



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الاخوة توري منتوري
معية للافوة تورى نطينة
ية وم للطبيعة لحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Intitulé :

**INTERFÉRENCES MÉDICAMENTEUSES DE
L'ÉLECTROPHORÈSE CAPILLAIRE DES PROTÉINES SÉRIQUES**

Présenté et soutenu par : SEBBANE Meissa

MEDJEMEDJ Hadjer

Encadré par :
Pr HAMMA Siham Amina

Membres du jury :
Dr BENATALLAH Anouar
Pr NACIB YUCEF

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Louange à Dieu, Seigneur des mondes, et que la bénédiction et la paix soient sur le messager le plus honorable, notre prophète Muhammad, que Dieu le bénisse et lui accorde la paix.

Soit après:

Je remercie Dieu Tout-Puissant de m'avoir aidé à mener à bien ce mémoire

j'envoie les versets de remerciements et de gratitude au professeur Hamma Siham Amina, qui a supervisé ce mémoire, et y a consacré beaucoup de son temps.

L'ouverture dans son cœur, le sublime de sa morale et son style distingué de suivre le travail ont eu le plus grand impact pour aider à mener à bien ce mémoire.

Je demande à Dieu Tout-Puissant de la récompenser avec la meilleure récompense et d'écrire ses actions dans la balance de ses bonnes actions.

Dédicaces

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux.

Je dédie ce travail à

A mon cher père, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le déroulement et le respect que j'ai toujours eus pour vous .Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A ma très chère mère, affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du déroulement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Qu'ALLAH leur procure bonne santé et longue vie

A mes adorables frères Maroïn , Ayoub et Abd Rahim

A mes adorables sœurs Bessma et Meriem. Qui sont toujours à mes cotés

A Dr Boufama Aya , qui a été toujours serviable avec un grand savoir et des orientations éclairantes accompagner d'une grande gentillesse.

SEBBANE Meïssa

Dédicaces

Je remercie Dieu Tout-Puissant pour son aide pour mener à bien cette recherche.

À celui qui m'a donné tout ce qu'il avait pour que je puisse réaliser ses espoirs pour lui, à celui qui m'a poussé en avant pour arriver à mes objectifs et mes rêves.

À la personne qui possédait l'humanité avec tout pouvoir, à celle qui veillait sur mon éducation avec d'énormes sacrifices Traduit dans sa vénération pour la science, à ma première école de la vie,

Mon père, cher à mon cœur, que Dieu préserve sa vie.

À celle qui lui a donné une joie et une tendresse sincères, à celle qui a été patiente avec tout, qui a pris soin de moi

Le droit de soins a été mon soutien dans l'adversité, et sa demande a été bonne chance pour moi, elle m'a suivi pas à pas

Dans mon travail, à qui je me détendais chaque fois que je me souviens de son sourire sur mon visage, source de tendresse, ma mère, mon ange le plus cher

Le cœur et les yeux, que Dieu les récompense avec moi dans les deux mondes.

Je dédie également le fruit de mes efforts au Docteur Aya Boufama, qui chaque fois que la route s'assombrissait devant moi j'y ai recouru, puis elle l'a éclairé pour moi, et chaque fois que je désespérais elle a semé pour moi l'espoir d'avancer

A mon Mari farid

Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Cher mari j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour. Que Dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

A ma très chère fille zeineb :

A toi, source de ma force et de mon inspiration, à toi, ô puissance qui a instillé dans mes tripes,

à toi qui m'as rendu plus insistant pour atteindre mes rêves, que Dieu te protège et prenne soin de toi, je t'aime zeineb .

Au frère de mon mari, Walid:

Le plus grand de mes respects et remerciements à vous, merci pour votre aide , car vous m'avez soutenu dans mes études universitaires, vous êtes le frère que ma mère n'a pas accouché

Apporte dans leurs cœurs un peu de bonheur à mes frères Ibrahim Abdou Hichem et Ilyes .

Et mes sœurs qui ont partagé le fardeau de la vie avec moi

Medjmedj hadjer

SOMMAIRE

Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Introduction.....	1

CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS SUR L'ÉLECTROPHORÈSE

1-Définition.....	3
2-Historique d'électrophorèse.....	3
3- Les différents types d'électrophorèse	4
3.1 Électrophorèse en veine liquide	4
3.2 Électrophorèse de zones.....	5
3.2.1 Électrophorèse sur papier	5
3.2.2 Électrophorèse sur acétate de cellulose.....	6
3.2.3 Électrophorèse sur gel d'amidon.....	6
3.2.4 Électrophorèse sur gel d'agarose	6
3.2.5 Électrophorèse sur gel de polyacrylamide	6
3.3 Électrophorèse capillaire.....	7
3.3.1 Principe de l'électrophorèse capillaire	8
3.3.2 Instrumentation.....	9
3.3.3 Les différents modes d'électrophorèse capillaire	10
4 Les applications biologiques.....	11

CHAPITRE II : L'ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES

1 Définition de l'électrophorèse des protéines.....	13
3 Indication de l'électrophorèse des protéines sériques	15
4 LES PROTEINES SERIQUES	16
4.1 Définition des protéines sériques	16
4.2 Les principales protéines sériques	17
4.2.1 Groupe des albumines.....	17
4.2.2 Groupe des globulines	19
4.2.3 Groupe des gammaglobulines	24
5 Profils électrophorétiques	25
5.1 Définition du profil électrophorétique	25

5.2 L'interprétation du profil électrophorétique d'un sérum normal	26
5.3 Interprétation illustrée des principaux profils électrophorétiques pathologiques	27
5.3.1 Bisalbuminémie	27
5.3.2 Syndrome inflammatoire aiguë	28
5.3.3 Syndrome inflammatoire chronique	29
5.3.4 La Cirrhose hépatique	29
5.3.5 Syndrome néphrotique	30
5.3.6 Les Anomalies des gammaglobulines.....	31
5.3.7 Déficit en alpha 1 antitrypsine.....	33

CHAPITRE 3 LES INTERFÉRENCES MÉDICAMENTEUSES DE L'ÉLECTROPHORÈSE CAPILLAIRE DES PROTÉINES SÉRIQUES

1- Interférences d'origine endogène.....	35
1.1 L'hyperlipémie	35
1.2 La bilirubine	35
1.3 Anticorps anti-animaux.....	36
1.4 Hémolysé	36
1.4.1 Hémolysé in vivo.....	36
1.4.2 Hémolysé in vitro	36
1.4.3 Mécanisme d'interférence Hémolysé sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques	37
1.5 Le fibrinogène	37
1.6 Protéine C réactive	38
2 Les interférences d'origine exogènes	39
2.1 Les produits de contraste	39
2.2 Les antibiotiques.....	40
2.2. a - Effet de Ampicilline –Sulbactam	41
2.2 .b Effet de Piperacillin-Tazobactam	42
2.2.c- Effet de Sulfaméthoxazole	43
2.2.d- Effet de la Ceftriaxone.....	44
2.2.e- Effet de la 5-Fluorocytosine.....	45
2.3 Anticancéreux biologiques.....	46
2.3.1 Interférence de la Siltuximab	47
2.3.2 Effet de Daratumumab et Elotuzumab.....	48
2.4 Produits de remplissage	50
2.4.1 Substituts du plasma à base de gélatine	50
2.5 Immunoglobulines polyvalentes humaines.....	51

2.6 Hydroxocobalamine	51
Conclusion.....	54
Bibliographie.....	

Liste des abréviations

ECP	Électrophorèse capillaire
ESP	Électrophorèse des protéines sériques
LCR.	liquide céphalo-rachidien
SDS-PAGE	Sodium dodecylsulfate polyacryamide gel electrophoresis
KV	kilovolt.
UV	Ultraviolet
KDa	Kilodalton
RBP.	Rétinol binding protein
CRP	Protéine C- Réactive
Ig.	Immunoglobulines
HAAAs	Human Anti-Animal Antibodies
HAMAs	Human Anti-Mouse Antibodies
IFE	Immunofixation
Ig	Immunoglobuline
IgM	Immunoglobuline M
IgD	Immunoglobuline D
IgE	Immunoglobuline E
IgA	Immunoglobuline A
IgG	ImmunoglobulineG

Liste des figures

Figure 1.	Électrophorèse en veine liquide	4
Figure 2.	Schéma d'électrophorèse sur papier	5
Figure 3	Présentation d'électrophorèse sur gel.....	7
Figure 4	Schéma d'un système d'électrophorèse capillaire.....	8
Figure 5.	Représentation du principe de l'électroendosmose	9
Figure 6.	Les différents paramètres agissant sur la migration des particules lors de l'électrophorèse	14
Figure 7	Profil électrophorétique d'un pic monoclonal	15
Figure 8	Profil d'électrophorèse des protéines sériques obtenu par capillarys	16
Figure 9.	Représentation schématique d'une immunoglobuline.....	24
Figure 10	Tracé électrophorétique normal	26
Figure 11 :	Un profil normal d'électrophorèse des protéines sériques réalisée par technique caillaire sur MINICAP-SEBIA	27
Figure 12:	Un profil électrophorèse du la Bisalbuminémie.....	28
Figure 13 :	Un profil électrophorèse de syndrome d'inflammation aiguë	28
Figure 14 :	Un profil électrophorèse de syndrome d'inflammation chronique	29
Figure 15 :	Un profil électrophorèse de Cirrhose hépatique.....	30
Figure 16 :	Un profil électrophorèse de syndrome néphrotique	31
Figure 17 :	Déficits immunitaires.....	32
Figure 18:	Un profil électrophorèse d'Hypergammaglobulinémie polyclonale	32
Figure 19 :	Un profil électrophorèse de Déficit en α 1-antitrypsine	33
Figure 20 :	Shéma représente électrophorèse des protéines sériques avec la fibrinogène.....	38
Figure 21 :	Dédoublement du pic bêta 2 résultant la présence de la chaîne légère libre monoclonal de type gamma	39
Figure 22 :	Les différentes modifications du protéinogramme par quelques PCI	40
Figure 23 :	Interférences de quelques antibiotiques.....	41
Figure 24 :	Effet de Ampicilline –Sulbactam	42
Figure 25 :	Effet de Piperacillin-Tazobactam du sérum ESP	43
Figure 26:	Effet du sulfamethoxazole du sérum ESP.....	44

Figure 27:	Effet de Ceftriaxone au cours de l'ECP.....	45
Figure 28:	Effet de la 5-FC sur le ESP.....	46
Figure 29:	Effet de la Siltuximab sur le profil de ESP.....	48
Figure 30:	Interférence par Daratumumab.....	49
Figure 31:	Aspect en cul de sac en Béta2-Gamma rapide sous plasmion... ..	50
Figure 32:	Profil électrophorétique avant et post perfusion (8q,8r) des Ig chez un patient en déficit immunitaire	51
Figure 33:	Interférence de l'hydroxocobalamine avec l'ESP	52

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Les différentes fractions des protéines sériques	17
Tableau2:	Pourcentage et concentration normales des différentes fractions des protéinésériques	26

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis son développement par Tiselius, l'électrophorèse a vu plusieurs améliorations et optimisations. Aujourd'hui, cette technique avec son large éventail d'applications est devenue une méthode incontournable dans les laboratoires de biologie clinique.

Elle consiste à faire séparer les espèces ionisées d'un mélange dans un champ électrique. Les espèces migrent dans un milieu liquide, le plus souvent supporté par un matériau inerte solide (support). Cette migration différentielle crée un profil dont l'étude permet l'estimation qualitative et semi-quantitative des constituants du mélange [1].

L'électrophorèse capillaire (ECP), de développement récent, et du fait à l'automatisation complète des étapes d'électrophorèse ainsi que la rapidité, reproductibilité et la meilleure résolution qu'elle offre par rapport aux techniques classiques, a pu remplacer ces derniers et a imposé son poids dans les laboratoires de biologie clinique [2,3].

Une des principales applications de l'électrophorèse est celle d'électrophorèse des protéines sériques. Les protéines sont séparées en six fractions en fonction du rapport charge / poids moléculaire, du plus faible au plus élevé : l'albumine ; les α 1-globulines ; les α 2-globulines ; les β 1-globulines ; β 2-globulines et les γ -globulines.

L'analyse des protéines sériques par électrophorèse est une analyse utile dans de nombreuses situations pathologiques pour poser un diagnostic, préciser la gravité d'une maladie ou suivre l'efficacité d'une thérapeutique. Actuellement, la seule application retenue pour l'ECP est la détection des pics monoclonaux des hémopathies malignes [4].

Comme toute méthode analytique, l'ECP est sujette à des interférences qui rendent l'interprétation des profils électrophorétiques délicate. Ces interférences sont de double origine, elles peuvent être endogènes tel que l'hémolyse, la bilirubine et la lipémie ou exogènes dont essentiellement les artefacts d'origine médicamenteuse. Souvent, ces produits mènent à l'apparition d'un pic sur le profil électrophorétique et ainsi entraînent une confusion de diagnostic pour le biologiste et le clinicien [5].

Objectif :

L'objectif de ce travail est de mettre le point sur les principales interférences médicamenteuses de l'électrophorèse capillaire.

CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS SUR L'ÉLECTROPHORÈSE

1- Définition

L'électrophorèse est une technique d'analyse physicochimique qui sépare des espèces ionisées dans un champ électrique. Le terme électrophorèse dérive du préfixe "électro" désignant l'électricité et la racine phorèse du grec phoros qui signifie transfert d'un côté à un autre [6]. la migration d'ions chargés peut être mobilisée soit par attraction, soit par répulsion. De manière pratique, la cathode et l'anode sont placés dans une solution électrolytique, dès l'application du champ électrique; les cations vont s'orienter vers la cathode tandis que les anions seront attirés par l'anode. les molécules neutres, en revanche ne seront attirés par aucune des électrodes [7].

2- Historique d'électrophorèse

L'origine de cette technique a été imaginée par **S.E Linder et H. Picton en 1892**. Ils se sont inspirés des études de **Hermann Von Helmholtz** menées sur l'électro-osmose. Celui-ci constate qu'il est possible, sous un champ électrique, de déplacer des particules chargées vers le pôle de signe opposé à leur charge.

En 1937, Arne Wilhelm Kaurin Tiselius, mit au point la première électrophorèse: l'électrophorèse libre. Cette technique lui permit de séparer les protéines du sérum sanguin en appliquant un champ électrique. La solution est placée dans un tube en U de section carée afin de réaliser des mesures optiques au travers du tube. Il a pu ainsi obtenir sur le pôle positif des protéines de charge négative comme l'albumine et sur le pôle négatif des protéines de charge positive comme les globulines.

En 1939, P.König et D Von Klobusitzky ont séparé les composants du venin de serpent en élaborant la technique d'électrophorèse sur papier.

En 1952, Pierre Grabar a élaboré, en collaboration avec **C.A. Williams**, une méthode connue sous le nom d'analyse immuno-électrophorétique, qui permet d'analyser de manière précise des mélanges très complexes d'antigène.

En 1955, O.Smithies a mis au point la technique d'électrophorèse en gel d'amidon.

En 1957, Joachim Kohn a séparé les différents phénotypes de l'hémoglobine en élaborant la technique sur membrane d'acétate de cellulose.

En 1969, Beber et Osborn ont introduit l'agent dénaturant SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) pour séparer les différentes sous-unités protéiques [8]

Au début de 1959 [9] et Avec l'augmentation des demandes de la grande résolution et de la précision qualitative, une nouvelle technologie a arrivé sur la scène analytique : c'est l'air de l'électrophorèse capillaire (CE). Le travail pionnier réalisé par Hjerten, rapporté en 1967 [10]a été considéré comme le point de départ de la CE moderne. Bien que les séparations ont été obtenus en utilisant des tubes avec un diamètre interne de 3 mm, tous les problèmes liés à cette nouvelle technique ont été abordés et partiellement résolus. Parmi eux se trouvaient écoulement électroosmotique, détection, injection d'échantillon, système de refroidissement et le diamètre du tube utilisé [11].

3- Les différents types d'électrophorèse

Au court du temps, l'électrophorèse a assisté à plusieurs modifications et évolutions ce qui permet de distinguer les variétés suivantes:

3-1- Électrophorèse en veine liquide

Mise au point par Tislius, cette technique correspond à la première méthode électrophorétique décrite.

La solution d'échantillon est placée dans un tube en U au sein d'un tampon de composition déterminée (**Figure 1**) soumis à un champ électrique de courant continu.

Cette méthode permet la détermination des mobilités électrophorétique des différents constituants d'un mélange, cependant elle est très coûteuse.

La mise en œuvre est longue et délicate. Les particules se séparent partiellement dans chaque branche dont les frontières sont mises en évidence par des méthodes optiques telles que l'absorption ultra-violette pour les protéines [12]

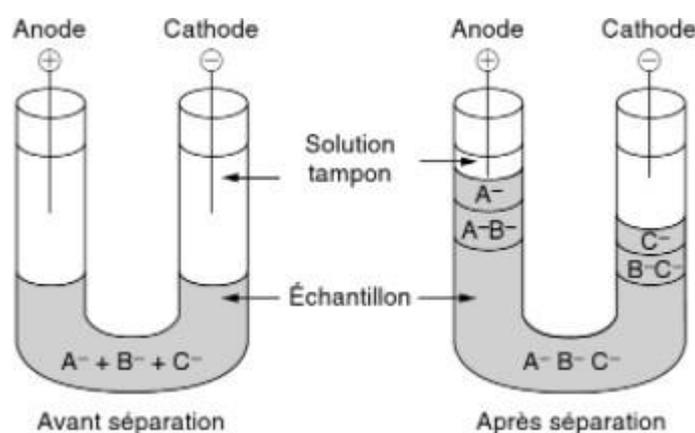


Figure 1 : Électrophorèse en veine liquide [12]

3-2- Électrophorèse de zones

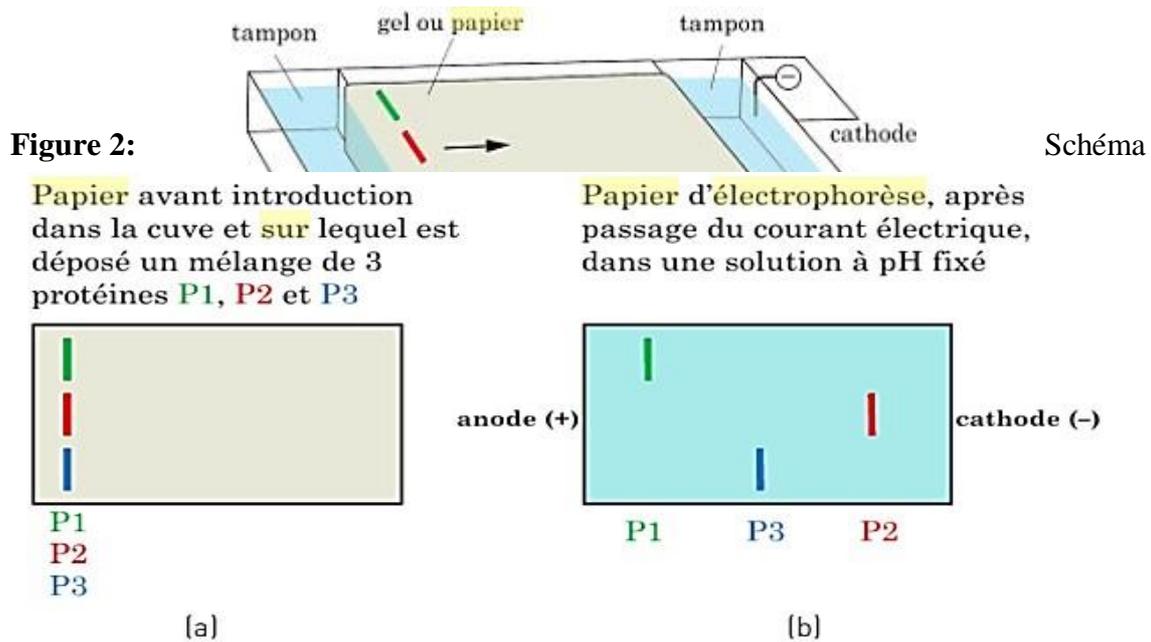
La migration des particules se fait dans un support poreux stabilisant la phase liquide (tampon) : on parle alors d'électrophorèse sur support ou d'électrophorèse de zones. Le support doit être homogène, poreux et inerte. Cependant, la condition d'inertie n'est jamais respectée et le support joue un rôle plus ou moins important dans la séparation. Dans cette technique les différents constituants de l'échantillon migrent sous formes de bandes (zones) bien individualisées et de petites quantités de matériel biologique suffisant [8, 13,14 ,15].

Selon la nature du support, on peut distinguer plusieurs types d'électrophorèse de zone :

3-2-1- Électrophorèse sur papier

C'est une technique peu résolutive destinée surtout à séparer des petite molécule tel que les acides aminés. Des phénomènes d'interférence liés à la charge des acides aminés et de la cellulose du papier interviennent de façon notable.

Une goutte de solution contenant l'échantillon à analyser est déposée en un point au milieu d'une bande de papier filtre ou d'acétate de cellulose imbibée de solution tampon (**Figure 2**). Les deux extrémités de la bande sont plongées dans deux réservoirs contenant le tampon. Chaque réservoir est connecté à une électrode. Un champ électrique continu (souvent 20 V/cm) est appliqué, les ions de l'échantillon se déplacent vers l'électrode de signe opposé. En fin d'électrophorèse, la bande de papier est séchée et les constituants de l'échantillon sont révélés par une réaction colorimétrique [17].



d'électrophorèse sur papier [16]

3-2-2- Électrophorèse sur acétate de cellulose

L'électrophorèse se fait dans des conditions proches de celles de l'électrophorèse sur papier. Les bandes d'acétate de cellulose sont fragiles, mais elles limitent la diffusion des molécules à séparer. La révélation des protéines se fait également par une réaction colorimétrique (rouge de ponceau par exemple). Cette technique, peu résolutive, permet de séparer grossièrement des groupes de protéines. Elle est peu coûteuse et permet une analyse rapide des protéines sériques.

3-2-3- Électrophorèse sur gel d'amidon

L'électrophorèse sur gel d'amidon est particulièrement utile pour l'analyse et la séparation des isoenzymes. Le principe de la technique repose sur une séparation électrophorétique des protéines sur une matrice poreuse composée d'un gel d'amidon, de pH précis. Les enzymes présentes sont détectées en incubant le gel dans une solution contenant un substrat spécifique de l'enzyme donnant lieu à un produit coloré. Les profils obtenus sont désignés sous le nom de zymogrammes .

3-2-4- Électrophorèse sur gel d'agarose

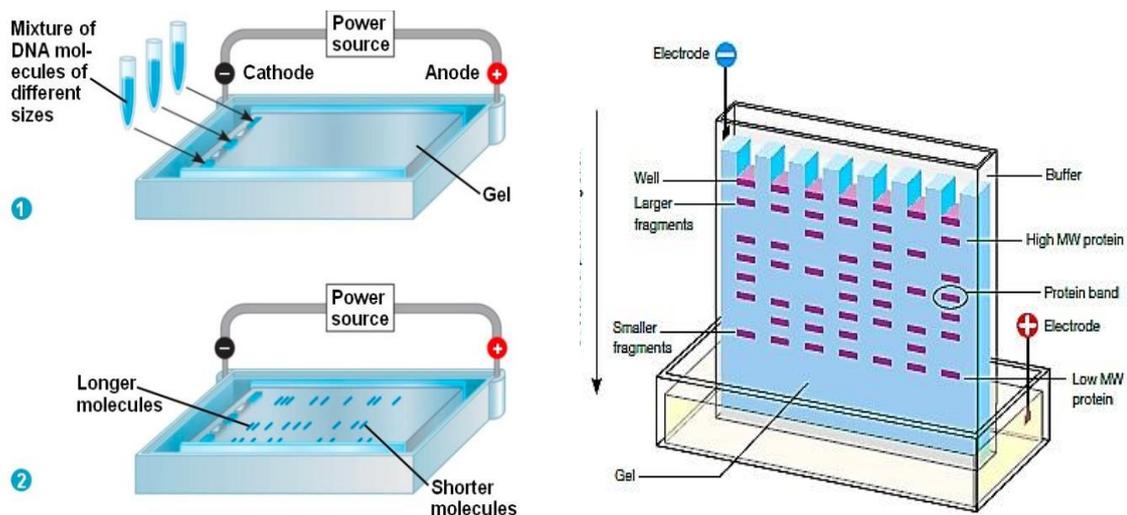
L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour séparer les protéines, les acides nucléiques en fonction de leurs poids moléculaires.

Les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures .

3-2-5- Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Les gels, formés entre deux plaques de verre, sont obtenus par polymérisation d'un mélange d'acrylamide ($\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) et de bisacrylamide ($\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$), ce qui aboutit à la formation d'un réseau réticulé(**Figure 3**). Les concentrations en acrylamide et le ratio acrylamide/bisacrylamide déterminent la taille des pores et donc les capacités résolutive du gel. Ces techniques peuvent être utilisées pour séparer des protéines ou bien des acides nucléiques (de courte séquence en général) en condition native ou dénaturante. L'électrophorèse est réalisée à l'aide d'un montage vertical, les échantillons étant déposés dans des puits localisés au sommet du gel .

Figure 3: Présentation d'électrophorèse sur gel [18]



3-3- Électrophorèse Capillaire

L'électrophorèse capillaire est une technique de séparation électrocinétique effectuée dans un tube de faible diamètre remplie d'un tampon composé d'électrolytes. Le capillaire utilisé est ouvert à ses deux extrémités. Ces derniers plongent dans deux réservoirs d'électrolytes [19]

A l'aide d'un champ électrique de haute tension, les molécules chargées seront séparées selon leur mobilité qui dépend du rapport taille/charge de ces molécules. Un détecteur est placé avant la sortie du capillaire (**Figure 4**). C'est une technique récente d'analyse des protéines qui offre essentiellement les avantages de la rapidité, de la très grande résolution et, de la très grande sensibilité de la détection.

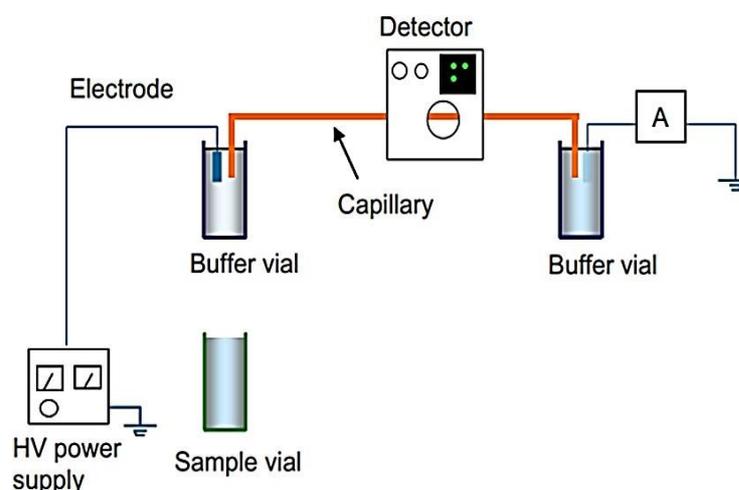


Figure 4: Schéma d'un système d'électrophorèse capillaire. [20]

3.3.1 Principe de l'électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire repose sur l'utilisation des tubes capillaires très fins en silice fondue (20 à 200 μm de diamètre interne), de 20 cm à 1 mètre de long, et de très hauts voltages (15 à 30 kV) (**Figure 5**). Leur surface interne peut être recouverte d'une couche de silice vierge non désactivée, ou par divers groupements chimiques. Ils peuvent être remplis de tampon ou de gels de polyacrylamide réticulé .[13]

L'électrophorèse capillaire est une technique particulièrement adaptée aux composés solubles en phase aqueuse et possédant une fonction ionisable. La technique peut également être appliquée à des molécules non ionisées en présence de micelles de détergent appropriées. Par de nombreux aspects, elle se présente comme un intermédiaire entre l'électrophorèse classique de zone sur support et la chromatographie liquide .

Le principe de séparation est basé sur deux phénomènes majeurs : l'électro-migration et l'électro-endosmose .[21]

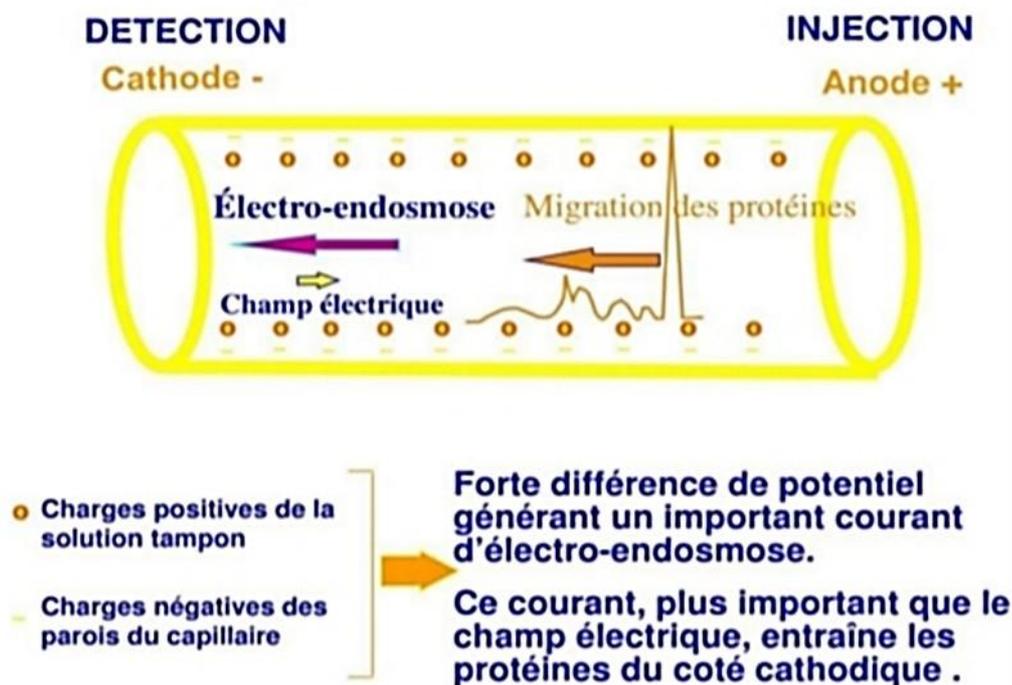


Figure 5: Représentation du principe de l'électroendosmose [21].

3.3.2 Instrumentation

L'appareillage est constitué d'un générateur de haute tension, d'un système d'injection des échantillons à analyser, d'un capillaire dont les deux extrémités sont en contact avec le tampon, et d'un dispositif de détection à travers le capillaire. Les différentes étapes de l'analyse sont contrôlées par un ordinateur : [14]

a) Le générateur

Le plus souvent, les séparations sont faites à tension constante, à des valeurs pouvant atteindre 30 KV. Les courants peuvent atteindre 100 à 200 μA .

b) Les capillaires

Les capillaires ont des diamètres internes de l'ordre de 20 à 100 μm et des longueurs variant de quelques centimètres jusqu'à un mètre. Les deux extrémités des capillaires plongent dans des récipients contenant le tampon.

c) Système d'injection

L'injection est réalisée le plus souvent au niveau de l'extrémité anodique du capillaire (suite à l'électroendosmose). Quelques nanolitres sont injectés selon un des deux procédés suivants :

- ✓ **Électromigration** : une extrémité du capillaire et l'électrode, en général du côté anodique, sont plongées dans la solution à analyser. Une tension de 5-10 kV est appliquée pendant un temps court. La quantité injectée est fonction de la tension et du temps d'injection ;
- ✓ **Pneumatique par surpression** : par la création d'une surpression sous scellé à l'entrée du capillaire, plongeant dans la solution à analyser, généralement du côté anodique.

d) Détecteur

Le mode de détection le plus utilisé est l'absorptiomètre. L'absorbance est mesurée à travers le capillaire lui-même, à un endroit rendu transparent. Le très faible diamètre du capillaire (25 à 100 μm) impose un système particulier de focalisation afin d'augmenter le chemin optique et, en conséquence, la sensibilité. L'absorptiométrie peut être directe, lorsque les solutés absorbent dans l'UV-visible, ou indirecte, dans le cas contraire. Dans ce dernier cas, on ajoute au tampon un chromogène absorbant dans le visible, créant un bruit de fond mesurable. La présence des solutés se révèle par une diminution de l'absorbance.

D'autres systèmes sont également utilisés : fluorimétrie (éventuellement laser), électrochimie... et aujourd'hui la spectrométrie de masse.

3.3.3 Les différents modes d'électrophorèse capillaire

- L'électrophorèse capillaire de zone (CEZ)

Les réservoirs d'entrée et de sortie du capillaire sont remplis avec le même électrolyte. Sous l'influence d'un champ électrique en ces réservoirs les solutés vont se séparer en fonction de leur rapport charge/taille [22].

- La focalisation isoélectrique en capillaire (CIEF)

Un gradient de PH est formé le long du capillaire grâce à l'utilisation d'ampholytes de transport, d'une solution acide en entrée et d'une solution basique en sortie de capillaire .

Les protéines vont se déplacer au sein de ce gradient , puis , elles vont s'immobiliser et se focaliser dans la zone dont le PH correspond à leurs points isoélectriques [23, 24]

- L'électrophorèse capillaire en gel (CGE)

L'utilisation d'une matrice de tamisage est indispensable si les espèces possèdent les même ,ration charge-taille, dans ce mode, les molécules migrent au travers des pores du gel et sont séparés en fonction de leurs tailles. Les molécules les plus grosses sont plus fortement ralenties par le gel que celles de petites tailles. Pour les peptides comme pour les protéines , les électrophorèse se font habituellement en présence de SDS et de gel polyacrilamide (SDS-PAGE) [25 ,26]

- Isotachophorèse (ITP)

Ce mode permet de séparer les molécules en fonction de leurs mobilités en s'affranchissant de la dispersion des molécules provoquée par la diffusion. Les protéines sont résolues sous la forme de zone contiguë. Dans les laboratoires , cette technique est davantage utilisée pour concentrer un échantillon [27-28]

- L'électrochromatographie capillaire(CEC)

La séparation des molécules non chargées est assurée par interaction différentielle du soluté pour la phase mobile ou la phase stationnaire .

Les espèces chargées sont séparées, d'une part, en fonction de leurs charges sous l'influence du champ électrique, mais également en fonction de l'affinité des molécules pour la phase stationnaire [29]

- Chromatographie électrocinétique micellaire capillaire(MEKC)

Ce mode proposé par Terabe, permet de séparer des molécules neutres (de petites tailles) en fonction de leurs répartition entre 2 phases. Ces séparations nécessitent l'ajout de tensioactif chargé dans le tampon de migration [30]

4. Les application Biologiques

Parmi les applications biologiques de l'électrophorèse, on cite:

- ✓ l'analyses des protéines du liquide céphalo-rachidien (LCR) ,
- ✓ l'analyse des acides aminés soufrés,
- ✓ l'analyse des protéines urinaires
- ✓ l'électrophorèse immunosubstraction [31]
- ✓ l'analyse des acides organiques [32];
- ✓ l'analyse des acides minéraux
- ✓ l'analyse des cations minéraux
- ✓ l'analyse des nucléotides
- ✓ l'analyse des sucres.

CHAPITRE 2 :
L'ÉLECTROPHORÈSE
DES PROTÉINES
SERIQUES

1. Définition de l'électrophorèse des protéines

L'électrophorèse des protéines (ESP) est une technique physicochimique qui sépare des constituants ionisés dans un champ électrique[33]

Elle permet l'analyse et la séparation des protéines sériques en plusieurs fractions selon leurs propriétés physiques, essentiellement selon la taille et la charge électrique de ces molécules.

Couramment utilisée en pratique clinique , cette analyse reflète l'ensemble des protéines sériques [34].

L'ESP était traditionnellement réalisée sur gel d'agarose. Cependant l'électrophorèse capillaire en veine liquide est de plus en plus utilisée car elle est automatisée . Elle est plus sensible que le gel d'agarose pour la détection d'une immunoglobuline monoclonale.

2. Principe de l'électrophorèse des protéines

L'ESP met en jeu le déplacement des protéines ionisées lorsqu' elles sont soumises à un champs électrique dans des conditions définies de force ionique, de PH, et de courant électrique appliqué [35]

Sous l'effet d'un champ électrique les protéines migrent en différentes vitesses, selon plusieurs facteurs(**Figure 6**) :

- Leur mobilité propre, sous l'effet d'un champ électrique et du tampon (charge globale de la protéine, pH du tampon, taille de molécule)[33,34].
- Le courant d'électroendosmose;
- Le courant d'évaporation;
- La texture du support ou porosité (s'il y en a);
- La diffusion.
- La texture du support ou porosité (s'il y en a).

Il existe trois courants électrophorétique [36]

- Le courant d'électroendosmose

Dépend de la nature du support (ionisation). Lorsque l'on travaille sur acétate de cellulose chargé (-), ce courant s'oppose au courant de migration (beaucoup pour les immunoglobulines, moins pour l'albumine). C'est le courant principal en électrophorèse capillaire, d'où la migration inversée par rapport à l'acétate de cellulose ou l'agarose (vers la cathode) : le premier pic correspond aux gammaglobulines (et non à l'albumine).

- Le courant d'évaporation (effet joule)

Effet Joule dû à l'augmentation de la température pendant la migration électrophorétique, il dépend du voltage, il nécessite d'utiliser, surtout à haut voltage, un refroidisseur externe (par effet Peltier : couvercle de refroidissement).

• le courant de migration (classique) : il fait déplacer la molécule, plus l'écart entre le pHi de la molécule et le pH du tampon est important, plus la molécule migrera loin. Il faut bien respecter le voltage et le temps de migration.

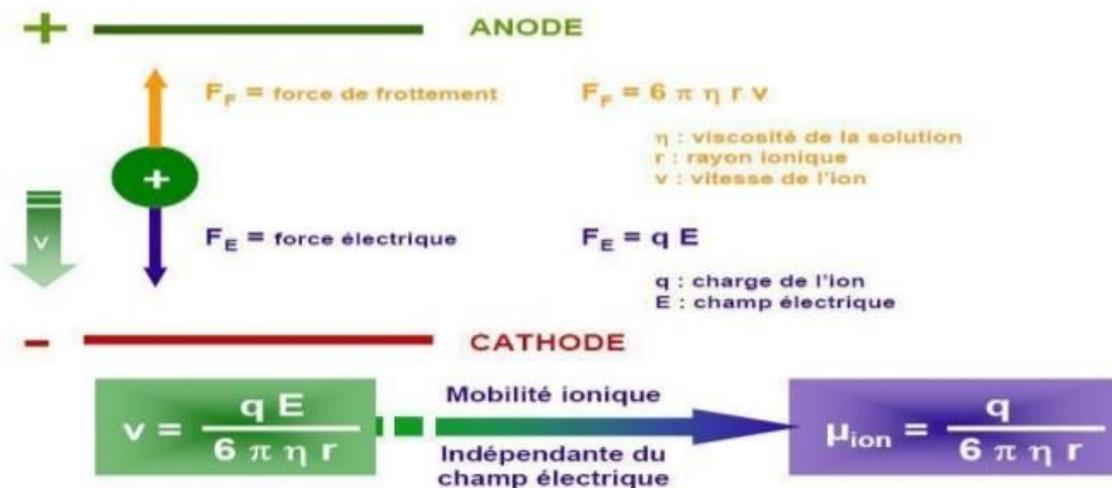


Figure 6 : Les différents paramètres agissant sur la migration des particules lors de l'électrophorèse[37]

3 Indication de l'électrophorèse des protéines sériques

L'analyse des protéines sériques par EPS est utile dans de nombreuses situations pathologiques pour orienter le diagnostic, préciser la gravité d'une maladie mais également suivre l'efficacité thérapeutique ou l'évolution. Sa prescription bénéficie d'indications cliniques consensuelles, d'autre parfois plus subjectives. Une de ses principales indications est le dépistage, à faible cout, d'une immunoglobulinopathie [4]

Actuellement, la principale raison pour laquelle une ESP doit être réalisée est la recherche d'une immunoglobuline monoclonale(**Figure7**).

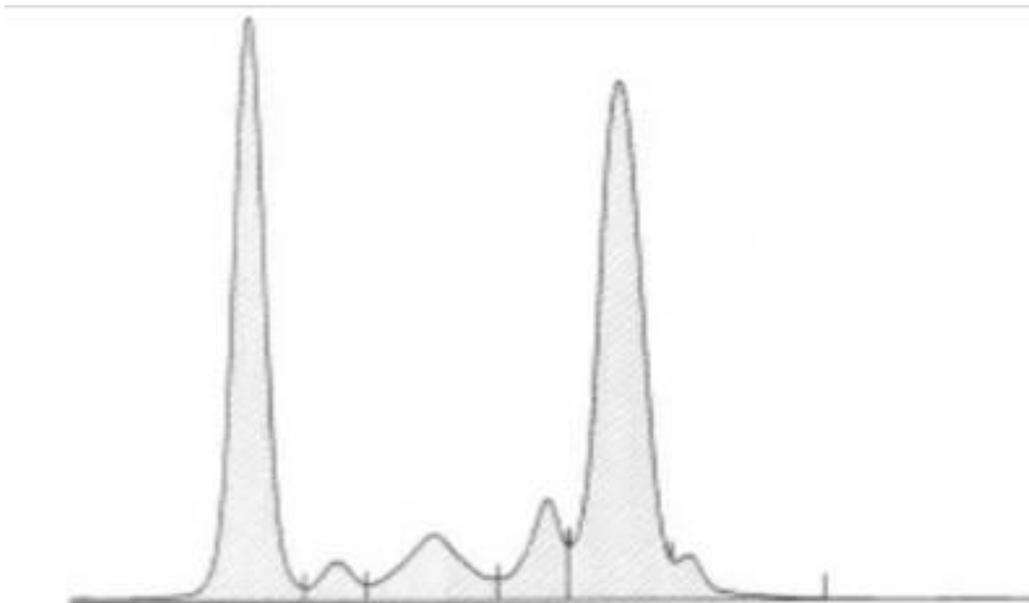


Figure7: Profil électrophorétique d'un pic monoclonal [38].

L'électrophorèse des protéines sériques est indiquée[39]:

- Lors des infections à répétitions des voies aériennes supérieures et pulmonaires.
- Lors des douleurs osseuses non traumatiques sans anomalies à l'examen radiologique standard .
- Anomalie de l'hémogramme sans causes évidentes.
- Adénopathies , splénomégalie.
- Hypercalcémie(en fonction de l'albuminémie\protidémie).
- une insuffisance rénale et hépatique.
- Neuropathie périphérique inexpliquée .
- Détection des gammopathies monoclonales.

4 Les Protéines Sériques

4.1 Définition des protéines sériques

Les protéines sériques sont des protéines contenues dans le sérum ou plasma sanguin, la partie liquide du sang. Elles exercent différentes fonctions au niveau de l'organisme telles que le transport, la défense, la régulation des échanges d'eau entre le sang et le milieu extérieur . Parmi les protéines sériques, on distingue essentiellement l'albumine et les globulines de différents types[40].

L'électrophorèse capillaire permet la séparation de six fractions de protéines(**tableau 1**). L'ordre de migration est inversé par rapport à l'électrophorèse sur gel[41].

Les résultats de cet examen sont présentés sous forme d'un graphe (**Figure 8**):

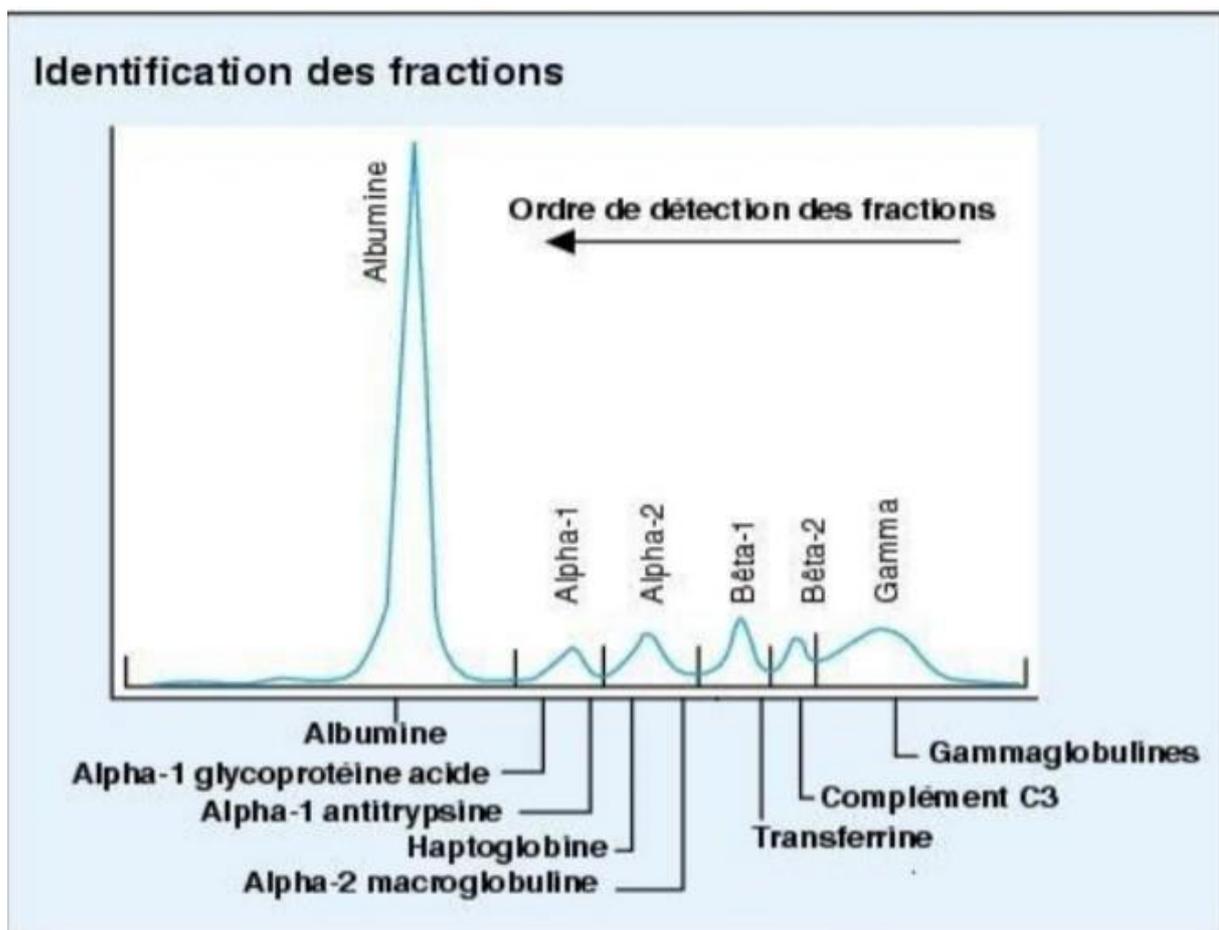


Figure 8: Profil d'électrophorèse des protéines sériques obtenu par capillarys [4]

Tableau 1 : Les différentes fractions des protéines sériques [42].

Fractions de la migration	Principales protéines de la fraction
Albumine	Albumine
Alpha1-globuline	Alpha- 1glycoprotéines acide Alpha-1antitrypsine
Alpha2-globuline	Haptoglobine Antithrombine Alpha lipoprotéine Alpha-2 macroglobuline Céruloplasmine
Beta1- globulines	Hémopéxine Transferrine Beta lipoprotéine
Beta2-globulines	ComplémentC3, IgA
Gamma-globulines	IgG,IgA, IgM, IgD, IgE

4.2 Les principales protéines sériques

4.2.1 Groupe des albumines

4.2.1.1 La préalbumine ou Transthyrétine (TTR)

Transthyrétine fut désignée sous le nom de préalbumine en raison de sa position anodique qui précède le pic d'albumine sur les tracés électrophorétique[43].

- **Propriétés Physico-chimiques**

La pré-albumine et le RBP sont majoritairement hépatique[43,44]. Elles sont de structure tétraédrique et composées de quatre sous unités identiques. Le tétramère définit un canal central doté de deux sites potentiels de fixation pour la T4 et le T3. Dans les conditions physiologiques, un des quatre monomères porte latéralement le RBP [43].

- **Propriétés Biologiques**

Dans son rôle de transporteur, d'une part de la vitamine A sous sa forme physiologique (le rétinol), et d'autre part celui des hormones thyroïdiennes T4 et T3 [43].

- **Variations physiologiques**

Une diminution de synthèse de préalbumine sous l'effet des oestrogènes, en particulier pendant la grossesse. [43]

- **Valeurs usuelles en fonction de l'âge et le sexe**

Les valeurs normales sont estimées pour la pré-albumine entre 0,2 à 0,42 g/L. pour la RBP, elles sont comprises entre 0,03 et 0,06 g/L [45]

4.2.1.2 Albumine

L'albumine est la protéine la plus abondante dans le sérum humain, synthétisée par le foie. Elle représente environ 60% des protéines totales [46].

- **Propriétés Biologiques**

L'albumine contribue au maintien de la pression oncotique (80%). Elle assure de ce fait les mouvements de l'eau entre le milieu intravasculaire et le milieu interstitiel.

Dans les hypoalbuminémies, il y a une baisse de la pression oncotique, qui favorise la formation des œdèmes [47].

- **Valeurs normales**

L'albumine représente 55 à 60% des protéines sériques soit 40-45 g/L. Chez l'homme, l'albuminémie est 5% supérieure à celle chez la femme [46]

- **Variations physiologiques [47]**

- chez l'homme : la concentration varie entre 40 à 50 g/l.

- Il existe une légère diminution de synthèse de l'albumine sous l'effet d'une hyperoestrogénie, chez la femme enceinte.

- **Variations pathologiques :**

- **Bis albuminémie**

Elle est caractérisée par un dédoublement du pic dont l'étiologie est soit une mutation héréditaire, soit une anomalie acquise transitoire [4].

- **Analbuminémie**

C'est une pathologie exceptionnelle caractérisée à l'électrophorèse par la présence d'un très petit pic d'albumine. [4].

- **Hypoalbuminémie**

La synthèse de l'albumine étant strictement hépatique, sa diminution dépend de :

- L'insuffisance hépatique, malnutrition ou inflammation (la diminution est fonction de la sévérité et de la durée du syndrome inflammatoire)
- Une fuite urinaire (le syndrome néphrotique), digestive qui résulte d'une perte de lymphe ou cutanées (brûlures)[47]
- Un hypercatabolisme dans la thyrotoxicose, le syndrome de Cushing, ou des syndromes tumoraux.

➤ **Hyperalbuminémie**

Elle est rare et de faible amplitude [47]:

- Perfusion d'albumine
- Déshydratation extracellulaire ou globale

4.2.2 Groupe des globulines

4.2.2.1 Groupe des Alpha globulines

A. Les alpha 1-globulines Il s'agit d'un groupe hétérogène qui contient principalement :

a) α 1-antitrypsine

C'est une glycoprotéine microhétérogène, dotée d'un très riche polymorphisme génétique. Elle tarde de la phase précoce de l'inflammation. Sa principale fonction est d'inhiber l'élastase et la protéinase-3 du neutrophile[48].

Variations physiologiques :

α 1-antitrypsine estrogénodépendante dont la concentration s'élève au cours de la grossesse, elle a une amplitude de variation modeste mais significative en fonction de l'âge et du sexe[48]

b) Orosomucoïde ou α 1-glycoprotéine acide

C'est une glycoprotéine très riche en résidus glucidique et plus particulièrement en acide sialique, ce qui lui confère un point isoélectrique très acide: $pH_i=2,7$. Sa masse moléculaire est de (40KDa). Sa synthèse et son catabolisme sont essentiellement hépatocytaires[49]

• Propriétés Biologiques

L'orosomucoïde exerce une action immunosuppressive sur les fonctions lymphocytaires [50]. Elle diminue la phagocytose des polynucléaires neutrophiles[51] et l'agrégation

plaquettaire[52]. Elle intervient dans la défense anti-infectieuse, en inhibant la multiplication des parasites au cours du paludisme[53].

- **Valeurs usuelles**

Chez la adulte, les valeurs sont comprise entre 0.50 et 1.20 g/l. Les concentrations sont légèrement plus faible chez la femme, du fait de l'influence oestrogénique[49].

- **Variations pathologiques des alpha 1 globulines**

- **Hypo- α -1-globulinémie**

L'hypo- α -1-globulinémie se produit en cas :

- a) d'insuffisance hépatocellulaire , de dénutrition, de fuite urinaire[49] .
- b) la diminution génétiques de la concentration de la α -1- antitrypsine qui atteinte l'ensemble des pathologies(la cirrhose hépatique, inflammation des voies aériennes)[48].

- **Hyper- α -1-globulinémie**

Elle se produit dans :

- a) Les glucocorticoïdes et les androgènes stimulent la synthèse de l' α -1-glycoprotéine acide[49]
- b) La réaction inflammatoire due à une augmentation des concentrations d' α -1 an.titrypsine et d' α -1-glycoprotéine acide[48-49] .
- c) traitement sensible aux estrogènes, dont les effet se traduisent par une augmentation de synthèse mais plus modérée que par l'inflammation [48].

B. Les alpha 2-globulines

On y trouve l'haptoglobine, l'alpha2 macroglobuline et la céruloplasmine

a) L' α 2-Macroglobine

C'est une glycoprotéine de masse moléculaire (725 KDa) ,synthétisée par les hépatocytes et pourrait aussi l'être par certains fibroblastes au niveau des sites inflammatoires. Elle est constituée de 10 % de glucides et de quatre chaînes polypeptidiques identiques [54]

- **Propriétés biologiques**

L'alpha 2 macroglobuline lie et transporte de nombreux facteurs de croissance, des cytokines, des hormones[55]. Elle possède un rôle dont l'inhibition de protéases intervenant dans les systèmes fibrinolytiques, les endopeptidases, dont la plasmine et la thrombine et les métalloprotéines [56].

- **Valeurs normales et variations physiologiques**

Chez l'adulte, les valeurs usuelles sont comprises entre 1.85 et 3.15 g/l avec une variation chez la femme où les valeurs sont supérieures par rapport à l'homme[54].

b) Haptoglobine

C'est une glycoprotéine du groupe des α_2 -globulines, synthétisée au niveau hépatique et sa demi-vie biologique est de 3 à 5 jours. Son catabolisme se déroule dans les hépatocytes et dans les macrophages [57].

Propriétés biologiques

C'est un marqueur de la réaction inflammatoire et d'hémolyse intravasculaire on observe un effondrement du taux sérique de l'haptoglobine en cas d'hémolyse intravasculaire[58].

- **Valeurs normales et variations physiologiques**

Chez l'adulte, les valeurs normales sont comprises entre 0,3 et 2,0 g/l.

Les concentrations sont nulles chez le nouveau-né par immaturité hépatique, puis augmentent régulièrement jusqu'à l'âge adulte [57].

c) Céruloplasmine

La céruloplasmine est une α_2 -glycoprotéine. Sa forte teneur en cuivre lui confère une couleur bleue. Elle fait partie de la famille des ferroxidases. Sa masse moléculaire(132KDa) Cette protéine est synthétisée essentiellement par le foie. Sa demi-vie biologique est de 4,25 jours [59].

- **Propriétés biologiques [59]**

- Protéine de la phase aiguë de l'inflammation par son pouvoir antioxydant
- Elle permet le transport plasmatique du cuivre

- Contrôle l'homéostasie du fer
- Implication dans les maladies cardiovasculaire

- **Valeurs normales et variations physiologiques**

Les valeurs normales pour les l'adulte des deux sexes sont comprises entre 0,2 - 0,6 g/L [60]. Sa synthèse est augmentée par les estrogènes pendant la grossesse et sous estroprogestatif (20 à 30%)[59].

- **Variations pathologiques des α -2-globulines**

- **Hypo- α -2-globulinémie**

Elle se produit dans: [61]

- a) Processus d'hémolyse in vivo en raison d'une diminution de la concentration de l'haptoglobine
- b) Pancréatite aiguë et carcinome de la prostate par élimination des complexes formés entre α 2-macroglobuline et les protéases pancréatiques

- **Hyper- α -2-globulinémie**

Elle se produit dans:

- a) Syndrome néphrotique dû à une augmentation de la concentration d' α 2-macroglobuline[62].et aussi chez les patients déficitaires en antithrombine III [63].
- b) la réaction inflammatoire dû à une augmentation de la concentration céruloplasmine (2 à 3 fois)[64] et d'haptoglobine qui est une protéine majeure de l'inflammation

4.2.2.2 Groupe des β -globulines

A. Transferrine

La transferrine est une glycoprotéine monomérique. Sa synthèse est essentiellement hépatique. Elle assure le transport du fer. Le récepteur de la transferrine est soluble, présent dans le sérum[65].

- **Valeurs usuelles**

Les valeurs usuelles sont généralement comprises entre 2 et 3,20 g/L[65].

- **Variations physiopathologiques**

- **Hypotransferrinémie**

Elle se produit lors des situations suivantes : [65]

- a) surcharge de fer: hémochromatose génétique
- b) syndrome inflammatoire
- c) fuites protéiques au niveau rénal, gastro-intestinale, cutanés ou des processus qui augmentent le catabolisme protéique .
- d) insuffisance hépatocellulaire, mais également en cas de dénutrition

- **Hypertransferrinémie [65]**

Elle rencontre lors de

- a) carence en fer
- b) imprégnation oestrogénique pendant la grossesse.

B. Protéine C- Réactive (CRP)

La protéine C-réactive (C-reactive protein [CRP]) représente le marqueur type de la réaction inflammatoire aigüe. Cette holoprotéine de structure annulaire pentamérique appartient à la famille très conservée des pentraxines. Elle contient 206 d'acides aminés par sous unités. Elle est synthétisée par l'hépatocyte sous l'action de l'interleukine 6[66].

- **Propriétés biologiques**

La CRP joue un rôle important dans l'immunité innée. Elle est capable d'activer le système du complément. Elle est particulièrement utile dans l'aide au diagnostic des infections bactériennes. Sa demi-vie courte (19 heures)[66].

- **variations physiologiques**

Les valeurs de CRP sont augmentées chez les femmes sous oestroprogestatifs ou hormonothérapie substitutive [67]. Elles sont diminuée au cours d'une activité physique régulière [68] .

- **Variations physiopathologiques**

La concentration sérique de la CRP augmente dans : la polyarthrite rhumatoïde , les spondyloarthropathies , et dans le lupus systémique) [66].

4.2.3 Groupe des gammaglobulines

Il s'agit d'une famille complexe de protéines glycosylées. Elles sont présentes dans les liquides biologiques et les sécrétions et représentent environ 20% des protéines plasmatiques. Elles représentent 11,1 - 18,8 % soit 8,0 - 13,5 g/L. Les gammaglobulines sont douées d'activités anticorps : ce sont les agents de l'immunité humorale [69]

- **Propriétés physico-chimiques**

Les Ig sont constituées de quatre chaînes polypeptidiques : Deux chaînes identiques de masse moléculaire élevée, dites « lourdes » (H pour heavy) et deux chaînes identiques de masse moléculaire moyenne, dites « légères » (L pour light). Les chaînes sont liées entre elles par des ponts disulfures [70] Chaque paire de chaînes est composée de deux régions : une variable et une constante. Chaque immunoglobuline appartient à un type (kappa et lambda) déterminé par la nature de la chaîne légère et à une classe déterminée par la nature de la chaîne lourde (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE).

- **Structure d'une immunoglobuline**

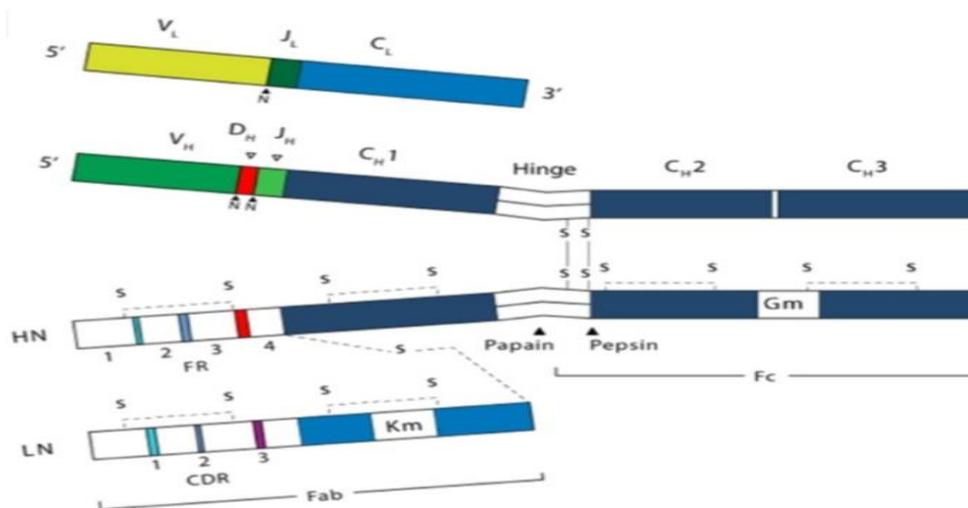


Figure 9: Représentation schématique d'une immunoglobuline [71]

- **Propriétés biologiques**

Une immunoglobuline (Ig) est spécifique de l'antigène (Ag) qui a déclenché sa synthèse. La spécificité est le plus souvent absolue.

L'exploration des Ig peut révéler différentes anomalies :

- **Variations pathologiques des gammaglobulines**

- **Hypo- γ -globulinémie** : elle se produit dans :

a) Les déficits dans la synthèse des immunoglobulines (nouveau-nés, immunodéficiences) primaire ou secondaire à des médicaments tels que corticostéroïdes, immunosuppresseurs ou traitement par chimiothérapie, radiothérapie) ou gammopathies monoclonales

b) Les pertes protéiques au niveau rénal (glomérulopathies).

- **Hyper- γ -globulinémie**

a) Polyclonaleacquire produit dans :

.Les processus infectieux viraux ou bactériens.

.Maladie du foie.

.Processus auto-immunes : cirrhose biliaire primitive, maladie du collagène.

b) Monoclonale lors des gammopathies monoclonales[72].

5 PROFILS ELECTROPHORETIQUES

5.1 Définition du profil électrophorétique

Le profil électrophorétique est la représentation graphique des résultats des dosages de plusieurs protéines. Les résultats étant exprimés en g/l ou en % de la valeur normale en fonction de l'âge du patient [73].

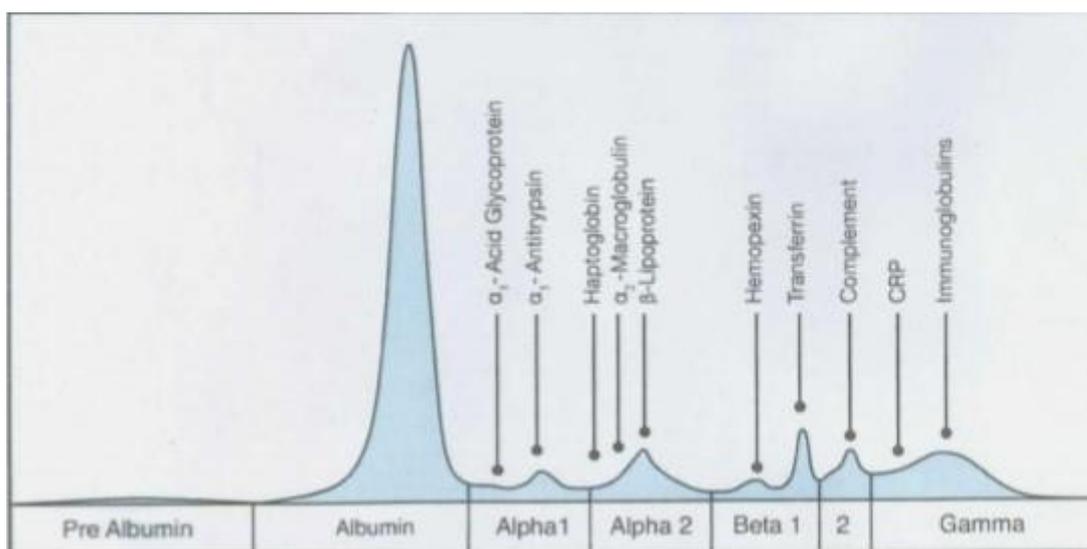


Figure 10: Tracé électrophorétique normal

[<http://www.fmc.tourcoing.org/new/wp-content/uploads/2015/12/electrophores-des-proteines-seriques-R.pdf>]

5.2 L'interprétation du profil électrophorétique d'un sérum normal

Les concentrations des différentes fractions d'un profil électrophorétique normal sont rassemblées dans le Tableau [74].

Tableau2: Pourcentage et concentration normales des différentes fractions des protéines sériques.

Fractions	g/l	%
Albumine	40,2 - 47,6	55,8 - 66,1
α 1-globulines	2,1 - 3,5	2,9 - 4,9
α 2-globulines	5,1 - 8,5	7,1 - 11,8
β 1 globulines	3,4 - 5,2	4,7 - 7,2
β 2 globulines	2,3 - 4,7	3,2 - 6,5
Gammaglobulines	8,0 - 13,5	11,1 - 18,8

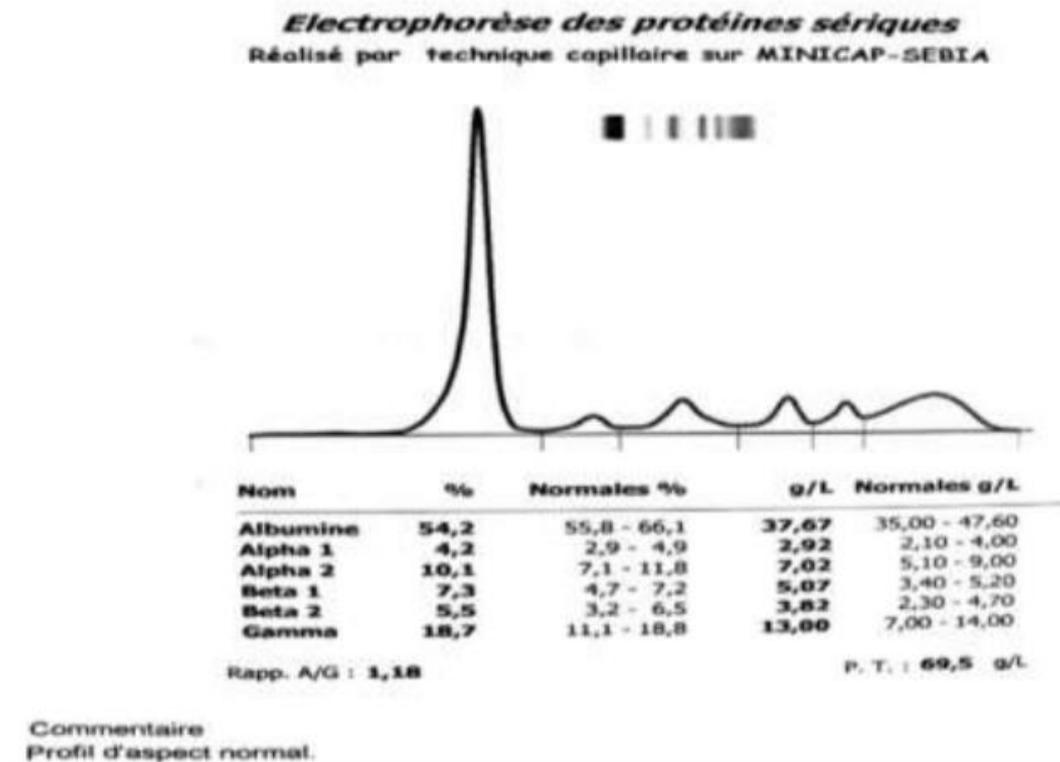


Figure 11 : Un profil normal d'électrophorèse des protéines sériques réalisée par technique capillaire sur MINICAP-SEBIA [74]

5.3 Interprétation illustrée des principaux profils électrophorétiques pathologiques

5.3.1 Bisalbuminémie

La bisalbuminémie se caractérise par un Dédoublément du pic d'albumine : c'est une mutation héréditaire rare, due à l'expression permanente d'un variant génétique de l'albumine, sans conséquence pathologique actuellement connue. Ce profil est obtenu lors d'une bisalbuminémie congénitale, médicamenteuse ou associée à une pancréatite [75].

Electrophorèse Des Protéines Sériques

Technique Capillaire - Sebia-

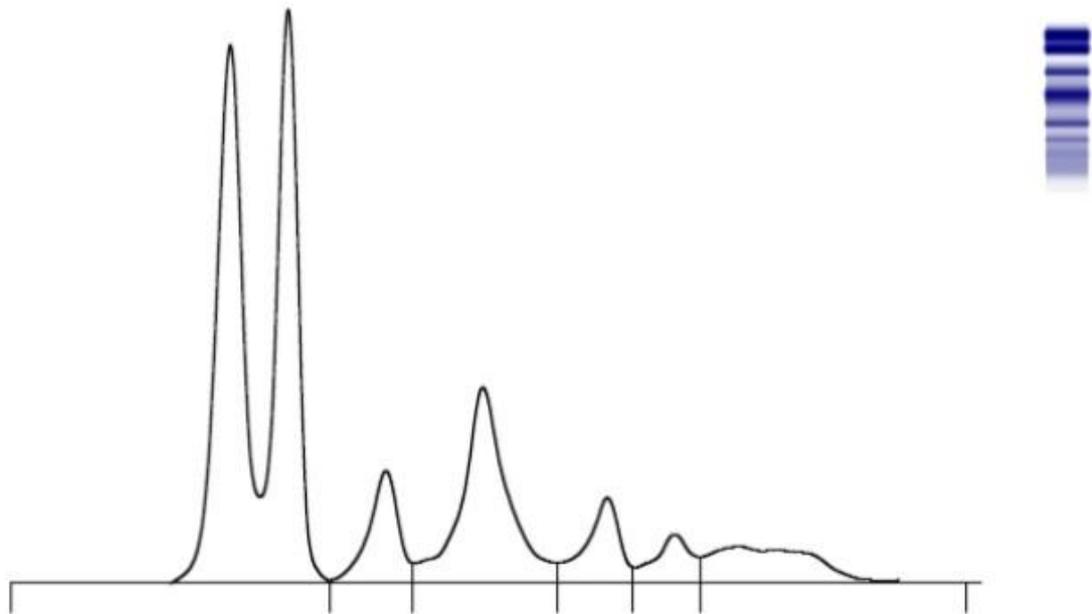


Figure 12: Un profil électrophorèse du la Bisalbuminémie

5.3.2 Syndrome inflammatoire aiguë [76]

L'inflammation aiguë associée aux lésions tissulaires, des réactions biochimiques localisées et des réactions cellulaires conduisant notamment à la synthèse accrue des protéines dites de la phase aiguë de l'inflammation.

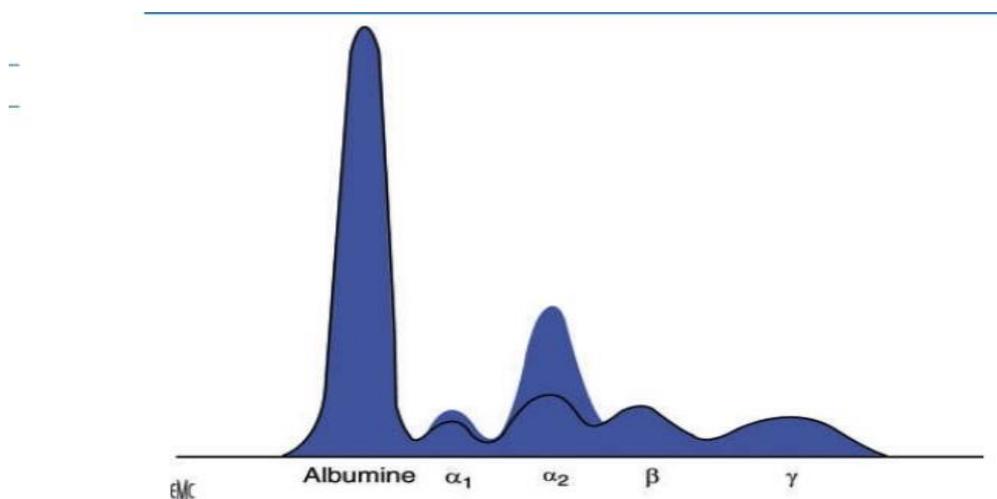


Figure 13 : Un profil électrophorèse de syndrome d'inflammation aiguë

5.3.3 Syndrome inflammatoire chronique [76]

L'inflammation chronique donne lieu à une franche altération du profil électrophorétique, avec augmentation des α 1-, des α 2- et, à un moindre degré, des β - globulines parmi lesquelles les fractions du complément sont augmentées tandis que la transferrine est diminuée. La diminution de l'albumine est constante, comme l'est l'augmentation polyclonale des Ig. Ces anomalies sont observées au cours : des infections chroniques ,des maladies du collagène, des maladies allergiques , des cancers et hémopathies malignes [77]. des maladies auto-immunes [78].

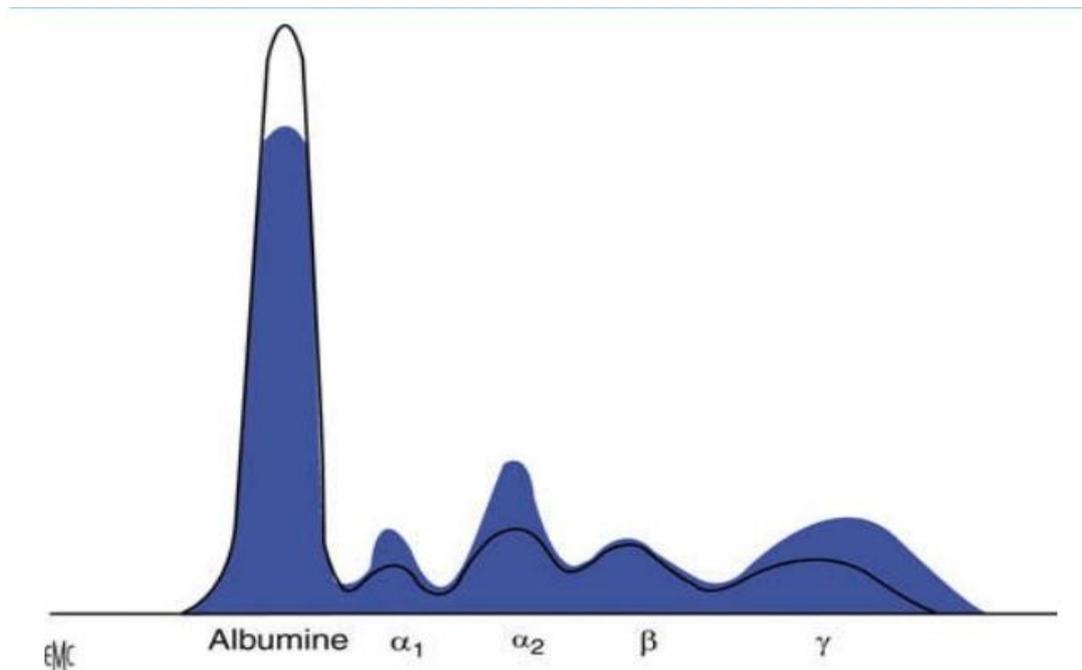


Figure 14 : Un profil électrophorèse de syndrome d'inflammation chronique

5.3.4 La Cirrhose hépatique [76]

la cirrhose se caractérise par, les IgG, IgM et surtout les IgA sont augmentées (bloc β - γ), tandis que l'albumine et la transferrine diminuent progressivement. La diminution de la production d'albumine au cours de la cirrhose conduit également à une diminution du transport des sels et des pigments biliaires. Enfin les α 2-globulines sont également diminuées par insuffisance de synthèse .

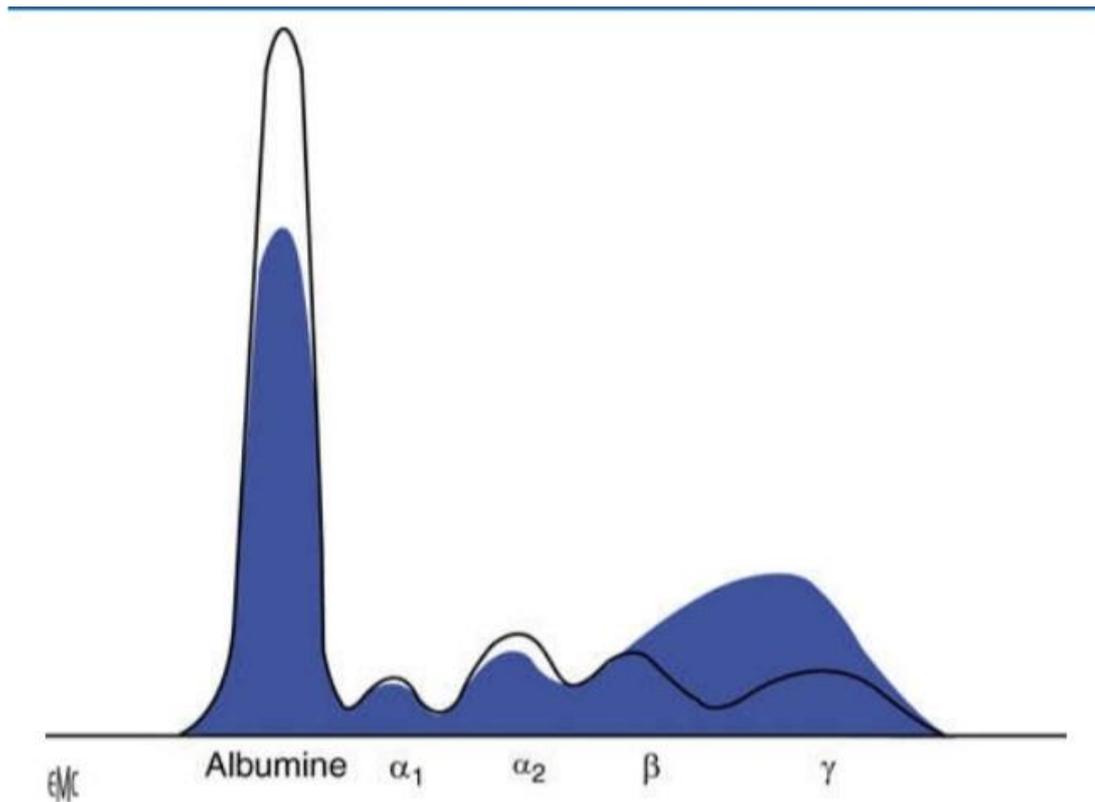


Figure 15 : Un profil électrophorèse de Cirrhose hépatique

5.3.5 Syndrome néphrotique [76]

Un syndrome néphrotique peut survenir au décours de diverses affections, tels le diabète sucré, certaines vascularites, des collagénoses, des glomérulonéphrites ou des maladies circulatoires. Il associe :

- une hypoprotéïnémie et une hypoalbuminémie donc des œdèmes ;
- une hyperlipidémie et une lipidurie ;
- une protéinurie. Au niveau sérique, on observe une diminution de l'albumine, des α 1-, des β et des γ globulines, tandis que les α 2-globulines sont franchement augmentées .

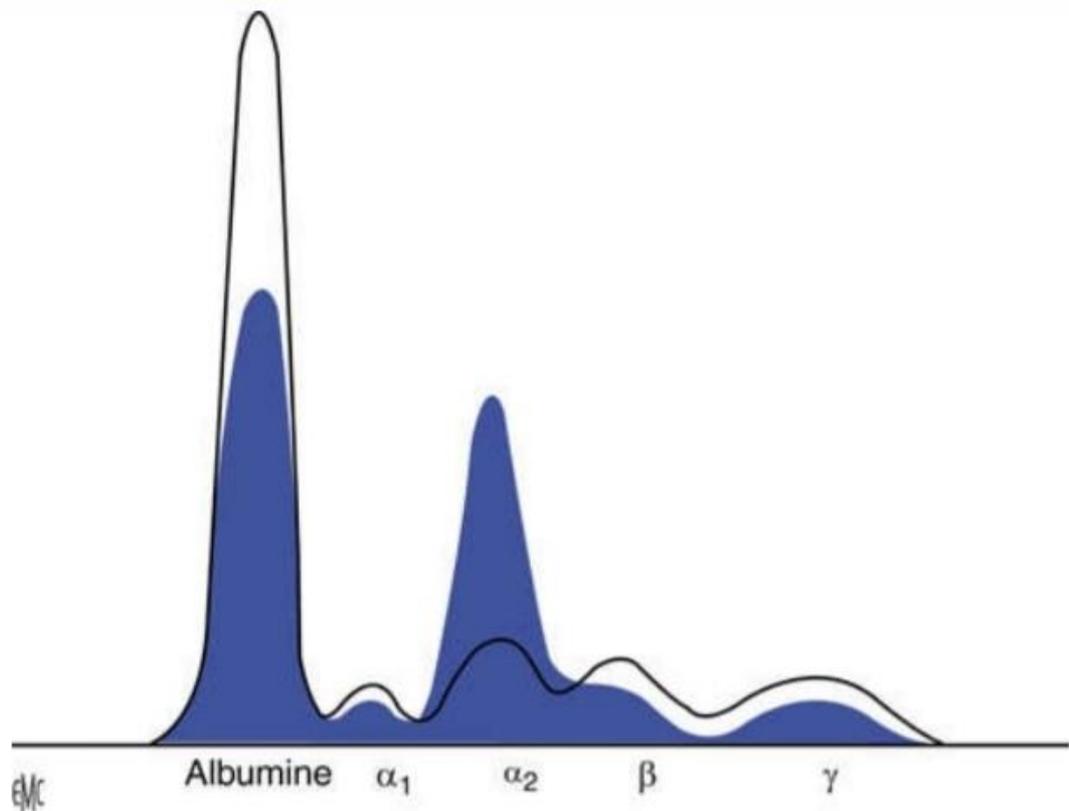


Figure 16 : Un profil électrophorèse de syndrome néphrotique

5.3.6 Les Anomalies des gammaglobulines [76]

- **Hypogammaglobulinémie**

Chez l'enfant

Les déficits immunitaires sont souvent d'origine génétique et constituent fréquemment une composante d'une maladie plus complexe. Il peut s'agir de déficit sélectif ou de déficit global : déficit isolé en IgA ou en IgM

Chez l'adulte

Les déficits immunitaires sont le plus souvent secondaires soit à une gammopathie monoclonale, soit à l'instauration d'un traitement immunosuppresseur soit enfin au syndrome d'immunodéficience acquise .

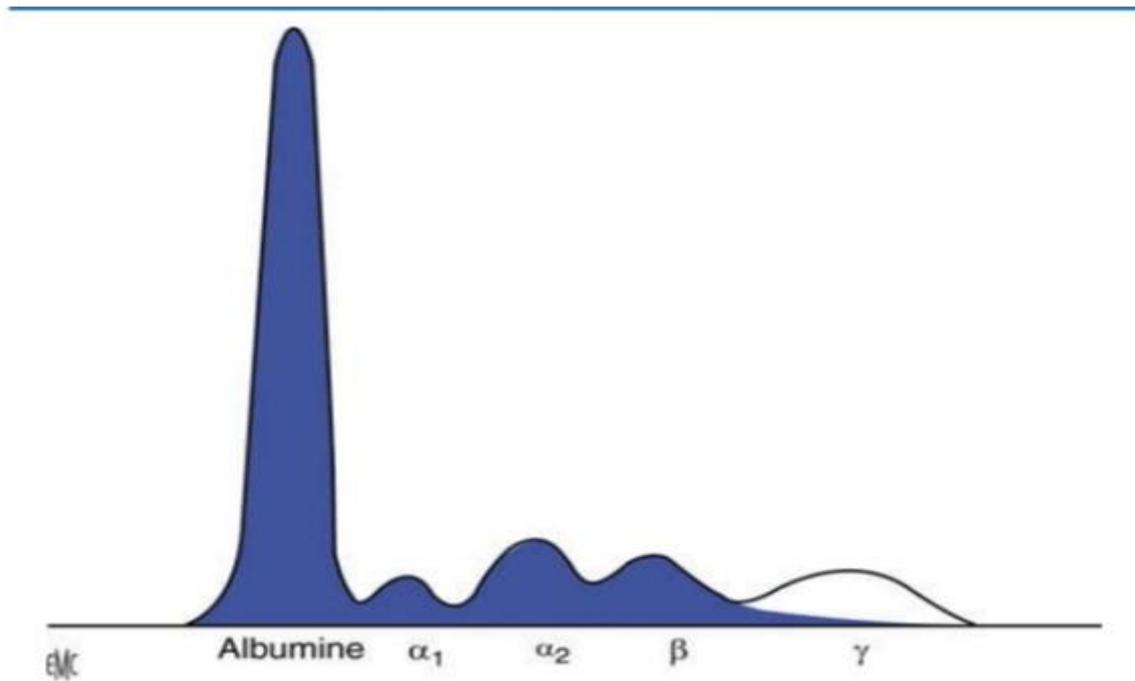


Figure 17 : Déficits immunitaires.

- **Hypergammaglobulinémie polyclonale**

L'augmentation globale et diffuse de la fraction gamma est l'anomalie de l'électrophorèse la plus fréquente après l'hypoalbuminémie. Elle peut survenir dans de multiples circonstances pathologiques : affections hépatiques chroniques, maladies du collagène, infections chroniques, maladies malignes, fibrose kystique, brûlures.

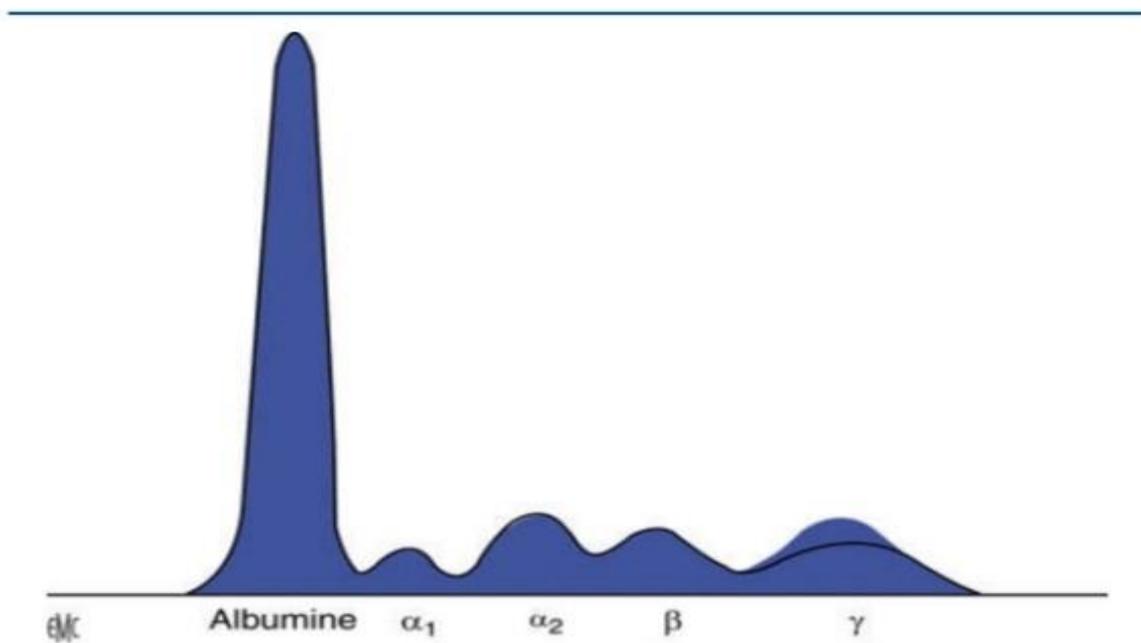


Figure 18: Un profil électrophorèse d'Hypergammaglobulinémie polyclonale

5.3.7 Déficit en alpha 1 antitrypsine [76]

Caractérisé par une chute importante de la fraction α_1 -globuline. La concentration normale de l' α_1 - antitrypsine est de 2 à 4 g/l .

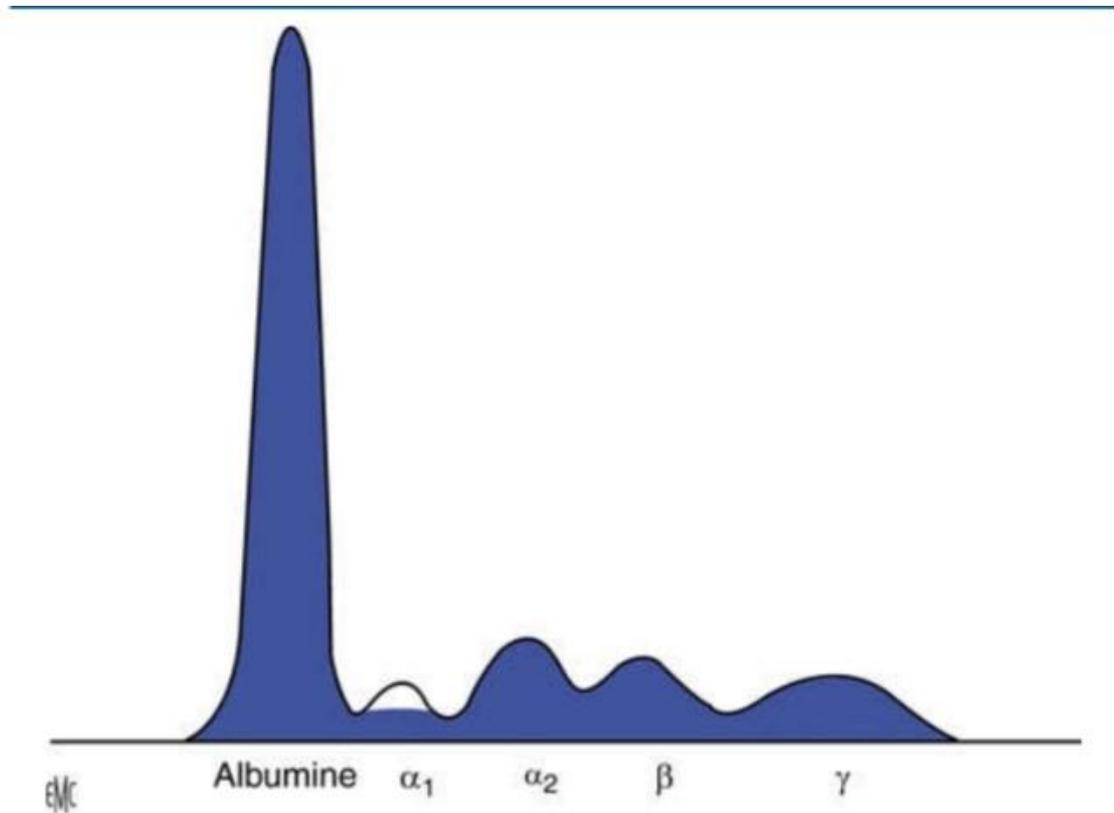


Figure 19 : Un profil électrophorèse de Déficit en α_1 -antitrypsine

CHAPITRE 3

LES INTERFERENCES MEDICAMENTEUSES DE L'ÉLECTROPHORESE CAPILLAIRE DES PROTEINES SERIQUES

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique rapide, fiable et simple, mais sujette à plusieurs interférences[79]. L'intérêt diagnostique de l'électrophorèse des protéines sériques n'est plus à démontrer. Cependant, comme toute méthode analytique de biologie médicale ces interférences sont issues de substances qui peuvent être exogènes administrées au patient dans un but thérapeutique (antibiotiques, anticorps monoclonaux, immunoglobulines polyvalentes humaines) mais aussi diagnostique (produits de contraste iodés) ou endogènes (bilirubine, L'hyperlipémie) [80].

1- Interférences d'origine endogène

Les interférences d'origine endogène ont pour cible principale l'albumine en raison de ses propriétés de transport, une élévation de concentration des molécules transportées étant susceptible de modifier l'aspect électrophorétique de la fraction albumine [80]

1.1 L'hyperlipémie

Elle est à l'origine de l'apparition dans l'échantillon de sang d'un aspect lactescent résultant de la présence de chylomicrons. En effet, tous les composés de nature lipidique (cholestérols et triglycérides) sont déplacés au niveau du pic de l'albumine. Il en résulte une majoration de la concentration de l'albumine ce qui rend impropre la mesure de l'albumine dans ces cas [80]

1.2 La bilirubine

La bilirubine une métabolite insoluble et toxique, elle résulte du catabolisme de l'hème de tous les composés hémiques dont l'hémoglobine est le principal représentant [80].

Les augmentations de la concentration de la bilirubine totale sont réputées sans conséquence au niveau du protéinogramme issu d'une ESP [81] mais des expériences ont démontré que la fixation de la bilirubine conjuguée sur l'albumine entraîne une modification du tracé électrophorétique soit par un étirement de la fraction de l'albumine du côté anodique, soit par l'apparition d'une fraction supplémentaire bien individualisée. Dans la réalité, en présence d'une augmentation de concentration de bilirubine libre le pic d'albumine s'épaissit au niveau de sa base et très particulièrement sur son versant anodique pour revêtir un aspect de bisalbuminémie acquise[79].

1.3 Anticorps anti-animaux

Un autre type d'interférence endogène peut être trouvé sous la forme d'anticorps humains antianimaux (HAAAs). Les HAAAs se forment généralement après exposition à des protéines animales, soit par manipulation des animaux ou par traitement médical (vaccination, traitement par immunoglobulines animales).

En plus des Human Anti-Animal Antibodies (HAAAs), il existe également des anticorps hétérophiles qui sont des immunoglobulines de classe IgM qui réagissent de manière croisée

avec de multiples antigènes avec une faible affinité, typiquement sans exposition préalable à des protéines animales spécifiques. Les Human Anti-Mouse Antibodies HAMAs et les anticorps hétérophiles ne sont pas pathologiques mais peuvent simuler, au cours d'une électrophorèse des protéines sériques, un pic étroit au niveau de la zone gamma orientant vers une gammopathie monoclonale [82,83]

1.4 Hémostase :

L'hémolyse est une interférence fréquemment rencontrée avec de nombreux tests de laboratoire du fait de son impact sur les résultats d'analyses.

L'hémolyse consiste à la rupture des globules rouges provoquant la libération du contenu cytoplasmique dans le sérum ou le plasma. Les deux principaux mécanismes d'interférence sont l'interférence spectrale provenant de concentrations élevées d'hémoglobine et la libération directe d'analytes par les globules rouges[84]

On distingue deux types d'hémolyse :

1.4.1 Hémostase in vivo :

Les causes de l'hémolyse intra vasculaire, aiguë ou chronique: les agents microbiologiques, l'anémie hémolytique et les erreurs innées telles que la drépanocytose.

1.4.2 Hémostase in vitro :

Les causes de l'hémolyse in vitro résultent généralement d'une rupture mécanique due à des tailles d'aiguille incorrectes (force de cisaillement), une aspiration excessive de l'aiguille ou un stockage prolongé [85]. En effet, rendent les globules rouges plus fragiles, comme une augmentation de la rigidité de la membrane chez les nouveau-nés [86], une augmentation de la

fragilité des globules rouges chez les patients âgés hospitalisés. Ceux qui subissent une chimiothérapie peuvent être sensibles à l'anémie hémolytique auto-immune d'origine médicamenteuse [87].

1.4.3 Mécanisme d'interférence de l'hémolyse sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques :

Différentes études ont montré que la libération du contenu cytoplasmique des globules rouges affecte directement l'électrophorèse des protéines sériques. Dans ce dernier, l'hémoglobine et les complexes d'hémoglobine apparaissent sous forme de bandes discrètes dans les régions alpha-2 et béta. Ces bandes supplémentaires peuvent être interprétées comme des protéines monoclonales [84].

1.5 Le fibrinogène

Le fibrinogène glycoprotéique est le substrat de la thrombine et est clivé en fibrine pour former le caillot de fibrine dans la cascade de coagulation[84].

❖ Mécanisme d'interférence du fibrinogène sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques

En cas de pré-analyse adéquate, le fibrinogène n'est normalement pas présent dans les échantillons de sérum. Cependant, le fibrinogène peut être présent dans le sérum des patients présentant des troubles de la coagulation ou des patients recevant un traitement anticoagulant. Il peut également être rencontré lorsqu'un échantillon de plasma est fourni par erreur à la place du sérum. Lorsque l'ESP est effectuée sur ces échantillons, le fibrinogène migre vers la région β / γ et, il peut être mal interprété comme une immunoglobuline monoclonale (**figure 20A**). L'absence de la protéine monoclonale apparente après électrophorèse par l'immunofixation (**figure 20B**), combinée à la localisation caractéristique de la bande dans la région β / γ , devrait établir l'identité de cette bande en tant que fibrinogène et immunofixation électrophorèse (l'IFE) avec des anticorps anti-fibrinogène fournit une preuve solide que la bande est bien du fibrinogène (**Fig. 20C**).

En générale, les spécialistes de laboratoire qui interprètent l'ESP doivent être conscients des artefacts potentiels (fibrinogène) et utiliser IFE pour confirmer les anomalies apparentes de la ESP.

De plus, L'utilisation de l'IFE pour les tests de confirmation est utile pour la détection d'autres types d'artefacts et doit être largement utilisée pour confirmer toute anomalie notée par la ESP ou l'électrophorèse des protéines urinaires (EUP)[84].

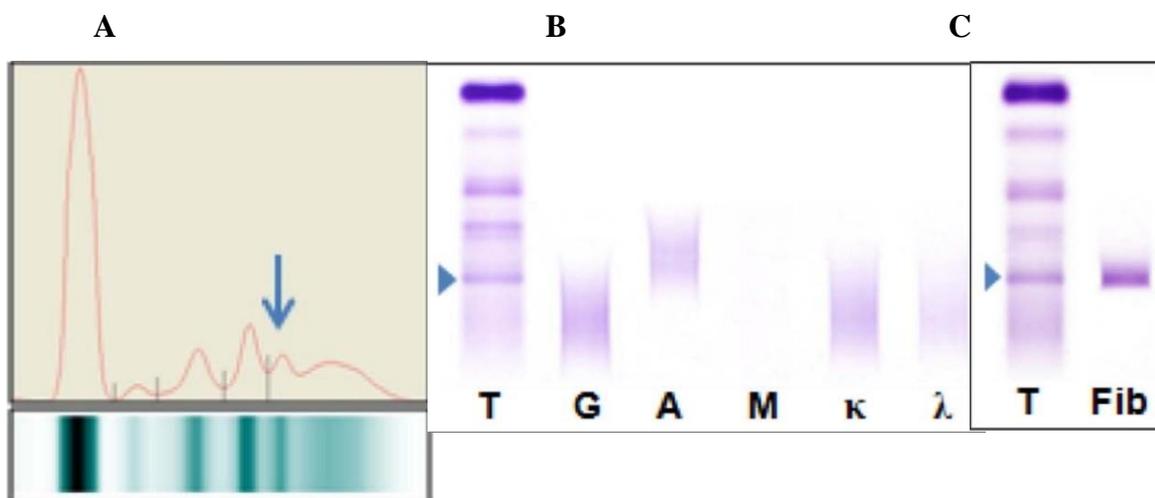


Figure 20 :Schéma représente électrophorèse des protéines sériques avec la fibrinogène

1.6 Protéine C réactive

La Protéine C réactive (CRP) est une protéine de la phase aiguë et un important constituant de la réponse immunitaire de type inné. Sa concentration moyenne chez les sujets sains est inférieure à 6mg/L et peut augmenter de 100 à 1000 fois au cours de la réponse inflammatoire accompagnant certains événements pro-inflammatoires tels qu'une lésion tissulaire ou une infection [88].

❖ Mécanisme d'interférence de la CRP sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques

L'inflammation est une réaction normale de défense de l'organisme et quelle qu'en soit la cause elle est à l'origine d'un ensemble complexe de réactions dont certaines vont aboutir à l'augmentation de synthèse des protéines dites positives de la réaction inflammatoire. La visibilité de la CRP sur le protéinogramme au cours d'une forte inflammation est un fait à connaître car elle peut être à l'origine d'une confusion avec une Ig monoclonale (**figure 21**) [80].

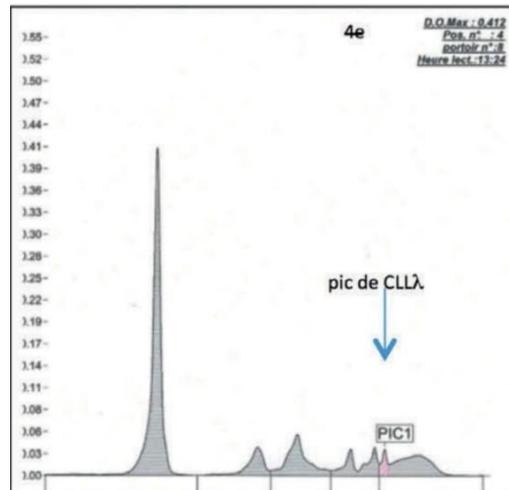


Figure 21 : Dédoublé du pic bêta 2 résultant la présence de la chaîne légère libre monoclonal de type gamma.

2 Les interférences d'origine exogènes

2.1 Les produits de contraste

Les produits de contraste sont des médicaments injectés dans le corps afin d'améliorer le contraste des structures ou des fluides dans le corps pendant l'imagerie médicale. Ils peuvent être couplés à de l'iode dans le but de rendre le produit de contraste hydrosoluble et filtrable par le rein [80].

Dès l'avènement de l'ECP au laboratoire de biologie médicale, les interférences avec les produits de contraste ont fait l'objet d'articles spéculant sur les causes possibles de leur origine [89,90]. Dans toutes les circonstances, ces interférences ne sont pas observables dans l'électrophorèse standard sur gel d'agarose. Par conséquent, l'interférence été alors attribuée à l'absorbance des protéines mais aussi des produits de contrastes iodés (PCI) à 214 nm, longueur d'onde de détection par l'ECP [91].

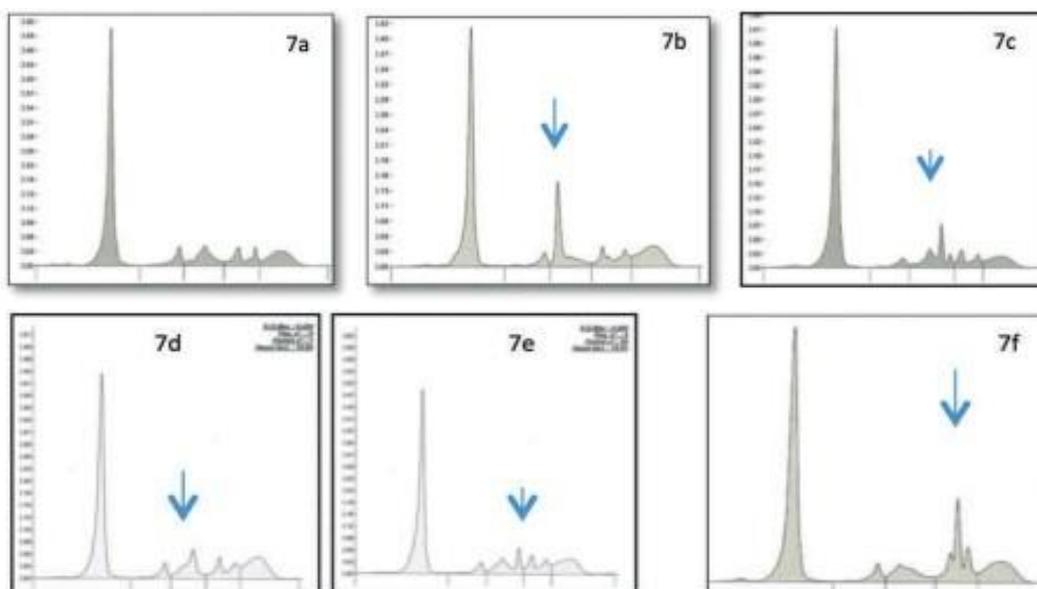
Bossuyt et al [89]. ont premièrement décrit une interférence potentiel dans l'ECP des sérums des patients recevant des produits de contrastes par voie intraveineuse 2- 4 h après l'injection du produit de contraste, l'électrophorégramme de ces patients a montré un pic anormal dans la zone alpha 2 globuline :

- **Amidotrizoate**, le pic était du côté anodique de la zone alpha 2 globuline ;
- **Ioxitalamate**, le pic était au centre de la zone alpha 2 globuline ;
- **Iohexol** présentait un pic du côté cathodique de la même zone.

Une autre équipe, celle de Arranz **90**, a lancé l'enquête sur 12 produits de contraste et leurs effets sur l'électrophorogramme par ECP. En ajoutant chaque produit à un sérum contrôle jusqu'à atteindre la concentration expectée après l'injection d'un bolus du produit de contraste (7,5 g/l). D'une façon surprenante, chaque produit de contraste iodé a produit l'apparition d'un pic anormal dans la zone alpha 2 de l'électrophorogramme. Tous ces pics ont la même forme et site que ceux obtenus par l'équipe de recherche de Bossuyt X.

Figure 22: illustre les différentes mobilités des principaux PCI couramment utilisés et la confusion avec une Ig monoclonale dont ils peuvent être la source.

Les produits de contraste qui absorbent à 214 nm interfèrent avec la ESP et peuvent simuler un composant monoclonal [90,92]



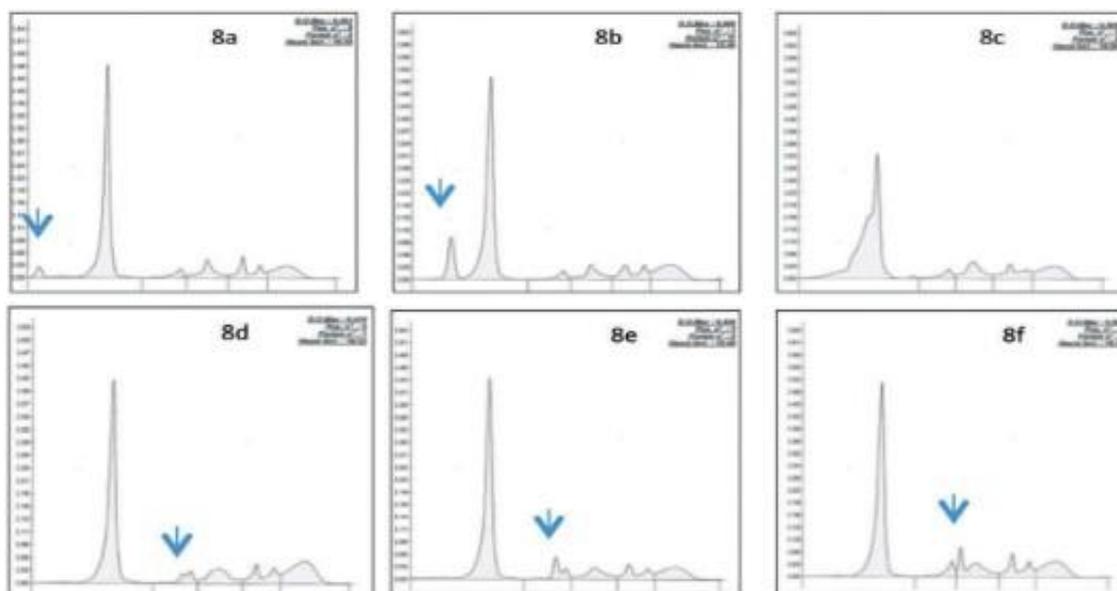
7a. Profil électrophorétique de référence. **7b.** Telebrix de mobilité alpha 2 rapide **7c.** Hexabrix de mobilité alpha 2 moyen **7d.** Xenetix de mobilité alpha 2 moyen **7e.** Lopamiron de mobilité alpha 2 lent. **7f.** Lomeron de mobilité inter beta 1 beta

Figure 22 : Les différentes modifications du protéinogramme par quelques PCI[80]

2.2 Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances qui ont la propriété d'interrompre ou de réduire la multiplication des bactéries. Ils absorbent entre 200 et 214 nm et constituent des interférences qui selon leur mobilité électrophorétique seront source de confusion avec une Ig monoclonale

particulièrement s'ils sont de mobilité bêta (ofloxacine, piperacilline, tazocillin) ou gamma (rifadin) (**figure 23**) . [93,94].



8a. Interférence par la ceftriaxone. **8b.** Interférence par le bactrim. **8c.** Interférence par l'augmentin. **8d.** Interférence par la pénicilline G. **8e.** Interférence par la pénicilline G de concentration circulante plus élevée que pour 8d. **8f.** Interférence par l'oxacilline

Figure 23 : Interférences de quelques antibiotiques.

2.2. a - Effet de Ampicilline –Sulbactam

Le groupe de Seide et al [95] ont pu observer et étudier l'effet artéfactuel réalisé par l'association Ampicilline-Sulbactam (Unacid®) sur le profil électrophorétique obtenu par ECP. Seide et al ont analysé des sérums d'un patient dans 3 conditions différentes :

- ✓ Sérum pris durant l'administration de l'association d'antibiotique (**Figure 24A**)

Après administration de 2g d'Ampicilline et 1g de sulbactam, l'analyse du sérum du patient par ECP a montré sur l'électrophorégramme un pic fin dans le côté anodique de la zone alpha 2 globuline. Au même temps, une électrophorèse standard sur gel a été réalisée. Celle-ci n'a montré aucun pic. A savoir, que ni l'immunosoustraction ni l'immunofixation n'ont détecté un composant monoclonal. Par conséquent, le pic observé été attribué aux substances non protéiques du sérum : Ampicilline et le sulbactam.

- ✓ Sérum pris après 2 jours de l'injection de Uncid® (**Figure 24B**)

Un échantillon du même patient prélevé plus tard n'a montré aucun signe de ce pic.

- ✓ Sérum aléatoire avec ajout des concentrations différentes d'antibiotiques (**Figure 24C**)

En effet, l'ajout de diverses concentrations d'Ampicilline-Sulbactam à un échantillon de sérum normal aléatoire a produit un pic similaire, d'une façon dose-dépendante, au même endroit que pour l'échantillon de patient d'origine.

L'étude de Seide et al a confirmé l'interférence de l'association Ampicilline-Sulbactam sur l'ECP, par un pic fin dans le coté anodique des alpha 2 globulines qui peut être confondu à un pic monoclonal [95].

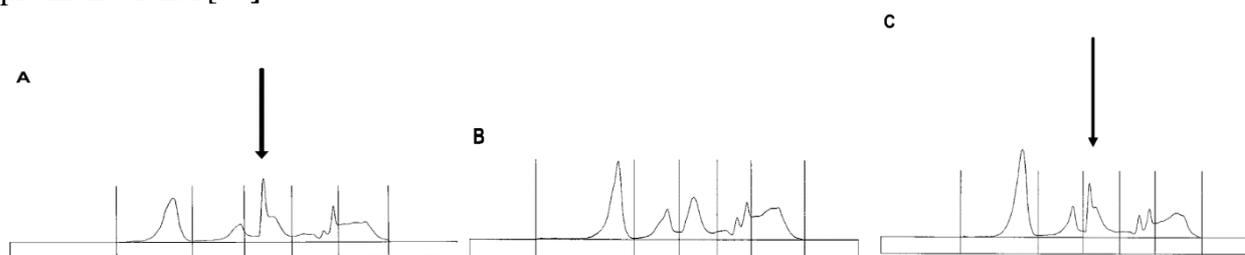


Figure 24 : Effet
de Ampicilline -Sulbactam [95].

2.2 .b Effet de Piperacillin-Tazobactam

L'interférence de l'association Piperacillin-Tazobactam (Tazocin ®) sur l'ECP a été montré par X Bossuyt et W E Peetermans [93]. Ils ont décrit que ces deux antibiotiques produisent un petit pic du coté anodique de la zone bêta globuline.

Dans un premier temps, X Bossuyt et W E Peetermans ont pris des sérums de deux patients différents qui avaient administré un bolus de Piperacillin-Tazobactam pendant 30 min (4 g de Piperacillin / 500 mg de Tazobactam trois fois par jour). Les sérums sont obtenus après 10 min (**Figure 25A**) et 30 min (**Figure 25C**) de la perfusion intraveineuse. Dans les deux cas un petit mais différent pic a été observés du coté anodique du pic de la transferrine dans la zone bêta.

Ce pic été absent dans le profil électrophorétique d'un sérum normal, et non observé dans l'électrophorégramme du sérum collecté 2 jours après chez les mêmes patients du début d'expérience (**Figure 25B**).

Dans un second temps, ils ont ajouté de Piperacillin-Tazobactam au sérum normal. Un pic anormal apparaît dans l'électrophorégramme et dans la même région que celui observé dans le sérum des patients ayant reçu les antibiotiques (**Figure 25D**).

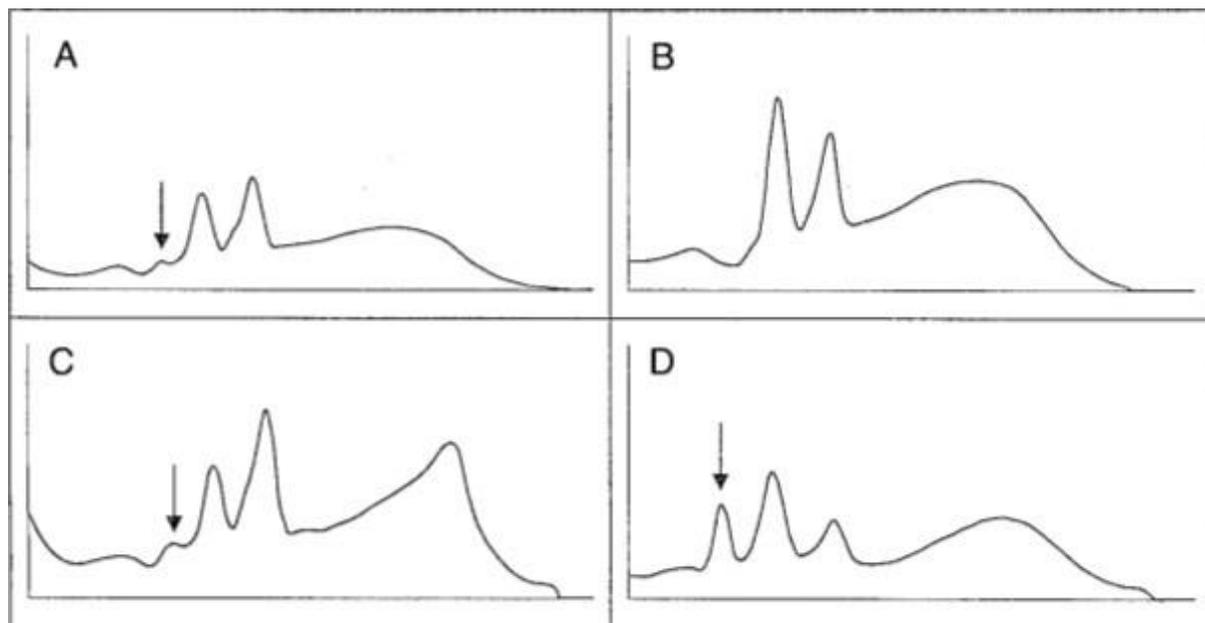


Figure 25 : Effet de Piperacillin-Tazobactam du sérum ESP [93].

2.2.c- Effet de Sulfamethoxazole

Le Sulfamethoxazole, un autre antibiotique dont l'interférence avec l'ECP a été démontré par X Bossuyt. Ce sulfamide produit un petit pic dans le côté anodique de la région d'albumine.

Bossuyt [96].a opté pour l'analyse par ECP des sérums de deux patients ayant reçu une perfusion intraveineuse de Sulfamethoxazole- Triméthoprime (400 mg de Sulfamethoxazole /80 mg de Triméthoprime, 12 ampoules/jour pendant 6 jours). Dans les deux cas, un petit pic a été observé dans le côté anodique du pic d'albumine (**Figure 26A et 26B**). Ce type de pic n'était jamais observé ni dans un profil normal, ni dans l'électrophorégramme des sérums des deux patients après 2 et 3 jours de la perfusion d'antibiotiques.

Dans la deuxième partie de son étude, X Bossuyt a observé le même pic lorsqu'il a ajouté uniquement de Sulfamethoxazole à un sérum contrôle (**Figure 26C**). L'ajout de différentes concentrations de Sulfaméthoxazole à un sérum normale a conduit à l'apparition d'un pic d'une façon dose dépendant. Par ailleurs, aucune interférence n'a été détectée pour une concentration de Sulphaméthoxazole inférieur ou égale à 7.5 mg/L.

Les technologistes médicaux, les pathologistes cliniques et les cliniciens doivent être conscients de cette interférence qui n'est pas observée avec l'électrophorèse sur gel d'agarose des protéines sériques.

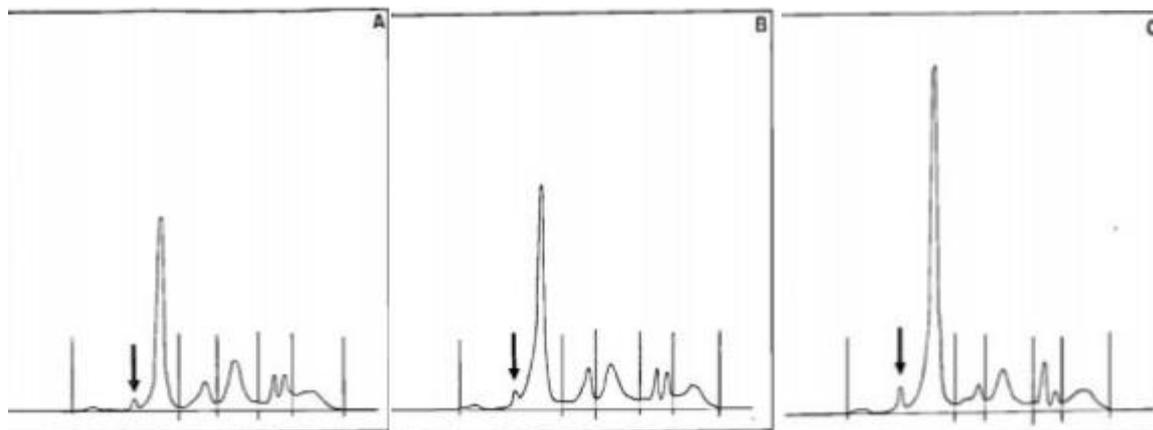


Figure 26: Effet du sulfamethoxazole du sérum ESP [96].

2.2.d- Effet de la Ceftriaxone

Le Ceftriaxone est un antibiotique de large spectre de la classe des céphalosporines de troisième génération. Cet antibiotique ayant une absorbance entre 200 et 214 nm, présente une interférence avec l'ECP du côté anodique de la région de préalbumine, cette interférence était montrée par Brouwers a et al [97].

Selon leurs étude, l'électrophorogramme du sérum pris 1.5 h après l'administration par voie intraveineuse du Ceftriaxone (2g Rocephine, 1 ampoule/jour pendant 3jours) a montré la présence d'un petit pic mais distinct dans le côté anodique de la fraction de préalbumine (**Figure 27A**). Ce pic inhabituel était absent dans le sérum du même patient après 2 jours de l'arrêt de la prise intraveineuse de Ceftriaxone (**Figure 27B**). Un pic similaire a été observé chez 4 autres patients ayant reçu le Ceftriaxone.

Pour plus de détail concernant l'interférence par le Ceftriaxone, Brouwers et al ont étudié des sérums contrôles qui lui ont ajouté des concentrations décroissantes (500 mg/L, 250 mg/L, 125 mg/L, 75 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L et 12.5 mg/L) de Ceftriaxone. Les résultats ont montré l'apparition d'un pic d'une façon dose dépendante du côté anodique de la préalbumine, dans le même site que celui observé précédemment (**Figure 27C-F**). Aucune interférence n'était observée pour des doses inférieurs à 75 mg/L de Ceftriaxone.

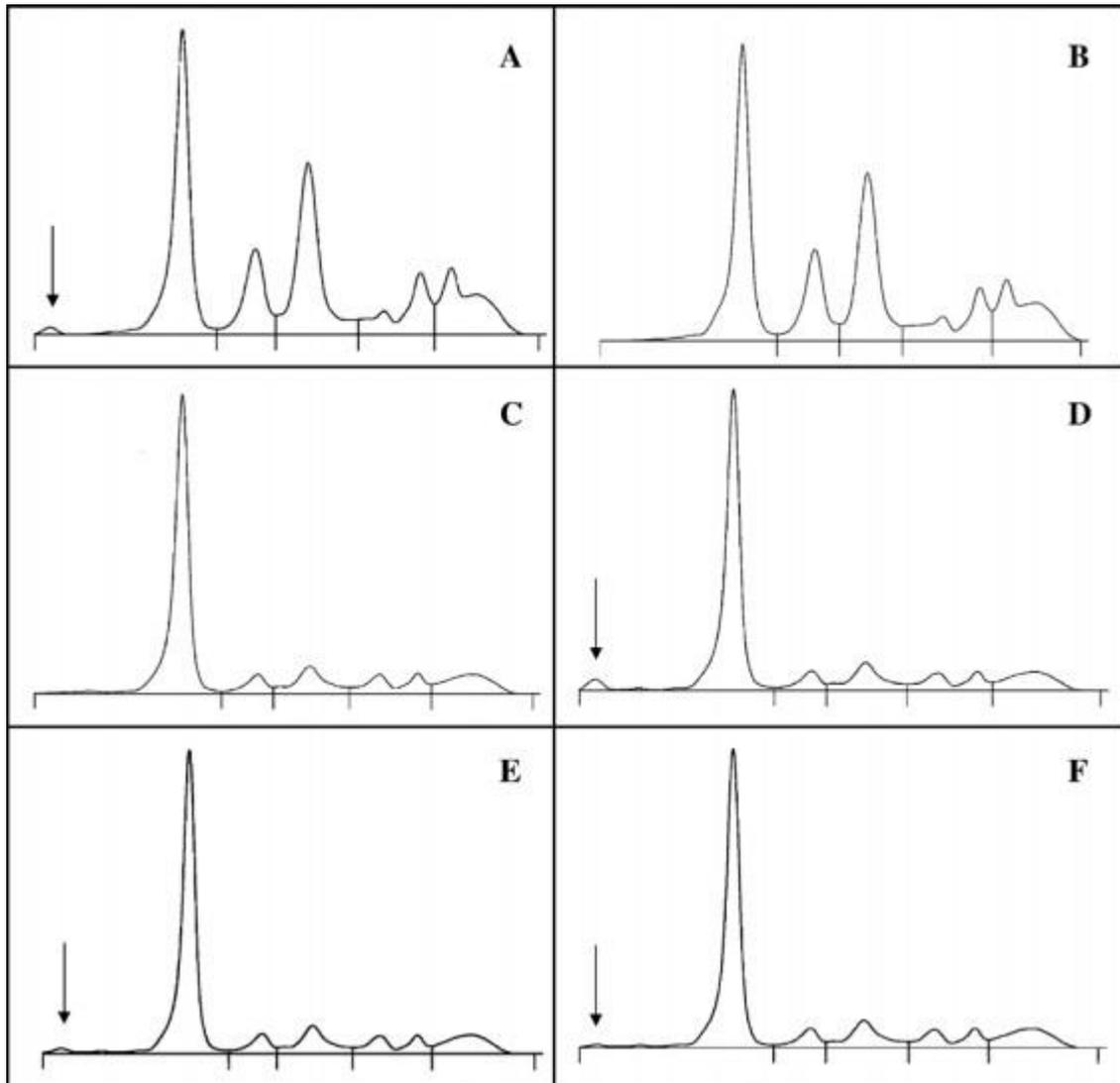


Figure 27: Effet de Ceftriaxone au cours de l'ECP.

2.2.e- Effet de la 5-Fluorocytosine

Le 5-Fluorocytosine (5-FC) a été récemment montré qu'il interfère avec l'ECP à la fin de la fraction des gamma globulines simulant un composant monoclonal.

Caillon et al [98] ont démontré que cette interférence apparaît souvent quand les patients présentent une hypo-gammaglobulinémie avec accumulations des produits toxiques dans un contexte d'insuffisance rénale. En effet, les patients traités par 5-FC ont fréquemment une hypo-gammaglobulinémie due à son association avec l'Amphotéricine B dans le traitement des infections à *Cryptococcus*.

Pour confirmer l'interférence de 5-FC après leur observation sur un électrophorégramme d'une patiente, Caillon et al ont étudié l'effet de l'addition de différentes concentrations de la 5-FC (100, 200, 300 et 600 mg/L) à des différents sérums : sérum avec un profil électrophorétique normal, un sérum avec une hypo-gammaglobulinémie. Les résultats (**Figure 28**) ont révélé la présence d'un pic à la fin de la fraction des gammas. La limite de détection était 100mg/L en présence d' hypo-gammaglobulinémie, 100 mg/L pour le sérum avec une normo-gammaglobulinémie et 200 mg/L s'il y a hyper-gammaglobulinémie.

La 5-FC a une faible pKa (3.26), se chargeant négativement au pH utilisé pour ECP (pH = 10). Par conséquent, elle peut migrer avec les protéines dans ces conditions. Comme les autres halogénopyrimidines, la 5-FC présente deux maximums d'absorbance à 200 et 260 nm ce qui permet sa détection lors des ECP.

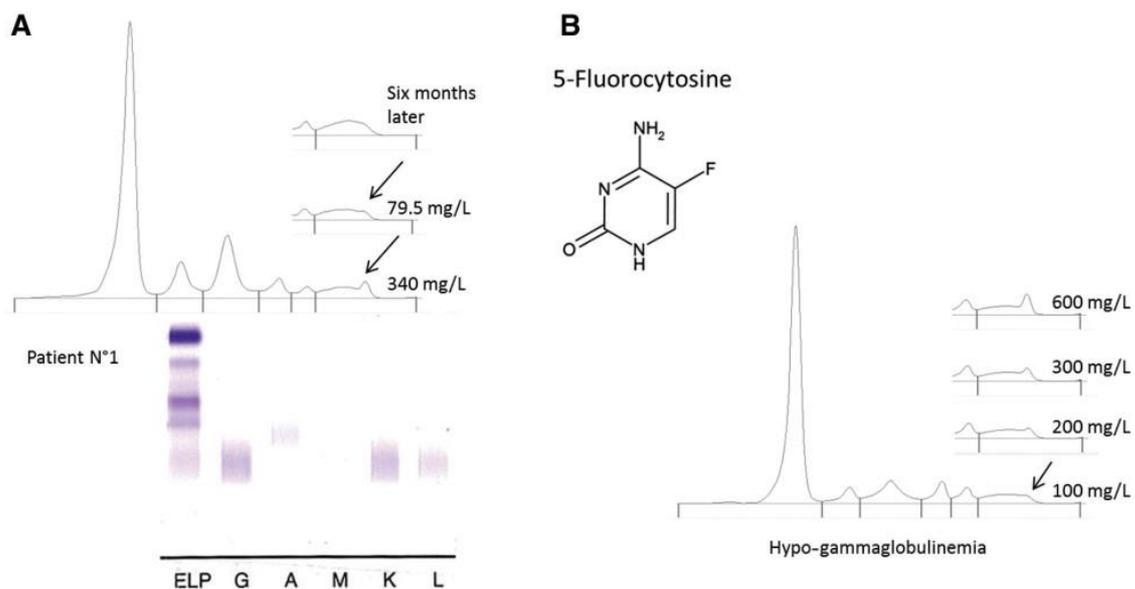


Figure 28: Effet de la 5-FC sur le ESP.

2.3 Anticancéreux biologiques

Malgré que les thérapies monoclonales existent depuis plusieurs décennies, il a fallu attendre les essais cliniques avec Siltuximab pour le traitement du myélome multiple pour que ces thérapies ont été reconnues comme une interférence potentielle avec l'électrophorèse et l'immunofixation des protéines [99]

En effet, bien que la plupart des thérapies monoclonales disponibles puissent apparaître comme des IgG kappa monoclonales par l'immunofixation (IFE) à des concentrations

pharmacologiques, une étude de Ruinemans-Koerts et al. a montré que parmi les nombreux médicaments biologiques couramment utilisés (qui sont utilisés pour les maladies à base de dyscrasie non plasmocytaire), seuls le rituximab et le bevacizumab à des doses thérapeutiques produisaient une protéine Monoclonale (protéine M) visible sous ESP/ IFE [100]

L'interférence de ces protéines M n'est considérée que si elle mène à des investigations supplémentaires et inutiles ou à la sous-estimation de l'efficacité thérapeutique antitumorale . En général, la principale préoccupation liée à la présence de ces thérapies est la classification erronée de la réponse de la maladie. En particulier, les patients avec une petite bande monoclonale due à une thérapie monoclonale peuvent être mal classés comme ayant une très bonne réponse partielle (VGPR) au lieu de répondre aux critères par une réponse complète (CR) [101]

2.3.1 Interférence de la Siltuximab

La Siltuximab est un anticorps monoclonal chimérique avec une forte affinité et une spécificité élevée pour l'IL-6 humaine. Elle est actuellement utilisée dans des essais cliniques pour le traitement d'un certain nombre de tumeurs malignes, y compris le myélome multiple. Le siltuximab est une immunoglobuline chimérique comprenant la région variable de liaison à l'antigène d'un anticorps de souris et la région constante de l'IgG1 humaine. Il se lie à l'interleukine-6 humaine, un facteur de survie pour les cellules myélomateuses [102].

McCudden et al.[99]. ont étudié l'interférence de Siltuximab avec deux systèmes d'électrophorèse: CAPILLARYS II (Sebia) et HYDRASYS (Sebia). La Siltuximab était analysé seul et après ajout à des sérum de control normal à des concentrations de 50-600 mg/L.

Dans leur résultat, Mc Cudden et al. ont conclu que l'interférence de Siltuximab comme une IgG kappa à un seuil de 100 mg/L et détecté par toutes les méthodes testées, dont ECP (immunosubstraction IS, IFE et sur gel d'agarose) .

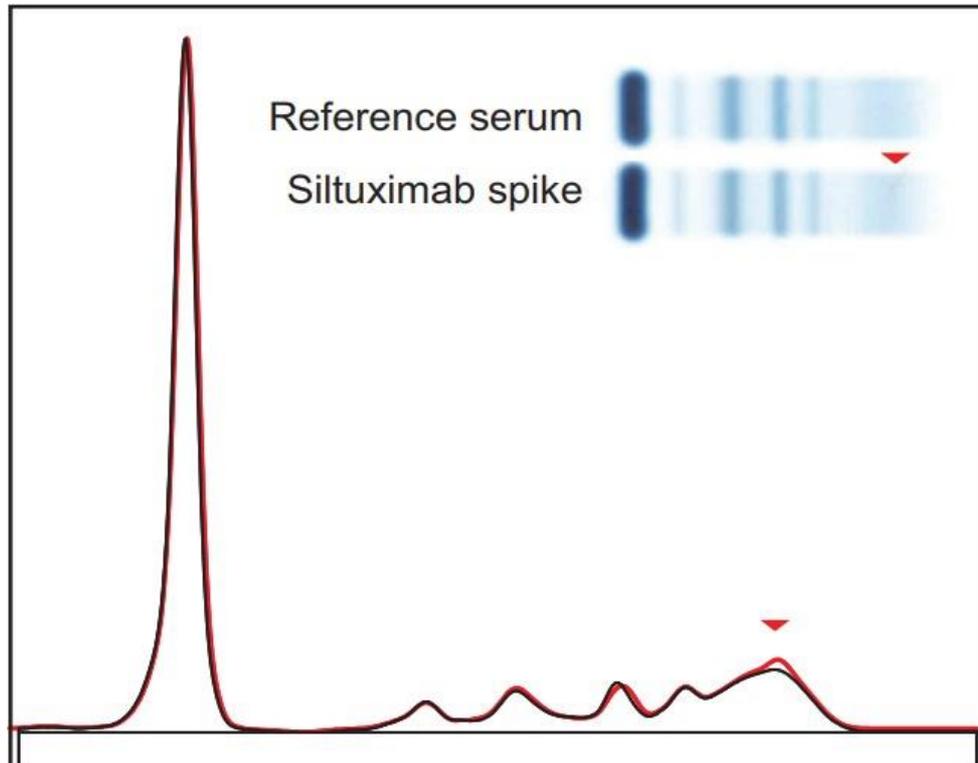


Figure 29: Effet de la Siltuximab sur le profil de ESP.

2.3.2 Effet de Daratumumab et Elotuzumab

Actuellement, la plupart des expériences avec les thérapies par anticorps monoclonaux pour le myélome multiple proviennent des médicaments Daratumumab et Elotuzumab. L'interférence possible de ces médicaments avec l'analyse de la protéine M est particulièrement pertinente pour les patients atteints de myélome multiple avec une protéine monoclonale du sous-type de chaîne légère IgG kappa ou kappa libre.

Chez ces patients, la co-migration de l'anticorps thérapeutique et de la protéine M maligne peut gêner l'évaluation correcte de la protéine M maligne par SPEP et IFE. Les patients normalement définis comme ayant obtenu une réponse complète en l'absence de la protéine monoclonale identifiée au moment du diagnostic peuvent être classés à tort en présence d'une petite protéine M thérapeutique comme n'ayant obtenu qu'une très bonne réponse partielle [101].

Pour surmonter l'interférence du daratumumab lors de l'évaluation de la réponse au traitement proche de la réponse complète, la co-migration du daratumumab et de la protéine M maligne du sous-type IgG kappa peut être atténuée par le test Hydrashift 2/4 Daratumumab de Sebia. Ce

test est basé sur l'expérience du «test réflexe d'électrophorèse d'immunofixation spécifique au daratumumab » (DIRA) utilisant un anticorps ciblant le daratumumab pour modifier la migration du daratumumab au cours de l'électrophorèse [103]

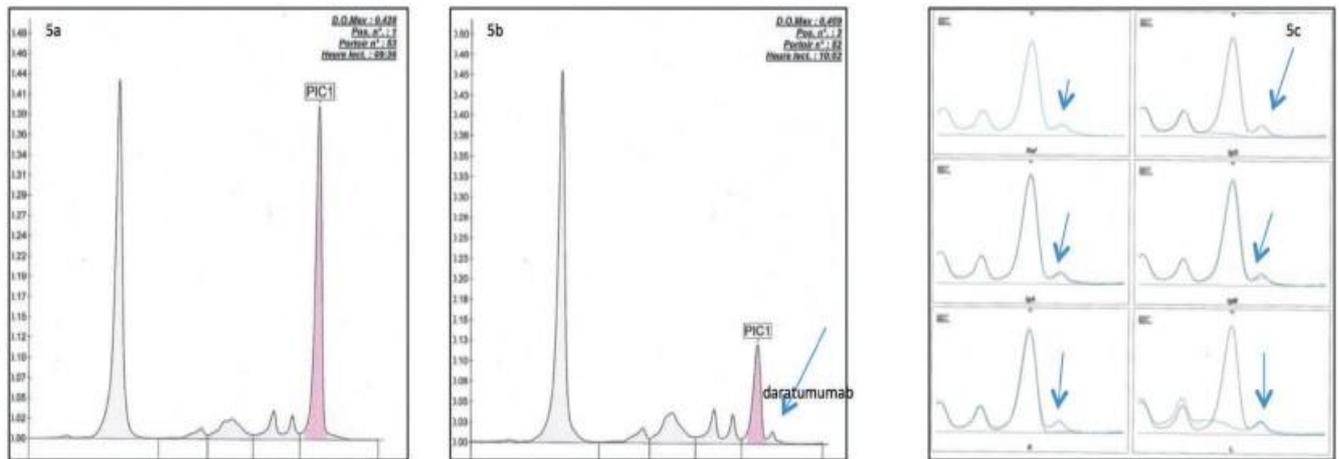


Figure 30: Interférence par Daratumumab [80]

5a. Sérum d'un patient avec IgG gamma myélomateuse.

5b. Même patient avec MM devenu réfractaire et traité par le daratumumab qui se traduit par un pic de faible amplitude de mobilité plus cathodique que l'IgG monoclonale.

5c. Immunotypage par immunodéplacement avec zoom sur les fractions bêta et gamma et mise en évidence dans le sérum du patient de l'IgG gamma d'origine et l'apparition d'un pic de faible amplitude IgG kappa correspondant au daratumumab,

2.4 Produits de remplissage

Le remplissage vasculaire est une méthode consistant à perfuser un soluté de remplissage par l'intermédiaire d'une voie veineuse pour lutter contre une chute du débit sanguin, maintenir la pression artérielle et le transport de l'oxygène aux tissus [80]

2.4.1 Substituts du plasma à base de gélatine

Les substituts du plasma à base de gélatine sont des collagènes dénaturés et contiennent des mélanges complexes de protéines [104]. Ils produisent une augmentation de la fraction gamma- globuline avec un aspect polyclonale décalé vers la fraction β 2-globuline, simulant un bloc β - γ [105]. Ils sont rapidement éliminés (demi-vie : 2-5 heures), ce qui rend le risque d'interférence rare.

Du fait de leur nature protéique, les produits de remplissage absorbent à 200 nm et seront détectés par ECP, induisant une élévation d'aspect polyclonal de la fraction gamma avec le Plasmion (**Figure 31**) [106] et d'aspect monoclonal avec le Geloplasma [107].

Pour éviter alors toute confusion, un délai de temps entre perfusion des produits de remplissage et le prélèvement pour ESP doit être respecté.

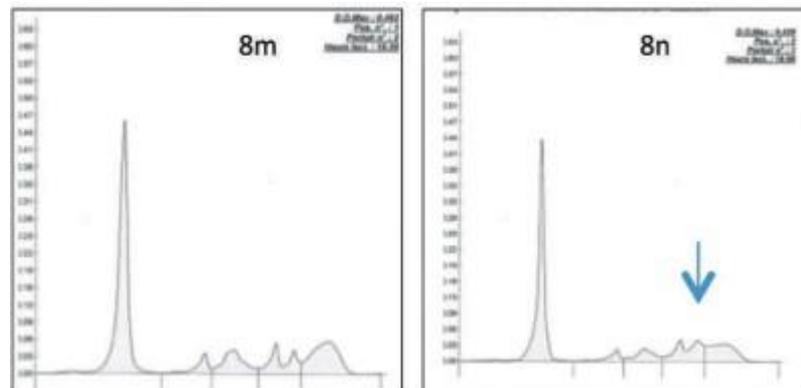


Figure 31: Aspect en cul de sac en Béta2-Gamma rapide sous plasmion.

2.5 Immunoglobulines polyvalentes humaines

Les immunoglobulines polyvalentes humaines (IPH) sont constituées d'immunoglobulines humaines normales obtenues à partir d'un pool de plasmas et essentiellement d'IgG intactes dont les pourcentages respectifs des 4 sous-classes sont identiques à ceux observés dans les plasmas normaux. Elles s'administrent par voie intraveineuse (IV) ou sous-cutanée dans les déficits immunitaires notamment, et en IV exclusivement dans les maladies auto-immunes ou inflammatoires. Un prélèvement trop précoce par rapport à l'injection IV peut amener à une fausse interprétation d'hypergammaglobulinémie (**Figures 32 8q et 8r**) [80]

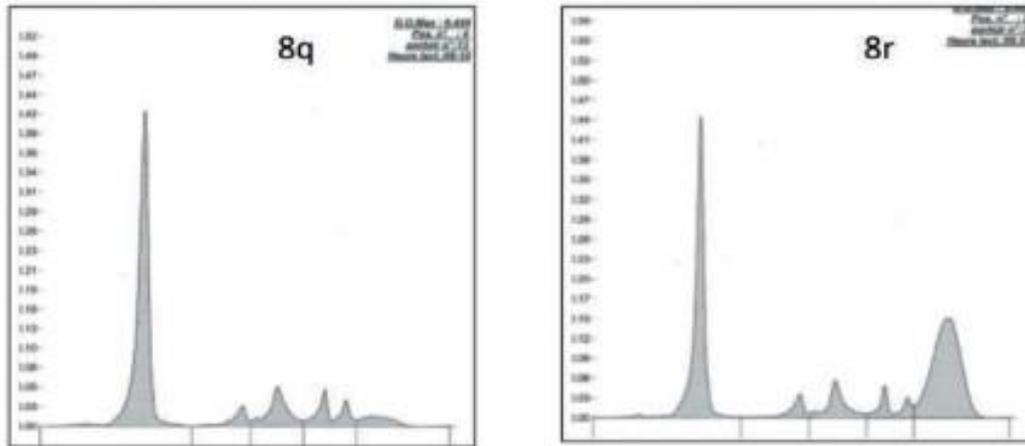


Figure 32 : Profil électrophorétique avant et post perfusion (8q,8r) des Ig chez un patient en déficit immunitaire.

2.6 Hydroxocobalamine

L'Hydroxocobalamine est un antidote de l'intoxication par le cyanide, c'est un colorant rouge hydrosoluble, ce qui colore les produits biologiques et cause des interférences dans plusieurs essais cliniques.

Les premières interférences étaient décrites chez des patients ayant reçu de l'hydroxocobalamine suite à leur intoxication par le cyanide. L'ESP obtenue par ECP a présenté un pic additionnel entre les fractions Albumine et alpha 1 globuline (**Figure 33A**).

Pour confirmer l'interférence de l'hydroxocobalamine, des études par ajout au sérum control normal ont été réalisées. Différentes concentrations ont été préparées : 100, 500 et 1000 mg/L. l'interféro n'était pas observée à 100 mg/L, mais clairement observée à partir de 500 mg/L (**Figure 33B**) [101]

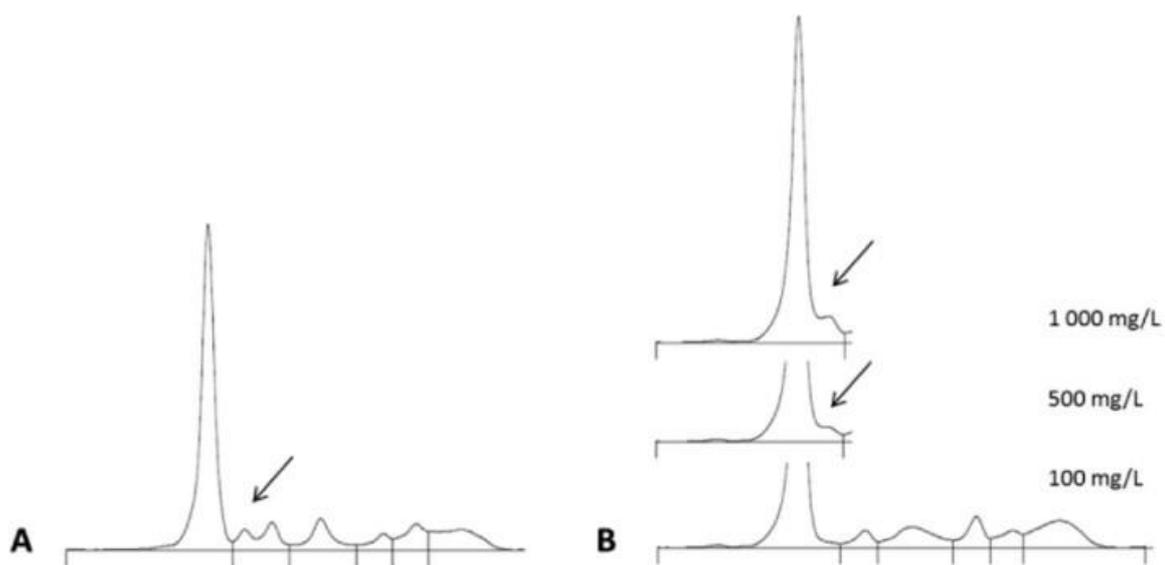


Figure 33 : Interférence de l'hydroxocobalamine avec l'ESP [101].

Conclusion

Conclusion:

L'électrophorèse capillaire des protéines sériques est sujette à de nombreuses interférences . Certaines de ces interférences sont dues à des molécules d'origine endogène . Il s'agit essentiellement des chylomicrons (albumine), de la bilirubine , des anticorps anti-animaux (zone gamma),de l'hémoglobine (β -globulines) et de la Protéine C réactive.

La simple observation des sérums permet d'exclure certains de ces prélèvements et d'éviter ces interférences.

D'autres interférences sont la conséquence de la présence dans le sérum de substances d'origine exogène telles que les antibiotiques , les anticancéreux, les produits de contraste, les produits de remplissage, les anticancéreux biologiques ,les immunoglobulines polyvalentes humaines et l'hydroxocobalamine . Ces interférences sont liées à l'absorbance de ces produits à 214 nm qui est la longueur de détection par l'ECP. Ceci génère des pics supplémentaires au niveau des différentes fractions protéiques.

L'apparition de ces pics induit le biologiste en erreur et donc nécessite une interprétation plus rigoureuse des profils avec une recherche très fine de leur origine par collaboration étroite avec le médecin traitant.

Dans ce cas un prélèvement ultérieur , après quelques jours, est nécessaire en attendant la clairance totale de ces produits de l'organisme du patient.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. Marien M. Protéinogramme. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie clinique, 90-10-0803, 2009.
2. Joliff CR, Blesson CR. Comparison of serum electrophoresis by agarose gel and capillary zone electrophoresis in clinical setting. *Electrophoresis* 1997;18:1781-4
3. Keren DF. Capillary zone electrophoresis in the evaluation of serum protein abnormalities. *Am J Clin Pathol* 1998;110:248-57
4. Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac JP, Gibaud C, Poulin G, Riviere H, et al. Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. *Ann Biol Clin* 2006;64(4):367-80.
5. Colette C, Christine L, et al. L'électrophorèse des protéines sériques en biologie médicale : interférences et facteurs confondants. *RFL* ; N° 499, février 2018.
6. Querci M, Jermini M, Den Edee G V. Analyse d'échantillons alimentaires pour la présence d'organismes génétiquement modifiés. Commission Européen. Juin 2006 ;3p.
7. MAGNIEZ,Frédéric, L'électrophorèse . Disponibe sur : <http://biotechnologie.over-blog.com/article-21737522.html> . Publié dans : biotechnologies le Mercredi 2 juillet 2008 (consulté le 01-05-2010
8. Vieillard, J. Développement et validation de nouveaux laboratoires sur puce dédiés à la séparation de protéines. Thèse. Doc. Ecole central de Lyon. 2006; 6p.
9. James P. Landers. Handbook of Capillary Electrophoresis, deuxième édition. 1997.
10. Hjerten S. Free zone electrophoresis, *Chromatog. Rev.* 9 (1967) 122-210
11. Chiara F, Giovanni D, Salvatore F. Hyphenations of Capillary Chromatography with Mass Spectrometry. 2020; 413- 447
12. Gwenola B, Jean L B. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: Méthodes chromatographique, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes themiques. Troisième édition. Paris: Lavoisier; 2011
13. Valiguié P. Biochimie clinique. Edition médicales internationales,1993,p 391.
14. Séger J., Lcotte G.La pratique de l'électrophorèse appliquée à la détection des polymorphismes humains. In : Technique de laboratoire.Paris New York Barcelone Milan Mexico Rio de Janeiro ,1981. 23-35.
15. Pasteur N. Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines Paris: Lavoisier, 1987.

16. Martine R, Chantal S. Chimie avancée. Préparation au bac et à la maturité. Paris: Presse polytechniques et universitaires romande; 2011
17. Donald V, Judith G V, Lionel D. Biochimie. 3e édition. Paris: Deboeck supérieur; 2016
18. Electrophoresis guide : A guide to polyacrylamide gel electrophoresis and detection. Bio-rad Bulltin ;6040 : [92 pages]. Consultable à l'URL: <https://www.bio-rad.com/en-dz/applications-technologies/protein-electrophoresis-methods?ID=LUSOW4GRI>
19. Blessum c.et al : l'électrophorèse capillaire : principe et applications au laboratoire de biologie clinique. Ann biol clin 1999.
20. Gerardo A R, Alejandro C, Mari C. Modern techniques for food authentication. Deuxième édition 2018.
21. Maréchal V. Electrophorèse capillaire. Encyclopédie Médico- Chirurgicale, Biologie clinique, Elsevier Masson SAS, 2007.
22. Rohner N T C, Dayon L, Arnaud L I, Damoc E, Youhnovski N, Wu Z Y et al. Microfluidic Systems in proteomics, Electrophoresis, 24,3533-3562 (2003).
23. Kilar.F. Recent application of capillary isoelectric focusing Electrophoresis, 24(2003),pp.3908-3916 View Record in Scopus Google Scholar
24. Shimura.K. Recent advances in IEF in capillary tubes and microchips Electrophoresis,30(2009),pp.11-28 CrossRef View Record in Scopus Google Scholar
25. Han.J. and Singh A.K. , Rapid Protein Separations in Ultra-Short Microchannels :Microchip Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Isoelectric Focusing, journal of Chromatography A, 1049,205-209(2004)
26. Herr A.E. and Singh A.K., Photopolymerized Cross-Linked Polyacrylamide Gels for On-Chip Protein Sizing, Analytical Chemistry, 76,4727-4733(2004)
27. Jung B., Bharadwaj R. and Santiago J.G., On-chip Millionfold Sample Stacking Using Transient Isotachopheresis , Analytical Chemistry , 78,2319-2327(2006).
28. Huang H.,F.Xu, Z.Dai F.Xu., and Lin B., On –Line Isotachoretic Preconcentration and Gel Electrophoretic Separation of SodiumDodecyl Sulfate-protein on a Microchip, Electrophoresis,26,2254-2260(2005).
29. Colon L.A., G.Burgos,T.D.Maloney,J.M.Cintron and R.L.Roddriguez, Recent Progress in capillary Electromatography, Electrophoresis , 21,3965-3993(2000).
30. Terabe S., K.Otsuka, K.Ichikawa, A.Tsuchiya and T.Ando, Electrokinetic Separation with Micellar Solution and Open- Tubular Capillaries, Analytical Chemistry, 56,111-113(1984).

31. Petersen . John R , Okorodudu. Anthony O, Amin Mohammad, Payne . Deborah A
Capillary electrophoresis and its application in the clinical laboratory, Clinica Chimica Acta
330 (2003) 1–302.
32. Arellano. M ,Siméon .N , Puig Ph. et Couderc. F . Diverses Applications de
l'électrophorèse capillaire à l'analyse des vins . J. Int. Sei. Vigne Vin, 1997, 31, n04, 213-
218 .
33. Trivin F., T. et al. Nouvelles techniques d'électrophorèse application aux protéines et à
l'ADN. Immuno-analyse et biologie spécialisée 2003; 18: 11-22
34. Kilar F. et al. 1989.Fast and high – resolution analysis of human serum transferrin by
high- performance isoelectric focusing in capillarie. Electrophoresis , 10:23-29.
35. Ilhem Hellara., Ons Fekih., Sonia Triki., et al, La bilirubine interfère –t-elle sur
l'électrophorèse capillaire des protéines sériques. Ann Biol 2014 ; 72 (1) :124-8.
36. Électrophorèse des protéines sériques : Principes généraux de méthode interprétation,
Option/Bio science directe January 2013, Pages 20-22.
37. VeutheyJ.L. et al. Electrophorèse capillaire : historique et perspective. LabChim Anal
Pharm. Université de Genève 2005.
38. Dounizeau. A . Electrophorèse dws proteines du serum. In : B Nega, J Louis editeur,
cahier de formation immunoglobuline monoclonal. Paris, 2003, p26-46.
39. Quand prescrire une électrophorèse des protéines sériques (EPS) et conduite à tenir en
cas d'une immunoglobuline monoclonale fiche memo Janvier 2017.
40. Journal des femmes Santé sémiologie médicale – définition proteines seriques.2013.
- 41.Le Carrer D,Bach-Ngohou K .L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie
clinique. Spectra Biologie 2005; 146:47-52.
42. D.Carrer. Electrophorèse et immunofixation des protéines sériques. Interprétations
illustrées Issy-les-Moulineaux : laboratoires SEBIA, 1994 ; 122p.
43. Alexander JA.Préalbumine.EMC.Biologie Médicale 2006;1(1):1-4[Article 90.10.0750].
44. Alexander JA.Retinol-binding protein (RBP). EMC.Biologie médicale 2006;1(1)-
2[Article 90-10-0840].
- 45 FéraudG, et al. Place de la Transthyrétine en biologie Clinique. Ann Biol Clin 2003.
- 46 Bach-Ngohou, et al. Les dysalbuminémies. Ann Biol Clin 2005.
- 47.Alexander JA. Albumine.EMC. Biologie médicale 2006;1(1):1-4[Article 90.10.0075].
48. Chapuis Cellier C.Alpha-1antitrypsine.EMC (Elsevier Masson SAS, paris), Biologie
clinique, 90-10-0100,2009.

- 49.** Bienvenu J. Alpha-1-glycoprotéine acide (Orosomucoïde). EMC. Biologie médicale 2006.
- 50.** Bennett M, Schmid K. Immunosuppression by human plasma alpha1-acid glycoprotein: importance of the carbohydrate moiety. Proc Natl Acad Sci USA 1980.
- 51.** VanOss. CJ, Gillman. CF, Brronson. PM, Border. JR. Phagocytosis-inhibiting properties of human serum alpha 1-acid glycoprotein. Immunol Commun 1973.
- 52.** Snyder S, Coodley EL. Inhibition of platelet aggregation by alpha 1-acide glycoprotein. Arch Intern Med 1976.
- 53.** Friedman. MJ. Control of malaria virulence by alpha 1-acide glycoprotein, an acute phase (inflammatory) reactant. Proc Natl Acad Sci USA 1983.
- 54.** Imbert Bismut. F, Alpha-2-macroglobuline. EMC-Biologie médicale 2006;1(1):1-3 [Article 90-10-0125].
- 55.** Liu. Q, Ling. T, Shieh. HS, Johnson. EF, Huang. TS, Huang. SS. Identification of the high affinity binding site in transforming growth factor-beta involved in complex formation with alpha 2-macroglobulin. Implication regarding the molecular mechanisms of complex formation between alpha 2-macroglobulin and growth factor, cytokines and hormones. J Biol chem 2011.
- 56.** Vaes. G. Protéinases cellulaires et leurs inhibiteurs. In paris: John Libbey Eurotext (Ed): 1998.
- 57.** Haptoglobine, biomnis 2012, Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées
- 58.** Bovin P. et al. L'anémie des cirrhoses, fréquences et mécanismes. Nouv Rev Fr Hematol 1961.
- 59.** Bienvenue F. Céruloplasmine. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie clinique, 90-10-0280, 2008.
- 60.** Jahnsen AM. Ceruloplasmin. In : Ritchie RF, Navolotskaia O, editors. Serum proteins in clinical medicine. Scaborough: Foundation for Blood Research; 1996. p. 1-8.
- 61.** D. Pérez Surribas, M.C. Cárdenas Fernández, E. Zapico Muñiz, Recomendaciones sobre la separación electroforética de las proteínas plasmáticas en el suero Recomendación (2014).
- 62.** De Saint-Van der Velden. MG, Rabelink. TJ, Reijngood. DJ, Gadelhaa. MM, Voorbig. HA, Stellaard. F, et al. Plasma alpha 2-macroglobuline is increased in nephrotic patients as a result of increased synthesis alone. Kidney Int 1998.
- 63.** Mitchell. L, Piovella. F, Ofosu. F, Andrew. M, Alpha 2-macroglobulin may provide protection from thromboembolic events in antithrombin III deficient children. Blood 1991.

- 64.** BENEYTOUT J. L., SALLE P. V. et LIAGRE B. Les marqueurs biochimiques de l'inflammation ; in <<Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives>>, Lavoisier, Paris, 99-112.2011.
- 65.** Revenant M.C, Doyen C. Transferrine. EMC-Biologie médicale 2006;1(1):1-2 [Article 90-10-0910].
- 66.** Bienvenu J, Bienvenue F. Protéine C-réactive. EMC-Biologie médicale 2016;11(2):1-7 [Article 90-10-0315-A].
- 67.** Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999;100:713–6.
- 68.** Abramson JL, Vaccarino V. Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults. *Arch Intern Med* 2002;162:1286–92.
- 69.** Collet N. Cours de l'exploitation biochimique des protéines. s.l., CHU de Rennes : laboratoire de biochimie, Novembre 2008.
- 70.** Valdigué P. Protéines plasmatiques.
- 71.** Schoroder H W, Cavacini L. structure and function of immunoglobulins. *J. Allergy clin. Immunol*, 125, 2010, p S41-S52.
- 72.** Support de Cours, Item 126 : Immunoglobuline monoclonale COFER, Collège Français des Enseignants en Rhumatologie.
- 73.** Bienvenu J., Roche C., Bernon H., Bienvenu F., Profil ciblé inflammatoire, Feuille de biologie, 1995 :63-67.
- 74.** Gas B, ELECTROPHORESIS | Principles, Editor(s): Paul Worsfold, Alan Townshend, Colin Poole, Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition), Elsevier, 2005, Pages 363–370.
- 75.** Regeniter A, Siede W Peaks and tails: Evaluation of irregularities in capillary serum protein electrophoresis
- 76.** Marien M. Protéinogramme. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie clinique, 90-10-0803, 2009.
- 77.** Dreyfus B. L'hématologie. Paris: Flammarion; 1992
- 78.** Degos L. Organisation générale de la réaction immunitaire. Lexique immunologie. Paris: Médecine-Sciences Flammarion; 1989. 40p.
- 79.** Hellara I, Fekih O, Triki S et al. La bilirubine interfère-t-elle sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques. *Ann Biol Clin* 2014.

- 80.** Colette. C C, Christine L, Isabelle.D, Marie-Nathalie.K S. L'électrophorèse des protéines sériques en biologie médicale : interférences et facteurs confondants. Revue francophone des laboratoires • N° 499 • FÉVRIER 2018.
- 81.** Bienvenu J, Graziani MS, Arpin F et al. Multicenter evaluation of the paragon CZE 2000™ capillary zone electrophoresis system for serum protein electrophoresis and monoclonal component typing. Clin Chem 1998;44(3):599-605.
- 82.** L.J. Kricka, Human anti-animal antibody interferences in immunological assays.
- 83.** I.V. Kaplan, S.S. Levinson, When is a heterophile antibody not a heterophile antibody When it is an antibody against a specific immunogen, Clin. Chem. 45 (1999).
- 84.** Christopher R. McCuddena, Joannes F.M Jacobs, David Kerenc, Hélène Caillond, Thomas Dejoie et al . Recognition and management of common, rare, and novel serum protein electrophoresis and immunofixation interferences Clinical Biochemistry 51 (2018) 72–79.
- 85.** D. Blank, M.H. Kroll, M.E. Ruddel, R.J. Elin, Hemoglobin interference from in vivo hemolysis, Clin. Chem. 31 (1985) 1566–1569.
- 86.** P. Ruef, O. Linderkamp, Deformability and geometry of neonatal erythrocytes with irregular shapes, Pediatr. Res. 45 (1999) 114–119, <http://dx.doi.org/10.1203/00006450-199901000-00019>.
- 87.** G. Vaiopoulos, D. Kyriakou, H. Papadaki, P. Fessas, G.D. Eliopoulos, Multiple myeloma associated with autoimmune hemolytic anemia, Haematologica 79(1994) 262–264.
- 88.** .Pepys M.B, Baltz Marilyn.I. Acute phase proteins with special reference to C-Reactive Protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. 1983 by academic press.
- 89.** Bossuyt X, Mewis A, Blanckaert N. Interference of radio-opaque agents in clinical capillary zone electrophoresis. Clin Chem 1999;45(1): 129-31.
- 90.** Arranz-Peña ML, González-Sagrado M, Olmos-Linares AM et al. Interference of iodinated contrast media in serum capillary zone electrophoresis. Clin Chem 2000.
- 91.** Lippi G, Daves M, Mattiuzzi C. Interference of medical contrast media on laboratory testing. Biochimica Medica. 2014;24(1):80–8
- 92.** Blessum CR, Khatter N, Alter SC. Technique to remove interference caused by radio-opaque agents in clinical capillary zone electrophoresis [Letter]. Clin Chem 1999;45:1313.
- 93.** Bossuyt X, Peetermans W. Effect of piperacillin-tazobactam on clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. Clin Chem 2002;48(1):204-5.

- 94.** Bossuyt X, Verhaegen J, Mariën G et al. Effect of sulfamethoxazole on clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. *Clin Chem* 2003;49(2):340-1.
- 95.** Dominik Siede, Helgard Moller, Werner H. Siede and Axel Regeniter. Effect of ampicillin-sulbactam on clinical capillary zone electrophoresis of serum proteins. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(10):1468–1469
- 96.** Bossuyt X, Verhaegen J, Mariën G, Blanckaert N. Effect of Sulfamethoxazole on Clinical Capillary Zone Electrophoresis of Serum Proteins. *Clin Chem.* 2003 Feb;49(2):340-1.
- 97.** Brouwers A, Schiettekatte G, Mariën G, Bossuyt X. Interference of ceftriaxone on capillary zone electrophoresis. *Clin Chim Acta.* 2007 Feb;376(1-2):255-6.
- 98** Caillon H. Fraissinet F. Denis M G. Dejoie T. Identification of 5-fluorocytosine as a new interfering compound in serum capillary zone electrophoresis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 55 (2017) e56–e58.
- 99** .McCudden. C.R, P.M. Voorhees, S.A. Hainsworth, H.C. Whinna, J.F. Chapman, C.A. Hammett-Stabler, et al , Interference of monoclonal antibody therapies with serum protein electrophoresis tests, *Clin. Chem.* 56 (2010) 1897–1899.
- 100.** J. Ruinemans-Koerts, C. Verkroost, Y. Schmidt-Hieltjes, C. Wieggers, J. Curvers, M. Thelen, M. van Luin, Interference of therapeutic monoclonal immunoglobulins in the investigation of M-proteins, *Clin. Chem. Lab. Med.* 52 (2014) e235–237
- 101.** McCuddena C R, Jacobsb J FM, Kerenc D, Caillond H, Dejoied T, Andersen K. Recognition and management of common, rare, and novel serum protein electrophoresis and immunofixation interferences. *Clinical Biochemistry.* 51 (2018) 72–79.
- 102.** Jelinek T. Hajek R. Monoclonal antibodies — A new era in the treatment of multiple myeloma. *Blood Reviews.* (2016) 30(2), 101–110.
- 103.** Caillon H. Overcoming the interference of daratumumab with immunofixation electrophoresis (IFE) using an industry-developed DIRA test: hydrashift 2/4, *Am. Soc. Hematol.* (2016).
- 104.** Roberts JS, Bratton SL. Colloid volume expanders. *Drugs* 1998;55:621–30.
- 105.** Gijbels K, De Coster J, Bossuyt X, Interference by gelatin-based plasma substitutes in capillary zone electrophoresis, *Clin. Chem.* 50 (2004) 1473–1475.
- 106.** Gay-Bellile C, Bengoufa D, Houze P et al. Automated multicapillary electrophoresis for analysis of human serum proteins. *Clin Chem* 2003;49(11):1909-15.
- 107.** Vermeersch P, Mariën G, Bossuyt X. A case of pseudoparaproteinemia on capillary zone electrophoresis caused by Geloplasma. *Clin Chem* 2006;52(12):2309-11.

Résumé

L'électrophorèse capillaire est une méthode d'analyse de plus en plus utilisée dans le domaine médical .

Plusieurs substance exogène et endogène créent des interférences et rend l'interprétation de profils électrophorétiques plus délicate.

L'objectif de ce travail est de mettre en exergue les principales interférences médicamenteuses de l'électrophorèse capillaire.

L'effet artéfactuel des médicaments sur électrophorèse capillaire peut être engendré par deux mécanismes, soit que ces substances absorbent à 214nm, longueur d'onde de détection par l'électrophorèse capillaire ou bien qu'elle soient de nature protéique .Parmi les médicaments ayant une interférence bien connue sur électrophorèse capillaire de protéines sériques : les produits de contraste produisant un petit pic en alpha , les antibiotiques à l'origine de pics en alpha 2 globulines (ampicilline-sulpactame), de pics en bêta globulines(pipéracilline-tazopactam), de pics dans la zone albumines(sulfaméthoxazole), ou en préalbumine (ceftriaxone) et même dans la zone gamma (5-fluorosamine).

Les anticancéreux tels que la siltuximab , le daratumumab,et l'elotuzumab sont à l'origine d'interférences potentiels de l'électrophorèse capillaire des protéines.

Les produits de remplissage et les immunoglobulines polyclonales engendrent une augmentation nette de la fraction des gamma globulines .

La présence de ces interférences crée une confusion avec des pics monoclonaux et donc impliquent aux biologiste une interprétation plus rigoureuse des profils avec une recherche très fines de leur origine par collaboration avec le médecin traitant. Une électrophorèse ultérieure est ainsi nécessaire après épuration de ces substances du corps des malades.

Abstract

Capillary electrophoresis is an analysis method which is increasingly used in the medical field.

Several exogenous and endogenous substances create interferences and makes the interpretation of electrophoretic profiles more delicate.

The objective of this work is to highlight the main drug interferences of capillary electrophoresis.

The artefactual effect of drugs on capillary electrophoresis can be caused by two mechanisms, either that these substances absorb at 214nm, capillary electrophoresis wavelength detection or they are protein in nature. Among the drugs with well-known interference on capillary electrophoresis of proteins serum: contrast agents that produce a small spike in alpha, antibiotics that cause spikes in alpha 2 globulins (ampicillin-sulbactam), peaks in beta globulins (piperacillin-tazobactam), peaks in the albumin zone (sulfamethoxazole), or in prealbumin (ceftriaxone) and even in the gamma zone (5-fluorosamine).

Cancer drugs such as siltuximab, daratumumab, and elotuzumab cause potential interference in capillary protein electrophoresis.

The fillers and polyclonal immunoglobulins cause a marked increase in the fraction of gamma globulins.

The presence of these interferences creates confusion with monoclonal peaks and therefore imply to the biologist a more rigorous interpretation of the profiles with a very detailed research of their origin by collaboration with the attending physician. Subsequent electrophoresis is thus necessary after purification of these substances from the body of the sick.

#%&:

ال#حلان ال#هائي ال#ع0 ه2 #3قفة ت8ل:ل ت<=>م. A. B. مل متلاي? في الHG الJKي OM

العي? م0 ال2اد >الارجبة وال?اخبة إلى ت?اخلات وتHعل تف<:# الالامح ال#حلان ال#هائي

#صع2*ة.

لاه?ف م0 ه_ا لعل ه2 ت<:ل: َ لء2 على ل?اخلات لا?وئبة لل#ب:ب:ة في ال#حلان ال#هائي

ل#عبت ل#م2ة.

OM أن 8d ث التأت:# الالقي للأدوية على ال#حلان ال#هائي ال#ع0 ع0 #3 ج_آ:ب:0 ، إما

تأت#m= ه_ه ال2اد ع0? 214 ةم=# ، وه2 الJل ال2ج لل.ف #3 ج_ال#حلان ال#هائي ع0

ال#ع0 ، أو أنها ذات K3 عة ب#وت:0:ة. ال?اخل ال#عوف في ال#حلان ال#هائي لل#وت:0:ات ال?م: م0Hات

ل#باي0 لي ت=ج 3#ة صغ:# في ألفا ، والagادات ال2:8ة الـ <z< 3#ت في alpha 2 ت ي

(globulins (ampicillin-sulpactam) ، #ت في ب:با ج2*:2:0 (piperacillin-tazopactam)

، قغ في م0قفة الألكم:0 (سلفام:12<ازول) ، أو في ب#الكم:0 (سدف:#اك<2ن) وحتى في م0قفة جاما

(5فروزام:0).

اق:# <#3مال سد:ل:12<:Gاب ، دارات2ماب ، وييل2ت2وماب هي م0ر ال?اخل الG=8G

في ال#حلان ال#هائي لل#وت:0 ال#ع0.

z< ال2.8ات والغل2*2:0 الالعي متعد لللة زيادة مل28ة في جءو جاما ج2*:2:0.

OM وجد ه_ه ال?اخلات إلى ح?وث ارتكالك مع القغ أحادية ل#<:لة ، و*الالي يJل م0

علغاء الأحباء تف<:# الالامح A. B. أك\# ص#مة مع 8A Õ تف<:لي للغاية ع0 أصله م0 خلال التعاون

مع الJK: z الالعالج. و*الالي فإن ال#حلان ال#هائي اللاحض#ور0 ع? تهق: ه_ه ال2اد م0 ج<è

A J

.u#0