

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de Biochimie et Biologie

قسم: الكيمياء الحيوية والبيولوجيا

Cellulaire et Moléculaire

الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention de Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

***Evaluation des troussees analytiques de l'hCG et de la
bêta hCG***

Le : 30/06/2016

Présenté et soutenu par :

✓ BELOUAAR Imene

✓ DJEGHRI Maissa

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BENLATRECHE M. (M.A-UFM Constantine).

Rapporteur : Mme BENMBAREK K. (M.A - UFM Constantine).

Mme KHALI. (M.A – UFM Constantine).

Examineurs : KLIBET F. (M.C – UFM Constantine).

Année universitaire

2015 – 2016

REMERCIEMENTS

Avant toute, nous tenons à remercier dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nos vifs remerciements s'adressent :

Aux honorables membres de jury

- *A notre encadreur Madame KAHALI Linda, maître assistante à la faculté des sciences de la nature et de la vie, université frères MENTOURI de Constantine, pour son soutien et sa contribution à la réalisation de ce travail et pour ses précieux conseils*
- *A madame BENMBAREK K. maître de conférences à la faculté des sciences à l'hôpital universitaire de Constantine pour nous avoir aidé à ce travail*
- *A nos professeurs sans exception qui n'ont ménagé aucun effort pour nous avoir d'acquérir toutes ces connaissances durant toute notre formation*
- *Sans oublier la grande famille de biologie : enseignants, étudiants, administrateurs et techniciens.*
- *A toutes les membres du laboratoire de biochimie et service d'hormonologie de CHU Constantine.*

Merci infiniment à tous

DEDICACE

Je dédie mon travail..

Au gens les plus précieux de ma vie à leur tête ma très chère mère qui a tous donnés et beaucoup sacrifier pour moi, c'est mon modèle, ma source d'inspiration

Que dieu la garde et lui accorde vie, santé et plein de bonheur.

A ma famille que j'adore et qui m'ont tous encouragé.

Merci pour votre soutien, amour et dévouement

Merci... Mounib, Nedjma, Abdennour et Ayoub les petits bout de choux

Qui m'encouragé avec un simple sourire.

Sans oublier mes précieux amis

Et mes très chères collègues de travail

Sabrina et Khaoula

Un grand merci à tous ce qui a participé à ce travail de près ou de loin

Emie..

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère qui n'a pas cessée de m'encourager et de prier pour moi. Que dieu tout-puissant la garde.

A mon défunt père.

A mes chers frères et sœurs.

Merci pour tout... Pour votre amour, la confiance et l'énergie que vous m'aviez donnée. Merci beaucoup pour votre aide précieuse, gentillesse, bonne humeur.

J'espère que tout simplement... vous êtes fiers de moi.

A mes professeurs sans exception qui n'ont ménagé aucun effort pour m'avoir permis d'acquérir toutes ces connaissances durant toute ma formation, et dont les conseils précieux m'ont guidée.

A tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens...

Maissa

Liste des figures

Figure 1 : Structure tridimensionnelle des chaînes α hCG et β hCG.	5
Figure 2 : Structure tridimensionnel de l'hormone chorionique gonadotrope humaine.	6
Figure 3 : Schéma montrant la séquence extension de la fraction β hCG.	7
Figure 4 : Schéma simplifié de l'homologie entre les sous unités β .	8
Figure 5 : Schéma des sous unités α et β des hormones gonadique.	9
Figure 6 : Sécrétion d'hCG selon SA durant une grossesse normale.	11
Figure 7 : Axe de régulation de l'hCG.	13
Figure 8 : Présentation schématique présente le rôle de l'hCG sur le corps jaune.	15
Figure 9 : Variation physiologique d'hCG chez la population de femmes enceinte.	25
Figure 10 : Variation physiologique de β hCG chez la population de femmes enceintes.	27
Figure 11 : Corrélation entre l'hCG et la β hCG chez la population de femmes enceintes.	27
Figure 12 : Répartition des cas pathologiques et cas normaux dans la population des hommes.	28
Figure 13 : répartition des cas pathologiques et cas normaux dans la population des hommes.	30

Liste des tableaux

Tableau 1 : Concentrations sériques de l'hCG au cours d'une grossesse normale.	12
Tableau 2 : Valeurs de références de l'hCG et β hCG.	12
Tableau 3 : différentes substances décelables de la trisomie 21 dans le sang maternel.	20
Tableau 4 : Indications de dosage de l'HGC et ses formes moléculaire.	22
Tableau 5 : Médiane et écart type d'hCG et de β hCG selon l'âge gestationnel.	26
Tableau 6 : caractéristiques immunoanalytiques de l'hCG et la β hCG sur IMMULITE 2000.	31
Tableau 7 : caractéristiques immunoanalytiques de la β hCG sur IMMULITE 2000 et KRYPTOR.	33

Abréviations

AA: Acide Aminé.

AFP: Alpha Foetaux Protéine.

α hCG: Alpha Humain Chorionique Gonadotropine.

β core : Bêta core.

β hCG: Bêta Humaine Chorionique Gonadotropine .

CTP: Carboxyle Terminaux Portion.

DDR: Date Dernière Règle.

FSH: Follicle Stimulating Hormone.

GEU: Grossesse Extra Uterine.

GnRH: Gonadotropine Releasing Hormone.

hCG: Human Chorionic Gonadotrpine.

hCG β cf: Human Chorionic Gonadotrpine Bêta Core Fragment.

LH: Luteizing Hormone .

NK : Natural Killer.

PAPPA: Pregnancy-associated plasma protein A.

SA: Semaine d' Aménorrhée.

TSH : Thyroïde Stimulating Hormone.

TTE: Tumeurs Trophoblastique Epithélioïdes.

TTG: Tumeurs Trophoblastique Gestationnel.

TTSI: Tumeurs Trophoblastique et Site d'Implantation.

T21: Trisomie 21.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction	1
Revue bibliographique	
1. Généralités sur les hormones	3
2. Hormone chorionique gonadotrope humaine	4
2.1. Structure de L'hCG	4
2.2. Formes circulantes d'hCG	8
2.3. Relation entre les sous unité alpha et bêta des hormones gonadiques	8
2.4. Sécrétion de l'hCG	9
2.4.1. Régulation de la sécrétion	12
2.5. Métabolisme et demi-vie de l'hCG	13
2.6. Rôle physiologique de l'hCG	13
2.6.1. Maturation folliculaire	13
2.6.2. Effet sur le corps jaune	13
2.6.3. Différenciation sexuelle	14
2.6.4. Effet sur l'immunité	14
2.7. Dosage de l'hCG	15
2.8. Intérêts cliniques du dosage de l'hCG	16
2.8.1. Diagnostic et suivi de la grossesse	16
2.8.2. Dépistage de la trisomie 21 au cours de la grossesse	18
2.8.3. Marqueurs de tumeurs	19
Patients et méthodes	
1. Echantillonnage	23
1.1. Les individus	23
1.2. Echantillon sanguin	23
1.2.1. Séparation du plasma	23

1.3. Condition de conservation	24
2. Dosage effectué	24
2.1. Le principe de dosage	24
3. Analyse statistique des résultats	25
Résultats	
1. Population des femmes enceintes	26
1.1 Variation physiologique de l'hCG et de la β hCG chez la population de femmes	26
1.2. Étude de la corrélation	28
1.3. Détermination du rapport β hCG/hCG	29
2. Population des hommes	29
2.1. Variations physiologiques de la β hCG chez la population des hommes	29
3. Caractéristiques immunoanalytiques des deux trousse	30
4. Caractéristiques immunoanalytiques de la β hCG par rapport à un autre automate le KRYPTOR	32
Discussion	34
Conclusion	38
Résumé en Français	39
Résumé en Anglais	40
Résumé en Arabe	41
Références bibliographique	42

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

L'hormone chorionique gonadotrope (hCG), première hormone produite en quantité notable par le conceptus humain est sécrétée après la fécondation, c'est à dire au moment où a lieu l'implantation du blastocyste [1]. Elle sécrétée par les cellules trophoblastiques (le chorion) du placenta au cours de la grossesse [2,3]

L'hCG est l'une des hormones glycoprotéiques connues la plus complexe de point de vue structure chimique. Sa structure est dimérique (forme active), composée de deux sous-unités : la chaîne alpha (α) et la chaîne bêta (β). La sous-unité bêta confère à cette molécule une spécificité biologique et immunologique [4], elle est couramment dosée.

L'hCG a pour rôle physiologique essentiel le maintien de la gestation. Durant la grossesse, les concentrations sanguines de l'hCG augmentent pendant le premier trimestre de la gravidité pour atteindre des valeurs maximales, décroître et ensuite se maintenir à des faibles niveaux jusqu'à l'accouchement [1].

De ce fait, l'augmentation rapide des taux sériques d'hCG après la conception constitue un excellent marqueur permettant un diagnostic précoce et le suivi de la grossesse. L'hCG est produite tant lors de grossesse normale que pathologique pour la mère et/ou le fœtus. [5].

Des concentrations faibles ou déclinantes rapidement de façon inhabituelle, peuvent indiquer un contexte anormal tel que la grossesse extra utérine ou l'avortement spontané.

Lorsque toute forme de grossesse (normale ou anormale) est écartée, le dosage d'hCG circulante est généralement indiqué pour la recherche d'une pathologie, notamment la présence d'une tumeur.

Le dosage de l'hCG et de sa fraction libre la bêta hCG est utile dans le diagnostic des maladies trophoblastiques, les tumeurs germinales des ovaires ou des

Introduction

testicules. La bêta hCG libre figure parmi les marqueurs sériques maternels pour le dépistage de la trisomie 21 [6].

Les méthodes de dosage actuelles de l'hCG ne sont plus biologiques, mais uniquement immunologiques. Les techniques quantitatives sont essentiellement réalisées dans le sang [7]. Les concentrations peuvent varier selon les trouses.

La littérature rapporte différentes trouses dosant ces paramètres, disponibles sur des automates d'immunoanalyse froide, utilisant anticorps spécifiques, chimiluminescence ou fluorescence, les caractéristiques immunoanalytiques diffèrent d'une trousse à une autre, notamment en termes de spécificité et de sensibilité.

L'interprétation clinique selon l'intervalle de référence proposé par les fournisseurs de kits réactifs prêts à l'emploi peut parfois être problématique dans certaines situations, notamment en ce qui concerne les limites inférieures de l'intervalle normal ou encore de celles relatives aux seuils thérapeutiques décisionnels.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de définir les intérêts et les limites de dosage de l'hCG et la bêta hCG libre sur IMMULITE 2000 Siemens à travers un échantillon de la population de l'est algérien à la lumière des données de littérature et des recommandations de prescription et d'interprétation en vue de contribuer à une meilleure utilisation de ces marqueurs.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

Revue bibliographique

1. Généralités sur les hormones

Une hormone est une molécule qui permet de transmettre des messages chimiques dans l'organisme et capable d'agir à très faible dose. Elle est sécrétée par une glande du système endocrinien à la suite d'une stimulation et est libérée dans l'organisme, essentiellement par la circulation sanguine. D'une manière générale, les hormones ont une action spécifique sur un ou plusieurs organes cibles dont elles modifient le fonctionnement, soit en stimulant une de ses fonctions, soit au contraire en l'inhibant [8].

Il existe trois grands groupes d'hormones selon leur structure générale, mais aussi des caractéristiques communes, telles que leur lieu de production :

- Les hormones peptidiques (hydrophiles) ;
 - Les hormones stéroïdes (lipophiles) ;
 - Et les hormones dérivées d'acides aminés (hydrophiles à l'exception de la thyroxine) [9].
- Les hormones peptidiques : (par exemple : l'insuline et le glucagon). Elles sont nombreuses, elles sont le plus souvent synthétisées dans le corps sous une forme rallongée, et devront être coupées pour être actives. Elles agissent sur des récepteurs fabriqués par leurs cellules-cibles. A cause de leur hydrophilie, les hormones peptidiques nagent librement dans le plasma sanguin pour atteindre leurs cibles [10].
- Les hormones dérivées d'acide aminé : ce groupe d'hormones est formé de dérivés d'acides aminés (souvent la tyrosine). Il s'agit des hormones thyroïdiennes (lipophiles), d'adrénaline (hydrophile), la noradrénaline, la dopamine et d'autres

Revue bibliographique

- Les hormones stéroïdiennes : ce groupe concerne les hormones dérivées du cholestérol. Elles possèdent toutes comme le cholestérol lui-même, un noyau stérane. Les substances lipophiles ne peuvent se solubiliser dans le plasma sanguin, c'est pourquoi des protéines spéciales (elles même hydrophiles) assurent le transport de ces hormones.

Elles sont produites par des structures bien définies : les reins (plus exactement le cortex surrénal comme par exemple les corticoïdes).

Les ovaires, qui sont des glandes faisant partie du système de reproduction fabriquent des œstrogènes et des structures qui se développent à la grossesse : le corps jaune et le placenta [11]. Le placenta produit au cours de la grossesse des estrogènes, des progestérones et l'hormone chorionique gonadotrope humaine.

2. Hormone chorionique gonadotrope humaine

L'hormone chorionique gonadotrope est couramment appelée HCG ou hCG de l'anglais **H**uman **C**horionic **G**onadotropin. Elle fait partie de la famille des glycoprotéines hormonales [7].

2.1. Structure de L'hCG

L'hCG une hormone complexe, hautement glycosylée. C'est une glycoprotéine d'un poids moléculaire d'environ 37,9 kDa. Elle est composée de 237 acides aminés où l'holohormone est un hétéro dimère (Fig. 1) formé de deux chaînes : une chaîne alpha (α) et une chaîne bêta (β), associées par une liaison non covalente [12].

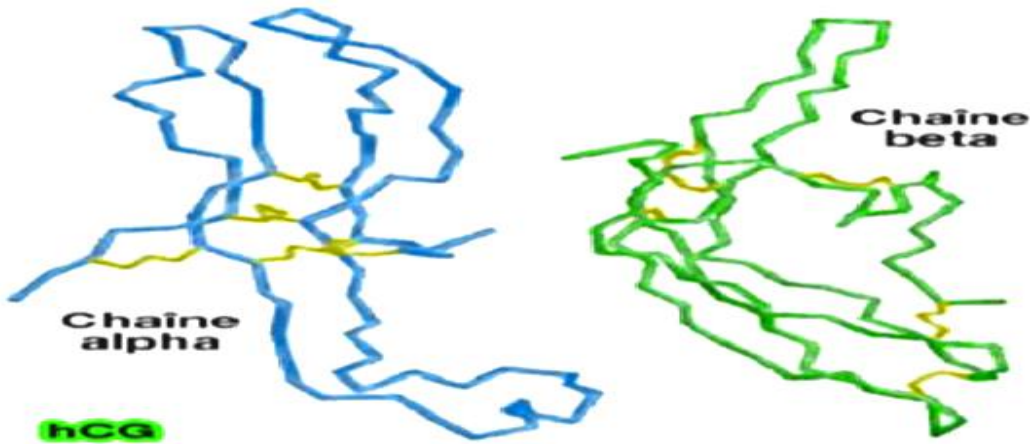


Figure 1 : Structure tridimensionnelle des chaînes α hCG et β hCG [13].

- **Sous unité α hCG**

La sous unité α hCG est codé par un seul gène situé sur le chromosome 6. Elle est composée de 92 acides aminés et 5 ponts disulfures, sa masse moléculaire est de l'ordre de 14500 Da.

Elle contient deux chaînes N-glycanique sur les résidus asparagine. Sa séquence, à l'exception de quelques différences ; est très proche de la séquence en acides aminés des sous unités alpha des autres gonadotrophines hypophysaires ou placentaires qui incluent la LH (Luteizing Hormone), la FSH (Follicle-Stimulating Hormone) et la TSH Thyroid Stimulating Hormone [14,15].

- **Sous unité β hCG**

La Sous unité bêta hCG est codé par sept séquences génomiques homologues (gènes et pseudo gènes) situées sur le chromosome 19 [16]. Elle est composée de 145 acides aminés et 6 ponts disulfures (112 à 115 Aa pour la sous unité β -LH). Sa masse moléculaire est d'environ 23200 Da.

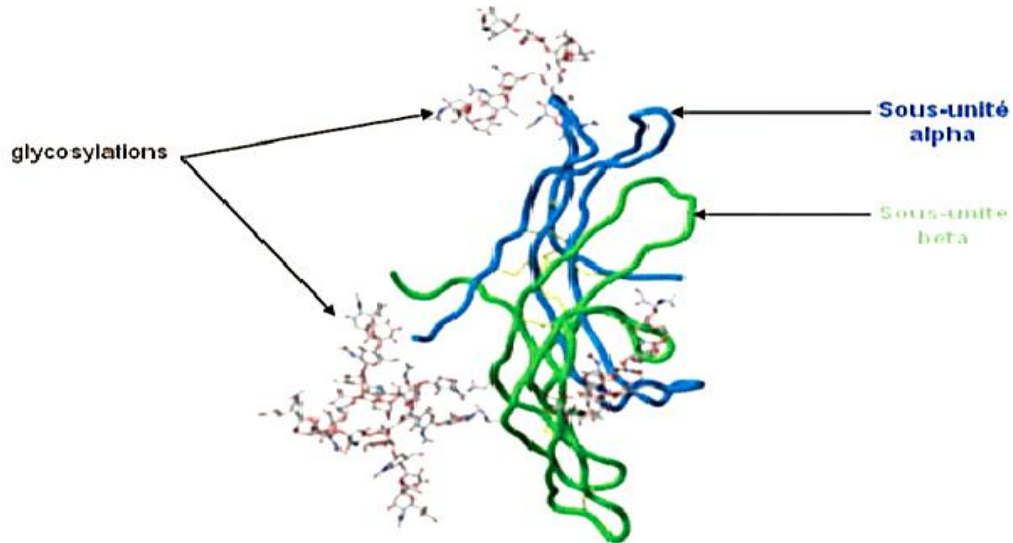


Figure 2 : Structure tridimensionnelle de l'hormone chorionique gonadotrope humaine [15].

Elle présente deux chaînes N-glycaniques en N-terminal, sur les asparagines et quatre chaînes d'O-glycosylation, sur des sérines du côté C-terminal (Fig. 2).

Une séquence extension de 24 résidus spécifiques des molécules (Fig. 3) est appelée carboxyle-terminaux portion (CTP) elle permet l'utilisation d'anticorps très spécifique. Elle est considérée comme marqueur de l'activité trophoblastique et est utilisée comme un marqueur tumoral [17,18].

C'est ainsi, que la sous-unité bêta procure à l'hCG sa spécificité biologique et immunologique [4].

Revue bibliographique

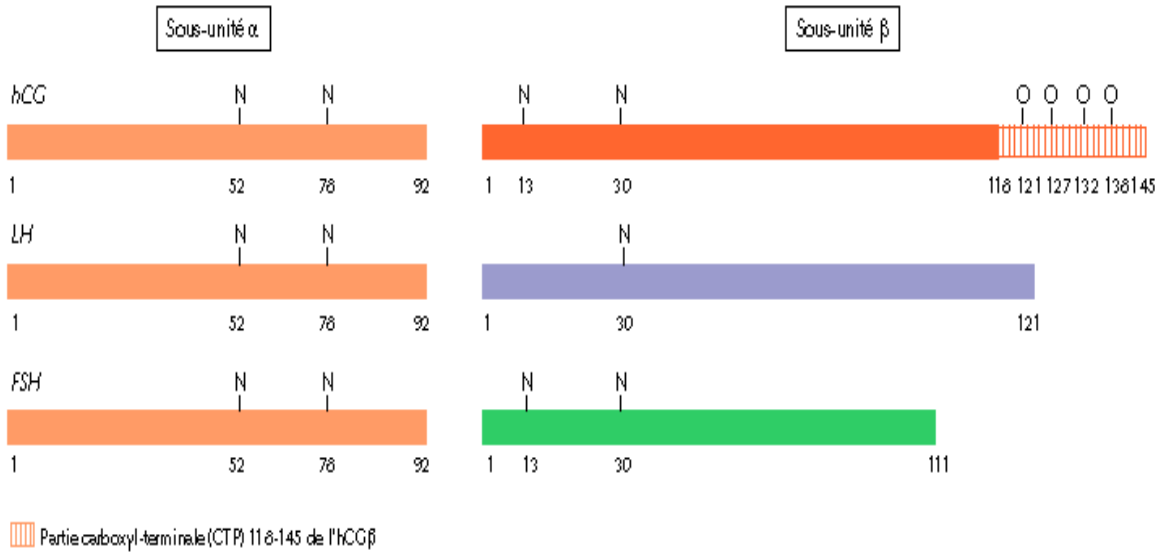


Figure 3 : Schéma montrant la séquence extension de la fraction β hCG [19].

En parallèle, sur différentes positions des chaînes alpha et bêta se greffent des oligosaccharides sulfatés et sialysés. Le degré variable de glycosylation va entraîner l'apparition de différentes isoformes moléculaires de poids moléculaire différent et de même activité biologique. La séquence en acides aminés de la sous unité bêta hCG n'est pas identique à celle de β-FSH, β-LH et β-TSH. Bien que la sous unité bêta soit spécifique à chaque hormone, il existe des similitudes en plusieurs points (Fig. 4).

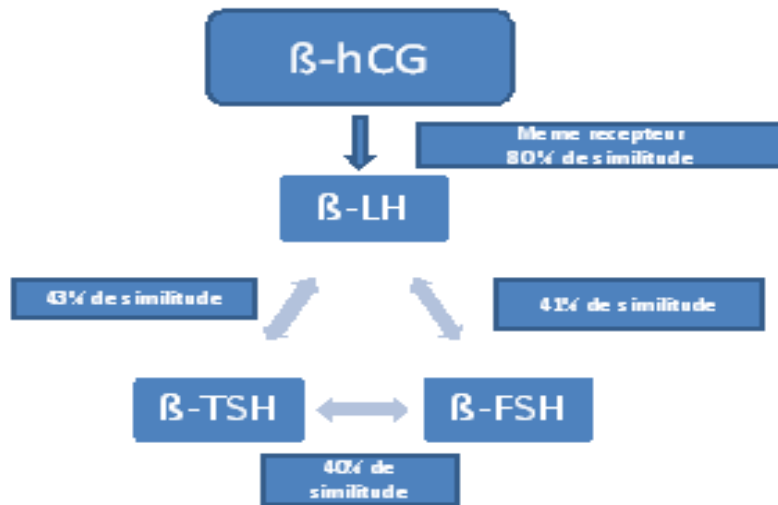


Figure 4 : Schéma simplifié de l'homologie entre les sous unités β [20].

2.2. Formes circulantes d'hCG

L'hCG circule majoritairement sous forme intacte. Une fraction de l'hCG est dégradée en hCG tronquée, essentiellement par des protéases placentaires.

Ces formes tronquées sont instables et se dissocient rapidement dans la circulation donnant ainsi d'une part une sous unité alpha et, d'autre part une sous unité bêta libre tronquée [21].

Les sous unités à l'état libre sont aussi détectables dans le sérum leur présence n'est pas liée à la dissociation de l'hCG mais à une biosynthèse indépendante de celle de l'hCG [21].

On trouve donc dans le sang maternel la sous unité alpha ainsi que la sous unité bêta libre intacte ou tronquée. Ces différentes formes protéiques circulantes constituent l'hétérogénéité circulante de l'hCG [22].

Revue bibliographique

2.3. Relation entre les sous unité alpha et bêta des hormones gonadiques

Les sous unités alpha et bêta d'hCG séparées ne sont pas actives. En effet, la combinaison de ces deux sous unités est nécessaire pour que l'hCG (comme toutes les autres gonadotrophines : FSH, LH et TSH) soit active du point de vue hormonal. Elles constituent l'étape limitante de la production de l'hormone active [23].

La sous unité alpha de n'importe quelle gonadotrophine (α -hCG, α -FSH, α -LH et α -TSH) peut se combiner avec n'importe quelle sous unité bêta spécifique (β -hCG, β -FSH, β -LH et β -TSH) pour engendrer la gonadotrophine active de cette sous unité bêta, comme par exemple, la combinaison de la sous unité α -FSH avec la sous unité bêta hCG engendrera l'activité de l'hCG [24].

La figure numéro 5 montre les sous unités et la différence entre eux dans les différentes hormones gonadiques.

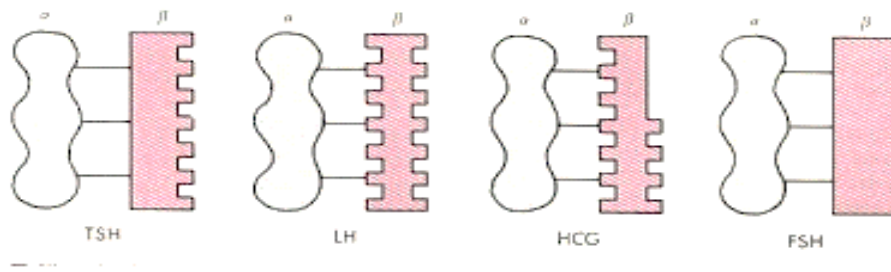


Figure 5 : Schéma des sous unités α et β des hormones gonadique [25].

2.4. Sécrétion de l'hCG

Peu de temps après l'implantation de l'ovule fécondé dans la paroi utérine, le trophoblaste commence à produire de l'hCG. L'hormone est donc sécrétée par le placenta dès sa formation [26]. Le placenta est également à considérer comme une véritable glande endocrine [27].

Revue bibliographique

L'hCG est détectable dans le sang maternel périphérique entre le 7^e et le 9^e jour qui suit l'ovulation si l'œuf fécondé s'implante au cours de ce cycle (ou 48 heures après l'implantation de la grossesse dans l'endomètre). Elle reste dosable dans le sang maternel pendant toute la durée de la grossesse [28].

La sécrétion d'hCG et de sa sous unité bêta libre dans le sérum maternel est très précoce. Elle débute dès la 2^e semaine d'aménorrhée (SA). Elle augmente de façon exponentielle (en effet elle double tous les 2 à 3 jours) jusqu'à atteindre à un pic à la 8^e SA (Fig.6). Son taux est maximal au premier trimestre.

Puis le taux chute rapidement entre la 14^e et 18^e SA et se maintient, à une valeur basse et relativement constante, autour 5000 UI/L, jusqu'à la fin de la grossesse. L'hCG disparaît totalement de l'organisme de la femme dans les 5 jours qui suivent l'accouchement [29].

Les unités habituelles utilisées pour l'hCG sont les mUI/ml ou UI/l. Pour la sous unité β ce sont les ng/ml.

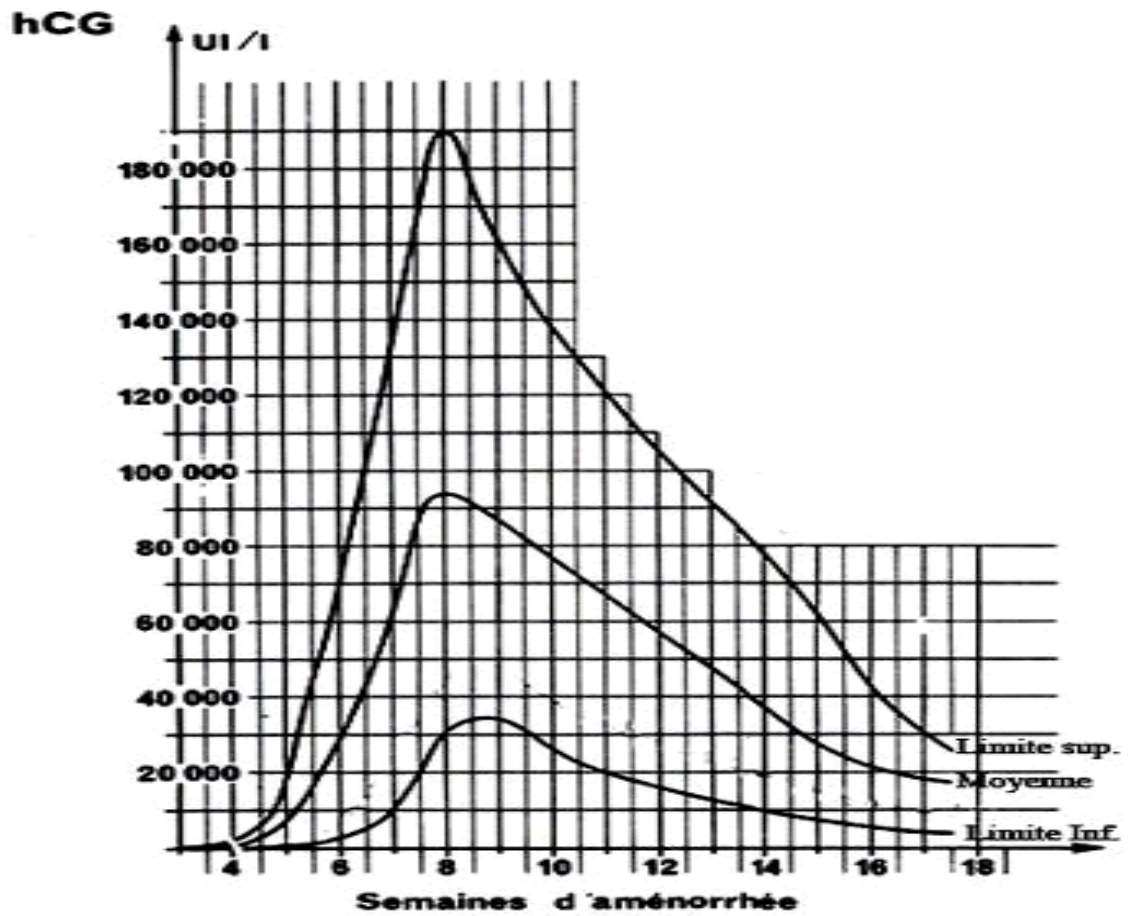


Figure 6 : Sécrétion d'hCG selon SA durant une grossesse normale [29].

Revue bibliographique

Les concentrations sériques de l'hCG sont données dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Concentrations sériques de l'hCG au cours d'une grossesse normale [30].

Age de la grossesse	Concentrations sériques d'hCG (mUI/ml)
10 ^{em} jour	10
1,5 à 2 semaines	40 à 200
2 à 3 semaines	100 à 1000
3 à 4 semaines	500 à 10 000
4 à 6 semaines	6 000 à 200 000
6 à 9 semaines	100 000 à 300 000
2 ^{eme} trimestre	3 000 à 50 000
3 ^{eme} trimestre	1000 à 50 000

NB : Valeurs données à titre indicatif ; des variations importantes peuvent être observées en cas de grossesse multiple

Les taux usuels d'hCG dans le sérum varient en fonction de l'âge et du sexe (hors grossesse)

Tableau 2 : Valeurs de références de l'hCG et β hCG [31]

	hCG	hCG chaine β libre
Homme, Femmes (non enceintes)	< 2 mUI/ml	< 0,1 ng/ml
Femmes ménopausées	< 7 mUI/ml	< 0,2 ng/ml

Revue bibliographique

L'hCG évolue de la même manière dans le sang et l'urine. La chaîne bêta libre évolue dans le sang comme l'hCG.

2.4.1. Régulation de la sécrétion

L'hCG est régulée par différentes molécules dont la gonadotropin releasing hormon (GnRH) (Fig. 7). Les hormones stéroïdiennes, les œstrogènes stimulent la sécrétion de GnRH et la progestérone l'inhibe. Les cytokines telles que la leptine, l'inhibe (via la suppression de GnRH) [32].

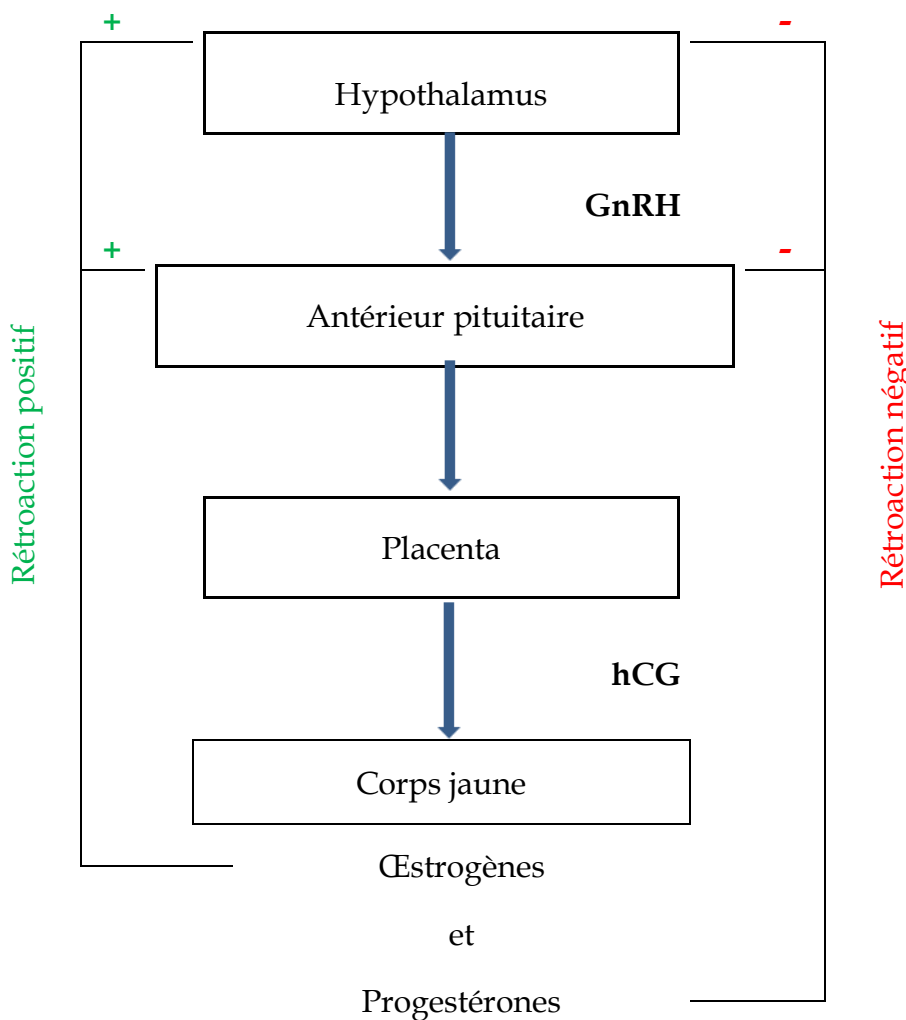


Figure 7 : Axe de régulation de l'hCG [33]

2.5. Métabolisme et demi-vie de l'hCG

L'hCG est métabolisée par le foie et le rein par clivage successifs et excrétée majoritairement dans les urines sous la forme d'un petit peptide, le fragment β -core (hCG- β cf) qui est le produit terminal de la dégradation de l'hCG. Le β -core est quasi indétectable dans le sérum. En revanche, il est majoritaire dans les urines [12].

La demi-vie est le temps mis par l'hormone pour perdre la moitié de son activité physiologique. L'hCG possède presque les mêmes propriétés biologiques et immunologiques de LH mais elles diffèrent par leurs demi-vies : 24 à 36 heures pour l'hCG, et une demi-vie ne dépassant une heure pour la LH [34]. La présence de la portion CTP lui confère une demi-vie plus longue que celle de la LH [20].

2.6. Rôles physiologiques de l'hCG

2.6.1. Maturation folliculaire

L'hCG joue un rôle important dans la maturation folliculaire et le déclenchement de l'ovulation puis la formation du corps jaune. Pour ces effets, elle est utilisée chez la femme en thérapie dans le traitement de l'anovulation dans les protocoles de la procréation médicalement assisté [14]

2.6.2. Effet sur le corps jaune

L'hCG permet la transformation du corps jaune ovarien cyclique en corps jaune gravidique, assurant le maintien de la sécrétion de progestérone par l'ovaire pendant les six premières semaines de la grossesse jusqu'à ce que le placenta prenne le relais (Fig. 8). La progestérone a un rôle myorelaxant sur le myomètre, ce qui contribue au maintien de la grossesse [35].

Revue bibliographique

2.6.3. Différenciation sexuelle

Cette hormone joue un rôle dans la différenciation sexuelle de l'embryon car la gonadotrophine hCG module la production des hormones stéroïdes (Fig. 8) par le testicule foetal [36].

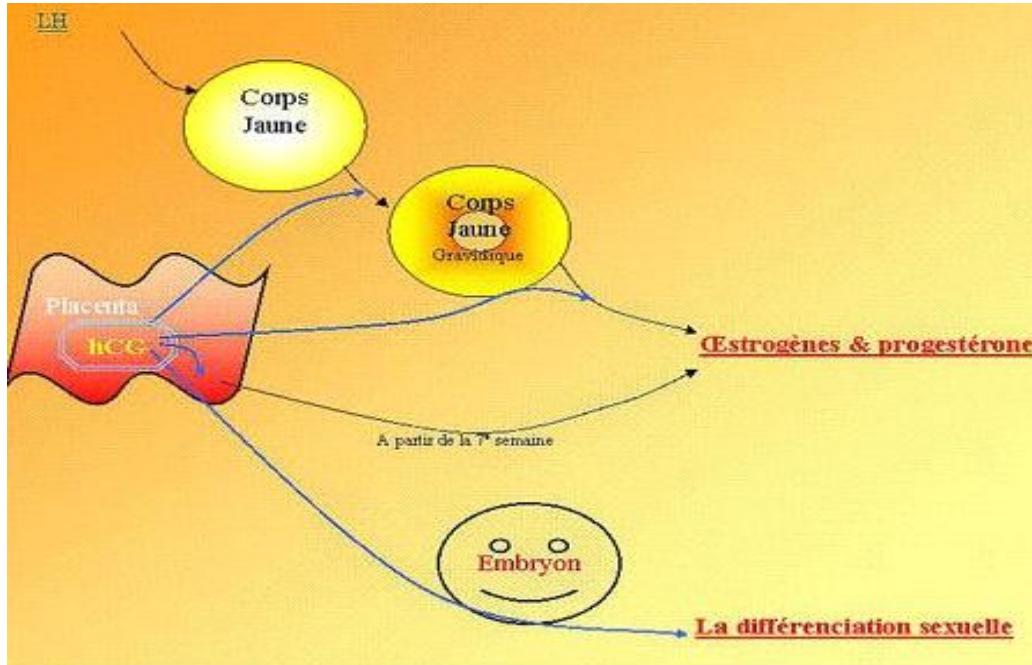


Figure 8 : Présentation schématique du rôle de l'hCG sur le corps jaune et la différenciation sexuelle [37]

2.6.4. Effet sur l'immunité

Une étude protéomique a démontré l'influence de plusieurs molécules produites par le trophoblaste comme l'hCG, régulant la tolérance immunitaire de la mère. L'hCG est impliquée dans l'inhibition des lymphocytes T [38]. La tolérance immunitaire transitoire pendant la gestation est en partie due à la présence de cellules T régulatrices dont le nombre serait augmenté par l'hCG [39]. L'hCG serait également un régulateur de la prolifération cellulaire des cellules NK utérine [40].

2. 7. Dosage de l'hCG

On dispose en pratique courante des tests pour détecter la présence d'hCG principalement dans les urines mais aussi pour doser dans le sang les différentes formes circulantes d'hCG (hCG dimérique, sous unités alpha et bêta libre). L'hCG peut être dosée d'une façon qualitative ou quantitative :

- **Dosage qualitatif**

Le dosage qualitatif dans les urines (test de grossesse) correspond à la classique réaction de grossesse qui fait appel à la méthode immunologique, ceci permet d'obtenir un diagnostic de la grossesse à partir de 10 à 15 jours de retard des règles.

La pluparts des tests se présentent sous forme de stick ou bâtonnet, muni d'une tige absorbante et d'une fenêtre de lecture avec témoin [41,42]

La méthode est basée sur la présence des anticorps monoclonaux anti-hCG spécifique dans un échantillon, le complexe immunologique (anti-hCG et hCG urinaire) est fixé sur une phase solide pour détecter la hCG capturée.

La méthode réside sur l'existence d'hCG urinaire; la présence d'hCG dans les urines est un indicateur précoce de grossesse suivi par un test quantitatif [43].

NB. Plus que la détection de l'hCG est forte plus que le test est claire

- **Dosage quantitatif**

En fait le diagnostic quantitatif le plus utilisé, parce que le plus sensible et le plus spécifique, est le dosage plasmatique de hCG qui permet d'obtenir le diagnostic biologique de certitude de la grossesse très tôt avant même le retard des règles.

Il faut travailler sur un prélèvement adéquat et bien conservé. En effet la concentration de la bêta hCG libre augmente d'autant plus que le délai de dosage est

Revue bibliographique

long. Ce phénomène s'explique par la dissociation de l'hCG total entraînant la libération de sous unité bêta.

Toutes les techniques de dosage de l'hCG commercialisées aujourd'hui reposent sur des techniques immunoenzymatiques ou immunologiques de type Sandwich [44].

Le test immunologique utilise un anticorps de capture polyclonal anti-hCG et un anticorps de révélation monoclonal anti bêta hCG. Les anticorps sont spécifiques à différents épitopes présents sur la sous-unité bêta libre et la sous-unité bêta de l'hCG intacte. En effet la reconnaissance des différentes formes moléculaires est variable selon l'immunodosage utilisé [42,45].

2.8. Intérêts cliniques du dosage de l'hCG

Le dosage de l'hCG circulante est utilisé dans trois indications :

2.8.1. Diagnostic et suivi de la grossesse

- **Grossesse intra-utérine**

Sa positivité plasmatique est le premier signe de la grossesse, l'hCG est dépistable dans le sang maternel périphérique dès le 9^e jour après la fécondation de l'œuf ou 2 jours après l'implantation de la grossesse dans l'endomètre. Son dosage dans le sang maternel permet de faire le diagnostic de la grossesse même avant le retard de règles et avant l'apparition des signes échographiques de la gestation [46].

En combinant l'échographie aux dosages de hCG plasmatique, il est admis qu'une grossesse évolutive intra-utérine est visible :

- Par l'échographie par voie endovaginale à partir d'un taux plasmatique de hCG égale ou supérieur à 1500 mUI/ml.
- Par l'échographie par voie abdominale à partir d'un taux plasmatique de hCG égale ou supérieur à 2500 mUI/ml, [47]

Revue bibliographique

La positivité du l'hCG plasmatique ne témoigne pas de la vitalité de l'embryon ou du fœtus. Elle témoigne seulement de la présence de cellules trophoblastiques actives. C'est pour cette raison qu'on peut trouver des taux de l'hCG plasmatiques significativement élevés : sur une grossesse arrêtée (mort de l'embryon), sur une grossesse de type œuf clair (sac gestationnel sans embryon) ou dans des grossesses molaïres (absence d'embryon ; absence de placenta avec dégénérescence) [48].

- **Grossesse extra-utérine**

En cas d'une grossesse extra-utérine, les femmes suspectent la survenue d'une complication (douleur anormale, saignement anormal, malaise, vomissements...). Le dosage plasmatique de l'hCG couplé à l'exploration échographique pelvienne ont participés à réduire la mortalité et morbidité dues à la grossesse extra-utérine, car ces deux moyens diagnostiques sont à l'origine d'une révolution dans la mise en évidence et la prise en charge de cette pathologie [49].

Actuellement, concernant la grossesse ectopique extra-utérine, le dosage de la bêta hCG jouent un rôle important dans : [49].

- Ø Le diagnostic : les valeurs élevées prise après le dosage de la bêta hCG signent pratiquement la grossesse extra-utérine.
- Ø Le suivi thérapeutique : après le diagnostic, une surveillance étroite de la bêta hCG se fait par un dosage hebdomadaire jusqu'à négativation.
- Ø Abstention thérapeutique : Cette option thérapeutique nécessite une surveillance étroite de la douleur et de la β hCG plasmatiques, elle peut être discuté à un nombre limité des patientes présentant un taux faible d'hCG (<1000 mUI/ml) et une baisse constante du taux des bêta hCG plasmatique.
- Ø Traitement médical : La persistance des cellules trophoblastiques dans la trompe peut provoquer l'augmentation du taux de β hCG plasmatiques et

Revue bibliographique

justifier alors un traitement médical qui repose sur l'injection d'un produit antiméiotique permettant l'arrêt de la division des cellules trophoblastiques.

Ø Traitement chirurgical : Un dosage d'hCG est effectué après l'intervention. Une intervention chirurgicale consistant à ouvrir l'abdomen, est effectuée lorsqu'une hémorragie interne importante s'accompagne de signes de gravité sévère.

2.8.2. Dépistage de la trisomie 21 au cours de la grossesse

La trisomie 21, également appelée Syndrome de Down, est une maladie causée par une anomalie au niveau des chromosomes. Les personnes atteintes de trisomie 21 présentent trois chromosomes 21 au lieu d'une seule paire.

La bêta hCG libre est dosée au premier trimestre, l'hCG totale étant un mauvais marqueur [50] de trisomie 21 au 1^{er} trimestre. À la différence au 2^e trimestre de grossesse, l'hCG est aussi plus élevée que la normale lors des grossesses affectées par la trisomie 21 [51].

Il a été aussi démontré par d'autres auteurs que le dosage de la sous unité bêta libre améliore le taux de dépistage de la trisomie 21 car, il permet dosé seul de dépister (45 %) des cas de trisomie 21 contre (38 %) des cas si on utilise le dosage seul de l'hCG totale. [52,53].

En cas de pathologie de la trisomie 21, le taux de la bêta hCG est supérieur à la normale au second trimestre de la grossesse [54].

Il existe d'autres substances décelables dans le sang maternel et utilisables comme marqueurs d'un risque accru de grossesse d'enfant trisomique (Tab. 3).

Les marqueurs sériques du premier trimestre sont la β hCG et la PAPP-A. Ceux du second trimestre sont α foetoprotéine ou AFP, la β hCG et l'œstriol non conjugué [6,45]

Revue bibliographique

Tableau 3 : Différentes substances décelables de la trisomie 21 dans le sang maternel [55].

Marqueurs sériques	AFP	hCG	œstriol non conjugué (u - E3)	β - hCG	PAPP- A
Origine physiologique	Foie et intestin du fœtus	Tissu endocrine placentaire	Ensemble fœtus/placenta	Syncytiotrophoblaste	Syncytiotrophoblaste et cellules déciduales
Variation du taux dans le cas d'une grossesse d'enfant T21	Inférieure à la normale	Supérieure à la normale	Inférieure à la normale	Supérieure à la normale	Inférieure à la normale
Période d'utilisation au cours de la grossesse	2 ^{ème} trimestre	2 ^{ème} trimestre	2 ^{ème} trimestre	1 ^{er} trimestre Et 2 ^{ème} trimestre	1 ^{er} trimestre

2.8.3. Marqueurs de tumeurs

Les marqueurs de tumeurs sont des substances présentes dans le sang (ou éventuellement les urines) des malades cancéreux de façon anormales et qui signent de façon plus au moins spécifique la présence de cancer.

L'hCG et sa fraction bêta hCG font partie des marqueurs de tumeurs. On peut les mesurer et utiliser leurs taux pour le dépistage, diagnostic, suivi et établissement du pronostic des tumeurs [7].

Revue bibliographique

- **Les tumeurs trophoblastiques**

Les tumeurs trophoblastiques rassemblent des tumeurs bénignes, des tumeurs malignes (TTG), choriocarcinomes, tumeurs trophoblastiques du site d'implantation (TTSI), tumeurs trophoblastiques épithélioïdes (TTE).

En cas d'augmentation du taux de l'hCG >5 UI/l, le dosage plasmatique se fait tout au long de la maladie. Il est considéré comme le marqueur essentiel pour le diagnostic, le pronostic, le choix thérapeutique et le suivi du traitement. Pour cette raison le contrôle des taux de l'hCG est hebdomadaire pendant le traitement et un mois après normalisation, puis mensuel pendant 6 mois [56].

- **Les tumeurs non trophoblastiques**

Seule la sous unité bêta hCG libre est secrété dans certain cas de cancers de la vessie, du sein et du pancréas.

L'utilisation des dosages d'hCG et de ses formes moléculaires selon la situation clinique est résumée dans le tableau numéro 4.

Revue bibliographique

Tableau 4 : Indications de dosage de l'hGC et ses formes moléculaire [24].

Situation clinique	Dosage			
	Sérum			Urines
	hCG	hCG bêta libre	hCG alpha libre	hCG
GROSSESSE				
* normale	+			++
* ectopique	++			(+)
ANOMALIE CHROMOSOMIQUE				
* Trisomie 21	+	++		
* Trisomie 18		+	(+)	
TUMEURS TROPHOBLASTIQUES: môle, choriocarcinome	++	++		
CANCERS DU TESTICULE				
* Séminomes	+	++		
* non séminomateux (choriocarcinomes.....)	++	+		
TUMEURS NON TROPHOBIASTIQUES: Vessie.....		+	+	
TUMEUR HYPOPHYSIAIRE		(+)		

PATIENTS
ET
METHODES

1. Echantillonnage

1.1. Les individus

Nous avons recruté des patients (hommes et femmes) pris aléatoirement sur une période de 2 mois (février et mars 2016) au niveau du Centre Hospitalier Universitaire (C.H.U) BENBADIS de Constantine.

La sélection des patientes (femmes enceintes) se fait après remplissage d'un questionnaire afin de rassembler les informations concernant la date des dernières règles donc l'âge gestationnel.

C'est ainsi qu'un total de 86 patients sont inclus dans cette étude. Parmi ces patients : 49 sont des femmes et 37 des hommes.

Il faut signaler qu'il n'y a pas de critères d'exclusion ou d'inclusion puisque ce test est normalement proposé à tous ses patients.

1.2. Echantillon sanguin

Le prélèvement sanguin effectué par le personnel médical ; est fait au pli du coude à l'aide d'un garrot.

- Il ne nécessite pas de préparation particulière du patient (par exemple: être à jeun)
- Les tubes héparines, contenant le prélèvement de sang sont par la suite acheminés vers le laboratoire d'analyse biochimique (service hormonologie).

1.2.1. Séparation du plasma

- Les échantillons de sang sont centrifugés environ 5 minutes à une vitesse de 5000 tours/minutes.

Du faite d'une possible dégradation d'hCG entière avec libération de la chaîne β . Le sang doit être centrifugé le plus rapidement possible et conservé au froid.

Patients et méthodes

- un volume de 5 microlitres de sérum est prélevé du tube afin d'effectuer le dosage.
- les échantillons hémolysés peuvent être traités car la présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision de dosage.
- la centrifugation des échantillons avant la formation complète du caillot (tubes secs) peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, il faut donc assurer de la formation complète des caillots.

1.3. Condition de conservation

Conservation pendant 7 jours à 2-8°C ou 2 mois à -20°C.

2. Dosages effectués

Deux paramètres sont dosés hCG et bêta hCG libre par un auto analyseur IMMULITE 2000 (Siemens, France). C'est un automate couramment utilisé en biologie hospitalière.

2.1. Le principe de dosage

Le principe de dosage est identique pour les trousse (hCG et β hCG).

- Pour l'hCG : il s'agit d'un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent en phase solide. Le cycle d'incubation est d'environ 30 minutes.
- En ce qui concerne la sous unité bêta hCG libre : le dosage immunométrique séquentiel se fait en deux étapes Chimiluminescent en phase solide

La phase solide (bille) est revêtue d'un anticorps monoclonal murin anti bêta hCG libre, la phase liquide consiste en:

- une matrice protéique tamponnée
- de la phosphatase alcaline (intestin de veau), conjugué à un anticorps polyclonal (de chèvre), anti bêta hCG libre dans un tampon.

Patients et méthodes

- Lors du premier cycle (phase solide), l'échantillon de patient et le tampon sont incubés ensemble pendant 30 minutes avec la bille; durant cette période, la bêta hCG libre dans l'échantillon se lie à l'anticorps monoclonal murin anti bêta hCG libre de la bille, l'échantillon non lié est alors éliminé par lavage avec centrifugation.
- Lors du deuxième cycle, l'enzyme conjuguée à un anticorps polyclonal anti bêta hCG libre est ajoutée dans le godet réactionnel d'origine pour 30 minutes supplémentaires d'incubation.

L'enzyme conjuguée à un anticorps polyclonal anti bêta hCG libre se lie afin d'immobiliser la bêta hCG libre pour former un complexe SANDWICH, le conjugué enzymatique non lié est alors éliminé par lavage avec centrifugation. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté au tube réactionnel et le signal généré est proportionnel à l'enzyme liée.

NB. Le principe d'un dosage immunométrique impose que la concentration des anticorps réactifs soit en large excès par rapport à celle de l'antigène (Fig. 9) [57]

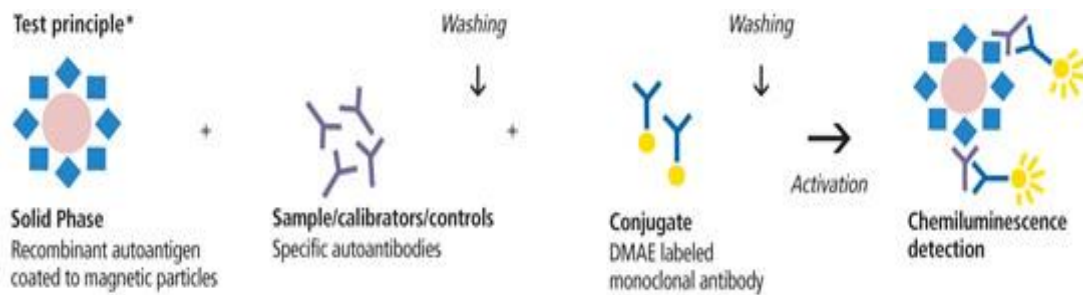


Figure 9 : Schéma de la méthode immunologique (IMMULITE 2000) [58]

3. Analyse statistique

- Les variables quantitatives sont exprimées en médiane.
- Le coefficient de corrélation entre deux paramètres est calculé.
- Les graphiques sont réalisés grâce au logiciel Excel version 2007.

RESULTATS

Résultats

Dans notre étude nous disposons de deux échantillons :

- le premier échantillon a regroupé 49 femmes enceintes dont l'âge gestationnel varie entre 10 à 22 SA.

- le deuxième a regroupé 37 hommes

1. Population des femmes enceintes

La population féminine est répartie en trois sous-groupes, selon l'âge de gestation de : 10 à 16 SA, 16 à 21 SA, 21 jusqu'au SA restantes (selon notre échantillon 22 SA).

Le choix de ses intervalles n'est pas fait au hasard, il se base sur un tableau de référence fournis par le prospectus IMMULITE 2000.

1.1 Variation physiologique de l'hCG et de la β hCG chez la population de femmes

Il est nécessaire de doser l'hCG et la bêta hCG en fonction de l'âge gestationnel pour le suivi de la grossesse. Pour chacun des groupes formés les valeurs des médianes d'hCG et de sa fraction libre sont déterminées (Tab. 5)

Tableau 5 : Médiane d'hCG et de β hCG selon l'âge gestationnel

Age gestationnel (SA)	Effectif n	Valeur médiane	
		hCG (mUI/ml)	β hCG (mUI/ml)
10 à 16	21	60100	18,2
16 à 21	23	29365	11,1
21 à 22	5	9750	2,3

Nos résultats montrent que les concentrations d'hCG et de β hCG varient de manière analogue. En effet, elles sont très élevées entre la 10^{ème} et la 16^{ème} SA, puis

Résultats

diminuent de manière considérable à la 22^{ème} SA (Fig. 10 et 11). Le taux de diminution est de 83% pour l'hCG et arrive à 87% pour la β hCG.

Ce qui montre que le dosage est effectué dans des conditions adéquates.

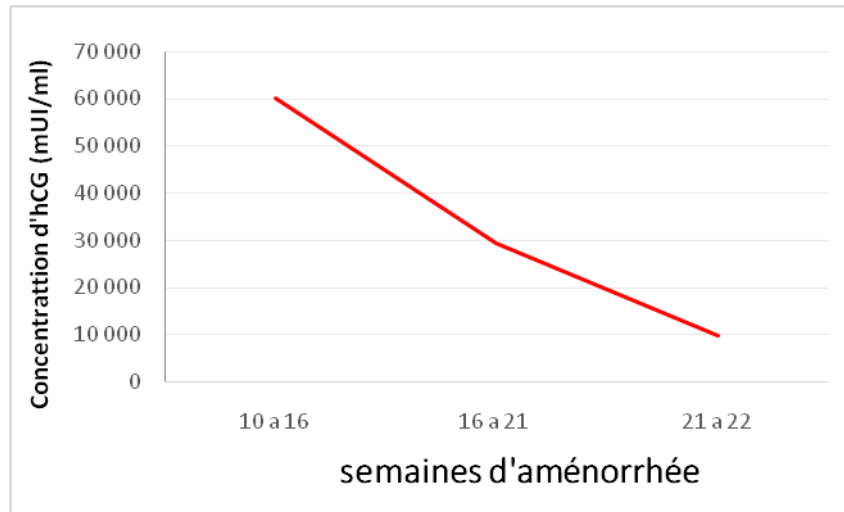


Figure 10 : Variation physiologique d'hCG chez la population de femmes enceintes

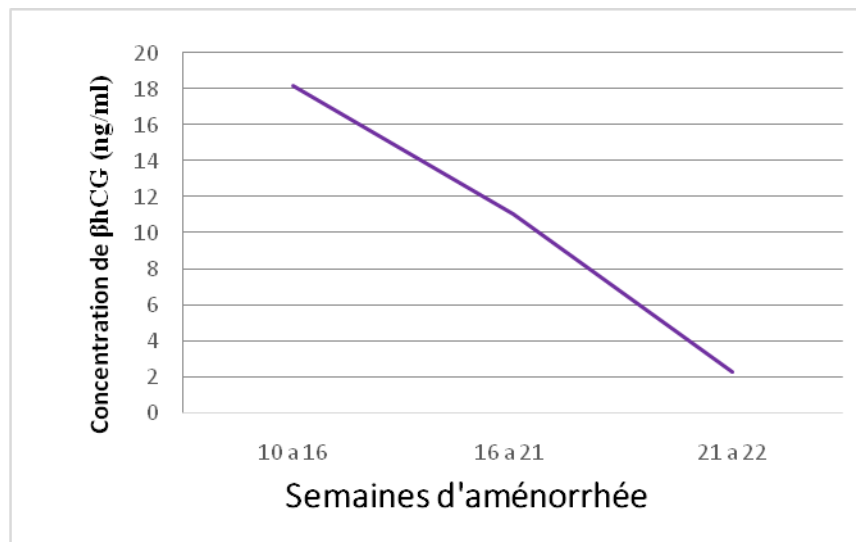


Figure 11 : Variation physiologique de β hCG chez la population de femmes enceintes.

Résultats

Par ailleurs, selon les résultats obtenus, nous constatons que les concentrations d'hCG et de β hCG déclinent de façon homologue avec l'augmentation de l'âge de la grossesse. C'est ainsi, nous avons essayé d'établir la relation entre ces deux paramètres à travers le calcul du coefficient de corrélation

1.2. Étude de la corrélation

Nous avons effectué une corrélation globale entre l'hCG et la β hCG. Une corrélation significative ($r = 0.63$) est notée entre ces deux paramètres. En effet, le coefficient de corrélation calculé est supérieur à celui de la table à $p < 0,01$ (Table des valeurs critiques du coefficient de corrélation)

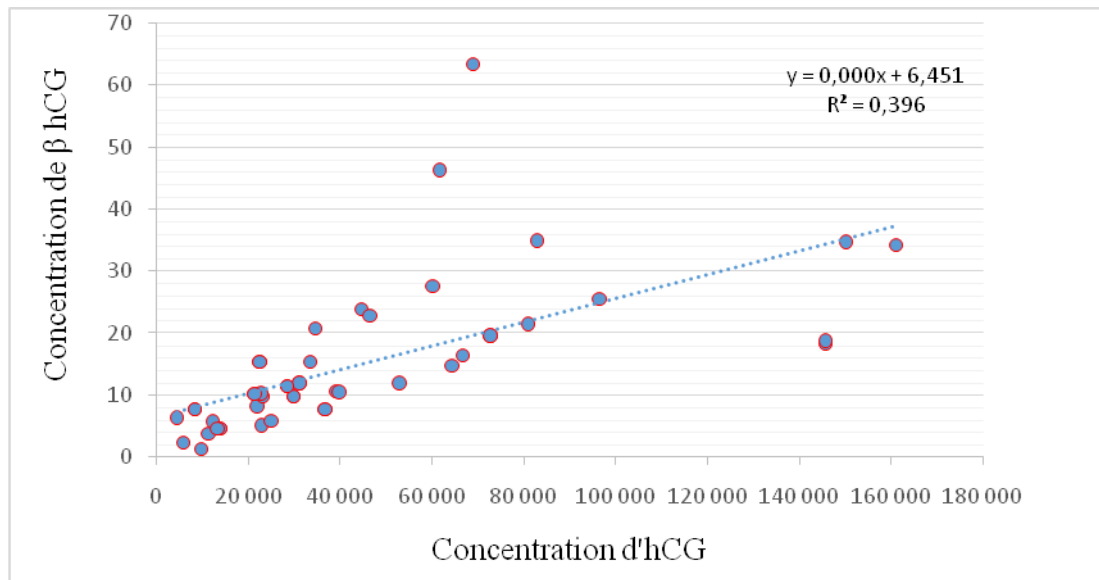


Figure 12 : Corrélation entre l'hCG et la β hCG chez la population de femmes enceintes

1.3. Détermination du rapport β hCG/hCG

Après avoir comparé le taux d'hCG de notre population féminine avec le tableau des références fournis par le prospectus IMMULITE 2000,

Nous avons trouvé un pourcentage de 10.20 des femmes présentant une concentration hCG légèrement élevée d'où probablement une grossesse anormale, ce qui nécessite la détermination du rapport β hCG/hCG

Le rapport β hCG/hCG permet d'estimer la quantité de β hCG par rapport à celle de l'hCG. Selon la littérature, il doit être inférieur à 1 %, en cas d'absence d'anomalie.

En effet, ce rapport constitue une signification dans le pronostic des tumeurs.

Nos résultats montrent que le rapport β hCG/hCG est très faible pour l'ensemble de la population étudiée. Il oscille entre **0.01 % et 0.09 %**.

2. Population des hommes

Pour rappel chez les hommes qui sont au nombre de 37 patients, seul le marqueur sérique β hCG est quantitativement dosé pour le diagnostic et suivi des tumeurs.

2.1. Variations physiologiques de la β hCG chez la population des hommes

Ces patients ne sont pas hospitalisés, ils avaient une prescription extérieure. Selon le prospectus IMMULITE 2000 la valeur de référence doit être inférieure à 0.1 ng/ml. D'après cette notion on distingue 11 cas suspects d'être pathologiques sur 37 patients inclus dans cette étude (Fig. 13). En effet, les concentrations de β hCG sont trop élevées et varient 4,62 à 34,6 ng/ml.

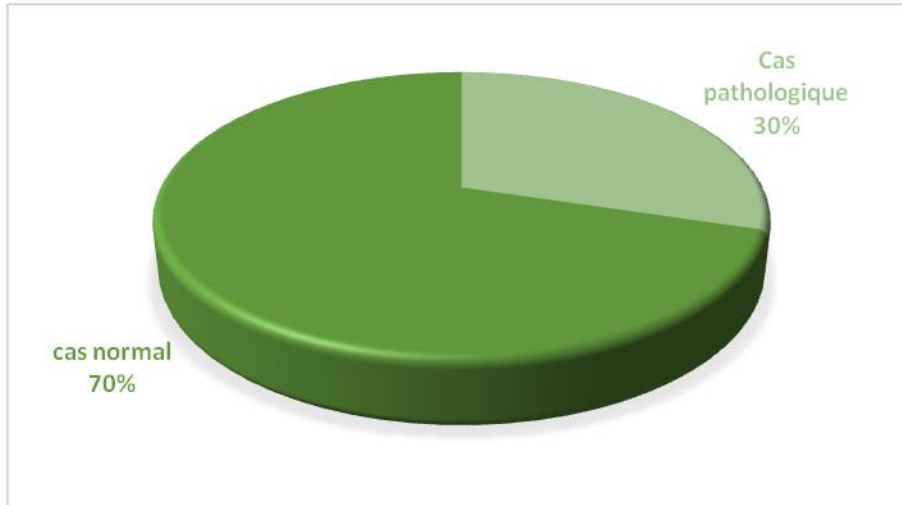


Figure 13 : répartition des cas pathologiques et cas normaux dans la population des hommes

3. Caractéristiques immunoanalytiques des deux trousse

L'étude des caractéristiques immunoanalytiques de l'hCG et la de β hCG, nous permet de faire la comparaison entre ces deux trousse (Tab. 6).

Résultats

Tableau 6 : Caractéristiques immunoanalytiques de l'hCG et la βhCG sur IMMULITE 2000

Trousse	hCG	β hCG
Principe	Dosage immunométrique Chimiluminescent	Dosage immunométrique Chimiluminescent
Valeurs de références	Valeurs hors grossesse - Femme < 2.5 UI/L - Homme < 5.3 UI/L Cas de grossesse varie en fonction de l'âge de grossesse	Valeurs hors grossesse - Femme < 2 UI /l - Homme < 2 UI /l Cas de grossesse >5UI/l, varie en fonction de l'âge de grossesse
Sensibilité analytique	0.4 UI/l	1 UI/l
Intérêts du dosage	- Dosé beaucoup plus pour la détection et suivi de grossesse -Tumeurs et anomalies -Détection de la trisomie 21	- Dosé beaucoup plus pour la détection et le suivi des tumeurs (ex : tumeurs trophoblastique, testiculaire Choriocarcinome) - Détection et Suivi de la grossesse -Détection de la trisomie 21

Résultats

On remarque qu'il y a une différence entre les caractéristiques immuno analytiques des deux trousse qui ne sont pas pareils au niveau du même automate

4. Caractéristiques immunoanalytiques de la β hCG par rapport à un autre automate le KRYPTOR

Dans cette étude, on réalise une comparaison de la β hCG par rapport à un autre automate appelé KRYPTOR pour voir si les caractéristiques immuno-analytiques de la trousse change d'un automate à un autre (Tab. 7).

On a choisi cet auto-analyseur précisément pour faire la comparaison parce que le paramètre qu'on a en train de le doser (β hCG) n'est pas disponible chez tous les automates.

Résultats

Tableau 7 : Caractéristiques immuno analytiques de la β hCG sur IMMULITE 2000 et KRYPTOR

Auto-analyseur	IMMULITE 2000	KRYPTOR
Principe	Dosage immunométrique Chimiluminescent en phase solide (en deux étapes)	-Technologie TRACE *: le principe est un transfert d'énergie non radiative entre deux traceurs Fluorescents -Utilise aussi un dosage Immunométrique où les traceurs sont couplés à des anticorps
Valeurs	hors de grossesse : > 2 UI/l Cas de grossesse > 5 ng/ml, varie en fonction de l'âge de grossesse	hors de grossesse : > 0.10 UI/l Cas de grossesse varie en fonction de l'âge de grossesse
Sensibilité	1 UI/l	égale à 0.45 UI/l
Intérêts du dosage	-Détection et suivi des tumeurs -Détection et suivi de grossesse -Trisomie 21	-Marqueur tumoral -Marqueur de trisomie 21 -Détection et suivi de grossesse

TRACE*: Time Resolved Amplified Cryptate Emission

Facteur de conversion : 1 ng/ml = 1 UI/l

DISCUSSION

Discussion

Notre travail a porté sur 86 patients dont 37 hommes et 49 femmes enceintes différant par l'âge de grossesse. Il faut signaler qu'en dehors de la grossesse, les concentrations d'hCG circulantes sont très faibles et se situent aux alentours de la limite de détection des méthodes de dosage disponible dans le commerce.

Chez la population de femmes, nos résultats montrent que les concentrations d'hCG varient selon l'âge gestationnel ce qui est en accord avec la littérature. Elles se situent dans les limites normales ; exceptés chez 10.20% où le taux d'hCG semble légèrement élevé avec un rapport β hCG/hCG non révélateur de pathologie (étant <1%)

La cause d'élévation de l'hCG avant la 15^e semaine peut être liée à une grossesse gémellaire ou multiple où le taux d'hCG a tendance à être plus élevée [30]. Comme elle pourrait être lié à une mauvaise estimation de l'âge de la grossesse.

Par ailleurs, il est connu que les placentas portant une trisomie 21 produisent plus d'hCG que les placentas normaux. Une valeur trop élevée d'hCG entre la 15^e et 18^e semaine augmente le risque de trisomie 21 qu'il faut confronter à d'autres marqueurs sériques maternels (œstradiol, α foetoprotéine) [6]. Il peut conduire à la prescription d'une amniocentèse en cas de risque trop élevé, généralement réalisé entre 15^e et 17^e SA. Celle-ci, consiste à prélever à l'aide d'une fine aiguille du liquide amniotique afin d'établir le caryotype du fœtus, et donc de vérifier le nombre de chromosome [59].

En cas d'évolution anormale des hCG totales sériques. Il est essentiel d'établir un diagnostic de tumeur trophoblaste gestationnelle. Selon Djefal et al, 2008 le taux d'hCG est augmenté essentiellement dans le cas d'un choriocarcinome (90-100 %) et dans le cas des carcinomes embryonnaires (60%).

Chez l'ensemble des femmes inclus dans ce travail nous n'avons pas constaté de diminution du taux d'hCG ni même de sa fraction libre β hCG. Le taux est diminué en cas de grossesse extra utérine. la grossesse extra-utérine ou grossesse ectopique enkystée peut entraîner des taux de hCG inférieurs à la normale et des taux de β HCG augmentés[60].

Discussion

L'évolution générale d'hCG passe par deux phases : une phase ascendante correspondant à une sécrétion accrue de l'hormone et une phase descendante correspondant à sa diminution. Nos résultats coïncident avec la deuxième phase. La β hCG et l'hCG déclinent de la même façon, c'est ce qui explique la corrélation significative entre ces deux paramètres.

Par ailleurs, le rapport β hCG/hCG orienté vers l'origine de la sécrétion hormonale, doit théoriquement être inférieur à 1% au cours d'une grossesse normale. En cas d'une grossesse molaire, il se situe entre 1% et 5%. Il est plutôt supérieur à 5% en cas de choriocarcinome [5]

Donc l'intérêt clinique du dosage de la β HCG pour la population féminine dépend du contexte soit:

- le diagnostic de la grossesse normale.
- le suivi d'une grossesse anormale (molaire ou extra-utérine).
- suivi d'une certaines pathologie (choriocarcinome...).

Elle peut également être dosée en association à d'autres paramètres, afin d'évaluer un risque de trisomie 21.

En ce qui concerne la population masculine, il est préférable de doser la β HCG parce qu'elle est sécrétée de façon anormale dans certains cancers. Le dosage présente alors un intérêt pour le diagnostic, mais aussi pour le suivi thérapeutique en cas de cancer.

Dans la population masculine incluse dans notre étude 29.73% des cas montrent des valeurs trop élevées par rapport aux valeurs de références. Elles peuvent être révélatrices de pathologies graves (tumeurs testiculaires, tumeurs germinales ou tumeurs extra-gonadique...). Elles doivent être confirmées par d'autres examens.

Discussion

Les trousse analytiques d'hCG et β hCG dosées utilisent plusieurs méthodes et différents appareils. Dans ce travail, on a pour objet de faire une comparaison de la sensibilité de chaque méthode, des limites de détections et les caractéristiques de dosage, donc de la fiabilité du test.

Nous avons ainsi constaté, que les deux hormones ont presque les mêmes intérêts cliniques telle que la détection d'une grossesse mais elles ne n'ont pas les mêmes caractéristiques analytiques. C'est pourquoi dans un même automate, elles sont considérées comme deux paramètres différents, où chacune d'elles ne dépend pas de l'autre.

Dans d'autres caractéristiques telles que les valeurs de références fournies par le prospectus IMMULITE 2000, où les valeurs de l'hCG sont plus élevées que celles de la β hCG.

La différence existe aussi dans la sensibilité analytique, qui est de 1 ng/ml pour la β hCG, qui est une valeur assez élevé pour le suivi d'une anomalie thérapeutique (cas de tumeurs). C'est pourquoi, le dosage de cette fraction par IMMULITE 2000 n'est pas très approprié pour le suivi de l'évolution d'une tumeur sous traitement. En effet, lorsque le patient subit un traitement de chimiothérapie la valeur de la β hCG doit s'abaisser jusqu'à 0.1ng/ml.

La β hCG est utilisée pour les mêmes contextes que de l'hCG. Cependant, elle peut détecter certaines tumeurs qui ne secrètent que cette fraction comme les tumeurs non trophoblastiques [7].

Pour faire une comparaison entre les résultats des autres automates, on a choisi le KRYPTOR à cause de la disponibilité du paramètre.

D'après notre comparaison des deux automates IMMULITE 2000 et KRYPTOR, tout en sachant qu'ils ont un principe immunométrique. Nous constatons qu'il y a des différences au niveau de :

Discussion

- ✓ valeurs de références,
- ✓ la limite de détection et
- ✓ la sensibilité.

Les limites de détection de l'hormone β hCG sur KRYPTOR sont inférieures à celles d'IMMULITE 2000. Ce qui déduit que le KRYPTOR est plus sensible qu'IMMULITE 2000. Le dosage du marqueur tumoral β hCG est mieux adapté au KRYPTOR.

Le compte rendu d'un laboratoire doit donc toujours préciser l'automate utilisé dans le dosage de l'hCG et la β hCG. Les résultats du dosage obtenus, par deux automates différents ne peuvent être comparés, ceci pouvant conduire à des erreurs d'interprétation médicale

CONCLUSION

Conclusion

Les concentrations d'hCG et de β hCG sont déterminées par un dosage quantitatif réalisé avec une trousse analytique bien précise. En effet, chaque trousse a ses propres caractéristiques analytiques. Ce dosage comporte une évaluation qu'elle faut interpréter avec prudence par rapport aux valeurs de références données par la trousse utilisée.

Au terme de ce travail, on peut dire que :

Le diagnostic et le suivi d'une grossesse, nécessite un dosage de l'hCG et de sa fraction libre β hCG. Nos résultats ont montré que chez la population féminine, la cinétique de sécrétion de la β hCG suit celle de l'hCG. Ces deux paramètres sont significativement corrélés

En ce qui concerne les hommes, nos résultats ont révélé que 29,73% d'entre eux montre une présence accrue de β hCG. Celle-ci, s'avère pathologique. Cependant, il est nécessaire de refaire le dosage avec le même appareil avant d'entamer des examens approfondis. Si le résultat est positif Il faut donc :

- Identifier les causes de la présence de β hCG avec une combinaison analytique avec d'autres marqueurs.
- Eviter la comparaison des résultats obtenus, avec ceux d'autres automate ; afin d'éviter les mauvaises interprétations susceptibles de conduire à des attitudes diagnostiques, ou thérapeutiques inappropriées à cause d'une discordance entre les trousse analytiques
- Suivre une démarche clinico-biologique.

Le dépistage précoce des tumeurs malignes peut retarder leur progression, après un suivi thérapeutique adéquat.

RÉSUMÉ

Résumé

L'hormone chorionique gonadotrope (hCG) est sécrétée par les trophoblastes placentaires en cas de grossesse. Lorsque toute forme de grossesse (normale ou anormale) est écartée, une persistance d'hCG peut évoquer la présence d'un contexte tumoral.

Dans le cadre de cette étude 86 patients (non hospitalisés) sont recrutés : 49 sont des femmes enceintes et 37 sont des hommes.

L'objectif de ce travail est de réaliser le dosage d'hCG et sa fraction libre β hCG, en indiquant son intérêt clinique. C'est ainsi que, les deux paramètres sont évalués par une trousse de dosage immunologique, sur l'automate IMMULITE 2000.

Pour la population féminine, les concentrations médianes pour la surveillance de la grossesse, sont déterminées. Le taux sériques d'hCG et β hCG en fonction de l'âge de la grossesse montrent une variation analogue des deux paramètres.

Une corrélation significative entre hCG et β hCG est notée.

Bien que 10.20% des femmes présentent des taux d'hCG légèrement élevés. Le rapport β hCG/hCG en fonction de l'âge de grossesse varie selon un intervalle de [0.1%-0.9%] est consécutif à une grossesse normale. Le rapport étant <1%.

Chez la population masculine, l'étude est présentée par le taux sérique de la β hCG. Celle-ci, est utilisée comme marqueur tumoral. La comparaison de nos résultats avec des valeurs de référence montre que 29.73% des cas serait du à la présence d'une anomalie à cause de la positivité des résultats.

Mots clés : hormone gonadotrophine chorionique, trousse de dosage, marqueur tumoral.

Abstract

The human chorionic gonadotropin (HCG) secreted by the placental trophoblast in case of pregnancy. When any pregnancy type is discarded a persistence of HCG reveals for many presence of a tumoral context.

For that study, 86 patients not hospitals with 49 pregnant women and 37 men were recruited.

The purpose of our study lies in the assay of HCG and its β HCG fraction indicating its clinical interest. Thus, two parameters have been evaluated HCG and β HCG by an immunological assay kit, on the unit IMMULITE 2000.

For the feminine population, the concentration median to supervise the pregnancy while evaluating. The serial rates of HCG and β HCG in function of age of pregnancy shows a variation of two parameters in analogue way. A significant correlation between HCG and β HCG denoted.

The link β HCG/HCG in function of the age of pregnancy varies according to an interval of [0.1-0.9], consecutively to a normal pregnancy. Report being <1%.

For the masculine population, a study present by serial rate of β HCG. Because of that hormone as tumoral marker. The comparison of results with reference values shows that 29.73% representing anomalies because of the positivity of results.

Key words : human chorionic gonadotropin, assay kit, tumoral marker.

هرمون موجهة الغدد التناسلية المشيمية البشرية (hCG) تفرزه خلايا الأرومة الجنينية في حالة الحمل. عندما يتم استبعاد أي شكل من أشكال الحمل (الطبيعي أو الشاذ)، فإن استمرار تواجده يدل على وجود ورم

في إطار هذه الدراسة يتم إحضار 86 مريضا (المرضى الخارجيين): 49 من النساء الحوامل و37 من الرجال الهدف من هذا العمل هو إجراء تحليل hCG وبيتا hCG مع توضيح الأهمية السريرية من إجراءه، تحليل الهرمونين

يكون بتقنيته مناعية بواسطة جهاز IMMULITE 2000

للإناث، مراقبة الحمل يتم من خلال متوسط التركيزات التي تكون معينة، تبعا لعمر الحمل تظهر مستويات تحليل

المصل تباين مماثل من الهرمونين. ويلاحظ وجود علاقة ذات دلالة إحصائية hCG وبيتا hCG

نسبة بيتا hCG / hCG وفقا لعمر الحمل يختلف ضمن مجال يتراوح بين [0.1% - 0.9%] مما يدل على حمل طبيعي

لان النسبة > 1 .

للذكور، تقدم الدراسة تحليل البيتا hCG في المصل. ومنه، يستخدم كعلامة للكشف على الورم. وتبين مقارنة نتائجنا

مع القيم المرجعية أن 29.73% من الحالات يرجح فيها وجود شذوذ بسبب النتائج الإيجابية.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] **Sousa N.M., figueirodo J.R., Elamiri B., Banga M.H., Beckers J.F. (2002).** Influence potentielle des hormones et des protéines synthétisée au cours de la gestation sur l'état immunitaire de la mère. *Ann. Med vet*; 147 p: 71-83.
- [2] **kovalevskaya G., Genbacev O., Fisher S.J., Caceres E., O'Connor J.F. (2002).** Trophoblast origin of hCG isoforme: cytotrophoblaste are the primary source of choriocarcinome like hCG *Mol Cell Endocrinol*; 194: 147-55.
- [3] **Backer B., Goffin F., Nisolle., Minon J.M. (2013).** Elévation faible d'hCG en dehors d'un contexte gravidique : à propos de deux cas et revue de la littérature. *Annale de biologie clinique*; 17(4) 496-502.
- [4] **Berville J.D., lewish S., Blagovcanih D., Desai V., Swann S. (2007).** Dosage de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG et bêta hCG) par la technologie Loci. Poster présenté au 24 ème colloque CORATA. IBS actualité en immunoanalyse et biologie spécialisé. Maison de la chimie. Paris.
- [5] **Cole L.A. (2009).** Human chorionic gonadotropin and associated molecules. *Expert Rev Mol Diag* ; 9: 51-73.
- [6] **Bonneau F. (2013).** Information et compréhension du test de dépistage de la trisomie 21 par les patientes. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de sage-femme. CHU Caen .112p.
- [7] **Allali S., Andiva S. (1998).** Hormone chorionique gonadotrope en 1998. *Feuillets Biol*; 39/222 p: 53-58.
- [8] **Milgrom E. Baulieu E.E. (2008).** Hormones, santé publique et environnement. Éditions EDP Sciences. Rapport RST n° 28.

Références bibliographiques

- [9] **Horn F., Lindenmier G., Grillhosl C., Moi I., Berghold S., Scheneider N., Munster B. (2005).** Biochimie humaine. Médecine- Sciences Flammarion(ed).
- [10] **Campbell N., Reece J. (2007).** Biologie. 7ème édition ; p :1031-1033.
- [11] **LUMBROSO S. (2010).** Régulation hormonale et Chronobiologie
Structure biochimique des hormones : Hormones stéroïdes. PCM2. Faculté de
médecine Montpellier. <http://www.med.univ.montp1.fr/>.
- [12] **Poupon C., Burtin-Curutchet M.L., Cano Y., Guibourdenche J., KhalfonD , Merlin M., Morin C., Proton D., Roux F., ScialomV. (2005).** Les
techniques de dosage immunologique de l'hCG sérique. Spectra Biologie
n°148 ; p : 60-61.
- [13] **Combarnous Y. (2009).** Structure et relations structure-activité des
hormones folliculo-stimulantes recombinantes humaines. Synthesemedecine.
15 : 167_47.
- [14] **Abbara A. (2011).** Les hormones et leurs rôles dans le domaine de la
gynécologie et l'obstétrique. Endocrinologie gynécologique : livre de
gynécologie obstétrique.
- [15] **Mélanie C. (2012).** Expression et régulation des sous-unités bêta de
l'hCG au cours de la différenciation du trophoblaste humain au premier
trimestre de grossesse. Thèse de doctorat de l'Université de paris Descartes
.346p

Références bibliographiques

- [16] **Diaz-Cueto L., Barrios-de-Tomasi J., Timossi C., Mendez J.P., Ulloa-Aguirre A. (1996).** More in-vitro bioactive, shorter-lived human chorionic gonadotrophin charge isoforms increase at the end of the first and during the third trimesters of gestation. *Mol. Hum. Reprod.* 2, 643–650.
- [17] **Spencer K., Enofe O., Cowans N.J., Stamatopoulou A. (2009).** Is maternal renal disease a cause of elevated free beta hCG in first trimester aneuploidy screening?. *Prenat Diagn*; 29: 1045-1049.
- [18] **Romoscanu I. (2007).** L'hormone chorionique gonadotrophique et l'Alpha-foetoprotéine: leurs corrélations avec la pre-eclampsie. Thèse pour l'obtention de grade de docteur en médecine. Faculté de médecine. Université de Genève. 102p
- [19] **Backer B., Goffin F., Nisolle M., Minon J M. (2013).** Élévation faible d'hCG en dehors d'un contexte gravidique à propos de deux cas et revue de la littérature. *Annale de la biologie clinique*; 17/4 p: 496-502
- [20] **HAMDI S. (2010).** Hormones glycoprotéiques. Thèse DESC Médecine de la reproduction université de Toulouse. 88p
- [21] **Igrand J.** Gonadotrophine (hCG) et sa sous unité beta libre EMC. *Encyclopediemedico biologique*; 90-10-0495.
- [22] **Guinbourdenche J., Burc L, Frenedo J.L., Flament J., Kacprzak A., Bazot I., Jeanne P., Porquet D., Muller F. (2002).** physiologie pathologique de l'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) dans la trisomie 21. *Immunoanalbiolspee* 2002. 17(1) P: 2-10.

Références bibliographiques

- [23] Scheider. Gonadotrophine chorionique humaine..
<http://www.lecomprime.com/>.
- [24] **Bidart J.M. (1995)**. L'hormone chorionique gonadotrope (hCG) et ses formes moléculaires. *immunoalbiol spec* ; 10:341-346.
- [25] slideshare. glycoprotéine hormone. <http://www.slideshare.net/>.
- [26] **Cole L.A. (2009)**. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reprod Biol. Endocrinol.* 7: 8.
- [27] **Cole L.A. (2010)**. Hyperglycosylated hCG, a review. *Placenta* 2010; 31:653-64.
- [28] **Sherwood. (2012)**. *Physiologie humaine*. 2e édition. p:614-616.
- [29] **Lansac J., Lecomte P. (1999)**. *Gynécologie pour le praticien*. 52 éd. Masson. Paris.
- [30] **Beaudonnet A., Patricot MC. (1995)**. hormone chorionique gonadotrope (hCG) sous unité bêta hCG. *Biologie médicale* n°2. p 55-62.
- [31] biomnis. hCG et la sous unité bêta hCG libre. <http://www.biomnis.com/>.
- [32] **islami D., Bishof P., Chardonnens D.(2003)**. Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and hCG *mol hum reprod*; 9, 7, p. 395-8.
- [33] **Shi L.Y., Zhang Z.W., Li W.X. (1994)**. Regulation of human chorionic gonadotropin secretion and messenger ribonucleic acid levels by follistatin in the NUCC-3 choriocarcinoma cell line. ; 134 (6): p2431-7.

Références bibliographiques

- [34] Nagirnaja L., Rull K., Uusküla L., Hallast P., Grigorova M., Laan M. (2010). Genomics and genetics of gonadotropin beta-subunit genes: Unique FSHB and duplicated LHB/CGB loci.
- [35] Ambrus G., Rao C.V. (1994). Novel regulation of pregnant human myometrial smooth muscle cell gap junction by human chorionic gonadotropin. *Endocrinology*; 135. 6. P. 2772-9
- [36] Future maman. hCG. <http://www.futuremamanenceinte.com/>.
- [37] Kamal A. gonadotrophine chorionique humaine hCG. <http://www.pharamster.over-blog.com/>.
- [38] Dong M., Ding G., Zhou J. (2008). The effect of trophoblasts on T lymphocytes: possible regulatory effector molecules a proteomic analysis. *Cell Physiol Biochem*; 21.p5-6, 463-72.
- [39] Zenclussen A. C., Gerlof K., Zenclussen M.L., (2006), regulatory T cells induce a privileged tolerant microenvironment at the fetal-maternal interface. *Eur J Immunol*; 36, 1.p.82-94.
- [40] Kane N., Kelly R., Saunders P.T. (2009). Proliferation of uterine natural killer cells is induced by human chorionic gonadotropin and mediated via the mannose receptor. *Endocrinology*; 150, 6, p. 2882-8.
- [41] Tests de grossesse. *Journal des femmes santé* (2015). <http://www.journaldesfemmes.com/>.
- [42] Rhabaoui. (2008). test de grossesse. *L'officiel de la pharmacie. Conseils officinaux de la femme* ; 29, p 20-22.

Références bibliographiques

- [43] **Cole L.A., DuToit S., Higgins T.N. (2011).** Total hCG tests. Clin Chim Acta ; 412: 2216-22.
- [44] **fallet C. (2010).** Les différentes formes d'hCG circulantes : de leurs sources de production aux applications clinique. J Genycole obst et biol reprod ;39 ;11-12
- [45] **Lysanne Martel, B. Pharm. (2013).** Mise à jour sur les tests de grossesse. cahier de FC de L'actualité pharmaceutique. p :25-27
- [46] **Guérin B., Coquel PH. (2009).** Diagnostic précoce de la grossesse intra et extra-utérine. <http://www.em-consulte.com/>.
- [47] gynécologie médicale. hCG, grossesse intra et extra utérine. <http://www.cdgm.org/>.
- [48] Allo docteur. Grossesse : qu'est-ce que le taux de bêta HCG ?. <http://www.allodocteurs.fr/>.
- [49] **Gervaise A., Fernandez H. (2010).** Prise en charge diagnostique et thérapeutique des grossesses extra-utérines. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction ; 39: p17-24.
- [50] **Spencer K., Aitken D.A., Crossley J.A. (2000).** Maternal serum total hCG and free β hCG in the first trimester from trisomy 21 pregnancies Prenat Diagn; 20 p: 770-771.
- [51] **Bogart MH., Pendarian MR., Jones OW. (1987).** Abnormal maternal serum chorionic gonadotropine in pregnancies with fetal chromosome abnormalities prenat. Diag; 7:623-730.

Références bibliographiques

- [52] **Macri J.N., Kasturi R.V., Krantz D.A., Cook E.J., Moore N.D., Young J.A., Romero K., Larsen J.W. (1990).** Maternal serum down screening: free beta protein is a more effectif marker than human chorionique gonadotropin. *AmJ obstret Gynecol*; 163(4): 1248-1253.
- [53] **spencer K., coombes E.J., Mallard A.S., ward A.M. (1990).** Free beta human chorio gonadotropin in down syndrome screening: multi center study of its roles compared with other biochemical markers. *Ann clin biochem* ; 296(5): 506-518.
- [54] **Poloce F., BOISSON G.C. (2010).** Marqueurs sériques maternels d'anomalie foetales (trisomie 21, anomalies chromosomique, spina bifida) *Revue francophone des laboratoires* ; 40:59-68.
- [55] **Muller F., Dallaire L. (2000).** Marqueurs sériques et diagnostic prénatal de la trisomie 21. *Médecine sciences*; 16 : 373-7.
- [56] **DjeffalC., Demailly M., Tillou X., Fabien Saint, J. P. (2008).** Place du dosage sérique de l'HCG dans la surveillance des tumeurs testiculaires séminomateuses non sécrétantes . *progrés en urologie* ; 18, P: 654–656
- [57] **sapin S. (2008).**Interférences dans les immunodosages : mécanismes et conséquences en endocrinologie Service d'explorations fonctionnelles par les isotopes. *Nouvel hôpital Civil. Faculté de médecine. UMR 7191 CNRS-université Louis-Pasteur. 67091 Strasbourg cedex. France.*

Références bibliographiques

[58] Menarini diagnostics. An innovative operating principle
cia (Chemiluminescence enzyme immunoassay) based technology.
<http://www.menarinidiagnostics.com/>.

[59] **Leporrier N, Herrou M, Morello R, Leymarie P. (2003).** Fetuses with
Down's syndrome detected by prenatal screening are more likely to abort
spontaneously than fetuses with Down's syndrome not detected by prenatal
screening. BJOG; 110:18-21.

[60]- **Sowter M.C., Farquhar C.M. (2004).** Ectopic Prenancies: an update. Cur
Opin in Obstet Gynecol; 16: 93-298.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé.

Résumé : L'hormone chorionique gonadotrope (hCG) est sécrétée par les trophoblastes placentaires en cas de grossesse. Lorsque toute forme de grossesse (normale ou anormale) est écartée, une persistance d'hCG peut évoquer la présence d'un contexte tumoral.

Dans le cadre de cette étude 86 patients (non hospitalisés) sont recrutés : 49 sont des femmes enceintes et 37 sont des hommes.

L'objectif de ce travail est de réaliser le dosage d'hCG et sa fraction libre β hCG, en indiquant son intérêt clinique. C'est ainsi que, les deux paramètres sont évalués par une trousse de dosage immunologique, sur l'automate IMMULITE 2000.

Pour la population féminine, les concentrations médianes pour la surveillance de la grossesse, sont déterminées. Le taux sériques d'hCG et β hCG en fonction de l'âge de la grossesse montrent une variation analogue des deux paramètres.

Une corrélation significative entre hCG et β hCG est notée.

Bien que 10.20% des femmes présentent des taux d'hCG légèrement élevés. Le rapport β hCG/hCG en fonction de l'âge de grossesse varie selon un intervalle de [0.1%-0.9%] est consécutif à une grossesse normale. Le rapport étant <1%.

Chez la population masculine, l'étude est présentée par le taux sérique de la β hCG. Celle-ci, est utilisée comme marqueur tumoral. La comparaison de nos résultats avec des valeurs de référence montre que 29.73% des cas serait du à la présence d'une anomalie à cause de la positivité des résultats.

Mots clés : hormone gonadotrophine chorionique, trousse de dosage, marqueur tumoral.

Laboratoire de recherche : Laboratoire d'Hormonologie- CHU Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BENLATRECHE M. (M.A - UFM Constantine)

Rapporteurs : Mme BENMBAREK K. (M.C - UFM Constantine)

Mme KAHALI L. (M.A - UFM Constantine)

Examinatrice : KLIBET F. (M.C - UFM Constantine)

Date de soutenance : 30/06/2016