

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mouloud Mammeri
Faculté de Médecine
Tizi Ouzou

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو



Département de Pharmacie
N° d'ordre : 001/FM/DP/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté et soutenu publiquement

Le 20 juin 2017

Pour obtenir

Le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Thème

État de l'exploration des protéines au niveau du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi Ouzou

Réalisé par : M^{lle} REMILA Lamia

M^{lle} TACHOUR Hassiba

Encadré par : Dr MEHNI Mohamed El Hadi

Membres du jury :

Dr. DAHMANI Dalila	MAHU Biochimie	CHU/TO	Présidente de jury
Dr. MEHNI Mohamed El Hadi	MAHU Biochimie	CHU/TO	Promoteur
Dr. TOUDERT Amar	AHU Immunologie	CHU/TO	Examineur
Dr. BELKAID Nawal	MAHU Biochimie	CHU/TO	Examinatrice

Année universitaire: 2016-2017

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mouloud Mammeri
Faculté de Médecine
Tizi Ouzou

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو



Département de Pharmacie
N° d'ordre : 001/FM/DP/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté et soutenu publiquement

Le 20 juin 2017

Pour obtenir

Le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Thème

État de l'exploration des protéines au niveau du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi Ouzou

Réalisé par : M^{lle} REMILA Lamia

M^{lle} TACHOUR Hassiba

Encadré par : Dr MEHNI Mohamed El Hadi

Membres du jury :

Dr. DAHMANI Dalila	MAHU Biochimie	CHU/TO	Présidente de jury
Dr. MEHNI Mohamed El Hadi	MAHU Biochimie	CHU/TO	Promoteur
Dr. TOUDERT Amar	AHU Immunologie	CHU/TO	Examineur
Dr. BELKAID Nawal	MAHU Biochimie	CHU/TO	Examinatrice

Année universitaire : 2016-2017

Dédicace

Je dédie ce travail à ALLAH, le tout puissant ; le Miséricordieux ; le Maître des destins, de m'avoir guidé et surtout assisté tout au long de mes études jusqu'à la réalisation de ce document.

Qu'il guide d'avantage mes pas pour le reste de mon existence.

A ma chère mère :

Vous avez su porter pour moi les soins et consentis les efforts pour mon éducation. Aucune dédicace ne saurait exprimer tout le respect et l'amour que je vous porte, vous m'avez toujours fait confiance. Veuillez trouver en ce travail la consolation et le témoin de la patience.

A mon cher père :

Malgré les grandes responsabilités que vous assumez dans vos travaux ou autant que pères de familles, vous avez été toujours près de moi, pour m'écouter, me soutenir, me suivre et m'encourager. Puisse ce travail diminuer vos souffrances et vous porter bonheur.

A mes chers frères et sœurs :

Je vous réserve la plus grande partie de ce travail. Vous avez toujours été pour moi d'une aide très précieuse. Je vous remercie pour tous les bienfaits que chacun a pu faire pour moi.

A Mr Bradai qui m'a soutenu tout au long de la réalisation de mon travail.

A Imane, Roza, puisse Dieu conserver notre amitié.

A tous ceux qui ont eu et qui ont confiance en moi.

LAMIA

Dédicace

Je dédie ce travail à ALLAH, le tout puissant ; le Miséricordieux ; le Maître des destins, de m'avoir guidé et surtout assisté tout au long de mes études jusqu'à la réalisation de ce document.

Qu'il guide d'avantage mes pas pour le reste de mon existence.

A ma chère mère :

Vous avez su porter pour moi les soins et consentis les efforts pour mon éducation. Aucune dédicace ne saurait exprimer tout le respect et l'amour que je vous porte, vous m'avez toujours fait confiance. Veuillez trouver en ce travail la consolation et le témoin de la patience.

A mon cher père :

Malgré les grandes responsabilités que vous assumez dans vos travaux ou autant que pères de familles, vous avez été toujours près de moi, pour m'écouter, me soutenir, me suivre et m'encourager. Puisse ce travail diminuer vos souffrances et vous porter bonheur.

A mon cher frère et ma chère sœur :

Je vous réserve la plus grande partie de ce travail. Vous avez toujours été pour moi d'une aide très précieuse. Je vous remercie pour tous les bienfaits que chacun a pu faire pour moi.

A tous ceux qui ont eu et qui ont confiance en moi.

HASSIBA

Remerciements

A notre encadreur Dr MEHNI Mohamed El Hadi

On a eu le privilège de profiter de vos vastes connaissances, ainsi que votre profond savoir faire. On a pu apprécier vos qualités humaines et professionnelles. Croyez monsieur, à notre profond respect, à notre gratitude et nos sentiments de haute estime.

On souhaite exprimer nos remerciements :

A Dr DAHMANI D, présidente du jury

De nous avoir fait l'honneur de présider le jury et de juger notre travail.

A Dr TOUDERT A, Membre du jury

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury et d'avoir apporté de l'aide et des conseils et des informations utiles pour l'avancement et la réalisation de ce travail.

A Dr BELKAID N, Membre du jury

Pour l'intérêt que vous portez à ce travail et d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

A M^{elle} ABBAS S

Pour avoir apporté de l'aide tout au long de l'élaboration de ce travail.

TABLE DES MATIERES

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 1

Objectif..... 2

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur les protéines..... 3

1. Définition..... 3

2. Rappels sur les Acides aminés..... 4

3. Structure des Protéines..... 4

4. Propriétés des protéines..... 6

5. Classification des protéines..... 8

6. Métabolisme protéique..... 9

7. Localisation des protéines..... 11

8. Fonction des protéines..... 11

CHAPITRE II : Exploration protéinique 13

1. Phase pré-analytique 13

2. Méthodes colorimétriques..... 14

2.1 Réaction de Biuret..... 15

2.2 Méthode de Folin 17

2.3 Méthode de Lowry..... 17

2.4 Méthode de Bradford..... 18

2.5 Méthode au rouge de pyrogallol..... 18

2.6 Méthode du vert de bromocrésol BCG..... 18

3. Méthodes immunochimiques..... 19

3.1 Chimiluminescence 19

4. Méthodes de séparations..... 20

4.1 Électrophorèse 20

4.2 L'électrophorèse capillaire (CE) 21

4.3 L'immunoélectrophorèse 22

4.4 Immunofixation 23

4.5 L'immuno soustraction..... 24

4.6 La chromatographie..... 24

4.5.1 La chromatographie d'exclusion de taille..... 24

4.5.2 Chromatographie par échange d'ions..... 24

4.5.3 La chromatographie d'affinité 25

4.5.4 La chromatographie d'interaction hydrophobe (HIC)..... 25

5. La précipitation 25

5.1 Différentielle par les sels 25

TABLE DES MATIERES

5.2 La précipitation par les solvants organiques	25
6. L'ultracentrifugation	25
6.1 Ultracentrifugation analytique	26
6.2 Ultracentrifugation préparative.....	26
 CHAPITRE III : Sémiologie des protéines plasmatiques.....	27
1. Étude des principales protéines plasmatiques.....	27
1.1 Albumines.....	29
1.1.1 Sérum-albumine.....	29
1.1.2 Préalbumine	31
1.1.3 Rétinol binding protein RBP.....	31
1.2 Les globulines	31
1.2.1 Alpha-1-Globulin.....	31
1.2.1.1 Alpha-1-Antitrypsine	31
1.2.1.2 Orosomucoïde.....	32
1.2.1.3 α -foetoprotéine (AFP)	32
1.2.1.4 Anti chymotrypsine.....	33
1.2.1.5 Autres	33
1.2.2 Alpha2-Globulines.....	34
1.2.2.1Céruleoplasmine.....	34
1.2.2.2 Haptoglobine	34
1.2.2.3 Alpha-2-macroglobuline	35
1.2.2.4 Transcortine	35
1.2.3 Béta-Globulines	36
1.2.3.1 Transferrine.....	36
1.2.3.2 La protéine C réactive.....	36
1.2.3.3 Béta 2 micro globuline	38
1.2.3.4 Apoprotéine B.....	38
1.2.3.5 Protéines plasmatiques du complément.....	38
1.2.3.6 Fibrinogène.....	39
1.2.4 γ -globuline.....	40
2. Marqueurs de la souffrance myocardique.....	41
2.1 Myoglobine	41
2.2 Troponine	42
3. Marqueurs tumoraux.....	42
3.1 Hormone chorionique gonadotrophique hCG.....	43
3.2 Antigène spécifique de la prostate PSA	43
4. Les grands syndromes de dysprotéïnémies.....	43
4.1 Hypoprotéïnémie	43
4.2 Hyperprotéïnémie.....	44
4.3 Dysprotéïnémies.....	44
5. Le profil protéique.....	46
5.1 Définition.....	46
5.2 Types de profils protéiques	47
5.2.1 Profil Protéique d'orientation	47
5.2.2 Profil Protéique ciblé.....	48
5.2.2.1 Profil protéique immunitaire.....	48

TABLE DES MATIERES

5.2.2.2 Profil protéique nutritionnel.....	48
5.2.2.3 Profil protéique inflammatoire.....	48
5.2.2.4 Profil protéique hémolytique.....	49
5.2.2.5 Profil protéique Martial	49
5.3 Résultats du profil protéique.....	49

PARTIE PRATIQUE

Enquête auprès des médecins du CHU de Tizi-Ouzou	54
1. Matériels et méthodes	55
1.1 Médecins.....	55
1.2 Méthodes.....	56
2. Résultats	56
3. Discussion	57
4. Conclusion	58

Étude descriptive et évaluation analytique de l'exploration protéinique au niveau du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou.....

1. Étude descriptive	60
2. Étude analytique	65
2.1 Évaluation du système d'électrophorèse des protéines	65
2.1.1 Phase pré analytique : Evaluation de l'impact des facteurs de conservation sur les résultats.....	65
2.1.1.1 Matériels et méthodes	65
2.1.1.2 Résultatsetdiscussion.....	62
2.1.1.2.1 Résultats Après réfrigération 8 Jours à +4°C	63
2.1.1.2.2 Résultats Après réfrigération 15 Jours à +4°C	68
2.1.1.2.3 Résultats Après congélation 15 Jours à - 20 °C	72
2.1.2 Phase Analytique : Comparaison des résultats et concordance entre l'analyseur Capillarys Sebia et Helena V8.....	76
2.1.2.1 Matériels et méthodes	76
2.1.2.2 Résultats de Comparaison entre Capillarys sebia et le Helena V8.....	79
2.2 Évaluation des automates pour le dosage des Paramètres Protéiniques (TP, ALB, CRP).....	88
2.2.1 Comparaison entre les automates pour le dosage des protides totaux.....	88
2.2.1.1 Matériels et méthodes.....	88
2.2.1.2 Résultats et discussions : TP obtenus avec le Cobas 400 et Advia1800	89
2.2.2 Comparaison des résultats entre les automates pour le dosage de l'Albumine	90
2.2.2.1 Matériels et méthodes.....	90
2.2.2.2 Résultats et Discussions.....	91
2.2.3 Comparaison des résultats entre les automates pour le dosage de protéine C-réactive (CRP)	95
2.2.3.1 Matériels et méthodes	95
2.2.3.2 Résultats et discussions	96
3. Discussion générale.....	100
Conclusion et perspectives.....	103
Références	
Annexes	
Résumé	

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Absorbance

AA : Acide Aminé

AAT : Alpha Anti Trypsine

A/G : rapport Albumine/Globuline

ADN : Acide DésoxyRibonucléique

Ac : Anticorps

AFP (α -FP): Alpha Foeto Protein

Ag : Antigène

ALB : Albumine

ALBU : Albumine urinaire (albuminurie)

APO: Apolipoprotéine

ARN: Acide Ribonucléique

ATP: Adenosine Tri Phosphate

AT: Anti Ttrypsin

AM (A1M): α_1 -Microglobuline

BCG: BromoCresol Green

C: atome du Carbone

C3-C4: la fraction de Complément

CA125 : Cancer Antigen 125

CA -19.9 : Cancer Antigen-19.9

CA-15.3 : Cancer Antigen-15.3

CRP: C - Reactive Protein

CMH: Complexes Majeur d' Histocompatibilité

CHU : Centre Hospitalo Universitaire

Cu: Atome de Cuivre

CBG: Cortisol Binding Globulin

CE: Capillaire Electrophoresis

CEA : Carcino Embryonic Antigen

CH50 : Complément Hémolytique 50%

LISTE DES ABREVIATIONS

Da: Dalton

DO : Densité Optique

E : Champ Électrique

EA : Ester d'Acridinium

EC : Electrophorèse Capillaire

EDTA: Ethylene Diamine Tetra Acetic

EPP : Electrophorèse des Protéines Plasmatique

EPU : Électrophorèse des Protéines Urinaires

FAB: Fragment AB d'un anticorps

FC : Fragment C d'un anticorps

H : atome Hydrogène

HIV: Humain Immunodeficiens Virus

HDL: High Densite Lipoprotéine

Hapt : Haptoglobine

Hb: Hémoglobine

HLA : Humain Leucocyte Antigens

hCG: Hormone Chorionique Gonadotrophine

His: Histidine

HIC: Hydrophobe Interaction Chromatographie

HMW Kinogène : High Molecular Weight Kinogène

a2-HS Glycoprotéine : a2- Heremans Schmid Glycoprotéine

Ig (G, A, M, E, D): Immunoglobulines (G, A, M, E, D)

IEPP: Immunoélectrophorèse des Protéines Plasmatiques

IR : Intervalle de Référence

K⁺: Ion Potacium

kV : kiloVolte

LCR: Liquid Céphalo Rachidien

LDL: Low Densite Lipoprotein

Lys: Lysine

LISTE DES ABREVIATIONS

M: Masse moléculaires

Mg²⁺ : Ion Magnésium

Mr : Masse moléculaire Relative

N: Atome d'Azote

Na: Élément Sodium

O: Atome d'Oxygène

ORO: Orosomucoide

PPS : Profil Protéinique Sérique

PSA : Prostate Specific Antigen (antigène spécifique de la prostate)

PINI: Prognostic Inflammatory and Nutritional Index

q : Charge

RE : Réticulum Endoplasmique

RPB: Retinol Binding Protein

r: Rayon

S: Svedberg

SDS: Sodium Dodecyl Sulfate

SFBC: Société Française de Biologie Clinique

SHBG: Sex Hormone Binding Globulin

SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquis

TBG : Thyroxine Binding Globulin

TP : Taux de Protide

TPU : Taux de Protide Urinaire

TRF : Transferrine

VIH : Virus Immuno Déficience Humaine

Ur : Urinaire

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les 20 acides aminés, essentiels et non essentiels.....	4
Tableau 2 : Protéines fibreuses et globulaires.....	7
Tableau 3 : Protéines en fonction de la solubilité.....	7
Tableau 4 : Hétéroprotéines.....	8
Tableau 5 : Localisation des protéines.....	9
Tableau 6 : Rôles des Protéines.....	10
Tableau7 : les méthodes colorimétriques les plus utilisées pour le dosage des protéines.....	14
Tableau 8: Classification des méthodes de dosage immunologiques selon le traceur.....	19
Tableau 9: Classification des méthodes de dosage immunologiques selon le mode de mesure.....	19
Tableau 10 : Caractéristiques des principales protéines plasmatiques.....	28
Tableau 11: Résumé des principales protéines spécifiques dosées dans le sérum.....	29
Tableau 12: Les variations physiopathologiques de l'albumine.....	30
Tableau 13 : Les variations physiopathologiques de la CRP.....	37
Tableau 14 : Différentes classes d'immunoglobulines.....	41
Tableau 15 : Les variations pathologiques des gammaglobulines.....	41
Tableau 16 : Intérêt clinique de quelques marqueurs tumoraux.....	42
Tableau17: Les différentes dysprotéïnémies	44
Tableau 18 : Les variations des protéines au cours de deux mécanismes concomitants.....	46
Tableau 19 : Groupe de protéines du bilan protéique.....	47
Tableau 20 : Cinétique des protéines de l'inflammation.....	49
Tableau 21 : Intérêt clinique des protéines de l'inflammation.....	49
Tableau 22: Répartition des médecins participants par service.....	55
Tableau 23 : Répartition des cliniciens par statut.....	55
Tableau 24: Les paramètres manquants par service.....	57
Tableau 25 : Étude descriptive des différents automates et techniques présents au niveau du laboratoire pour l'exploration protéiniques.....	60
Tableau 26 : Les appareils disponibles pour le dosage de l'albumine.....	61
Tableau 27 : Les appareils disponibles pour le dosage du TP.....	61
Tableau 28 : Les appareils disponibles pour le dosage de la CRP.....	62
Tableau 29 : Les appareils disponibles pour le dosage du complément.....	63
Tableau30 : Les appareils disponibles pour le dosage de la transferrine.....	63
Tableau31 : Les appareils disponibles pour le dosage de la ferritine.....	64
Tableau 32 : Les échantillons de conservation.....	65
Tableau 33 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman (après réfrigération 8 Jours à +4°C).....	80
Tableau 34 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman (après réfrigération 15 Jours à +4°C).....	80
Tableau 35 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman (après congélation 15 Jours à 0°C).....	80
Tableau 36 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de la droite de régression et de l'analyse de Bland Atman (EPP).....	83
Tableau 37 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Atman(TP,ALB,CRP).....	100
Tableau 38: Récapitulatif des résultats de l'analyse de la droite de régression(TP,ALB,CRP).....	100

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Enchaînement des acides aminés.....	4
Figure 2 : Structure des protéines.....	5
Figure 3 : Métabolisme général des Protéines.....	8
Figure 4 : La réaction du Biuret.....	13
Figure 5 : Le complexe de Biuret (violet).....	13
Figure6 : Le tracé électrophorétique des protéines plasmatiques.....	20
Figure7 : Principe de l'électrophorèse capillaire.....	21
Figure8 : Principe de l'immunoélectrophorèse.....	22
Figure9: Immunofixation pic IgM lambda monoclonal.....	23
Figure 10 : Différentes fractions d'une électrophorèse des protéines plasmatiques.....	27
Figure 11 : Différentes fractions d'une électrophorèse capillaires des protéines plasmatiques.....	28
Figure 12: Interprétation des résultats de l'exploration du système du complément.....	39
Figure13: Schéma de structure des différentes immunoglobulines.....	40
Figure 14: Cinétique des marqueurs de nécrose après un infarctus du myocarde.....	42
Figure 15: Exemples de profils électrophorétiques.....	45
Figure 16 : Profil d'orientation.....	48
Figure 17 : Profil protéique normal.....	49
Figure 18 : Profil protéique d'un syndrome inflammatoire.....	50

LISTE DES FIGURES

Figure19: Profil protéique ciblé inflammatoire.....	50
Figure 20 : Profil protéique syndrome néphrotique.....	50
Figure 21 : Profil protéinique au cours d'une carence en fer.....	51
Figure 22: Profil protéique d'hémolyse.....	51
Figure 23: Profil protéique d'immunité (Myélome IgG + hémolyse).....	51
Figure24: Comparaison entre des profils nutritionnels.....	52
Figure25 : Répartition des médecins participants par service.....	55
Figure26 : Répartition des médecins par statut.....	56
Figure27 : Satisfaction des cliniciens des résultats de laboratoire.....	56
Figure28 : Paramètres les plus demandés par les cliniciens.....	57
Figure 29 : Analyse de concordance des taux de protides après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	63
Figure 30 : Analyse de concordance entre les concentrations d'albumine après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	64
Figure 31 : Analyse de concordance entre les concentrations d'alpha-1 après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	64
Figure 32 : Analyse de concordance entre les concentrations d'alpha-2 globulines après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	65
Figure 33 : Analyse de concordance entre les concentrations de bêta-1 globulines après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	66
Figure 34 : Analyse de concordance entre les concentrations de bêta-2 globulines après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	66
Figure 35 : Analyse de concordance entre les concentrations des gamma globulines après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	67
Figure 36 : Analyse de concordance entre les taux de protides après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	68
Figure 37 : Analyse de concordance entre les taux d'albumine après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	68
Figure 38 : Analyse de concordance entre les taux d'alpha-1 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	69

LISTE DES FIGURES

Figure 39 : Analyse de concordance entre les taux d'alpha-2 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	70
Figure 40 : Analyse de concordance entre les taux des béta-1 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	70
Figure 41 : Analyse de concordance entre les taux des béta-2 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	71
Figure 42 : Analyse de concordance entre les taux des gamma globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.....	72
Figure 43 : Analyse de concordance du taux de protides après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	72
Figure 44 : Analyse de concordance du taux d'albumine après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	73
Figure 45 : Analyse de concordance des taux d'alpha-1 globulines après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	74
Figure 46 : Analyse de concordance des taux d'alpha-2 globulines après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	74
Figure 47 : Analyse de concordance des taux des béta-1 globulines après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	75
Figure 48 : Analyse de concordance des taux des béta-2 globulines après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	75
Figure 49 : Analyse de concordance des taux des gamma globulines après 15 jours de congélation à -20°C par la méthode de Bland-Altman.....	76
Figure 50 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations d'albumine _{capillars} à albumine _{v8}	80
Figure 51 : Analyse de concordance entre les concentrations d'Albumine _{capillars} et Albumine _{v8} par la méthode de Bland-Altman.....	80
Figure 52 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer le taux d'Alpha-1 _{capillars} à Alpha-1 _{v8}	81
Figure 53 : Analyse de concordance entre les taux d'Alpha-1 _{capillars} et Alpha-1 _{v8} par la méthode de Bland-Altman.....	81
Figure 54 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les taux d'Alpha-2 _{CAPILLARYS} et Alpha-2 _{V8}	82

LISTE DES FIGURES

Figure 55 : Analyse de concordance entre les taux Alpha-2 _{CAPILLARYS} et Alpha-2 _{V8} par la méthode de Bland-Altman.....	82
Figure 56 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations Béta-globulines _{capillarys} à Béta-globulines _{V8}	83
Figure 57 : Analyse de la concordance entre les concentrations béta globulines _{capillarys} et béta globulines _{V8} par la méthode Bland-Altman.....	83
Figure 58 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations γ -globulines _{capillarys} à γ -globulines _{V8}	84
Figure 59 : Analyse de Bland-Altman pour γ -globulines _{capillarys} et γ -globulines _{V8}	84
Figure 60 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer le rapport R _{A/G} capillarys à R _{A/G} V8.....	85
Figure 61 : Analyse de concordance entre les rapports R _{A/G} capillarys et R _{A/G} V8 par la méthode de Bland-Altman.....	85
Figure 62 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les TP _{cobas400} aux TP _{Advia1800}	87
Figure 63 : Analyse de concordance entre TP _{Cobas400} et TP _{Advia1800} par la méthode de Bland Altman.....	88
Figure 64 : Analyse de concordance entre le taux d'albumine estimé par le système capillarys sebia et le taux d'albumine dosé par l'appareil Cobas400 par la méthode de Bland-Altman.....	89
Figure 65 : Analyse de concordance entre le taux d'Albumine dosé par l'appareil Advia1800 et le taux d'Albumine estimé par le système capillarys sebia par la méthode de Bland-Altman.....	90
Figure 66 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer Albumine _{cobas400} à Albumine _{Advia1800}	90
Figure 67 : Analyse de concordance entre les concentrations Albumine _{cobas400} et Albumine _{Advia1800} par la méthode de Bland-Altman.....	91
Figure 68 : Analyse de concordance entre les concentrations Albumine _{cobas400} et Albumine _{Xpand} par la méthode de Bland-Altman.....	91

LISTE DES FIGURES

Figure 69 : Analyse de concordance entre les concentrations Albumine _{cobas400} et Albumine _{cobas6000} par la méthode de Bland-Altman.....	92
Figure 70 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations CRP _{cobas400} à CRP _{Advia1800}	93
Figure 71: Analyse de concordance entre les concentrations CRP _{Cobas400} et CRP _{Advia1800} par la méthode de Bland-Altman.....	94
Figure 72 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations CRP _{cobas400} à CRP _{Xpand}	94
Figure 73: Analyse de concordance entre les concentrations CRP _{Cobas400} et CRP _{Xpand} par la méthode de Bland-Altman.....	95
Figure 74: Analyse de concordance entre les concentrations CRP _{Cobas400} et CRP _{Architect} par la méthode de Bland-Altman.....	96
Figure 75: Analyse de concordance entre les concentrations CRP _{Cobas400} et CRP _{cobas6000} par la méthode de Bland-Altman.....	96

INTRODUCTION

La dysprotéïnémie est une modification quantitative des protéines dans le sang (hypo-ou hyper protéïnémie), et/ou qualitative, et inclut toute variation au niveau de la répartition des différentes protéines individuelles (Albumine, globuline, fibrinogène).

Le métabolisme des protéines est la cible de multiples perturbations au cours de différents syndromes. L'exploration protéinique apporte de nombreux renseignements sur l'état inflammatoire, nutritionnel ainsi que le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales.

L'importance et l'utilité de l'exploration des protéines plasmatiques ont poussé les cliniciens à multiplier la demande des examens biologiques et les chercheurs à développer des méthodes automatisées pour une meilleure quantification des protéines en allant des méthodes colorimétriques, chromatographiques, méthodes immunochimiques, jusqu'aux méthodes les plus récentes....

Avec les avancées scientifiques et les progrès technologiques en matière d'analyses médicales, les techniques manuelles sont largement devancées par l'automatisation qui permet un meilleur rendement par le traitement de grandes séries d'analyses pendant un court temps, et surtout des résultats plus fiables visant à apporter des informations utiles au diagnostic, à la prévention, au traitement ou à l'évaluation de l'état de santé.

Dans ce sens, des outils sont destinés aux biologistes afin d'évaluer la qualité des résultats quand ils se trouvent devant plus d'une technique et plus d'un automate. La validation préalable à l'utilisation d'une méthode d'analyse fait l'objet d'une exigence de la norme ISO 15189 « pour s'assurer qu'elle convient à l'utilisation prévue ». L'objectif de la validation est de démontrer que la méthode « fonctionne » correctement dans les conditions opératoires du laboratoire et qu'elle donne des résultats sûrs pour les patients.

Parmi les critères de la validation (La fidélité, Limite de détection et de linéarité) nous avons la comparaison avec une autre méthode qui consiste à évaluer les résultats obtenus avec une méthode par rapport à ceux d'une autre méthode. Cette évaluation est destinée à mettre en évidence des différences qui peuvent nuire à l'interprétation des résultats. Il existe plusieurs procédures établies par des commissions d'experts qui permettent cette étude.

OBJECTIF

L'objectif de ce travail est d'apprécier l'état de l'exploration protéinique au niveau du CHU de Tizi-Ouzou par le laboratoire de biochimie et le point de vue des cliniciens.

Cette étude a été réalisée en deux grandes parties :

1. Enquête auprès des médecins du CHU de Tizi-Ouzou :

- Degré de satisfaction des cliniciens du CHU de Tizi-Ouzou des résultats de l'exploration protéinique réalisée au niveau du laboratoire de biochimie.
- Les paramètres protéiniques les plus demandés et ceux manquants.

2. Étude descriptive et évaluation analytique auprès du laboratoire :

- Étude descriptive des différents automates et techniques disponibles au niveau du laboratoire pour l'exploration protéinique.
- Évaluation analytique
 - ✓ Évaluation du système d'électrophorèse des protéines
 - Phase pré analytique : Évaluation de l'impact des facteurs de conservation sur les résultats.
 - Phase analytique : Comparaison des résultats et concordance entre l'automate Capillarys Sebia du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou et le Helena V8 du laboratoire d'Alger.
 - ✓ Évaluation des automates pour le dosage des paramètres protéiniques les plus courants.
 - Comparaison et étude de la concordance des résultats entre les automates de laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou pour le dosage des protides totaux.
 - Comparaison et étude de la concordance des résultats entre les automates de laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou pour le dosage de l'Albumine.
 - Comparaison et étude de la concordance des résultats entre les automates du laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou pour le dosage de la C-réactive Protéine.

PARTIE THEORIQUE

PREMIER CHAPITRE :
GÉNÉRALITÉS SUR LES PROTÉINES

En 1839, le chimiste hollandais Gerrit MULDER publia des résultats sur l'analyse de la fibrine du sang, des albumines du sérum sanguin et de l'œuf. Ceux-ci indiquaient que c'étaient des composés quaternaires (C, H, O, N) avec des pourcentages quasiment identiques pour ces quatre atomes et qui contenaient des traces variables de soufre et de phosphore. En 1938, sur la suggestion du chimiste suédois BERZELIUS, MULDER désigna ces composés sous le nom de protéines (du grec : prééminence).

Après une période d'identification des composants, les acides α aminés, FISCHER et HOFMEISTER présentèrent chacun, le même jour, lors d'un congrès en 1902 le mode de liaison des acides aminés dans les protéines : La liaison peptidique.

Les protéines sont des biomolécules de première importance :

- Par leur présence universelle dans le monde vivant, seuls des viroïdes en sont dépourvus.
- Par leur abondance cellulaire : C'est le premier constituant après l'eau (10 fois plus que des glucides), et constituent le nutriment principal dans la formation de muscle de notre corps.
- Par leur extrême diversité : Elles assurent des fonctions vitales tant structurales que dynamiques et de plus elles sont le support de la spécificité des "espèces".
- La seule source d'azote que l'homme peut utiliser, l'azote qui est indispensable à la vie [1].

1. Définition

Les protéines sont des bio polymères appelés polypeptides. Elles sont les macromolécules cellulaires les plus abondantes, constituant 60% du poids sec de la cellule, elles sont constituées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques et ont un poids moléculaire supérieur à 10000. Toutes les protéines résultent de la combinaison et de l'enchaînement codé par le génome de 20 acides aminés différents de la série L, qui sont reliés entre eux par des liaisons peptidiques et dont chaque un entre eux possède un nom, une formule et un rôle spécifique.

Le grand nombre de structures tridimensionnelles différentes est à l'origine de la diversité de fonction leurs permettant d'être responsable de milliers de réactions différentes dans la cellule. Leur nom de nano machines cellulaires est ainsi justifié.

Par convention, une protéine comportant moins de 50 acides aminés est appelée peptide, donc une protéine est formée d'un ou plusieurs peptides [2, 3, 5].

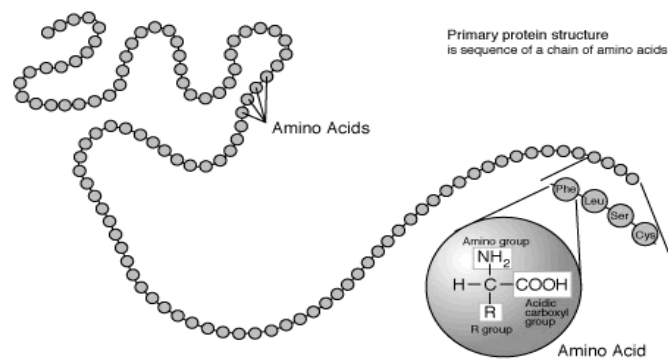


Figure 1 : Enchaînement des acides aminés.

2. Rappels sur les Acides aminés

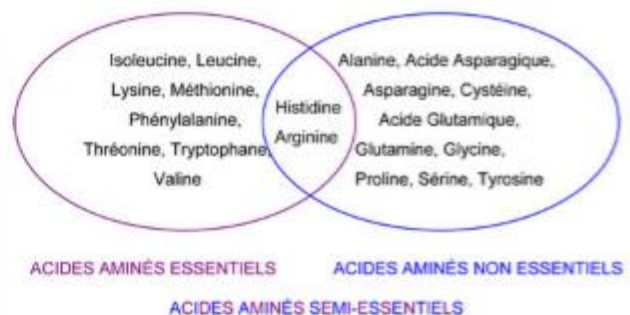
Un acide aminé encore appelé aminoacide est une substance organique avec une fonction carboxylique et une fonction amine, il constitue l'alphabet de la structure protéique, il existe 20 acides aminés naturels classés en 2 types :

- 8 aminoacides essentiels qui ne peuvent pas être synthétisés dans l'organisme et qu'on obtient des aliments riches en protéines. Ces acides aminés sont : Le tryptophane, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine, la leucine et l'isoleucine.
- Deux acides aminés essentiels pour l'enfant : l'arginine et l'histidine.
- 10 aminoacides non essentiels qui peuvent être synthétisés par l'organisme, il s'agit de : alanine, glutamine, acide glutamique, acide aspartique, asparagine, cystéine, proline, glycine, arginine, tyrosine et sérine [7, 4, 5].

Tableau 1 : Les 20 acides aminés, essentiels et non essentiels [6].

Acide glutamique	Glu	E
Acide aspartique	Asp	D
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Cystéine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I

Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Méthionine	Met	M
Phénylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Sérine	Ser	S
Thréonine	Thr	T
Tryptophane	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

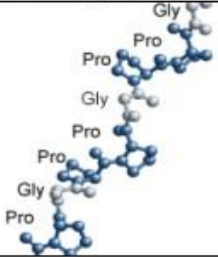
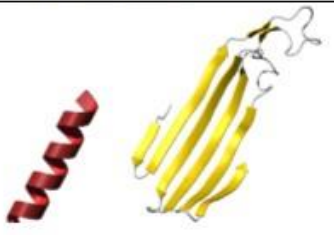
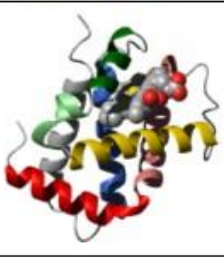
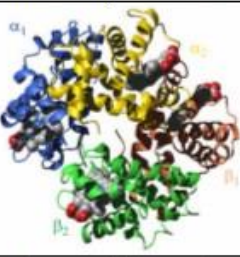


3. Structure des protéines

Les caractéristiques spatiales des protéines sont la clé de leurs fonctions. Elles naissent toutes de la grosse sous unité 60S de ribosome sous forme d'un enchaînement linéaire d'acides aminés ; c'est la structure primaire due aux liaisons peptidiques. Par la diversité des

forces attractives et répulsives des éléments de la chaîne, cette structure va évoluer en structure secondaire (aboutissement des protéines fibreuses), en structure tertiaire (obligatoire pour les protéines globulaires), voire en structure quaternaire. En fin, cette évolution tridimensionnelle amène à une conformation spatiale spécifique : La protéine native.

On distingue ainsi 4 niveaux de structure :

Structure primaire	Structure secondaire	Structure tertiaire	Structure quaternaire
			
La structure primaire est la séquence des acides aminés.	Les structures secondaires sont les motifs que forment les acides aminés. On reconnaît principalement les structures en hélice α et en feuillet β .	La structure tertiaire se rapporte aux relations dans l'espace des différentes structures secondaires, hélices et feuillets.	Les protéines qui contiennent plus d'une chaîne polypeptidique présentent un niveau supplémentaire d'organisation : on parle de structure quaternaire.

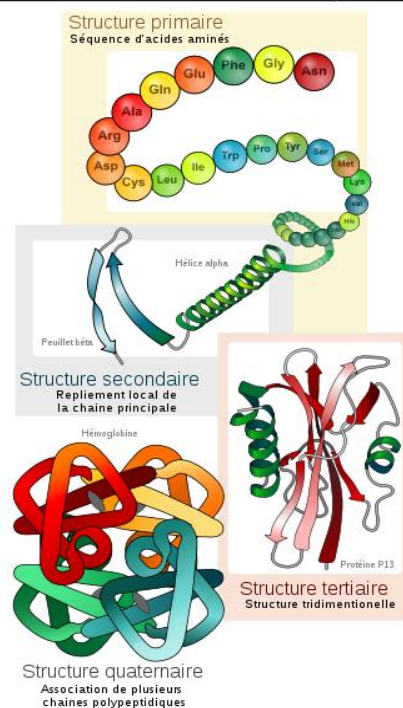


Figure 2 : Structure des protéines [5].

- **Les isoformes des protéines**

Elles ont les mêmes fonctions, toutefois leur structure est dépendante du tissu soit au niveau du nombre de protomères dans l'association soit une différence au niveau du protomère [1, 2, 4, 5].

- **Les bases moléculaires de la structure tertiaire**

- Les liaisons hydrogènes : qui s'établissent entre deux liaisons peptidiques, entre une liaison peptidique et une chaîne latérale ou entre deux chaînes latérales.
- Les liaisons d'interaction hydrophobe: sont des répulsions de molécules d'eau, elles sont 20 fois plus faibles que les liaisons covalentes.
- Les liaisons ioniques : d'attraction ou de répulsion
- Les liaisons covalentes : sont les ponts disulfures, qui peuvent être intra-chaînes ou inter-chaînes, c'est le cas de l'insuline [5].

4. Propriétés des protéines

4.1. Poids moléculaire

La taille des protéines est très variable (elle varie de 10000 à 1000000), elle est calculée à partir de la séquence primaire. Elle se définit par deux expressions équivalentes qui doivent être distinguées :

- Poids moléculaire ou la masse moléculaire relative (M_r), sans dimension.
- Masse moléculaire (M), exprimée en Daltons (Da).

La taille des protéines peut être mesurée par : delta cryoscopie, pression osmotique, diffusion de la lumière, néphélométrie, ultracentrifugation ou ultrafiltration [8].

- **Définition du M_r**

La masse moléculaire relative d'une molécule est le rapport entre la masse de cette molécule et le douzième de la masse de l'isotope 12 du carbone, choisi comme masse de référence [8].

4.2. Dénaturation des protéines

La dénaturation d'une protéine correspond à la destruction des liaisons qui maintiennent les niveaux de structures quaternaire, tertiaire et secondaire. La conformation spatiale d'une protéine est changée sans atteinte de la structure primaire ; ce qui entraîne une perte totale ou partielle de l'activité biologique.

Suivant les facteurs de dénaturation, le processus peut être réversible ou irréversible.

Exemples de facteurs dénaturants : La température, pH extrême, détergents, solvants organique, urée, guanidine et bêta mercapto éthanol [2, 5].

4.3. Solubilité

On distingue 3 catégories de protéines en fonction de leurs solubilités :

- Protéines solubles dans l'eau pure comme l'albumine

- Protéines qui ne se dissolvent qu'en présence de sels neutres ou dans un milieu légèrement acide ou faiblement alcalin comme les globulines.

Ces deux catégories constituent les protéines globulaires.

- Protéines insolubles comme scléroprotéines.

L'augmentation ou la diminution de la solubilité est liée à l'action des sels (force ionique). Toutes les protéines ne sont pas également sensibles à cet effet de relargage, des protéines précipitent dans une solution à moitié saturée, d'autres quand la solution est saturée à 55%. Ce principe est couramment utilisé lors des premières étapes de purification d'une protéine, pour séparer rapidement et à moindre coût les protéines, par exemple ; la séparation des globulines et de l'albumine de sérum de bovin par précipitation au sulfate d'ammonium.

La solubilité dépend aussi du pH et de la présence des solvants organiques [2, 4, 9, 11].

4.4. Propriétés électriques

Les protéines sont des molécules porteuses de charge au pH physiologique. La charge globale sera en fonction du bilan des charges présentes sur chaque site, cette charge globale peut être positive, négative ou neutre.

La protéine pourra en fonction de pH du milieu dans lequel elle se trouve, se comporter comme un anion, une molécule neutre ou un cation.

Les protéines soumises à un champ électrique se déplacent selon leurs charges. C'est cette mobilité électrique qui permettra donc, s'il y a un mélange de protéine de les séparer par électrophorèse réalisée sur des supports différents tels que : l'acétate de cellulose et le gel de polyacrylamide [9].

4.5. Propriétés Optiques

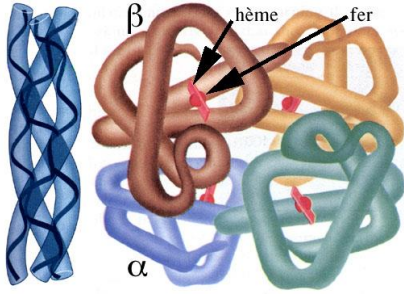
- Dans le visible : Les holoprotéines sont incolores.
- Dans l'ultraviolet : Absorption à 200nm (liaisons peptidiques), les acides aminés aromatiques absorbent à 278nm.
- Les réactions chimiques colorées :
 - ✓ Coloration par réaction : Biuret, Lowry,...
 - ✓ Coloration par adsorption de colorants : rouge ponceau, amidoschwarz, bleu de bromophénol,.... [8, 9].

5. Classification des protéines

Il existe différentes classifications :

5.1. Classification en fonction de la forme des molécules (structure tertiaire)

Tableau 2 : Protéines fibreuses et globulaires [2, 4, 10].

Protéines fibreuses (Les scléroprotéines, les fibres ou fibrilles insolubles)	Exemples : Collagènes du tissu conjonctif, du cartilage et des tendons et la kératine de la peau et des phanères. Elles peuvent être : - Extracellulaires : Fonction de protection. - Intracellulaires : Myosine, tropomyosine des cellules musculaires. Il ne faut pas confondre entre les protéines fibreuses et les protéines filamenteuses (protéines globulaires attachées les unes aux autres).	
Protéines globulaires Les sphéroprotéines (forme sphérique ou ovoïde facilement solubles)	Exemples : Albumines et globulines, myoglobine, hémoglobine. Elles interagissent avec d'autres molécules par leurs motifs de surface.	

5.2. Classification en fonction de la solubilité

Tableau 3 : Protéines en fonction de la solubilité [11].

Les albumines	Elles précipitent par addition de sulfate d'ammonium entre 70 et 100% de la saturation. Leur point isoélectrique est inférieur à 7. Elles ont donc un caractère acide.
Les globulines	Elles sont insolubles dans l'eau pure mais solubles dans les solutions salines diluées. Elles précipitent par addition de sulfate d'ammonium à 50% de saturation. Ce sont souvent des glycoprotéines ou des lipoprotéines.
Les histones	Ce sont des protéines solubles à caractère basique dû à la présence de forte proportion de lysine et d'arginine, ce qui leur confère un point isoélectrique élevé. On les trouve liées aux acides désoxyribonucléiques dans les noyaux des cellules.
Les globines	Elles constituent la partie protéique des hémoglobines et des myoglobines. Elles ont une teneur élevée en histidine.
Les protéines fibrillaires solubles	Protéines constituant les cellules musculaires (myosine, actine, troponine, tubuline), solubles en milieu de force ionique élevée.

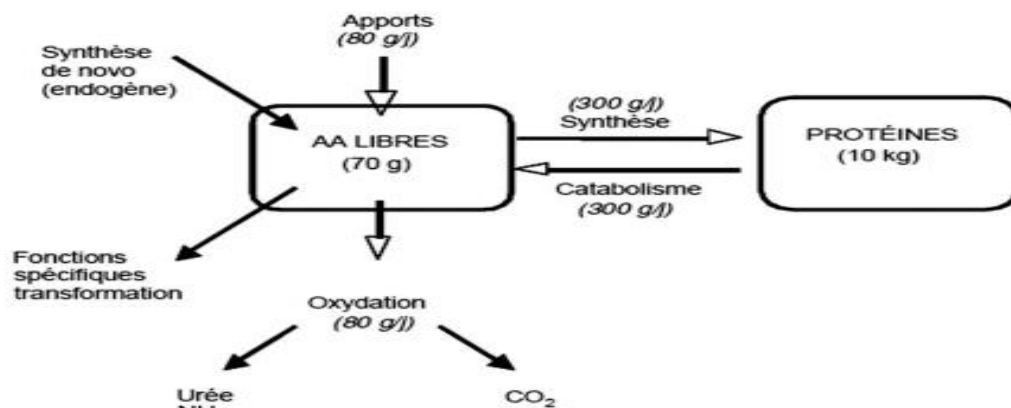
5.3. Classification en fonction de la composition

- Les holoprotéines : Constituées uniquement d'acides aminés (Albumine).
- Les hétéroprotéines : Sont constituées d'une chaîne polypeptidique (apoprotéine) associée d'une manière covalente ou non covalente à une partie non protéique appelée groupement prosthétique [4, 8].

Tableau 4 : les différents types d'hétéroprotéines [2, 8, 10].

Hétéroprotéines avec liaisons covalentes	- Glycoprotéines : dont le groupement prosthétique est de nature glucidique ; dont la proportion est comprise entre 4 et 50%. Lorsque cette proportion est plus élevée, on parle de peptidoglycane, ils ont un rôle passif de protection.
Hétéroprotéines avec liaisons non covalentes	- Chromoprotéines : protéines colorées dont le groupement prosthétique contient un élément métallique : hémoglobine. - Lipoprotéines (association protéines et lipides). - Nucléoprotéines (association protéines et acides nucléiques).

6. Métabolisme protéique (Renouvellement protéique, turn over des protéines)

**Figure 3 : Métabolisme général des Protéines [12].**

Les protéines sont renouvelées en permanence, en maintenant un équilibre entre la synthèse (anabolisme) et la protéolyse (catabolisme), ce renouvellement est modulé par de multiples facteurs nutritionnels, hormonaux au cours de diverses situations pathologiques.

Les besoins en protéines doivent être assurés par un apport suffisant à la fois en azote et en acides aminés essentiels [12, 13].

6.1 La synthèse des protéines

Elle recouvre les étapes de transcription de l'ADN en ARN messager, d'aminocyclation des ARN de transfert, de traduction de l'ARN messager en chaînes polypeptidiques, de modifications post-traductionnelles, et enfin de repliement des protéines ainsi produites [12, 13].

6.2 La protéolyse (ou le catabolisme protéique)

Elle constitue la principale source d'acides aminés pour l'organisme (75% contre 25% pour les apports). Ces mécanismes ont été beaucoup moins étudiés que ceux de la synthèse protéique, en particulier en raison de difficultés méthodologiques.

En règle générale, les protéines sont dégradées par des enzymes protéolytiques ; les protéases (les hydrolases) réparties en trois systèmes principaux :

- Le système lysosomal.
- Le système calpaine-capastatine.
- Le protéasome (système ATP dépendant) [12, 13].

6.3 Régulation de la biosynthèse des protéines

Monod et Jacob ont décrit sous le nom d'opéron un mécanisme de contrôle de la biosynthèse des protéines au niveau de la transcription ; processus au cours duquel l'information génétique portée par ADN est transcrite en ARN.

Les chromosomes porteraient deux types de gènes : les gènes de structure ou les cistrons élaborent la ou les protéines et les gènes opérateurs contrôlent le processus. Un troisième facteur constitué par un gène régulateur contrôle l'activité de l'opéron, il induit la synthèse de molécules de nature protéiques appelées répresseurs.

Dans un système inductible, les protéines enzymatiques par exemple, sont synthétisées en présence de leur substrat (adaptation enzymatique). Dans un système répressible, le répresseur produit par le gène régulateur est inactif et ne peut empêcher la transcription, mais il peut se combiner à un métabolite qui l'active, par un effet allostérique, et bloque aussi la transcription (rétro-inhibition par feed-back).

Le contrôle de la traduction, processus qui permet à partir d'un ARNm la synthèse d'une protéine, porte probablement sur la rapidité de transfert de l'ARNm et d'exécution de son message ainsi que sur la quantité de l'ARNt disponible et aptes à fixer leurs aminoacides spécifiques.

L'action des hormones sur la synthèse protéique s'explique au niveau de transcription ou de la traduction, soit par élaboration d'un messenger intracellulaire à partir d'un récepteur actif (hormone polypeptidique), soit par l'action directe d'une hormone fixée à un transporteur servant, suivant le tissu cible, soit d'inducteur, soit de répresseur (hormones stéroïdes). Ainsi les estrogènes stimulent la synthèse des ARN et des protéines de l'utérus, et la testostérone à un effet identique sur la prostate et les vésicules séminales. Les glucocorticoïdes induisent la synthèse protéique au niveau du foie et l'inhibent dans le muscle et les thymocytes.

De leurs côtés les hormones thyroïdiennes augmentent la rapidité de la traduction ribosomale.

7. La localisation des protéines

La fonction d'une protéine dépend de sa structure mais aussi de sa localisation, après leurs synthèses, les protéines sont dirigées vers leur localisation par des signaux de localisation.

On distingue [14] :

Tableau 5 : Localisation des Protéines [14].

Protéines cytosoliques	Elles sont entièrement libres ; attachées à la membrane plasmique ou à un organite (RE, Appareil de golgi, mitochondrie..). elles ont une fonction catalytiques (enzymes) et structurales (cytosquelette).
Protéines nucléaires	Elles sont transportées vers le noyau. Elles ont une fonction de structure de la chromatine (histones), de liaison de l'ADN, et elles sont les protéines de l'architecture de noyau (les protéines de la lamina).
Protéines sécrétées	Elles sont déversées dans le milieu extracellulaire.

8. Fonction des protéines

Les protéines sont des molécules biologiques de première importance (quantitativement, et qualitativement) dont les fonctions sont très variées. Ces fonctions dépendent de leur structure tridimensionnelle et de leur localisation. Si une protéine se déforme ou se déplace, elle s'arrête de fonctionner normalement. Chez les êtres humains, l'accumulation des protéines misfolded (endommager) est liée à une série de maladies comme le diabète, les cancers, la maladie de Parkinson et l'Alzheimer [15].

Tableau 6 : Rôles des Protéines [15].

Rôle structural : Les fibres protéiques	Elles forment des tubules ou des filaments qui s'accumulent pour former des fibres très résistantes (plus que l'acier), on les retrouve dans les tendons, les ligaments, l'armature interne des cellules, les fibres du caillot sanguin ou des membranes. Exemple : le collagène (protéine la plus abondante en quantité), la kératine (ongle, poils, cheveux,...) et le cytosquelette.
Rôle contractile	Actine et myosine, qui facilitent les mouvements des cellules. Elles sont responsables de la contraction musculaire, et des mouvements des sourcils et des flagelles.
Rôle de transport	- Transport des substances dans le sang : Plusieurs substances sont transportées en se combinant temporairement à des protéines ; l'hémoglobine et la myoglobine transportent l'oxygène, les cytochromes qui transportent les électrons et les lipoprotéines transporteurs des lipides. - Transport à travers la membrane cellulaire : Plusieurs substances traversent la membrane en passant par des petits canaux fait de protéines (canaux ioniques).
Rôle d'hormones	La plus part des hormones sont des peptides. Exemples : l'insuline, l'hormone de croissance.
Rôle d'identification	Les glycoprotéines CMH portées par les membranes permettent la reconnaissance par système immunitaire.
Rôle de défense et de coagulation	Les mucines ont un effet germicide. Le fibrinogène et la thrombine contribuent à la formation des coagules de sang pour éviter des hémorragies. Les immunoglobulines qui sont fabriquées par certains globules blancs.
Rôle de régulation et enzymes	Certaines protéines régularisent la division cellulaire, d'autres l'expression des gènes. Elles catalysent les réactions chimiques (enzymes).
Rôle de réserve (source d'énergie)	Quand il est nécessaire, les protéines ont une fonction énergétique.
Rôle homéostatique	Les protéines servent d'amortisseurs pour maintenir, de différentes façons le pH interne et l'équilibre osmotique. Elles maintiennent la pression oncotique (albumine, globine).

DEUXIÈME CHAPITRE : EXPLORATION PROTÉINIQUE

La mesure des protéines totales fait partie du bilan biologique standard, qui fait lui-même partie d'un bilan complet de santé, elle reflète le statut nutritionnel, et peut être utilisée pour dépister et diagnostiquer certaines pathologies du foie et du rein et d'autres maladies (œdèmes, prise ou perte de poids) [43].

Si la quantité des protéines est anormale, des analyses complémentaires seront réalisées pour identifier quel type de protéine est anormalement élevée ou abaissée ; le ratio A/G ou l'électrophorèse des protéines [44].

1. Phase pré-analytique

De préférence d'être à jeun avant le prélèvement, et il faut signaler d'éventuels traitements en cours car certains médicaments peuvent interférer avec certaines techniques de dosage des protéines dans le sang (antibiotiques et antiépileptiques) [45].

L'utilisation prolongée du garrot lors de prélèvement peut augmenter la concentration des protéines artificiellement dans le prélèvement par hémococoncentration.

La prise de certains médicaments peut faire augmenter la concentration de protéines telles que les stéroïdes anabolisants, les androgènes, l'hormone de croissance, la progestérone et l'insuline. La prise d'autres médicaments peut faire diminuer la concentration en protéines comme par exemple : les œstrogènes ou la pilule contraceptive [43].

2. Méthodes colorimétriques

Pour déterminer la concentration totale des protéines et de l'albumine dans un mélange complexe par spectrophotométrie d'absorption, des méthodes colorimétriques sont souvent employées. Ces méthodes sont basées sur la réaction d'agents chromophores avec les liaisons peptidiques ou avec certains acides aminés des protéines. Cette réaction donne naissance à une coloration (dans le visible) dont l'intensité (l'absorbance (A) ou densité optique (DO)) est directement proportionnelle à la concentration de la protéine. Les méthodes colorimétriques les plus utilisées pour doser les protéines sont celles de Biuret, Lowry, Bradford, Rouge de Pyrogallol, et BCG pour l'albumine [46].

Tableau 7: Les méthodes colorimétriques les plus utilisées pour le dosage des protéines [47, 48].

Méthodes	BRADFORD	LOWRY	ROUGE PYROGALLOLE	BIURET
Auteur	Bradford M. (1976)	Lowry et al. (1951)	Fujita en 1983 et par Watanabe en 1986	Gornall et al. (1948)
Réactifs	Bleu de coomassie ; Brilliant G250 en milieu acide	Le biuret et le réactif de Folin Ciocalteu (le phosphomolybdate et le phosphotungstate)	Molybdate rouge de pyrogallol	CUSO ₄ -(OH) + Tartrate double de Na et K+Kl (Réactif de Gornall)
Groupe réactifs	Réaction avec l'arginine et, dans une moindre mesure avec histidine, lysine et les acides aminés aromatiques	Réaction avec des phénols (résidus tyrosyl) : la tyrosine, le tryptophane, et dans une moindre mesure, avec cystéine, histidine et la liaison peptidique	déplacement du maximum d'absorption de 467 à 598 nm	Formation d'un complexe bleu pourpre avec la liaison peptidique NH-CO-NH en présence de cuivre en milieu basique
Mesure λ	595 nm	745 nm	598 nm	545 nm
Sensibilité	Élevée 1 à 2,5 mg/l	Élevée 50 à 250 mg/l	20 à 125 mg/l	Faible 2 à 6 g/l
Limite	1 à 1,5 g/l	1 g/l.	1,5 à 2 g/l	150 g/l
Milieus	Urines, LCR ; divers milieux.	Milieus biologiques divers	Urines, LCR	Sang, LCR, urines.
Rapidité et complexité	simple et très rapide (5mn)	Point final moyennement (simple et rapide)	point final simple (10 mn)	Simple et moyennement rapide. Point final : 10mn Cinétique :11-17mn

Interférences	Dosage peu influencé par la présence d'autres molécules sauf les détergents et les bases fortes.	Dosage fortement influencé par d'autres solutés : la streptomycine, les salicylates et la chlorpromazine.	Détergents non ioniques.	Dosage influencé par d'autres solutés opalescence, la bilirubine, l'acétone, le lactate de Na, les produits de contraste et la digoxine
Les variations d'une protéine à une autre	Forte : protéine de référence (albumine de sérum bovin) est une protéine globulaire peu représentative de l'ensemble de protéine. La γ -globuline : parfois employée, est une meilleure protéine de référence	Forte		Faible: la formation de complexes est à peu près équivalente pour toutes les protéines puisque le Biuret réagit avec la liaison peptidique

2.1 Réaction de Biuret

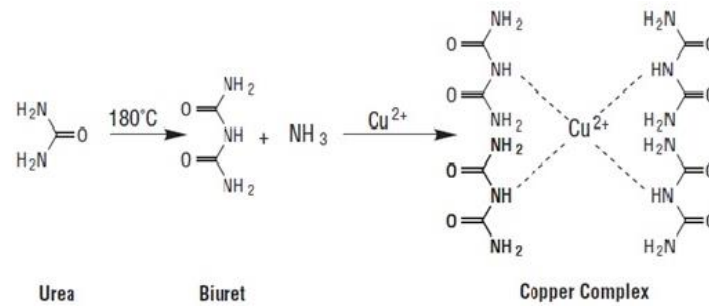
Cette méthode a été développée par Gornall et al (1949) qui ont appliqué la réaction du biuret pour obtenir une méthode quantitative de dosage des protéines. Cette réaction du biuret est la formation d'un complexe pourpre entre le biuret ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) et deux liens peptidiques consécutifs en présence de cuivre CuSO_4 en milieu alcalin. Le complexe de coordination résultant absorbe fortement dans le bleu dont le maximum d'absorption est à 540 nm. La méthode est linéaire jusqu'à 150g/l.

Le réactif de Gornall est composé de :

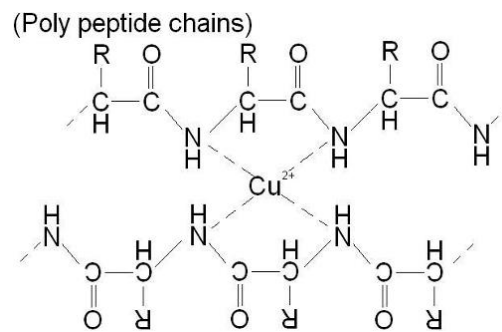
- ✓ Sulfate de cuivre, qui donne la coloration bleue du réactif due aux ions cuivre.
- ✓ Solution d'hydroxyde de sodium (soude) à 0,2 mM, qui rend le milieu basique.
- ✓ Tartrate double de sodium et de potassium, qui chélate (piège) les ions Cu^{2+} et évite leur précipitation en milieu basique sous forme d'hydroxyde de cuivre Cu(OH)_2 insoluble.
- ✓ Iodure de potassium, pour éviter la réduction des ions cuivriques avant le dosage.

Le composé peut être préparé en chauffant l'urée au-delà de son point de fusion, à laquelle température l'ammoniac est expulsé. $2 \text{CO(NH}_2)_2 \rightarrow \text{H}_2\text{N-CO-NH-CO-NH}_2 + \text{NH}_3 \uparrow$.

Un biuret est aussi un groupe fonctionnel, et une classe de composés organiques de structure générale RHN-CO-NR-CO-NHR .

**Figure 4 :** La réaction de Biuret.

Vu leur analogie de structure avec le biuret, les peptides et les protéines donnent la même réaction.

**Figure 5 :** Le complexe de Biuret (violet)

L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en protéines et au nombre de liaisons peptidique par gramme de protéines à analyser.

- **Valeurs normales**

Sérum : Prématuré 40 à 60 g/l.

Nouveau-né 50 à 70 g/l.

Adulte : 65 à 80 g/l

- **Avantages**

L'une des méthodes les plus fiables, elle est relativement rapide, elle est utilisée pour doser les concentrations entre 10 et 150 g/l. Sa principale qualité est d'avoir une absorption égale pour toutes les protéines.

- **Inconvénients**

- Une sensibilité à certains interférents ; le saccharose, le glycérol et les sels d'ammonium sulfate.
- Cette méthode est peu sensible (2 à 20 g/L) et s'applique difficilement à des solutions de protéines diluées.
- Cette méthode n'est pas utilisée pour le dosage des glycoprotéines [9, 46, 49].

2.2 Méthode de Folin

Cette technique a été développée par Folin, Ciocalteu et Denis. Ce dosage utilise le réactif de Folin (mélange de tungstate de sodium et de molybdate de sodium en solution dans de l'acide phosphorique et de l'acide chlorhydrique) qui réagit spécifiquement avec les acides aminés aromatiques (tyrosine et tryptophane).

La présence d'une protéine entraîne la réduction du réactif par perte d'un à trois atomes d'oxygène, la fixation du cuivre par chélation facilite le transfert d'électrons vers l'acide mixte, on obtient ainsi plusieurs espèces réduites possédant une coloration bleue qui absorbent la lumière à une longueur d'onde égale à 750 nm.

La méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée pour le dosage des protéines avec des concentrations comprises entre 0,1 g/l et 1 g/l [46].

2.3 Méthode de Lowry

Dans des conditions alcalines, l'ion cuivre divalent forme un complexe avec des liaisons peptidiques dans lesquelles il est réduit à un ion monovalent. L'ion cuivre monovalent et les groupes radicaux de tyrosine, tryptophane et cystéine réagissent avec le réactif de Folin pour produire un produit instable qui diminue au bleu de molybdène/tungstène [9, 49].

- **Avantages**

L'absorbance est mesurée à des longueurs d'ondes entre 500 nm et 750 nm où 500 nm est considérée pour le dosage de fortes concentrations en protéines, alors que 750 nm est adoptée pour le dosage de faibles concentrations en protéines.

La méthode de Lowry permet de déterminer les concentrations en protéines comprises entre 0,01 g/l et 1 g/l [46].

- **Inconvénients**

Un temps d'incubation d'environ 30 min est nécessaire pour le développement de la couleur bleue. Les interférents avec ce dosage sont : K^+ , Mg^{2+} , EDTA, les phénols, les détergents et les agents réducteurs [46].

2.4 Méthode de Bradford

Cette méthode utilise le bleu de Coomassie comme réactif qui existe sous trois formes : cationique, neutre et anionique. On opère dans des conditions de pH acide pour obtenir la forme anionique qui interagit préférentiellement avec les protéines. La fixation de ce colorant se réalise si la molécule à évaluer comporte des groupement fonctionnels basiques anioniques, l'arginine, et dans une moindre mesure, avec l'histidine (His), la lysine (Lys) et les acides aminés aromatiques. Le bleu de Coomassie se lie aux protéines par des interactions non-covalentes. Sa longueur d'absorption maximale augmente de 465 nm (rouge) à 595 nm.

- **Avantages**

- Très sensible (détection de protéine à des concentrations de 0,001 mg/l à 1,5 g/l).
- Très rapide.
- Assez résistante à la plupart des interférents sauf les détergents comme le triton, dedocyl sulfate de sodium(SDS) et les bases fortes [9, 46].

2.5 Méthode au rouge de pyrogallol

Les protéines et le molybdate/rouge de pyrogallol forment un complexe rouge qui absorbe à 460 nm. En milieu acide, la fixation de ce complexe sur les groupements aminés des protéines déplace le pic d'absorption à 600 nm. La couleur est directement proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon. Le domaine de mesure est de 0,02 g/L à 1,5 g/L (avec modification du mode opératoire, la linéarité peut atteindre 6 g/L) [48].

2.6 Méthode du vert de bromocrésol BCG

L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert bleuté, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé. Le domaine de mesure est de 3 g/l à 60 g/l voir 100 g/l [48].

3. Méthodes immunochimiques

Ces méthodes sont nombreuses. Elles sont basées sur une réaction entre un antigène (protéine sérique) et un (ou plusieurs) anticorps qui permet de reconnaître spécifiquement la protéine recherchée. Elles permettent :

- Le dosage de protéines à faible concentration :
- Le dosage spécifique de certaines protéines plasmatiques : IgE, ferritine, les hormones protéiques (hCG), les marqueurs tumoraux (alpha-foetoprotéine).
- Les techniques en phase homogène permettent le dosage de molécules de petite taille (haptènes) : hormones stéroïdes, hormones thyroïdiennes, médicaments. Aussi, elles sont utilisées pour la recherche et le dosage d'anticorps pour le diagnostic de maladies infectieuses (sérologie), en parasitologie (toxoplasmose), en virologie (virus de l'hépatite B, virus du SIDA), et les Ac auto-immun [50].

Tableau 8 : Classification des méthodes de dosage immunologiques selon le traceur [50].

Traceur	Dosage avec compétition (anticorps limitant)	Dosage sans compétition (anticorps en excès)
Radiomarqué	Radioimmunoassay (RIA)	Immunoradiometric assay (IRMA)
Enzyme	Enzymoimmunoassay (EIA)	Enzyme-labeled immunosorbent assay (ELISA)
Fluorescent	Fluoroimmunoassay (FIA)	Immunofluorometric assay (IFMA)
Luminescent	Luminoimmunoassay (LIA)	Immunoluminometric assay (IFLA)

Tableau 9 : Classification des méthodes de dosage immunologiques selon le principe de mesure [51].

Méthode	Principe
Immuno turbidimétrie	Mesure du rayonnement absorbé
Immuno néphélémétrie	Mesure du rayonnement diffusé (plus sensible).
Chimiluminescence	Mesure l'énergie lumineuse

3.1 La chimiluminescence

La chimiluminescence est une réaction chimique qui émet de l'énergie sous forme de lumière. Quand elle est utilisée dans la technologie des immunodosages, la lumière émise traduit la quantité d'analyte présente dans l'échantillon. Les réactions de chimiluminescence directes mesurent l'énergie lumineuse sans utiliser des étapes supplémentaires, ni de

molécules d'amplification. Ester d'acridinium (EA) est utilisé comme marqueur chimiluminescent car il ne requiert pas d'ajout de catalyseur, ni de substrat [52,53].

4. Méthodes de séparations

4.1 Electrophorèse

Tiselius en 1930 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 sépare les protéines en 5 ou 6 fractions différentes. Le tracé obtenu est le profil électrophorétique. Cette technique est devenue une analyse de routine dans un laboratoire de biochimie médicale. Elle vise à rechercher les modifications qualitatives et semi-quantitatives entraîné par de nombreuses affections.

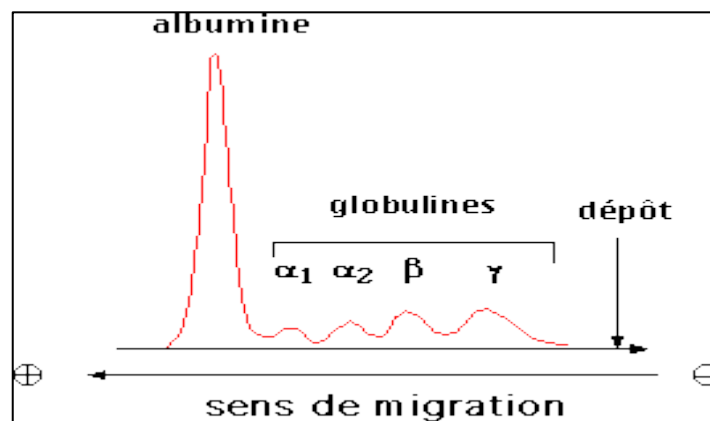


Figure 6 : le tracé électrophorétique des protéines plasmatiques

La migration dépend des facteurs suivant :

- Courants liquidiens
- Charge électrostatique d'une protéine :

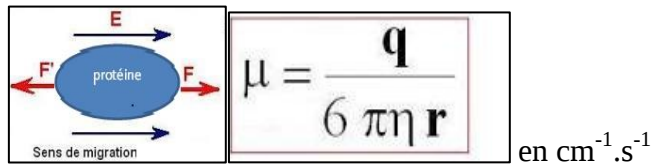
Les protéines sont des molécules amphotères. Selon le pH, elles se trouvent charger négativement ou positivement. La charge q d'une protéine est déterminée par la différence entre pH tampon et le pH isoélectrique de la protéine (la charge de la protéine est nulle a ce pH).

Pour la réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques, on utilise des pH basiques. Les protéines, chargées négativement, migrent donc vers l'anode et celles chargés positivement migrent vers la cathode [53, 54, 55, 56, 57].

- **La mobilité électrophorétique μ**

La mobilité des protéines est principalement déterminée par leur charge nette et très peu par leur taille. En solution, les protéines acquièrent une charge électrique q et sous l'effet

d'un champ électrique E , elles se déplacent dans un sens déterminé, qui dépend du pH de la solution et du pH isoélectrique des protéines [58].



4.2 L'électrophorèse capillaire (CE)

L'électrophorèse capillaire constitue un développement récent des techniques traditionnelles d'électrophorèse des protéines sériques, c'est une microtechnique destinée à l'analyse qualitative et quantitative de solutions complexes, à partir d'échantillons de très faible volume. C'est une miniaturisation de l'électrophorèse en veine liquide initialement décrite par Tiselius dans les années 1930. Elle représente une avancée technologique majeure pour l'exploration des protéines sériques avec une très bonne reproductibilité, une rapidité d'exécution et une sécurité par son automatisation complète, elle fonctionne en système clos, du prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'émission du tracé électrophorétique.

Les composés du mélange sont injectés dans des capillaires remplis avec un électrolyte le plus souvent en silice fondue et sont séparés sous l'action d'un champ électrique en tampon alcalin grâce à leurs différences vitesse de mobilités et migrent de la cathode vers l'anode (+) selon leurs tailles, leurs forces ioniques et la porosité de la silice. Des voltages très importants (plusieurs dizaines de kV) sont utilisés pour séparer les molécules sur la base de leur différence de rapport charge/taille. Ils sont ensuite détectés grâce à un détecteur placé en fin de séparation.

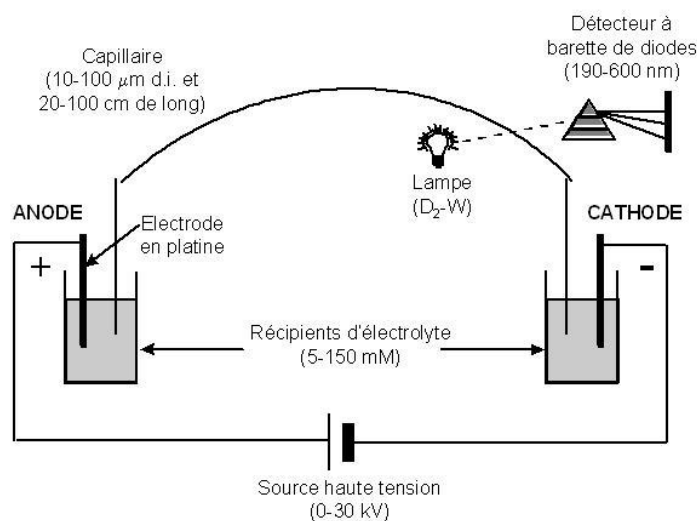


Figure 7 : Principe de l'électrophorèse capillaire [58].

- **Avantages et applications**

Grande efficacité, hautement résolutive, rapidité d'analyse, automatisation, petit volume d'injection, faible consommation de solvant et son coût de fonctionnement minime.

C'est une technique de choix pour permettre de relever les défis analytiques, auxquels la chromatographie en phase liquide ne peut pas répondre. EC est utilisée aussi pour l'immunotypage des gammopathies monoclonales, et l'électrophorèse des hémoglobines. Plus récemment, la détermination de la transferrine désialylée.

Certains types d'EC permettent de séparer chacune des zones en plusieurs pics ; la zone $\alpha 1$ est séparée en orosomucoïde et $\alpha 1$ -antitrypsine, et la zone $\alpha 2$ en $\alpha 2$ -macroglobuline et haptoglobuline.

- **Limites**

- Faible sensibilité : solution injectée assez concentrée (minimum : 1 mg/l).
- Les molécules neutres ne sont pas séparées [58, 59].

4.3 L'immunoélectrophorèse

L'analyse immunoélectrophorétique combine les principes de l'électrophorèse en gélose des protéines et de l'immunodiffusion. Tout d'abord, on fait migrer un mélange de protéines dans un gel d'agarose sous un champ électrique, ainsi les protéines sont séparées selon leur charge, et se répartissent selon le profil électrophorétique habituel des plus négatives au plus positives : albumine, $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β - et γ -globulines.

Après la séparation des protéines, on dépose les anticorps (immun sérum anti-protéines plasmatiques humaines, ou immun sérums spécifiques de telle ou telle protéine) dans une gouttière parallèle à l'axe de migration. La rencontre Ag-Ac se traduit, après la diffusion, par un arc de précipitation.

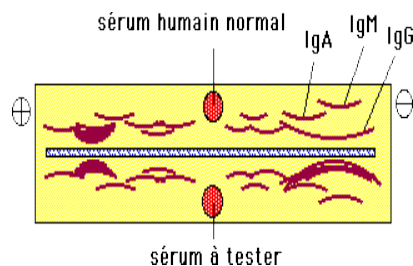


Figure 8 : Principe de l'immunoélectrophorèse.

- **Avantages**

C'est une méthode d'analyse essentiellement qualitative (détection des immunoglobulines anormales) ou semi-quantitative (taux élève ou diminué de protéines).

Elle est utilisée pour confirmer un diagnostic, quand des tests de laboratoire sont avérés anormaux (présence d'un pic).

L'analyse peut servir à exclure une maladie telle que : les leucémies et le myélome multiple.

Elle permet assurer le suivi d'un traitement des maladies auto immunes ou de certains types de cancer.

- **Inconvénients**

- Délai de réponse long de par sa méthodologie (au moins trois jours).
- Difficilement automatisable.
- Elle nécessite une grande expertise pour sa réalisation et son interprétation.
- Elle a des limites de détection plus élevées [60].

4.4 Immunofixation

C'est une technique sensible d'identification d'une immunoglobuline monoclonale : IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, lambda ou kappa, elle s'intègre dans une stratégie globale de recherche des Ig monoclonales.

C'est une technique d'immuno précipitation en gel ou est prédéfinis des pistes de migration. Après séparation, les différentes pistes sont incubées en présence d'antisérums spécifiques, puis l'application d'un colorant qui permet de visualiser la réaction.

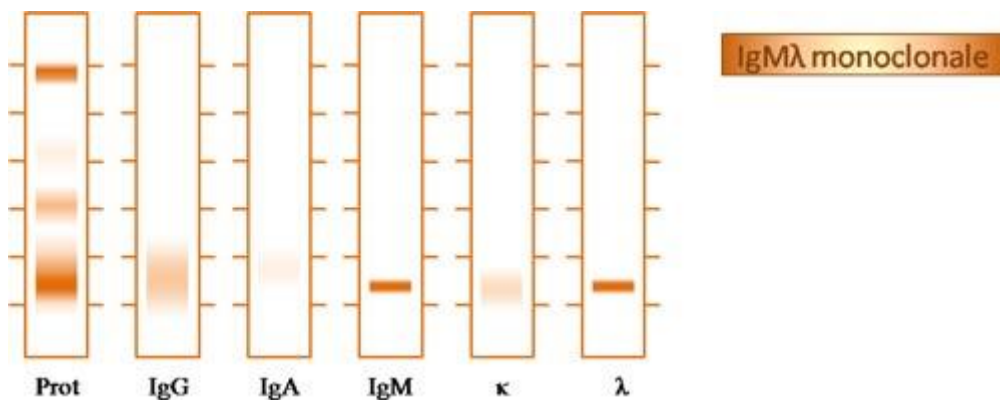


Figure 9 : Immunofixation pic IgM κ monoclonale.

L'immunofixation tend à supplanter l'immunoélectrophorèse car elle a l'avantage d'être :

- Rapide, plus sensible, ainsi l'immunofixation peut révéler une Ig passée inaperçue à l'électrophorèse.
- En partie automatisable et donc réalisable par un plus grand nombre de laboratoires.
- Plus facile à lire et à interpréter.

L'immunofixation a comme inconvénient d'être plus onéreuse que l'immunoélectrophorèse [61].

4.5 L'immuno soustraction

Technique analytique permettant le typage d'un pic monoclonal en électrophorèse capillaire.

On ajoute au sérum des anticorps fixés à des billes (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti- κ , anti- λ).

Les complexes Ag-Ac précipitent et on réalise l'électrophorèse capillaire sur le surnagent.

On visualise alors une disparition de la fraction qui correspond à l'antisérum utilisé [61].

4.6 La chromatographie

La chromatographie est basée sur la migration des protéines en fonction de leurs tailles, leurs masses ou leurs charges et leurs solubilités. L'échantillon est entraîné par la phase mobile au travers de la phase stationnaire qui a tendance à retenir plus ou moins les composés de cet échantillon à l'aide de différentes interactions [60, 62].

4.6.1 La chromatographie d'exclusion de taille

Elle sépare les protéines par la taille et la forme de la molécule. La phase stationnaire inerte est un gel constitué d'agarose, de dextran ou de polyacrylamide.

- **Avantages**

C'est une étape finale de purification pour sa capacité à différencier les espèces d'une protéine et celles des protéines similaires.

- **Inconvénients**

Offre une faible résolution pour les mélanges complexes de protéines [49, 60, 62, 63].

4.6.2 Chromatographie par échange d'ions

Elle sépare les protéines en fonction de leur charge de surface nette, l'élution des protéines se fait en augmentant la force ionique du tampon d'élution ou en changeant le pH de telle

façon que la protéine soit moins chargée. Il existe deux types de résines : échangeuse d'anions et échangeuse de cations [54, 9, 63].

4.6.3 La chromatographie d'affinité

Elle se base sur la liaison spécifique et réversible d'une protéine à un ligand qui est fixé par covalence à une matrice inerte et poreuse. Les protéines sont ensuite éluées en lavant avec un milieu contenant un ligand non fixé et ayant une plus grande affinité pour les protéines déjà liées.

- **Avantages**

En fonction de l'application en aval, la purification par affinité peut être le seul type de chromatographie nécessaire pour atteindre une pureté adéquate.

- **Inconvénients**

Méthode longue, complexe et moins spécifique [49, 60, 62].

4.6.4 La chromatographie d'interaction hydrophobe (HIC)

Elle sépare les protéines en fonction de leur caractère hydrophobe, et est souvent utilisé comme une étape intermédiaire dans un système de purification [49].

5 La précipitation

5.6 La précipitation différentielle par les sels

Elle est basée sur le fait que les conditions ioniques ou de pH qui rendent les protéines insolubles varient pour chaque espèce de protéine. C'est une étape de purification, elle est simple et non couteuse. Cependant, c'est une méthode assez grossière et ne permet pas une purification très poussée. L'électrolyte le plus employé pour la précipitation différentielle est le sulfate d'ammonium [64, 65].

5.7 La précipitation par les solvants organiques

Les solvants organiques les plus utilisés sont le méthanol, l'éthanol, le butanol et l'acétone. Cette méthode n'est pas utilisée en pratique courante, en plus elle est couteuse et présente une toxicité des solvants [60, 66].

6. L'ultracentrifugation

Pour que cette séparation ait lieu la vitesse de rotation de la centrifugeuse doit dépasser les 15 000 tours par minute [21, 67].

6.1 Ultracentrifugation analytique

Elle permet de caractériser les espèces dispersées. Elle est utilisée en biologie, en biochimie et en chimie colloïdale. La détection peut avoir lieu par spectroscopie. Ce suivi permet de déterminer par exemples la masse moléculaire, la forme, les dimensions, la densité des espèces dispersées ainsi que les interactions qui existent entre elles [22].

6.2 Ultracentrifugation préparative

Elle permet d'isoler les espèces dispersées :

- ✓ Elle est utilisée en biologie pour la purification des virus, pour la séparation des macromolécules surtout les protéines, pour les analyses médicales et pour la préparation de solutions à gradient de densité [46].
- ✓ Sédimentation :

En pratique de biochimie, les molécules sont mises en mouvement et sédimentées par suite de leur densité qui est supérieure à celle du solvant, on peut donc déterminer leur masse molaire ainsi que leur constante de sédimentation mesurée en Svedberg [4, 52].

TROISIÈME CHAPITRE :
SÉMIOLOGIE DES PROTÉINES PLASMATIQUES

1. Étude des principales protéines plasmatiques

Le plasma contient environ trois cents protéines différentes. Les protéines les plus abondantes sont : Albumine : plus de 50 % ; Anticorps (= Immunoglobulines): plus de 20 % (essentiellement des IgG) ; Fibrinogène : 5 % ; Alpha 1 antitrypsine : 4 % ; Alpha 2 macroglobuline : 4 % ; Transferrine : 3 % ; Lipoprotéines (HDL et LDL) : 8 %

Les autres protéines ont des fonctions essentielles malgré leurs faibles quantités [16].

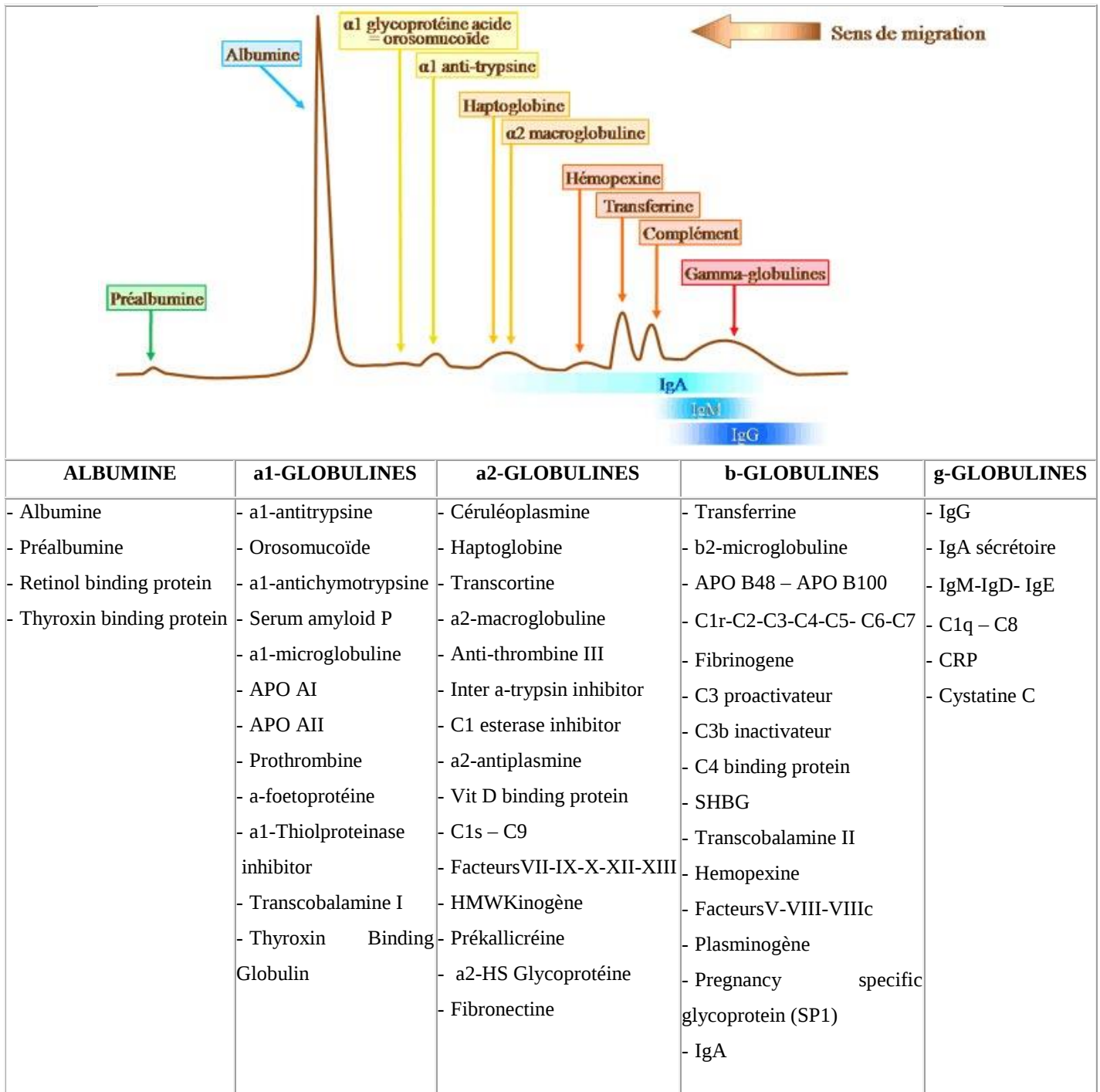


Figure 10 : Différentes fractions d'une électrophorèse des protéines plasmatiques [17].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE III: Sémiologie des protéines plasmatiques

Remarque : des différences dans la classification des protéines peuvent exister selon la technique d'électrophorèse et les références.

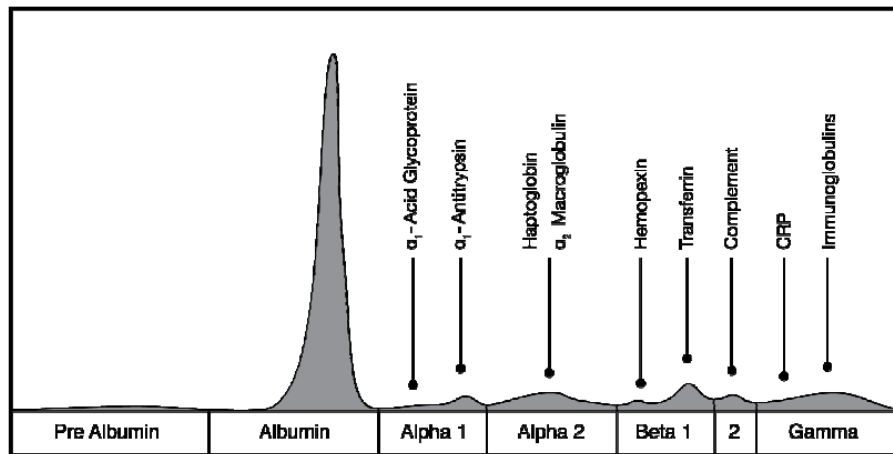


Figure 11 : Différentes fractions d'une électrophorèse capillaire des protéines plasmatiques [18].

Tableau 10 : Caractéristiques des principales protéines plasmatiques [19].

FRACTION A L'ELECTROPHORESE	PROTEINE	NATURE	M M	pHi	½ VIE	NORMES ADULTE	FONCTIONS
Albumines 54-65 %, 38-46 g/l	Préalbumine : PALB	Holoprotéine	55 kD		2 j	0,2 - 0,4 g/l	Transport Horm thyroïdiennes, PRI-.
	Albumine : ALB	Holoprotéine	66 kD	4,7	15-20 j	40 - 45 g/l	Transporteur non spécifique, PRI-, Maintien de la pression oncotique
Alpha1-Globulines 1,1-3,7 %, 0,8-2,6 g/l	α_1 -antitrypsine : α_1 -AT	Glycoprotéine N ^{bs} phénotypes	55 kD	4,8	5 j	0,8 - 2,0 g/l	Inhibiteur de protéases, PRI+ lente
	Orosomucoïde : ORO (α_1 -glycoprotéine acide)	Glycoprotéine	41 kD	2,5	2 à 3 j	0,5 - 1,3 g/l	Rôle mal connu, PRI+ lente.
Alpha2-Globulines 8,5-15 %, 6-10 g/l	Haptoglobine : Hp	Glycoprotéine 3 phénotypes	H _{p1-1} : 86 kD (le + fréquent en Europe)	4,2	3 à 5 j	0,3- 2,0 g/l	Maintien du capital martial de l'organisme par fixation de l'Hb, PRI+ lente.
	α_2 -macroglobuline : α_2 -M	Glycoprotéine	850 kD	5,4	5 j	1,5 - 3,5 g/l	Inhibiteur de protéases, (PRI+).
	Céruleoplasmine : CER (céruleoplasmine)	Glycoprotéine	134 kD	4,4	4 à 5 j	0,2 - 0,6 g/l	Fixation du cuivre plasmatique, Oxydation du fer, PRI+très lente.
Beta-globulines 8,6-15 %, 6-10 g/l	β_1 Transferrine : TRF (Sidérophiline)	Glycoprotéine	76 kD	5,5 5,9	7 j	2 - 3,8 g/l	Transporteur du fer, PRI-.
	β_2 C-réactive protéine : CRP (Protéine-C réactive)	Holoprotéine	120kD		6 à 8 H	< 3 mg/l	Activateur du complément, PRI+ rapide.
	β_3 Fibrinogène : FIB	Glycoprotéine	330 kD		3 à 5 j	3,5 g/l	Facteur de coagulation, PRI+ lente.
Gamma-globulines 9,2-18%, 6,4-13 g/l	IgG (IgG ₁ , G ₂ , G ₃ et G ₄)	Glycoprotéine	150 kD		24 j	8 à 16 g/l	Anticorps, protection à long terme.
	IgA (IgA ₁ , IgA ₂)	Glycoprotéine	160 kD plasma 400 kD sécrétions		6 j	2 à 4 g/l	Anticorps des sécrétions.
	IgM	Glycoprotéine	950 kD		5 j	0,5 à 2 g/l	Anticorps, protection à cours terme.
	IgD	Glycoprotéine	185 kD		4 j	0,05 à 0,4 g/l	Rôle plutôt mineur.
	IgE	Glycoprotéine	190 kD		2 à 3 j	0,1 à 1 mg/l	Anticorps de la réaction allergique.

Tableau 11: Résumé des Principales Protéines spécifiques dosées dans le sérum [20].

Nom de la protéine	Fonction	Raison du dosage
α_1 -antitrypsine	Inhibiteur de protéase	Exploration d'une déficience en α_1 -antitrypsine
β_2 -microglobuline	Sous-unité de l'antigène HLA sur toutes les membranes cellulaires	Augmentée dans la dysfonction tubulaire rénale
Céruleoplasmine	Enzyme d'oxydation	Réduite dans la maladie de Wilson
Protéine C-réactive	Intervient dans la réponse immune	Augmentée dans les maladies aiguës notamment les infections
Haptoglobine	Se lie à l'hémoglobine	Réduite dans les troubles hémolytiques
Transferrine	Transport du fer	Évaluation du statut en fer et/ou de la réponse à une assistance nutritionnelle
Ferritine	Fixe le fer dans les tissus	Donne une indication des réserves en fer de l'organisme
Globuline de transport de la thyroxine (TBG)	Se lie aux hormones de la thyroxine	Exploration d'une maladie de la thyroïde
Protéine porteuse des stéroïdes sexuels (SHBG)	Se lie à la testostérone et à l'œstradiol	Exploration d'un excès d'androgènes et /ou une résistance à l'insuline

1.1 Albumines

1.1.1 Sérum-albumine

Représentant 55 à 60 % de l'ensemble des protéines du plasma, c'est le constituant majeur des protéines circulantes. Les taux normaux sont de 40 à 50 g/l soit 0,5 à 0,7 mmol/l. [21].

1.1.1.1 Structure

Son poids moléculaire est 69 000 Da. C'est une molécule relativement stable, contenant 564 aminoacides, répartis sur une seule chaîne peptidique et se présente sous forme de monomère ou de polymère, constante de sédimentation 4.6s, pHi=4.9. La fonction thiol libre d'une cystéine lui confère une réactivité particulière [18,21].

1.1.1.2 Métabolisme

Synthèse

Au niveau du foie 10 à 15 g/jour, au niveau des polyribosomes membranaires et réticulums endoplasmiques rugueux, elle implique la formation d'un précurseur la préalbumine. La demi-vie biologique est de 19 jours et la vitesse de renouvellement de l'albumine est la plus lente des protéines plasmatiques d'origine hépatique [22].

Catabolisme

15% d'albumine sont catabolisés au niveau du foie, du rein et des tissus, 40% à 60% de l'albumine sont catabolisés dans le tube digestif, grâce à des enzymes protéolytiques qui les transforment en acides aminés [21].

1.1.1.3 Rôle biologique

- Rôle essentiel dans le maintien de la pression oncotique : elle est le principal agent de la pression oncotique du sang qui conditionne la volémie.
- Réserves d'acides aminés : est une forme de transport d'acides aminés.
- Transporteur non spécifique de nombreuses molécules insolubles en milieu hydrophile: La molécule d'albumine possède à sa surface des plages hydrophobes qui lui permettent de fixer toutes sortes de molécules peu polaires telles que les ions, la bilirubine non conjuguée, les acides gras non estérifiés, les hormones thyroïdiennes, les hormones liposolubles, les vitamines, les antibiotiques, les sulfamides, tryptophane et le transport de nombreuses drogues.
- Lie de manière spécifique les ions calcium.
- Tampon pH [21,22].

1.1.1.4 Physiopathologie relevant des variations de l'albumine

Tableau 12: Les variations physiopathologiques de l'albumine [22].

Hypo albuminémie < 35 g/l (sévère si < 25 g/l)	Hyper albuminémie : > 45 g/l
Dénutrition ou malnutrition protéique	Hémoconcentration.
Cirrhose	Déshydratation
Syndrome inflammatoire	
Syndrome de malabsorption	
Syndrome néphrotique	

Anomalies génétiques

- Dysalbuminémies quantitatives : Analbuminémie.
- Dysalbuminémies qualitatives : Bisalbuminémie (2 pics)
- ✓ Héritaires (permanentes) : plus de 125 variants décrits
- ✓ Pseudo-bisalbuminémies acquises (transitoires) : fixation antibiotiques (cycle β -lactame) ; par fixation à certaines immunoglobulines monoclonales ; lors de complications pancréatites chroniques [22].

1.1.1.5 Méthodes d'Analyse

- Méthodes colorimétriques : Elle est facile à doser par sa propriété de fixer des colorants (vert ou pourpre de bromocrésol).
- Méthode immunologiques (immuno turbidimétrie, immuno diffusion radiale, électro-immunodiffusion, immuno-précipitation avec un antisérum spécifique).
- Méthodes d'électrophorèse à condition de disposer de la protidémie totale [18,22].

1.1.2 Préalbumine

Protéine riche en tryptophane, synthétisée par l'hépatocyte, sa demi-vie biologique est de 2 jours, elle fixe et transporte les hormones de la thyroïde et le rétinol. La préalbumine est diminuée au cours des états de malnutritions, lors des atteintes du parenchyme hépatique et dans les états inflammatoires aigus [21,22].

1.1.3 Rétinol binding protein RBP

La RBP est une protéine de transport, synthétisée par le foie. Son rôle est de fixer le rétinol. La RBP est diminuée au cours de malnutrition, dans les carences en vitamine A et en Zinc et elle est augmentée dans les néphropathies chroniques [21].

1.2 Les globulines

Cette appellation générique recouvre un groupe hétérogène de familles de protéines, de plus grande taille et plus soluble dans l'eau que l'albumine.

On les différencie également lors d'une électrophorèse des protéines sériques, où elles migrent moins que l'albumine. On peut également les subdiviser en quatre groupes :

- Alpha 1-globulines.
- Alpha 2-globulines.
- Bêta-globulines : Bêta 1-globulines et Bêta 2-globulines.
- Gammaglobulines (aussi appelées immunoglobulines) [19].

1.2.1 Alpha-1-Globulines

1.2.1.1 Alpha-1-Antitrypsine

1.2.1.1.1 Structure

C'est une glycoprotéine plasmatique globulaire de poids moléculaire:54000 la plus abondante des Alpha-1-globulines. Sa concentration plasmatique est comprise entre 2-4g/l [22].

1.2.1.1.2 Rôle biologique

Protéine anti inflammatoire et anti protéasique et anti athérosclérose.

Inhibe l'élastase (endopeptidase qui clive les protéines de la matrice extracellulaire).

Anti protéase spécifique des protéases à sérine (trypsine, chymotrypsine, élastase, thrombine, plasmine, kallikréine) [22 ,23].

1.2.1.1.3 Physiopathologie relevant des Variations

Elle augmente 2 à 3 fois la normale au cours d'inflammations diverses.

Le déficit en alpha-1-antitrypsine est une maladie génétique, caractérisée par des taux réduits d'alpha 1-antitrypsine (AAT) dans le sang. Ceci entraîne un risque accru de développer un emphysème et, dans certains cas, une maladie hépatique [18,24].

1.2.1.1.4 Méthode de dosage

Détermination par méthode immunochimique (Immunonéphélométrie)

Par son activité inhibitrice pour la trypsine ou l'élastase [22].

1.2.1.2 Orosomucoïde : Alpha1 glycoprotéine acide

1.2.1.2.1 Structure et rôle biologiques

-Glycoprotéine synthétisée par le foie. Valeur physiologique : 0.5 à 1g/l.

-Cofacteur de la lipoprotéine lipase

-Inhibe la transformation de la prothrombine au cours de la formation du caillot.

-Favorise l'adhérence des plaquettes au collagène et l'orientation spatiale des fibres du collagène.

-Inhibe l'activité de la cathepsine C [21,25].

1.2.1.2.2 Méthodes de dosage et Variations Physiopathologie

-Dosage immunochimique (immunodiffusion radiale ou immuno-précipitation)

-Elle subit une augmentation nette lors d'un épisode inflammatoire, sa concentration sérique augmente 2 à 3 fois.

-Elle diminue en cas de syndrome néphrotique et d'insuffisance hépatique.

-Son dosage permet de confirmer l'utilité d'une thérapeutique anti-inflammatoire [21, 22,25].

1.2.1.3 α -foetoprotéine (AFP)

1.2.1.3.1 Structure et Rôle biologique

-Glycoprotéine de masse moléculaire 65000 qui renferme 4% des glucides. Chez la mère, le plasma peut renfermer 150 à 250 μ g/l pendant le dernier trimestre de grossesse.

-Rôle : Pouvoir de liaison avec les œstrogènes. Un effet immunosuppresseur. Une action inhibitrice, vis-à-vis de la différenciation cellulaire [26].

1.2.1.3.2 Physiopathologie relevant des Variations de l' α -FP

Doser par immunochimie, AFP est utilisée comme marqueur tumoral depuis 1963, premier marqueur carcinofoetal.

Élévation à 400 μ g/l chez les malades atteints de maladie chronique du foie : hépatite chronique, cirrhose. Au cours d'un hépatome, les concentrations vont dépasser 10mg/l chez 80%des malades.

Élévation dans des tumeurs de l'ovaire, du tractus gastro-intestinal, du rein et l'appareil génital masculin (50%des malades atteints de tétroblastomes testiculaires) [18,26].

1.2.1.4 Anti chymotrypsine

1.2.1.4.1 Structure et rôle biologique

Une Glycoprotéine fabriquée par le pancréas, concentration faible : 0.3-0.6g/l. Elle diffuse facilement dans le foyer inflammatoire et joue un rôle dans la protéolyse, anti protéase qui réagit préférentiellement avec la chymotrypsine et la cathepsine G leucocytaire, de masse moléculaire : 68000, avec la CRP elles font partie des protéines dites "acute phase proteins" [26].

1.2.1.4.2 Physiopathologie relevant des Variations

Elle augmente rapidement lors du processus inflammatoire, 2 à 3fois la normale parce qu'elle réagit rapidement avec les protéases in situ, elle s'élève quelques jours après le début de l'inflammation [26].

1.2.1.5 Autres

-Sérum amyloïde A protéine : C'est une apolipoprotéine présente en grande quantité dans les HDL3, utilisée comme marqueur de l'inflammation (augmente) et marqueur de d'amylose (secondaire) [18].

-L'alpha-1microglobuline (AM) fait partie des micro protéines les plus constamment retrouvées dans l'urine lorsqu'il existe une atteinte tubulaire, à côté de : l'alpha-2microglobuline, la Rétinol Binding Protein, la cystatine et les chaînes légères libres polyclonales. L'A1M est un paramètre très sensible, stable dans l'urine même à pH acide mais l'augmentation de son taux urinaire doit toujours tenir compte de l'existence éventuelle d'une insuffisance rénale [26].

-Apolipoprotéine A : Apo de HDL, responsables du transport du cholestérol vers le foie où il pourra être éliminé. Ce qui permet d'éviter l'accumulation de cholestérol dans les vaisseaux sanguins et donc d'éviter les risques d'athérosclérose [18].

-Prothrombine : Il s'agit du Facteur II activé vitamine K dépendant. Il va catalyser la transformation du fibrinogène en fibrine. Elle active également les facteurs VII (de la voie extrinsèque), V et VIII (cofacteurs des facteurs Xa et IXa respectivement) et XIII [21].

1.2.2 Alpha2-Globulines

1.2.2.1 Céruléoplasmine

1.2.2.1.1 Structure et rôle physiologique

Glycoprotéine synthétisée au niveau du foie de masse moléculaire 151.000 ; elle contient 10 chaînes glycaniques et peut fixer 8 atomes de cuivre par molécule : 4Cu(I) et 4Cu(II) par l'intermédiaire des résidus glutamiques et aspartiques. Son rôle principal est le transport de 95% du cuivre de l'organisme [21].

1.2.2.1.2 Méthode de dosage et physiopathologie

Dosée par immunoturbidimétrie. La céruléoplasmine est augmentée dans :

- Double au cours de la grossesse et dans l'ictère par rétention ;
- les syndromes inflammatoires (25 – 50 % des sujets) ;
- les intoxications par les sels de cuivre.

Une diminution de la céruléoplasmine s'observe dans :

- dégénérescence hépato-lenticulaire ou la maladie de Wilson, dont elle est le signe biologique majeur ;
- la maladie de Menkes qui résulte d'un défaut d'absorption intestinale du cuivre ;
- les syndromes néphrotiques [18, 21, 27].

1.2.2.2 Haptoglobine

1.2.2.2.1 Structure

C'est une alpha-2 glycoprotéine synthétisée par le foie. La masse moléculaire varie selon le groupe sérique de 85.000 à 500.000 (le monomère a une masse moléculaire de 85.000 avec 18.6% de glucides). C'est une protéine polymorphique, les types les plus courants sont : Hp1-1 ; Hp1-2 ; Hp2-2 qui diffèrent par leur mobilité électrophorétique et par le nombre de leurs constituants protéiques.

La valeur normale est de 0.6-1.8g/l. La demi vie plasmatique de l'haptoglobine est de 3 jours [21, 23].

1.2.2.2.2 Rôle biologique

Rôle important dans le transport des produits de l'hémolyse, elle a la propriété de capter directement l'hémoglobine libre lors des hémolyses intra-vasculaires, le complexe formé étant détruit dans le système réticulo-histiocytaire, elle possède une activité inhibitrice de l'activité de la cathepsine B [21].

1.2.2.2.3 Physiopathologie relevant des Variations

La détermination de l'haptoglobine plasmatique est un test sensible d'hémolyse même légère. Le complexe (Hb-Hp) ainsi formé est en quantité très faible dans le plasma normal, et augmente au cours de l'hémolyse

Elle augmente jusqu'à 10 à 12g/l dans les processus : inflammatoires, dégénératifs et prolifératifs ; et reste élevée pendant 10-15 jours après un traumatisme [18,22].

1.2.2.2.4 Méthodes de dosage

Évaluée globalement grâce à l'activité peroxydasique du complexe stœchiométrique qu'elle forme avec l'hémoglobine.

Détermination immunochimique en tenant compte de l'existence des groupements sériques est recommandée [21].

1.2.2.3 Alpha-2-macroglobuline

1.2.2.3.1 Structure et Rôle biologique

Glycoprotéine synthétisée par le foie, de la masse moléculaire 850.000, d'une vitesse de sédimentation=19^S, contenant 11% de glucides, elle est formée de 2 chaînes polypeptidiques. C'est un inhibiteur des protéases, le plus polyvalent du plasma. Sa taille importante va permettre (via dosage) de quantifier une atteinte glomérulaire [21,22].

1.2.2.3.2 Méthode de dosages et variation Physiopathologie

Doser par immunochimie (turbidimétrie, ou néphélométrie). C'est un marqueur des atteintes hépatique (fibrose, et cirrhose alcoolique), et dans les atteintes glomérulaires, elle augmente dans le syndrome inflammatoire et dans la néphrose lipoïdique ou du syndrome néphrotique (elle passe de 4 à 25g/l) ce qui donne à l'électrophorèse un aspect caractéristique qui assure pratiquement le diagnostic [18].

1.2.2.4 Transcortine : Cortisol binding protein CBG

C'est une α -2 globuline (pour certains auteurs une α 1) de poids moléculaire 56 000 fixant spécifiquement le cortisol avec une grande affinité. Sa concentration normale est voisine de 70 mg/l. Elle augmente, classiquement, dans la grossesse et les traitements androgéniques ou oestrogéniques. Les taux de la CBG sont abaissés dans le syndrome de Cushing, les traitements corticoïdes et les hypo protéinémies. Le principal intérêt clinique du dosage de la CBG par radio-immunologie réside dans le fait qu'il permet de calculer la concentration du cortisol non liée en faisant le rapport massique de la concentration du cortisol sérique total sur celle de la CBG. Des déficits congénitaux ont été décrits, liés au chromosome X [18].

1.2.3 Béta-Globulines

1.2.3.1 Transferrine (sidérophiline)

1.2.3.1.1 Structure et Rôle biologique

β -globuline de masse moléculaire 90.000, est synthétisée par le foie. C'est la protéine de transport du fer sérique (2 atomes de fer par molécule) dans le plasma (de l'intestin vers les réserves hépatiques et réticulocytaires). Il existe trois types de molécule :

- C (dans toutes les races).
- B (dans la race blanche).
- D (dans la race noire).

Les valeurs physiologiques habituelles sont comprises entre 22 et 44 $\mu\text{mol/l}$, soit 2 à 4 g/l [18, 26, 28].

1.2.3.1.2 Méthodes de dosage et Physiopathologie relevant des Variations

Son dosage est réalisé facilement par les méthodes immunochimiques. Elle augmente de 20% dans les anémies par carence en fer et dans les hémorragies aiguës.

Est une des premières globulines dont la concentration sérique s'abaisse en cas d'insuffisance hépatique en particulier d'origine cirrhotique, dans l'hémossidérose transfusionnelle et dans l'hémochromatose [21, 22, 26].

1.2.3.2 La protéine C réactive (CRP)

Elle a été découverte (~1930) lors de la phase aiguë d'une infection à pneumocoques, car elle réagissait avec le polysaccharide C du pneumocoque, d'où son nom « C-reactive protein » [29].

1.2.3.2.1 Structure et méthode de dosage

Glycoprotéine exclusivement synthétisée par les cellules du foie, de Masse moléculaire de 115000. Elle possède un temps de demi-vie court (24 heures). Sa valeur physiologique est inférieure à 6 mg/L.

Doser par immunochimique : Immuno turbidimétrie, immunodiffusion radiale, immuno-néphélométrie [29].

1.2.3.2.2 Rôle et Intérêt biologique

Elle a pour rôle de mobiliser les défenses immunitaires de l'organisme par l'activation de la voie du complément. Joue un rôle dans la phagocytose, inhibition de certains lymphocytes T et de l'agrégation plaquettaire.

Un marqueur précoce de la réaction inflammatoire, elle s'élève dès la 6^{ème} heure de l'inflammation et se normalise rapidement après la disparition de la source de l'inflammation. Elle présente un grand intérêt car son élévation est rapide et importante (300mg/l).

Le retour de la CRP à une valeur physiologique permet de juger de l'efficacité du traitement. Elle s'élève fortement en cas d'infection bactérienne et modérément en cas d'infection virale, parasitaire ou mycobactérienne.

Son dosage est aussi intéressant en pathologie néonatale, En effet, la CRP ne traverse pas le placenta, ce qui permet de différencier une inflammation d'origine maternelle d'une inflammation propre à l'enfant. Et permet le suivi d'antibiothérapie chez le nouveau-né.

En postopératoire, on observe une augmentation de la CRP d'autant plus importante que l'intervention est longue. Elle est suivie d'une normalisation rapide. La persistance d'un taux élevé ou l'augmentation de la CRP en postopératoire fait redouter une complication.

Des insuffisances hépatites majeures influencent négativement la production de CRP [22, 29,30].

Tableau 13 : Les variations physiopathologiques de la CRP [29].

CRP augmentée suite à certaines pathologies	CRP augmentée suite à des situations non pathologiques
-Infections bactériennes : bon marqueur de la méningite. -Nécroses tissulaires : marqueur de prédiction de risque d'accident cardiovasculaire, pancréatites -Néoplasmes malins : carcinomes, sarcomes, lymphomes. -Traumatismes : brûlures, fractures, interventions chirurgicales. -Processus inflammatoires : arthrites, rhumatisme articulaire aigu, maladie de Crohn.	-La grossesse. -Inhalation de fumée de cigarette -Prise d'estrogènes

La CRP est dosé par des méthodes plus sensibles, et ce dosage est recommandé depuis 2010 comme marqueur du risque cardiovasculaire, chez les sujets coronariens, et qui présentent un angor instable [30].

Marqueurs récents

Dans de nombreuses circonstances cliniques, des marqueurs récents tels que la pro calcitonine (sepsis) ou la calprotectine (maladie inflammatoire gastro-intestinale) apporteront une réponse nettement plus spécifique que la CRP [29].

1.2.3.3 Béta 2 micro globuline

Glycoprotéine de masse moléculaire de 12 000, elle est produite par les cellules nucléées de l'organisme. Elle est associée en partie aux antigènes d'histocompatibilité HLA I à la surface des cellules. Le taux plasmatique normal est de 1,2 à 2,5 mg/l.

Dans le plasma l'élévation de son taux est observée dans l'insuffisance rénale, et chez 50% des patients atteints de tumeurs solides (sein, tractus gastro-intestinal, col utérin).

Elle augmente, en dehors de toute atteinte rénale, lors de l'activation lymphocytaire syndromes lympho prolifératifs; SIDA [18,26].

1.2.3.4 Apoprotéine B

Évaluation de la Lipoprotéine de basse densité (LDL) : Elles transportent le cholestérol, libre ou estérifié, dans le sang et à travers le corps pour les apporter aux cellules [18].

1.2.3.5 Protéines plasmatiques du complément

Le système du complément est un ensemble de protéines plasmatiques présentes dans tous les sérums, à l'état inactif. L'activation de ce système est consécutive à la pénétration d'un élément antigénique, pour participer aux mécanismes de défense naturels de l'hôte contre l'infection et à la phase effectrice de la réponse immune spécifique. Les facteurs du complément sont synthétisés par le foie. Lors d'une réponse immunitaire, ces facteurs sont aussi produits par des leucocytes comme les macrophages et les monocytes mais également par une catégorie cellulaire plus « originale », les fibroblastes [31,32].

1.2.3.5.1 Rôle biologique

L'activation aboutit à l'apparition de facteurs activés, solubles, et de facteurs activés, fixés sur des particules antigéniques qui rendent compte de 3 grandes fonctions effectrices de ce système.

L'opsonisation (très particulièrement) des particules antigéniques (le processus qui facilite la capture et la dégradation des antigènes par les cellules phagocytaires).

Une activité pro-inflammatoire permettant un afflux localisé du système immunitaire,

Une activité lytique (La lyse des agents pathogènes) [31].

1.2.3.5.2 Physiopathologie

- Déficits génétiques qui concernent pratiquement tous les facteurs du complément, ce qui provoque des immunodéficiences et des pathologies :
 - Le déficit en C1 inhibiteur est responsable de l'œdème angioneurotique.
 - Les déficits congénitaux en C3 sont associés à la survenue d'infections bactériennes à répétition et de glomérulonéphrites.

- Les déficits en composants de la séquence terminale C5-C8 se compliquent d'infections bactériennes, notamment d'infections récurrentes à *Neisseria meningitidis* [22,31].

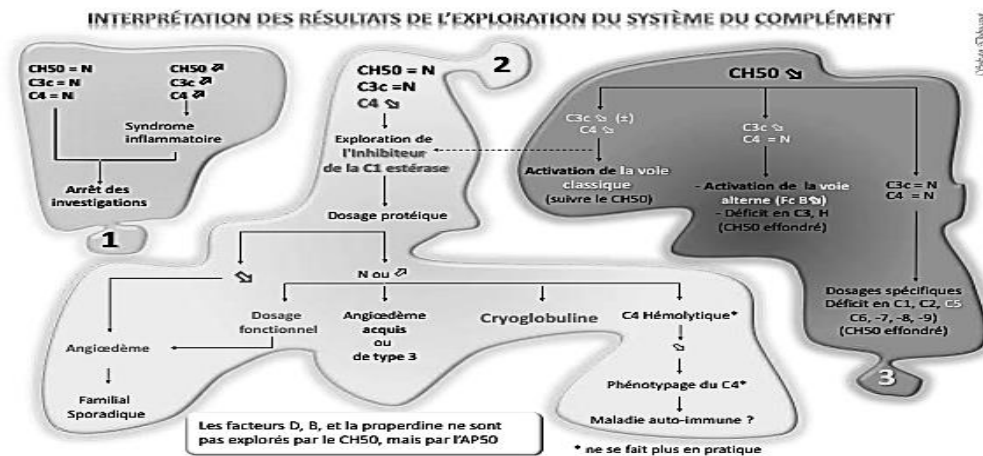


Figure 12: Interprétation des résultats de l'exploration du système du complément [33].

1.2.3.5.3 Méthodes d'analyse

- La détection d'une diminution quantitative d'une ou plusieurs fractions se fait par dosage pondéral par immunodiffusion radiale, en néphélométrie, ou par ELISA.
- Dosage fonctionnel global : complément hémolytique 50% (CH50).
- L'immunofluorescence directe ou indirecte sur des coupes tissulaires [31,32].

1.2.3.6 Fibrinogène (facteur I)

Les hépatocytes assurent la synthèse de différentes protéines indispensables à la coagulation sanguine. Parmi lesquelles :

- Le fibrinogène ou facteur I ; -3des 4 facteurs du complexe prothrombinique : (facteur II ou prothrombine ; facteur VII ou proconvertine ; facteur X ou facteur Stuart). Dont la synthèse dépend de la présence de la vitamine K ;
- Le facteur V ou proaccélérine (vitamine K indépendant).
- Le facteur IX ou facteur anti hémophilique B (vitamine K dépendant).
- Le plasminogène [22].

1.2.3.6.1 Structure fibrinogène

Glycoprotéine de haut poids moléculaire 340000, synthétisée par le foie, intervenant dans la thrombogénèse et l'athérogénèse. Se transforme par la thrombine en fibrine lors de la coagulation, la demi vie est de 3 à 4 jours et la valeur physiologique est de 2 à 4g/l [18].

1.2.3.6.2 Rôle biologique

- C'est un excellent substrat pour de nombreuses protéases et les produits de dégradation du fibrinogène contribuent à réguler la formation de fibrine dans la lésion inflammatoire.
- Son rôle est de limiter l'hémorragie et sous forme de fibrine de préparer la matrice à l'activité des fibroblastes.
- Lors de l'inflammation étendue, la biosynthèse du fibrinogène est stimulée, car son utilisation augmente d'une part à la suite de l'activation du système de coagulation et d'autre part à cause de son hydrolyse par la plasmine.
- Le fibrinogène est un facteur de risque cardiovasculaire fort et indépendant [22].

1.2.3.6.3 Méthodes de dosage et Physiopathologie

La concentration plasmatique s'élève au-dessus de 4g/l c'est l'hyper fibrinémie : au cours des syndromes inflammatoires, néphrotiques, des cancers, chez les patients infectés par le VIH et chez les sujets tabagiques.

L'hypofibrinémie (présence de la protéine en faible quantité ; entre 0.2 et 1.2g/l) due à une insuffisance hépatocellulaire, syndrome de défibrination lors d'une coagulation intravasculaire disséminée ou fibrinolyse primitive ou thérapeutique [22].

Le dosage est immunologique : immuno-turbidimétrie ou immunodiffusion radiale quantitative [18].

1.2.4 γ -globuline : immunoglobuline

Toutes les immunoglobulines ont un motif commun constitué de 4 chaînes polypeptidiques, identiques deux à deux. Les chaînes dites légères ont un poids moléculaire de 22 000, alors que les plus lourdes ont 50 000.

- Une région FAB : fixe et reconnaît l'antigène,
- Une région FC : responsable de la fixation du complément et transfert à travers la barrière placentaire.

Les immunoglobulines sont le support de l'immunité humorale, sous forme d'anticorps.

Les cellules qui fabriquent les anticorps sont les plasmocytes. Les immunoglobulines sont très hétérogènes, pouvant être classées en 5 classes différentes, les IGG, IGA, IGM, IGD, IGE [18].

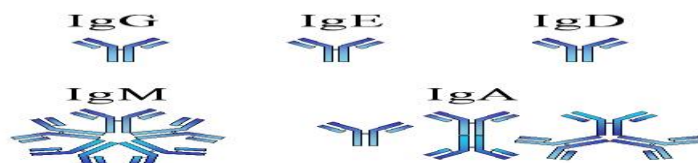


Figure13 : Schéma de structure des différentes immunoglobulines [21].

Tableau 14 : Différentes classes d'immunoglobulines [18,22].

Classe	structure	Action	taux plasmatique en g/l
- IGG	monomère	-l'immunité ancienne. -active le complément. -neutralise les toxines.	8 à 12
- IGA	monomère	-l'immunité locale. -antimicrobienne	2 à 4
- IGM	pentamères	-les premiers à être synthétisés lors d'une agression antigénique.	0,6 à 1,2
- IGD	monomère	-rôle récepteur à la surface cellulaire.	0,1 à 0,3
- IGE	monomère	-antiallergique. -antiparasitaire.	0,1 à 0,5

L'élévation des immunoglobulines ne s'effectue que trois semaines environ après l'installation de l'inflammation, son dosage nous renseigne sur l'évolution du processus inflammatoire [22].

Tableau 15 : Les variations pathologiques des gammaglobulines [21].

Hypogammaglobulinémie : < 6 g/l	Hypergammaglobulinémie: > 16 g/l
Corticothérapie	Poly-clonale : Maladies inflammatoires chroniques
Immunosuppresseurs	Maladies auto immunes
Myélome a chaines légères	Monoclonale : Myélome, Waldenstrom
Atteintes médullaires	
SIDA.	

1.2.4.1 Méthodes de dosage : Méthode immunochimique [22].

2. Marqueurs de la souffrance myocardique

2.1 Myoglobine

Hétéroprotéine de masse moléculaire 16000, est constituée d'une chaîne polypeptidique (globine) liée à un hème. Elle se trouve exclusivement à l'intérieur des cellules musculaires (1g par 1kg de muscle), elle est particulièrement abondante dans les fibres rouges. La myoglobine fœtale présente des différences de structure avec la myoglobine adulte permettant la séparation des deux sortes de molécules par électrophorèse. Chez l'adulte les valeurs physiologiques sont comprises entre 0.6 et 5.7nmol/l soit 10 à 100 µg/l.

La myoglobine présente une affinité vis-à-vis de l'oxygène plus forte que celle de l'hémoglobine. Réservoir d'oxygène dans le muscle, elle capte l'oxygène extracellulaire et le transfère aux mitochondries où il servira aux métabolismes oxydatifs générateurs d'ATP. Lorsqu'on peut réaliser son dosage en urgence par des méthodes immunochimiques sensibles comme la radio-immunologie, elle permet de faire un diagnostic très précoce de l'infarctus du myocarde d'où son intérêt, cependant, la spécificité de ce paramètre est faible [26,28].

2.2 Troponine

Le filament fin du myocyte, et régulateur de la contraction myocardique. La troponine est une protéine spécifique du cœur qui est libérée dans la circulation dès que se produit un infarctus du myocarde.

Son intérêt est démontré lors de douleurs thoraciques, et permet de confirmer le diagnostic par leur élévation :

- un angor instable ;
- un infarctus du myocarde.
- une myocardite [18,34].

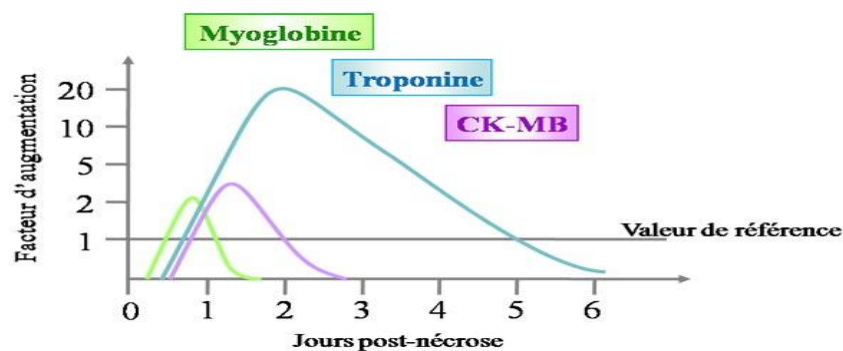


Figure 14: Cinétique des marqueurs de nécrose après un infarctus du myocarde [35].

3. Marqueurs tumoraux

Les marqueurs biologiques des cancers sont des molécules fabriquées par les cellules tumorales et présentes dans la circulation sanguine [18].

Nous décrivons quelques marqueurs d'utilisation courante (tableau 13).

Tableau 16 : Intérêt clinique de quelques marqueurs tumoraux [18].

	Utilité clinique	Diagnostic	Pronostic	Suivi thérapeutique
PSA	Cancer prostatique	✓	✓	✓
CA-125	Cancer ovarien, des trompes et des séreuses	x	x	✓
CA-15.3	Cancer mammaire	x	x	✓
CA-19.9	Cancer pancréatique	x	x	✓
CEA	Cancer colique	x	x	✓
α-FP	Tumeurs germinales testiculaires non seminomateuses et hépatocarcinome	✓	✓	✓
β-HCG	Choriocarcinomes et tumeurs germinales testiculaires	✓	✓	✓
Thyroglobuline	cancer bien différencié de la thyroïde	✓	x	✓
Calcitonine	Cancers médullaires de la thyroïde	✓	x	✓

3.1 Hormone chorionique gonadotrophique hCG

3.1.1 Structure

Glycoprotéine de masse moléculaire relative de 36700, constituée de deux chaînes peptidiques alpha et bêta. La demi-vie plasmatique de l'hCG est de l'ordre de 20 à 37h. Les valeurs physiologiques dans le sérum sont inférieures à 100ng/l chez l'homme, et 300ng/l chez la femme [26].

3.1.2 Rôle biologique

- Maintenir le corps jaune en place en le transformant en corps jaune gestatif.
- hCG est utilisée pour le diagnostic précoce de la grossesse, car elle est détectable dans les urines à partir du 8e jour après la fécondation [26].

3.1.3 Physiopathologie relevant des Variations

En pathologie, hCG représente un marqueur tumoral d'origine trophoblastique :- tumeurs testiculaires- grossesse molaire ou choriocarcinome en pathologie obstétricale.

Elle est dosée par des méthodes immunologiques dans le plasma et dans l'urine [18].

3.2 Antigène spécifique de la prostate PSA

Son intérêt clinique est lié à la pathologie prostatique et en particulier au cancer de la prostate, le plus fréquent des cancers masculins. C'est un marqueur uniquement utilisé pour le cancer de la prostate. Produite dans les cellules épithéliales de la prostate, cette protéine de poids moléculaire 33000 est abondante dans le liquide séminal. C'est une protéase, exerçant des fonctions enzymatiques de type trypsine et chymotrypsine-like.

Le dosage classique concerne PSA total < 4 mg/l.

Le dosage de PSA total est aussi utile pour la surveillance post-thérapeutique, soit hormonale, chirurgicale ou radiothérapique [18].

4. Les grands syndromes de dysprotéinémies

4.1 Hypoprotéinémie

C'est la diminution de la concentration des protéines plasmatiques < 60 g/l, porte surtout sur l'albumine et les immunoglobulines

- Causes d'hypo protéinémie relative : Hémodilution par perfusion massive ou par la rétention hydrosaline (insuffisance rénale aigue, insuffisance cardiaque congestive).
- Causes d'hypo protéinémie absolue :
 - La perte des protéines : par voie rénale : syndrome néphrotique ; par voie digestive : entéropathie exsudative ; au niveau cutané : les brûlures ; au niveau respiratoire :

bronchiectasies. Ou par un Catabolisme protéique exagéré : diabète sucré, infections, tumeurs, corticoïde

- Défaut de la synthèse : Primaire (génétiquement déterminée) ou secondaire : carence en aminoacides (malabsorption) ; une maladie du foie [36].

4.2 Hyperprotéinémie :

Augmentation de la concentration des protéines plasmatiques > 80 g/l.

- Causes d'hyper protéinémie relative : hémococoncentration (hématocrite élevé) par la déplétion hydrosaline et perte liquidienne déshydratation (transpirations profuses, vomissements sévères, diarrhée, diabète insipide, diabète sucré)
- Causes d'hyperprotéinémie absolue : production d'immunoglobulines (infections, maladies auto-immunes, plasmocytome (myélome multiple), la maladie de Waldenstrom, Conséquences : augmentation de la pression oncotique et de la viscosité du plasma et défaut de la synthèse des autres fractions protéiques (troubles de transport, de coagulation, immunologiques [22].

4.3 Dysprotéinémies

Le changement du rapport entre les fractions protéiques avec altération du rapport albumines/globulines [22].

Tableau 17: Les différentes dysprotéinémies [22,37].

Syndrome	Définition	Caractéristique
inflammation aiguë	Réponse à une agression tissulaire d'origine exogène (infection, traumatisme physique ou chimique....) ou d'origine endogène (immunologique, tumorale.....)→ déclenchement de la réaction immunitaire de phase aiguë avec la synthèse des protéines (A1-antitrypsine, A1-anti-chimio-trypsine, A1-orosomucoïde, A2- haptoglobine, A2-céruleoplasmine, protéine C réactive, fibrinogène, les composants du complément)	Augmentation de la Vitesse Sédimentaire, modification du tracé de l'électrophorèse des protéines (Augmentation des A1-et A2-globulines et diminution des albumines.) marqueur cinétique rapide = CRP marqueurs cinétique intermédiaire = ORO + HPTO on rajoute dans le cas de : Hémolyse → HPT Carence martiale → TRF
inflammation chronique		Augmentation des A1-et A2-globulines et Gamma-globulines (immunoglobulines) et diminution des albumines.
maladies hépatiques	Hépatite chronique active, cirrhose du foie	Diminution des albumines alpha et beta globulines, augmentation des Gamma et apparition d'un bloc beta-gamma "dôme cirrhotique"

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE III: Sémiologie des protéines plasmatiques

Néphrotique	- protéinurie d'origine glomérulaire > 3 g/24h, - hypoprotidémie < 60 g/l, - hypoalbuminémie < 30 g/l.	Protéinurie = 10 g/24H - Diminution d'Albumine. Augmentation d'A2-globulines par synthèse d'A2Macroglobuline. Diminution par fuite glomérulaire de globulines de petite taille (PALB, ALB, A1T, OROS, TRF ...)
Dénutrition	Déficit d'apport nutritionnel principalement quantitatif Dénutrition exogène : Carence d'apport (anorexie mentale, cancer, malabsorption) Dénutrition endogène : Maladies inflammatoires (Maladie infectieuses, auto-immunes, Cancers...) Fuites (cutanées, rénales, intestinales) Défaut de synthèse (Insuffisance hépatocellulaire) ou Dénutrition mixte	Marqueurs de dénutrition (ALB + PALB) + Marqueur d'inflammation = ORO + éventuellement RBP ou TRF Évaluation de la dénutrition par Index de Buzby ou index P I N I
Gammapathie	Monoclonale ou polyclonales	Pic étroit en Gamma, ou en dôme.
Déficit immunitaire	Acquise : Corticothérapie, immunosuppresseur, Primaire Agamma (maladie Bruton) ou HypoGamma Atteinte médullaire : tumoral ou toxique	

Exemples de Profils Electrophorétiques (Document Sebia - Hydragel Protéine)

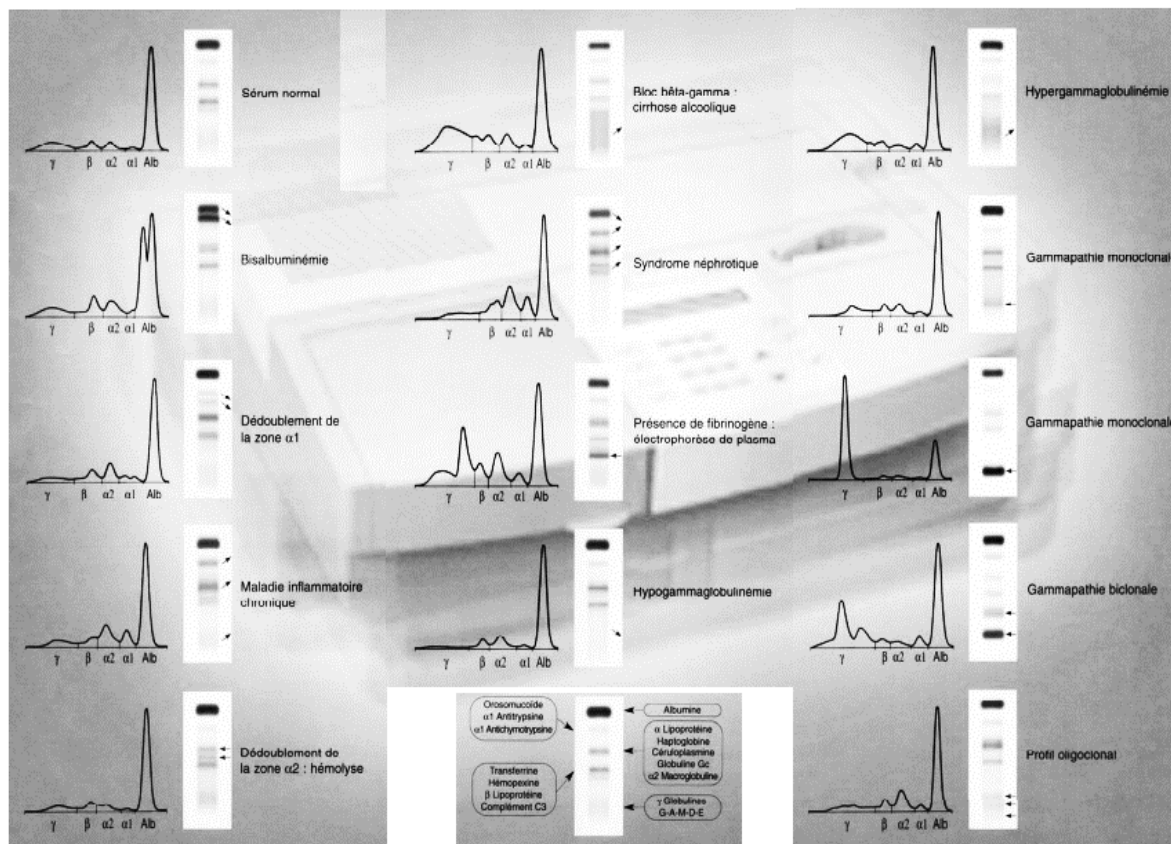


Figure 15 : Exemples de profils électrophorétiques.

5. Le profil protéique

Pour plusieurs raisons, Le dosage isolé d'une protéine est difficile à corrélér à une pathologie précise, les protéines peuvent exprimer plusieurs fonctions physiologiques. Un dosage normal d'une protéine peut être le résultat de deux mécanismes concomitants d'effets inverses. Par exemple, dans l'inflammation l'haptoglobine est augmentée, en cas d'hémolyse intravasculaire l'haptoglobine est diminuée, s'il existe une inflammation et une hémolyse, l'haptoglobine peut être normale. Aussi par exemple, la ferritine diminue dans les carences en fer et augmente dans l'inflammation [38].

Tableau 18 : Les variations des protéines au cours de deux mécanismes concomitants [38].

	Mécanisme 1	Mécanisme 2	Résultante
Transferrine	Inflammation ↗	Carence martiale ↘	Normale
Haptoglobine	Inflammation ↗	Hémolyse IV ↘	Normale
Orosomucoïde	Inflammation ↗	Fuite urinaire ↘	Normale
Fibrinogène	Inflammation ↗	Fibrinolyse ↘	Normale
C3	Inflammation ↗	Activation du C3 ↘	Normale
CRP	Inflammation ↗	Hyper catabolisme ↘	Normale

Le profil protéique proposé par P. Giraudet est la représentation graphique des dosages de plusieurs protéines, exprimés en g/l ou mieux en pourcentage de la normale en fonction de l'âge et du sexe du sujet. C'est une évaluation biologique de l'état de santé et il a une valeur prévisionnelle. L'association de plusieurs protéines permet, par leur étude simultanée, de détecter des processus pathologiques combinés.

Le concept de cette présentation, simplifie l'interprétation de l'ensemble des données fournies, et permet ainsi :

- de visualiser les variations relatives des différentes protéines les unes par rapport aux autres
- de relier entre elles les variations physiopathologiques de protéines différant par leur valeur pondérale (g/l, mg/l...) et leur cinétique d'évolution ;
- d'apprécier l'amplitude des perturbations de chaque protéine dosée [38].

5.1 Définition

Le profil protéique est formé par le bilan azoté et le bilan protéique.

Le bilan azoté

C'est la différence entre les apports en azote et la quantité d'azote perdue (urine, fèces, peau et autres) ; Il indique l'évolution nette de la masse protéique. Bien que conceptuellement simple, le bilan azoté est de réalisation délicate, et non utilisé en routine médicale [22].

Le Bilan protéique

Ce bilan permet d'affiner un diagnostic, de contrôler l'évolution d'une maladie ou de mettre en évidence des dysfonctionnements qui n'entraînent pas forcément de pathologies dans l'immédiat.

Une vingtaine de protéines, appartenant à 3 groupes de base, peuvent être utilisées:

Tableau 19 : Groupe de protéines du bilan protéique [38].

Groupe de protéine	Exemple de protéine	Caractéristiques
Immunité	L'IgM, l'IgG et l'IgA sont d'origine plasmocytaire. Elles sont impliquées dans l'immunité humorale.	La santé physique et mentale, les chocs, les infections, s'inscrivent tous dans nos tissus même après la guérison. Les suites d'une infection virale même banale ou des problèmes de flore intestinale peuvent augmenter de façon durable voire définitive la production d'anticorps.
Inflammation	C3 : l'immunité, la cholestase et l'inflammation. L'Orosomucoïde : l'inflammation. L'haptoglobine : l'inflammation et un marqueur de l'hémolyse. Transferrine et La ferritine : un marqueur de la carence en fer (ou sa surcharge) et est un marqueur de l'imprégnation oestrogénique.	Elles réagissent face à un élément infectieux ou à des cellules étrangères comme les cellules cancéreuses. Le dosage cependant détecte aussi des inflammations qui ne donnent pas toujours de symptômes, comme des inflammations intestinales modérées, causes de problèmes d'assimilation...
Nutrition	L'albumine est un marqueur de fuites protéiques et de la dénutrition. Préalbumine, rétinol binding protéine	Ces protéines sont fabriquées par le foie. Elles reflètent l'état de résistance de l'organisme à une possible agression. Elles laissent évaluer le degré d'assimilation des nutriments au niveau du foie.

5.2 Types de profils protéiques :

Deux types de profils peuvent être envisagés :

5.2.1 Profil Protéique d'orientation : Aide au diagnostic

Un profil dit d'orientation est élargi, à 8 ou 10 protéines, très différentes en ce qui concerne leur origine, demi-vie, leurs fonctions ou leur régulation. Ce type de bilan est destiné à mettre en évidence un maximum d'information biologique utile au diagnostic ou au dépistage de complications.

Il s'agit généralement : IgM, IgG, IgA , la fraction 3 du complément, l'orosomucoïde, la transferrine, l'albumine, l'haptoglobine [38].

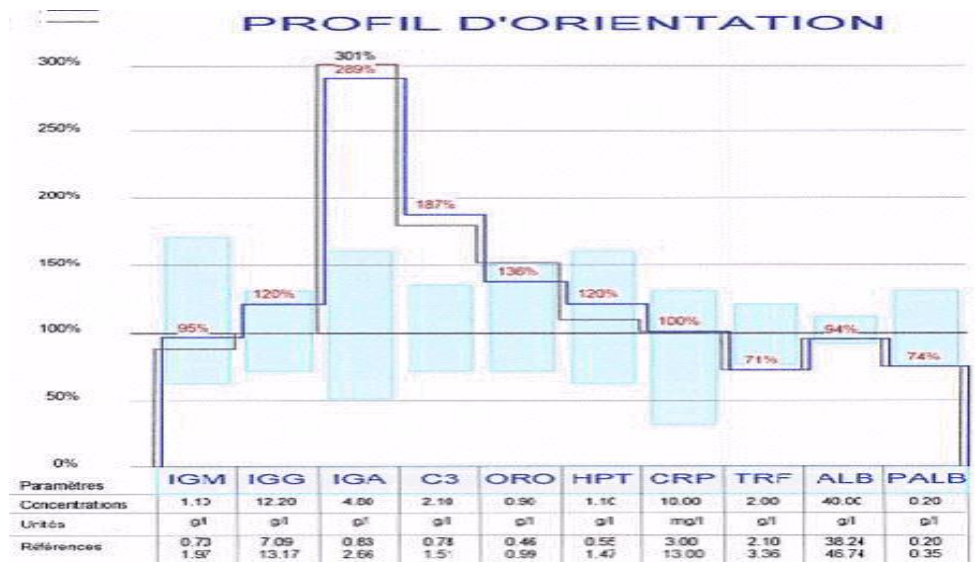


Figure 16 : Profil d'orientation [38].

Cet examen permet de mettre en évidence des syndromes particuliers lorsque l'examen clinique est peu évocateur : fièvre prolongée inexpliquée, vitesse de sédimentation accélérée inexpliquée, altération de l'état général sans cause évidente, algies diffuses, caractériser la nature et l'étiologie d'une anémie, préciser la fuite protéique en cas d'entéropathie exsudative, mettre en évidence un déficit immunitaire au cours d'infections chroniques ou récidivantes [38].

5.2.2 Profil Protéique ciblé (ou minimum) : Suivi de pathologie

Il comporte un nombre plus réduit, de 2 à 3 protéines, destiné essentiellement au suivi évolutif d'un syndrome inflammatoire, d'une intervention, d'un état de dénutrition profonde ou d'une hémolyse chronique.

5.2.2.1 Profil protéique immunitaire : IgM, IgG et IgA, pour mettre en évidence soit un déficit immunitaire humoral congénital ou acquis (Hypo γ -globulinémie) ; soit augmentation poly clonale (réaction inflammatoire) : ou une augmentation monoclonale (gammopathie).

5.2.2.2 Profil protéique nutritionnel : Orosomucoïde, Albumine et Préalbumine, dont l'intérêt est : -dépister une dénutrition débutante, - apprécier son ancienneté, - pronostic, - surveiller l'efficacité d'une thérapeutique nutritionnelle.

5.2.2.3 Profil protéique inflammatoire : Orosomucoïde, Haptoglobine et CRP [38].

Tableau 20 : Cinétique des protéines de l'inflammation [38].

	CRP	Orosomucoïde	Haptoglobine
Demi-vie	6-8 heures	72 heures	72 heures
Cinétique	Rapide	Semi-lente	Semi-lente
Début	6 heures	12 heures	18 heures
Normalisation	48 heures	8-10 jours	10-12 jours

Tableau 21 : Intérêt clinique des protéines de l'inflammation [38].

Syndrome inflammatoire	CRP	Orosomucoïde	Haptoglobine
Aigu débutant	+++	+	N ou +
Aigu, phase d'état	+++	+++	+++
Régressif	N ou +	+	++
Chronique	N ou +	+ ou ++	++

5.2.2.4 Profil protéique hémolytique : Orosomucoïde, Haptoglobine, permet de différencier entre hémolyse intravasculaire (diminution importante de Haptoglobine); hémolyse extravasculaire (Haptoglobine normal); hémolyse interstitielle (diminution modérée); un rapport hauto/oroso peut être fait pour différencier entre hémolyse et inflammation [38].

5.2.2.5 Profil protéique Martial : Orosomucoïde, Haptoglobine, transferrine, ferritine et albumine [38].

5.3 Résultats du profil protéique

- **Tracé normal**

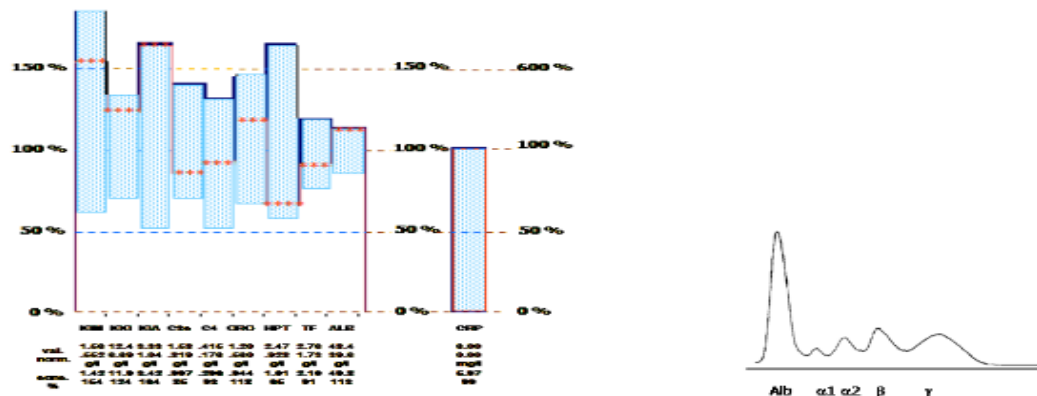


Figure 17 : Profil protéique normal [39].

Le profil protéique permet de dépister de nombreux syndromes biologiques:

- Un déficit immunitaire humoral, ou une réponse immunitaire humorale, une inflammation aiguë ou chronique.

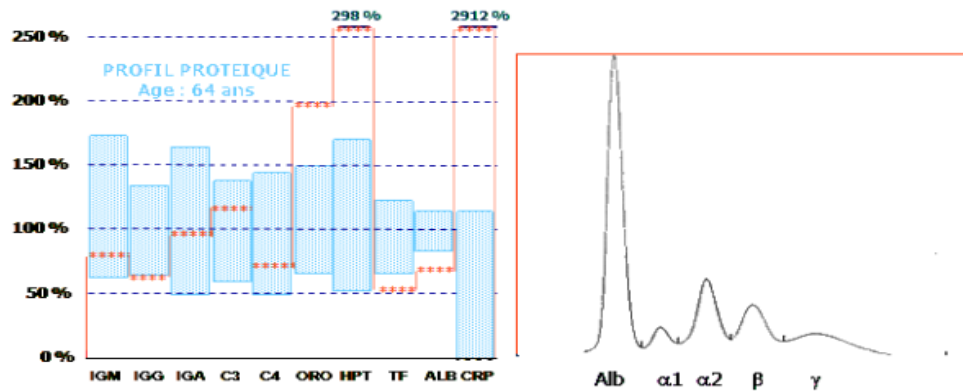


Figure 18 : Profil protéique d'un syndrome inflammatoire [39].

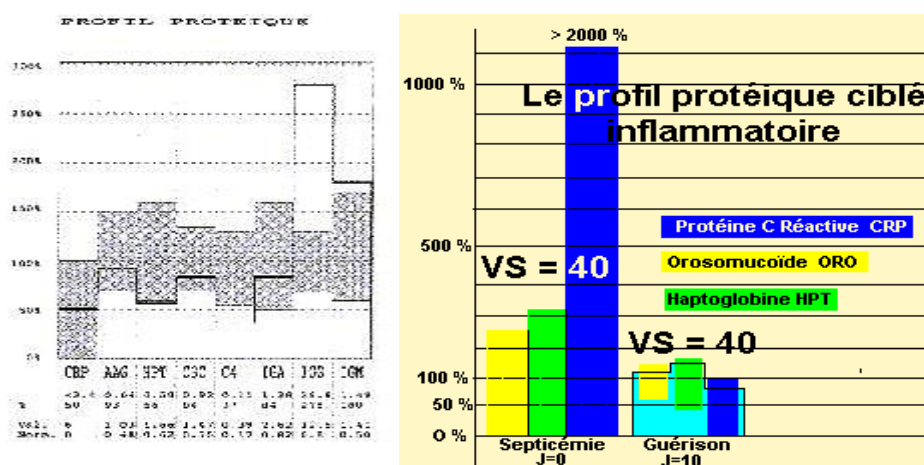


Figure19 : Profil protéique ciblé inflammatoire [40].

Exemple de profil protéique au cours d'un lupus systémique en poussée (hyper gammaglobulinémie IgG, CRP normale, baisse du C4 par activation du complément, baisse de l'haptoglobine par hémolyse intravasculaire) (CRP : C-réactive protéine, AAG = α1-glycoprotéine acide (orosomucoïde), C3c et C4= composants du complément, IG = immunoglobulines ; valeurs exprimées en mg/L et en %) [39].

- une fuite protéinique urinaire ou digestive

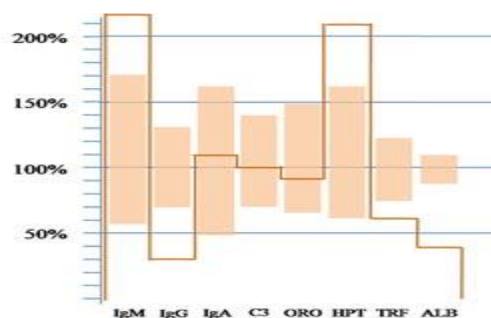


Figure 20 : Profil protéique syndrome néphrotique [41].

- Une carence en fer

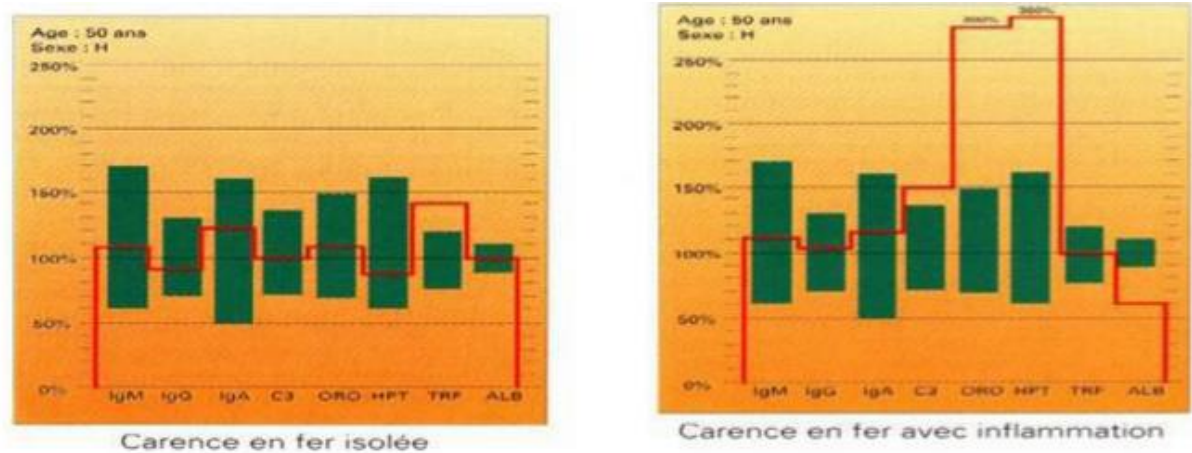


Figure 21 : Profil protéinique au cours d'une carence en fer [42].

- Une hémolyse, avec ou sans inflammation ou myélome

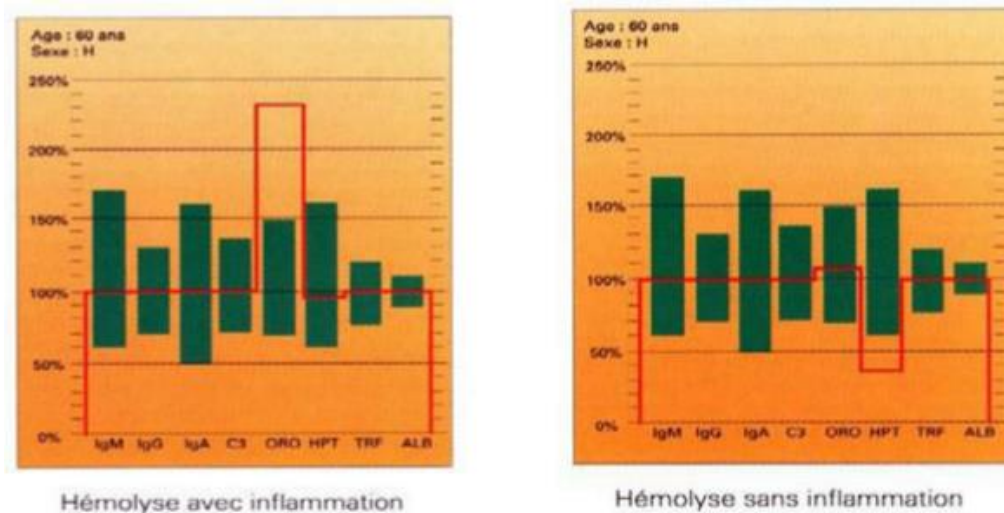


Figure 22: Profil protéique d'hémolyse [42].

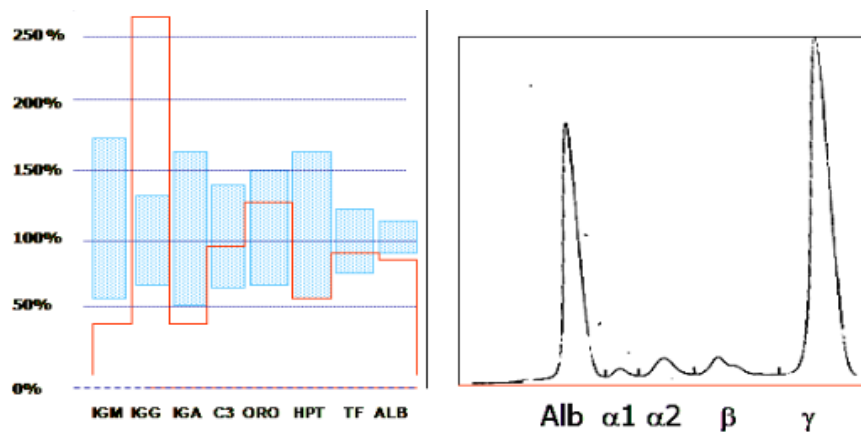
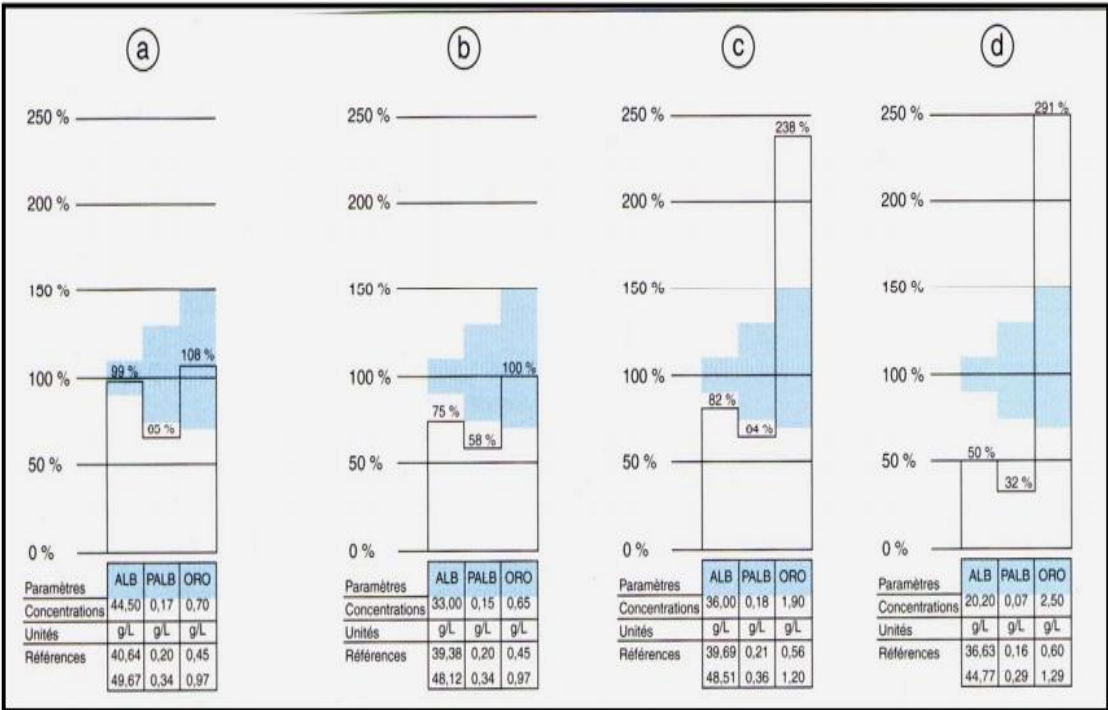


Figure 23: Profil protéique d'immunité (Myélome IgG + hémolyse) [39].

- Une dénutrition



Dénutrition exogène débutante sans inflammation
PALB ↓
ALB et ORO = N

Dénutrition exogène chronique sans inflammation
PALB et ALB ↓
ORO = N

Dénutrition endogène isolée avec inflammation
PALB et ALB ↓
ORO ↑

Dénutrition mixte, endogène avec inflammation et exogène
PALB et ALB ↓
ORO ↑

Figure 24 : Comparaison entre des profils nutritionnels [40].

PARTIE PRATIQUE

L'importance des analyses de biologie médicales dans toutes les étapes de la chaîne de soins, du diagnostic au suivi des pathologies et des traitements, en passant par la prévention et le dépistage, est devenue de nos jours un élément clé, qu'il est nécessaire d'obtenir une très grande sécurité, et une recherche constante de qualité et de perfection dans la réalisation de ces examens. Dans ce cadre, plusieurs normes, réglementations, et recommandations ont été établis pour assurer la qualité des résultats et la bonne pratique.

L'objectif de ce travail est d'apprécier l'état de l'exploration protéinique au niveau du CHU de Tizi-Ouzou par le laboratoire de biochimie et le point de vue des cliniciens.

Objectifs

1. Enquête auprès des médecins du CHU de Tizi-Ouzou :

- Degré de satisfaction des cliniciens du CHU de Tizi-Ouzou des résultats de l'exploration protéinique réalisés au niveau du laboratoire de biochimie.
- Les paramètres protéinique les plus demandés et ceux manquants.

2. Étude descriptive et évaluation analytique auprès du laboratoire :

- Étude descriptive des différents automates et techniques présents au niveau du laboratoire pour l'exploration protéiniques.
- Évaluation analytique
 - ✓ Évaluation du système d'électrophorèse des protéines
 - Phase pré analytique : Évaluation de l'impact de facteurs de conservation sur les résultats.
 - Phase analytique : Comparaison des résultats et concordance entre l'automate Capillarys Sebia du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou et le Helena V8 du laboratoire d'Alger.
 - ✓ Évaluation des automates pour le dosage des paramètres protéiniques les plus courants.
 - Comparaison et études de la concordance des résultats entre les automates de laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou pour le dosage des protides totaux.
 - Comparaison et étude de la concordance des résultats entre les automates de laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou pour le dosage de l'Albumine.
 - Comparaison et étude de la concordance des résultats entre les automates du laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou pour le dosage de la C réactive Protéines.

Enquête auprès des médecins du CHU de Tizi-Ouzou

1. Matériels et méthodes

1.1 Médecins

Un questionnaire est établi sur l'exploration des protéines chez les médecins du CHU de Tizi-Ouzou. 47 médecins ont répondu à nos questions.

- **Répartition par services**

Tableau 22 : Répartition des médecins participants par services.

Service	Nombre
Hématologie	10
Médecine interne	7
Neurologie	10
Pédiatrie	10
Maladies infectieuses	10
Total	47

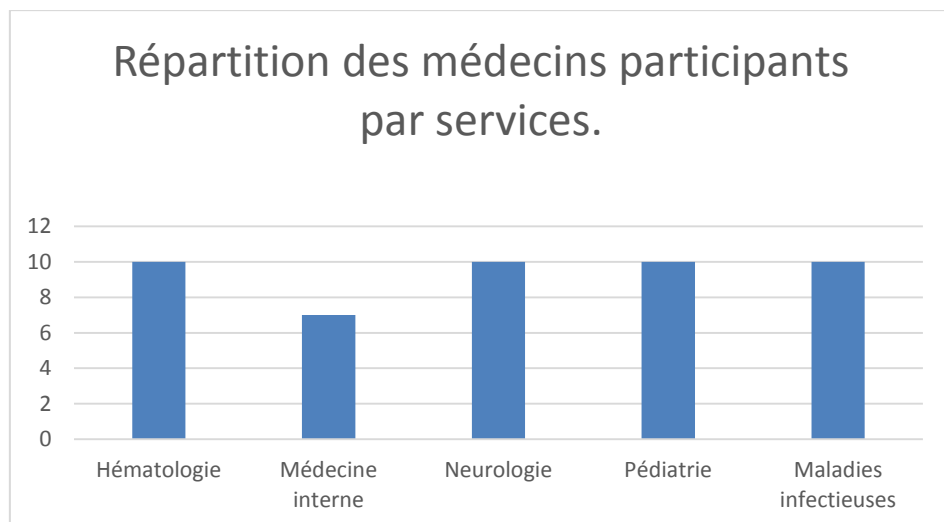


Figure 25 : Répartition des médecins participants par service.

- **Répartition par statut**

Tableau 23: Répartition des médecins par statut.

Statut	Nombre
Professeurs	4
Médecins spécialistes	15
Résidents	28

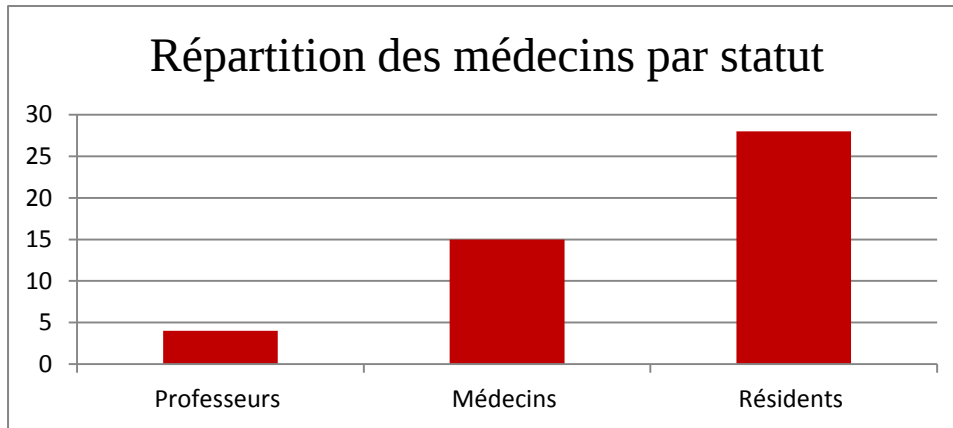


Figure 26 : Répartition des médecins par statut.

1.2 Méthodes

Un questionnaire est distribué à 47 médecins exerçants dans différents services de CHU de Tizi-Ouzou. (Voir annexe I)

Ce questionnaire avait pour objectif, d'avoir l'opinion des médecins sur l'exploration des protéines, et leurs éventuels besoins. (Cohérence des résultats effectués, les paramètres les plus demandés et les paramètres manquants).

2. Résultats

La réponse des cliniciens à nos questions:

Q1 : êtes-vous satisfait des résultats du laboratoire de biochimie ?

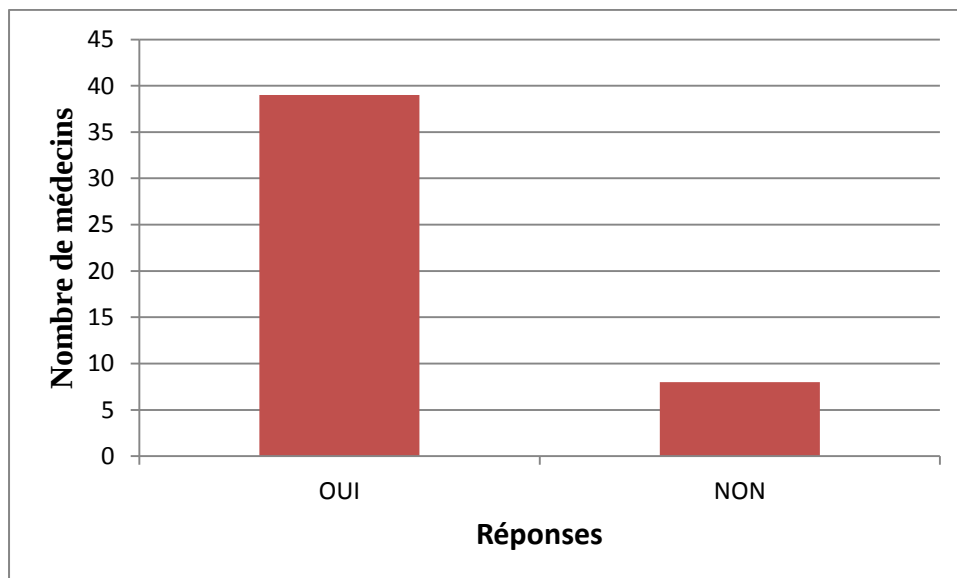


Figure 27 : Satisfaction des cliniciens des résultats de laboratoire.

Commentaire : 83% des cliniciens sont satisfaits des résultats, certains médecins non satisfaits trouvent qu'il y a une discordance entre ces résultats et le contexte clinique.

Q2 : quels paramètres demandez vous le plus souvent ?

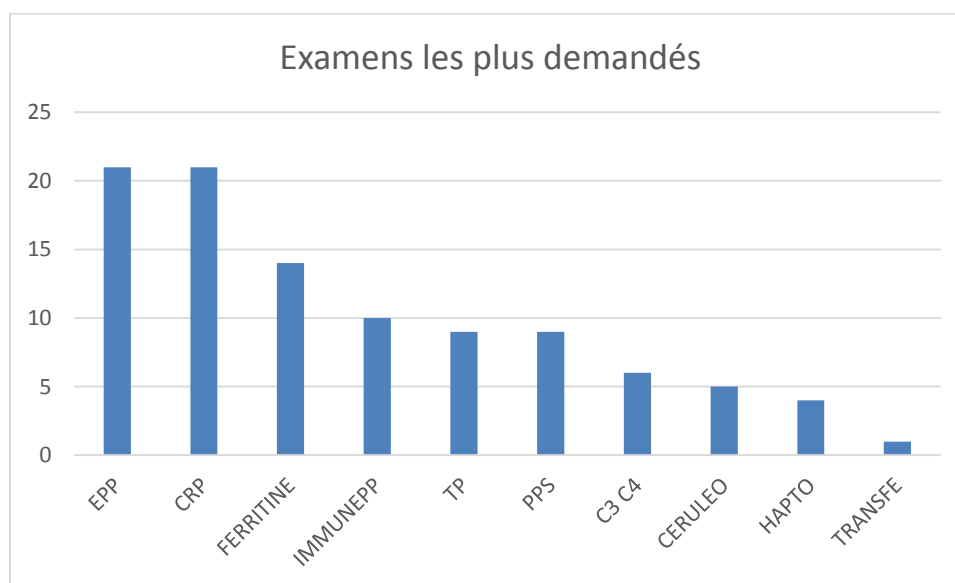


Figure 28 : Paramètres les plus demandés par les cliniciens.

Commentaires

96% des cliniciens des cinq services demandent souvent EPP et la CRP.
 66% des cliniciens des cinq services demandent la ferritine.
 60% des neurologues demandent IEPP et 80% des pédiatres la demandent.
 La C3-C4 est demandée à 60% en Hématologie et à 86% en médecine interne.
 90% des hématologues demandent le dosage pondéral et PPS.

Q3 : Quels sont les paramètres manquants ?

Tableau 24: Les paramètres manquants par service

Services	Parametre manquants
Maladies infectieuses	C3C4, haptoglobine, céruleoplasmine, procalcitonine, marqueur tumoral
Pédiatrie	Bilan d'une maladie autoimmune, electrophorèse de hémoglobine, procalcitonine, C3C4, céruleoplasmine
Medecine interne	Ferritine glycosylée, C3C4
Hématologie	Beta 2 microglobuline, dosage serique des chaines légères dosage de immuglobuline
Neurologie	Céruleoplasmine, C3C4

3. Discussion

Pour la réalisation de notre enquête, nous avons sollicité 47 médecins du CHU de Tizi-Ouzou répartis sur les 5 services suivants : médecine interne, neurologie, hématologie, pédiatrie, maladies infectieuses. Le choix des services a été fait sous la base de la demande en exploration des protéines

Plus de 80 %, des médecins ont toujours confiance, et trouvent que les résultats rendus par le laboratoire, sont fiables et satisfaisants. Cependant, 17% d'entre eux trouve comme même dans certains cas une discordance avec le contexte clinique, et dans ce cas demandent de refaire le dosage mais toujours dans le laboratoire de biochimie du CHU. Notre étude ne peut pas définir parmi les 17 % la part réelle des discordances causées par le laboratoire, et la part d'erreur dans le diagnostic.

Les paramètres les plus demandés par les médecins sont en cohérences avec les prévisions du laboratoire, en effet, le laboratoire essaye d'assurer la disponibilité et la qualité de EPP, CRP, IEPP, la ferritine, C3-C4, le taux de protide, haptoglobine.

Cependant, la céruléoplasmine, le profil protéique sérique PPS, le dosage des chaînes légères, le bilan d'autoimmunité, la procalcitonine, sont demandés par les médecins mais non disponibles au niveau du laboratoire de CHU.

Aussi, nous avons constaté dans certain cas, l'ignorance des médecins sur la disponibilité de certains examens réalisés par les automates du laboratoire de biochimie, tel que le dosage de la fraction de complément C3-C4 ignoré par certains médecins du service pédiatrie, cela demande d'améliorer la communication entre le laboratoire et les médecins des différents services du CHU Tizi-Ouzou.

4. Conclusion

Nous pouvons dire qu'en globalité les médecins du CHU sont satisfaits quant aux services rendus par le laboratoire dans l'exploration des protéines, en termes de qualité des résultats, et du panel des examens disponibles. Cependant, il reste quelques paramètres non disponibles, et il est préférable d'améliorer la communication entre le laboratoire et les cliniciens.

**Étude descriptive et évaluation
analytique de l'exploration protéinique
au niveau du laboratoire de biochimie
du CHU de Tizi-Ouzou**

1. Étude descriptive

Le laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou dispose comme appareillage cinq automates multiparamétriques, et un automate pour la réalisation de l'électrophorèse des protéines plasmatiques.

La diversité des firmes d'où proviennent ces automates, peut créer une variabilité des résultats du dosage des protéines plasmatiques pouvant ainsi influencer l'interprétation clinique. En prenant en considération plusieurs facteurs : la qualité analytique, les temps de maintenances, le temps d'analyse, une étude de corrélation et de concordance est établie pour évaluer si les automates de ce laboratoire sont parfaitement adaptés aux besoins des cliniciens du CHU.

Tableau 25 : Étude descriptive des différents automates et techniques présents au niveau du laboratoire pour l'exploration protéiniques.

	Cobas intégra 400+	Cobas 6000.	Advia 1800.	Xpand dimension.	Architect Ci4100	E411	Capillarys Sebia 2 FP
TP							
ALB							
CRP							
FERRITINE							
EPP							
IEPP							
HAPTOGLOBINE							
C3 C4							
TRANSFERINE							
AFP PSA							
EPU							
HORMONE							
TPU ALB U							

Ces automates sont utilisés selon leur sensibilité, spécificité, la validation du contrôle, la disponibilité du réactif et la cadence du travail.

PARTIE PRATIQUE

Tableau 26 : Les appareils disponibles pour le dosage de l'albumine.

Appareil	Cobas intégra 400plus	Advia1800	Cobas6000	Architect ci4100	Xpand dimension
Firme	Roche	Siemens	Roche	Abbott	Siemens
Méthode	Test colorimétrique au BCG				Test colorimétrique au BCP
Principe	À un pH de 4.1 ou 4.9, l'albumine présente un caractère suffisamment cationique pour se combiner avec le vert ou pourpre de bromocrésol sous forme d'anion pour former un complexe bleu-vert. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en albumine				
Mesure	Absorbance (point final polychromatique)				
Λ	583nm	596/694nm	570nm	628nm	600 nm
Prélèvement	Sérum, Plasma : sang total recueilli sur héparine ou EDTA				
IR	35-52 g/l	32 – 48 g/l	35-52 g/l	35-50 g/l	30-50 g/dl
Linéarité	60 g/l			105g/l	80 g/l
Limite de détection	2 g/l	10 g/l	2g/l	0.7g/l	6 g/l
Limite d'utilisation et interférences	- IgM peut conduire à des résultats erronés. -IR, peut conduire à des résultats faussement élevés dus à des interférences avec d'autres protéines.	substances endogènes : bilirubine, hémoglobine et intra lipides.	-IR, Bilirubine, hémoglobine et intra lipides	Médicaments et substances endogènes : bilirubine, hémoglobine et intra lipides.	Hémoglobine, Bilirubine Intalipides à 1000 mg/dl CMPF(acide-3-carboxy-4-méthyl-5-propyl-2-furanpropanoïque

Tableau 27: les appareils disponibles pour le dosage du TP.

Appareil	COBAS INTEGRA 400 PLUS	ADVIA 1800	COBAS 6000	ARCHITECT Ci4100
Firme	Roche	Siemens	Roche	Abbott
Méthode	Test colorimétrique Biuret			
Principe	Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe cuproprotéique pourpre ; L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en protéines			
Mesure	Absorbance			
Λ	552 nm	545nm	700 nm	
Prélèvement	Sérum. Plasma: héparinate de lithium ou EDTA dipotassique.			
IR	64-83 g/L	57-82 g/l	64-83 g/L	64 to 83 g/l
Plage analytique	20-120g/l			7.6-184g/l
interférences	Bilirubine conjuguée et non conjuguée, Hémolyse, Lipémie (Intralipid), dextran, Médicaments, la gammapathie, de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström),			

PARTIE PRATIQUE

Tableau 28 : Les appareils disponibles pour le dosage de la CRP.

Appareil	Cobas intégra 400s	Advia1800	Cobas6000	Architect ci4100	Xpand dimension
Firme	Roche	Siemens	Roche	Abbott	Siemens
Méthode	Test Immuno turbidimétrique sur particules de latex				Dosage Immuno turbidimétrique amélioré de particules(PETIA)
Principe	La CRP humaine s'agglutine sur les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-CRP. Les amas de particules sont déterminés par turbidimétrie.				
Mesure	Absorbance				
Λ	552 nm	571 nm	570 nm	572 nm.	340 nm
Prélèvement	Sérum. Plasma sur héparine ou EDTA, fluorure, citrate.	Sérum. plasma : héparine, EDTA.			
IR	<5 mg/l	0-10 mg/l	< 5 mg/l	<5 mg/l	3 mg/l
Domaine mg/l	1-200	0.4-336	0.3-350	0.01-16 mg/l(sensitive) 0.02-32 mg/l(standard)	0.5-250 mg/l
Limite de détection	1 mg/l		0.3 mg/l	0.01 mg/l(ultrasensitive) 0.02 mg/l(standard)	0.5 mg/l
Limite d'utilisation et interférences	substances endogènes : bilirubine, hémoglobine et intra lipides.			Médicaments : Contraceptif oral, pentopril, ATB penicillamine, méthotrexate. -substances endogènes : bilirubine conjuguée et fœtale, hémoglobine et intra lipides. -facteur rhumatoïde	Hémoglobine Bilirubine non conjugué Intra lipides à 1000 mg/dl

PARTIE PRATIQUE

Tableau 29: les appareils disponibles pour le dosage du complément.

Appareil	Cobas intégra 400plus	Advia1800	Architect ci4100	
Firme	Roche	Siemens	Abbott	
Méthode	Test immuno turbidimétrique (accéléré par le PEG pour ADVIA)			
Principe	En présence d'un antisérum spécifique, le C3c humain forme un précipité qui est mesuré par turbidimétrie			
Mode de mesure	Absorbance			
Λ	340 nm		604 nm	
Prélèvement	Sérum. Plasma : héparinate de lithium ou d'ammonium	Sérum humain	Sérum. plasma : héparine, EDTA	
Valeur de référence	0.9-1.8 g/L(C3) 0.1-0.4 g/L(C4)	0,82 –1,60 g/l (C3) 0.12-0.36 g/l (C4)	(C3)H :0.82 to 1.85 F :0.83 to 1.93	(C4)H :0.15 to 0.53 F : 0.15 to 0.57
Linéarité	13.6 g/L (C3) 10 g/l (C4)	11,25 g/l (C3) 4.20 g/l (C4)	10,65g/l(C3)	
La plage analytique	0.3- 5.0 g/L(C3) 0.06-1.0 g/L(C4)	(0,01– [5,00 – 5,50] g/l) (0.01-[1.40-1.50] g/l)	0.11-3.15 g/l(C3) 0.029-0.580 g/l (C4)	
Interférences	substances endogènes : bilirubine conjuguée et non conjuguée, hémoglobine et intra lipides.			

Tableau 30 : Les appareils disponibles pour le dosage de la transferrine.

Appareil	Architect Ci4100	Advia 1800	Cobas
Firme	Abbott	Siemens	Roche
Méthode	Dosage immuno turbidimétrique, tous accéléré par le PEG (sauf pour ARCHITECT)		
Principe	Les anticorps anti-transferrine réagissent avec l'antigène de l'échantillon pour former un complexe antigène-anticorps. L'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie. L'addition de PEG permet d'atteindre rapidement le point final, augmente la sensibilité.		
Mesure	Absorbance		
Λ	700 nm	596/694 nm	
Prélèvement	Plasma et sérum humains (héparinate de lithium ou EDTA)		
Valeurs de référence	H :1.74 to 3.64 g/l F : 1.80 to 3.82 g/l	H : (2,15 –3,65 g/l) F : (2.50-3,80 g/l)	2.0-3.6 g/L
Domaine de mesure g/l	0.01-4.77 g/l	(0,0001 – [4,40 – 5,50] g/l)	0.1-5.0 g/L
Interférences	Bilirubine non conjuguée, hémoglobine, Intra lipides		

PARTIE PRATIQUE

Tableau 31 : les appareils disponibles pour le dosage de la ferritine

Appareil	COBAS 400	COBAS 6000	Cobas e411	ARCHITECT Ci4100	
Firme	Roche			Abbott	
Méthode	Immuno turbidimétrique sur particules de latex	Electro chimiluminescence		Immuno turbidimétrique sur particules de latex	Chimiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA)
Principe	La ferritine humaine s'agglutine sur les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-ferritine.	échantillon est mis en présence d'un anticorps Monoclonal anti-ferritine biotinylé et d'un anticorps monoclonal anti-ferritine marqué au ruthénium.a) Il se forme un « sandwich », les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées. Le complexe immunitaire est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine biotine. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence		La ferritine humaine s'agglutine sur les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-Ferritine	La ferritine présente dans le sérum se combine à un anticorps monoclonal anti-ferritine recouvrant les microparticules paramagnétiques, un anticorps monoclonal anti-ferritine marqué à l'acridinium est ajouté.la luminescence produite est directement proportionnelle à la concentration en ferritine.
Mesure	Absorbance	luminescence mesurée par un photomultiplicateur.		Absorbance	luminescence mesurée par un photomultiplicateur.
λ	552 nm	570 nm		660 nm	
Prélèvement	Sérum. Plasma: héparinate de lithium ou EDTA dipotassique.				
IR	H : 30-400 µg/L F : 15-150 µg/L	Hommes: 30-400 µg/L Femmes: 13-150 µg/L		H : 30-300 µg/L F : 15-160 µg/L	
La plage analytique µg/L	10-484	5-1000	0.500-2000	0-2000	0-2000
Sensibilité			0.5 µg/L		<1 µg/L
Interférences	Bilirubine Hémoglobine Intralipide	bilirubine biotine hémoglobine Intralipides		bilirubine hémoglobine triglycerides	Hémoglobine Bilirubine Triglycerides Protéine

2. Étude analytique

2.1 Évaluation du système d'électrophorèse des protéines

2.1.1 Phase pré analytique : évaluation de l'impact des facteurs de conservation sur les résultats

Pour des raisons organisationnelles, les échantillons acheminés au laboratoire et destinés à l'EPP sont souvent réfrigérés à +4°C pendant 2 à 3 jours maximum avant la réalisation de l'examen. Pour cela, nous avons voulu étudier l'influence de la réfrigération +4°C et la congélation à -20°C sur le profil électrophorétique.

2.1.1.1 Matériels et méthodes

• Matériels

Les prélèvements utilisés sont ceux de patients hospitalisés au niveau des différents services du CHU de Tizi-Ouzou.

Tableau 32 : Les échantillons de conservation.

Condition	Séries (jours différents)	N	J0	J8	J15
+4°C	4 séries de 8 échantillons	32			
+4°C	2 séries de 8 échantillons	16			
0°C	2 séries de 8 échantillons	16			

• Méthodes et protocole

Réfrigération

- Prélèvement à JO
- Centrifugation des échantillons,
- Récolte des sérums,
- Dosage des protéines totales sur le Cobas 400
- Réalisation d'EPP sur Capillarys 2 Flex P.
- Mis à + 4°C au réfrigérateur du laboratoire de biochimie CHU.
- Réanalyse des échantillons sur les mêmes automates à J8 et J15
- Comparaison des résultats par des méthodes statistiques (diagramme de Bland et Altman par logiciel MedCalc et Excel)

Congélation

- Prélèvement à JO
- Centrifugation des échantillons,
- Récolte des sérums,
- Dosage des protéines totales sur le Cobas 400
- Réalisation d'EPP sur Capillarys 2 Flex P.
- Mis à 0°C au congélateur du laboratoire de biochimie CHU.
- Réanalyse des échantillons sur les mêmes automates à J15
- Comparaison des résultats par des méthodes statistiques (diagramme de Bland et Altman par logiciel MedCalc et Excel).

2.1.1.2 Résultats et discussion

2.1.1.2.1 Résultats Après réfrigération 8 Jours à +4°C

- Taux de Protides

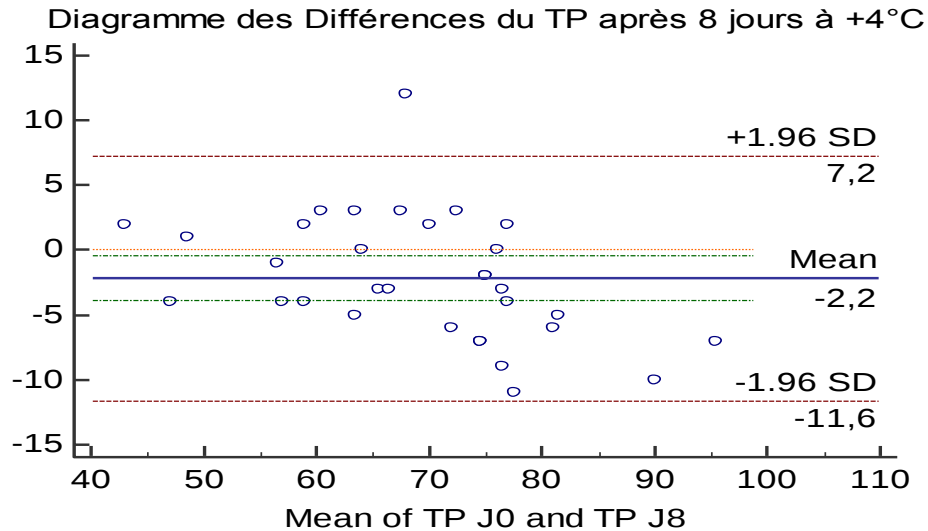


Figure 29 : Analyse de concordance des taux de protides après 8jours de réfrigération à +4°C par le Diagramme des différences de Bland-Altman.

La droite en ligne continue bleue représente le biais (moyenne des différences $TP_{J0}-TP_{J8}$). Les droites en pointillés noirs correspondent aux limites d'agrément.

$d = -2,2 \pm 9,4$; Limites d'agrément = $[-11,6 ; 7,2]$

L'analyse par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence moyenne systématique négative entre J0-J8 (-2,2) et significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,01$. Il en résulte que les taux de protides à J8 sont supérieurs aux taux de protides à J0. La concordance est de 96,87 % entre les résultats obtenus, un échantillon est hors les limites d'agrément.

- Albumine

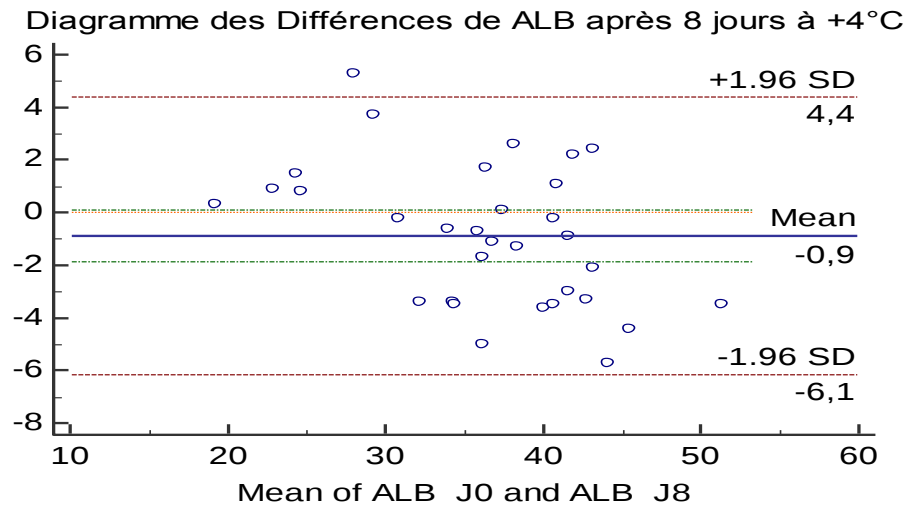


Figure 30 : Analyse de concordance entre les concentrations d'albumine après 8 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,9 \pm 5,2$; Limites d'agrément = $]-6,1 ; 4,4[$

L'analyse par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence moyenne systématique négative (-0,9) mais non significative avec une probabilité d'erreur $P = 0,0699$. Il en résulte que les concentrations d'albumine à J8 sont équivalentes à celles obtenues à J0, ou légèrement supérieur. Avec une concordance de 96,87 % entre les résultats obtenus.

- Alpha-1-globulines

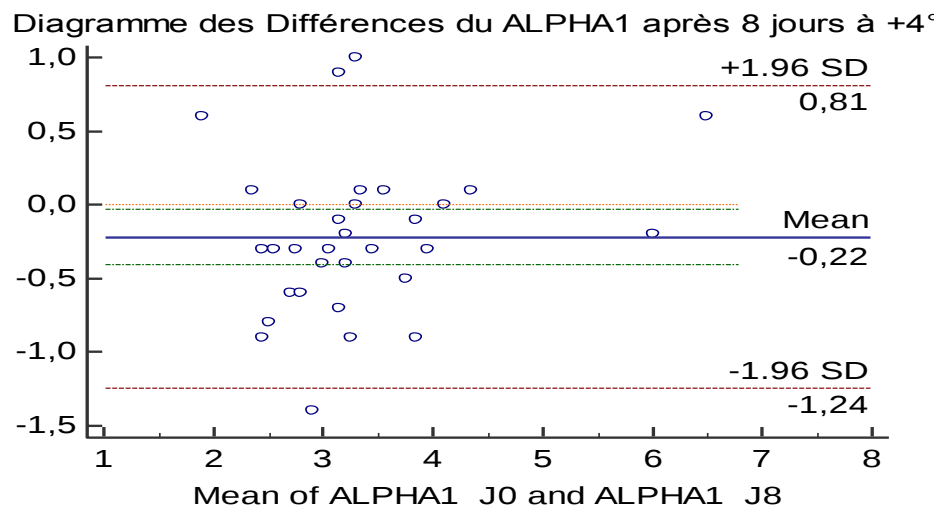


Figure 31 : Analyse de concordance entre les concentrations d'alpha-1 après 8 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,22 \pm 1,02$; Limites d'agrément = $]-1,24 ; 0,81[$

L'analyse par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence moyenne systématique négative (-0,22) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0,0245$. Il en résulte que les concentrations d'Alpha-1 à J8 sont supérieures à celles obtenues à J0, avec une concordance de 90,62 % entre les résultats obtenus.

- Alpha-2- globulines

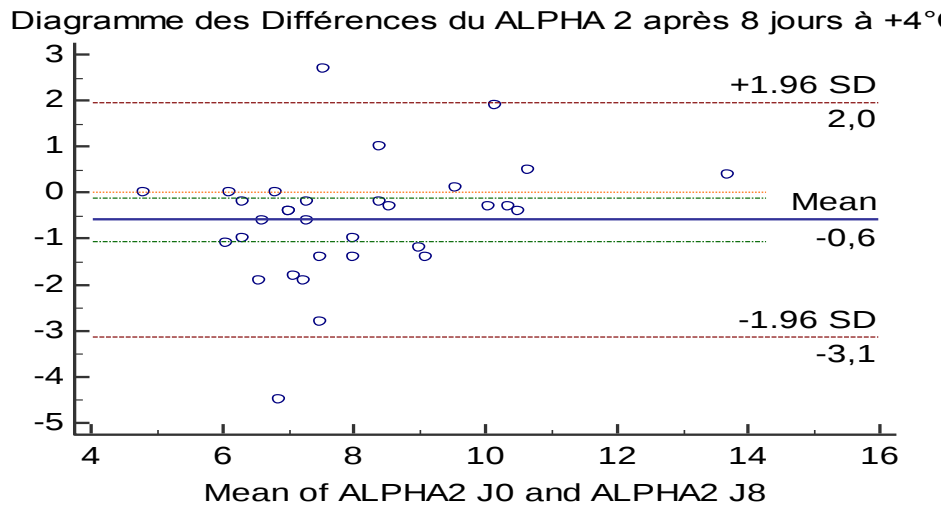


Figure 32 : Analyse de concordance entre les concentrations d'alpha-2 globulines après 8 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,6 \pm 2,55$; Limites d'agrément $=]-3,1 ; 2,0[$

L'analyse par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence moyenne systématique négative (-0,6) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0,0159$. Il en résulte que les concentrations d'alpha-2 à J8 sont supérieures à celles obtenues à J0, avec une concordance de 93,37 % entre les résultats obtenus.

- Béta-1- globulines

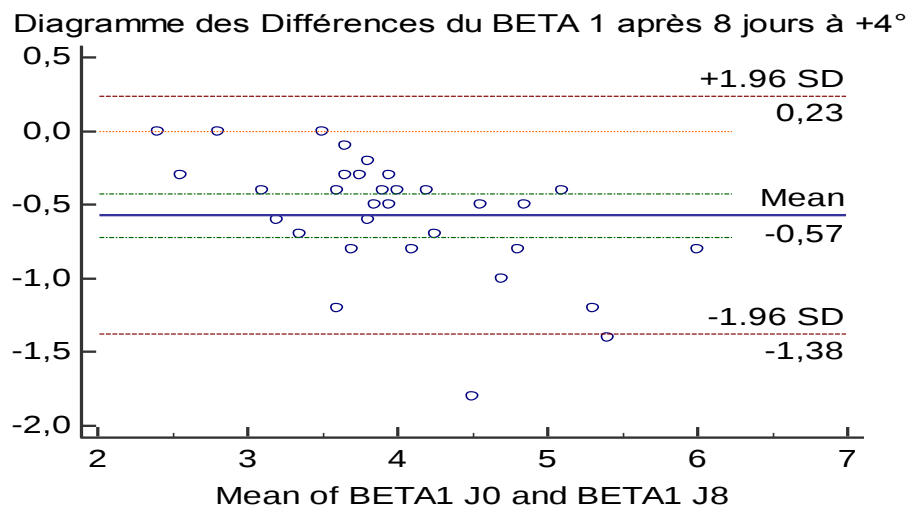


Figure 33: Analyse de concordance entre les concentrations de bêta-1 globulines après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,57 \pm 0,81$; Limites d'agrément = $[-1,38 ; 0,23]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,57) et significative avec une probabilité d'erreur $p < 0.0001$. Il en résulte que les concentrations des bêta-1 à j8 sont supérieures à celles obtenues à j0, avec une concordance de 96,87 % entre les résultats obtenus.

- Béta-2 globulines

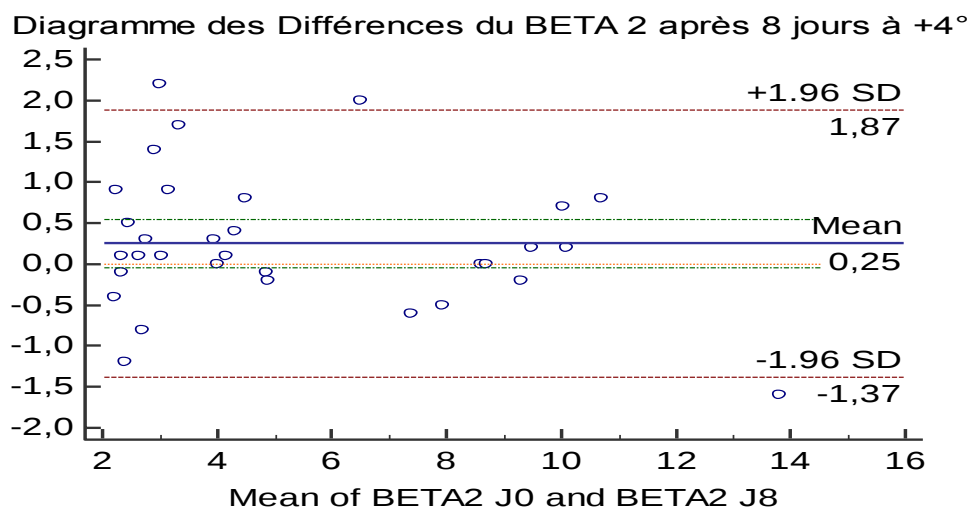


Figure 34: Analyse de concordance entre les concentrations de bêta-2 globulines après 8jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = 0,25 \pm 1,62$; Limites d'agrément = $[-1,37 ; 1,87]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,25) et non significative avec une probabilité d'erreur p 0,0980. Il en résulte que les concentrations des béta-2 à j8 sont équivalentes à celles obtenues à j0 ou légèrement supérieur, avec une concordance de 90 ,62 % entre les résultats obtenus.

- Gamma globulines

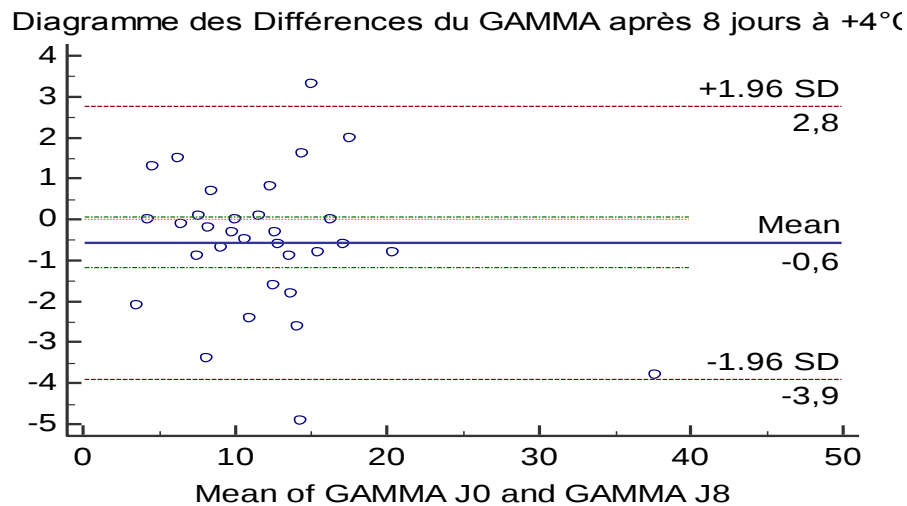


Figure 35 : Analyse de concordance entre les concentrations des gammas globulines après 8 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,6 \pm 3,3$; Limites d'agrément $=]-3,9 ; 2,8[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,6) et non significative avec une probabilité d'erreur p 0,0726. Il en résulte que les concentrations des gammas globulines à j8 sont équivalentes à celles obtenues à j0 ou légèrement supérieur, avec une concordance de 93 ,75 % entre les résultats obtenus.

2.1.1.2.2 Résultats Après réfrigération 15 Jours à +4°C

- Comparaison des taux de protides

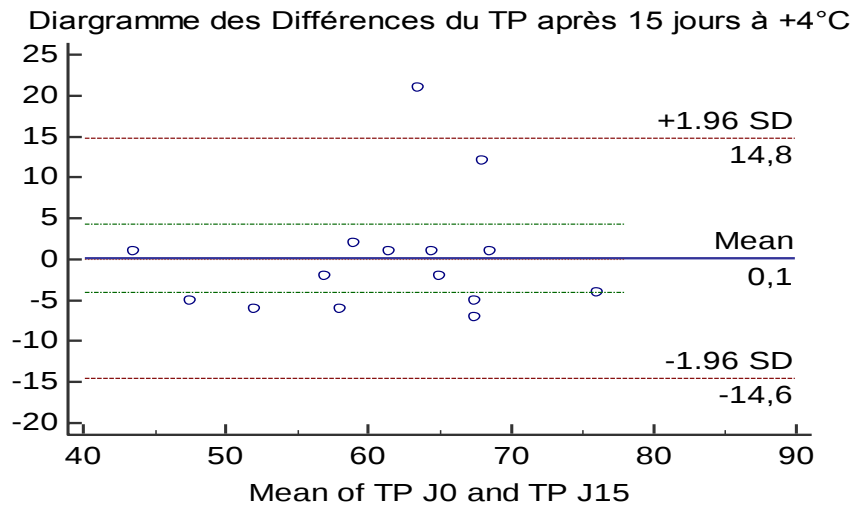


Figure 36 : Analyse de concordance entre les taux de protides après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = 0,1 \pm 14,7$; Limites d'agrément = $[-14,6 ; 14,8]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,1) et non significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,9461$. Il en résulte que les taux de protides à j15 sont équivalents aux taux de protides à j0 ou légèrement diminués, avec une concordance de 93,33%

- Albumine

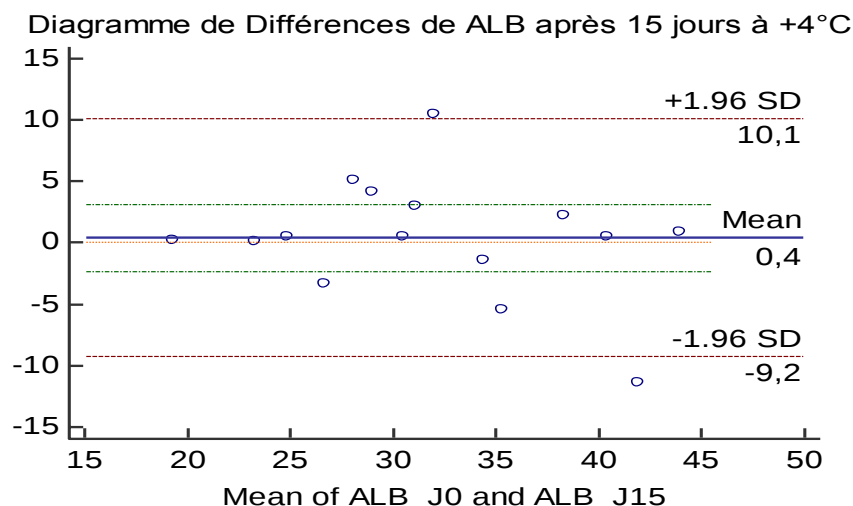


Figure 37 : Analyse de concordance entre les taux d'albumine après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman

$d = 0,4 \pm 9,6$; Limites d'agrément $=]-9,2 ; 10,1[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,4) et non significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,7459$. Il en résulte que les taux d'albumine à j15 sont équivalents aux taux d'albumine à j0 ou légèrement diminués, avec une concordance de 86,67%.

- Alpha-1 globulines

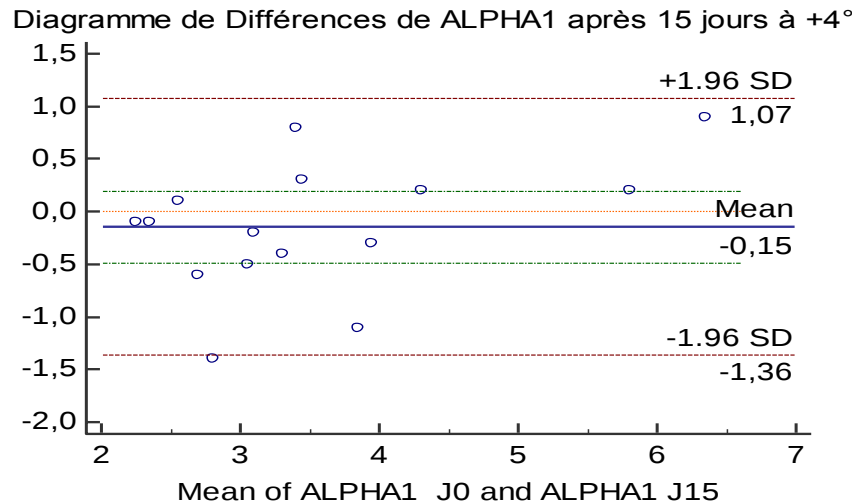


Figure 38 : Analyse de concordance entre les taux d'alpha-1 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,15 \pm 1,17$; Limites d'agrément $=]-1,36 ; 1,07[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,15) et non significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,3758$. Il en résulte que les taux d'alpha-1 globulines à j15 sont équivalents à ceux du j0 ou légèrement augmentés, avec une concordance de 93,75%

- Alpha-2 globulines

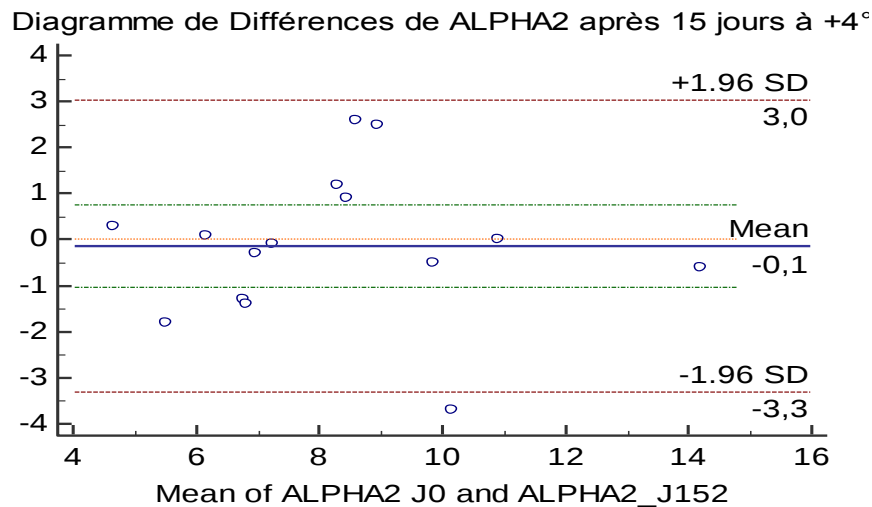


Figure 39: Analyse de concordance entre les taux d'alpha-2 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,1 \pm 3,2$; Limites d'agrément $=]-3,3 ; 3,0[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,1) et non significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,7415$. Il en résulte que les taux d'alpha-2 globulines à j15 sont équivalents à ceux du j0 ou légèrement supérieurs, avec une concordance de 93,33%.

- -Béta-1 globulines

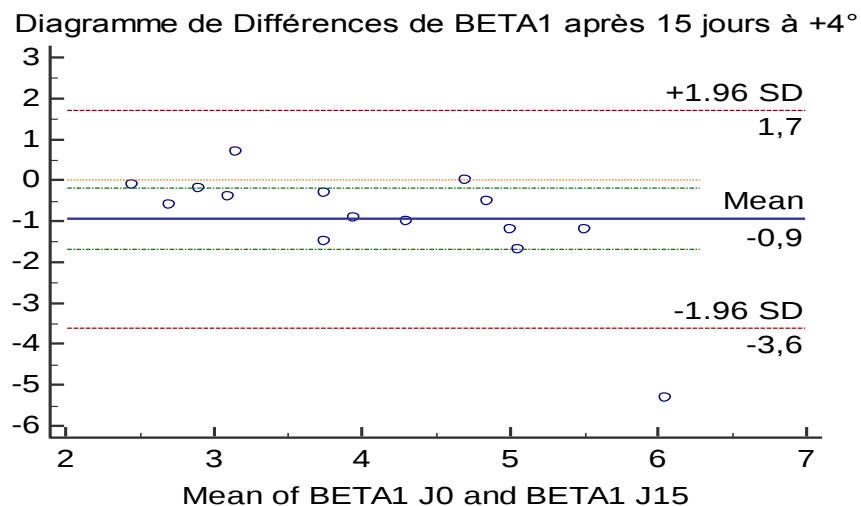


Figure 40 : Analyse de concordance entre les taux des bêta-1 globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,9 \pm 2,7$; Limites d'agrément $=]-3,6 ; 1,7[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,9) et significative avec une probabilité d'erreur p 0,0174. Il en résulte que les taux des bêta-1 globulines à j15 sont supérieurs aux taux des bêta-1 globulines à j0, avec une concordance de 93,33%.

- -Béta-2 globulines

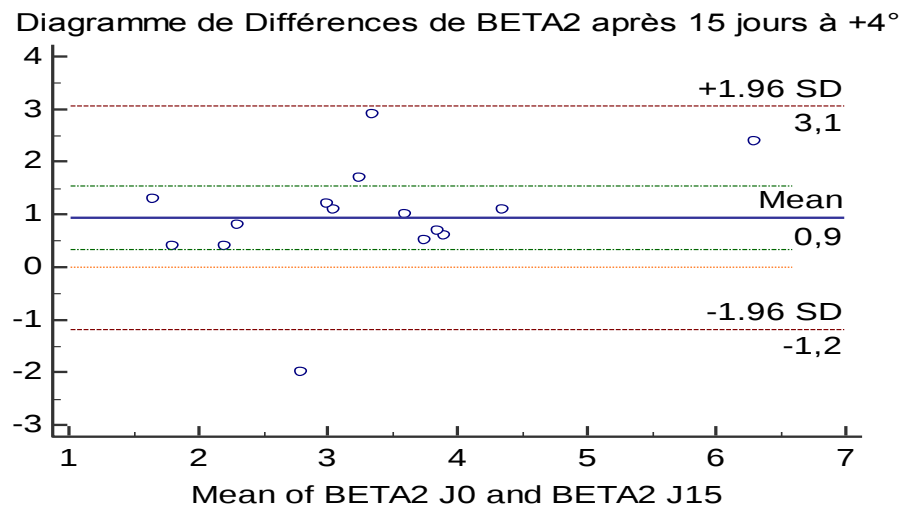


Figure 41 : Analyse de concordance entre les taux des bêta-2 globulines après 15 jours de réfrigération a +4°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = 0,9 \pm 2,2$; Limites d'agrément = $]-1,2 ; 3,1[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,9) et significative avec une probabilité d'erreur p 0,0174. Il en résulte que les taux des bêta-2 globulines à j15 sont inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,33%.

- Gammaglobulines

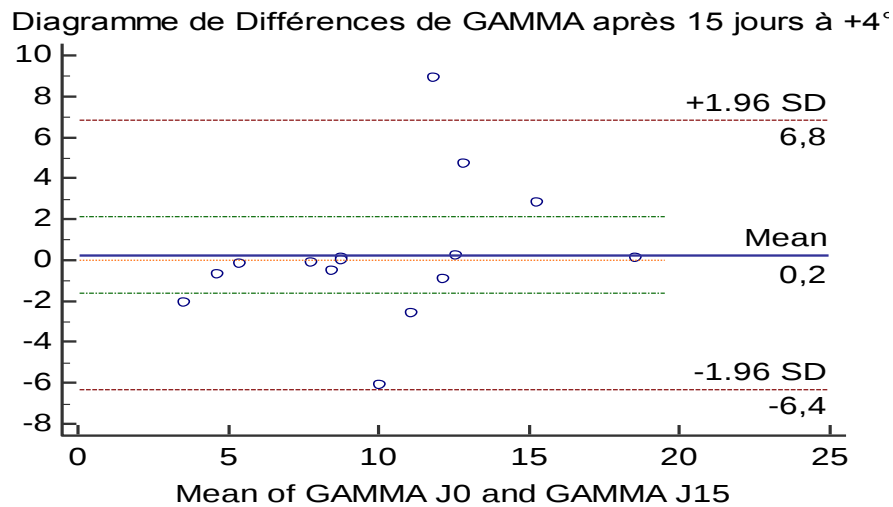


Figure 42 : Analyse de concordance entre les taux des gamma globulines après 15 jours de réfrigération à +4°C par la méthode de Bland-Altman

$d = 0,2 \pm 6,2$; Limites d'agrément = $[-6,4 ; 6,8]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,2) et non significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,9461$. Il en résulte que les taux des gammaglobulines à j15 sont équivalents ou légèrement inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 92,85%.

2.1.1.2.3 Résultats Après congélation 15 Jours à 0 °C

- Taux de protides

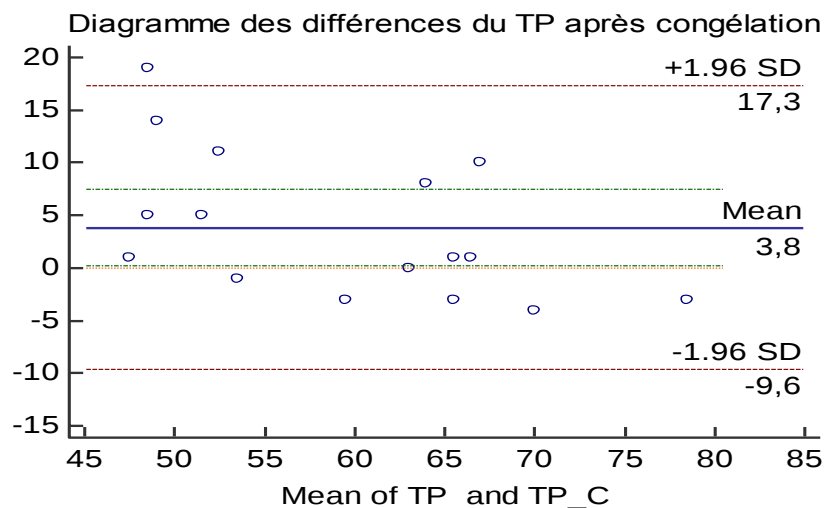


Figure 43 : Analyse de concordance du taux de protides après 15 jours de congélation à +0°C par la méthode de Bland-Altman

$d = 3,8 \pm 13,4$; Limites d'agrément = $[-9,6 ; 17,3]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (3,8) et significative avec une probabilité d'erreur p 0,0421. Il en résulte que les taux de protides à j15 sont inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,75 %.

- Albumine

Diagramme des Différences de ALBUMINE après congélation

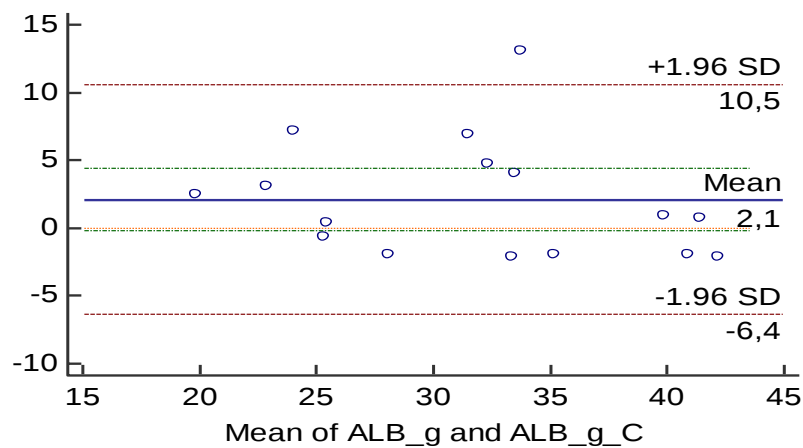


Figure 44 : Analyse de concordance du taux d'albumine après 15 jours de congélation à +0°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = 2,1 \pm 4,3$; Limites d'agrément = $]-6,4 ; 10,5[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (2,1) et non significative avec une probabilité d'erreur p 0,0727. Il en résulte que les taux d'albumine à j15 sont équivalents ou légèrement inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,75 %.

- Alpha-1 globulines

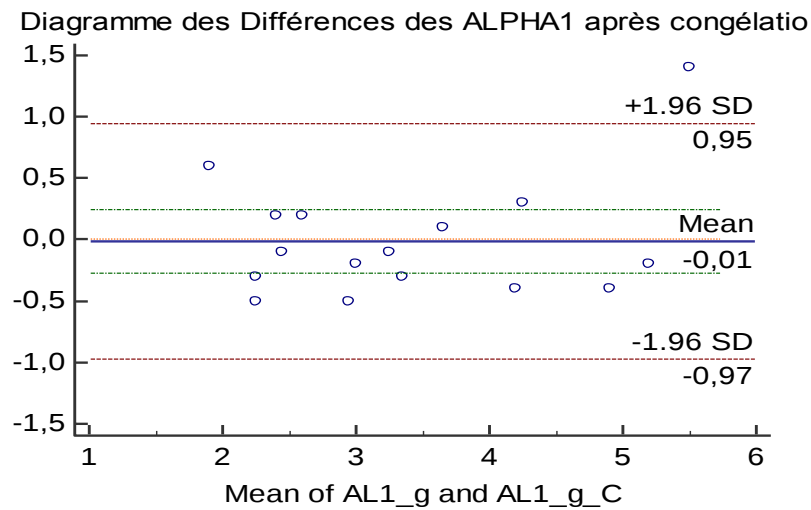


Figure 45 : Analyse de concordance des taux d'alpha-1 globulines après 15 jours de congélation à +0°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,01 \pm 0,96$; Limites d'agrément = $[-0,97 ; 0,95]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,01) et non significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,9200$. Il en résulte que les taux d'alpha-1 globulines à j15 sont équivalents ou légèrement supérieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,75%.

- Alpha-2 globulines

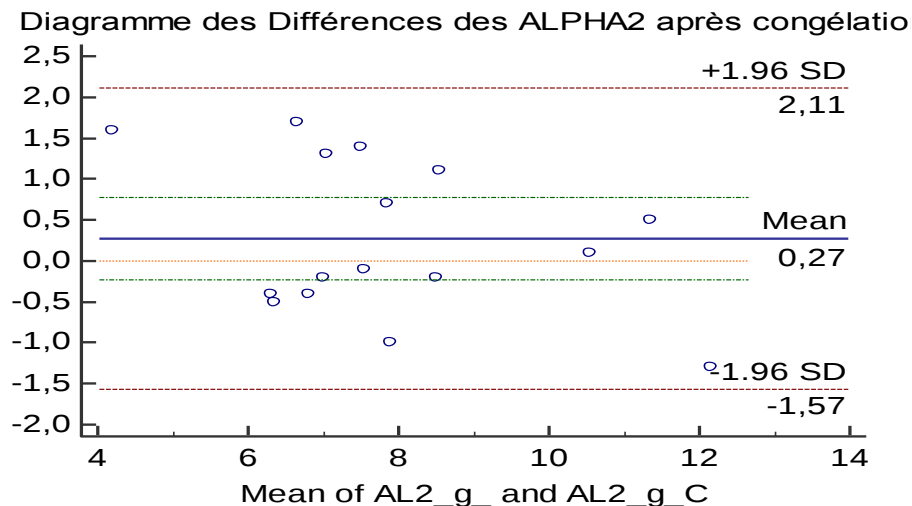


Figure 46 : Analyse de concordance des taux d'alpha-2 globulines après 15 jours de congélation à +0°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = 0,27 \pm 1,84$; Limites d'agrément = $[-1,57 ; 2,11]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,27) et non significative avec une probabilité d'erreur p 0,2707. Il en résulte que les taux d'alpha-2 globulines à j15 sont équivalents ou légèrement inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 100%

- Béta-1 globulines

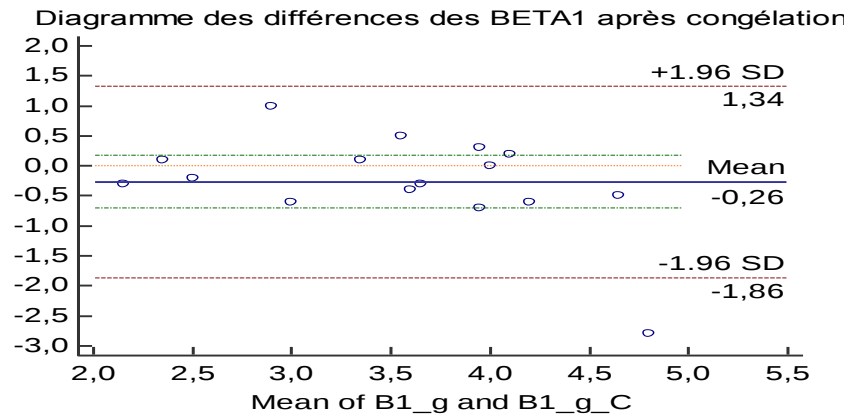


Figure 47 : Analyse de concordance des taux des bêta-1 globulines après 15 jours de congélation à +0°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,26 \pm 1,26$; Limites d'agrément = $[-1,86 ; 1,34[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,26) et non significative avec une probabilité d'erreur p 0,2175. Il en résulte que les taux des bêta-1 globulines à j15 sont équivalents ou légèrement supérieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,75%

- Béta-2 globulines

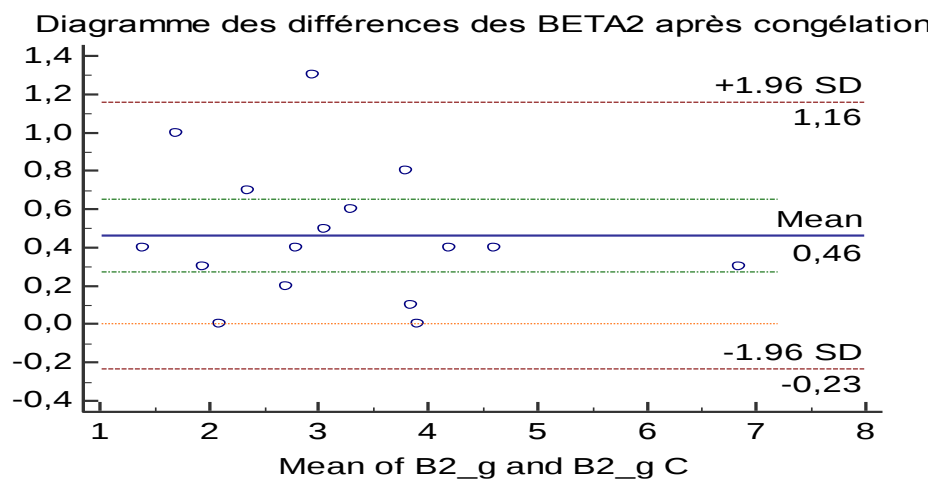


Figure 48 : Analyse de concordance des taux des bêta-2 globulines après 15 jours de congélation à +0°C par la méthode de Bland-Altman.

$d = 0,46 \pm 0,7$; Limites d'agrément = $]-0,23 ; 1,16[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,46) et significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,0001$. Il en résulte que les taux des béta-2 globulines à j15 sont inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,75 %

- Gammaglobulines

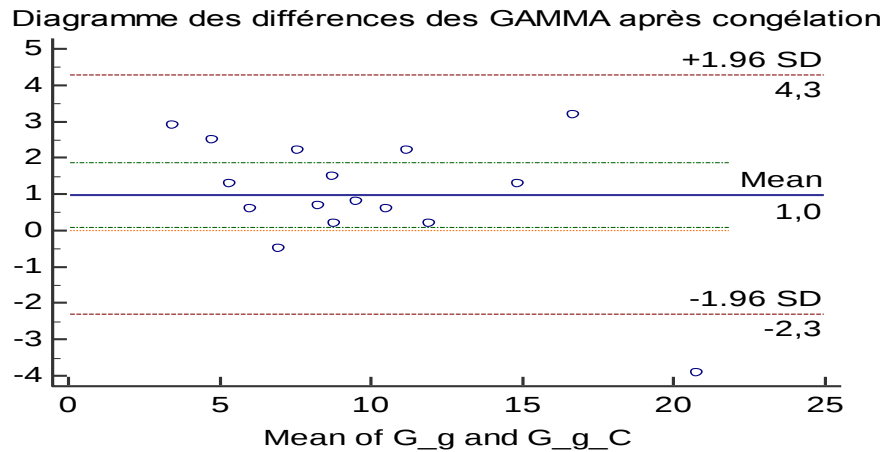


Figure 49 : Analyse de concordance des taux des gamma globulines après 15 jours de congélation à $+0^{\circ}\text{C}$ par la méthode de Bland-Altman.

$d = 1,0 \pm 3,3$; Limites d'agrément = $]-2,3 ; 4,3[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (1,0) et significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,2175$. Il en résulte que les taux des gammaglobulines à j15 sont inférieurs à ceux du j0, avec une concordance de 93,75%

PARTIE PRATIQUE

Tableau 33 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman (après réfrigération 8 Jours à +4°C).

	Après réfrigération 8 Jours à +4°C			
	Différence	Limites	P	Concordance
Taux de protides	-2,2 ± 9,4	] -11,6 ; 7,2 [	S 0,01	96,87
Albumine	-0,9± 5,2	] -6,1 ; 4,4[	NS 0,0699	96,87
Alpha 1 globuline	-0,22 ± 1,02	] -1,24 ; 0,81[	S 0,0245	90,62
Alpha 2 globuline	-0,6 ± 2,55	] -3,1 ; 2,0[	S 0,0159	93,37
Beta 1 globuline	-0,57 ± 0,81	] -1,38 ; 0,23[	S <0.0001	96,87
Beta 2 globuline	0,25±1,62	] -1,37 ; 1,87[	NS 0,0980	90,62
Gamma globuline	-0,6± 3,3	] -3,9 ; 2,8[	NS 0,0726	93,75

Tableau 34 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman (après réfrigération 15 Jours à +4°C).

	Après réfrigération 15 Jours à +4°C			
	Différence	Limites	P	Concordance
Taux de protides	0,1 ± 14,7	] -14,6 ; 14,8[	NS 0,946	93,33
Albumine	0,4 ± 9,6	] -9,2 ; 10,1[	NS 0,7459	86,67
Alpha 1 globuline	-0,15±1,17	] -1,36 ; 1,07[	NS 0,3758	93,75
Alpha 2 globuline	-0,1 ± 3,2	] -3,1 ; 2,0[	NS 0,7415	93,33
Beta 1 globuline	-0,9±2,7	] -3,6 ; 1,7[	S 0,0174	93,33
Beta 2 globuline	0,9±2,2	] -1,2 ; 3,1[	S 0,0174	93,33
Gamma globuline	0,2±6,2	] -6,4 ; 6,8[	NS 0,9461	92,85

Tableau 35 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman (après congélation 15 Jours à 0°C).

	Après congélation 15 Jours à - 20°C			
	Différence	Limites	P	Concordance
Taux de protides	3,8±13,4	] -9,6 ; 17,3[	S 0,0421	93,75
Albumine	2,1 ± 4,3	] -6,4 ; 10,5[	NS 0,0727	93,75
Alpha 1 globuline	-0,01±0,96	] -0,97 ; 0,95[	NS 0,9200	93,75
Alpha 2 globuline	0,27±1,84	] -1,57 ; 2,11[	NS 0,2707	100%
Beta 1 globuline	-0,26 ± 1,26	] -1,86 ; 1,34[	NS 0,2175	93,75
Beta 2 globuline	0,46±0,7	] -0,23 ; 1,16[	S 0.0001	93,75
Gamma globuline	1,0±3,3	] -2,3 ; 4,3[	NS 0,2175	93,75

2.1.2 Phase Analytique : Comparaison des résultats et concordance entre l'analyseur Capillarys Sebia et Helena V8

Le développement des systèmes d'électrophorèse Capillaire a offert un réel avantage aux laboratoires cliniques. Le système d'électrophorèse Capillaire Capillarys® et le V8 augmentent la reproductibilité des résultats en éliminant les étapes manuelles, en améliorant la séparation des fractions protéiques et en accélérant la vitesse des analyses grâce à une automatisation complète.

2.1.2.1 Matériels et méthodes

✓ Population

Pour réaliser cette étude comparative analytique, nous avons récolté 123 échantillons issus de patients hospitalisés des différents services du CHU de Tizi-Ouzou et reçu au laboratoire pour la réalisation de l'électrophorèse capillaire des protéines plasmatiques demandée par les cliniciens des différents services du CHU.

✓ Appareils utilisés

Les automates utilisés sont Capillarys Sebia 2 Flex piercing du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou et le Helena V8 du laboratoire de biochimie d'Alger

- Le système Capillarys® :

C'est un système multiparamétrique de seconde génération mis sur le marché en 2005 et ayant connu des améliorations depuis ce jour jusqu'à aujourd'hui. 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. Le principe est l'électrophorèse capillaire de zone en veine liquide. L'analyse se produit simultanément dans les huit capillaires. Le pilotage de l'automate s'effectue grâce à un logiciel PHORISIS multitâches sous Windows



Avec un parfait complément représenté par le platineum 4V. C'est le plus avancé du marché pour l'EC clinique automatisée, Il est spécialement conçu pour effectuer la gestion, l'analyse et l'interprétation des résultats d'analyses cliniques avec un maximum de simplicité, de précision et d'efficacité. Il propose une grande diversité d'outils analytiques et d'options personnalisables pour répondre aux besoins des laboratoires.



✓ **Méthodes et protocoles :**

- Réception des échantillons
- Centrifugation des échantillons,
- Récolte des sérums,
- Dosage des protéines totales sur le Cobas 400
- Réalisation d'EPP sur Capillarys 2 Flex P le même jour.
- Acheminement vers Alger le jour même en respectant la Chaîne de froid (+4°C)
- Réalisation d'EPP sur Helena V8 le jour suivant.
- Comparaison des résultats par des méthodes statistiques (diagramme de Bland et Altman et la droite de régression de Passing Bablok par logiciel MedCalc et Excel).

2.1 .2.2 Résultats de Comparaison entre Capillarys sebia et le Helena V8

- **Tableau 36** : Récapitulatif des résultats de l'analyse de la droite de régression et de l'analyse de Bland Altman (EPP)

Paramètre	Droite de régression	Erreur systématique IC 95 %	Erreur proportionnelle IC 95 %
Albumine	$y = 2,63 + 0,91 x$	A=2,63IC [1,22 ; 3,77]	B=0,91IC [0,88 ; 0,95]
Alpha-1	$y = -0,20 + 0,88 x$	A=-0,20IC [-0,56 ; 0,14]	B=0,88IC [0,78 ; 0,97]
Alpha-2	$y = 0,69 + 0,93 x$	A=0,69IC [0,13 ; 1,27]	B=0,93IC [0,86 ; 1,00]
Béta	$y = 1,71 + 0,94 x$	A=1,71IC [0,58 ; 2,58]	B=0,94IC [0,80 ; 1,11]
Gamma	$y = 1,39 + 0,88 x$	A=1,39IC [0,72 ; 1,94]	B=0,88IC [0,84 ; 0,93]
A /G	$y = 0,06 + 0,91 x$	A=0,06IC [0,00; 0,12]	B=0,91IC [0,85 ; 0,96]

	Différence Bland Altman Capillarys -V8			
	Différence	Limites	P	Concordance
Albumine	-0,8± 3,7	]-4.4 ; 2.9 [	S <0,0001	92,68
Alpha 1 globuline	-0,67± 1,26	]-1,92;0,59 [	S <0,0001	93,49
Alpha 2 globuline	0,2±1,7	] -1.6 ; 1.9 [	S 0,0263	96,74
Beta globuline	1,5±3,3	]-1,8 ; 4,8[	S <0,0001	92,68
Gamma globuline	-0,1±4,0	]-4,1 ; 3,9 [	NS 0,5842	95,12
Rapport A/G	-0,05±0,27	]-0,32 ; 0,22[	S 0.0002	91,86

- Albumine

Droite de régression de l'Albumine entre le Capillars et le V8

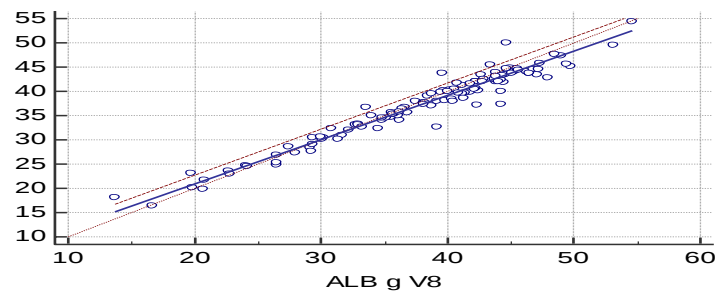


Figure 50 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations d'albumine _{capillars} à albumine _{V8}.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les concentrations albumine _{capillars} à albumine _{V8} avec $N = 123$. L'équation de la droite de régression s'écrit : $Tx.Alb_{capillars} = 2,6256 + 0,9130 Tx.Alb_{V8}$

$IC_{95\%}$ de la pente = $[0,8797 ; 0,9491]$; $IC_{95\%}$ de l'ordonnée à l'origine = $[1,2168 ; 3,7740]$

L'interprétation des $IC_{95\%}$ de l'ordonnée à l'origine et de la pente révèle l'existence d'une différence systématique de 2,62 (0 situé en dehors de l' $IC_{95\%}$ de l'ordonnée à l'origine) et proportionnelle de 9% (1 situé en dehors de l' $IC_{95\%}$ de la pente) entre les deux systèmes.

Diagramme de Différence de Albumine entre le Capillars et le

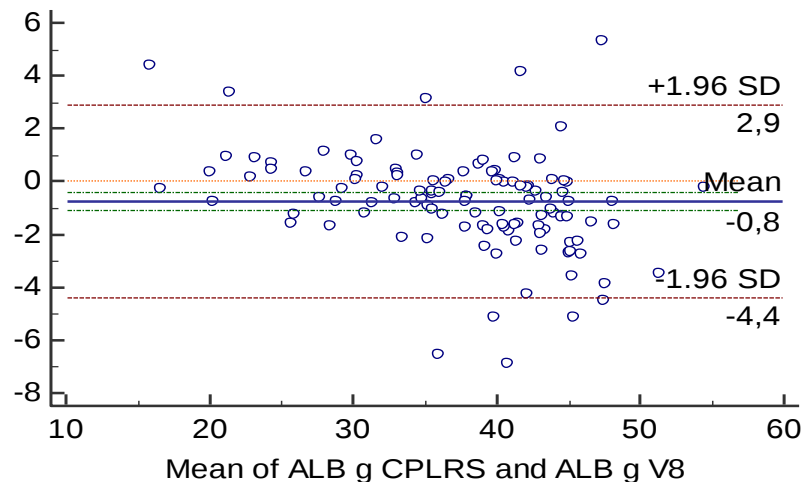


Figure 51 : Analyse de concordance entre les concentrations d'Albumine _{capillars} et Albumine _{V8} par la méthode de Bland-Altman

$d = -0,8 \pm 3,7$; avec limites d'agrément $= [-4,4 ; 2,9]$

L'analyse de concordance, par la méthode de Bland-Altman, montre qu'il existe un biais négatif (-0,8) et significatif avec une probabilité d'erreur $p < 0,0001$

Il en résulte que les concentrations $Alb_{\text{capillary}}$ obtenues sont inférieures aux concentrations $AlbV_8$.

L'analyse du diagramme de Bland Altman et le calcul des limites d'agrément montrent que la différence des concentrations en albumine de 5 échantillons, se situent au-dessus de la limite supérieure d'agrément, et que 4 se situent en-dessous de la limite inférieure d'agrément. Il y a donc 9 échantillons discordants, soit une concordance de 92,68%.

- Alpha-1 Globuline

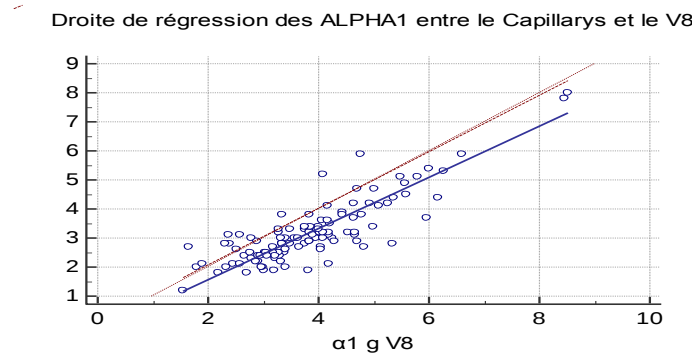


Figure 52: Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer le taux d'Alpha-1 $_{\text{capillary}}$ à Alpha-1 $_{V8}$.

L'équation de la droite de régression s'écrit : $y = -0,197059 + 0,882353 x$

IC_{95%} de la pente [0,7792 ; 0,9722], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine [-0,5597 ; 0,1364]

L'analyse de l'IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine et de la pente montre qu'il existe une faible différence proportionnelle 12 % (1 situé en dehors de l'intervalle de confiance de la pente mais pas de différence systématique (0 inclus dans l'intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine) entre les taux obtenus avec les deux systèmes.

Diagramme de Différence des ALPHA1 entre le Capillarys et le V8

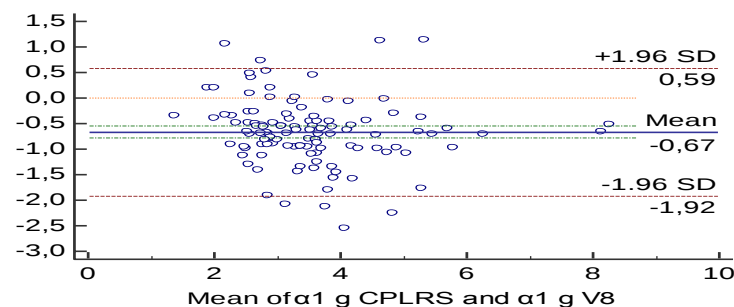


Figure 53: Analyse de concordance entre les taux d'Alpha-1_{capillarys} et Alpha-1_{v8} par la méthode de Bland-Altman.

La moyenne des différences $d = -0,67 \pm 1,26$; Limites d'agrément $=]-1,92; 0,59$ [

L'analyse de concordance, par la méthode de Bland-Altman, montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,67) et significative entre les concentrations mesurées par chacun des deux systèmes. De ce fait, les taux en alpha-1_{CAPILLARYS} s'avérant inférieurs aux taux alpha-1_{v8}, avec une concordance de 93,49%.

- Alpha-2 globuline

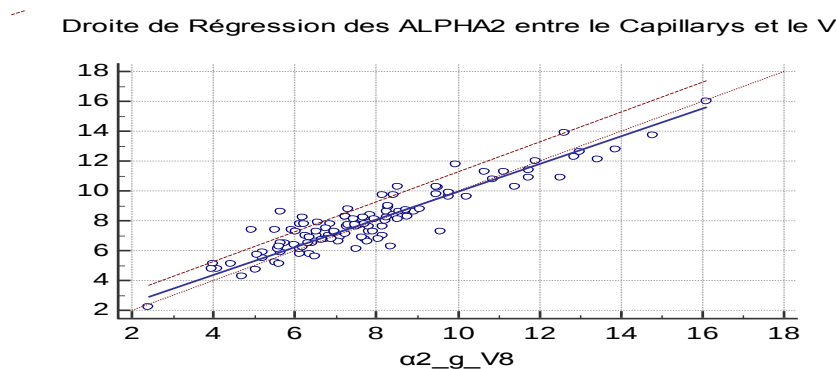


Figure 54: Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les taux d'Alpha-2_{CAPILLARYS} et Alpha-2_{v8}

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les taux Alpha-2_{CAPILLARYS} et Alpha-2_{v8}. L'équation de la droite s'écrit : $y = 0,685185 + 0,925926 x$

IC_{95%} de la pente = [0,8581 ; 1,0000], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine = [0,1300 ; 1,2650]

De l'analyse des IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine et de la pente de la droite de régression (fig 45), on en déduit qu'il existe une faible différence systématique de 0,68 mais pas de différence proportionnelle entre ces concentrations.

Diagramme de Différence des ALPHA2 entre le Capillary et le

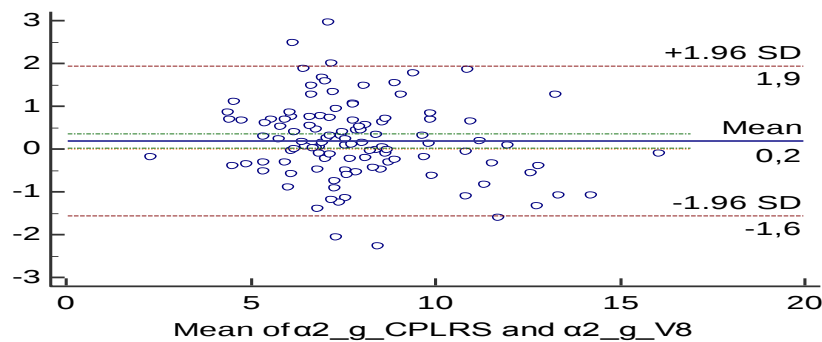


Figure 55 : Analyse de concordance entre les taux Alpha-2_{CAPILLARYS} et Alpha-2_{V8} par la méthode de Bland-Altman

La moyenne des différences $d = 0,2 \pm 1,7$; limites d'agrément $=] -1,6 ; 1,9 [$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland Altman montre qu'il existe une différence systématique positive de 0,2 et significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,0263$. Il en résulte, comme le laissait prévoir la droite de régression, que les taux Alpha-2_{CAPILLARYS} sont faiblement supérieurs à ceux d'Alpha-2_{V8}, avec une concordance entre les deux systèmes appliqués au dosage des Alpha-2 de 96,74%.

- Béta-globulines

Droite de régression des BETA entre le Capillary et le V8

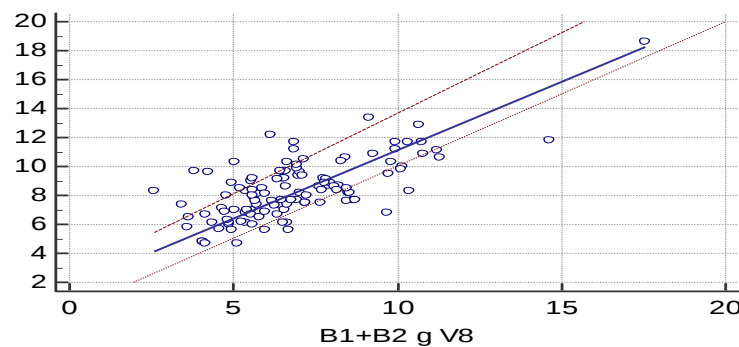


Figure 56 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations Béta-globulines_{capillary} à Béta-globulines_{V8}. Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les concentrations béta globulines capillary et béta globulines V8.

L'équation de la droite de régression s'écrit : $y = 1,713208 + 0,943396 x$

IC95% de la pente $[0,7993 ; 1,1111]$, IC95% de l'ordonnée à l'origine $[0,5778 ; 2,5797]$

Par ailleurs, on en déduit qu'il existe une faible différence systématique 1,71 mais pas de différence proportionnelle entre ces concentrations.

Diagramme de Différence de BETA entre le Capillarys et le V

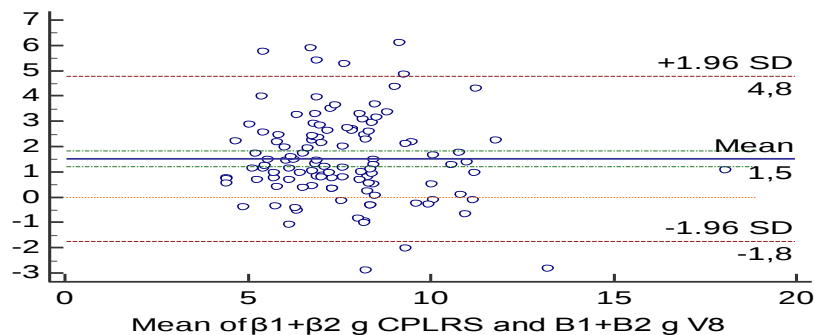


Figure 57 : Analyse de la concordance entre les concentrations béta globulines _{capillarys} et béta globulines _{V8} par la méthode Bland-Altman.

$d = 1,5 \pm 3,3$; Limites d'agrément = $[-1,8 ; 4,8]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland Altman montre qu'il existe une différence systématique positive de 1,5. Il en résulte, comme le laissait prévoir l'équation de la droite de régression, que les concentrations en Béta-globuline _{capillarys} sont supérieures à celles de Béta-globuline _{V8}, avec une concordance de 92,68%.

- Gammaglobulines

Droite de Régression des GAMMA entre le Capillarys et le V

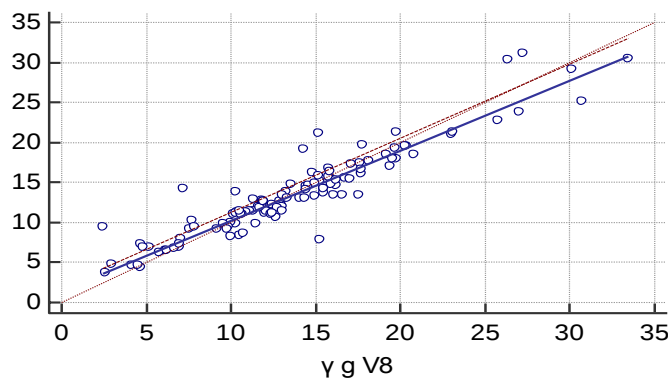


Figure 58: Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les concentrations γ -globulines _{capillarys} à γ -globulines _{V8}.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les concentrations γ -globulines _{capillarys} et γ -globulines _{V8}. L'équation de la droite de régression s'écrit : $y = 1,390756 + 0,880142 x$

IC95% de la pente $[0,8375 ; 0,9295]$, IC95% de l'ordonnée à l'origine $[0,7189 ; 1,9365]$

L'étude des IC95% de la pente et de l'ordonnée à l'origine montre la présence d'une différence proportionnelle de 12% et la présence d'une erreur systématique de 1,39 entre les deux systèmes.

Diagramme de Différence des GAMMA entre le Capillars et le

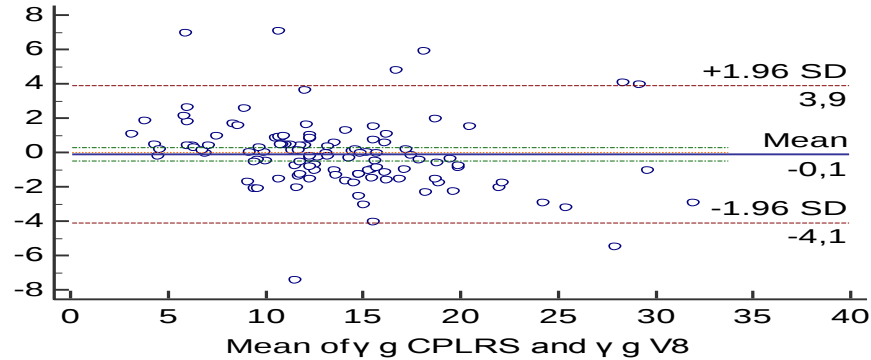


Figure 59 : Analyse de Bland-Altman pour γ -globulines_{capillars} et γ -globulines_{V8}.

$D = -0,1 \pm 4,0$; Limites d'agrément $= [-4,1 ; 3,9]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland Altman montre qu'il existe une Différence systématique négative de -0,1, mais qui n'est pas significative **p-value** 0,5842, il en résulte que les concentrations en gamma globuline_{capillars} sont équivalents ou légèrement inférieures à celles de gamma-globuline_{V8}, avec une concordance de 95,12%.

- Étude du ratio $R_{A/G}$ obtenu par le capillars et le V8

Droite de régression du rapport A/G entre le Capillars et le V8

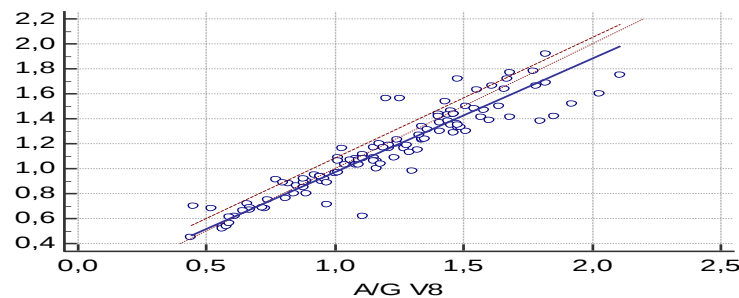


Figure 60: Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer le ratio $R_{A/G}$ capillars à $R_{A/G}$ V8.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre le ratio $R_{A/G}$ capillars et $R_{A/G}$ V8

L'équation de la droite s'écrit : $R_{A/G}$ capillars = 0,0631818 + 0,909091 $R_{A/G}$ V8

IC_{95%} de la pente = [0,8545 ; 0,9649], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine = [0,000 ; 0,1187] les IC_{95%} de la pente et de l'ordonnée à l'origine, montrent qu'entre les résultats obtenus avec les deux systèmes, il existe une différence proportionnelle 10% et pas d'erreur systématique.

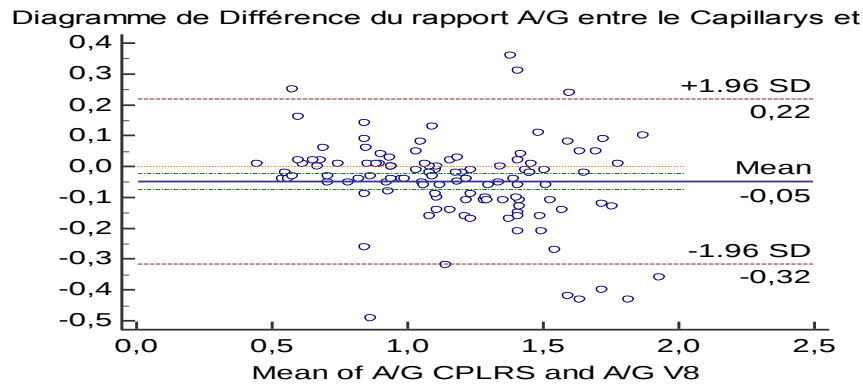


Figure 61 : Analyse de concordance entre les ratios $R_{A/G}$ capillarys et $R_{A/G}$ V8 par la méthode de Bland-Altman

$d = -0,05 \pm 0,27$; Limites d'agrément $=]-0,32 ; 0,22[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,05) et significative avec une probabilité d'erreur $p = 0,0002$, il en résulte que les ratios $R_{A/G}$ capillarys sont inférieures aux $R_{A/G}$ V8, avec une concordance de 91,86%.

2.2 Évaluation des automates pour le dosage des Paramètres protéiniques (TP, ALB, CRP)

2.2.1 Comparaison entre les automates pour le dosage des protides totaux.

2.2.1.1 Matériels et méthodes

✓ Matériel

Pour réaliser notre étude, Nous avons analysé 44 échantillons qui sont des prélèvements des malades hospitalisés dans les différents services du CHU.

✓ Appareils utilisés :

Etude analytique comparative : les échantillons sont analysés dans les automates suivants : advia1800 et cobas 400.

✓ Méthodes et protocole

- Centrifugation des échantillons,
- Récupération des sérums
- Dosage des protéines totales : 44 échantillons sont analysés dans la Cobas 400 et Advia 1800.
- Comparaison des résultats par des méthodes statistiques. (Diagramme de Bland et Altman et la droite de régression de Passing Bablok par logiciel MedCalc et Excel).

2.2.1.2 Résultats et discussions :

TP obtenus avec le Cobas 400 et Advia1800

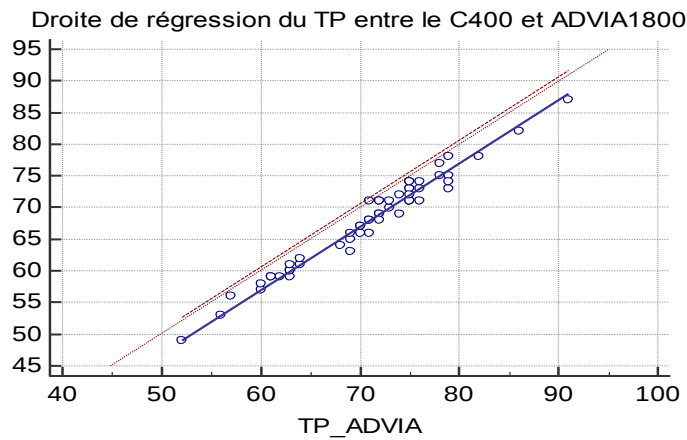


Figure 62 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer les TP_{cobas400} aux TP_{Advia1800}.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre TP_{cobas400} et TP_{Advia1800} avec N = 44. L'équation de la droite s'écrit : $TP_{cobas400} = -3,00 + 1,00 TP_{Advia1800}$

IC_{95%} de la pente [0,9474 ; 1,0000], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine [-3,0000 ; 0,7105]

L'analyse des IC_{95%} de la pente et de l'ordonnée à l'origine montre qu'il n'existe pas une différence systématique ou proportionnelle entre les taux de protides obtenus par les deux appareils.

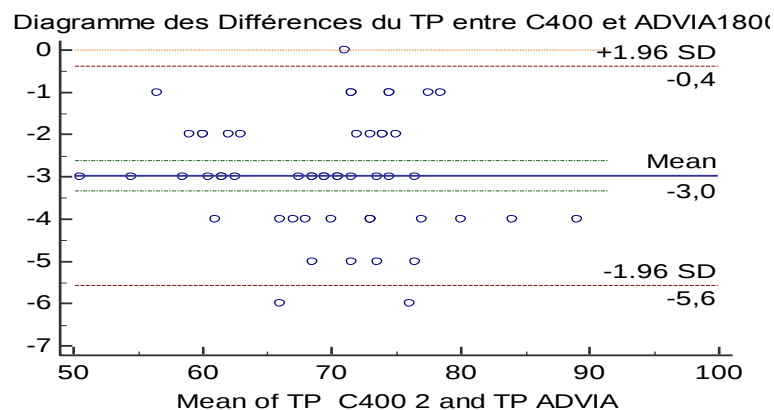


Figure 63: Analyse de concordance entre TP_{Cobas400} et TP_{Advia1800} par la méthode de Bland-Altman.

$d = -3,0 \pm 2,6$; Limites d'agrément = $]-5,6 ; -0,4 [$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-3,0) et significative avec une probabilité d'erreur $p < 0,0001$. Ainsi, les taux de protides obtenus par l'appareil Cobas 400 sont inférieurs aux taux de protides obtenus par l'appareil Advia1800. De plus une concordance de 93,18% entre les résultats obtenus avec ces appareils.

2.2.2 Comparaison des résultats entre les automates pour le dosage de l'Albumine

2.2.2.1 Matériels et méthodes

✓ Appareils utilisés

Pour l'étude comparative des dosages : les échantillons sont analysés dans les automates suivants : advia1800, cobas6000, cobas 400 et Xpand.

Pour la Comparaison des valeurs d'albumine dosée et d'albumine estimée par système capillaire : Les échantillons sont analysés dans le capillarys sebia et Cobas 400.

✓ Matériel et population

81 échantillons dosés sont des prélèvements des malades hospitalisés dans les différents services du CHU.

- 16 échantillons sont analysés dans Cobas 400 et capillarys Sebia.
- 15 échantillons sont analysés dans Advia 1800 et capillarys Sebia.
- 44 échantillons sont analysés dans la Cobas 400 et Advia 1800.
- 10 échantillons sont analysés dans le Cobas 400 et le Cobas 6000.
- 10 échantillons sont analysés dans la Cobas 400 et Xpand.

✓ Méthodes et protocoles :

- Centrifugation des échantillons,
- Récupération des sérums et le dosage de l'albumine : sur les différents automates le jour même.
- Comparaison des résultats par des méthodes statistiques. (Diagramme de Bland et Altman et la droite de régression de Passing Bablok par logiciel MedCalc et Excel).

2.2.2.2 Résultats et discussions

- **Albumine dosé par Cobas400 et Albumine estimé par Capillarys**

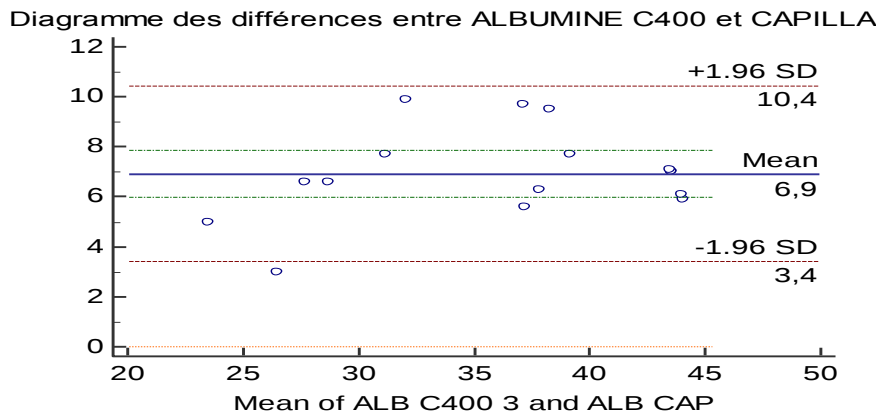


Figure 64 : Analyse de concordance entre le taux d'albumine estimé par le système capillarys sebia et le taux d'albumine dosé par l'appareil Cobas400 par la méthode de Bland-Altman.

$d = 6,9 \pm 3,5$; Limites d'agrément =] 3,4 ; 10,4[

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (6,9) et significative avec une probabilité d'erreur $p < 0,0001$. Il en résulte que les taux d'albumine dosés par l'appareil Cobas 400 sont supérieurs à ceux estimés par le système capillarys sebia, avec une concordance de 92,85%.

- Albumine dosé par Advia et Albumine estimé par le Capillarys

Diagramme des différences entre ALBUMINE ADVIA1800 et CAPIL

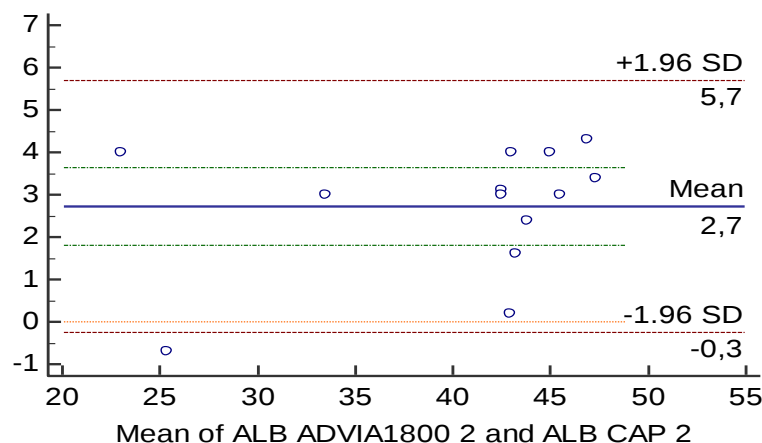


Figure 65 : Analyse de concordance entre le taux d'Albumine dosé par l'appareil Advia1800 et le taux d'Albumine estimé par le système capillarys sebia par la méthode de Bland-Altman.

$d = 2,7 \pm 3,0$; Limites d'agrément =] -0,3 ; 5,7[

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (2,7) et significative avec une probabilité d'erreur $p < 0,0001$. Il en résulte que les taux d'albumine dosés par l'appareil Advia1800 sont supérieurs à ceux estimés par le système capillarys, avec une concordance de 92,30%.

- Albumine dosé par Cobas 400 et Advia1800

— Droite de régression de L'Albumine entre le C400 et ADVIA18

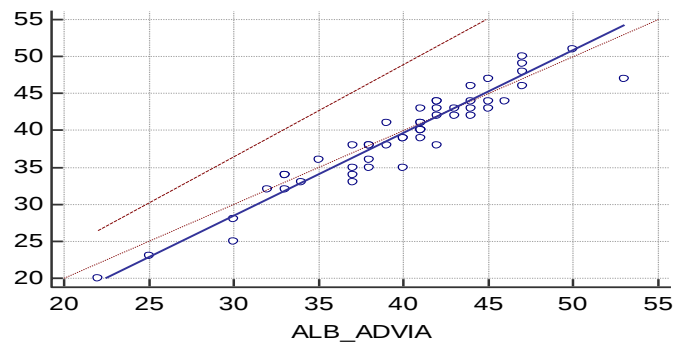


Figure 66: Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de Passing-Bablok pour comparer Albumine_{cobas400} à Albumine_{Advia1800}.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les concentrations Albumine_{cobas400} et Albumine_{Advia1800} avec N = 44.

L'équation de la droite s'écrit : $y = -5,375000 + 1,125000 x$

IC_{95%} de la pente [1,0000 ; 1,2500], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine [-10,7500 ; -1,0000]

L'analyse des IC_{95%} de la pente et de l'ordonnée à l'origine montre qu'il existe une différence systématique -5,38 entre les deux appareils, mais pas de différence proportionnelle 12 %.

Diagramme des Différences de l'Albumine entre C400 et Advia 1

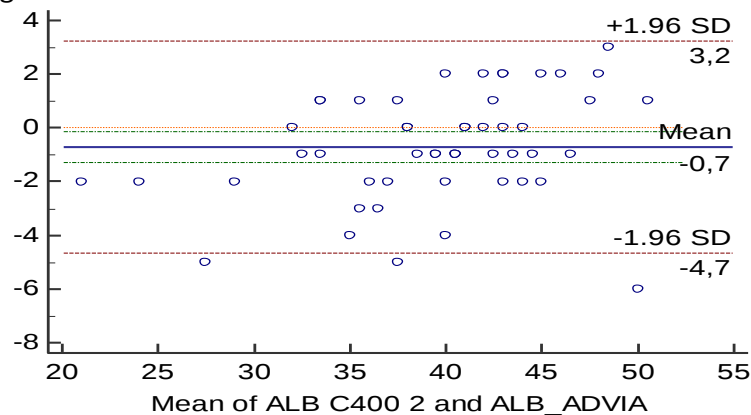


Figure 67 : Analyse de concordance entre les concentrations Albumine_{cobas400} et Albumine_{Advia1800} par la méthode de Bland-Altman.

$d = -0,7 \pm 4,0$; Limites d'agrément = $[-4,7 ; 3,2]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-0,7) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0.0156$. Ainsi, les

concentrations obtenues pour Albumine_{cobas400} sont inférieures aux concentrations Albumine_{Advia1800}, avec une concordance de 93,18%

- Les concentrations d'albumine obtenues avec le Cobas 400 et Xpand dimension

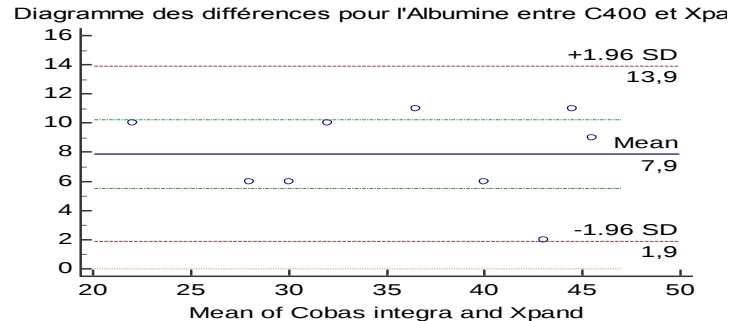


Figure 68: Analyse de concordance entre les concentrations Albumine_{cobas400} et Albumine_{Xpand} par la méthode de Bland-Altman.

$d = 7,9 \pm 6,0$; Limites d'agrément =] 1,9 ; 13,9 [

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (7,9) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0,0001$. Ainsi, les concentrations obtenues pour Alb_{cobas400} sont supérieures aux concentrations Alb_{xpand}, avec une concordance de 100%.

- Les concentrations d'albumine obtenues avec le Cobas 400 et Cobas 6000

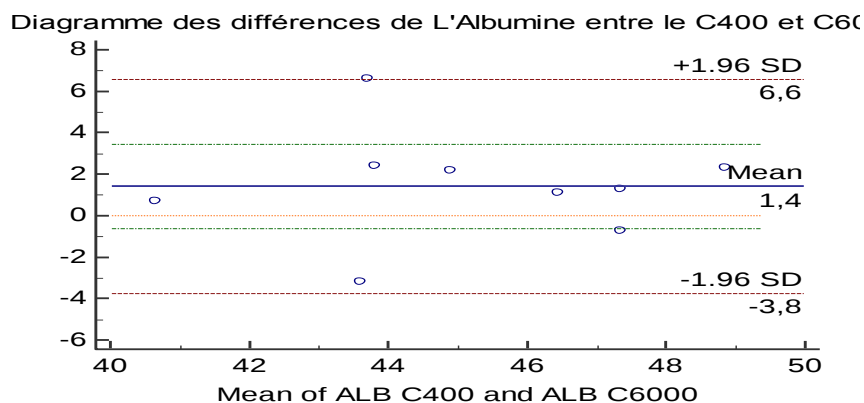


Figure 69: Analyse de concordance entre les concentrations Albumine_{cobas400} et Albumine_{cobas6000} par la méthode de Bland-Altman.

$d = 1,4 \pm 5,2$; Limites d'agrément =] -3,8 ; 6,6 [

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (1,4) et non significative avec une probabilité d'erreur $p=0,1471$. Ainsi,

les concentrations obtenues pour Albumine_{cobas400} sont équivalents ou légèrement supérieures aux concentrations Albumine_{Cobas6000}, avec une concordance de 90,0%.

2.2.3 Comparaison des résultats entre les automates pour le dosage de protéine C-réactive (CRP)

2.2.3.1 Matériels et méthodes

✓ Matériel et population

Pour effectuer le dosage de la CRP, on a analysé 66 prélèvements des malades hospitalisés dans les différents services du CHU.

- 30 échantillons sont analysés dans la Cobas 400 et Advia 1800.
- 15 échantillons sont analysés dans la Cobas 400 et Xpand.
- 11 échantillons sont analysés dans la Cobas 400 et Architect ci 4100.
- 10 échantillons sont analysés dans le Cobas 400 et le Cobas 6000.

✓ Appareils utilisés

Les échantillons sont analysés dans les automates suivants : advia1800, cobas6000, cobas 400, Xpand et Architect ci4100.

✓ Protocoles et méthodes

Centrifugation des échantillons, récupération des sérums et dosage le jour même de la CRP sur les différents automates, puis traitement des résultats par des méthodes statistiques.

2.2.3.2 Résultats et discussions

- Les concentrations de la CRP obtenues avec le Cobas 400 et Advia1800

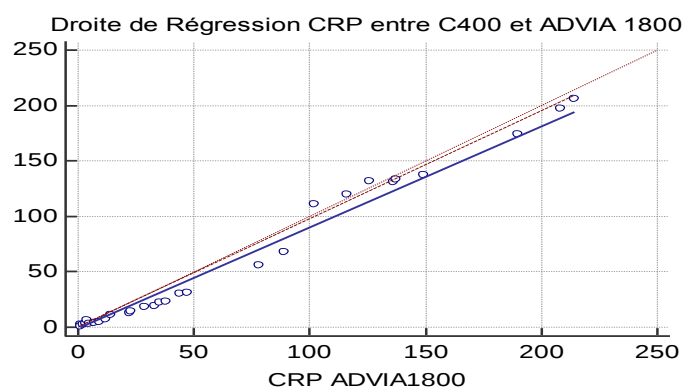


Figure 70 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de

Passing-Bablok pour comparer les concentrations CRP_{cobas400} à CRP_{Advia1800}.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les concentrations CRP_{cobas400} à CRP_{Advia1800} avec N =30.

L'équation de la droite s'écrit : $y = -1,566502 + 0,913300 x$

IC_{95%} de la pente [0,7391 ; 0,9771], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine [-3,7939 ; 0,5217]
l'analyse des IC_{95%} de la pente et de l'ordonnée à l'origine montre qu'il existe une différence proportionnelle 9 % entre les deux appareils, mais pas de différence systématique.

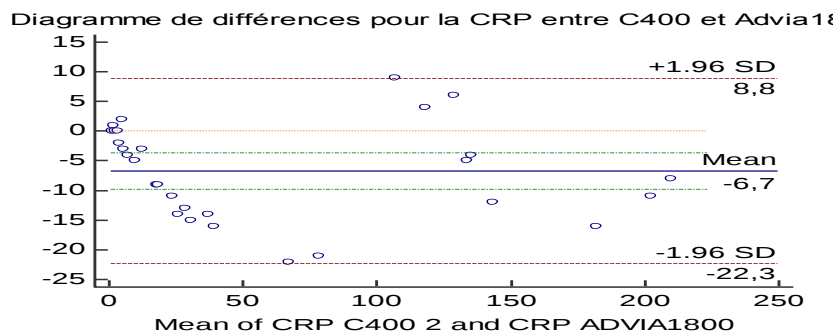


Figure 71: Analyse de concordance entre les concentrations CRP_{Cobas400} et CRP_{Advia1800} par la méthode de Bland-Altman.

$d = -6,7 \pm 15,5$; Limites d'accord = $[-22,3 ; 8,8]$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-6,7) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0,0001$

Ainsi, les concentrations de la CRP obtenues par l'appareil Cobas 400 sont inférieures à celles obtenues par l'appareil Advia1800. De plus une concordance de 96,67%.

Il est important de signaler que la différence augmente avec la concentration de CRP, pour des CRP < 20 mg/l la différence est proche de zéro ; et à partir de 50 mg/l ou l'écart augmente.

- Les concentrations de la CRP obtenues avec le Cobas 400 et Xpand dimension

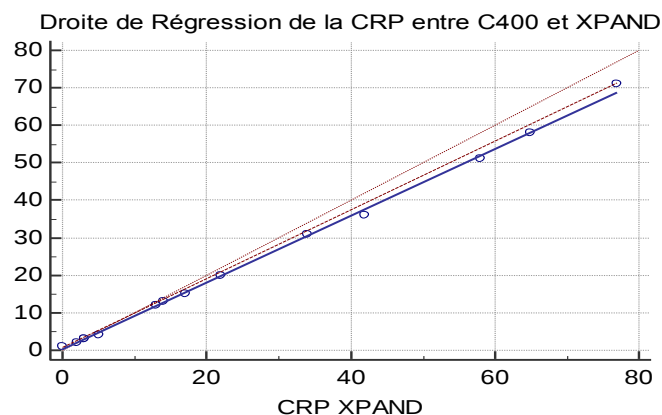


Figure 72 : Représentation de la droite de régression obtenue par la méthode de

Passing-Bablok pour comparer les concentrations CRP_{cobas400} à CRP_{Xpand}.

Cette figure représente la droite de régression de Passing et Bablok illustrant la corrélation existant entre les concentrations CRP_{cobas400} à CRP_{Xpand} avec N =15.

L'équation de la droite s'écrit : $y = 0,336022 + 0,887993 x$

IC_{95%} de la pente [0,8636 ; 0,9167], IC_{95%} de l'ordonnée à l'origine [-0,04167 ; 0,8409]
l'analyse des IC_{95%} de la pente et de l'ordonnée à l'origine montre qu'il existe une différence proportionnelle 12 % entre les deux appareils, mais pas de différence systématique.

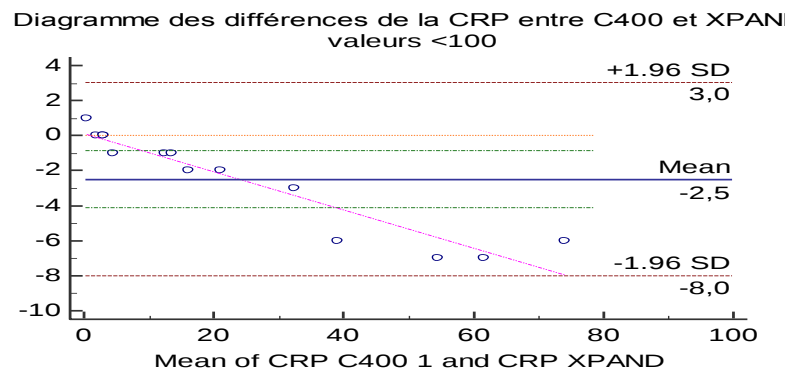


Figure73: Analyse de concordance entre les concentrations CRP_{Cobas400} et CRP_{Xpand} par la méthode de Bland-Altman.

$d = -2,5 \pm 5,5$; Limites d'agrément = $]-8,0 ; 3,0[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-2,5) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0,0056$. Ainsi, les concentrations de la CRP obtenues par l'appareil Cobas 400 sont inférieures à celles obtenues par l'appareil Xpand dimension, avec une concordance de 100%.

Il est important de signaler que la différence augmente avec la concentration de CRP, pour des CRP < 20 mg/l la différence est proche de zéro ; et c'est à partir de 30 mg/l que l'écart augmente.

- Les concentrations de la CRP obtenues avec le Cobas 400 et Architect ci4100

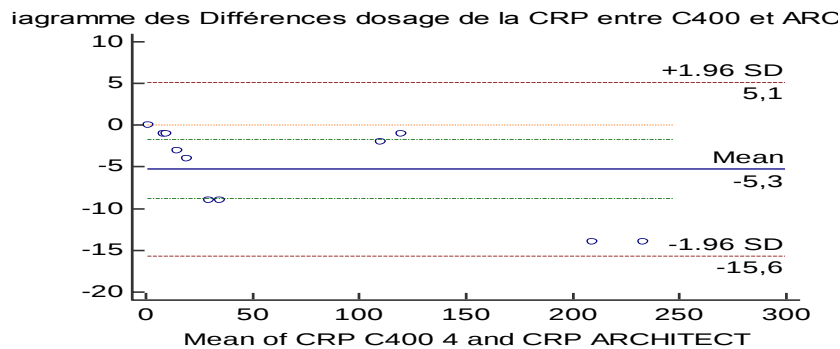


Figure 74: Analyse de concordance entre les concentrations $CRP_{Cobas400}$ et $CRP_{Architect}$ par la méthode de Bland-Altman.

$d = -5,3 \pm 10,3$; Limites d'agrément $=]-15,6 ; 5,1[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique négative (-5,3) et significative avec une probabilité d'erreur $p=0,0080$. Ainsi, les concentrations de la CRP obtenues par l'appareil Cobas 400 sont inférieures à celles obtenues par l'appareil Architect Ci4100, avec une concordance de 100%.

- Les concentrations de la CRP obtenues avec le Cobas 400 et Cobas6000

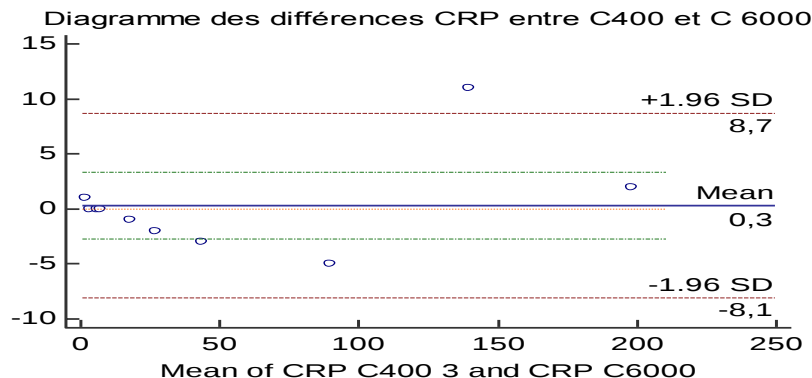


Figure 75: Analyse de concordance entre les concentrations $CRP_{Cobas400}$ et $CRP_{cobas6000}$ par la méthode de Bland-Altman.

$d = 0,3 \pm 8,4$; Limites d'agrément $=]-8,1 ; 8,7[$

L'analyse de concordance par la méthode de Bland-Altman montre qu'il existe une différence systématique positive (0,3) et non significative avec une probabilité d'erreur $p=0,8291$. Ainsi, les concentrations de la CRP obtenues par l'appareil Cobas 400 sont supérieures à celles obtenues par l'appareil C6000, avec une concordance de 90%.

PARTIE PRATIQUE

Tableau 37 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de Bland Altman(TP_ALB_CRP)

Différence Bland Altman _ Comparaison entre les automates					
		Différence	Limites	P	Concordance
TP	Cobas/Advia	-3,0±2,6	] -5,6 ; -0,4 [	S <0,0001	93,18
ALB	Cobas/Advia	-0,7 ± 4,0	] -4,7 ; 3,2 [	S 0,0156	93,18
ALB	Cobas/Xpand	7,9 ± 6,0	] 1,9 ; 13,9 [	S 0,0001	100
ALB	Cobas4/Cobas6	1,4 ± 5,2	] -3,8 ; 6,6 [	NS 0,1471	90,0
ALB	Cobas/Capil	6,9 ± 3,5	] 3,4 ; 10,4[	S <0,0001	92 ,85
ALB	Advia/Capil	2,7± 3,0	] -0,3 ; 5,7[	S <0,0001	92,30
CRP	Cobas/Advia	-6,7 ± 15,5	] -22,3 ; 8,8 [	S 0,0001	96,67
CRP	Cobas/Xpand	-2,5 ± 5,5	] -8,0 ; 3,0[	S 0,0056	100
CRP	Cobas/Architect	-5,3 ± 10,3	] -15,6 ; 5,1[	S 0,0080	100
CRP	Cobas4/Cobas6	0,3±8,4	] -8,1 ; 8,7[	NS 0,8291	90

Tableau 38: Récapitulatif des résultats de l'analyse de la droite de régression(TP_ALB_CRP).

Paramètre	droite de régression	Différence systématique IC 95%	Différence proportionnelle IC 95%
TP Cobas-Advia	y = -3,00 + 1,00 x	A= -3,00 IC [-3,00 ; 0,71]	B=1,00 IC [0,95 ; 1,00]
ALB Cobas-Advia	y = -5,38 + 1,13 x	A=-5,38 IC [-10,75 ; -1,00]	B=1,13 IC [1,00 ; 1,25]
CRP Cobas-Advia	y = -1,57 + 0,91 x	A= -1,57 IC [-3,79 ; 0,52]	B=0,91 IC [0,74 ; 0,98]
CRP Cobas-Xpand	y = 0,34 + 0,89 x	A= 0,34 IC [0,04 ; 0,84]	B=0,89 IC [0,86 ; 0,92]

3 Discussion générale

L'analyse des résultats des échantillons réfrigérés à + 4°C pendant 8 jours montre une bonne concordance (>90%) entre les résultats obtenus. Il existe une augmentation faible qui n'affecte pas l'interprétation du TP et de toutes les fractions (diminution faible pour Beta 2) et cette différence n'est significative que pour le TP, Alpha 1, 2 et Beta 1. Cependant, nous remarquons que l'intervalle des limites des différences pour le TP est large] -11,6 ; 7,2[et à moindre degrés l'ALB] -6,1 ; 4,4[; ceci risque d'affecter les résultats pour certains échantillons pour le TP et ALB.

Après 15 jours de réfrigération à +4°C, la différence reste faible et elle n'est significative que pour les fractions Beta. Cependant, nous remarquons que les intervalles des limites pour le TP ; ALB ; et GAMMA sont larges] -14,6 ; 14,8[;]-9,2 ; 10,1[;]-6,4 ; 6,8[.

La congélation à – 20°C montre une différence très faible pour toutes les fractions, et elle n'est significative que pour le TP, et Beta 2. Cependant, comme pour la réfrigération les intervalles des limites pour le TP et ALB sont larges] -9,6 ; 17,3[;]-6,4 ; 10,5[

En générale, les moyennes des différences sont acceptables, mais pour certains échantillons la différence extrême pour le TP, et ALB, sont assez supérieur aux limites

d'acceptabilités selon SFBC d'interprétation et de suivi du TP (9,2 et 5,8 g/l) et de l'Albumine (8,5 et 6,9 g/l).

Nous concluons selon nos résultats que la réfrigération (J8, ou J15) et la congélation sont à éviter, ou à utiliser avec prudence, car malgré les différences moyennes faibles en globalité, les intervalles des limites retrouvés pour certaines fractions sont larges et risquent d'engendrer pour certains échantillons une grande différence et d'affecter l'interprétation des résultats. Une étude plus ciblée et une confrontation de nos résultats aux recommandations des fournisseurs, ou à la littérature pourront expliquer cette différence ; afin d'établir des procédures pré analytiques adéquates quant à l'exploration des protéines au niveau du laboratoire.

L'étude comparative du système capillarys sebia versus Helena V8 basée sur une analyse globale de 123 échantillons issus de patients hospitalisés au niveau du CHU de Tizi-Ouzou, montre qu'il existe une différence systématique proche de 0 pour la plupart des fractions protéiniques sauf pour la fraction des bêta où la différence est de 1,5 avec un intervalle des limites pour les Gamma et Beta moyennement large. Cependant, en général les résultats de cette analyse sont satisfaisants et attestent que les performances du système Capillarys sont similaires au système Helena V8 pour la séparation et la quantification des fractions protéiniques.

La comparaison des échantillons de sérum de routine pour l'analyse des taux de protides entre les deux automates (Cobas 400 et Advia1800), montre une différence moyenne significative de 3g/l avec une valeur extrême de 5,6 g/l ; le TP de Advia1800 étant généralement supérieur. Cette différence n'étant pas significative sur le plan biologique selon les limites d'acceptabilité proposées. Par conséquent, les résultats observés dans cette étude pour le dosage des protides totaux sont comparables entre les automates du laboratoire de biochimie.

Tous les résultats obtenus montrent que l'albumine estimée par l'électrophorèse des protéines sériques est plus basse que celle mesurée sur les automates de routine pour les méthodes colorimétriques (cobas400 et Advia1800), et cette différence est élevée pour le Cobas 7 g/l (extrême 10 g/l) ; ceci est expliqué par l'influence du taux de protides sur l'estimation de l'albumine ; et le dosage colorimétrique reste le plus précis.

La comparaison de deux automates Cobas 400 et Advia 1800 pour l'analyse de l'albumine, montre une différence moyenne de 0,7 g/l, ce qui n'est pas significative sur le plan biologique selon les limites d'acceptabilité proposées. Ainsi, les résultats sont comparables entre ces deux automates du laboratoire de biochimie.

Cependant, L'analyse des résultats de l'albumine obtenus avec le Cobas 400 et Xpand montre une différence moyenne significative et importante de 7,9 (avec un extrême de 14 g/l) ce qui risque d'affecter l'interprétation (limite SFBC interprétation⁸, 5 et suivi 6,9 g/l). Toutefois, ce résultat reste non concluant tenant compte du nombre d'échantillons, et une étude avec un échantillon plus grand est recommandée.

L'analyse des échantillons montre, en moyenne, des résultats similaires pour des valeurs basses de CRP entre le Cobas 400 et les autres automates (taux de CRP < 50mg/l avec Advia et CRP < 20mg/l avec Xpand); cette différence augmente avec l'augmentation du taux de CRP ; et elle peut atteindre d= 22 mg/l (Advia), 8 mg/l (Xpand) et 16 mg/l (Architect) ; ce qui reste assez acceptable pour le diagnostic et l'interprétation (limite d'acceptabilité selon SFBC est de 21,2 mg/l). Cependant, pour Advia (d= 22 mg/l), cette différence est en dehors des limites d'acceptabilité selon SFBC pour le suivi ou la différence ne doit pas dépasser les 15 mg/l.

Nous concluons que pour le suivi des patients, les résultats entre Cobas et les autres automates ne sont pas transférables en particulier avec l'Advia lorsque le taux de CRP est élevé. Néanmoins, ces résultats sont comparables lors de l'établissement du diagnostic.

- **Les limites de l'étude :**

Les comparaisons effectuées dans notre étude permet de donner un aperçu des résultats pour le laboratoire de biochimie, cette étude est limitée par:

- Le nombre réduit d'échantillons traités qui est du à la cherté et à la disponibilité du réactif.
- La maintenance des automates.
- La réalisation des contrôles de qualité ponctuels.
- La réservation de l'automate Xpand pour les urgences.

CONCLUSION

La biologie médicale a été confrontée ces dernières années à de nombreuses évolutions internes et externes : évolution des connaissances médicales, automatisation des techniques, assurance et contrôle de qualité.

Le laboratoire accrédité pour les analyses biologiques doit répondre aux exigences en terme de qualité dictées par la réglementation en vigueur et les guidelines énoncés par les organismes normatifs tels que l'ISO 15189, ISO/ CEI 17025.

L'exploration des protéines fait partie intégrante du bilan standard de santé, car il est souvent nécessaire de faire un bilan protéique pour établir un diagnostic, évaluer ou suivre l'état des malades, c'est pourquoi la qualité des résultats sont très importante et déterminante pour une interprétation clinique et une prise en charge adéquate.

Ce travail préliminaire a permis d'étudier la qualité des résultats produits par le laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou. Ainsi, qu'une comparaison inter-laboratoire [CHU Tizi-Ouzou, CHU CPMC Alger] des performances analytiques du système capillaire.

L'étude inter-laboratoire de l'électrophorèse capillaire a démontré des résultats comparables et satisfaisants.

L'étude de comparaison des résultats de dosage des protéines plasmatiques (TP, ALB, CRP) par les différents automates du laboratoire de biochimie du CHU Tizi-Ouzou a montré pour les paramètres : taux de protides et albumine des résultats transférables entre les automates, les résultats de CRP ne sont pas transférables en particulier avec l'Advia lorsque le taux de CRP est élevé. Néanmoins, ces résultats sont comparables lors de l'établissement du diagnostic.

Notre étude a montré également le degré de satisfaction des cliniciens sollicités et leur confiance vis-à-vis du laboratoire vu l'orientation des résultats obtenus vers un diagnostic de certitude.

La communication continue entre le laboratoire et les cliniciens est primordiale pour une meilleure prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient.

Ces résultats suggèrent la nécessité d'une démarche d'amélioration permanente de la qualité des résultats d'analyses délivrés par le laboratoire de biochimie.

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES

1. CUQ JL. Biochimie des protides- Polytech STIA 1. Département Science et technologie des Industries Alimentaires. 1^{ère} année. Université Montpellier 2, Science et Technique. Septembre 2006.
2. Claverie I, PANET M, BARBEAU S. Cahier de préparateur en pharmacie. Biochimie. 2^{ème} édition. Edition porphyre. Wolters Kluwer France ; 2008.
3. Structure des protéines-Anatomie, PCEM1, Ostéopathie[En ligne]. [Consulté le 01 février 2016]. Disponible sur : <https://www.cours-medecine.info/biochimie/structure-proteines.html?page=structure-proteines>
4. Audigé C, Zonszain F. Biochimie structurale. Nouvelle édition. Doin éditeurs- paris. Wolters Kluwer France 2009.
5. Valentini F. L'indispensable en biochimie, 1^{er} cycle universitaire scientifique, I.U.T de chimie, école d'ingénieur. Edition-Bréal, France. 2005.
6. Weinman S, Méhul P. Toute la biochimie. Dunod, Paris. 2004
7. Classification des protéines / protéines[En ligne]. [Consulté le 12 Mars 2014]. Disponible sur : <http://proteinenaturelle.com/s/classification+des+prot%C3%A9ines>
8. Seve M. Chapitre 6 : les protéines : propriétés physico-chimique et classification. Année universitaire 2010/2011 Université Josef Fourier de Grenoble. Disponible sur : <http://Unf3s.cerimes.fr> > seve _michel_p16
9. Coutouly G, Klein E, Barbieri E, Kriat M. Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique. 3^{ème} édition. Doin éditeurs, groupe liaison SA, Wolters Kluwer France 2006.
10. Propriétés et classification des protéines. Disponible sur : > biochimie> protéines<https://listes.u-picardie.fr>
11. Cours protéines PCEM1 part 3 sur 3 oct 2010 pour PDF. Disponible sur : [http://www. poly-prepas.com/images/files](http://www.poly-prepas.com/images/files).
12. Tracqui P, Demongeot J, Klein G, Satre M, Cohen O, Grunwald D et al. Element de biologie, à l'usage d'autres disciplines, de la structure aux fonctions. Edition : EDP Science. France. Juin 2003. p51-2
13. Bernadette, Hocketsweiler P. Voyage en biochimie, circuit en biochimie humaine, nutritionnelle et métabolique. 3^{ème} édition. Edition : Elsevier
14. La localisation des protéines- cours de biologie, sur eBiologie[en ligne]. [Consulté en janvier 2007]. Disponible sur : [http:// www.ebiologie.fr](http://www.ebiologie.fr)>cours>la-localisation des protéines
15. Les protéines : rôle-Cégep de Sainte-Foy [En ligne].[Consulté le 11 Juillet 2015]. Disponible sur : http://www2.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/fya/chimcell/notesmolecules/proteines_3.htm
16. Polonovski M. Biochimie les protides. Collection. L'enseignement des sciences médicales et biologiques. 2^e réimpression. Alger, 1987.
17. Préparation au concours d'internat en pharmacie. Tracé électrophorétique normal[en ligne] 2011. Disponible sur : http://www.memobio.fr/html/immu/im_el_no.html
18. Valdiguié P. Biochimie clinique. 2^{ème} éd. France : éditions médicales internationales, 2000.

RÉFÉRENCES

19. Weil J-H. Biochimie générale: DEUG B, PCEM, licences et maîtrises de biochimie, de biologie cellulaire, de physiologie, de biologie des organismes, de sciences naturelles... 7^{ème} édition. Masson; 1994.
20. Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, Stewart MJ, Shepherd J, O'Reily DJ. Biochimie clinique. 2004
21. Kazi. Aoul T, Oukaci Y. Protéines plasmatiques. Alger, 1984.
22. Métais P, Agneray J, Férard G, Fruchart J-C, Siest G, Revol A et al. Biochimie clinique: Biochimie métabolique. Simep, Paris, 1985.
23. Lievens M., Bienvenu J., Buitrago JMG et al. Evaluation of four new Tina-quant assays for determination of α -1-acid glycoprotein, α -1-antitrypsin, haptoglobin and prealbumin. Clin Lab, 1996, 42: 515-20.
24. Schneider M., Pott G., Gerlach U., Alpha-1-Antitrypsin-Mangel, Klin Wschr 1986: 64:197-205
25. Institut de Biologie clinique Université Libre de Bruxelles. 2009. (Consulté le 24 Avril 2010)
Disponible sur : [http://www.ulb-ibc.be/repertoire%20_IBC/orosomucoides.aspx](http://www.ulb-ibc.be/repertoire%20IBC/orosomucoides.aspx)
26. Métais P, Agneray J, Férard G, Fruchart J-C, Siest G, Revol A et al. Biochimie clinique: Biochimie fonctionnelle. Simep, Paris, 1988.
- 27- Roux H, Aquaron R, Bergeaud F, Grangier J, Recordier AM. Le dosage de la céruloplasmine sérique en rhumatologie. Rev Rhum. 1971;38:99.
28. Polonovski M. Biochimie les acides aminés et protéines. Collection. L'enseignement des sciences médicales et biologiques. 3^e réimpression. Alger, 1987.
29. Borghini T, Vernez L, Kessler D, centre suisse de contrôle de qualité. (Consulté Avril 2013).
Disponible sur : www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-CRP-f.pdf
30. Dupuy AM, Terrier N, Sénécal L, Morena M, Leray H, Canaud B, et al. La CRP est-elle plus qu'un marqueur de l'inflammation? Néphrologie. 2003;24(7):337-42.
31. Weill B, Batteux F. Immunopathologie et réactions inflammatoires. De Boeck Supérieur; 2003.
32. Fremeaux-Bacchi V, Ngo S, Bordereau P, Poulain N, Roncelin S, Blouin J, et al. Exploration du complément : actualités 2012. Rev Franc Lab 2012 ; 444 :
33. Chapel H, Haeney M, Misbah S. Immunologie clinique: De la théorie à la pratique, avec cas cliniques. De Boeck Supérieur; 2004.
34. Lefevre. Les troponines : aspects biologiques et cliniques. Annales de Biologie Clinique, 2000 ; 5 : 39-48.

RÉFÉRENCES

35. Lefevre, H. Graine. Les nouveaux marqueurs de la nécrose cardiaque : aspects analytiques et diagnostiques. Option Bio, 24 juillet 1998. Supplément au numéro 211.212.
36. Szymanowicz, A., et al. "Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques." *Annales de Biologie Clinique*. Vol. 64. No. 4. 2006
37. Charmot, G., P. Gindicelli, and R. Reynaud. "en Rigaud, JL, La Dysprotéïnémie commune de l'Africain, Essai d'interprétation." *Bull. Soc. Pathol. Exot* 53 (1960): 582-97.
38. De Biopathologie P. Analyses médicales spécialisées. Biomnis. 2012. Disponible sur : http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/PROFILS_PROTEIQUES.pdf
39. Que demander comme examens complémentaires pour confirmer un syndrome inflammatoire (Consulté le 07 Jan 2017).Disponible sur : <http://b.21-bal.com/pravo/1347/index.html>
40. Belaouar H. Fractionnement des protéines sériques par électrophorèse sur gel polyacrylamide.2008. Disponible sur:http://www.memoireonline.com/07/09/2355/m_Fractionnement-des-proteines-seriques-par-electrophorese-sur-gel-polyacrylamide7.html
41. Préparation au concours d'internat en pharmacie. Syndrome néphrotique[en ligne] 2012. (Consulté le 11 Nov 2013).Disponible sur :http://www.memobio.fr/html/immu/im_el_sne.html
42. Allain A. Exploration des protéines plasmatiques : Dysprotéïnémies Protéines de l'inflammation 2013.Disponible sur :<http://slideplayer.fr/slide/1210565/>.
43. Labtest- Protéines sériques totales et ratio A/G [En ligne]. [Consulté le : 31.10.2011]. Disponible sur : [http:// www. Labtestsonline. fr/ test/Total Protein.html ?tab=3](http://www.Labtestsonline.fr/test/TotalProtein.html?tab=3)
44. Analyse des protéines sérique- Information Santé[En ligne]. [Consulté aout 2015]. Disponible sur : [http://www. Passeportsanté. net](http://www.Passeportsanté.net)
45. Dosage des protéines totales avec e-sante. be [En ligne]. [Consulté le 15 Janvier 2007]. Disponible sur : [http:// www. e-sante .be/ dosage-proteine-totales/guide/423](http://www.e-sante.be/dosage-proteine-totales/guide/423)
46. Protéine. Dosage(Lowry)- Takween [En ligne]. [Consulté en 2013]. Disponible sur : <http://www.takween.com>
47. Dosage colorimétrique des protéines. Bradford. Methodologie TP biochimie[En ligne]. [Consulté le 03 mars 2008]. Disponible sur : [http:// www. biochimej. univ-angers.fr](http://www.biochimej.univ-angers.fr)
48. le Bricon T. Exploration biologique de la protéinurie au laboratoire d'analyse : aspect quantitatif. Ann Biol Clin[En ligne]. Novembre 2011[Consulté en 12/2015] ; 59(5) : [14pages]. Disponible sur : [http:// www. jle.com/fr/revue/abc/ e-docs/exploration biologique de la protéinurie au laboratoire d'analyse aspect quantitatif 50475/ article.phtml ?tab=texte](http://www.jle.com/fr/revue/abc/e-docs/explorationbiologiquede laproteinurieaulaboratoire d'analyse aspect quantitatif 50475/article.phtml?tab=texte)

RÉFÉRENCES

49. Métais P, Agneray J, Férard G, Fruchart J-C, Siest G, Revol A et al. Biochimie clinique: Biochimie analytique. Simep; 1988.
50. Méthode physique de séparation et méthode de dosage de biomolécule[En ligne]. [Consulté le 14 septembre 2012]. Disponible sur : [http:// www. snv-jussieu.fr/bmedia/lafont/dosage/D3.html](http://www.snv-jussieu.fr/bmedia/lafont/dosage/D3.html)
51. BIOPATHOLOGIE : méthodes d'immunochimie-Rattner-5/11/12[En ligne]. [Consulté août 2014]. Disponible sur : <http://bchgene.c.b.f.unblog.fr/files/2014/08>.
52. Schwedet G. Atlas de poche des méthodes d'analyse , médecine- science/ Flammarion, Paris. 1993
53. Chimiluminescence- Lycée Champollion(Grenoble)[En ligne]. [Consulté Septembre 2011]. Disponible sur : [http:// www. lycée- Champollion . fr. pdf](http://www.lycée-Champollion.fr.pdf)
54. MAGNIEZ.F, L'électrophorèse, Publié dans le biotechnologies le Mercredi 2 juillet 2008 [consulté le 01-05-2010]. Disponible sur : <http://biotechnologie.over-blog.com/article-21737522.html>
55. Séger J, Lcotte G. La pratique de l'électrophorèse appliquée à la détection des polymorphismes humains. In : Technique de laboratoire.Paris New York Barcelone Milan Mexico Rio de Janeiro ,1981. 23-35.
56. Pasteur N. Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines Paris: Lavoisier, 1987.
57. Médaille C. Electrophorèse des protéines sériques.Prat. Med, 1997.267-268.
58. 6- électrophorèse capillaire- Pharma Etude[En ligne]. [Consulté le 12 Avril 2007]. Disponible sur : [http:// www. pharmaetude.com](http://www.pharmaetude.com)
59. Electrophorèse capillaire-Laboratoire suisse d'analyse du dopage-CHUV [En ligne]. [Consulté le 17 novembre 2009]. Disponible sur : [http:// www.doping-chuv.ch/lad-home/lad-prestation-laboratoire-appareils-ec.html](http://www.doping-chuv.ch/lad-home/lad-prestation-laboratoire-appareils-ec.html)
60. Sine JP. Licence de biochimie, parcours Biochimie-Biologie moléculaire module de biochimie analytique et biologie moléculaire pour les biotechnologies. Biochimie analytique. Travaux dirigés. France. 2007-2008.
61. Cawley LP, Minard BJ, Tourtellotte WW, et al. Techniques électrophorétiques d'immunofixation appliqués à l'identification des protéines dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien. Clin Chem. 1976.22:1262-8.
62. Professeur Seve M. Chapitre 7, Méthode d'analyse et de séparation des peptides et des protéines. Université Joseph Fourier de Grenoble. Année universitaire 2011/2012[En ligne]. Disponible sur: [http://unf3s.cerimes.fr/ seve_michel_p17](http://unf3s.cerimes.fr/seve_michel_p17)

RÉFÉRENCES

63. Chapitre 5: La purification des protéines- Biochimie des protéines BCEM514. [en ligne]. [Consulté le 6 juin 2004]. Disponible sur: <http://www.biochimiedesprotéines.espaceweb.usherbrooke.ca/5.html>

64. Boyer RF Modern experimental biochemistry, Addison-Wesley Publishing Co, Reading (Mass., USA) [discussion des méthodes de précipitation]. (1986) p. 248-50

65. Kamoun P Appareils et méthodes en biochimie, 2e édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 1986

66.1- Isolement des protéines.pdf[En ligne]. Disponible sur : <http://www.webdepot.umontreal.ca>

67. Weil JH. Biochimie générale. 7ème édition. MASSON, éditeur. Paris.1996

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE I : Questionnaire.

Faculté de médecine

Département de pharmacie

Laboratoire de biochimie

CHU de TIZI-OUZOU

Thème de mémoire : État de l'Exploration des protéines au niveau du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi-Ouzou

Encadreur : Dr Mehni

Service :

QUESTIONNAIRE

1/- Êtes-vous satisfait des résultats du laboratoire de biochimie ?

.....
.....
.....

2/- Quels paramètres demander vous le plus souvent ?

EPP.....IEPP.....Profil Protéinique Sérique.....Dosage pondéral.....

IGG-IGA-IGM.....C3-C4.....Haptoglobine.....Céruleoplasmine.....

A-1 Antitrypsine.....CRP.....Ferritine.....Transferrine.....

3/- Quels paramètres proposer vous pour améliorer votre interprétation, paramètres manquants à rajouter ? Paramètres envoyés au privé ?

.....
.....

ANNEXE II : Limites d'acceptabilité selon SFBC.

Tableau 3. Limites d'acceptabilité proposées

1	2	3	4	5			6	7			8			9			10			11			12		
Analyte	Unité	Domaine de mesure (indicatif)	Valeurs usuelles (indicatives) (adultes)	Niveaux			Inter- valle %	Répétabilité CV %			Reproductibilité CV %			Justesse %			Inexactitude %			Comparaison de techniques					
				Bas	Moyen	Élevé		Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé	Bas	Moyen	Élevé
Dosages plasmatiques																									
Acide urique	μmol/l	10-1 000	150-500	150	300	450	15	2,7	2,4	2,1	3,6	3,2	2,8	7,1	6,2	5,3	8,0	7,0	6,0	23	41	53	21	37	48
Ammonium	μmol/l	1-1 000	10-50	50	100	200	20	5,3	4,5	3,8	7,0	6,0	5,0	7,1	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	15	25	42	7	13	25
Bicarbonates	mmol/l	5-50	20-29	10	20	30	15	7,5	6,0	4,5	10,0	8,0	6,0	6,6	6	5,3	12	10,0	8,0	4,2	6,8	7,6	1,3	2,4	3,2
Bilirubine	μmol/l	5-400	5-17	15	50	150	15	5,1	4,2	3,2	6,8	5,6	4,2	13,4	10,6	11,2	15,0	12,0	12,0	4,3	11,9	26,7	4,0	10,6	33,7
Calcium ionisé	mmol/l	0,20-5,00	1,05-1,30	0,60	1,00	1,50	10	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7	2,3	2,3	2,3	0,04	0,07	0,10	0,03	0,05	0,07
Calcium total	mmol/l	0,50-5,00	2,25-2,60	1,80	2,40	3,40	4	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7	2,3	2,3	2,3	0,12	0,16	0,23	0,06	0,08	0,11
Chlorure	mmol/l	50-200	96-108	80	105	120	4	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,9	1,9	1,9	2,5	2,5	2,5	5,4	7,1	8,1	3,1	4,0	4,6
Cholestérol	mmol/l	0,5-10,0	3,2-6,5	3,0	5,0	8,0	10	3,0	3,0	3,0	4,0	4,0	4,0	5,7	5,7	5,7	7,0	7,0	7,0	0,51	0,85	1,36	0,34	0,57	0,92
Chol. HDL	mmol/l	0,2-5,0	1,0-2,0	0,8	1,4	2,2	10	4,5	4,5	4,5	6,0	6,0	6,0	8	8	8	10,0	10,0	10,0	0,20	0,35	0,56	0,13	0,22	0,35
Créatinine	μmol/l	10-1 000	90-110	50	140	590	10	4,5	3,4	1,8	6,0	4,5	2,4	8	7,8	7,6	10,0	9,0	8,0	13	27	60	8	22	90
Fer	μmol/l	0,5-100,0	9,0-30,0	5,0	20,0	40,0	15	6,0	3,8	3,0	8,0	5,0	4,0	12,7	8,7	6,9	15,0	10,0	8,0	1,7	4,2	6,8	1,3	3,5	5,5
Ferritine	μg/l	2-1 500	10-350	20	200	800	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	8,3	6	6	13,0	10,0	10,0	8,5	68,0	272,0	3,3	24,0	96,0
Folates	μg/l	0-20	2-9	1	4	15	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	11	8,9	8,9	15,0	12,0	12,0	0,42	1,35	5,00	0,30	0,70	2,70
Fructosamines	μmol/l	10-1 000	200-265	200	400	600	10	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	8,7	7,5	6,2	10,0	9,0	8,0	42	85	127	35	60	75
Glucose	mmol/l	0,5-5,0	4,0-5,8	2,0	6,0	16,0	10	2,4	1,8	1,2	3,2	2,4	1,6	5,1	4,4	3,7	6,0	5,0	4,0	0,3	0,6	1,1	0,2	0,5	1,2
Hb A1c	%	1,0-15,0	3,5-6,5	4,0	7,0	10,0	10	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	6,2	6,2	6,2	8,0	8,0	8,0	0,8	1,5	2,1	0,5	0,9	1,2
Lactate	mmol/l	0,2-15,0	0,4-2,0	1,0	3,0	8,0	20	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	8,7	8,7	8,7	10,0	10,0	10,0	0,21	0,64	1,70	0,17	0,52	1,39
Magnésium	mmol/l	0,10-4,00	0,70-1,00	0,50	0,90	1,60	10	3,0	2,4	2,4	4,0	3,2	3,2	4,5	5,1	5,1	6,0	6,0	6,0	0,08	0,12	0,22	0,04	0,09	0,16
Phosphates	mmol/l	0,20-5,00	0,60-1,50	0,50	1,50	3,00	10	3,0	2,5	1,8	4,0	3,3	2,4	3,9	4,5	5,1	5,5	5,5	5,5	0,08	0,21	0,31	0,04	0,14	0,30
Potassium	mmol/l	0,5-10,0	3,5-5,0	2,0	4,0	6,0	8	1,5	1,2	1,2	2,0	1,6	1,6	2,9	3,1	3,1	3,5	3,5	3,5	0,17	0,27	0,41	0,11	0,25	0,37
Protéines tot.	g/l	20-120	60-76	40	65	90	6	2,4	1,8	1,8	3,2	2,4	2,4	3,8	3,8	3,2	5,0	4,5	4,0	5,4	6,6	9,2	3,1	4,9	5,8
Sodium	mmol/l	50-180	135-145	120	140	160	3	1,0	0,8	0,7	1,3	1,1	0,9	1,5	1,4	1,3	2,0	1,8	1,6	6,6	6,5	6,1	3,6	4,0	4,2
Triglycérides	mmol/l	0,20-15,00	0,40-1,80	0,50	1,50	3,00	15	4,2	3,6	3,6	5,6	4,8	4,8	8,3	6,4	6,4	10,0	8,0	8,0	0,12	0,31	0,61	0,08	0,19	0,38
Urée	mmol/l	0,5-60,0	2,5-7,5	2,5	10,0	25,0	15	4,5	3,0	1,9	6,0	4,0	2,5	10,4	6,9	4,3	12,0	8,0	5,0	0,6	1,7	2,7	0,5	1,4	2,2
Dosages urinaires																									
Acide urique	mmol/l	0,1-5,0	1,5-4,5	0,5	1,5	4,0	15	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	10,4	8,7	6,9	12,0	10,0	8,0	0,1	0,3	0,7	0,1	0,3	0,6
Calcium	mmol/l	0,1-5,0	1,5-7,5	1,0	2,5	4,0	10	3,0	3,0	3,0	4,0	4,0	4,0	10	10	10	8,0	7,0	6,0	0,2	0,4	0,7	0,2	0,5	0,8
Chlorure	mmol/l	10-175	26-130	30	80	140	10	3,8	3,0	2,3	5,0	4,0	3,0	8,7	4,5	4	10,0	6,0	5,0	6	14	18	5	7	11
Créatinine	mmol/l	0,5-25	8-18	1	8	20	10	4,5	3,8	3,8	6,0	5,0	5,0	8	6,2	6,2	10,0	8,0	8,0	0	2	4	0	1	3
Glucose	mmol/l	0,5-70,0	< 0,1	1	10	30,0	10	4,5	3,8	3,8	6,0	5,0	5,0	5,3	4,9	6,2	8,0	7,0	8,0	0,3	2,1	6,4	0,1	1,0	3,7
Magnésium	mmol/l	0,5-10,0	3,0-5,0	0,5	2,0	6,0	10	4,5	4,5	4,5	6,0	6,0	6,0	8	8	8	10,0	10,0	10,0	0,1	0,5	1,5	0,1	0,3	1,0
Microalbumine (1)	mg/l	2-500	< 10	20	50	100	10	6,0	4,5	4,5	8,0	6,0	6,0	8,9	8	8	12,0	10,0	10,0	7	13	26	4	8	16
Phosphates	mmol/l	0,9-40,0	10,0-30,0	2,0	10,0	20,0	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	10,4	8	6,2	12,0	10,0	8,0	0,5	2,6	4,2	0,4	1,6	2,5
Potassium	mmol/l	2-300	25-130	20	100	200	10	3,8	3,8	3,0	5,0	5,0	4,0	4,9	4,9	4,5	7,0	7,0	6,0	4	21	34	2	10	18
Protéines	g/l	0,10-2,00	< 0,15	0,20	0,60	1,20	10	6,8	5,3	3,8	9,0	7,0	5,0	17,9	13,3	8,7	20,0	15,0	10,0	0,08	0,18	0,25	0,07	0,16	0,21
Sodium	mmol/l	5-300	20-200	20	100	200	10	3,8	3,8	3,0	5,0	5,0	4,0	4,9	4,9	4,5	7,0	7,0	6,0	4	21	34	2	10	18
Urée	mmol/l	10-600	100-500	10	150	350	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	3	38	74	2	20	44
Enzymes																									
5' nucléotidase	UI	0-50	0-5	10	20	50	15	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	3	5	11	2	3	6
α-amylase	UI	0-500	< 80	50	150	400	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	13	38	85	8	20	50
ALAT 37 °C	UI	0-800	10-65	20	50	200	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	42	3	7	25
ASAT 37 °C	UI	0-800	10-45	20	50	200	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	42	3	7	25
CK 37 °C	UI	0-500	30-160	50	100	400	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	13	26	85	8	13	50
GGT 37 °C	UI	0-800	10-65	20	50	390	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	83	3	7	49
LDH 37 °C	UI	0-1 200	210-450	150	300	900	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	38	76	191	24	40	112
Lipase (turbidimétrie)	UI	0-700	50-190	80	200	400	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	20	51	85	13	27	50
(colorimétrique)	37°	0-300	7-60																						
PAL 37 °C	UI	1-1 000	40-110	20	50	390	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	8	6,7	6,2	10,0	9,0	8,0	5	13	83	3	7	49
Immunochimie																									
α1-antitrypsine	g/l	0,5-10	1,5-4	1	2	4	10	4,5	4,5	3,8	6,0	6,0	5,0	10,4	10,4	8,7	12,0	12,0	10,0	0,25	0,51	0,85	0,21	0,42	0,69
α2-macroglobuline	g/l	0,5-10	1,5-3,5	1	2	4	10	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	5,3	6,2	6,9	8,0	8,0	8,0	0,25	0,42	0,68	0,11	0,25	0,55
Albumine	g/l	5-100	35-55	20	30	50	10	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	5,3	6,2	6,9	8,0	8,0	8,0	5,1	6,4	8,5	2,1	3,7	6,9
ApA01	g/l	0,2-3	1,1-2,2	0,5	1,5	2	10	6,0	4,5	3,8	8,0	6,0	5,0	12,7	10,4	10,9	15,0	12,0	12,0	0,2	0,4	0,4	0,1	0,3	0,4

ANNEXES

ApoB	g/l	0,40-3,00	0,50-1,50	0,50	1,50	2,50	10	6,8	5,3	4,5	9,0	7,0	6,0	12	9,7	10,4	15,0	12,0	12,0	0,19	0,45	0,64	0,12	0,29	0,52
[β2-microglobuline	mg/l	0,10-40,00	1,20-3,00	2,00	10,00	25,00	10	6,0	5,3	5,3	8,0	7,0	7,0	8,9	7,1	7,1	12,0	10,0	10,0	0,68	2,97	7,42	0,36	1,43	3,57
Céroléoplasmine	g/l	0,05-5,00	0,20-0,50	0,20	0,40	0,80	10	6,0	4,5	3,8	8,0	6,0	5,0	8,9	8	6,2	12,0	10,0	8,0	0,07	0,10	0,17	0,04	0,06	0,10
Complément C3	g/l	0,1-5	0,55-1,2	0,5	1	3	10	6,0	4,5	3,8	8,0	6,0	5,0	6	8	8,7	10,0	10,0	10,0	0,2	0,3	0,6	0,1	0,2	0,5
Complément C4	g/l	0,1-2,0	0,2-0,4	0,2	0,3	0,6	10	6,0	4,5	3,8	8,0	6,0	5,0	6	8	8,7	10,0	10,0	10,0	0,05	0,08	0,13	0,02	0,05	0,10
CRP	mg/l	3,0-300,0	< 10	15,0	50,0	100,0	10	9,0	4,5	3,8	12,0	6,0	5,0	9	8	7,5	15,0	10,0	9,0	7,60	12,70	21,20	2,70	8,00	15,00
Haptoglobine	g/l	0,1-10	0,4-2	0,5	1,5	3	10	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	10,4	8,7	6,9	12,0	10,0	8,0	0,13	0,32	0,51	0,1	0,26	0,42
IgA	g/l	0,1-20,0	0,9-4,5	1,0	2,0	4,0	10	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	8	7,5	6,9	10,0	9,0	8,0	0,3	0,4	0,7	0,2	0,3	0,6
IgE	kU/l	0,5-2 500	20-150	20	200	500	15	9,0	6,0	6,0	12,0	8,0	8,0	9	6	6	15,0	10,0	10,0	10,0	68,0	170,0	4,0	24,0	60,0
IgG	g/l	0,5-50	8-18	5	10	20	10	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	10,4	8,7	6,9	12,0	10,0	8,0	1,27	2,12	3,39	1,04	1,73	2,77
IgM	g/l	0,1-20	0,75-2,5	1,0	2,0	4,0	10	4,5	3,8	3,0	6,0	5,0	4,0	8	7,5	6,9	10,0	9,0	8,0	0,3	0,4	0,7	0,2	0,3	0,6
Orosomucoïde (2)	g/l	0,1-10,0	0,6-1,4	0,4	0,8	1,6	10	5,3	4,5	3,8	7,0	6,0	5,0	8,5	8	7,5	11,0	10,0	9,0	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,2
Préalbumine	g/l	0,1-3,0	0,1-0,4	0,2	0,3	0,6	10	6,0	4,5	3,8	8,0	6,0	5,0	8,9	8	7,5	12,0	10,0	9,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Transferrine	g/l	0,1-10,0	2,0-3,5	1,0	2,0	4,0	10	6,0	4,5	3,8	8,0	6,0	5,0	8,9	8,6	7,5	12,0	10,5	9,0	0,34	0,51	0,85	0,18	0,34	0,60
Gaz du sang et oxygénation																									
HbCO	%	0-100	< 1,5	5	10	15	5	7,5	3,8	3,8	10,0	5,0	5,0	17,3	14,1	8,7	20,0	15,0	10,0	2,12	2,12	3,18	1,73	2,83	2,6
HbO2	%	0-100	94-98	40	70	100	10	3,8	3,8	3,8	5,0	5,0	5,0	8,7	8,7	8,7	10,0	10,0	10,0	8,5	14,8	21,2	6,9	12,1	17,3
methHb	%	0-100	< 1,5	0,1	1,5	4,5	20	18,8	11,3	7,5	25,0	15,0	10,0	16,6	20	11,2	30,0	25,0	15,0	0,1	1,0	1,9	0,5	0,6	1,0
pCO2	mm Hg	10-200	35-44	20	40	100	10	4,5	3,8	3,8	6,0	5,0	5,0	8	6,2	6,2	10,0	8,0	8,0	5,1	8,5	21,2	3,2	5,0	12,5
pH	unité	6,50-8,00	7,36-7,42	7,20	7,40	7,55	5	1,5	1,5	1,5	2,0	2,0	2,0	3,5	3,5	3,5	4,0	4,0	4,0	5,35	3,38	2,39	4,37	2,76	1,95
pO2	mm Hg	0-800	43,7-38,0	63,1	39,8	28,2	10	1,5	1,5	1,5	2,0	2,0	2,0	9,8	7,7	7,7	10,0	8,0	8,0	1,7	6,8	17,0	3,9	12,4	31,0
Médicaments et toxiques																									
Acide valproïque	mg/l	10-200	50-150	30	80	130	15	7,5	4,0	5,0	10,0	8,0	8,0	11,2	8,9	8,9	15,0	12,0	12,0	12,7	27,2	44,1	6,7	14,3	23,3
Amikacine	mg/l	2-60	< 25 en résiduel	2	20	40	15	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	11,2	8,9	8,9	15,0	12,0	12,0	0,8	6,8	13,6	0,4	3,6	7,2
Carbamazépine	mg/l	2-20	4-10	3	10	15	15	7,5	5,3	5,3	10,0	7,0	7,0	11,2	9,7	13,3	15,0	12,0	15,0	1,3	3,0	4,5	0,7	1,9	4,0
Digoxine	µg/l	0,1-4	0,9-2,2	0,5	1,5	3	15	9,0	5,3	5,3	12,0	7,0	7,0	9	12,1	12,1	15,0	14,0	14,0	0,3	0,5	0,9	0,1	0,4	0,7
Gentamycine	mg/l	0,50-20,00	< 2 en résiduel	2,00	5,00	10,00	15	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	11,2	12,7	12,7	15,0	15,0	15,0	0,80	1,70	3,40	0,40	1,30	2,50
Lithium	mmol/l	0,10-4,00	0,70-1,10	0,20	0,60	1,20	10	7,5	3,8	3,8	10,0	5,0	5,0	11,2	6,2	6,2	15,0	8,0	8,0	0,08	0,13	0,25	0,04	0,07	0,15
Méthotrexate	mmol/l	0,1-4	selon indications	0,2	10	20	15	11,3	7,5	7,5	15,0	10,0	10,0	20	11,2	11,2	25,0	15,0	15,0	0,1	4,2	8,5	0,1	2,2	4,5
Paracétamol	mg/l	10,0-200,0	10,0-20,0	12,0	40,0	150,0	15	6,0	4,5	4,5	8,0	6,0	6,0	12,7	10,4	10,4	15,0	12,0	12,0	4,10	10,20	38,20	3,00	8,30	31,20
Phénobarbital	mg/l	5,0-100,0	15,0-40,0	10,0	25,0	50,0	15	7,5	5,3	5,3	10,0	7,0	7,0	11,2	13,3	13,3	15,0	15,0	15,0	4,20	7,40	14,80	2,20	6,60	13,30
Phénytoïne	mg/l	2-40	10-20	1	15	25	15	9,0	6,0	6,0	12,0	8,0	8,0	9	8,9	8,9	15,0	12,0	12,0	0,51	5,09	8,49	0,18	2,68	4,47
Salicylates	mg/l	10,0-1 000	10,0-300	40,0	150	400	15	6,0	5,3	4,5	8,0	7,0	6,0	12,7	8,5	8	15,0	11,0	10,0	13,6	44,5	101,8	10,2	25,5	64,0
Théophylline	mg/l	2-50	8-15	5	15	30	15	7,5	7,5	7,5	10,0	10,0	10,0	11,2	6,6	6,6	15,0	12,0	12,0	2,1	6,4	12,7	1,1	2,0	4,0
Vancomycine	mg/l	5-100	20-40	10	30	70	15	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	11,2	8,9	8,9	15,0	12,0	12,0	4,24	10,18	23,76	2,24	5,37	12,52
Marqueurs																									
ACE	µg/l	1-150	< 8	5	15	50	25	11,3	6,0	6,0	15,0	8,0	8,0	13,2	8,9	8,9	20,0	12,0	12,0	3,2	5,1	17	1,3	2,7	8,9
AFP	kU/l	2-800	< 10	10	50	200	15	11,3	6,0	6,0	15,0	8,0	8,0	13,2	8,9	8,9	20,0	12,0	12,0	6,4	17	67,9	2,6	8,9	35,8
CA 125	kU/l	10-500	< 35	20	40	100	20	6,8	5,3	5,3	9,0	7,0	7,0	17,9	12,1	9,7	20,0	14,0	12,0	7,6	11,9	29,7	7,1	9,7	19,5
CA 15-3	kU/l	5-200	< 30	20	40	100	15	6,8	5,3	5,3	9,0	7,0	7,0	17,9	12,1	9,7	20,0	14,0	12,0	7,6	11,9	29,7	7,1	9,7	19,5
CA 19-9	kU/l	5,00-250,0	< 40	20,0	40,0	150	25	9,0	7,5	7,5	12,0	10,0	10,0	21,9	11,2	11,2	25,0	15,0	15,0	10,2	17,0	63,6	8,80	8,90	33,50
PSA*	µg/l	0,50-100,0	< 5	0,50	5,00	50	20	15,0	5,3	5,3	20,0	7,0	7,0	22,4	13,3	13,3	30,0	15,0	15,0	0,42	1,48	14,80	0,22	1,33	13,30
Hormones																									
Cortisol	nmol/l	20-1 500	400-800	100	500	1 000	8	11,3	7,5	7,5	15,0	10,0	10,0	13,2	11,2	11,2	20,0	15,0	15,0	64	212	424	26	112	224
Estradiol	pmol/l	50-15 000	/ (3)	100	1 000	10 000	8	18,8	7,5	7,5	25,0	10,0	10,0	24,5	11,2	11,2	35,0	15,0	15,0	106	424	4243	49	224	2 236
FSH	UI/l	1-100	/	2	20	50	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	17,3	12,7	12,7	20,0	15,0	15,0	0,8	6,8	17,0	0,7	5,1	12,7
hCG (H. croissance)	mUI/l	1-100	/	5	20	50	20	7,5	4,5	4,5	10,0	6,0	6,0	11,2	10,4	10,4	15,0	12,0	12,0	2,1	5,1	12,7	1,1	4,2	10,4
Insuline	mUI/l	2,00-1 000	/	2,00	100	900	20	11,3	7,5	7,5	15,0	10,0	10,0	26	11,2	11,2	30,0	15,0	15,0	1,30	42	382	1,00	22	201
Insuline	mUI/l	2,00-200,00	< 25	10,00	50	100	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	17,3	12,7	12,7	20,0	15,0	15,0	4,20	17,00	33,90	3,50	12,70	25,40
LH	UI/l	1-150	/	5	20	50	20	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	17,3	12,7	12,7	20,0	15,0	15,0	2,1	6,8	17,0	1,7	5,1	12,7
Parathormone	ng/l	10,0-1 500,0	10,0-65,0	15,0	70,0	250,0	20	11,3	6,0	6,0	15,0	8,0	8,0	20	12,7	12,7	25,0	15,0	15,0	9,50	23,80	84,90	6,00	17,80	63,40
Peptide C	nmol/l	0,1-5,0	/	0,5	1,5	3,0	20	11,3	6,0	6,0	15,0	8,0	8,0	20	12,7	12,7	25,0	15,0	15,0	0,32	0,51	1,02	0,20	0,38	0,76
Progesterone	nmol/l	1-150	/	3	20	70	20	18,8	7,5	7,5	25,0	10,0	10,0	24,5	11,2	11,2	35,0	15,0	15,0	3,2	8	30	1,5	4	16
Prolactine	mUI/l	50,0-10 000	< 700	150	600	1 500	30	11,3	7,5	7,5	15,0	10,0	10,0	20	11,2	11,2	25,0	15,0	15,0	95,0	255,0	636,0	60,0	134,0	335,0
T3 libre	pmol/l	1-40	3,5-7	3	7	15	15	8,3	6,0	6,0	11,0	8,0	8,0	16,7	12,7	12,7	20,0	15,0	15,0	1,4	2,4	5,1	1,0	1,8	3,8
T4 libre	pmol/l	2-100	10-25	10	17	25	15	7,5	6,0	6,0	10,0	8,0	8,0	17,3	12,7	12,7	20,0	15,0	15,0	4,20	5,80	8,50	3,50	4,30	6,30
Testostérone	nmol/l	0,5-50	/	2	15	30	20	18,8	7,5	7,5	25,0	10,0	10,0	16,6	11,2	11,2	30,0	15,0	15,0	2,1	6,4	12,7	0,7	3,4	6,7
TSH																									

Résumé

L'étude des protéines plasmatiques est une démarche diagnostique importante dans l'orientation clinique du patient.

Des essais de comparaison ont été menés au niveau du laboratoire de biochimie CHU de Tizi-Ouzou dans l'objectif de démontrer les qualités analytiques, la corrélation et la concordance entre les appareils disponibles au laboratoire pour le dosage protéique lui permettant de répondre de façon optimum à la demande des médecins et des biologistes. Parmi ces études, nous avons réalisé une étude comparative de deux systèmes d'électrophorèse capillaire (Capillarys Sebia et Helena V8).

La comparaison des échantillons de sérum de routine entre Capillarys Sebia et Helena V8 ont démontré une bonne concordance entre les deux automates.

L'étude de comparaison des résultats de dosage des protéines plasmatiques a montré pour les paramètres : taux de protéides et albumine des résultats transférables entre les automates.

Notre étude a montré également la satisfaction des cliniciens sollicités et leur confiance vis à vis du laboratoire vu l'orientation des résultats obtenus vers un diagnostic de certitude.

On conclue qu'une perspective d'amélioration permanente de la qualité des résultats d'analyses est nécessaire au niveau du laboratoire de biochimie.

Mots clés : Protéines plasmatiques, essais de comparaison, échantillons de sérum, électrophorèse capillaire, taux de protéides, albumine.

Abstract

The study of plasma proteins is an important diagnostic procedure in the clinical orientation of the patient.

Comparative trials were carried out at the biochemistry laboratory UHC of Tizi-Ouzou to demonstrate the analytical qualities, the correlation and the agreement between the laboratory equipment available for the protein assay, enabling it to respond optimally to the requests of doctors and biologists. Among these studies, we carried out a comparative study of two capillary electrophoresis systems (Capillarys Sebia and Helena V8).

The comparison of routine serum samples between Capillarys Sebia and Helena V8 demonstrated a good concordance between the two automats.

The study comparing the results of plasma protein assay showed for the parameters: protein content and albumin transferable results between automats.

Our study also showed the satisfaction of clinicians solicited and their confidence in the laboratory given the orientation of the results obtained towards a diagnosis of certainty.

We concluded that there is a need for a permanent improvement in the quality of the analytical results at the level of the biochemistry laboratory.

Key words: Plasma proteins, comparison tests, samples of serum, capillary electrophoresis, protein content, albumin.