

EXPLORATION DES PROTEINES PLASMATIQUES

1. Caractéristiques et rôles des principales protéines plasmatiques	2
1.1. Électrophorèse des protéines et famille de protéines.....	2
1.2. Compositions qualitative et quantitative	2
1.3. Classification en fonction des rôles	3
1.3.1. La sérumalbumine	3
1.3.2. Les protéines de transport ; exemple la transferrine (TRF) (β 1-globuline).....	4
1.3.3. Les protéines de l'inflammation	4
1.3.4. Anti-protéases	6
1.3.5. Marqueurs tumoraux	6
1.3.6. Immunoglobulines.....	7
Conclusion	7
2. Analyses au laboratoire de biologie médicale	8
2.1. Dosage des protéines	8
2.1.1. Dosages colorimétriques	8
2.1.2. Immunodosages de protéines individuelles	8
2.2. Électrophorèses des protéines sur gel d'agarose	10
2.2.1. Des protéines sériques	10
2.2.2. Des protéines urinaires	10
2.2.3. Électrophorèse capillaire	10
3. Principales dysprotéïnémies plasmatiques	11
3.1. Hypoprotéïnémies.....	11
3.1.1. Hypoprotéïnémies relatives.....	11
3.1.2. Hypoprotéïnémies absolues.....	11
3.1.3. Hypogammaglobulinémies	11
3.2. Hyperprotéïnémies	12
3.2.1. Hyperglobulinémies polyclonales et diffuses	12
4. Cas des protéinuries	15

Les protéines plasmatiques (300) sont principalement synthétisées par le foie sauf les immunoglobulines qui sont synthétisées par les **plasmocytes**. Elles assurent des fonctions spécifiques. Une fois dans le sang, les protéines y restent car l'endothélium vasculaire est **imperméable** aux protéines (exception des immunoglobulines autres que les IgM).

La protéinémie plasmatique comprise entre 62 et 80 g·L⁻¹ est supérieure à la protéinémie sérique car elle diffère de la concentration en **fibrinogène** (environ 3 g·L⁻¹).

plasma = sérum + protéines de la coagulation (fibrinogène)

Elles interviennent dans différentes fonctions : **homéostasie** corporelle (pression oncotique, pH, balance ionique), **transport** de molécules (hormones, lipides, métaux, médicaments), fonctions anti-protéasiques, fonctions hémostatiques, fonctions immunitaires,...

1. Caractéristiques et rôles des principales protéines plasmatiques

1.1. Électrophorèse des protéines et famille de protéines

L'électrophorèse est une technique de séparation et d'analyse basée sur la migration différentielle de molécules **chargées** soumises à l'action d'un **champ** électrique. La distance de migration dépend de la **charge** électrique et de la **taille** des molécules. L'électrophorèse des protéines permet de séparer et d'identifier les protéines présentes dans le sérum préférentiellement.

Elle est réalisée sur gel **d'agarose à 0,8 %** en tampon Tris-barbital pH 8,5. Les 6 fractions protéiques détectables sont :

albumine, α 1-globulines, α 2-globulines, β 1-globulines, β 2-globulines, γ -globulines

Les protéines plasmatiques sont des **hétéroprotéines** de type **glycoprotéines** sauf l'albumine qui est une **holoprotéine**.

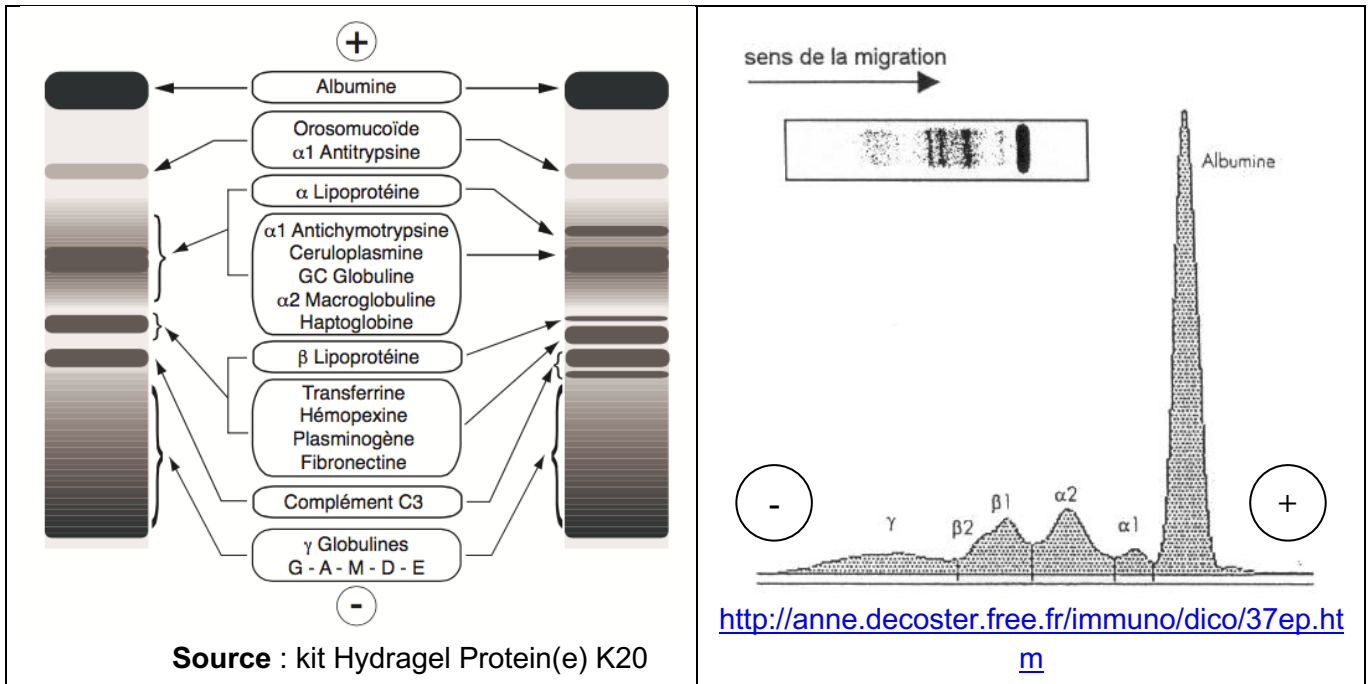


Figure 1 : Profil électrophorétique des protéines sériques

1.2. Compositions qualitative et quantitative

Protéines sériques	Proportion (en %)	Concentration sérique (en g·L ⁻¹)
Albumine	53,5 – 66,5	35 – 50
α 1-globulines	1,4 – 4,0	1 – 3
α 2-globulines	8,0 – 15,7	4 – 9
β -globulines	6,5 – 15	5 – 10
γ -globulines	7,9 – 18,9	7 – 15
Rapport Albumine/Globulines (A/G)	1,2 à 1,8	

Tableau 1 : valeurs relatives et absolues des concentrations sériques en protéines

<http://www.cours-pharmacie.com/images/Valeurs-biologiques.pdf>

Voir planche sur les protéines plasmatiques
 (classification en fonction des groupes de protéines observés sur l'électrophorogramme)

1.3. Classification en fonction des rôles

1.3.1. La sérumalbumine

a. Structure

L'albumine représente **60 %** des protéines plasmatiques ($35 \text{ à } 50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Masse moléculaire : 69 kDa

b. Fonctions

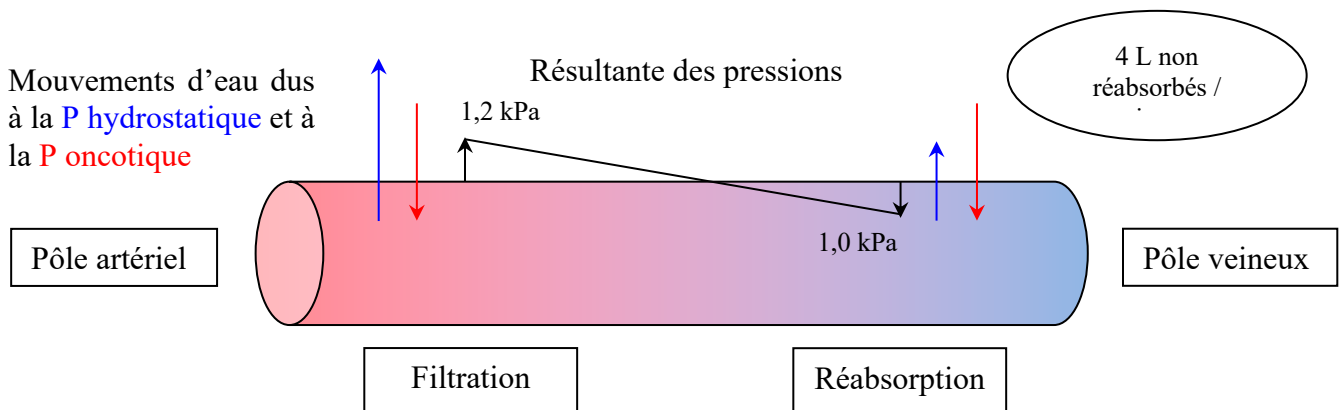
Sa structure permet le **transport** de nombreuses molécules le plus souvent liposolubles (hormones thyroïdiennes, hormones liposolubles, acides gras libres, bilirubine libre, médicaments et drogues, ...).

L'albumine constitue une **réserve d'acides aminés** pour l'organisme.

Elle intervient aussi dans le maintien du **pH** sanguin (pouvoir **tampon**).

L'albumine contribue majoritairement à la pression osmotique due aux protéines du plasma appelée **pression oncotique**. Elle est essentielle pour le maintien de la pression oncotique indispensable à la bonne répartition des liquides entre les vaisseaux sanguins et les tissus ou le milieu interstitiel.

	Pôle artériel	Lymphes interstitielle	Pôle veineux
P hydrostatique (en kPa)	4,3	0	2,1
P oncotique (en kPa)	3,5	0,4	3,5



La filtration se produit au niveau du pôle artériel donc l'eau quitte les capillaires.

La réabsorption d'une partie de l'eau qui a filtré a lieu au niveau du pôle veineux.

Chaque jour dans l'organisme, environ 20 litres d'eau plasmatique filtrent au niveau du pôle artériel des capillaires et alors que 16 litres sont réabsorbés au niveau du pôle veineux.

Cette différence de 4 litres est à l'origine de la **lymphes interstitielle**.

Figure 2 : pressions et mouvements d'eau

c. Variations pathologiques

Dysalbuminémie – hyperalbuminémie - hypoalbuminémie

Les **dysalbuminémies** correspondent à une anomalie qualitative ou quantitative de l'albumine dans le sérum. On rencontre essentiellement des hypoalbuminémies.

L'**hyperalbuminémie** est un signe d'**hémococoncentration**, c'est-à-dire de **déshydratation**.

Les **hypoalbuminémies** peuvent correspondre :

- soit à un déficit de **synthèse** hépatique,
- soit à une augmentation des **pertes** en albumine,
- soit à une **dénutrition**.

Albuminurie

L'albumine est une protéine de 69 kDa qui n'est **pas filtrée** par le glomérule rénal.

Dans les conditions physiologiques, il n'y a pas d'albumine dans les urines.

L'**albuminurie** (présence d'albumine dans les urines) est généralement un signe pathologique observé lors d'un **syndrome néphrotique** (pathologie où la fonction de filtration du rein est altérée). Cela entraîne une hypoalbuminémie consécutive.

1.3.2. Les protéines de transport ; exemple la transferrine (TRF) (β 1-globuline)

La transferrine est une **sidérophiline**, c'est-à-dire une protéine qui transporte le **fer III** (Fe^{3+}) plasmatique.

Le fer récupéré lors de la dégradation de l'**hémoglobine** est recyclé. Ce fer est transporté vers la moelle osseuse (80 %) où il est utilisé pour la synthèse d'hémoglobine au cours de l'**érythropoïèse**. Les 20 % restant sont stockés dans le **foie** associés à la **ferritine**. La ferritine est essentiellement une protéine intracellulaire qui constitue une forme de réserve du fer dans certains organes comme le foie, la rate, le cœur... et qui se retrouve dans le plasma au niveau du pic des α 2-globulines. Sa concentration diminue lors des carences **martiales**¹ et augmente en cas de surcharge (hémochromatose²). Doser la ferritine permet d'évaluer les réserves en fer.

La transferrine est synthétisée par le foie de manière régulée en fonction du niveau des réserves en fer de l'organisme. Si les réserves en fer sont **élevées**, la synthèse **diminue** et inversement.

Lors d'anémies **ferriprives**, la carence en fer entraîne une augmentation de la synthèse hépatique de la transferrine : hypertransferrinémie.

Lors d'hémochromatose, la surcharge en fer entraîne une **inhibition** de la synthèse de la transferrine : hypotransferrinémie.

Lors d'un syndrome néphrotique, la transferrinémie diminue et la transferrinurie augmente (deuxième protéine à filtrer après l'albumine, masse moléculaire 76 kDa).

1.3.3. Les protéines de l'inflammation

a. L'haptoglobuline (α 2-globuline)

L'haptoglobuline est une protéine capable de se combiner à l'hémoglobine extra-globulaire.

L'hémoglobine est contenue dans les hématies. En cas de destruction physiologique ou non, le complexe hémoglobine-haptoglobuline est éliminé du plasma par le système réticulo-endothélial³, principalement au niveau de la rate.

Ainsi le taux d'haptoglobuline plasmatique libre **diminue** fortement en cas d'hémolyse sanguine anormale et l'effondrement de son taux est un critère pour affirmer l'origine hémolytique d'une anémie.

L'haptoglobuline est aussi une protéine de la réaction inflammatoire dite lente (apparition au bout de 2 ou 3 jours).

¹ Martial : adjectif relatif au fer

² Hémochromatose : maladie héréditaire due à l'absorption intestinale excessive de fer avec pour conséquence le dépôt de fer au niveau du foie, du cœur et de la peau.

³ **SRE** : ensemble de cellules disséminées dans l'organisme : foie (cellules de Kupffer, macrophages hépatiques), lymphes, moelle osseuse, rate

b. La protéine C-réactive (CRP) (non visible sur l'électrophorogramme)

La protéine C-réactive (CRP) est une petite protéine de 12 kDa.

Elle active la voie **classique**⁴ du complément, l'**opsonisation** (facilitation de la phagocytose) et la modulation de la prolifération lymphocytaire.

Son nom vient de sa capacité à précipiter en présence du polysaccharide C du pneumocoque.

La protéine C-réactive a deux utilités diagnostiques :

- marqueur précoce de l'**inflammation** : sa concentration augmente très rapidement ($> \times 100$), en 2 à 3 heures, contre 1 à 2 jours pour l'orosomucoïde, 2 à 3 jours pour l'haptoglobine.
- marqueur précoce d'une **infection bactérienne** : sa concentration augmente lors d'une infection bactérienne, mais pas lors d'une infection virale.

La CRP a une demi-vie **courte**. Sa concentration diminue rapidement et peut disparaître dans les 6 heures qui suivent l'éradication de la source de l'inflammation ou de l'infection. Ainsi, dans le cas d'une infection bactérienne, si le traitement est adapté, on doit visualiser assez rapidement une **diminution** de la quantité de CRP plasmatique.

Elle est dosée lors du suivi de patients atteints de maladie inflammatoire (polyarthrite, maladie de Crohn⁵).

c. La procalcitonine (PCT)

La procalcitonine est un polypeptide composé de 116 acides aminés (12,6 kDa). La procalcitonine est le précurseur de la calcitonine. La PCT est stockée, après sa synthèse, dans des granules de sécrétion dans tous les types cellulaires de l'organisme. Seules les cellules C de la **thyroïde** peuvent cliver ce précurseur en calcitonine.

La PCT est l'un des meilleurs marqueurs de l'infection **bactérienne** systémique (septis) ; son élévation est plus **spécifique** et plus **précoce** que celle de la CRP.

Valeurs normales $< 0,5 \mu\text{g/L}$

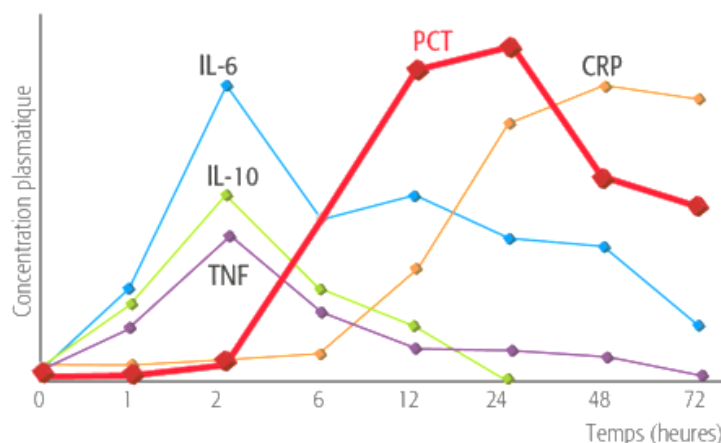


Figure 3 : Profils cinétiques de différents biomarqueurs d'infection bactérienne

Source : <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/vidas-brahms-pct>

⁴ La **voie classique** est activée par la fixation de la protéine C1q soit directement sur l'agent infectieux, soit sur la protéine CRP, ou soit sur une paire d'anticorps déjà fixés à la surface de l'antigène.

⁵ Maladie de Crohn : maladie inflammatoire chronique du système digestif, qui évolue par poussées (ou crises) et phases de rémission (crises de douleurs abdominales et de diarrhée) Fatigue, perte de poids et même dénutrition.

1.3.4. Anti-protéases

a. α 1-antitrypsine (α 1-globuline)

L' α 1-antitrypsine est un puissant inhibiteur de toutes les protéases plasmatiques qui sont libérées dans le plasma lors d'un état inflammatoire. Elle n'inhibe pas que la trypsine malgré son nom.

Elle représente environ 90 % des α 1-globulines. En cas d'absence d' α 1-antitrypsine, il n'y a pas de pic d' α 1-globuline.

b. α 2-macroglobuline (α 2-globuline)

L' α 2-macroglobuline est une glycoprotéine de 725 kDa produite par le foie. Elle inhibe les protéases en particulier celles impliquées dans la cascade de **coagulation** (inhibiteur de la thrombine, régulation de la coagulation par activation de la fibrinolyse).

Intérêt du dosage :

- diminution du taux d' α 2-macroglobuline : insuffisance hépatique, dénutrition, pertes digestives et rénales
- augmentation du taux d' α 2-macroglobuline : syndrome néphrotique, syndrome inflammatoire, cirrhose du foie (Fibrotest^{®6})

1.3.5. Marqueurs tumoraux

Les marqueurs biologiques des cancers sont des molécules produites par les cellules cancéreuses.

Les types de molécules recherchées sont très variés :

- production de protéines dites « **transformantes** » qui sont des protéines anormales produites par des gènes mutés : oncogènes. Ces protéines sont souvent des protéines kinases ou des facteurs de croissance.
- production **hormonale** anormale.
- production de protéines normalement **absentes** par réactivation de gène.

Exemple : présence chez un adulte d'une protéine fœtale comme l' α -fœtoprotéine.

a. Antigène carcino-embryonnaire

L'antigène carcino-embryonnaire (ACE) est une protéine produite par le fœtus et qui, en temps normal, ne peut plus être détectée dans le sang après la naissance. Chez l'adulte, l'ACE peut être retrouvé à la surface des cellules de l'intestin grêle, du côlon, du rectum, du pancréas, du poumon et du rein.

L'antigène peut être produit en plus grande quantité par certaines cellules **cancéreuses** ou **inflammatoires** et être détecté dans la circulation sanguine de l'adulte à cette occasion. Ce sont les cancers **colorectaux** qui produisent le plus d'ACE. Mais d'autres cancers peuvent être en cause : cancer de l'ovaire, du pancréas et parfois du poumon. Enfin, certaines maladies chroniques inflammatoires des intestins (maladie de Crohn, rectocolite ulcéro-hémorragique) peuvent aussi être à l'origine d'une majoration du taux d'ACE.

L'ACE est le plus ancien des marqueurs tumoraux connus.

⁶ Fibrotest[®] : correspond à un index de fibrose qui combine le dosage dans le sang de 5 marqueurs indirects de fibrose (alpha-2-macroglobuline, haptoglobine, apolipoprotéine-A1, bilirubine totale, g-glutamyl-transpeptidase), avec un ajustement selon l'âge et le sexe de la personne. <http://hepatoweb.com/fibrotest.php>

b. Alpha-fœto-protéine AFP (α 1-globuline)

L'alpha-fœto-protéine (AFP) est une glycoprotéine de 70 000 Da et de structure proche de l'albumine. Elle est synthétisée dans les cellules non différenciées du foie, dans le sac amniotique ainsi que dans le tractus gastro-intestinal du fœtus.

Intérêt du dosage :

- diagnostic et suivi des **tumeurs testiculaires**
- évaluation du risque de **trisomie 21**⁷ en association avec d'autres paramètres (hCG et œstradiol).

c. Antigène spécifique de la prostate (PSA)

Le PSA est une protéase trypsine-like. Il circule dans le sang sous deux formes, libre et combinée avec l' α 1-anti-trypsine ou à l' α 2-macroglobuline. Dans ce cas, il n'est pas accessible aux dosages immunologiques. On peut doser le PSA libre et le PSA total.

Intérêt du dosage : diagnostic, pronostic et suivi thérapeutique du cancer de la prostate chez les hommes de plus de 50 ans. Mais l'augmentation du PSA n'est pas spécifique, il augmente avec l'âge et en cas d'infection de la prostate.

d. Hormone chorionique gonadotrope

L'hCG est une glycoprotéine synthétisée par le **placenta**.

Elle est constituée de 2 sous-unités : une sous-unité β qui est spécifique et la sous-unité α qui est commune à d'autres hormones (FSH, LH, TSH).

Les dosages sont immunologiques et les anticorps sont dirigés spécifiquement contre la sous-unité β . On dose la β -hCG.

Intérêt du dosage : diagnostic d'une **grossesse** normale ou ectopique, d'un risque de fausse couche ou du suivi d'un avortement prématuré ; dosage de la chaîne bêta utile dans le diagnostic des maladies trophoblastiques, les **tumeurs** germinales des ovaires ou des testicules et les tumeurs d'origine placentaire.

1.3.6. Immunoglobulines

Lors de l'électrophorèse des protéines sériques, le pic des immunoglobulines est le plus **diffus** car les immunoglobulines sont un mélange complexe de différentes protéines.

Les **IgA** ont le pHi le plus bas et migrent au niveau des β 2-globulines.

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines constituées de deux chaînes lourdes (gamma, mu, alpha, delta, epsilon) et de deux chaînes légères (kappa et lambda)

CONCLUSION

Les protéines sériques (autres que les enzymes) sont de bon marqueurs :

- de **l'inflammation**,
- d'un défaut de fonctionnement **hépatique**,
- d'un problème **rénal**,
- voire de **tumeurs**.

La notion de marqueur est importante :

- Molécules **spécifiques** d'un tissu ou d'une pathologie
- Ayant un intérêt dans le diagnostic ou le suivi d'une pathologie :
 - Marqueurs **précoces** essentiels dans les cas d'urgence.
 - Indicateur **rétrospectif** si marqueur avec une demi-vie longue (persistance plasmatique)
 - Suivi de **guérison** si marqueur avec une demi-vie courte (retour à des valeurs normales)

⁷ Trisomie 21 : trois exemplaires de chromosomes sur la paire 21 (autres noms : syndrome de Down ou mongolisme)

2. Analyses au laboratoire de biologie médicale

2.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines se fait :

- soit dans son **ensemble** (protéinémie totale, protéinurie : voir TP5),
- soit sur des protéines **individuelles** telle que l'albumine, CRP, PCT...

Les méthodes de dosage individuel des protéines sont basées sur des méthodes immunologiques : immuno-néphélométrie, immuno-turbidimétrie ou immuno-précipitation.

Les méthodes colorimétriques sont plus rares car elles sont moins spécifiques et moins sensibles. Elles sont réservées au dosage des protéines totales.

La protéinémie plasmatique (**62-80 g·L⁻¹**) est supérieure à la protéinémie sérique car elle diffère de la concentration en fibrinogène (environ 3 g·L⁻¹).

2.1.1. Dosages colorimétriques

a. Méthode de Folin-Lowry

La méthode de Folin-Lowry est une méthode de dosage colorimétrique des protéines, complémentaire de celle de Biuret. En effet, la protéine réagit, tout d'abord, avec un réactif cuivrique alcalin (réactif de Gornall de la méthode de Biuret) puis un second réactif, dit phosphotungstomolybdique (réactif de Folin-Ciocalteu). Ce réactif permet la réduction des acides aminés aromatiques conduisant à la formation d'un complexe coloré bleu foncé qui absorbe à 700 nm.

b. Méthode de Bradford

En milieu acide, les protéines forment, avec le bleu de Coomassie G250, un complexe coloré qui absorbe à 595 nm. Le complexe est stable 30 minutes.

L'albumine se colore plus intensément que les autres protéines.

c. Méthode au rouge de pyrogallol

Cette méthode est utilisée pour le dosage des protéines dans les urines et le LCR (liquide céphalo-rachidien).

Le rouge de pyrogallol combiné au molybdate de sodium forme 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. L'intensité de coloration bleue mesurée à 600 nm est proportionnelle à la concentration en protéines dans l'échantillon.

2.1.2. Immunodosages de protéines individuelles

L'intérêt du dosage immunologique est multiple :

- **spécificité** des anticorps monoclonaux ou polyclonaux.

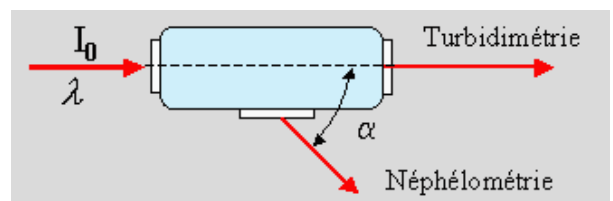
Les anticorps polyclonaux permettent de doser toutes les formes d'une même famille de protéines, qui possèdent des épitopes communs.

- **rapides** et sont entièrement **automatisables**.

Les trois techniques les plus utilisées par les automates sont l'immunofluorescence et la photométrie des milieux troubles avec l'immunonéphélométrie et l'immunoturbidimétrie.

L'**immunonéphélométrie** mesure la lumière incidente **déviée** selon un certain angle. L'intensité est proportionnelle à la quantité de trouble formé par la réaction immune.

L'**immunoturbidimétrie** mesure la lumière incidente directement **transmise** à travers le trouble, après élimination de la lumière déviée.



VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT™ est un test automatisé sur les instruments de la famille VIDAS® permettant un dosage de procalcitonine humaine dans le sérum ou le plasma humain (héparinate de lithium) par technique ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay).

Associé à d'autres tests de laboratoire et au contexte clinique, VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT™ est une aide à l'évaluation du risque de progression en sepsis sévère et choc septique lors du premier jour d'admission des patients hospitalisés en réanimation.

Associé à d'autres tests de laboratoire et au contexte clinique, VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT™ est aussi une aide à la décision en matière d'antibiothérapie chez les patients atteints d'infections des voies respiratoires basses (incluant la pneumonie communautaire acquise, l'exacerbation de la broncho-pneumopathie chronique obstructive, la bronchite aiguë), lors d'une consultation médicale y compris aux urgences.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La procalcitonine (PCT) est la pro-hormone de la calcitonine. Alors que la calcitonine n'est produite que par les cellules C de la glande thyroïde en réponse à un stimulus hormonal, la PCT est sécrétée par différents types cellulaires de nombreux organes en réponse à une stimulation pro-inflammatoire et en particulier à une stimulation d'origine bactérienne (1).

En fonction du contexte clinique, une concentration de PCT supérieure à 0,1 ng/mL peut signifier la présence d'une infection bactérienne cliniquement avérée, nécessitant un traitement antibiotique (2). Avec une concentration de PCT supérieure à 0,5 ng/mL, un patient doit être considéré comme présentant un risque de développer un sepsis sévère ou un choc septique (3, 4).

Le sepsis est une réaction excessive du système immunitaire et du système de la coagulation de l'organisme à une infection (5). Le diagnostic et le suivi des patients infectés sont des problématiques majeures pour les médecins. Il a été montré que la PCT est augmentée de façon précoce et spécifique chez les patients avec une infection bactérienne. Ainsi, la PCT est un marqueur important permettant la différenciation spécifique lors du diagnostic au laboratoire entre une infection bactérienne et d'autres causes de réactions inflammatoires (2). Par ailleurs, la résorption de l'infection septique s'accompagne d'une décroissance de la concentration en PCT qui retrouve ses valeurs normales avec une demi-vie de 24 heures (6, 7).

Plusieurs essais cliniques randomisés ont montré que l'utilisation de la procalcitonine pour guider la mise en place et la durée du traitement antibiotique chez des patients ayant une infection respiratoire basse permettait de réduire significativement la consommation d'antibiotique, et ce pour différents types d'infections (8, 9). Ces essais randomisés ont été menés dans différents contextes cliniques : médecine de ville (10), services d'urgence (11) ou réanimation (12). En médecine de ville et dans les services d'urgences, un seuil clinique de 0,25 ng/mL a été utilisé pour décider d'initier ou non un traitement antibiotique ou pour arrêter ce traitement (13, 9, 14).

Dans ces situations, la diminution de la consommation d'antibiotique s'est faite sans dommage pour le patient, car aucune hausse de mortalité ou échec de traitement n'a été associé à l'utilisation de l'algorithme utilisant la PCT pour guider le traitement (9).

Cette diminution de l'utilisation des antibiotiques a été confirmée dans une étude observationnelle chez des patients souffrant d'infections respiratoires basses, recrutés sans critère d'exclusion, admis aux urgences ou en consultation chez des médecins généralistes (14).

Dans certaines situations (nouveau-nés, polytraumatisés, brûlés, chirurgie majeure, choc cardiogénique sévère ou prolongé, etc...) l'élévation de la PCT peut être indépendante de toute agression infectieuse. Le retour à des valeurs normales est habituellement rapide. Les infections virales, les allergies, les maladies auto-immunes et les rejets de greffe n'induisent pas d'élévation significative de la PCT (15).

Une infection bactérienne localisée peut induire une élévation modérée de la PCT (2, 16).

L'évaluation des résultats du dosage de VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT™ doit toujours être réalisée en conjonction du contexte clinique et des résultats d'autres examens.

En cas de discordance entre les résultats de laboratoire et la clinique, des examens complémentaires devront être effectués.

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en une étape à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône (SPR) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. L'échantillon est prélevé puis transféré dans le puits contenant l'anticorps anti-procalcitonine marqué à la phosphatase alcaline (conjugué). Le mélange échantillon/conjugué est aspiré puis refoulé plusieurs fois par le cône (SPR). Cette opération permet à l'antigène de se lier d'une part aux immunoglobulines fixées sur le cône (SPR) et d'autre part, au conjugué formant ainsi un sandwich. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Deux étapes de révélation sont ensuite effectuées successivement. A chaque étape, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône (SPR) ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliférol) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à deux courbes de calibration mémorisées correspondant aux deux étapes de révélation. Un signal seuil gère le choix de la courbe de calibration à utiliser pour chaque échantillon. Puis les résultats sont imprimés.

2.2. Électrophorèses des protéines sur gel d'agarose

2.2.1. Des protéines sériques

Il s'agit d'une électrophorèse sur gel d'agarose à **0,8 %** ($8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) (voir paragraphe 1.1.)

2.2.2. Des protéines urinaires

Le kit Sebia Hydragel Protéinurie K20 permet le typage des protéines urinaires sans concentration préalable des urines.

Il s'agit d'une électrophorèse sur gel d'agarose concentré à **5 %** ($50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) en présence de dodécyl sulfate de sodium (SDS) à pH neutre. La coloration est réalisée par du violet acide.

On distingue les protéines tubulaires ($MM < 70 \text{ kDa}$) des protéines glomérulaires ($MM > 70 \text{ kDa}$). L'**albumine** marque la zone **frontière**.

La présence de protéines d'une masse moléculaire supérieure à 70 kDa signe une protéinurie glomérulaire qui oriente vers le **syndrome néphrotique**.

La présence de protéines d'une masse moléculaire inférieure à 70 kDa signe une protéinurie **tubulaire**.

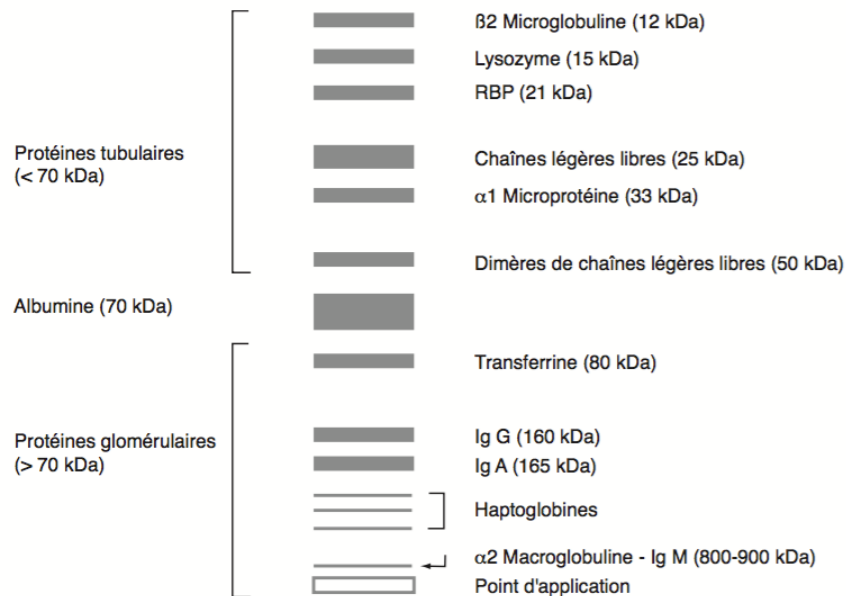


Figure 4 : profil électrophorétique des protéines urinaires (Sebia Hydragel Protéinurie K20)

2.2.3. Électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire est une méthode de séparation des espèces ioniques en fonction de leur rapport charge/taille à l'intérieur d'un fin capillaire rempli d'électrolyte sous l'action d'un champ électrique.

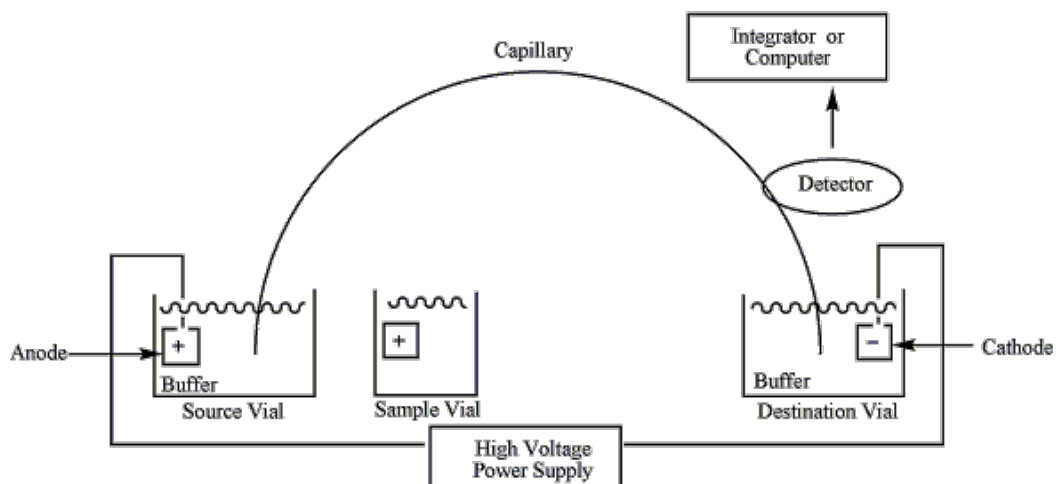


Figure 5 : principe de l'électrophorèse capillaire

Source : <https://www.youtube.com/watch?v=8Mxh2FO2HQ8>

3. Principales dysprotéinémies plasmatiques

3.1. Hypoprotéinémies

3.1.1. Hypoprotéinémies relatives

Les hypoprotéinémies **relatives** sont dues à un effet de **dilution**, la quantité de protéines n'a pas changé. Les autres sont dites « absolues » car la quantité totale de protéines a réellement diminué.

L'hématocrite ($Ht = \frac{\text{volume globulaire}}{\text{volume sanguin}}$) est un indicateur important de la volémie.

Une augmentation de la volémie (effet de dilution) entraîne une diminution de l'hématocrite.

3.1.2. Hypoprotéinémies absolues

a. Hypoprotéinémies de synthèse

Ce sont les hypoprotéinémies (hypoalbuminémies) qui résultent d'un **défait** de synthèse hépatique. Il y a deux origines possibles : **dénutrition** (déficit de protéines alimentaires) ou **insuffisance hépatique**.

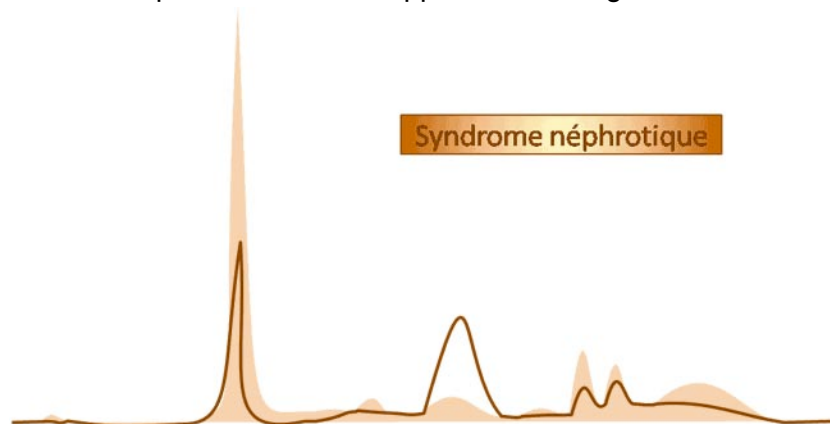
Dans tous les cas, le foie ne peut plus assurer la synthèse des protéines. Il y a une **chute** de la pression oncotique ce qui conduit à la formation d'un **œdème** local puis généralisé.

Il y a une chute de toutes les protéines et une **augmentation** en proportion du pic des gammaglobulines.

b. Hypoprotéinémies de perte

- par perte **digestive** (cas d'entéropathie exudative)
- par perte **urinaire** (cas du syndrome néphrotique)
- par perte **cutanée** (cas de brûlures étendues)

Le profil protéique est évocateur. Il y a une chute de toutes les protéines, le pic en α_2 -globulines qui est augmenté (α_2 -macroglobuline) et qui peut devenir aussi important que celui de l'albumine qui a diminué. Le rapport albumine/globulines diminue.



http://www.memobio.fr/html/immu/im_el_sne.html

Fraction	Valeur relative (en %)	Valeurs de référence (en %)	Valeur absolue (en g·L ⁻¹)	Valeurs de référence (en g·L ⁻¹)
Albumine	26,1	53,5 – 66,5	7,6	35 – 50
α_1 -globulines	8,2	1,4 – 4,0	2,4	1 – 3
α_2 -globulines	48,6	8,0 – 15,7	14,1	4 – 9
β -globulines	11,7	6,5 – 15	3,4	5 – 10
γ -globulines	5,3	7,9 – 18,9	1,5	7 – 15

Figure 6 : profil électrophorétique et profil protéique d'orientation dans le cas d'un syndrome néphrotique

3.1.3. Hypogammaglobulinémies

Elles peuvent aussi être dues à des pertes rénales ou digestives. Mais elles résultent souvent d'un traitement **immunosuppresseur**.

3.2. Hyperprotéinémies

Les hyperprotéinémies **relatives** sont celles dues aux **déshydratations**, la quantité de protéines reste inchangée. Les autres sont dites **absolues** car la quantité de protéines a réellement **changée**.

L'hyperalbuminémie est une hyperprotéinémie **relative** (signe d'hémoconcentration, c'est-à-dire de déshydratation).

Les hyperprotéinémies **absolues** sont toujours des **globulinémies** et plus particulièrement des **gammaglobulinémies**.

3.2.1. Hyperglobulinémies polyclonales et diffuses

Elles ont très fréquentes lors d'infections diverses. On observe l'augmentation d'un ou plusieurs pics, mais diffus. L'augmentation du pic n'est pas proportionnelle à l'intensité de l'infection.

- Augmentation des α_2 globulines et/ou γ -globulines : inflammation, infections aiguës et chroniques,
- Augmentation des IgA et des IgM qui dépassent celles des IgG (bloc $\beta\gamma$) : cirrhoses⁸.

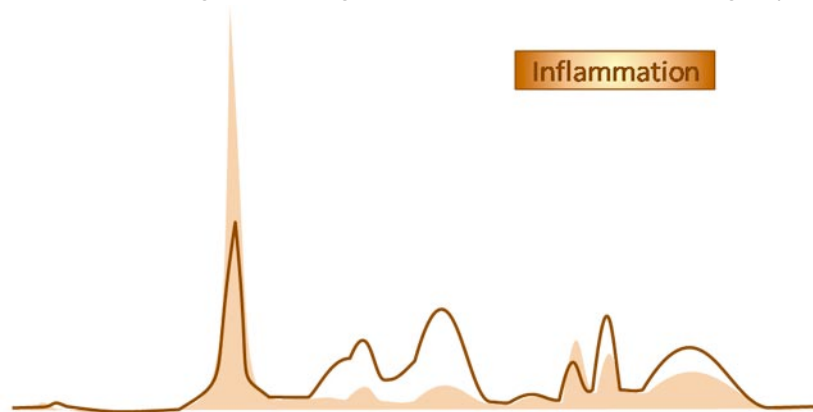
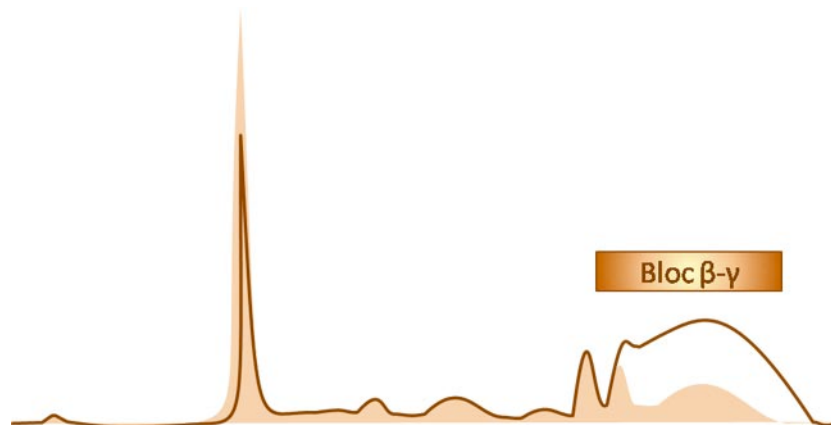


Figure 7 : profil électrophorétique dans le cas d'un syndrome inflammatoire



http://www.memobio.fr/html/immu/im_el_cde.html

Fraction	Valeur relative (en %)	Valeurs de référence (en %)	Valeur absolue (en g·L ⁻¹)	Valeurs de référence (en g·L ⁻¹)
Albumine	51,2	53,5 – 66,5	33,8	35 – 50
□1-globulines	3,2	1,4 – 4,0	2,1	1 – 3
□2-globulines	5,8	8,0 – 15,7	3,83	4 – 9
□□-globulines	39,8	14,4 – 33,9	26,3	12 – 25

Figure 8 : diagnostic d'une cirrhose décompensée

⁸ Cirrhose : maladie chronique du foie au cours de laquelle le foie se couvre de tissus fibreux ce qui provoque la décomposition progressive du tissu hépatique qui se remplit de tissu gras. La cirrhose est le plus souvent la conséquence d'un alcoolisme de longue date mais elle peut aussi être provoquée par la malnutrition, l'hépatite ou d'autres infections.

3.2.1. Dysglobulinémies monoclonales ou gammopathies

Il existe un seul pic fin au niveau des gammaglobulines. Ce pic est dû à la production d'une seule immunoglobuline qui est produite par un seul **clone** de **plasmocytes**.

Lors de la mise en évidence d'un pic monoclonal à l'électrophorèse des protéines sériques, on réalise un typage de l'immunoglobuline monoclonale (principalement par immunofixation).

a. Électrophorèse des protéines

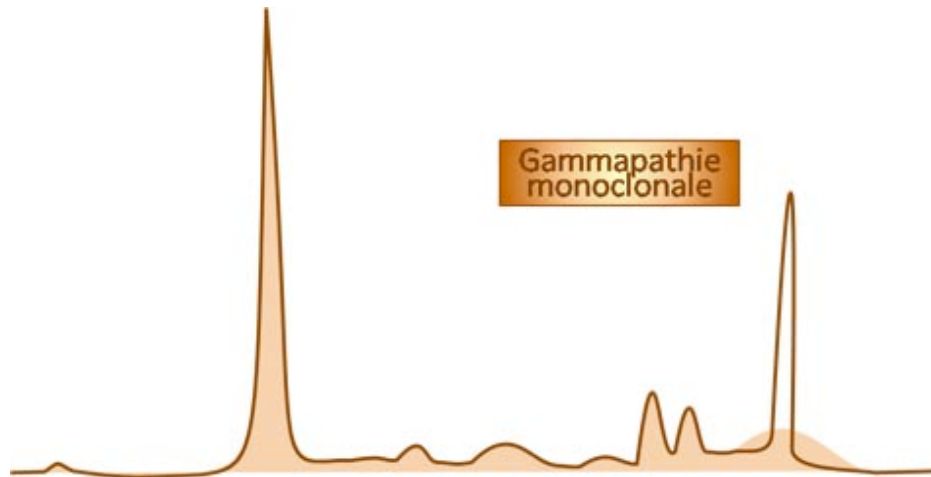


Figure 9 : détection d'une gammopathie monoclonale

b. Immunotypage de la gammopathie

- Immunofixation

On incube avec des anti-sérums (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti- κ , anti- λ) : il y a précipitation des complexes Ag-Ac. On révèle les complexes par un colorant.

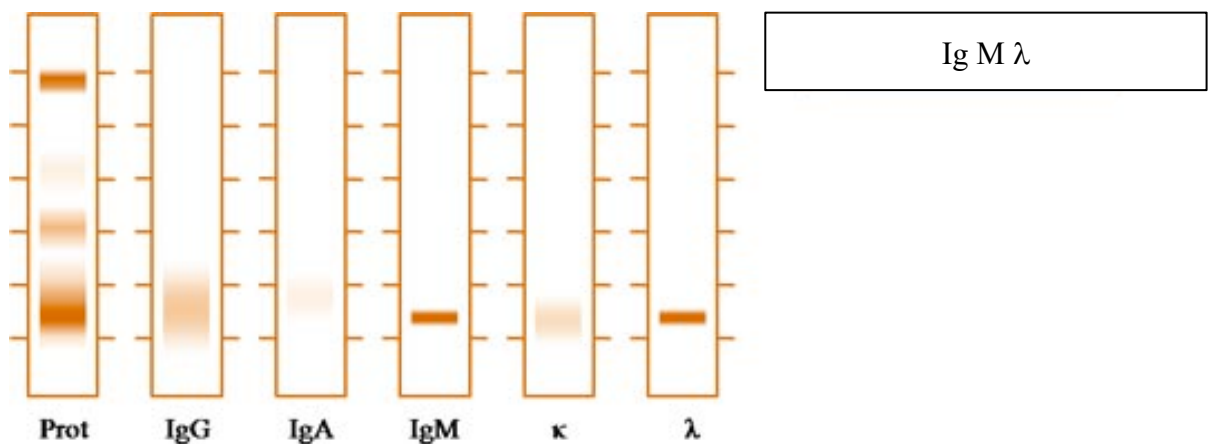


Figure 10 : profil électrophorétique après immunofixation

http://www.memobio.fr/html/immu/im_el_gmo.html

- Immunosoustraction

L'immunosoustraction est une 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 surnageant. On visualise alors une disparition de la fraction correspondant à l'anti-sérum utilisé.

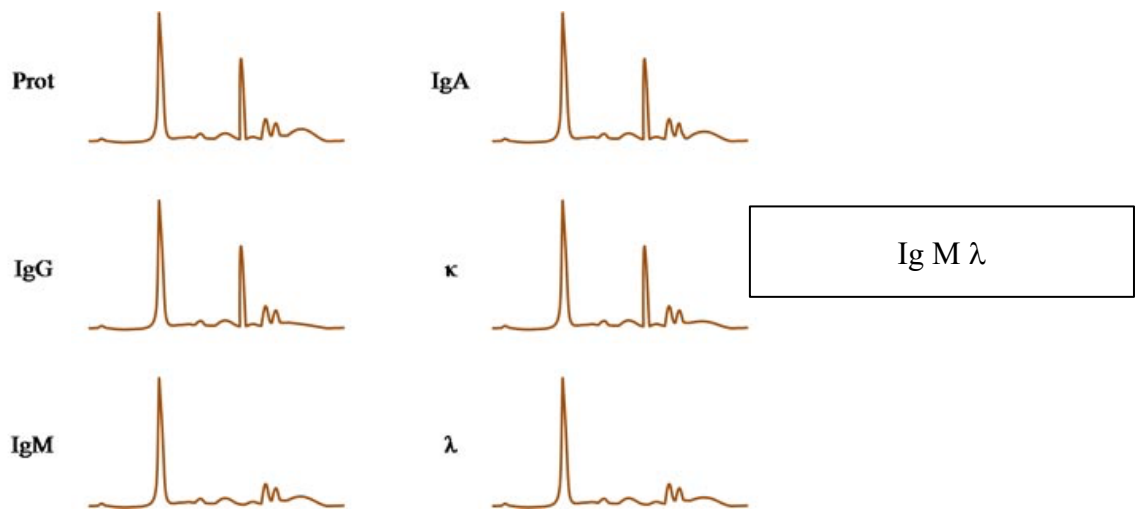


Figure 11 : profil électrophorétique après immunosoustraction

La maladie de **Kahler** est un **myélome** multiple⁹ des os (myélome plasmocytaire¹⁰).

Le caractère symptomatique du myélome repose donc sur la présence de ces signes et de la présence d'au moins un des 4 critères dits CRAB que tout médecin devrait avoir en tête :

- C (*hyperCalcémie*),
- R (*insuffisance Rénale*),
- A (*Anémie*),
- B (*Bone, douleurs osseuses*).

- Symptômes : douleurs osseuses et altération de l'état de santé général.
 - Radiographie osseuse : déminéralisation diffuse
 - Signes biologiques :
 - augmentation : VS, calcémie et hyperprotéinémie (100 à 120 g·L⁻¹).
 - électrophorèse : un pic dans les gammaglobulines

On réalise une immunofixation pour déterminer le type d'immunoglobuline surproduite.

La quantité de **chaînes légères libres** (CLL) κ ou λ produites est en excès par rapport aux chaînes lourdes. La fraction excédentaire passe dans les urines et est responsable d'une **protéinurie**. On parle de protéinurie de **surcharge** car elle est due à une **hyperprotéinémie**. Elle est d'origine **pré-rénale**. Ce n'est pas un dysfonctionnement du rein. Ce sont les protéinuries dites de **Bence-Jones**.

⁹ Myélome multiple : maladie de la moelle osseuse caractérisée par la multiplication dans la moelle osseuse d'un plasmocyte anormal

¹⁰ Plasmocyte : lymphocyte B activé sécréteur d'anticorps

4. Cas des protéinuries

La protéinurie correspond à la concentration des protéines dans l'urine.

Les protéines présentes dans l'urine proviennent du plasma.

La protéinurèse correspond à la quantité de protéines retrouvée dans l'urine sur une période de 24 heures. C'est le paramètre le plus juste, mais ce n'est pas le plus accessible car pour le déterminer, il faut recueillir les urines produites sur 24 heures, déterminer la protéinurie et le volume d'urine émis en 24 h (= diurèse).

$$\text{Protéinurèse} = \text{protéinurie} \times \text{diurèse}$$
$$[\text{g}/24 \text{ h}] = [\text{g} \cdot \text{L}^{-1}] \times [\text{L}/24 \text{ h}]$$

La protéinurèse physiologique est faible. Elle est inférieure à 150 mg/24 h. Si on considère que l'on produit 1,5 L d'urine par 24 heures, cela correspond à une protéinurie d'environ 100 mg·L⁻¹.

Cette protéinurie est indétectable par les bandelettes réactives.

Par abus de langage, on parle de protéinurie au lieu de protéinurèse.

Les protéinuries peuvent être :

- pré-rénales : dues à une surcharge protéique (hyperprotéïnémie) : cas de la maladie de Kahler avec chaînes légères libres augmentées et se retrouvant dans les urines (protéines de Bence-Jones).
- rénales :
 - d'origine **glomérulaire** : passage de l'albumine (69 kDa), de la transferrine (76 kDa) et des IgG (150 kDa). On parle de **syndrome néphrotique**. Le rein est tellement atteint qu'il laisse passer même les immunoglobulines dans les urines.
 - d'origine **tubulaire** : cas des protéines de masse moléculaire inférieure à celle de l'albumine. Filtration mais présence par défaut de réabsorption tubulaire.

Sitographie :

<http://www.med.univ-rennes1.fr/resped/s/semio/protplasma/semioplasmatiques.htm>

http://www.memoireonline.com/07/09/2355/m_Fractionnement-des-proteines-seriques-par-electrophorese-sur-gel-polyacrylamide3.html

http://www.lbmroanne.com/docs/Divers/PROTEINES_PLASMATIQUES_2006-2007.pdf

http://www.memobio.fr/html/immu/im_elec.html

<http://www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/polyarthrite-rhumatoide>

http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/CHAINES_LEGERES_LIBRES.pdf

<http://www.centre-hepato-biliaire.org/soin-traitement/examens/fibrotest-actitest.html>

<http://campus.cerimes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato19/site/html/5.html>

<http://www.hematologie.net/hematolo/UserFiles/File/MyelomeMultiple.pdf>

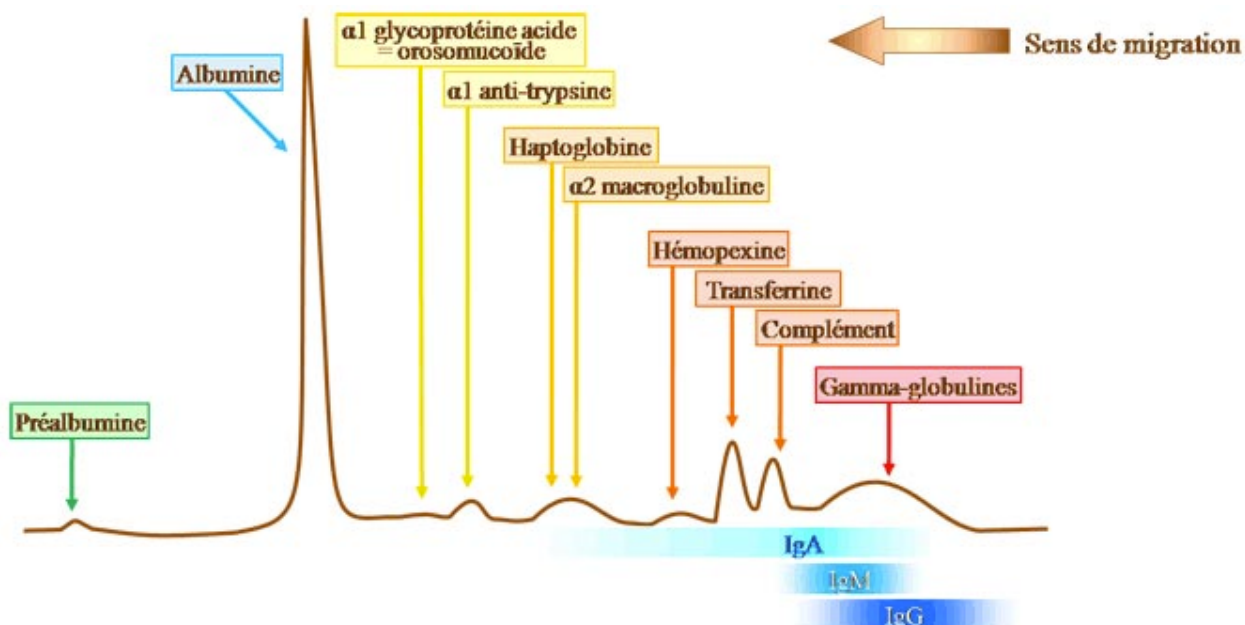
<http://www.labtestsonline.fr/tests/hCG.html?mode=print>

http://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_351987/ceruloplasmine-sang

http://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_351689/alpha-foetoproteine

<https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/hemochromatose-FRfrPub92.pdf>

PLANCHE SUR LE COURS « LES PROTÉINES PLASMATIQUES »



http://www.memobio.fr/html/immu/im_el_no.html

Groupes	Protéine(s)	Fonction
Pré-albumine	Rétinol Binding Protéine	Transport de la vitamine A
	Transthyrétine	Ligand des hormones thyroïdiennes
Albumine	Albumine	Protéine plasmatique principale ; réduction de l'accumulation en eau dans les tissus, transport de nombreuses substances (médicaments acides)
Alpha ₁ -globulines	Orosomucoïde	Modification de la réponse immunitaire, ligand de médicaments comme les médicaments basiques tels que la lidocaïne
	Alpha ₁ -anti-trypsin	Inactivation de la trypsin et d'autres enzymes protéolytiques, réduction des dommages liés à l'inflammation
	Lipoprotéine de Haute Densité (HDL)	Transport du cholestérol des tissus vers le foie (fonction protectrice)
Alpha ₂ -globulines	Haptoglobine	Protéine de liaison de l'hémoglobine
	Alpha ₂ -macroglobuline	Liaison de nombreuses enzymes, prévention des dommages tissulaires
	Céruleplasmine	Protéine de liaison du cuivre, impliquée dans le métabolisme normal du fer
Béta-globulines	Hémopexine	Transport des molécules d'hèmes au foie
	Transferrine	Transport du fer et délivrance aux cellules
	Lipoprotéine de basse densité (LDL)	Transport du cholestérol vers les tissus
	Complément	Aide à la régulation de la réponse immunitaire en présence de substances étrangères
	IgA	Immunoglobuline des sécrétions
	Fibrinogène	Facteur de la coagulation (trouvé seulement dans le plasma, pas dans le sérum)
Gamma-globulines	IgM	Immunoglobuline de la réponse primaire ou initiale
	IgG	Immunoglobuline principale ; immunité à long terme

