'un liquide afin de permettre leur isolement. Ce phénomène est obtenu grâce à l'application d'un champ électrique.

Utilisée à des fins médicales chez l'homme depuis plus de 50 ans, l'électrophorèse des protéines sériques a bénéficié de toutes les améliorations acquises au fil des années. D'abord réalisées sur support de papier, puis sur acétate de cellulose, les électrophorèses sont maintenant couramment réalisées sur gel d'agarose, et en électrophorèse capillaire. Chez l'homme, l'électrophorèse des protéines sériques peut aider au diagnostic de syndromes néphrotiques, de syndromes inflammatoires ou de cirrhoses hépatiques. Toutefois, son utilisation la plus importante demeure le diagnostic des gammopathies monoclonales accompagnant certains types d'hémopathies malignes.

Le but de notre travail est l'étude de deux techniques électrophorétiques différentes : l'électrophorèse capillaire, nouvelle technique réalisée sur automate Capillarys Sébia et une technique classique qui est l'électrophorèse sur plaques d'acétate de cellulose. Celles-ci seront explorées dans le cadre de la séparation des protéines plasmatiques afin d'effectuer une comparaison de ces techniques d'un point de vue analytique et pratique.

## I.1. Généralités sur le sang :

### I.1.1. Définition et fonction du sang :

Avec un certain paradoxe, le sang pourrait être qualifié de tissu liquide. Il est en effet constitué de cellules vivantes, lesquelles sont en suspension dans une solution aqueuse de composition complexe. Le développement et le fonctionnement normal d'un organisme demandent un transport rapide des matériaux et informations qui doivent être mis à la disposition de tous les organes. Ceux-ci doivent par ailleurs s'intégrer dans une dynamique d'ensemble qui définit l'état physiologique sain d'un individu (ROBERT et VINCENT, 1997).

Selon POCOCK et RICHARD (2004), le sang accomplit de multiples fonctions qui sont nécessaires à la vie notamment :

- la délivrance des nutriments, du tube digestif aux tissus ;
- les échanges gazeux : le transport de l'oxygène des poumons aux tissus, et du dioxyde de carbone des tissus aux poumons ;
- le transport des produits de déchet issus de métabolisme, de leurs sites de production à leurs sites d'élimination ;
- le transport des hormones, des glandes endocrines à leurs tissus cibles spécifiques ;
- la protection contre les organismes étrangers : fonction immunologique.

### I.1.2. Composition du sang :

La centrifugation du sang fraîchement prélevé et rendu incoagulable aboutit à la séparation du plasma, liquide jaune clair qui surnage dans l'éprouvette de séparation et d'éléments figurés qui se déposent au fond (BERNARD *et al.*, 2006).

#### I.1.2.1. Les éléments figurés :

Selon SCHAFFLIER et SCHMIDT (1999), les éléments figurés du sang se représentent sous forme d'une phase solide où se trouvent les cellules sanguines, qui représentent environ 40 à 45% du volume total du sang, on distingue :

- a- Les Hématies (globules rouges) :** dont le rôle essentiel est le transport de l'oxygène vers les tissus ;
- b- Les Leucocytes (globules blancs) :** comprenant les polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles, basophiles) et les mononucléaires (lymphocytes, monocytes). Elles

jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défenses anti-infectieuse et anti tumorale;

- c- **Les Plaquettes (thrombocytes)** : ce sont des fragments cytoplasmiques de cellules beaucoup plus grosses, incolores et anucléés. Ces éléments jouent un rôle important dans la coagulation du sang (COLAMBAT *et al.*, 1991).

### **I.1.2.2. Le plasma :**

Le plasma est la partie liquide du sang dans laquelle sont suspendues les cellules sanguines. Il est de couleur pâle, légèrement alcalin, représentant 55% du volume sanguin. Le plasma est composé de 90% d'eau, cependant, c'est un liquide complexe qui comprend un nombre important de substances organiques ou inorganiques.

Les substances organiques les plus abondantes sont les protéines (7% de poids total du plasma), dont on distingue : l'albumine, les globulines, les fibrinogènes et autres.

Le plasma contient également environ 1 à 2 % d'ions inorganiques (tels que le sodium, le potassium, le chlore, le calcium, le magnésium et le bicarbonate), des hormones, des enzymes, des nutriments et des déchets comme l'urée (BROOKER, 2001 ; RAME et THEROND, 2007).

### **I.2. Les protéines plasmatiques :**

Les protéines représentent la plus grande partie des matières solides du plasma avec une concentration de 7.0 à 7.5 g/dl. On distingue trois grands groupes : l'albumine, les globulines ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$  et  $g$ ), ce sont toutes des protéines globulaires. Seule la sérum-albumine est une holoprotéine, toutes les autres étant des hétéroprotéines pouvant contenir des lipides (lipoprotéines), des métaux (métalloprotéines) et surtout des glucides. La plupart des protéines plasmatiques sont en effet des glycoprotéines. Leurs propriétés sont très variables : transporteurs, anticorps, enzymes, agents de pression oncotique, marqueurs de l'inflammation, marqueurs tumoraux, agents de la coagulation, facteurs de croissance... (VALDIGUIE, 2000).

### **I.2.1. Etude descriptive des principales protéines sériques :**

#### **I.2.1.1. Sérum-Albumine :**

C'est la principale protéine du plasma humain (3.4 à 4.7 g/dl), son poids moléculaire est 69 KDa, représentant approximativement 60% de l'ensemble des protéines plasmatiques. C'est une molécule relativement stable, contenant 585 amino-acides, répartis sur une seule chaîne polypeptidique renfermant 17 liaisons disulfures.

Elle est entièrement synthétisée au niveau du foie (12g/jour), sa demi-vie est de 10 à 18 jours.

L'albumine, du fait de sa grande taille et de son abondance, joue un rôle très important dans la régulation et le maintien de la pression oncotique sanguine.

L'autre grande fonction de l'albumine est le transport, via la liaison à de nombreuses autres molécules dont elle se charge de : bilirubine, acide gras, médicaments et hormones thyroïdiennes (SEHAPIRA, 1981 ; VALDIGUIE, 1995 ; MURRAY *et al.*, 2008).

Elle est donc indispensable à un grand nombre de mouvements de molécules au sein de l'organisme. De plus, en se liant à certains constituants, l'albumine évite leur fuite rénale (KANEKO *et al.*, 2008).

➤ **Variations physiologiques :** L'albuminémie présente des variations physiologiques :

-chez l'adulte jeune, l'albuminémie varie de 40 à 50 g/L ;

-chez l'homme, sa valeur est en moyenne de 5 % supérieure à celle de la femme ;

- chez la femme en état de grossesse, on observe une augmentation légère au début, puis une diminution d'environ 25% par hémodilution et stabilisation à la limite inférieure de la normale ;

-chez le nouveau-né, la concentration varie entre 36 et 55g/L ;

- chez les sujets âgés, la concentration varie entre 45 et 63g/L, après 60 ans, elle diminue à 30-35 g/L (BACH-NGOHOU, 2005).

➤ **Variations pathologiques :** Les anomalies de l'albumine peuvent être quantitatives ou qualitatives, acquises ou génétiques.

#### **-Les hyperalbuminémies :**

Les hyperalbuminémies associées à une pathologie sont peu fréquentes et généralement dues à une hémococoncentration, à des pertes liquidiennes ou à un diabète

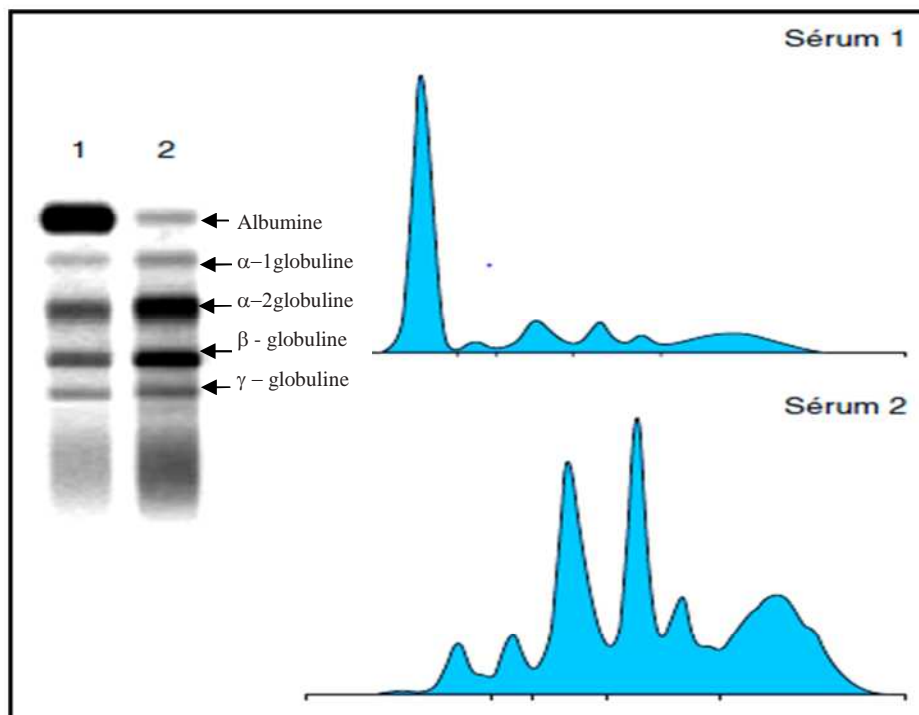
insipide. Les perfusions d'albumine dans certaines indications peuvent également entraîner une augmentation significative de sa concentration (BACH-NGOHOU, 2005).

### -Les hypoalbuminémies :

Selon WEILL et BATTEUX (2003), les hypoalbuminémies sont rencontrées généralement dans les carences d'apport (dénutrition chronique sévère), dans les pertes accrues de l'organisme (syndrome néphrotique, gastroentéropathie exsudative, brûlure étendue), dans la diminution de sa synthèse hépatocellulaire (cirrhose, hépatites) et dans le cas d'hypercatabolisme : endocrinopathie acquise, syndromes inflammatoires sévères.

Des études électrophorétique ont montrées une absence ou une diminution majeure de la concentration plasmatique de l'albumine dans le plasma de certaines personnes, ces sujets présentent une analbuminémie congénitale (MURRAY *et al.*, 2008).

L'albuminémie est une maladie héréditaire de transmission autosomique récessive qui se traduit par des œdèmes modérés. Le diagnostic d'albuminémie est confirmé par la quasi-absence d'une bande d'albumine sur l'électrophorèse des protéines sériques, associée à une augmentation importante des autres fractions protéiques cette augmentation permet de compenser l'absence d'albumine (figure01) (BACH-NGOHOU, 2005).



**Figure 01 :** Aspect sur gel d'agarose - Hydragel Protéine b1-b2 ® Sebia – et intégration densitométrique d'un sérum analbuminémique (sérum n° 2) par rapport à un sérum humain normal (sérum n° 1) (BACH-NGOHOU, 2005).

### -Les bisalbuminémies :

Décrites pour la première fois en 1955 par Scheurlen, elles sont définies par la coexistence chez un même sujet de deux types d'albumine sérique de mobilité électrophorétique différente à pH alcalin. Ce dédoublement traduit la présence chez un même individu d'une albumine plasmatique normale et d'une albumine modifiée. Les bisalbuminémies n'ont en général pas de signification pathologique, à l'exception de celles associées à un pseudokyste du pancréas. Il existe deux types principaux de bisalbuminémies : les formes héréditaires et les formes acquises.

- Les bisalbuminémies acquises ne sont observées que de façon transitoire. Ses trois causes majeures qui ont été recensées à ce jour sont: la liaison à l'albumine d'antibiotiques présentant un cycle  $\beta$ -lactame, la protéolyse limitée de l'albumine par des enzymes pancréatiques et la liaison à l'albumine de certaines immunoglobulines monoclonales (BACH-NGOHOU, 2005).

- Les bisalbuminémies héréditaires sont fréquemment retrouvées chez plusieurs membres d'une même famille. Le dédoublement dans ce cas est l'expression permanente d'un variant génétique de l'albumine, dont la migration varie selon le point isoélectrique. Ces bis-albuminémies sont quant à elles permanentes. Actuellement, plus de 100 variantes de l'albumine ont été identifiées (SZYMANOWICZ *et al.*, 2006 ; AHOUANSOU, 2010).

### I.2.1.2. Groupe des globulines

#### I.2.1.2.1. Groupe des $\alpha$ - globulines

##### I.2.1.2.1.1. Les $\alpha_1$ -globulines :

###### I.2.1.2.1.1.1. L'Alpha 1 antitrypsine :

C'est une glycoprotéine de petite taille (52kDa). Il s'agit d'une protéine formée d'une seule chaîne polypeptidique de 394 acides aminés, synthétisée par les hépatocytes et les macrophages, ayant une demi-vie brève (5jours).

Cette  $\alpha_1$ -antitrypsine est un inhibiteur naturel et puissant des diverses enzymes protéolytiques pouvant être déversées dans le plasma par des tissus ou par des cellules circulantes (MARSHALL et BANGERT, 2005 ; MURRAY *et al.*, 2008) .

- **Valeurs normales :** les valeurs usuelles se situent entre 2 et 4 g/L et un peu plus élevées chez la femme.

➤ **Variations pathologiques :**

Le taux de l' $\alpha_1$ -antitrypsine augmente dans les processus inflammatoires, les cancers, les atteintes hépatiques, les traumatismes, au cours de la grossesse et lors de l'usage des contraceptifs oraux. Ce taux est abaissé de 2g/L à 0.2g/L dans deux désordres majeurs : l'emphysème pulmonaire et la cirrhose hépatique juvénile (METAIS *et al.*, 1980).

### I.2.1.2.1.1.2. Orosomucoïde ou $\alpha_1$ -glycoprotéine acide ( $\alpha_1$ -GPA) :

L'Orosomucoïde ou l' $\alpha_1$ -glycoprotéine acide est le constituant majeur du groupe des séromucoïde. C'est une protéine fortement glycosylée qui a une masse moléculaire de 40 KDa. Elle est synthétisée dans le foie mais également par les polynucléaires neutrophiles, les lymphocytes et les monocytes. Sa demi-vie sérique est de quarante-huit heures (WEILL et BATTEUX, 2003).

C'est une protéine de la phase aigüe de la réaction inflammatoire (PRI+) et elle contribue au transport plasmatique de la progestérone et de certains médicaments cationiques. Elle exerce un rôle immunomodulateur en inhibant la prolifération lymphocytaire. Elle favorise la croissance des fibroblastes et se fixe sur le collagène (VALDIGUIE, 2000 ; DUBUCQUOI *et al.*, 2005).

➤ **Valeur normale :**

La concentration sérique normale de l'Orosomucoïde est de 0.3 à 0.9 mg/ml et augmente avec l'âge.

➤ **Variations pathologiques :**

La concentration sérique de  $\alpha_1$ -GPA est élevée en cas d'insuffisance rénale chronique et des inflammations aiguës, mais elle est diminuée par la baisse de synthèse (insuffisance hépatocellulaire, malnutrition) ou fuite rénale (syndrome néphrotique), digestive, cutanée (brulure) et lors des traitements par les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou les corticoïdes (VAUBOURDDOLLE, 2007).

### I.2.1.2.1.1.3. L'alpha-foetoprotéine :

Cette glycoprotéine est présente dans le sérum fœtal humain. Elle a un poids moléculaire de l'ordre de 70kDa et contient 4.3% de glucides. L' $\alpha_1$ -foetoprotéine est synthétisée par les hépatocytes chez le nouveau-né et par le corps jaune pendant la gestation, de même par certaines tumeurs hépatiques ou digestives, elle constitue donc un marqueur de

cancer hépatocellulaire et digestif. Elle est essentielle au développement normal de l'embryon (SEHAPIRA, 1981).

➤ **Valeur normale et variations physiologiques :**

Son taux de référence chez l'adulte est compris entre 4,5 et 2,6 mg/L. Chez la femme enceinte, le taux sérique normal entre la 15<sup>ème</sup> et la 30<sup>ème</sup> semaine est de plusieurs mg/L, ce taux s'élève en cas de grossesse multiple mais aussi dans 60% des cas d'atteinte du tube neural du fœtus (SEHAPIRA, 1981).

➤ **Variations pathologiques :**

La concentration d' $\alpha_1$ -foetoprotéine s'élève dans diverses circonstances pathologiques : dans le cancer primitif du foie, dans le cancer de l'estomac et dans le tératocarcinome testiculaire où l'élévation est presque constante. On observe des taux moindres, mais cependant importants, dans les hépatites et les cirrhoses (AHOUANSOU, 2010).

### **I.2.1.2.1.2. Les $\alpha_2$ -globulines :**

#### **I.2.1.2.1.2.1. Alpha 2 macroglobuline ( $\alpha_2$ -M) :**

C'est une glycoprotéine plasmatique de masse moléculaire élevée (720 kDa), formée de quatre sous unités identiques de 180 kDa réunies par des ponts disulfures. L' $\alpha_2$ -macroglobuline constitue 8 à 10% des protéines plasmatiques totales chez les êtres humains. Cette protéine est synthétisée par différents types de cellules, dont les monocytes et les hépatocytes. Elle se fixe à de nombreuses protéases et constitue donc un inhibiteur de multiples protéases (MURRAY *et al.*, 2008).

➤ **Valeur normale :**

Les valeurs de référence sont de 2 à 3,5 g/l.

➤ **Les variations pathologiques :**

L'intérêt clinique est assez limité et on ne trouve que des augmentations (de 4.25 à 25.5 g/L) dans les syndromes néphrotiques et néphroses lipoïdiques (AHOUANSOU, 2010).

#### **I.2.1.2.1.2.2. Haptoglobuline (Hp) :**

L'haptoglobine est une protéine du groupe des  $\alpha_2$ -globulines. C'est une glycoprotéine tétramérique, constituée de deux chaînes  $\alpha$  et de deux chaînes  $\beta$  qui comportent 19% de glucides.

La synthèse de l'haptoglobine est hépatique et sa demi-vie biologique est de 3 à 5 jours, son catabolisme se déroule dans les hépatocytes et dans les macrophages (DUBUCQUOI *et al.*, 2005). Le rôle de l'Hp est de lier l'hémoglobine libre libérée dans le plasma au cours de l'hémolyse intravasculaire (MARSHALL et BANGERT, 2005).

➤ **Valeur normale :**

La concentration sérique normale de l'haptoglobuline est de 1 à 2 g/L.

➤ **Variations pathologiques :**

L'Hp est une protéine majeure de l'inflammation, sa concentration sérique peut être augmentée dans les syndromes inflammatoires aigus, subaigus et chroniques, dans les maladies infectieuses (pneumonie, tuberculose), néoplasies et dans le syndrome néphrotique. Cette concentration est abaissée en cas d'hémolyse intravasculaire et d'insuffisance hépatique (DURAND et JEAUDEUX, 2011).

### I.2.1.2.1.2.3. La Céruléoplasmine :

La céruléoplasmine (environ 160 kDa) est une  $\alpha_2$ -globuline. Elle est riche en cuivre, ce qui lui donne sa couleur bleue et son nom. C'est une protéine de transport de cuivre (transporte environ 90% de cuivre plasmatique) qui fonctionne comme une peroxydase et un piègeur de radicaux superoxydes.

➤ **Valeur normale :**

La valeur normale chez l'adulte est de 0.2 à 0.6 g/L.

➤ **Variations pathologiques :**

La synthèse et la concentration plasmatique de cette protéine sont fortement abaissées dans la maladie de Wilson qui est selon MURRAY *et al.* (2008) une maladie génétique dans laquelle le cuivre n'est pas excrété dans la bile mais s'accumule dans le foie, le cerveau, les reins... Sa concentration augmente pendant la grossesse (sous l'influence des estrogènes) (MARSHALL et BANGERT, 2005).

### I.2.1.2.2. Groupe des $\beta$ -globulines

#### I.2.1.2.2.1. La Transferrine :

La transferrine (Tf) est une  $\beta_1$ -globuline d'une masse moléculaire approximative de 76 kDa. C'est une glycoprotéine synthétisée par le foie. Il existe environ 20 formes polymorphiques de transferrine. Elle joue un rôle central dans le métabolisme du fer dans l'organisme car elle transporte le fer (2 mol de  $\text{Fe}^{3+}$  par mol de Tf) dans la circulation

jusqu'aux sites où le fer est nécessaire, par exemple du tube digestif à la moelle osseuse et aux autres organes (MURRAY *et al.*, 2008). En dehors de son rôle de transport du fer la transferrine possède des propriétés inhibitrices de la multiplication virale.

➤ **Valeur normale :**

Les valeurs normales généralement admises sont comprises entre 1.5 et 3 g/L (VALDIGUIE, 2000).

➤ **Variations pathologiques :**

Le taux de transferrine est diminué dans la néphrose, dans les syndromes inflammatoires, infectieux, dans les fuites protéiques, dans les états de dénutrition ou de malnutrition, dans les insuffisances hépatocellulaires sévères et lors des surcharges en fer. Par contre, on observe une augmentation lors de la grossesse, dans les anémies ferriprives, en cas d'hémorragies aiguës ou chroniques et occultes (AHOUANSOU, 2010).

### I.2.1.2.2. La protéine C-réactive (CRP) :

C'est une glycoprotéine de poids moléculaire 215 kDa, formée par l'union de 5 sub-unités identiques. Cette protéine porte son nom en raison de sa propriété de précipiter au contact du polysaccharide C du pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*). La synthèse de la CRP s'effectue exclusivement au niveau des hépatocytes. La production hépatocytaire de CRP est sous la dépendance de l'IL-6 qui stimule sa transcription (WEILL et BATTEUX, 2003). C'est un marqueur très précoce de l'inflammation, s'élevant dans les 2 à 4 heures après le début du processus inflammatoire. Elle a par ailleurs, un rôle d'activation du complément, de facilitation de la phagocytose des bactéries et de modulation de la multiplication des lymphocytes T (VALDIGUIE, 2000).

➤ **Valeur normale :** la concentration sérique physiologique est inférieure à 5 mg /L (MARSHALL et BANGERT, 2005).

➤ **Variations pathologiques :**

Les variations sont toujours dans le sens d'une augmentation et sont observées dans les états inflammatoires aigus, quelque soit leur étiologie, dans les états infectieux (la concentration sérique augmente fortement en cas d'infection bactérienne et plus faiblement en cas d'infection virale ou parasitaire), dans les lésions traumatiques et dans les néoplasies (AHOUANSOU, 2010 ; DURAND et JEAUDEUX, 2011).

### **I.2.1.2.2.3. Le fibrinogène :**

Le fibrinogène est une glycoprotéine de six chaînes peptidiques deux à deux identiques, de masse moléculaire de 341kDa. Il est synthétisé par les hépatocytes et les mégacaryocytes. Le fibrinogène joue un rôle majeur dans la coagulation (WEILL et BATTEUX, 2003).

#### ➤ **Valeur normale :**

Selon WEILL et BATTEUX (2003), le taux plasmatique normal de fibrinogène est compris entre 2 et 4 g/L, ce taux augmente avec l'âge et pendant la grossesse.

#### ➤ **Variations pathologiques :**

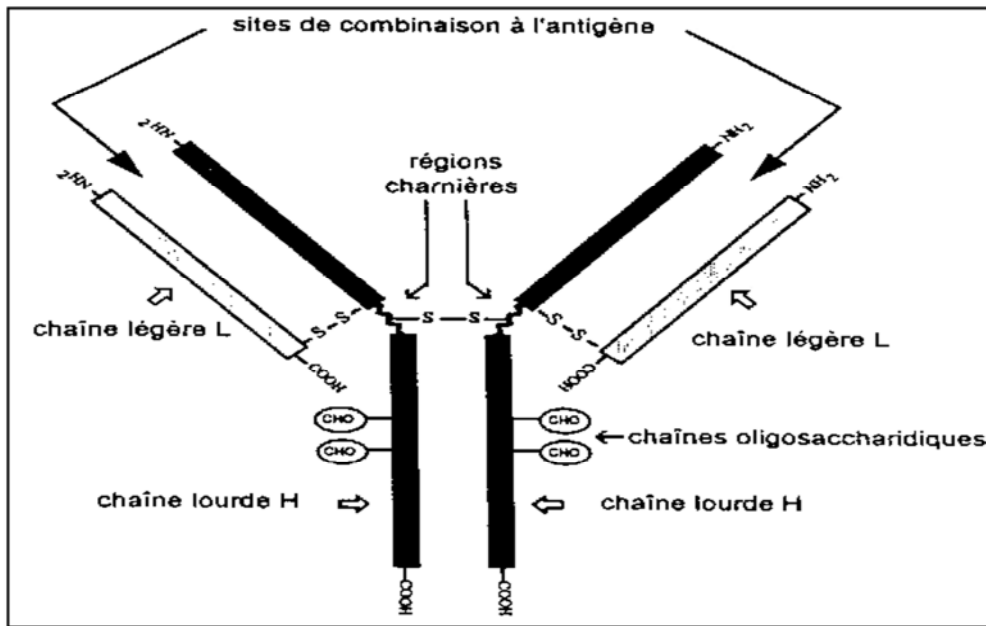
Le fibrinogène plasmatique augmente dans les états inflammatoires, dans le rhumatisme articulaire aigu, lors des infections bactériennes (pneumonie) ou lors de thromboses. Par contre il diminue lors d'atteintes hépatiques graves (diminution de la synthèse), lors du syndrome hémorragique des fibrinolyse et lors des coagulations intravasculaires disséminées (METAIS *et al.*, 1980).

### **I.2.1.2.3. Groupe des gammaglobulines**

Appelées aussi Immunoglobulines (Ig), les  $\gamma$ -globulines sont des protéines de poids moléculaire de 156 000 Da en moyenne (VALDIGUIE, 2000). Ce sont des glycoprotéines globulaires synthétisées par les plasmocytes et retrouvées dans le plasma et dans d'autres liquides biologiques et sont également le support de l'immunité humorale sous forme d'anticorps. On distingue cinq classes d'Ig : IgG, IgA, IgM, IgE et IgD. La structure de ces cinq classes d'immunoglobulines repose sur le même modèle de base (ESPINOSA et CHILLET, 2010).

#### ➤ **Structure générale :**

Les Ig sont constituées de quatre chaînes polypeptidiques : Deux chaînes identiques de masse moléculaire élevée, dites « lourdes » (H pour heavy) et deux chaînes identiques de masse moléculaire moyenne, dites « légères » (L pour light). Les chaînes sont liées entre elles par des ponts disulfures. Chaque paire de chaîne est composée de deux régions : une variable et une constante. Chaque Ig appartient à un type (kappa et lambda) déterminé par la nature de la chaîne légère et à une classe déterminée par la nature de la chaîne lourde (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) (CHATENOUD et BACH, 2012).



**Figure02:** Structure générale d'une immunoglobuline (GOUDEMANT et SALMON, 1980).

➤ **Les fonctions des immunoglobulines :**

Les principales fonctions des trois immunoglobulines les plus importantes (A, G et M) sont consignées sur le tableau suivant :

**Tableau I :** Les principales fonctions des immunoglobulines (MURRAY *et al.*, 2008).

Immunoglobulines	Principales fonctions
<b>IgG</b>	Anticorps majoritaire de la réponse secondaire, il opsonise les bactéries, rendant leur phagocytose plus facile. Elle fixe le complément qui augmente l'effet bactéricide. Elle neutralise les toxines bactériennes et les virus. Elle traverse le placenta.
<b>IgA</b>	Les IgA secrétées empêchent la fixation des bactéries et des virus aux membranes muqueuses. Elles ne fixent pas le complément.
<b>IgM</b>	Produite lors de la réponse primaire à un antigène. Elle fixe le complément et ne traverse pas le placenta. C'est un récepteur de l'antigène à la surface des cellules B.

➤ **Valeur normale :**

Les valeurs de référence sont : 7,5 à 16 g par litre soit 10 à 21 % (VALDIGUIE, 2000).

➤ **Variations pathologiques :** parmi les maladies qui concernent les immunoglobulines on trouve :

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

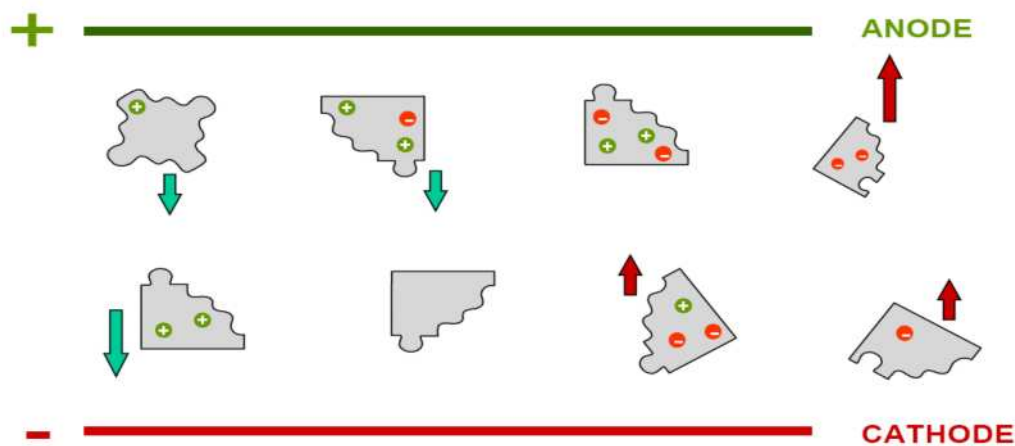
- **les hypogammaglobulinémies :** Elles peuvent être physiologiques chez le nourissant. Elles peuvent révéler des déficits immunitaires primitifs de l'enfant et de l'adulte ou êtres secondaires aux traitements : corticoïdes, immunosuppresseurs, chimio- et radiothérapies. Elles sont aussi révélatrices de certaines pathologies comme le myélome à chaînes légères dont le diagnostic sera fait sur l'existence d'une protéinurie de Bence Jones (WEILL et BATTEUX, 2003 ; SZYMANOWICZ *et al.*, 2006).

### **I.2.2. Exploration des protéines sériques par électrophorèse :**

Le principe de l'électrophorèse des protéines est connu depuis les premiers travaux de Tiselius dans les années 1930. Il met en jeu le déplacement des protéines ionisées lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique dans des conditions définies de force ionique, de pH, de durée et d'intensité du courant électrique appliqué. L'électrophorèse des protéines a été adaptée pour la biologie clinique dans les années 1940. Cette méthode s'est progressivement perfectionnée, miniaturisée et standardisée pour atteindre sa maturité vers la fin des années 1990. Depuis une dizaine d'années, en 1994 est apparue une nouvelle méthode : l'électrophorèse capillaire. L'analyse des protéines sériques par électrophorèse est une analyse utile dans de nombreuses situations pathologiques pour orienter un diagnostic, préciser la gravité d'une maladie ou suivre l'efficacité d'une thérapeutique (SZYMANOWICZ, 2006).

## I.2.2.1. Principe général de l'électrophorèse :

L'électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l'effet d'un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leur électrode respective: les anions migrent vers l'anode et les cations migrent vers la cathode. En ce qui concerne les molécules non chargées, il n'existe pas de migration. Du fait de leurs caractéristiques propres et des conditions de l'électrophorèse, la vitesse de migration et la distance parcourue dans la matrice par ces ions différent. Cela permet ainsi de les séparer. (FELLOUS, 2011).



**Figure 03** : principe de l'électrophorèse (AHOUANSON, 2010)

## 1.2.2.2. Facteurs influençant la mobilité électrophorétique :

Selon VAUBOURDDOLLE (2007), les facteurs influençant la mobilité électrophorétique sont en relation avec :

### ✚ Les caractéristiques des molécules chargées :

La mobilité électrophorétique dépend de la charge nette et de la taille, ce qui inclut la forme de la molécule et la masse moléculaire.

### ✚ Les caractéristiques du système électrophorétique :

Il existe un certain nombre de paramètres du système électrophorétique-lui-même qui peut influencer les séparations. Les plus importants sont :

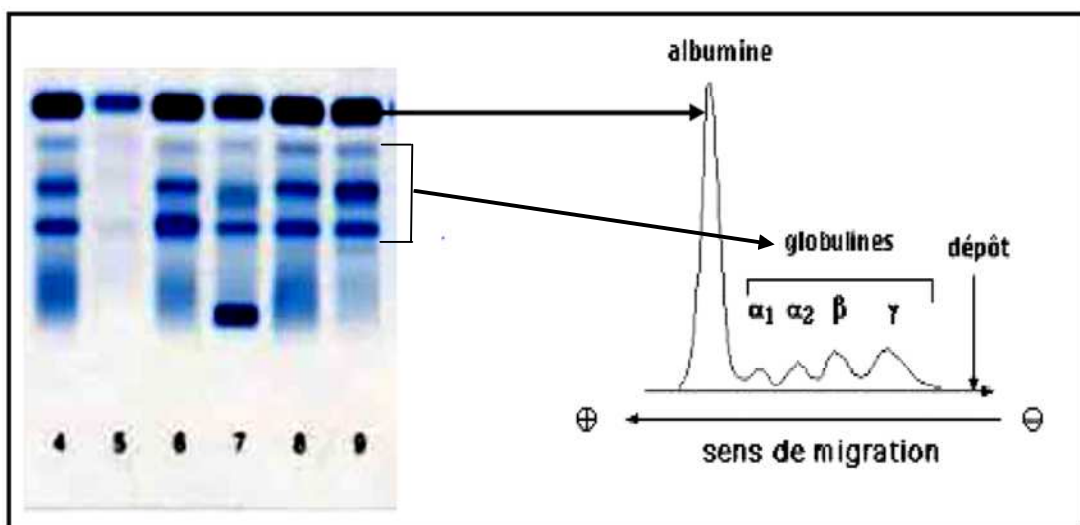
- le pH du tampon ;
- la composition ionique du tampon ;
- le voltage appliqué ;
- la température ;
- le type de support.

### I.2.2.3. Électrophorèse des protéines sériques sur acétate de cellulose

#### I.2.2.3.1. Principe :

C'est une analyse de routine dans le domaine biologique et médical. Son but est de séparer les protéines de sérum, d'identifier les fractions protéiques et de déterminer le pourcentage relatif de chacune d'elles (AUDIGIE *et al.*, 1995).

Sous l'influence d'un champ électrique, les différentes fractions protéiques de l'échantillon migrent à des vitesses différentes ce qui aboutit à leur séparation plus ou moins parfaite sous forme de zones distinctes et l'identification de cinq fractions protéiques. L'électrophorégramme permet de révéler l'albumine et quatre groupes de globulines  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  (figures 04 et 05) (HACHULLA, 1996).



**Figure 04** : Plaques d'acétate de cellulose.

**Figure 05** : Profil électrophorétique avec 5 fractions.

Selon AUDIGIE *et al.* (1995), les bandes d'acétate doivent être homogènes, poreuses, physiquement et chimiquement inactives. Ces bandes sont fragiles, mais elles limitent la diffusion des molécules à séparer.

### I.2.2.4. Electrophorèse capillaire (EC)

#### I.2.2.4.1. Principe :

L'électrophorèse capillaire correspond à une adaptation de la méthode générale d'électrophorèse (ROUESSAC et ROUESSAC, 2009) ; c'est un compromis entre électrophorèse classique et chromatographie liquide haute performance. Le principe est basé sur la migration différentielle sous l'effet d'un champ électrique, des espèces neutres ou chargées, dans un capillaire étroit rempli d'électrolytes (BURGOT et BURGOT, 2011).

#### I.2.2.4.2. Mécanisme de migration :

La séparation des composés par électrophorèse capillaire résulte de deux mécanismes de transport, l'électromigration et l'électro-osmose.

##### I.2.2.4.2.1. La migration électrophorétique (Électromigration):

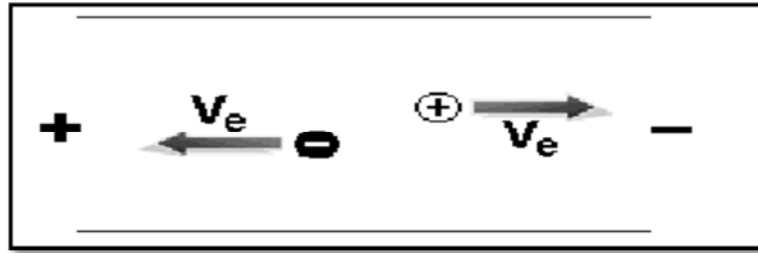
D'après TAVERNA *et al.* (2003), l'électromigration résulte du déplacement d'une espèce chargée lorsqu'elle est soumise à un champ électrique. La vitesse linéaire acquise (ou vitesse électrophorétique) est alors fonction du champ électrique et de la mobilité électrophorétique de l'ion selon la relation suivante :

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

**Avec :**

- $v_{ep}$  : vitesse électrophorétique (cm. s)
- $E$  : champ électrique (V · cm)
- $m_{ep}$  : mobilité électrophorétique (cm<sup>2</sup> · V · s)

La mobilité électrophorétique d'une espèce chargée est fonction de sa charge électrique et de sa taille. Le transport des cations s'effectue dans le sens du champ électrique et le transport des anions dans le sens opposé (figure06).

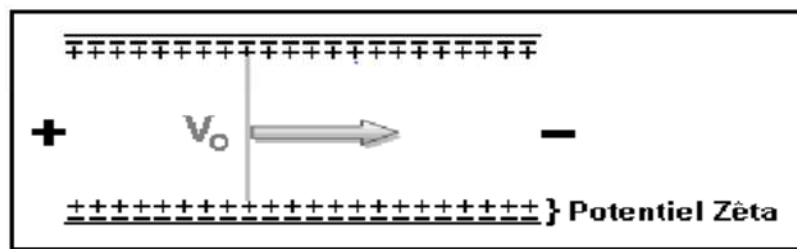


**Figure 06** : Représentation de la mobilité électrophorétique (LACROIX, 2007).

**I.2.2.4.2.2. La migration électroosmotique :**

Phénomène parasite en électrophorèse traditionnelle, la migration électroosmotique est à la base des séparations en électrophorèse capillaire. En effet, les parois des capillaires en silice fondue portent des groupements silanols « SiOH » chargés négativement pour des  $\text{pH} > 2$ . Les groupements silanols au contact de l'eau s'ionisent en  $\text{SiO}^-$  (BURGOT G et BURGOT J-L, 2011).

Ces sites anioniques fixes attirent des cations présents dans la solution et les ordonnent en deux couches dont l'une est collée à la paroi et l'autre quelque peu mobile. Entre ces deux couches naît le potentiel zêta. Lors de l'établissement d'un champ électrique tangentiel à cette interface, les cations de charge opposée à celles de la surface du capillaire de silice migrent vers la cathode et entraînent avec eux les molécules électrolytiques de l'échantillon: c'est le flux électroosmotique (FEO) (figure 07) (KORCHANE, 2014).



**Figure 07** : Représentation du flux électroosmotique (LACROIX, 2007).

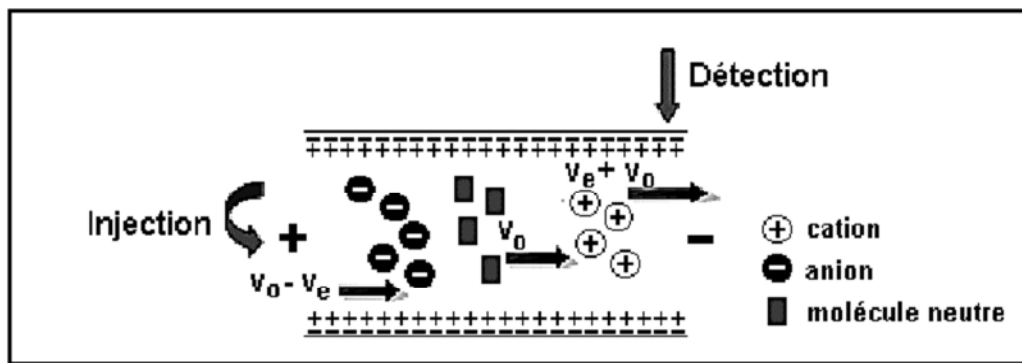
La vitesse linéaire de cet écoulement ( $v_{eo}$ ) est alors proportionnelle à l'intensité du champ électrique  $E$  et à la mobilité électroosmotique  $m_{eo}$  (TAVERNA *et al.*, 2003) :

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

Selon LACROIX (2007), la migration des molécules provient de la somme des vitesses de ces deux phénomènes. Ainsi, lorsqu'un champ électrique est appliqué, les cations

se déplacent à une vitesse correspondant à la somme des flux électrophorétiques et électroosmotiques.

Les molécules neutres ne dépendent que du FEO et les anions sont plus retenus, car leur vitesse correspond à la somme des flux électroosmotiques et des migrations électrophorétiques opposées au champ électrique (figure 08).



**Figure 08** : Principe de la séparation en électrophorèse capillaire (LACROIX, 2007).

#### **I.2.2.4.3. Les modes de séparation en électrophorèse capillaire :**

##### **I.2.2.4.3.1. Électrophorèse capillaire de zone (CZE) :**

C'est la méthode la plus simple et la plus utilisée des modes d'électrophorèse capillaire. La séparation repose sur les différences de mobilité électrophorétique existant entre les analytes à séparer. Le mécanisme de séparation des molécules est basé sur leur différence de taille et de charge à un pH donné (BLESSUM *et al.*, 1999).

La CZE est surtout utilisée pour des applications biologiques, notamment pour la séparation des peptides et le dosage des différentes fractions des protéines du sérum sanguin (PETITJEAN *et al.*, 2001).

##### **I.2.2.4.3.2. Electrophorèse en mode micellaire ou chromatographie électrocinétique micellaire (MECC) :**

En EC, la séparation des molécules neutres est restée un problème jusqu'à l'introduction de la chromatographie électrocinétique micellaire par Terabe en 1984 (BURGOT G et BURGOT J-L, 2011). Bien qu'il s'agisse de séparations électrocinétiques, la dénomination chromatographie vient du principe de ce mode. En effet, il est fondé sur le partage du soluté entre la phase micellaire et la solution. Un tensioactif

anionique ou cationique est ajouté au tampon de séparation à une concentration supérieure à sa concentration micellaire critique. La vitesse de migration d'un composé est fonction de son coefficient de partage entre le cœur hydrophobe des micelles et la phase aqueuse ionique. Bien que cette technique ait été développée à l'origine pour la séparation des composés neutres, la MECC représente aussi un moyen de séparer des composés chargés qui ont des mobilités électrophorétiques voisines en utilisant des tensioactifs chargés, neutres ou amphotères. La séparation des analytes dépend d'une combinaison de facteurs : le rapport charge/masse, l'hydrophobicité et les interactions de charges à la surface des micelles chargées (KORCHANE, 2014).

### **I.2.2.4.3.3. Électrophorèse capillaire sur gel (CGE) :**

Cette méthode est inspirée de l'électrophorèse sur gel conventionnel. Une matrice permettant un tamisage moléculaire est présente dans le capillaire et de façon à conférer à toutes les protéines une charge négative et une mobilité électrophorétique identique, les séparations sont réalisées en présence de SDS. Le mécanisme principal de séparation est fondé sur les différences de taille des protéines quand celles-ci migrent à travers les pores du gel. Les gels utilisés sont généralement constitués de copolymères acrylamide-bisacrylamide (KORCHANE, 2014). Avec ce type de gel à porosité défini, les molécules sont séparées dans l'ordre décroissant de leur mobilité électrophorétique. Généralement les molécules les plus petites sortent les premières (SINE, 2003).

### **I.2.2.4.3.4. Électrophorèse capillaire à focalisation isoélectrique (CIEF) :**

Cette technique également connue en électrophorèse sur support, consiste à créer un gradient de pH linéaire dans un capillaire à paroi traitée contenant un ampholyte et les analytes à séparer. Les extrémités du capillaire sont placées dans une solution basique (généralement NaOH) et une solution acide (généralement H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Sous l'effet du champ électrique les différents analytes se focalisent à leur point isoélectrique pI (sa charge nette est nulle) (SINE, 2003). Ensuite, sous l'effet d'une pression hydrostatique et en maintenant le champ électrique (pour prévenir un éventuel mélange des bandes focalisées), on déplace les espèces séparées vers le détecteur capillaire (ROUESSAC F et ROUESSAC A, 2009).

### **I.2.2.4.3.5. Électrochromatographie capillaire (ECC) :**

L'électrochromatographie capillaire combine le principe de la chromatographie liquide (phase stationnaire) et celui de l'électrophorèse capillaire (FEO). Les espèces neutres vont se partager comme en chromatographie liquide entre la phase stationnaire et la phase mobile alors que les séparations de l'espèce chargée combinent les deux phénomènes de partage et de migration électrophorétique (CHEVASSUS et HINFRAY, 2000).

### **I.2.2.4.3.6. Isotachophorèse capillaire (ITP) :**

Cette technique nécessite la suppression du flux électroosmotique puisqu'il est nécessaire que l'état stationnaire soit atteint, comme dans le cas de la CIEF. Toutefois, dans le cas présent, cet état stationnaire ne correspond pas à un état de charge nulle pour tous les analytes mais à leur déplacement à vitesse électrophorétique identique, d'où la dénomination de cette technique. Elle ne s'applique qu'à des substances ionisées homogènes au plan des charges, c'est à dire soit à des anions soit à des cations. Par suite il n'est pas envisageable avec cette technique de séparer simultanément des anions et des cations en une seule injection comme c'est le cas en CZE. Elle est réalisée en plaçant l'échantillon entre deux électrolytes, un ion meneur rapide qui possède une mobilité électrophorétique supérieure à celle des composés à analyser et un ion terminal lent qui possède une mobilité électrophorétique supérieure à celle des analytes (VAUBOURDOLLE, 2007).

### **1.2.2.4.4. Les applications de l'électrophorèse capillaire**

Selon TAVERNA *et al.* (2003), l'électrophorèse capillaire (EC) a été initialement développée pour l'analyse de protéines, de manière à proposer une méthode plus rapide et générant moins de déformations de bandes que l'électrophorèse classique.

Par ailleurs, le champ d'application de l'EC s'est considérablement étendu, notamment à l'analyse des petites molécules, en mettant en œuvre les nombreux modes de séparation de cette technique. Quelques domaines d'applications de l'EC sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II** : quelques domaines d'application de l'électrophorèse capillaire (BURGOT G et BURGOT J-L, 2011):

<b>Domaine d'application</b>	<b>Exemples</b>
<b>Hydrologie</b>	Analyse des ions minéraux et pesticides
<b>Pharmaceutique</b>	-Mise en évidence des impuretés ; -dosage de principes actifs; -contrôle de la pureté optique.
<b>Biologie clinique</b>	-Electrophorèse des protéines sériques et urinaires ; -EP des lipoprotéines : LDL, HDL ; -EP des glycoprotéines et glycolipides ; -EP des acides nucléiques ; -dosage de médicament.
<b>Analyse d'explosifs</b>	-dosage d'anions inorganiques ; -dosage de composés neutres.
<b>Détermination de constantes physicochimiques</b> : pKa, point isoélectrique, constante cinétiques.	

### Objectif :

Le but de notre étude est de comparer l'électrophorèse des protéines sériques sur l'appareil d'électrophorèse capillaire (**Capillarys2 FLEX-PERCING SEBIA**) et sur celui de l'électrophorèse sur Acétate de cellulose (**TITAN III HELENA**) d'un point de vue analytique et pratique. Afin d'effectuer cette étude nous avons réalisées notre stage pratique au niveau de l'hôpital de CHU de Tizi-Ouzou.

### II.1. Matériel et méthodes

#### II.1.1. Matériel :

##### II.1.1.1. Matériel biologique :

Notre sérothèque contient des échantillons de patients externes ou adressés par les différents services de l'Hôpitalde CHU de Tizi-Ouzou. Le prélèvement sanguin destiné à la réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques est recueilli sur tube sec. Il est obtenu par ponction veineuse en général au pli du coude, avec garrot enlevé le plus rapidement possible. Il n'est pas indispensable d'être à jeûn. L'analyse est réalisée sur sérum après centrifugation à 3210tours/min pendant 2 min. Les 118sérums récoltés sont passés simultanément sur acétate de cellulose et sur électrophorèse en capillaire (Capillarys). Parfois, quand l'analyse est différée, les échantillons sont conservés au réfrigérateur (entre 2 à 8°C) pendant moins d'une semaine ou congelés (stabilité minimum, 1 mois). A noter qu'il faut éviter l'utilisation du plasma ou du sérum hémolysé.

##### II.1.1.2. Appareillage :

- **un système capillarys (sebia)** :Ce système permet la séparation de nombreux paramètres biologiques dont les protéines sériques. Le système Capillarys comprend huit capillaires parallèles en silice fondue de diamètre égal à 25µm, et de 18 cm de longueur. Les capillaires sont protégés par une gaine d'Aluminium. L'analyse se produit simultanément dans les huit capillaires dans un tampon de pH=9.9, et sous un voltage de plusieurs milliers de volts appliqué aux extrémités de chaque capillaire. L'injection des échantillons (dilués dans le tampon d'analyse) dans le capillaire est effectuée à l'anode par aspiration.

La détection directe des protéines est effectuée à 200 nm côté cathode. Pour l'électrophorèse des protéines sériques, le Capillarys de Sebia utilise un kit « protéine 6 » constitué d'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. Après migration, six fractions sont séparées dans l'ordre suivant :  $\gamma$ -globulines,  $\beta$ 1 et  $\beta$ 2-globulines,  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2-globulines, et albumine



**Figure 10:** Appareil d'électrophorèse capillaire Capillarys 2 FLEX-PIERCING, SEBIA(laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou)

**-unité d'électrophorèse sur cuve standard (HELENA) comprenant :**

- Cuve d'électrophorèse (chambre de migration, plaque d'acétate de cellulose (TITAN III 3023, 60 X 75 mm), applicateur d'échantillon (8 positions), masque applicateur, embase d'alignement, portoir, papier absorbant et générateur de courant continu (Sebia) (annexe2).
- densitomètre (Helena junior EC 24) ;



**Figure 12 :**Appareil d'électrophorèse sur acétate de cellulose : chambre de migration et densitomètre

- étuve à 37°C- 40°C (Memmert);
- centrifugeuse de paillasse (Nahita MULTIBAS CENTRIFUGE) ;
- automate (ARCHITECT PLUS, CI 4100) ;
- agitateur magnétique ;
- distillateur d'eau (PURE-HIT STILL BHANU) ;
- pH mètre.

### II.1.1.3. Produits chimiques :

- Solvants** : acide acétique, solution tampon véronal, méthanol, réactif d'éclaircissement (polyéthylène glycol PEG) (annexe1).
- Colorant** : rouge ponceau (annexe1).

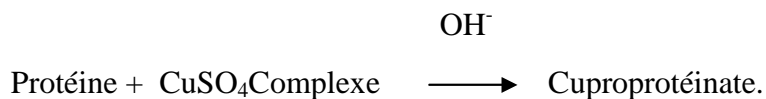
### II.1.1.4. Petit matériel :

Matériel de laboratoire à usage fréquent : verrerie ( fioles jaugées, pipettes graduées...), gants, micropipette, ciseau, pince...

### II.1.2. Méthode :

#### II.1.2.1. Dosage de la protéinémie (TP) :

Afin d'accompagner les résultats de l'électrophorèse, nous avons déterminé la teneur en protéines totales de chaque prélèvement. Cela nous permettra d'exprimer chaque fraction en gramme par litre (g/L). Nous avons dosé les protéines totales par la méthode automatique (ARCHITECT PLUS, CI 4100) adoptant le principe de la méthode de Biuret. Cette méthode permet d'obtenir un dosage rapide des protéines ; en milieu alcalin, les ions de cuivre ( $\text{Cu}^{++}$ ) réagissent avec les liaisons peptidiques des protéines et forment un complexe pourpre caractéristique, avec une coloration violette photométrique selon l'équation suivante :



L'intensité de coloration du complexe Cu-protéines est proportionnelle à la concentration en protéines.

#### II.1.2.2. Électrophorèse des protéines sériques sur Capillarys :

Les sérums recueillis après centrifugation sont classés par nombre de huit et placés dans le portoir ainsi que la barrette de dilution (figure13). Le programme utilisé est "protéines 6". A la fin de l'initialisation du programme, on introduit le portoir puis l'automate réalise l'analyse. L'analyse terminée, les profils électrophorétiques correspondant à chaque sérum du portoir s'affichent sur l'écran. L'étape suivante consiste à introduire les renseignements des patients (nom et prénom, service et numéro de chaque patient) ainsi que le taux de protéines totales.

Avant chaque analyse, il faut vérifier le tampon (son volume), la solution de lavage, changer l'eau distillée contenue dans le réservoir d'eau et vider le réservoir de vidange.



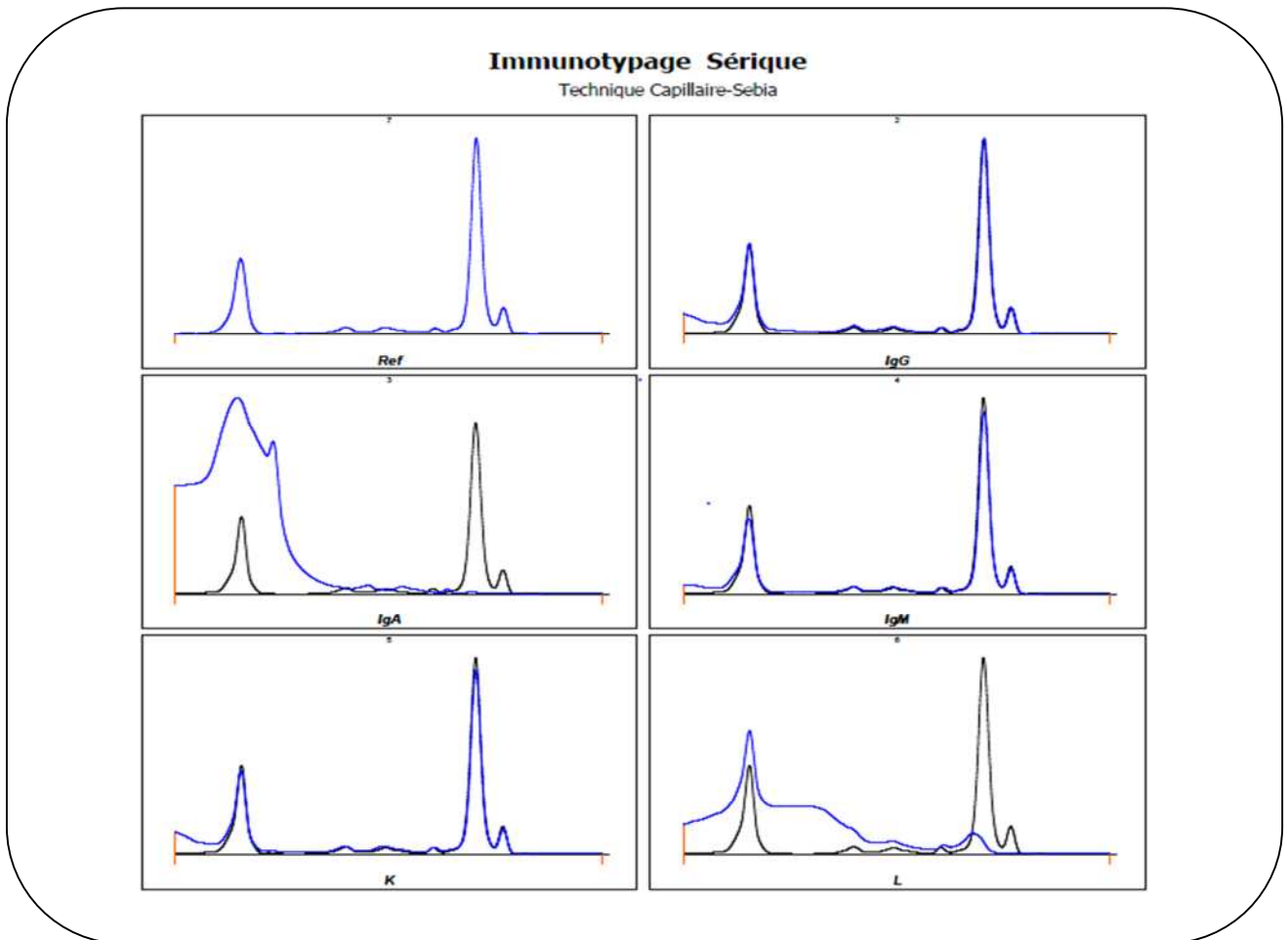
**Figure 13:** Portoir et barrette de dilution de l'électrophorèse capillaire.

### II.1.2.3. Immunosustraction sérique (Immunotypage) :

L'interprétation du protéinogramme obtenu par l'EPP permet de décider s'il serait nécessaire ou non d'ajouter une exploration complémentaire en cas d'anomalie évoquant une Igm.

Elle est effectuée sur Capillarys(2 FLEX-PIERCING, SEBIA) selon le principe d'une électrophorèse et sur des profils obtenus lors de l'injection dans le capillaire d'un sérum en présence des antisérums mono-spécifiques anti-Ig G, anti IgM, anti IgA, anti-kappa, anti-lambda.

La comparaison des profils antisérums avec le profil d'électrophorèse d'un patient permet de visualiser la disparition et/ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire la présence du composé monoclonal.



**Figure 14:** Illustration d'un résultat d'immunotypage par Immunosoustraction obtenu sur Capillarys (laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou)

#### II.1.2.4-Électrophorèse des protéines sériques sur acétate de cellulose :

La réalisation totale de la procédure prend environ 2 heures. L'analyse s'est effectuée sur 118 échantillons.

##### 1. Dépôt :

Avant de procéder au dépôt proprement dit, les plaques d'acétate de cellulose sont préalablement immergées dans une solution tampon durant 20 minutes. Les plaques sont ensuite pressées légèrement entre deux papiers buvards afin d'éliminer l'excès de liquide. On prélève à l'aide d'un applicateur quelques microlitres de sérum et on le dépose sur la plaque d'acétate de cellulose, chaque plaque peut contenir jusqu'à huit échantillons de sérum.

**2. Migration électrophorétique :**

La cuve d'électrophorèse comporte deux compartiments contenant la solution tampon à pH 8,6 et une électrode. Ces deux compartiments sont mis en relation par deux papiers contacts conducteurs imbibés de tampon et formant des ponts. Anode et cathode sont reliées à un générateur de courant continu. La plaque d'acétate de cellulose comportant les échantillons sériques est alors disposée dans la cuve d'électrophorèse, l'acétate de cellulose vers le bas. Le couvercle de la cuve est alors refermé et la cuve est mise sous tension de 180 volts durant 15 minutes.

**3. Coloration et décoloration :**


Immédiatement après la migration et sans séchage préalable, la plaque est révélée dans un bain colorant de rouge ponceau où elle est complètement immergée durant 6 minutes. La plaque est ensuite décolorée dans trois bains successifs d'acide acétique à 5 %, de 2 minutes chacun. À ce stade, la plaque présente des bandes de migration de couleur rose sur un fond blanc correspondant aux différentes fractions protéiques.

**4. Eclaircissement :**

La plaque est transférée dans un bain de méthanol pur où on la laisse trempée durant 4 minutes. La plaque est ensuite égouttée 10 à 15 secondes, puis transférée dans une solution éclaircissante, où elle y reste immergée pendant 10 minutes. Elle est ensuite égouttée, puis, pour que l'éclaircissement soit complet, la plaque est séchée dans une étuve chauffée à 37-40°C durant une dizaine de minutes.

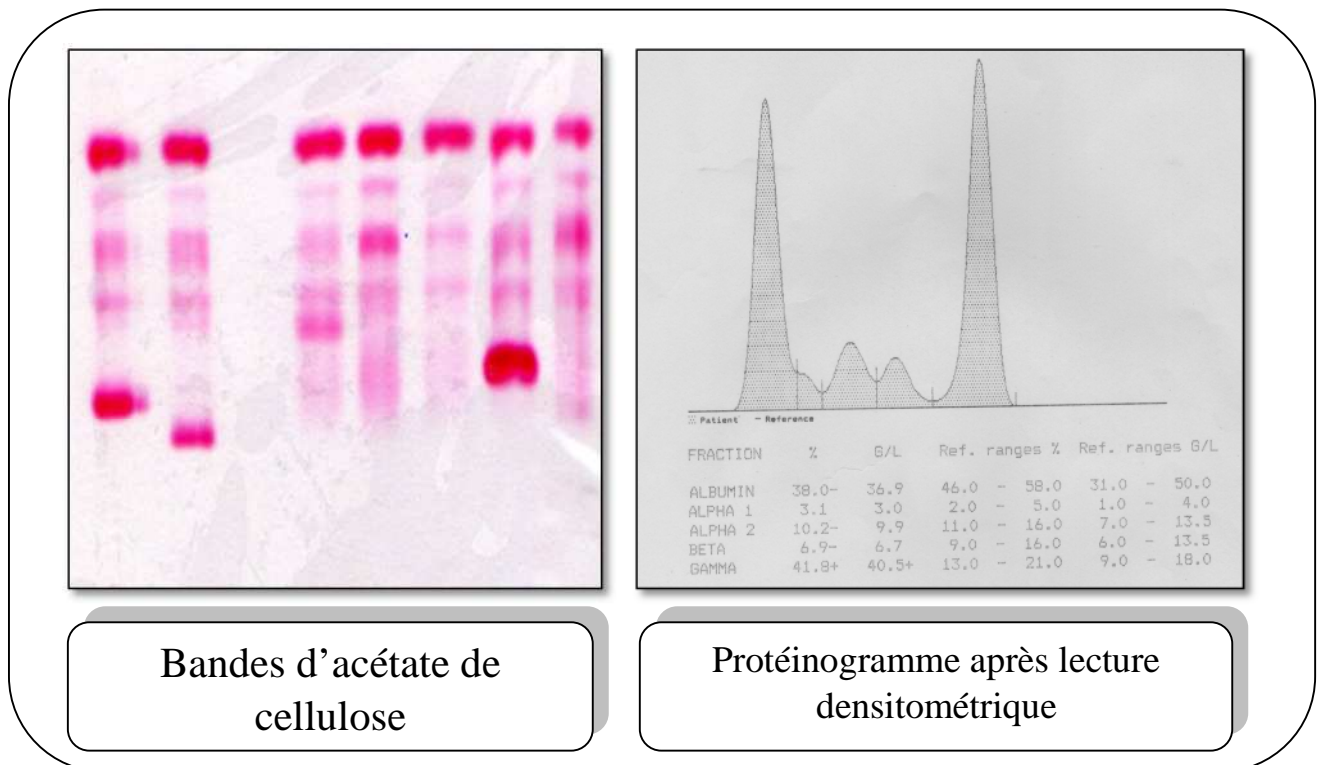
**5. Lecture par densitomètre :**

À la fin de toutes ces étapes, le résultat est visible sur la plaque d'acétate de cellulose. La plaque peut alors être lue par un densitomètre utilisant une longueur d'onde de 525 nm. Plus la concentration en protéines est forte dans une zone, plus la coloration est forte. Nous avons donc évalué les concentrations des différentes catégories de protéines par mesure optique de la densité de coloration sur la bande. L'intégration des bandes colorées est faite au densitomètre, ce qui permet de la traduire sous forme de courbe (profil électrophorétique) qui pourra être ensuite analysée et interprétée.

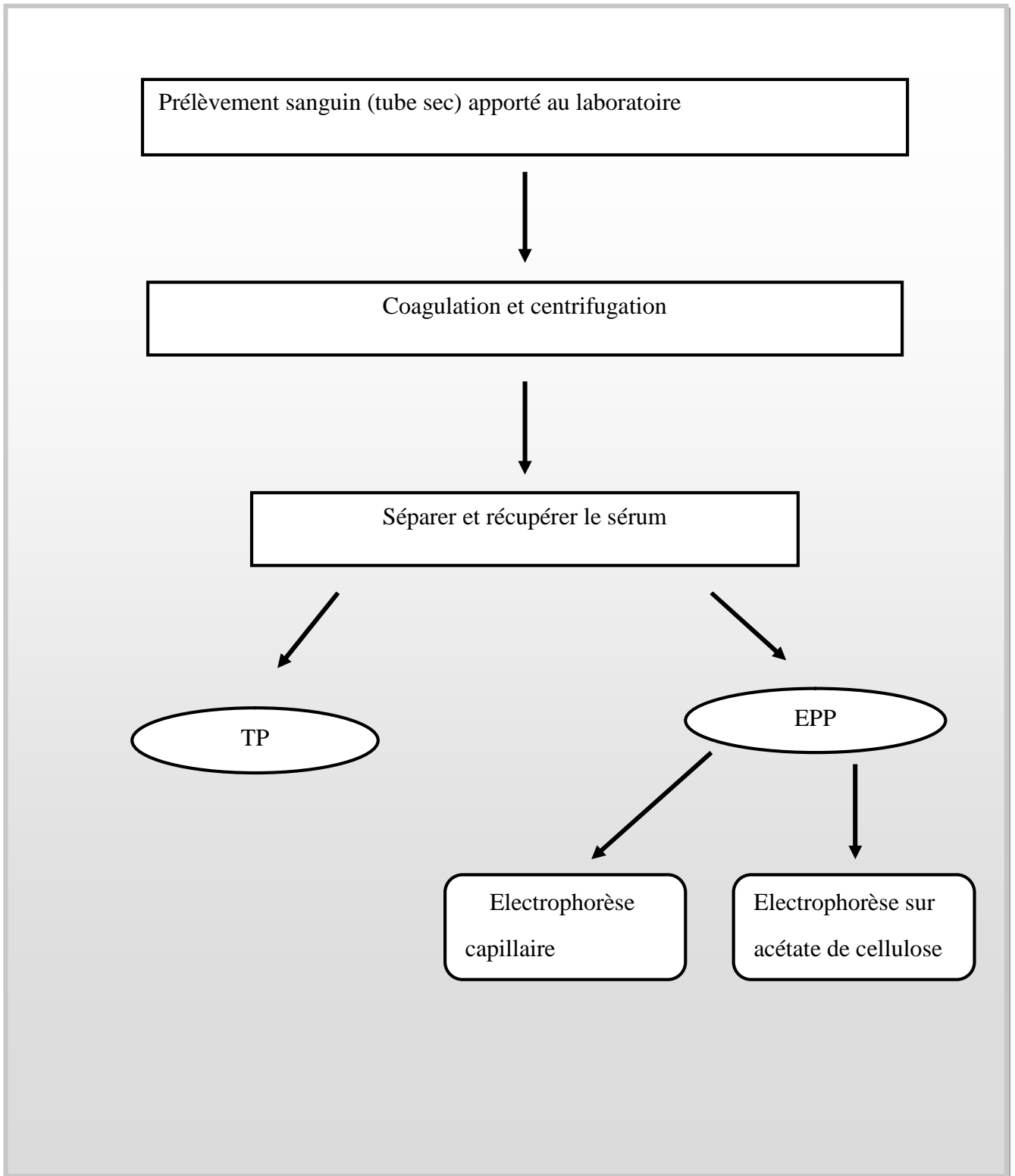
** Quelques précautions à prendre lors d'une électrophorèse des protéines sériques sur acétate de cellulose :**

L'électrophorèse des protéines sériques doit être réalisée selon un protocole strict afin d'obtenir des tracés interprétables et similaires :

- il faut bien vérifier l'intégrité du support (bulle, dessèchement, décollement...);
- changer le tampon dans la cuve : ne pas faire plusieurs séries avec le même tampon car sinon, celui-ci s'appauvrira en charges et la longueur de migration sera raccourcie;
- lors de la préparation du colorant, il faut filtrer pour ôter les petits précipités qui peuvent se déposer sur la plaque et gêner l'intégration;
- il faut travailler uniquement sur sérum lors d'une électrophorèse des protéines, et écarter tous les sérums hémolysés ou lipémiques (provenant d'une mauvaise technique de prélèvement ou une mauvaise conservation de l'échantillon sanguin), afin d'obtenir des tracés similaires et interprétables.



**Figure 15:** Résultat d'une EPP réalisée sur acétate de cellulose (laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou)



**Figure 16** : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'exploration électrophorétiques par les deux techniques

**II.1.3.Répartition des profils :**

Dans notre travail, les 118 échantillons analysés sur les deux appareils (capillarys et plaques d'acétate de cellulose) ont été utilisés dans la comparaison des pourcentages des fractions protéiques.

Les valeurs de référence utilisées pour la comparaison des résultats sont les valeurs établies par le fournisseur (tableau III).

**Note :** Pour la fraction de bêta globuline vue de la présence de deux fractions  $\beta_1$  et  $\beta_2$  sur Capillarys on a eu recours à l'addition des deux fractions ( $\beta-1$  et  $\beta-2$  globuline) pour comparer avec  $\beta$  sur acétate de cellulose.

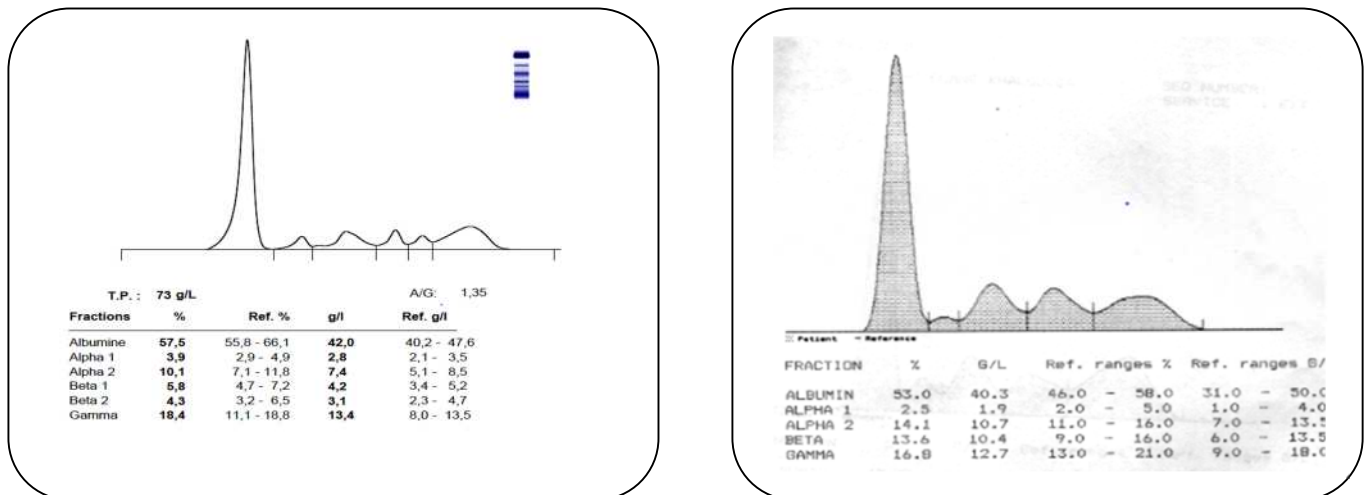
**Tableau III :** Valeurs normales (en %) de Capillarys et sur support d'acétate de cellulose pour les fractions protéiques (valeurs fournies par le fournisseur).

Les fractions	Capillarys (%)	Acétate de cellulose (%)
Albumine	55,8-66,1	46,0-58,0
$\alpha_1$ globulines	2,9-4,9	2,0-5,0
$\alpha_2$ globulines	7,1-11,8	11,0-16,0
$\beta_1$ globulines	4,7-7,2	9,0-16,0
$\beta_2$ globulines	3,2-6,5	
Gammaglobulines	11,1-18,8	13,0-21,0

Deux groupes de profil ont été obtenus suite à cette comparaison

**- profil protéique normal :**

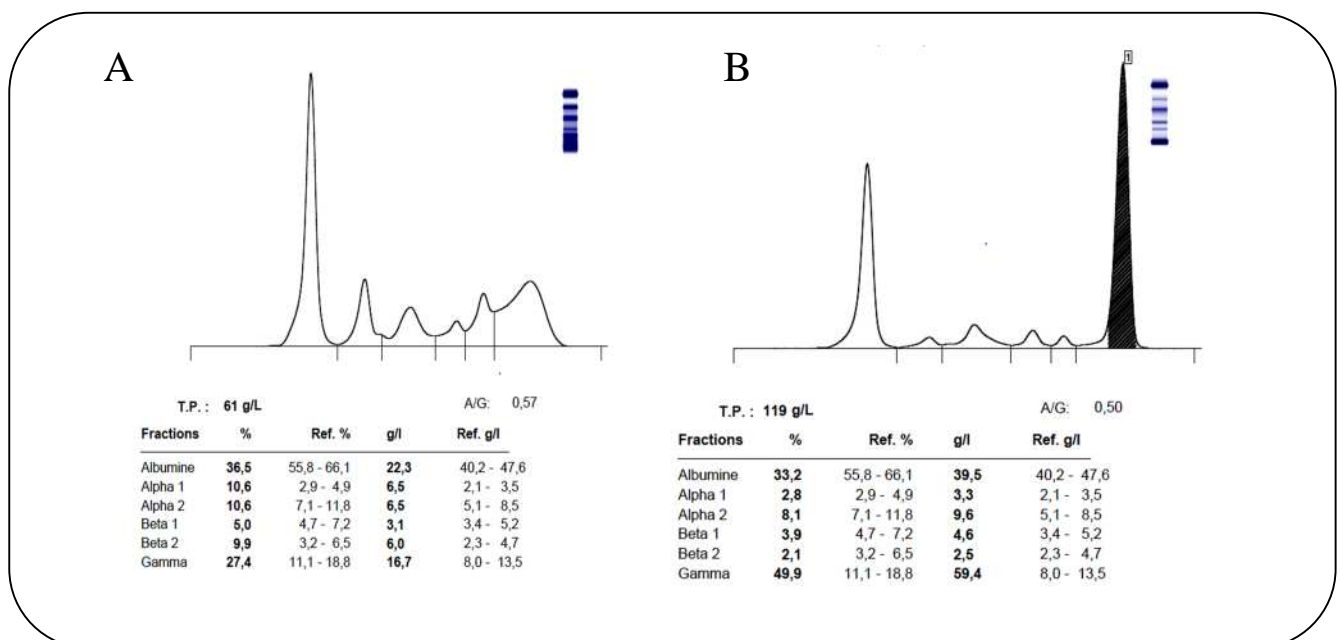
Est constitué de 26 profils électrophorétiques dénués de toute irrégularité quelle que soit sa localisation (figure 17 et 18).



**Figure 17:** Profil d'allure normale obtenu sur CapillaryS. **Figure 18:** Profil d'allure normale obtenu sur acétate de cellulose.

**- profil protéique pathologique :**

Ce deuxième groupe consiste en 92 profils électrophorétiques présentant dans l'une ou plus des fractions une quelconque irrégularité (révélation d'un composé mono- ou oligoclonal...)



**Figure 19:** Exemple de profil pathologique obtenu sur CapillaryS (laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou) : A) une réaction inflammatoire chronique évolutive importante. B) une gammopathie monoclonale.

### II.1.4. Exploration statistique :

Les logiciels utilisés lors de notre étude statistique sont : Microsoft office Excel 2007 et le logiciel Statistica.

Dans notre travail la comparaison des deux techniques inclura la détermination de la corrélation de Pearson, l'étude de la concordance et des valeurs diagnostiques (la sensibilité et la spécificité)...

#### II.1.4.1. Comparaison des moyennes

Le Test de Student a été utilisé pour la comparaison des moyennes des cinq fractions (Albumine, alpha1 globulines, alpha2 globulines, beta globulines et Gamma globulines) exprimés en pourcentages (%) par les deux techniques. La limite de significativité a été fixée à 0,05.

#### II.1.4.2. Etude de la corrélation:

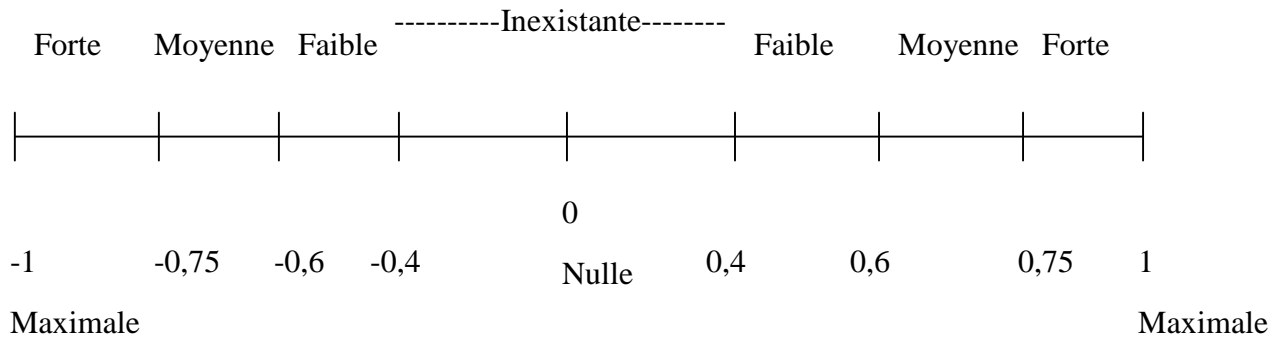
Cette étude a été faite par le logiciel Microsoft Excel 2007 permettant l'obtention de coefficient de corrélation et les droites de régression

**Coefficient de corrélation** : Ce coefficient à des valeurs extrêmes de zéro (aucune liaison) à 1 (liaison maximale), donc plus on se rapproche de 1, plus la liaison entre les deux paramètres étudiés est importante.

Deux types des profils électrophorétiques (normale et pathologique) ont été distingués. Pour chaque type, cinq coefficients de corrélations ( $R^2$ ) et cinq droites de régression ( $Y = ax+b$ ) correspondant aux cinq fractions (Albumine, alpha1 globulines, alpha2 globulines, beta globulines et Gamma globulines) effectués sur Capillarys et acétate de cellulose ont été déterminés.

#### **Interprétation du coefficient de corrélation**

Lorsque le coefficient est calculé, nous avons reporté sur la droite suivante pour interpréter les résultats de corrélation obtenus.



Si  $r = 0$  : corrélation nulle

Si  $r = 1$  : corrélation positive et parfaite

Si  $r = -1$  : corrélation négative et parfaite

**II.1.4.3. Etude des valeurs diagnostiques :**

Dans notre travail on à calculer les valeurs diagnostique du Capillarys par rapport à l'acétate de cellulose et celle de l'acétate de cellulose par rapport au Capillarys (la sensibilité, la spécificité, VPP et VPN).

Soit le tableau des résultats (+ et -) suivant :

		<b>A</b>		
		+	-	
<b>B</b>	+	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>a + b</b>
	-	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>c + d</b>
		<b>a + c</b>	<b>b + d</b>	

Les formules correspondantes à chaque valeur diagnostique sont :

- Sensibilité =  $\frac{a}{a+c}$
- Spécificité =  $\frac{d}{b+d}$
- VPP =  $\frac{a}{a+B}$
- VPN =  $\frac{c}{c+d}$

II.1.4.4. Etude de la concordance :

L'étude de la concordance entre les deux appareils avec son coefficient kappa qui définit la qualité de la concordance.

🚦 Calcul de coefficient kappa (k) :

Soit le tableau des résultats (positifs (+) et négatifs (-)) pour 2 examinateurs A et B (LEGRAS, 1998)

		A		
		+	-	
B	+	a	b	N1
	-	c	d	N2
		n1	n2	N

Avec :

$$N1 = a + b$$

$$N2 = c + d$$

$$n1 = a + c$$

$$n2 = b + d$$

$$N = N1 + N2$$

La concordance observée est  $p_0 = \frac{a+d}{N}$

$a' = \frac{n1 \cdot N1}{N}$  et  $d' = \frac{n2 \cdot N2}{N}$  sont les effectifs théoriques et  $p_c = \frac{a'+d'}{N}$  ( $p_c$  est la concordance calculée).

On détermine le rapport :  $kappa = \frac{p_0 - p_c}{1 - p_c}$

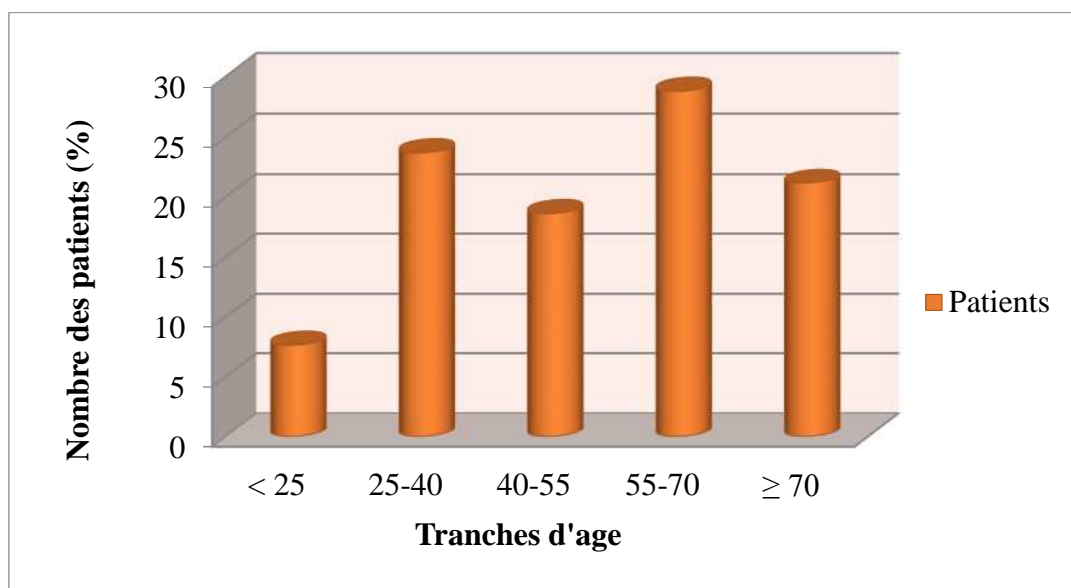
-Landis et Koch ont proposé un classement de l'accord en fonction de la valeur de Kappa présenté dans le tableau suivant :

**Tableau IV** : Degré d'accord et valeur de Kappa proposé par Landis et Koch(BERGERI et al.,2002)

Accord	Kappa
Excellent	$\geq 0,81$
Bon	0,80 - 0,61
Modéré	0,60 - 0,41
Médiocre	0,40 - 0,21
Mauvais	0,20 - 0,0
Très mauvais	$< 0,0$

**II.2. Résultats et discussions****II.2.1. Résultats****II.2.1.1. Description de la sérothèque****II.2.1.1.1. Répartition des patients selon l'âge :**

L'âge moyen des patients de la série étudiée est de 52ans, avec des extrêmes d'âge de 17 et 89ans. La distribution des patients de notre série selon l'âge est représentée dans la figure suivante.

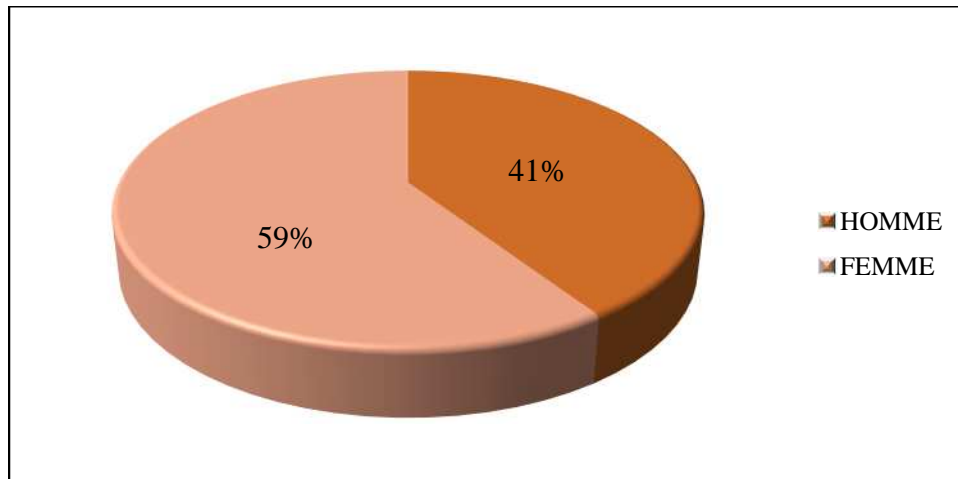


**Figure 20:** Représentation graphique de la répartition des patients selon l'âge

Il ressort de ce graphe que la tranche d'âge la plus fréquente est celle comprise entre 55 et 70 ans, soit 28.81 % de notre population étudiée. Les autres tranches d'âges sont réparties comme suite : 7.63% d'individus âgés de moins de 25 ans, 23.73% âgés entre 25 et 40 ans, 18.64 % âgés entre 40 et 55 ans et 21.19 % d'âge supérieur à 70 ans. Cela indique que la moitié de la population étudiée avait un âge plus avancé (> 56 ans).

**II.2.1.1.2. Répartition des patients selon le sexe :**

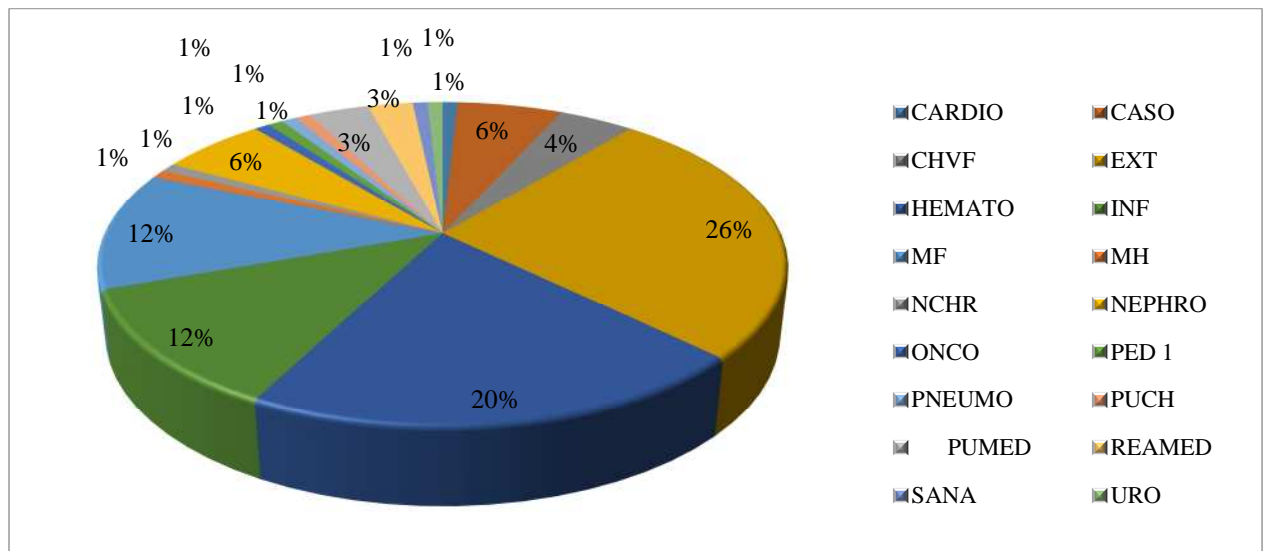
La série étudiée comprend 48 patients de sexe masculin et 70 de sexe féminin, soit respectivement 41% et 59% de l'ensemble des cas. La sex-ratio Homme/Femme est équivalente à 0.69, cela indique une prédominance féminine. Le graphe suivant montre la répartition des patients de notre série selon le sexe.



**Figure 21:** Représentation graphique de la répartition des patients selon le sexe.

**II.2.1.1.3. Répartition des patients selon le service d’admission :**

La majorité des patients sont des malades consultant à titre externes (26 %) et au service d’hématologie (20%). Les patients suivis au niveau du service infectieux et médecine femme représentent 12 % pour chaque un de l’ensemble des patients de l’étude, le reste des patients de notre population sont distribués entre les autres services avec des pourcentages ≤ 6% (annexe 6 et figure 22).



**Figure 22 :** Répartition des patients selon le service d’admission.

**II.2.1.2. Description des fractions protéiques :**

Notre étude a concerné 118 sérums. On constate au sein de cette sérothèque que les pourcentages des différentes fractions protéiques se distribuent autour de quelques valeurs descriptives telles que : le minimum, le maximum et la moyenne.

Ces paramètres descriptifs sont rassemblés dans le tableau V dont on remarque, des différences entre les moyennes correspondantes à chaque fraction mesurée par les deux méthodes. Pour les albumines la moyenne obtenue sur le Capillarys est de 48.91% contre 46.68% sur acétate de cellulose, les alpha1 et Alpha2 avec 5.24 % et 12.51% respectivement sur Capillarys, 3.99% et 14.47 % respectivement sur acétate de cellulose. La moyenne de Béta est de 11.66 % sur Capillarys alors que sur acétate de cellulose est de 13.35 % et enfin, la fraction de gamma présente une moyenne de 20.66% et 20.83 % sur Capillarys et acétate de cellulose respectivement.

**Tableau V:** Description des différentes fractions protéiques en fonction de la technique de mesure

		Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Beta	Gamma
Capillarys	Maximum(%)	67,1	13,3	32,7	54,5	64,3
	Minimum(%)	19,4	2,4	3	4,2	0,7
	Moyenne(%)	48,91	5,24	12,51	11,66	20,66
	Ecart type(%)	10,35	2,26	4,39	5,39	10,52
Acétate de cellulose	Maximum(%)	74,6	39	42,5	31,8	63,9
	Minimum(%)	19,9	0,8	1,7	5	3,3
	Moyenne(%)	46,68	3,99	14,47	13,35	20,83
	Ecart type(%)	9,87	3,95	6,01	4,27	10,84

Pour savoir plus sur ces différences de moyenne entre les deux techniques on les a comparées en utilisant le test de Student. Les moyennes et les degrés de signification(P) de chaque fraction protéique mesurée par les deux techniques : l'électrophorèse capillaire et sur acétate de cellulose sont donc représentés dans le tableau suivant.

**Tableau VI:** Valeurs des moyennes et de degré de significativité de chaque fraction protéique mesurée par les deux techniques électrophorétiques.

		Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Beta	Gamma
Capillarys	Moyenne (%)	48,91	5,24	12,51	11,66	20,66
Acétate de cellulose	Moyenne (%)	46,68	3,99	14,47	13,35	20,83
	P	0.0005	0.001	0.066	0.002	0.68

A partir de tableau précédent on constate :

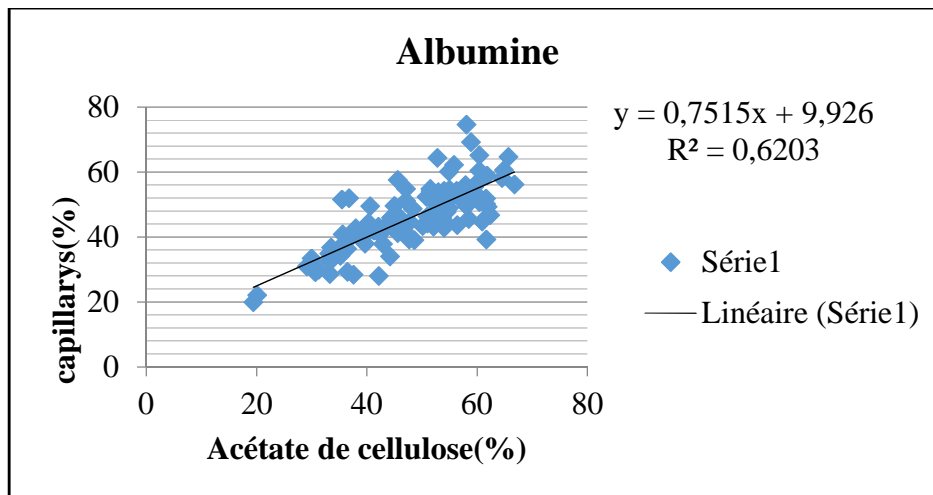
- des différences significatives pour les fractions albumine, alpha1 et béta globuline( $p=0.0005$ ,  $p=0.001$  et  $p=0.002$  respectivement) ;
- aucune différence significative pour les deux fraction qui reste (les alpha 2 et les gamma-globulines avec un  $p > 0.05$ ).

### II.2.1.3. Etude des corrélations :

Nous avons étudié la corrélation entres les fractions protéiques mesurées par les deux techniques. ( $R^2$  est le coefficient de détermination de la droite de corrélation)

#### A. Albumine :

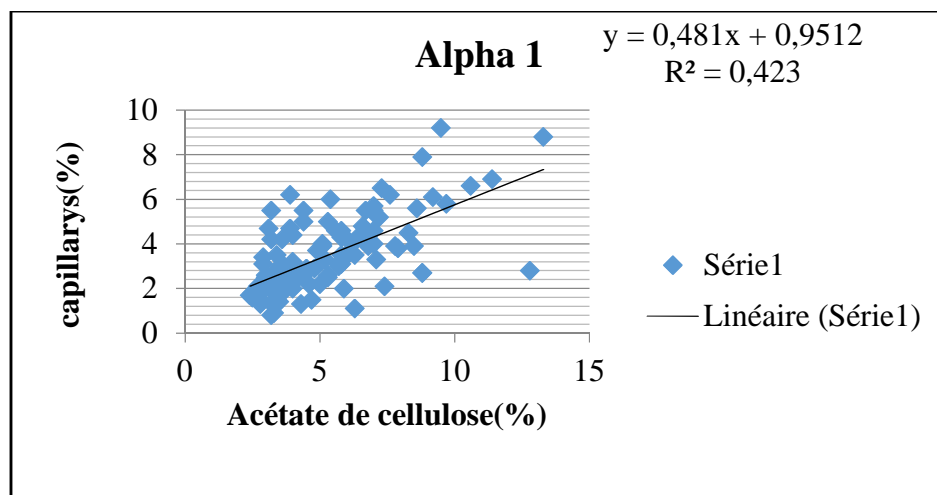
On constate une corrélation fortement positive entre la fraction d'albumine mesurée par Capillarys et celle mesurée sur bandes d'acétate de cellulose avec un coefficient de corrélation rde + 0.79. La représentation graphique de cette corrélation est rapportée par la figure 23.



**Figure 23:** Droite de corrélation de la fraction albumine en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose

### B. $\alpha$ 1-globuline :

En ce qui concerne la zone alpha1 globuline, la corrélation obtenue est moyennement positive. Le coefficient de corrélation  $r$  est de +0,65. La figure 16 qui suit montre les détails de cette corrélation.



**Figure 24:** Droite de corrélation de la fraction alpha1 en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose.

### C. $\alpha$ 2-globuline :

La comparaison des mesures de cette fraction sur les deux appareils met en évidence une corrélation fortement positive, avec un coefficient de corrélation  $r$  égal à +0,78. La figure suivante montre les détails de la corrélation.

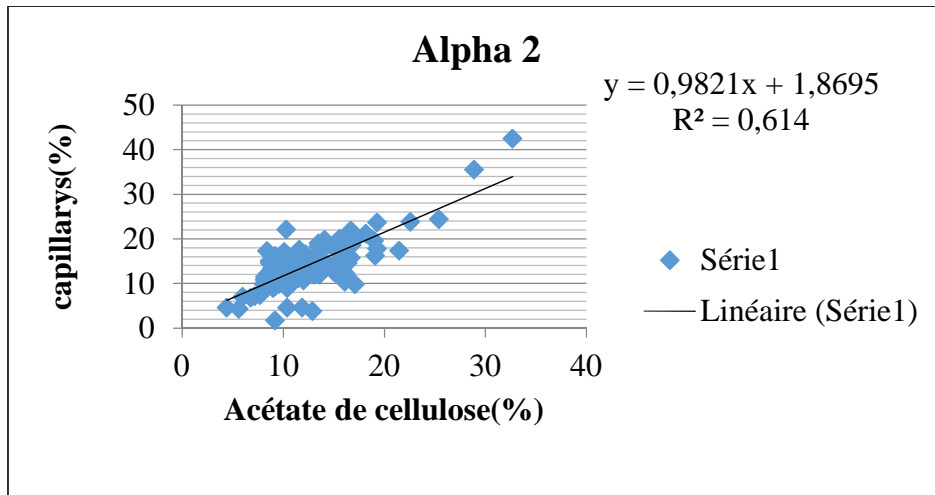


Figure25: Droite de corrélation de la fraction alpha2 en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose.

**D. β-globuline :**

Cette fraction protéique mesurée sur les deux appareils montre une corrélation faiblement positive. Le coefficient de corrélation rest de + 0.57.

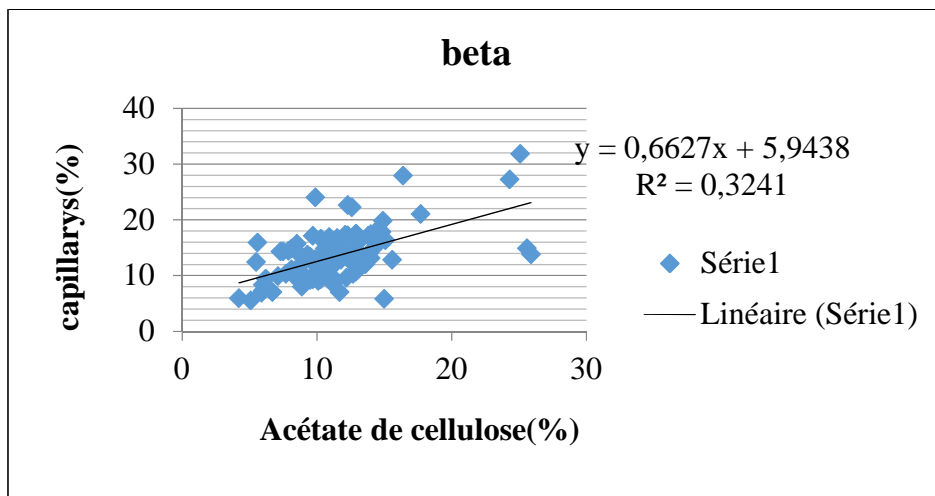


Figure 26: Droite de corrélation de la fraction beta en % mesurée sur Capillarys et sur acétate de cellulose.

**E. Les γ-globuline :**

Une corrélation fortement positive est obtenue pour cette fraction avec un coefficient de corrélation r de +0,91. La figure 19 représente les détails de cette corrélation.

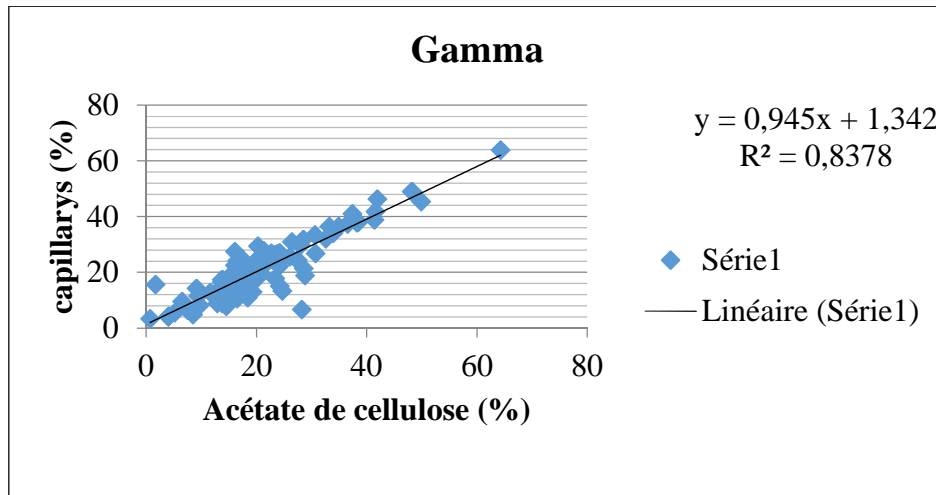


Figure 27: Droite de corrélation de la fraction gamma en % mesurée sur Capillarys et suracétate de cellulose.

II.2.1.4. Valeur diagnostique:

A. Valeur diagnostique de Capillarys par rapport à acétate de cellulose :

Pour les différentes fractions protéiques, nous avons étudié la valeur diagnostique du Capillarys en prenant comme technique de référence l'électrophorèse sur acétate de cellulose.

Les résultats sont représentés sur le tableau suivant.

Tableau VII : Valeurs diagnostiques de Capillarys par rapport à acétate de cellulose :

Fractions	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Albumine	39 %	61 %	57 %	57 %
Alpha 1	52 %	49%	39 %	36 %
Alpha2	63 %	59 %	65%	43 %
Beta	59 %	82 %	50 %	13 %
gamma	76 %	68 %	80 %	38 %

VPP : Valeur prédictive positive.

VPN : valeur prédictive négative.

**B. Valeur diagnostique d’acétate de cellulose par rapport au Capillarys:**

Nous avons étudié aussi la valeur diagnostique de l’électrophorèse sur bandes d’acétate de cellulose en prenant comme technique de référence l’électrophorèse capillaire.

**Tableau VIII :** Valeurs diagnostiques de l’acétate de cellulose par rapport à Capillarys:

Fractions	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Albumine	39 %	61 %	57 %	57 %
Alpha 1	41 %	61 %	53 %	51 %
Alpha2	56 %	50%	63 %	50%
Beta	50 %	87 %	59 %	18 %
Gamma	81 %	63 %	77 %	31 %

A partir des tableaux VII et VIII correspondant aux valeurs diagnostiques mesurées par l’électrophorèse capillaire et sur plaques d’acétate de cellulose, on constate qu’il y’a pas une différence importante entre les valeurs obtenues pour les différentes fractions protéiques. La différence observée entre les deux technique électrophorétiques se situe dans la fraction des  $\alpha$ -1 globulines où en remarque que sa valeur de sensibilité est de 52% sur Capillarys contre 41% par acétate de cellulose ;

**II.2.1.5. Etude de la concordance entre l’électrophorèse capillaire et l’électrophorèse sur acétate de cellulose :**

A partir des résultats obtenus, nous avons étudié la concordance entre les deux techniques pour la détection de chaque fraction électrophorétique, (Tableau IX).

L’albumine présente un coefficient kappa égal à 0.67, pour alpha 1 et alpha2 il est de 0.52 et 0.22 respectivement, on ce qui concerne les fractions bêta et gamma les valeurs de kappa sont respectivement 0.39 et 0.44.

**Tableau IX :** Concordance entre l'électrophorèse capillaire et l'électrophorèse sur bandes d'acétate de cellulose pour chaque fraction électrophorétique :

Fractions protéiques	Coefficient Kappa
Albumine	0.67
Alpha1	0.52
Alpha2	0.22
Béta	0.39
Gamma	0.44

#### II.2.1.6. Temps d'analyse :

Après avoir mesuré le temps consommé pour faire passer 8 sérums sur les deux techniques nous avons trouvé qu'il est de 21 minutes pour l'électrophorèse capillaire et 120 minutes pour l'électrophorèse sur acétate de cellulose.

**Tableau X :** Durée d'analyse des échantillons par les deux méthodes.

La technique	Electrophorèse capillaire	Electrophorèse sur plaques d'acétate de cellulose
Nombre d'échantillons analysés (sérums)	8	8
Durée d'analyse (min)	21	120

**II.2.2. Discussion****II.2.2.1. Point de vue analytique :**

Du point de vue qualitatif, nous avons constaté une inversion de sens de migration des fractions protéiques sur Capillarys par rapport à l'électrophorèse sur acétate de cellulose, dont la fraction protéique qui migre en premier lieu est celle des gammaglobulines (le premier pic correspond aux gammaglobulines (et non à l'albumine)). Cette inversion s'explique par le fort courant d'électro-endosmose, courant principal en électrophorèse capillaire (LE CARRER *et al.*, 2005 ; BACH-NGOHOU, 2005).

On peut également souligner l'absence de support matériel d'interprétation des tracés électrophorétiques sur Capillarys par rapport au support d'acétate de cellulose, qui permet un contrôle visuel de cohérence avec le tracé (notamment en cas de bandes monoclonales).

Il existe une grande similitude entre les tracés des deux appareils. Néanmoins, les tracés obtenus sur Capillarys sont plus fins que ceux obtenus par intégration sur plaques d'acétate de cellulose et révèle 6 fractions protéiques (albumine,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , et  $\gamma$ -globulines), contrairement au tracés obtenus par électrophorèse sur plaques d'acétate de cellulose qui présente 5 fractions protéiques (albumine,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ -globulines), et d'après une étude déjà faite par LEHMANN *et al.* (1997) et d'après KAREN (2012) cette différence de révélation est due à la meilleure résolution de Capillarys par rapport aux plaques d'acétate de cellulose (moins résolutive).

**II.2.2.1.1. Comparaison des moyennes :**

La comparaison des moyennes des cinq fractions de profils électrophorétique (Albumine, alpha1 globulines, alpha2 globulines, beta globulines et Gamma globulines) sur les deux techniques, a montré : des différences significatives pour les fractions albumine, alpha1 et bêta globulines où l'albumine et les alpha1 globulines sont significativement plus élevées sur le Capillarys. Aucune différence significative pour les deux fractions qui restent (les alpha 2 et les gamma- globulines).

### **II.2.2.1.2. Etude des corrélations**

Les deux méthodes présentent une bonne corrélation pour l'albumine ( $y=0.751x + 9.926$ ,  $r=0.79$ ),  $\alpha$ 1-globuline ( $y=0.481x + 0.951$ ,  $r=0.65$ ),  $\alpha$ 2-globuline ( $y=0.982x + 1.869$ ,  $r=0.78$ ) et  $\gamma$ -globuline ( $y=0.945x + 1.342$ ,  $r=0.84$ ) mais la corrélation des deux techniques pour les  $\beta$ -globuline est moins bonne ( $r=0.57$ ).

Nos résultats concordent avec ceux déjà décrits par YOSHINORI et HIROAKI(2001) qui ont constaté que ce résultat peut être dû à la différence de détection de la transferrine dans le sérum entre les deux techniques.

### **II.2.2.1.3. Valeur diagnostique**

Le Capillarys (Capillarys 2 FLEX-PIERCING, SEBIA) présente une sensibilité et une spécificité relative presque similaire à celle de l'électrophorèse sur acétate de cellulose pour la détection de l'ensemble des fractions protéiques. Cependant pour la zone des  $\alpha$ -1 globulines, la sensibilité de Capillarys est plus élevée que celle mesurée sur plaques d'acétate de cellulose (52% VS 41%) par contre sa spécificité pour la détection de cette fraction est moins bonne par rapport à l'électrophorèse sur acétate de cellulose (49% vs 61%).

Cette différence de sensibilité pour la fraction ( $\alpha$ -1 globuline) peut s'expliquer selon SZYMANOWICZ *et al.* (2006) et CAROLE(2013) par la richesse de cette fraction en acide sialique, qui possède moins d'affinité pour les colorants (rouge ponceau). Ces mêmes auteurs notent aussi que dans le cas des techniques d'électrophorèse capillaire, cette fraction est à un taux relativement plus important car le signal de détection par spectrophotométrie est plus juste que l'intégration après coloration.

### **II.2.2.1.4. Etude de la concordance**

D'après le tableau de classement de l'accord en fonction de la valeur de Kappa proposé par Landis et Koch qui est fréquemment utilisé en biologie, on constate que le Kappa (qualité de concordance) de chaque fraction de notre série étudiée est considéré comme bon pour la fraction d'albumine, modéré pour les fractions alpha1 et gamma et en fin médiocre pour les deux fractions qui restent (alpha2 et beta).

### **II.2.2.2. Praticabilité des appareils:**

Le Capillarys présente l'avantage d'être entièrement automatisé avec l'utilisation des tubes avec code à barre, ce qui diminue considérablement les risques d'erreurs qui pourraient survenir sur plaques d'acétate de cellulose.

En ce qui concerne la durée d'analyse, il faut environ 21 minutes pour que le Capillarys effectue 8 analyses : temps entre l'introduction du portoir et l'apparition des courbes sur l'écran. Par contre, sur plaques d'acétate de cellulose, il faut environ 120 min pour l'analyse de 8 échantillons : prélèvement (des 10 µl) + dépôt + migration + coloration / décoloration + séchage + lecture.

On constate donc que le Capillarys permet d'avoir une meilleure cadence et un important gain de temps par rapport à l'électrophorèse sur plaques d'acétate de cellulose. Il faut également noter la facilité d'utilisation et la convivialité du logiciel de contrôle de Capillarys qui permet une meilleure gestion des résultats.

Le coût d'un test sur Capillarys est plus élevé par rapport aux membranes d'acétate de cellulose.

### **II.2.3. Limites du travail :**

- ✓ Difficulté de récupération de matériel de l'électrophorèse sur plaques d'acétate de cellulose du moment que le laboratoire de biochimie de CHU de Tizi-Ouzou a abandonné cette technique depuis trois ans.
- ✓ Série limitée: réactifs coûteux pour la double analyse sur une plus grande sérothèque.
- ✓ Rareté des études similaires, ce qui a limité la discussion de nos résultats.
- ✓ Panne de l'automate Capillarys au niveau de l'hôpital CHU pendant 20 jours.

### Conclusion :

L'électrophorèse des protéines sériques est un outil de qualité pour les praticiens et un examen au coût modéré pour les propriétaires. Si elle n'est pas à mettre en œuvre en première intention, elle est toute fois extrêmement utile dans la démarche diagnostique, le pronostic et le suivi de nombreuses affections. Cependant, elle doit être réalisée avec soin et qualité afin de garantir des résultats fiables.

Au terme de notre modeste travail, nous avons constaté une bonne similitude entre les deux techniques étudiées l'électrophorèse capillaire et l'électrophorèse sur acétate de cellulose cependant chaque technique présente des avantages et des inconvénients ; en effet, l'électrophorèse capillaire sur Capillarys présente l'avantage d'être très résolutive, entièrement automatisée, avec une bonne cadence, une facilité d'utilisation et la convivialité du logiciel de contrôle de Capillarys qui permet une meilleure gestion des résultats. Elle présente par contre l'inconvénient de l'absence de support d'interprétation. L'électrophorèse sur acétate de cellulose, quant à elle, présente un atout important qui est le support d'interprétation ; par contre cette technique est totalement manuelle, sa cadence est faible et son système d'intégration augmente le risque d'erreur.

Ainsi, au vu de l'ensemble de ces données, nous relevons des différences en comparant la technique d'électrophorèse capillaire à l'électrophorèse sur acétate de cellulose tant sur le plan technique (praticabilité) que sur le plan de la qualité des résultats. La technique de l'électrophorèse capillaire est de loin la plus pratique néanmoins elle reste onéreuse par rapport à l'électrophorèse sur acétate de cellulose

### **Les références bibliographiques**

- **AHOUANSOU D-J. (2010).** Etude comparative de deux techniques d'électrophorèse des protéines sériques : sur gel d'agarose Hydrasys® et en capillaire Capillarys®. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc.
- **AUDIGIE CL., DUPONT G., ZONSZAIN F. (1995).** Principe des méthodes d'analyse biochimique. 1<sup>ère</sup> Ed, Doin, Paris, 207p.
- **BACH-NGOHOU K., SCHMITT S., LE CARRER D., MASSON D. et DENIS M. (2005).** Les dysalbuminémies. *Annale de biologie clinique*, 2(63), 127-134.
- **BERGERI I, MICHEL R, BOUTIN J-P. (2002).** Pour tout savoir ou presque sur le Coefficient kappa. *Médecine Tropicale*, 62 (6), 634- 636.
- **BERNARD J-J., DUPREZ J-M., HUILLE M., NOUGIERP., PATTIER J-Y., POULIZAC J-A. (2006).** Manuel de biologie physiologie. Ed, Ellipses, Paris, 829p.
- **BLESSUM C., JEPPSSON J.O., AGUZZIF., BERNON H et BINEVENU J. (1999).** L'électrophorèse capillaire : principe et applications au laboratoire de biologie clinique, *Annales de biologie clinique*, 6(57), 643-657.
- **BROOKER. (2001).** Le corps humain : Etude, Structure et fonction. 2<sup>ème</sup> Ed, De Boeck, Bruxelles, 562p.
- **BURGOT G., BURGOT J-L. (2011).** Méthodes instrumentales d'analyses chimique et application : méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. Lavoisier, paris, 368p.
- **CAROLE E. (2013).** Electrophorèse des protéines sériques : principes généraux - vérification de méthode – interprétation. *Option Bio*, 483, 20-22.

## *Les références bibliographiques*

---

- **CHATENOUD L., BACH J-F. (2012).** Immunologie: de la biologie à la Clinique. 6<sup>ème</sup>Ed, Lavoisier, paris. 469p.
- **CHEVASSUS L et HINFRAY J. (2000).** L'électrochromatographie capillaire. *Biofutur*, 198, 1-10.
- **COLAMBAT PH., BINET CH., DESBOIS I., LAMAGNERE J-P. (1991).** Hématologie pratique. Ed, Doin, Paris, 340p.
- **DUBUCQUOI S., CARON C., HUNNACHE B., SUBTIL D. et HACHULLA E. (2005) .** Interprétation des examens biologiques au cours de la grossesse. *Revue de rhumatisme*, 8(72) ,698-706.
- **DURAND G., JEAUDEUX J-L. (2011).** Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. 2<sup>ème</sup>Ed, Lavoisier, Paris, 607p.
- **ESPINOSA E., CHILLET P. (2010).** Immunologie. Ed. Ellipses, Paris. 511p.
- **FELLOUS S. (2011).** Mise au point de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle appliquée à des espèces sauvage de genre *Medicago*. Mémoire de magister, Université d'Oran ES-Sénia faculté des sciences, Oran, Algérie.
- **GOUDEMAM M., SALMON CH, (1980).** Immuno-hématologie et immunogénétique. Ed, Flammarion médecine-sciences, Paris, 682p.
- **HACHULLA E. (1996).** Profil protéique ciblé immunitaire de l'adulte. *Feuille de Biologie*, 210, 51-55.
- **KANEKO J-J., HARVEY J-W., BRUSS M-L. (2008).** Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 6<sup>ème</sup>Ed, Academic Press, San Diego, 928p.
- **KAREN D-F. (2012).** Protein structure and electrophoresis in protein electrophoresis in clinical diagnosis. Ed, American society for clinical pathology, Canada, 272p.

## *Les références bibliographiques*

---

- **KORCHANE S. (2014)**. Développement d'une méthode de séparation électrocinétique de biomarqueurs de la polyneuropathie amyloïde familiale à transthyréine: vers une miniaturisation de l'analyse. Thèse de doctorat, université Paris-sud, Paris XI, France.
- **LACROIX M. (2007)**. Optimisation d'une méthode de dosage de neurotransmetteurs par le couplage LC/FLUO/MS. Etudes théoriques par Spectrométrie de masse haute résolution, modélisation moléculaire et étude quantitative de relations structure-temps de rétention (3D QSRR). Thèse de doctorat, Université Toulouse III -Paul Sabatier, Toulouse, France.
- **LE CARRER D et BACH-NGOLON K. (2005)**. L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. *Spectra biologie*, 146, 47-52.
- **LEGRAS B. (1998)**. Eléments de statistiques à l'usage des étudiants en médecine et en biologie. Ed, Ellipses, Paris, 222p.
- **LEHMANN R., KOCH M., VOELTER W., HARING H-U., LIEBICH H-M. (1997)**. Routine serum protein analysis by capillary zone electrophoresis: clinical evaluation. *Chromatographia*, 45, 390-394.
- **MARSHALL W-J., BANGERT S-K. (2005)**. Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. Ed, Elsevier, Paris, 385p.
- **MENDHAM., DENNEY., BRNES., THOMAS. (2006)**. Analyse chimique quantitative de Vogel. Ed, De Boeck, Bruxelles, 899p.
- **METAIS P., AGNERAY J., FERARD G., FRUCHART J-C., JARDILLIER J-C., REVOL A., SIEST G., STAHL A. (1980)**. Biochimie Clinique: Biochimie métabolique. Ed, Simep-SA, France, 279p.
- **MURRAY. , GRANNER. , RODWELL. (2008)**. Biochimie de Harper. 3<sup>ème</sup> Ed, De boeck, Paris, 697p.

## *Les références bibliographiques*

---

- **PETITJEAN P., HENIN O., ELLIAS S., GRUAU G. (2001).** Application de l'électrophorèse capillaire au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles. *Cahiers techniques de Géosciences Rennes*, 2, 46p.
- **POCOCK G., D.RICHARD C. (2004).** Physiologie humaine : les fondements de la médecine. Ed, Masson, Paris, 638p.
- **POULIZAC J-A. (2006).** Manuel de biologie physiologie. Ed, Ellipses, Paris.
- **RAME A., THEROND S. (2007).**Anatomie et physiologie. Ed, Elsevier Masson, Italie, 318p.
- **ROUESSAC F., ROUESSAC A. (2009).** Analyses chimiques : méthodes et techniques instrumentales. 7eme Ed, Dunod, paris, 462p.
- **ROBERT C., VINCENT P. (1997).** Biologie et physiologie humaine. Ed, Vuibert, Paris, 678p.
- **SCHAFFLIER A., SCHMIDT S. (1999).** Anatomie physiologie biologie : à l'usage de professions de santé. Ed, Maloine, Paris, 342p.
- **SEHAPIRA G. (1981).** Eléments de biochimie clinique et physiologique. Ed, Flammarion Médecine-science, Paris, 395p.
- **SINE J-P. (2003).**Biochimie-Biologie : Séparation et analyse des biomolécules, méthodes physicochimiques. Ed, Ellipses, paris,253p.
- **SZYMANOWICZ A., CARTIER B., COUAILLAC J-P., GIBAUD C., POULIN G., RIVIERE H., LE CARRER D. (2006).** Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. *Annale de Biologie Clinique*, 4(64), 367-80.

## *Les références bibliographiques*

---

- **TAVERNA M., LE POTIER I., AND MORIN P. (2003).** L électrophorèse capillaire : Principe. *Technique de l'ingénieur*, P3 ,1-12.
- **TAVERNA M., LE POTIER I., AND MORIN P. (2003).** L électrophorèse capillaire : Applications. *Technique de l'ingénieur*, P3 ,1-14.
- **VALDIGUIE P. (1995).** Biochimie clinique. Ed, Lavoisier, Paris, 391p.
- **VALDIGUIE P. (2000).** Biochimie clinique. 2<sup>ème</sup>Ed, Médicales internationales, France, 340p.
- **VAUBOURDDOLLE M. (2007).** Biochimie hématologie. 3<sup>ème</sup>Ed, Wolters Kluwer SA, Paris, 1123p.
- **WEILL B., BATEUX F. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Ed, De-boeck, Bruxelles. 310p.
- **YOSHINORI U., HIROAKI O. (2001).** Serum proteins by capillary electrophoresis. *India journal of clinical biochemistry*, 16 (2), 166-180.

## Annexes

**Annexe 1:** Tampons et solutions utilisées en électrophorèse sur acétate de cellulose.

### 1- Solution tampon :

- Poudre de tris barbital (tris-barbital-barbital sodique).....1 sachet
- Eau distillée.....750 ml

### 2- Solution de coloration :

-Rouge ponceau (mélange de Ponceau S et d'acide sulfosalicylique).....une boîte de colorant en poudre

- Eau distillée .....1 litre
- Mélanger jusqu'à homogénéisation.

### 3- Solution de décoloration :

Une préparation d'acide acétique à 5 % :

- Eau distillée .....1000 ml
- Acide acétique 99%.....50 ml

### 4- Solution de déshydratation :

- Méthanol à 100 %

### 5- Solution de trasparisation ou d'éclaircissement :

- 30 volumes d'acide acétique glacial
- 70 volumes de méthanol
- 4 volumes de Clear Aid (poly éthylène glycol PEG)

Pour préparer 100 ml de cette solution en mélange :

- 25 ml d'acide acétique ;
- 71 ml de méthanol ;
- 4 ml de PEG.

Annexe 2 : Images de certains matériels utilisés en électrophorèse sur acétate de cellulose.



1



2



3



4



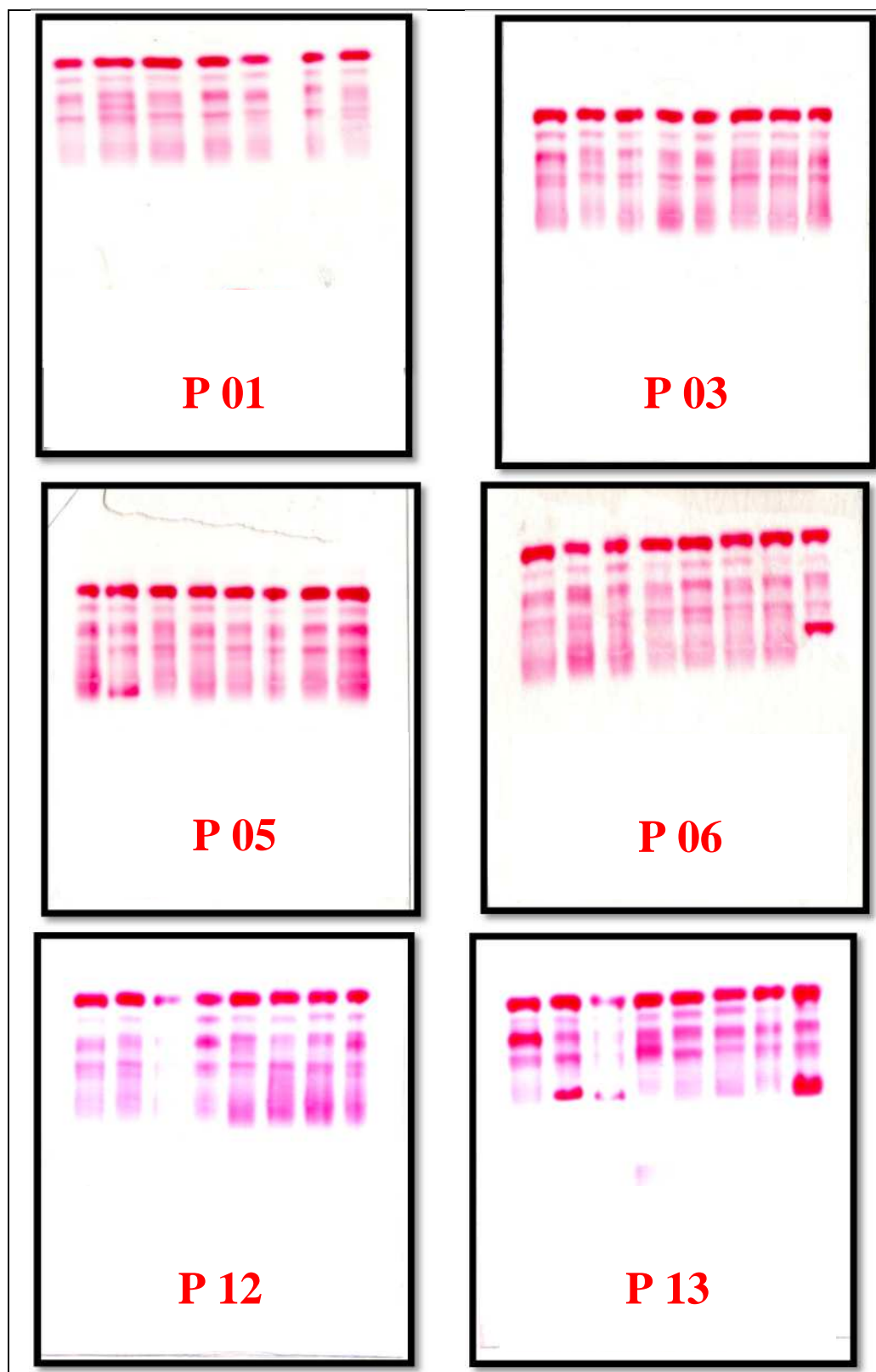
5

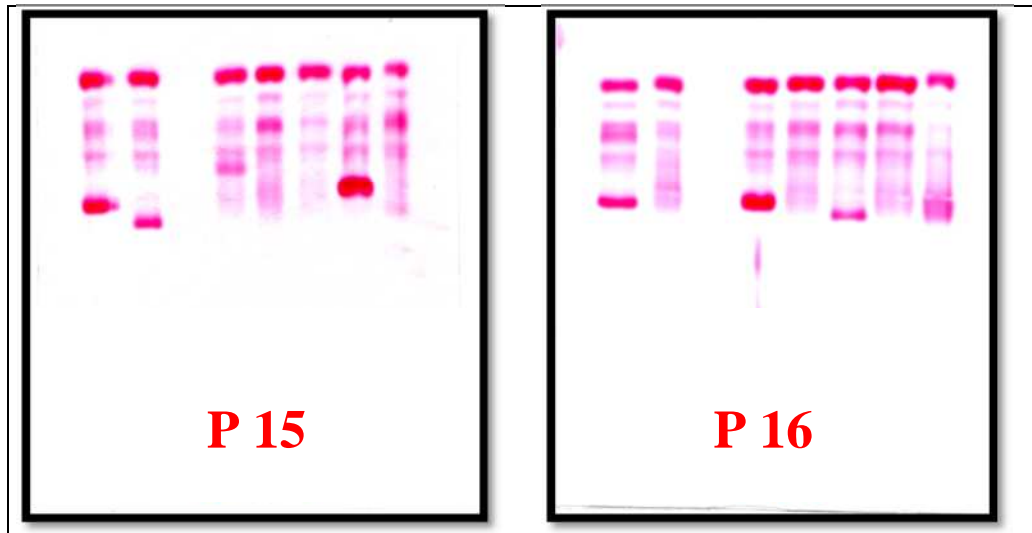


6

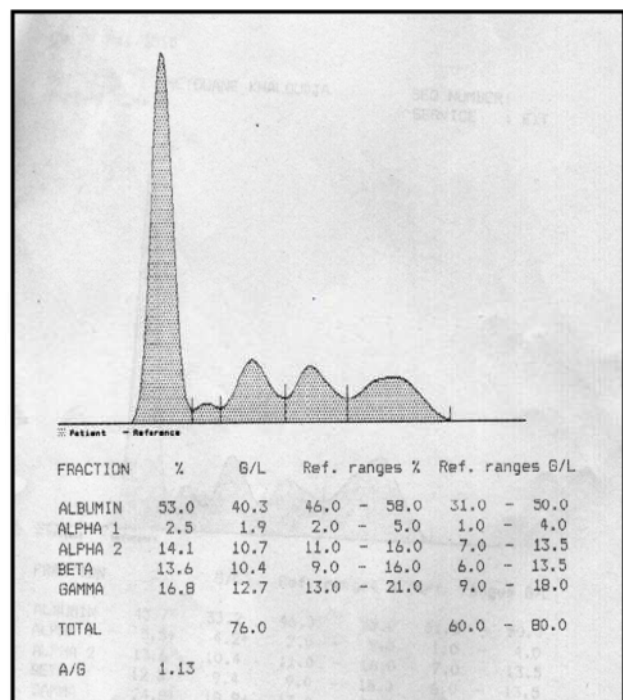
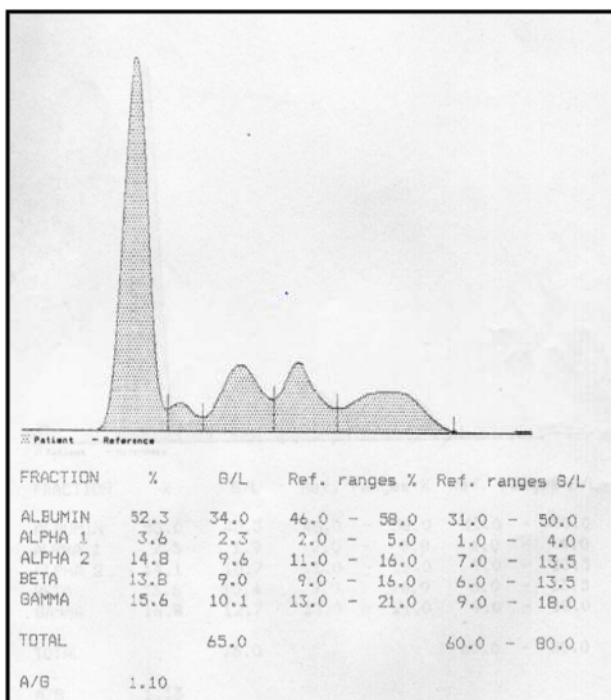
- 1- Chambre de migration+ générateur
- 2- Masque applicateur
- 3- Applicateur
- 4- Embase d'alignement
- 5- Les trois baigns d'acide acétique
- 6- Bain de rouge ponceau.

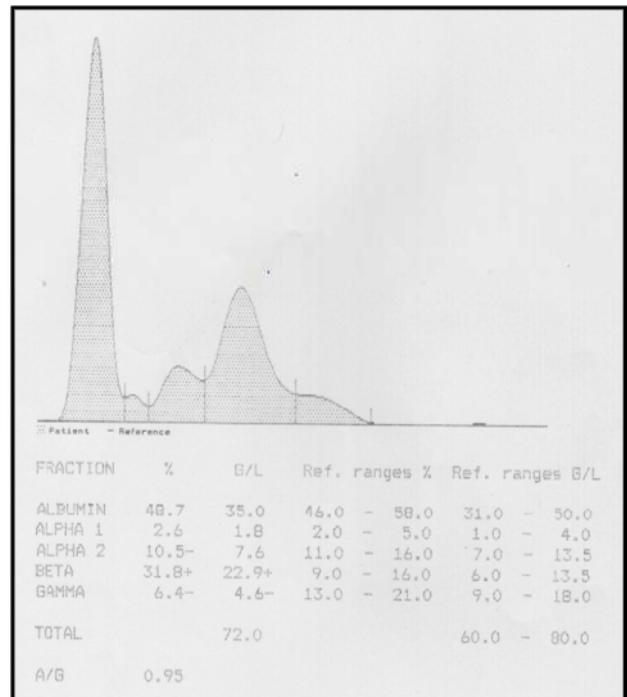
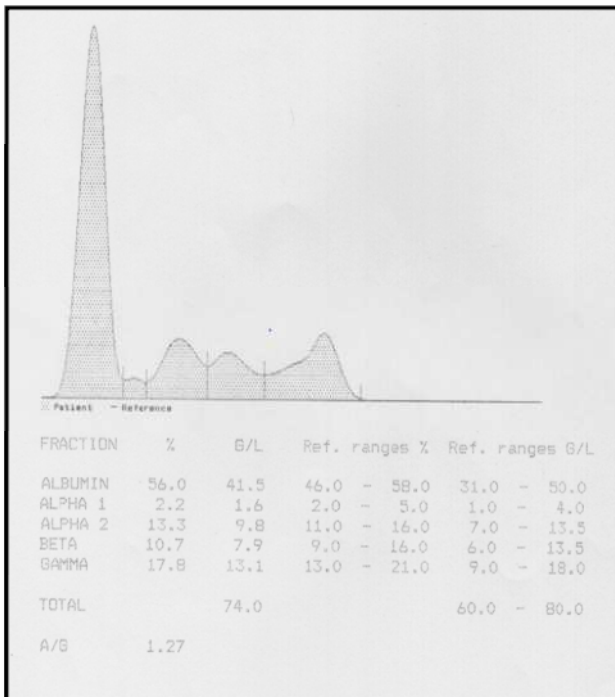
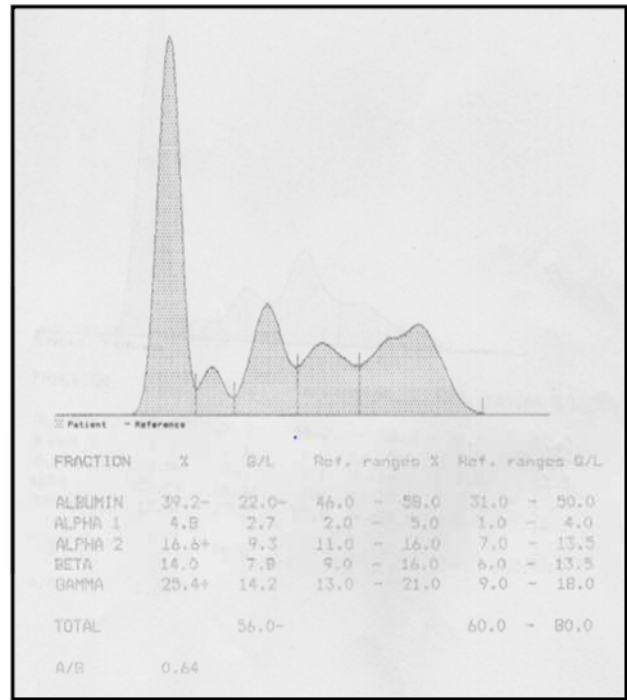
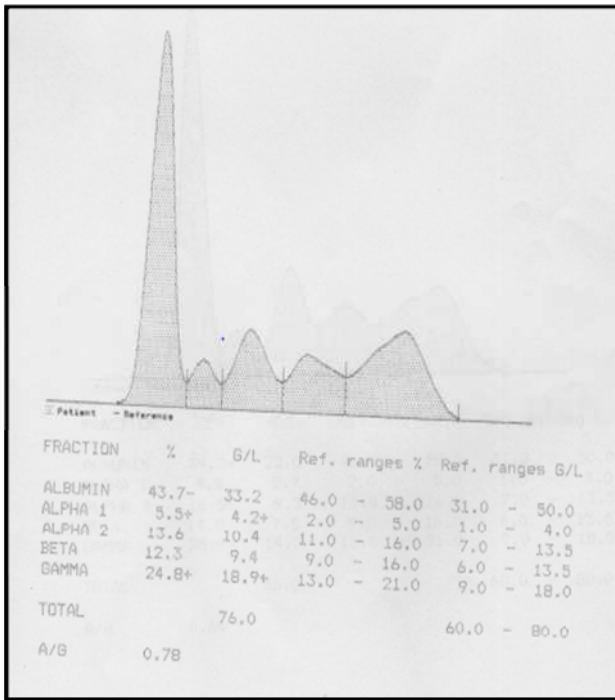
**Annexe 3** : Quelques plaques d'électrophorèse sur acétate de cellulose après migration.

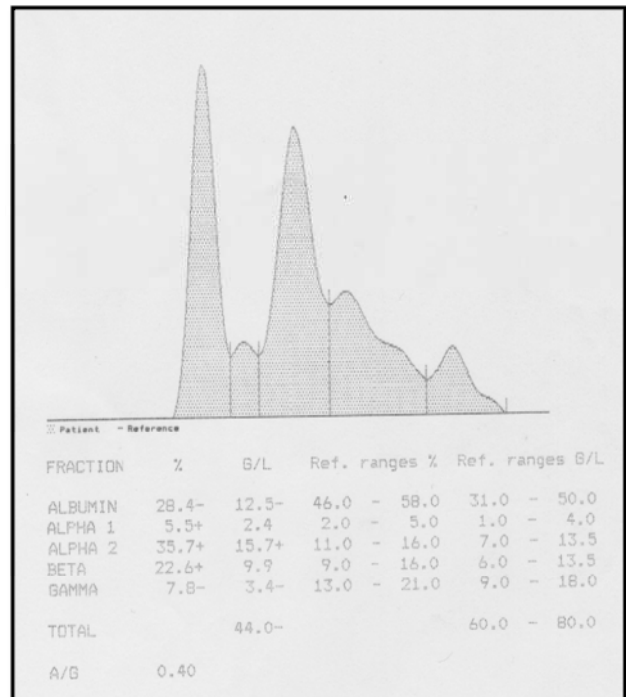
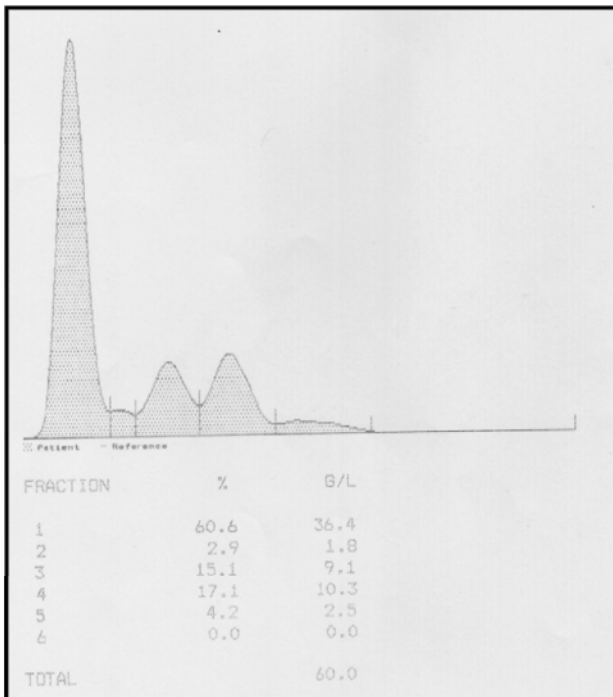
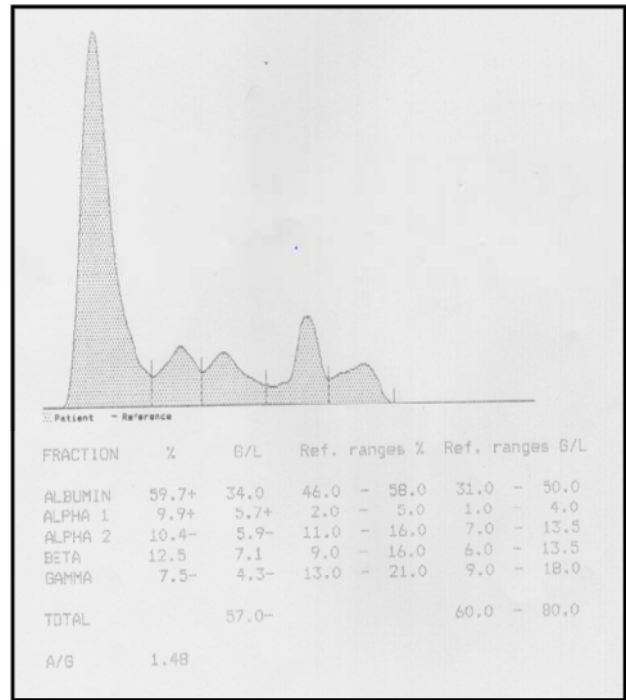
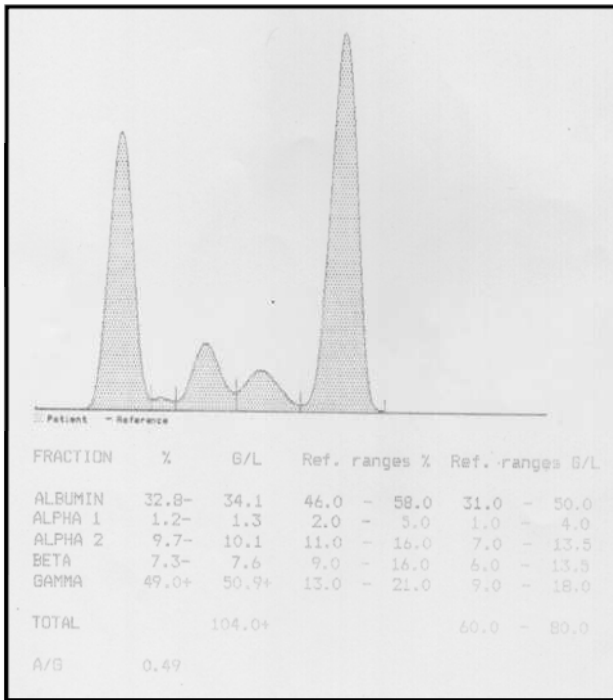




**Annexe 4:** Quelques protéinogrammes obtenus par électrophorèse sur acétate de cellulose pour les différents échantillons.











**Annexe 6** : Tableau de répartition des patients selon le service d'admission

<b>Service</b>	<b>Nombres</b>	<b>Pourcentage</b>
Cardiologie(CARDIO)	1	1%
CASO	7	6 %
Chirurgie Viscérale Femme (CHVF)	5	4 %
Oncologie (ONCO)	1	1 %
Externe (EXT)	31	26 %
PU de médecine (PUMED)	4	3%
Hématologie (HEMATO)	24	20 %
Infectieux (INF)	14	12 %
Médecine Femme (MF)	14	12 %
Médecine Homme (MH)	1	1 %
N Chirurgie (NCHR)	1	1 %
Néphrologie (NEPHRO)	7	6 %
Pédiatrie (PED 1)	1	1 %
Pneumologie (PNEUMO)	1	1 %
PU de chirurgie (PUCH)	1	1 %
Réanimation (REAMED)	3	3 %
Sanatorium (SANA)	1	1 %
Urologie (URO)	1	1 %