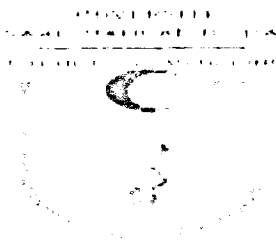


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 –



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

***INFLUENCE DES PARAMETRES PRE-
ANALYTIQUES SUR LES RESULTATS DES
EXPLORATIONS DE L'IMMUNOCHIMIE***

Thèse d'exercice de fin d'étude

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Juillet 2018.

Présentée par :

CHETOUANE Amira

HADJADJ Ratiba

Encadré par :

Dr.RENDJA.O. Maitre-assistant en immunologie, CHU Blida

Devant le jury :

- Président : Dr.BOUDJELLA.M.L. Maitre-Assistant en immunologie, CHU Blida
- Examinatrice: Dr. OULD ALI.L. Assistante en immunologie, CHU Blida
- Examineur : Dr.ZELTNI.M.L. Assistant en immunologie, CHU Blida.

Remerciements

*D'abord on remercie **DIEU**, le tout puissant qui a illuminé notre chemin et qui nous a armé de courage et de patience durant ces longues années d'étude.*

Nous présentons nos remerciements :

*Tout d'abord au professeur **MEGHLAOUI. A** chef de l'unité d'immunologie
Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre haute estime, considération et gratitude pour nous avoir accueillies au sein de votre unité.*

*A notre encadreur **Dr RENDJA. O** Maitre-assistant en immunologie CHU Blida Pour les conseils que vous nous a prodigués, pour votre disponibilité, patience et encouragement. Recevez cher maître, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profonde gratitude.*

*A notre président de jury **Dr BOUDJELLA.M.L** Maitre-assistant en immunologie CHU Blida pour nous avoir accordé un grand honneur en acceptant de présider le jury d'évaluation. Veuillez trouver ici, notre profonde reconnaissance et notre sincère respect.*

*A notre juge de thèse **Dr ZELTNI.M.L** Assistant en immunologie CHU Blida pour avoir accepté d'examiner ce travail. Recevez Docteur notre estime et notre profond respect.*

*A notre juge de thèse **Dr OULD ALI.L** Assistante en immunologie CHU Blida pour avoir accepté d'examiner ce travail. Recevez Docteur notre estime et notre profond respect.*

*A **Mr KHERBACHE** coordinateur de personnel paramédical de laboratoire et à tous le personnel du laboratoire Pour leur aide et collaboration.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance sincère que j'ai pour vous. Ce travail est donc avant tout le vôtre, J'espère avoir été à la hauteur de votre estime.

A la mémoire de mes chers grands pères

Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A mes chères grandes mères

Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, bonheur.

A mes sœurs

*Je vous dédie ce travail en témoignage de ma gratitude pour le joyau que vous m'avez offert.
Qu'Allah vous protège*

A mon frère

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite

A toute ma famille

A mes amis

Je vous souhaite tous un avenir plain de succès

HADJADJ Ratiba

Je dédie ce travail

A ma chère mère

En témoignage de mon amour et de mon affection, Merci pour vos prières, votre soutien dans les moments difficiles, pour votre courage et patience. C'est grâce à ALLAH puis à toi que je suis devenue ce que je suis aujourd'hui.

A mon Cher père

Mon exemple et la personne la plus digne de mon respect, pour tous tes sacrifices et ton soutien j'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances.

Puisse ALLAH m'aider pour rendre un peu soit-il de ce que vous m'avez donné.

A mes chères sœurs : Sara, Rania et Wafa

En témoignage de mon profond amour, mon grand attachement et ma tendresse, merci pour vos encouragements permanents, et votre soutien moral.

A Mon cher grand-père maternel Ma chère grand-mère maternelle

Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A la mémoire de mon grand-père paternel, la mémoire de ma grand-mère paternelle

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A mes amis et collègues

CHETOUANE Amira

Table des matières

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	IV
A- Introduction.....	1
B- Partie bibliographique	3
I- Chapitre I : la phase pré analytique.....	4
1- Définition	4
2- Les Intervenants lors de la phase pré analytique	4
3- Prescription médicale	5
4- Prélèvement	5
5- Acheminement des échantillons	10
6- Réception et tri des échantillons	11
7- Enregistrement des échantillons	11
9- Conservation des échantillons	13
II- Chapitre II: paramètres pré-analytiques influençant l'analyse.....	14
1- Paramètres non maîtrisables	14
2- Paramètres maîtrisables	17
3- L'hémolyse	19
III- Chapitre III : l'immunochimie	21
1- Définition	21
2- Techniques utilisés en Immunochimie	21
2-1- Technique qualitatives	21
2-1-1- Techniques électrophorétique	21
2-1-2- Immunofixation	26
2-1-3- L'immuno-soustraction	27
2-2- Techniques quantitatives	27
2-2-1- Technique de dosage	27
2-2-2- Indication des dosages protéiques	28
C-Partie pratique	31
I- Objectifs de l'étude	32
II- Description de l'étude	32
III- Matériel et méthodes	32
1- Matériel biologique	32
2- Matériel non biologique	34

3- Méthodes	35
IV - Résultats	40
1- Données relatives aux aspects des sérums	40
1-1- Répartition des échantillons traitaient par la méthode B selon l'aspect des sérums obtenus..	40
1-2- Comparaison des aspects des sérums traitaient par la méthode A et B.....	41
1-3- Concordance des aspects des sérums obtenus par la méthode A et B.....	42
2- Données relatives aux taux de protéines sériques des patients	43
2-1- Répartition des taux de protéines sériques	43
2-2- Répartition des patients en fonction des valeurs des taux de protide sérique	44
2-3- Variations inter méthodes des taux de protéines sériques	47
2-4- Variations intra méthode des taux de protéines sériques	48
3- Données relatives aux résultats d'EPS.....	49
3-1- Comparaison des résultats d'EPS obtenus par les méthodes A et B.....	49
3-2- Concordance des résultats d'EPS	51
3-3- Étude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B.....	51
3-4- Étude des résultats des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les méthodes A et B.....	52
3-5- Étude des résultats des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les méthodes A et B.....	53
3-6- Étude des résultats des fractions des Béta-1 globulines obtenus par les méthodes A et B	54
3-7- Étude des résultats des fractions des Béta-2 globulines obtenus par les méthodes A et B	55
3-8- Étude des résultats des fractions des gammaglobulines obtenues par les méthodes A et B....	56
3-9- Analyse des composants monoclonaux obtenus à l'EPS.....	58
D-Discussion	61
E-Conclusion	65
Référence.....	68
Annexes	V
Résumé:.....	XX

Liste des figures

Figure 1: La phase préanalytique dans le processus de diagnostic.	4
Figure 2: Intervenant concernée par la phase pré analytique.	5
Figure 3: Les veines du pli du coude (M veineux).	6
Figure 4: ordre de remplissage des tubes.	8
Figure 5: schéma expliquant la collecte des urines de 24 heures 9	9
Figure 6 : Les étapes de préparation du sérum.....	12
Figure 7 : Nomogramme.	13
Figure 8: Algorithme pour la conservation des échantillons.	14
Figure 9: La fluctuation du cortisol au cours de la journée.	16
Figure 10: Effets aigus et chroniques de l'absorption d'alcool sur certains paramètres de laboratoire... 17	17
Figure 11: Echantillons présentant des hémolyses de différentes intensités.....	19
Figure 12 : Modification de différents paramètres avec une concentration d'hémoglobine de 5 g/l.	20
Figure 13 : électrophorégramme obtenu par électrophorèse capillaire.	21
Figure 14: immunofixation sérique.	27
Figure 15: profil d'orientation.	29
Figure 16: Répartition des patients selon les tranches d'âge.	33
Figure 17: Répartition des patients selon le sexe.	34
Figure 18: Prélèvements placés horizontalement dans un portoir (Méthode A).	36
Figure 19: Décollement du caillot par pipette pasteur (Méthode B)	36
Figure 20: A gauche les échantillons après premier centrifugation, à droite les échantillons après la deuxième centrifugation (Méthode B).	37
Figure 21: Conservation des échantillons dans des tubes 2cc de type eppendorf (Méthode B).....	37
Figure 22 : Réaction chimique de formation de complexe Cu-protéine coloré.....	38
Figure 23: Répartition des échantillons traités par la méthode B selon l'aspect des sérums obtenus 41	41
Figure 24: Comparaison de l'aspect des sérums résultant du traitement selon la methdes A et B.	42
Figure 25: Concordance des aspects des sérums obtenus par la méthode A et B 42	42
Figure 26: Comparaison des taux des protéines sériques des deux méthodes A et B.	44
Figure 27: Répartition des patients en fonction de la présence d'une dysprotéinémie.....	45
Figure 28: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hyperprotéinémie.....	46
Figure 29: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hypoprotéinémie 47	47
Figure 30: Variations inter méthodes des taux de protéines sériques	47
Figure 31 : Variations intra méthode des taux de protéines sériques	49
Figure 32: Comparaison des résultats des EPS traitaient selon la méthode A et B.	50
Figure 33: Concordance des résultats d'EPS des deux méthodes A et B.	51
Figure 34: Étude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B.....	52
Figure 35 : Étude des résultats des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les méthodes A et B.. 53	53
Figure 36: Étude des résultats des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les méthodes A et 54	54
Figure 37: Étude des résultats des fractions des Béta-1 globulines obtenus par les méthodes A et B. 55	55
Figure 38 : Étude des résultats des fractions des Béta-2 globulines obtenus par les méthodes A et B . . 56	56
Figure 39 : Étude des résultats des fractions des gammaglobulines obtenues par les méthodes A et B.. 57	57
Figure 40: Étude de position de migration de composant monoclonal obtenu par les méthodes A et B. 59	59
Figure 41: Étude des concentrations des composants monoclonaux obtenus par les méthodes A et B. . 60	60

Liste des tableaux

Tableau 1: choix du tube en fonction d'examen demandé	7
Tableau 2: Avantages et inconvénients des tubes avec gel séparateur de sérum.	7
Tableau 3: Prélèvement urinaire.....	9
Tableau 4: Délai d'acheminement recommandé pour certains paramètres.	10
Tableau 5: différentes causes de refus d'admission d'un prélèvement.	11
Tableau 6: L'influence de l'âge sur une sélection de paramètres	14
Tableau 7: Différences liées au sexe.	15
Tableau 8: Fluctuations au cours de la journée (rythme journalier).	16
Tableau 9: Variations de certains taux biologiques observés lors du changement de la position allongé	18
Tableau 10: Facteurs et mécanismes déclenchant l'hémolyse	20
Tableau 11: les gammopathies monoclonal.....	22
Tableau 12: classification du syndrome néphrotique.....	23
Tableau 13: expression des déficits immunitaires à l'EPS.	23
Tableau 14 : des cas pathologiques d'altérations de l'électrophorèse sérique	25
Tableau 15 : caractéristique des méthodes de dosage colorimétrique des protéine.	28
Tableau 16: les profils protéiques cibles.....	29
Tableau 17: dosage unique de certain protéines sérique.....	30
Tableau 18 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.	33
Tableau 19: Répartitions des patients selon le sexe.....	33
Tableau 20: Répartition des échantillons selon la vitesse et temps de centrifugation (Méthode B).....	37
Tableau 21: Les Valeurs normales de taux de protéines sériques total selon l'âge.	39
Tableau 22: Interprétation des résultats d'EPS.....	40
Tableau 23: Répartition des échantillons traités par la méthode B selon l'aspect des sérums obtenus. ..	40
Tableau 24: Comparaison de l'aspect des sérums résultant du traitement selon les méthodes A et B....	41
Tableau 25: Concordance des aspects des sérums obtenus par la méthode A et B	42
Tableau 26: Comparaison des taux des protéines sériques des deux méthodes A et B	43
Tableau 27: Répartition des patients en fonction de la présence d'une dysprotéinémie.....	45
Tableau 28: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hyperprotéinémie	45
Tableau 29: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hypoprotéinémie.	46
Tableau 30 : Variations inter méthodes des taux de protéines sériques.	48
Tableau 31 : Variations intra méthode des taux de protéines sériques	48
Tableau 32: Comparaison des résultats des EPS traités selon la méthode A et B.	50
Tableau 33 : Répartition des résultats des EPS obtenus par les méthodes A et B selon leurs concordance	51
Tableau 34: Concordance des résultats d'EPS des deux méthodes A et B.	51
Tableau 35 : Etude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B.....	52
Tableau 36 : Étude des résultats des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les méthodes A et B.53	
Tableau 37: Étude des résultats des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les méthodes A et B. 54	
Tableau 38: Étude des résultats des fractions des Béta-1 globulines obtenus par les méthodes A et B .. 55	
Tableau 39 : Étude des résultats des fractions des Béta-2 globulines obtenus par les méthodes A et B. 56	
Tableau 40 : Étude des résultats des fractions des gammaglobulines obtenues par les méthodes A et B57	
Tableau 41: Étude de la présence de composant monoclonal à l'EPS par les méthodes A et B.	58

Tableau 42: Étude de position de migration de composant monoclonal obtenu par les méthodes A et B.	58
Tableau 43: Étude des concentrations des composants monoclonaux obtenus par les méthodes A et B.	59
Tableau 44 : Répartition des sérums traités par la méthode A et B selon la concordance de leurs d'aspects.	62
Tableau 45: Résultats des EPS obtenus par les méthodes A et B et leurs fréquences.....	63

Liste des abréviations

- **ACTH** : Adrénocorticotrophine Hormone.
- **ACE** : Antigen Carcino Embryonnaire.
- **ALAT** : Alanine Amino Transférase.
- **ASAT** : Aspartate Amino Transférase.
- **CIVD** : Déficit Immunitaire Commun Variable.
- **CLL** : Chaîne Légère Libre.
- **CM** : Composant Monoclonale.
- **CK** : Creatine Kinase.
- **CRP** : Protein Reactive-C.
- **DO** : Densité Optique.
- **EDTA** : Ethylène Diamine Tétracétylique.
- **EPS** : Electrophorèse Des Protéine Sérique.
- **EPU** : Electrophorèse Des Protéine Urinaire.
- **GMSI** : Gammopathie Monoclonale De Signification Indéterminé.
- **Gama GT** : Gamma Glutamyl Transférase.
- **HTA** : Hyper Tension Artérielle.
- **Hypogamma** : Hypogammaglobulinémie.
- **Hypoalb** : Hypoalbuminémie.
- **Ig** : Immunoglobuline.
- **LDH** : Lactate Déshydrogenase.
- **LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien.
- **r** : Rayon de rotation en millimètre.
- **RBP** : Retinol Binding Protein.
- **RFC** : Force Centrifuge Relative.
- **RPM** : Rotation Par Minute.
- **SIDA** : Syndrome Immunodéficient Acquis.
- **SIA** : Syndrome Inflammatoire Aiguë.
- **SIC** : Syndrome Inflammatoire Chronique.
- **SICE** : Syndrome Inflammatoire Chronique Evolutif.
- **SHBG** : Sex Hormone Binding Globulin.
- **TEN** : Trace Electrophorétique Normal.
- **TQ** : Temps De Quick.
- **VS** : Vitesse De Sédimentation

A-Introduction

En pratique médicale, les explorations biologiques en général et immunologiques en particulier représentent une partie intégrante de la chaîne de soins. En fonction de la clinique, ils constituent un moyen de dépistage, de diagnostic, de suivi, de choix thérapeutique et d'évaluation pronostique (1). Dans cette optique, la qualité et la fiabilité des examens de laboratoire s'avèrent cruciales pour une prise en charge optimale des patients.

Comme tout examen biologique, les bilans immunologiques comportent trois phases, la phase pré-analytique, la phase analytique et la phase post-analytique.

La phase pré analytique est une étape décisive dans la maîtrise de la qualité des analyses effectués (2). Sa complexité est liée aux problèmes relatifs à la quantité et à la diversité des prélèvements reçus et dont les règles de recueil, de transfert, de traitement et de conservation répondent à des normes strictes (3). Près de 85% des erreurs surviennent lors de cette phase, alors que celles liées aux phases analytique et post analytique ne représentent que 04% et 11%, respectivement (4).

Problématiques :

Quelles peuvent être les paramètres pré analytiques influençant les résultats des bilans immunologiques tels que ceux obtenus lors des explorations immunochimiques ?

B- Partie bibliographique

I- Chapitre I : la phase pré analytique

1- Définition :

La phase pré analytique survient de la prescription médicale d'analyse jusqu'à la conservation des échantillons traités en vue de leur analyse (5) Elle comporte:

- ✓ La prescription de l'analyse par le médecin ;
- ✓ Le prélèvement biologique (Sang, LCR, Urine ...);
- ✓ Acheminement des prélèvements au laboratoire ;
- ✓ Traitement pré analytique des prélèvements ;
- ✓ La conservation adéquate jusqu'au moment de l'analyse.
- ✓

Cette phase pré-analytique représente 57% à 75% du temps total de l'analyse. Elle se déroule à l'extérieur comme à l'intérieur du laboratoire (Figure 01) (6).

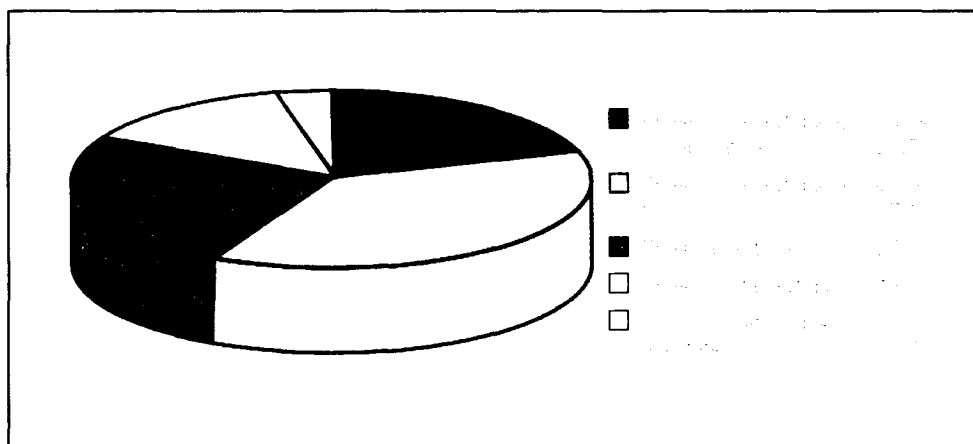


Figure 1: La phase préanalytique dans le processus de diagnostic. (7)

2- Les Intervenants lors de la phase pré analytique :

Plusieurs intervenants sont impliqués à différents niveaux (7)(Figure 02) :

- Le patient ;
- Le médecin prescripteur ;
- Le préleveur ;
- Le convoyeur ;
- Le technicien en analyses biomédicales.

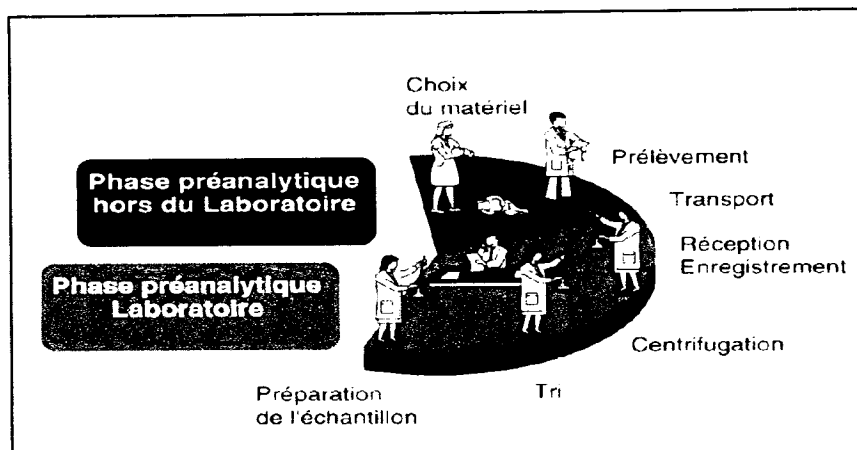


Figure 2: Intervenant concernée par la phase pré analytique. (8)

3- Prescription médicale :

C'est un acte médical qui formalise le choix de l'analyse indiquée chez un patient (9) établie selon un contexte clinique orientant la prescription (10) Cette dernière doit comporter les données suivantes : (11)

- ✓ Identité du patient : Nom, prénom, sexe, Age (voir la date de naissance) ;
- ✓ Identification du prescripteur et ses coordonnées : Griffes comportant le nom du médecin et sa fonction avec la signature du prescripteur ;
- ✓ Identification de la structure de soin d'origine ;
- ✓ Date de la prescription ;
- ✓ Renseignements cliniques détaillant la symptomatologie, l'histoire de la maladie et le traitement médical en cours ;
- ✓ Notion d'urgence quand cela est nécessaire ;
- ✓ Examens demandés ;
- ✓ Autre : taille, poids, grossesse, allaitement, ménopause, tabagisme.

4- Prélèvement :

4-1-Définition :

Acte des soins qui consiste à prélever un échantillon biologique nécessaire à un examen demandé (12).

4-2-Sang :

4-2-1- Préparation du patient et paramètre demandé :

Il est crucial de vérifier que le patient remplit les conditions requises pour l'examen demandé :

- ✓ Etat de jeûne ;
- ✓ Heure de prélèvement pour des paramètres répondant à un cycle nyctéméral ;
- ✓ Absence de prise des médicaments interférents (13).

Le stress et la position corporelle lors de la prise de sang jouent un rôle important, car ils peuvent influencer de nombreux paramètres biologiques (5).

4-2-2- Respect des règles d'hygiène et de sécurité :

Chaque prélèvement représente un risque pour les différents intervenants (patient, personnel médical et paramédical) (14). Les précautions d'hygiène et de sécurité doivent être respectées (15).

- ✓ Lavage soigneux des mains entre deux patients ou deux activités ;
- ✓ Port de gants recommandé et devant être changés entre deux patients ou deux activités ;
- ✓ Avant d'effectuer le prélèvement, vérifier sur l'ordonnance prescrite par le médecin la présence d'un risque infectieux ;
- ✓ Les aiguilles usagées sont jetées dans un container non perforable (ne jamais recapuchoner) ;
- ✓ Les garrots doivent être nettoyés et désinfectés quotidiennement ;
- ✓ Les corps de prélèvement sont éliminés après chaque prise de sang ;
- ✓ Les containers des aiguilles sont éliminés régulièrement.

4-2-3- Acte de prélèvement :

Commencer par préparer le matériel de prélèvement et, vérifier l'identité du patient et la concordance avec la demande d'analyse. Il est effectué par ponction veineuse (plie du coude, revers de mains.....) (16) (Figure 03)

Le matériel utilisé sera adapté au recueil de l'échantillon, stérile, à usage unique et non périmé (4). Sa préparation avant l'acte est un gage de qualité (9). (Annexe11).

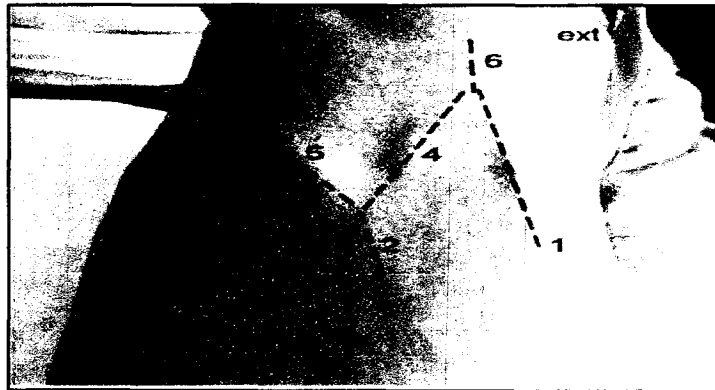









Figure 3: Les veines du pli du coude (M veineux). (17)

4-2-4- Choix du tube :

Pour les prélèvements sanguins il y a deux type de tube de recueille. Il y a ceux ne contenant aucune substance (Tube sec) et ceux contenant des substances optimales utilisés selon le type d'analyses prévu (5) (Tableau 01).

Tableau 1: choix du tube en fonction d'examen demandé (18)

Type de tube de recueille	Utilisation
 Tube citraté	Pour l'exploration de l'hémostase et au suivi des patients sous héparine permet un délai avant analyse jusqu'à 4 heures.
 Tube sec avec gel séparateur	Ces tubes permettent d'obtenir après centrifugation un sérum de qualité supérieure et de volume plus important.
 Tube sec	Permet l'obtention de sérum. Utilisation dans plusieurs disciplines (biochimie, immunologie, Hormonologie, marqueurs tumoraux, Allergie).
 Tube avec Héparinate de Sodium .	Permet l'obtention de plasma .Utilisé pour certaines analyses spécialisées de biochimie, d'hématologie ou de génétique
 Tube avec EDTA	Permet l'obtention de plasma sur EDTA. Utilisé pour les examens d'hématologie cellulaire
 Tube avec EDTA ou oxalo-acétate + fluorure de sodium (anticoagulant et anti glycolytique)	Tube avec inhibiteur de la glycolyse utilisé pour le dosage de glucose .
 Flacons d'hémoculture	<p>(Pour prélèvements sanguins ou tous les liquides de ponctions)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Un flacon aérobie et un flacon anaérobie sont systématiquement prélevés - Ces flacons sont ensuite incubés à 37°C (dans une étuve ou dans un automate d'hémoculture.

Le tube contenant gel séparateur, contient un gel semi-rigide de polymère de silicone ou de polyester qui, après coagulation du sérum et centrifugation, se place à l'interface sérum/caillot grâce à sa densité intermédiaire (19) (Tableau 02).

Tableau 2: Avantages et inconvénients des tubes avec gel séparateur de sérum. (19)

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> - Meilleure séparation du sérum - Rendement +++. - Décantation plus aisée 	<ul style="list-style-type: none"> - Coût élevé - Risqué pour certains automates utilisant les tubes primaires.

4-2-5- Ordre de remplissage des tubes :

L'ordre de remplissage des tubes permet d'éviter des interférences par transfert des additifs entre les tubes via l'aiguille ou le bouchon.

Dans le cas de prélèvements multiples, il est conseillé de respecter l'ordre suivant (20) (Figure 04):

- Toujours prélever en premier le tube destiné à une étude microbiologique pour limiter les risques de contamination (hémoculture) ;
- Prélever ensuite le(s) tube(s) sans additif (tube sec) ;
- Le(s) tube(s) destiné(s) à l'exploration de la coagulation (citrate) ;
- le(s) tube(s) hépariné(s);
- Le(s) tube(s) contenant de l'EDTA, du fluorure et/ou du mono-iodacétate est (sont) prélevé(s) en dernier.

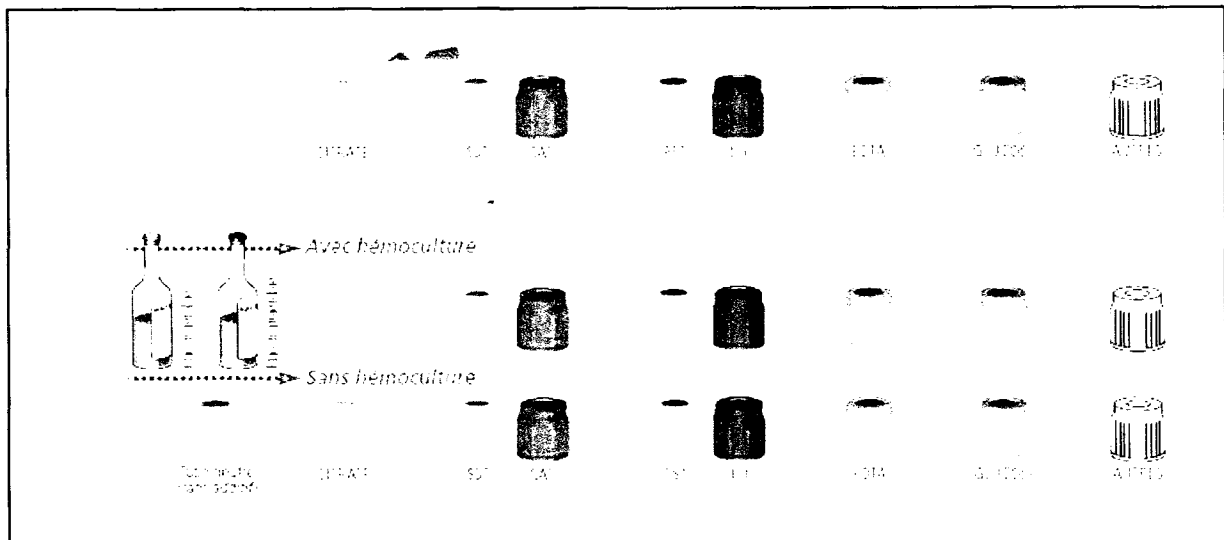


Figure 4: ordre de remplissage des tubes. (20)

Il est très important de respecter l'ordre des tubes défini ci-dessus car Certains additifs (anticoagulant) interfèrent avec le dosage à réaliser exemple : l'EDTA peut provoquer des interférences au niveau de la coagulation et de certains paramètres de chimie (hypo calcémie , hyperkaliémie) (21).

4-2-6- Identification des échantillons :

L'étiquetage des tubes contenant les échantillon doit être fait au moment du prélèvement par le préleveur, en présence du patient pour éviter toute erreur, voir toute contestation de la part de ce dernier (4)(Figure 05).

Le pré étiquetage des tubes avant le prélèvement est proscrit dans plusieurs systèmes de santé (22). Tout prélèvement et échantillon transmis, quel que soit l'analyse, doit impérativement comporter (15):

- Nom et prénom du patient ;
- Date de naissance.

4-3-Urine :

Au niveau urinaire, plusieurs types de prélèvement peuvent être pratiquer en fonction du des paramètres d'analyse prescrits (7) (Tableau 03).

Tableau 3: Prélèvement urinaire (7)

Type de prélèvement	Explorations prescrites
Urine du milieu du jet	Sédiments urinaires (Spot urinaire) Dosage qualitatifs et /ou quantitatifs (Spot urinaire) Examen bactériologique
Premier urine du matin	Sédiments urinaires Constituants cellulaires, cylindres
Deuxième urine du matin	Dosage quantitatifs en relation avec le taux de créatinine si un recueil des urines de 24h est impossible
Urine de 24h	Dosages quantitatifs

Concernant les urines de 24 heures, le plus souvent elles sont faites à domicile par le patient. Du point de vue pratique elles sont recueillies à partir de la matinée du jour précédant l'acheminement au laboratoire (J-1) où dès le réveillée patient éliminées premières urines du matin (pour vider la vessie) afin d'entamer la collecte jusqu'à la matinée du lendemain (J-2), où après le réveille les premières urines de J-2 seront recueillies afin de compléter la collecte de 24 heures (23) (24) (Figure 06), les urines sont recueillies sur antiseptique., conservées à froid pendant le recueil et transportées dans la glace au laboratoire (25).

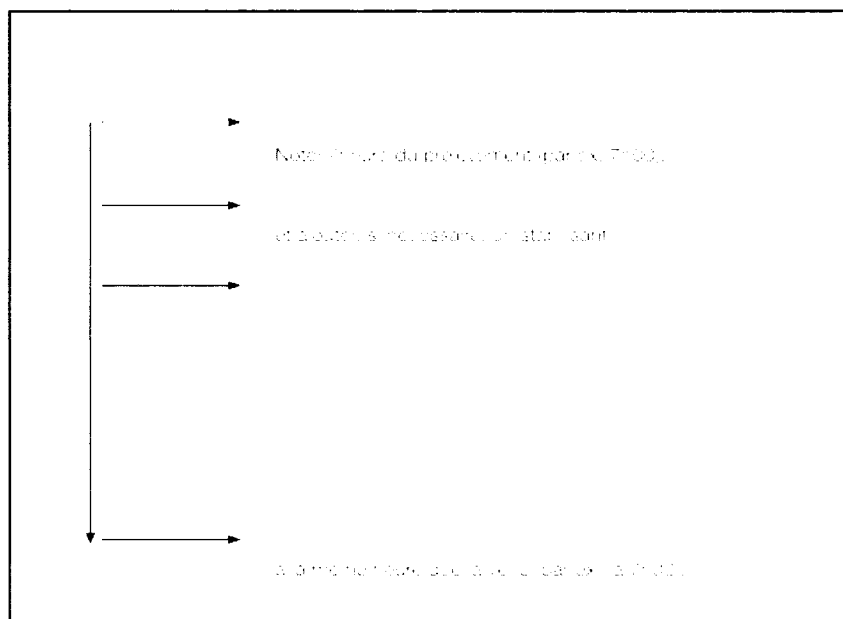


Figure 5: schéma expliquant la collecte des urines de 24 heures . (24)

4-4-LCR :

Le prélèvement de LCR est un acte médical, effectué par ponction lombaire et recueilli dans un tube stérile qui doit être acheminé rapidement au laboratoire pour analyse (15).

5- Acheminement des échantillons :

Les échantillons doivent être acheminés au laboratoire dans des conditions bien précises (délai, Température), adaptées à la nature des prélèvements effectués et aux paramètres demandés (Annexe).

A l'exception de certains examens pour lesquels des conditions particulières de température d'acheminement sont exigées (par exemple ; Cryoglobuline à +37°C, Homocystéine à -20 °C) (26), Les prélèvements doivent être acheminés entre 15° et 25° au laboratoire dans une limite définie à partir de sa réalisation (Tableau 04).

De plus, le conditionnement des prélèvements lors du transport revêt un intérêt majeur dans la sécurité sanitaire de la communauté, du personnel impliqué et des prélèvements acheminés, Pour cela, il convient d'utiliser des containers isolants appropriés, où:

- Les échantillons nécessitant une conservation à température ambiante devraient être emballés de façon à maintenir une température de 18 à 25 °C durant le transport (27) .
- Les échantillons nécessitant d'être réfrigérés devraient être emballés de façon à maintenir une température de 2 à 8 °C durant le transport (28).
- Les échantillons nécessitant d'être congelés (de -20 à -80 °C) devraient être acheminés sur glace sèche (27).
- Certains échantillons nécessitent d'être à l'abri de la lumière, comme par exemple l'exploration de la bilirubine, des vitamines, des porphyrines et de la créatine kinase (CK) (5).

Tableau 4: Délai d'acheminement recommandé pour certains paramètres.

Paramètres demandés	Conditions d'acheminement		Références
	Délai	Température	
Albumine sérique	24 heures	T° ambiante 2-8°C	(29)
Protéine réactive-C	24 heures	T° ambiante 2-8°C	(29)
Fer sérique	24 heures	T° ambiante 2-8°C	(29)
Ferritine	8 heures	T° ambiante	(30)
IgE totales	24 heures	T° ambiante	(31)
Ionogramme	4 heures	T° ambiante	(32)
Immunofixation des protéines sérique	24 heures	T° ambiante 2-8°C	(33)
Protides totaux	24 heures	T° ambiante 2-8°C	(29)
Electrophorèse des protéines sériques	24 heures	T° ambiante 2-8°C	(33)
Facteur rhumatoïde (Waler rose)	2 heures	T° ambiante 2-8°C	
Protéinurie	1 jour	T° ambiante	
	7 jours	2-8°C (spot urinaire)	(34)
	1 mois	-18°C	

6- Réception et tri des échantillons :

Au laboratoire, tout prélèvement reçu subit un contrôle de qualité pour établir sa conformité avec les paramètres prescrits (35). A ce niveau, toute demande d'analyse ou tout prélèvement non conforme peut être rejeté afin d'éviter tout risque d'erreur (tableau 05).

Tableau 5: différentes causes de refus d'admission d'un prélèvement. (36)

Causes de refus d'admission d'un prélèvement

- Volume insuffisant
- Non-respect du rapport de volume spécimen /additif
- Récipient cassé (accidenté)
- Défaut d'identification
- Nature de l'anticoagulant incorrecte
- Délai de transmission trop important
- Défaut de renseignements clinique indispensables
- Conditions de transport incorrectes
- Récipient ne respectant pas les règles d'hygiène en vigueur
- Absence de prescription
- Aspect du sérum : trouble, hémolyse ou laqué
- Température de transport inadéquate

7- Enregistrement des échantillons :

L'enregistrement des échantillons reçus est assuré par l'unité administrative du laboratoire via un système d'enregistrement (registre d'admission ou Logiciel de gestion) où il est attribué un identifiant à chaque échantillon avec remise d'un reçu au patient.

D'un autre côté, des feuilles de travail classant les échantillons identifiés sous formes de listes réparties sur les paramètres réalisés par le laboratoire (37).

8- Traitement des échantillons sanguin :

Des étapes de centrifugation sont nécessaire lors de l'extraction du sérum et du plasma à partir du sang total en vue de leur conservation et leur analyse.

8-1-Centrifugation :

La centrifugation est un procédé qui utilise la force centrifuge pour séparer les différents composants d'un fluide. Au laboratoire médical, elle est principalement utilisée pour séparer le plasma ou le sérum à partir de prélèvements sanguins ou pour obtenir un sédiment urinaire (38).

Sérum sanguin :

Le sérum est la phase liquide du sang dénuée des cellules et des protéines de la coagulation, représenté par le surnageant obtenu après la centrifugation du sang dans un tube « sec », c'est-à-dire sans inhibiteur de la coagulation (39)(Figure 07).

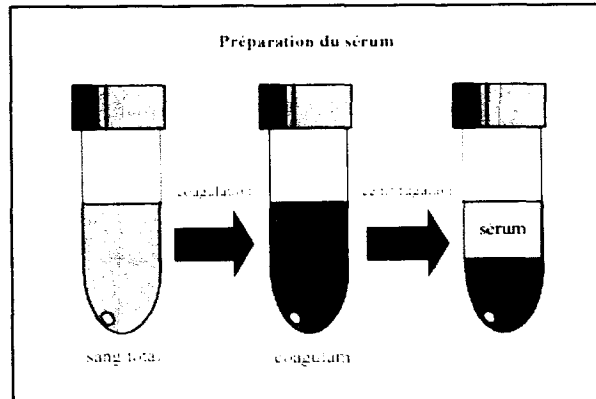


Figure 6 : Les étapes de préparation du sérum.(39)

8-1-1- Temps et vitesse de centrifugation :

Une centrifugation optimale doit être assez intense pour permettre une sédimentation totale des cellules (absence de cellules en suspension dans le surnageant) tout en étant suffisamment douce pour ne pas lyser les cellules sanguines ou urinaires. D'une manière générale, les indications sont les suivantes.

- ✓ **Sérum :** après coagulation complète (au minimum 30 minutes à température ambiante, le temps peut être prolongé si le patient est sous anticoagulant), sans dépasser 2 heures, La coagulation des échantillons se fait en position debout pour permettre une meilleure séparation lors de la centrifugation, (notamment dans le cas de tubes avec gel séparateur).
Centrifuger le tube entre 1300 et 2500 g pendant 10 à 15 minutes (38). Certains tubes avec gel séparateur contiennent un activateur de coagulation et pourront être centrifugé moins longtemps entre, 2000 – 4000 g (38). La température de centrifugation doit être comprise entre 20 °C et 22 °C (40)
- ✓ **Plasma :** centrifuger le tube entre 1300 et 3000 g pendant 5 à 15 minutes, ceci peut être fait immédiatement après le prélèvement (38).
- ✓ **Sédiment urinaire :** centrifuger l'échantillon à 400 g pendant 5 minutes. Ne pas dépasser ces recommandations car les culots ont tendance à être trop compacts et les leucocytes à former des amas (38).

La durée et la vitesse de centrifugation (ou rotations par minute ; RPM) requises dépendent du type d'échantillon, du type de tube choisi, ainsi que de la centrifugeuse utilisée (rayon du rotor) (38).

8-1-2- Calcule de la vitesse de rotation (RPM) à partir de la force centrifuge (RCF) :

Le nombre de « g » (Gravité) indique la force requise pour obtenir une centrifugation optimale. Il est également dénommé force centrifuge relative (RCF) et permet de calculer la vitesse de rotation par minute.

La détermination de la vitesse de centrifugation en rotations par minute (RPM) à partir de la force centrifuge relative en g (RCF) peut se faire de deux façons :

- 1) Par calcul mathématique : via la formule :

$$\text{RPM} = 1000 \times \sqrt{[\text{RCF} / (r \times 1,118)]}$$

r : rayon de rotation en mm, représenté par la distance entre le centre du rotor et le fond du tube lors de la centrifugation

1. identifier la RCF nécessaire : se référer aux indications fournies par le fabricant du tube.
2. identifier le rayon (= la moitié du diamètre) du rotor de la centrifugeuse : consulter le mode d'emploi la centrifugeuse ou lire directement sur le rotor.
3. appliquer la formule de calcul.

2) Par le nomogramme (Figure 08) :

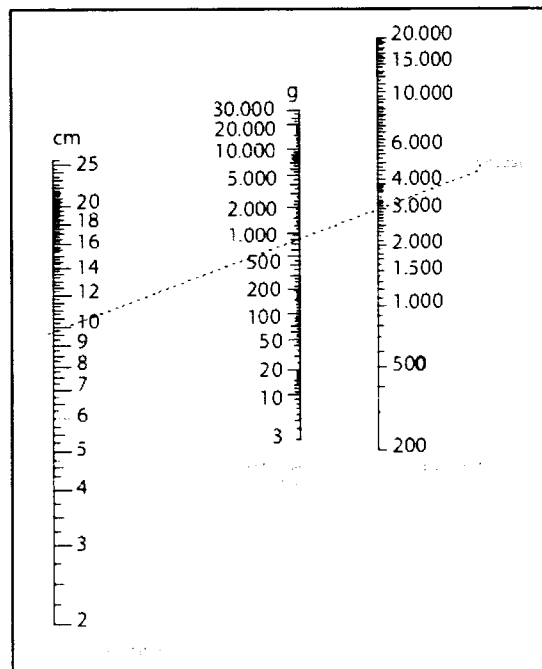


Figure 7 : Nomogramme.(40)

8-2-Aliquote:

Cette opération consiste à répartir un échantillon biologique en fractions conditionnées dans des récipients adaptés, Elle peut être faite dans différentes circonstances :

- Analyses simultanées de l'échantillon à différentes postes de travail ;
- Conservation d'une partie de l'échantillon biologique dans des conditions spécifiques (congélation) soit en vue d'analyse différée, soit en vue d'une vérification ultérieure (14).

9- Conservation des échantillons :

Tous les échantillons, quel que soit leur nature, qu'ils aient été qualifiés conformes ou non conformes, sont conservés, à la fois dans un but analytique mais également dans un but d'identitovigilance, si nécessaire (41) (Figure 09).

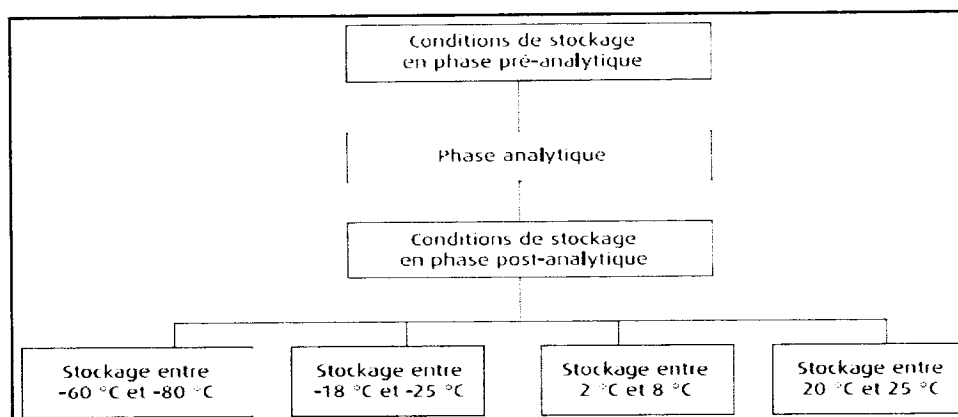


Figure 8: Algorithme pour la conservation des échantillons. (42)

Le stockage des prélèvements après la phase analytique est utile dans quatre cas principaux (42):

- Demande, par le médecin prescripteur, d'éventuels examens complémentaires ;
- Vérification du dosage d'un paramètre par le biologiste ;
- Vérification de la bonne identité d'un échantillon en cas d'incohérence décelée lors de la validation biologique ou après celle-ci ;
- Constitution d'une biothèque pour certains paramètres (marqueurs tumoraux, sérologies, etc.) pour répondre aux obligations réglementaires ou aux recommandations locales du biologiste médical ou dans un but scientifique potentiel.

II- Chapitre II: paramètres pré-analytiques influençant l'analyse:

Plusieurs paramètres influencent les résultats obtenus lors des examens biologiques, Ces paramètres peuvent être classés entre les non maîtrisables (non modifiables) et les maîtrisables (modifiables).il faut tenir compte de ces paramètres lors de l'interprétation des résultats (5).

1- Paramètres non maîtrisables :

Elles sont représentées par les constantes biologiques et physiologiques du patient, qui sont (7):

1-1-L'âge du patient :

Avec la date de naissance, l'âge permet une identification complète du patient, en plus de la détermination des valeurs de référence adaptées lors de l'interprétation des résultats du patient selon son âge (43)(Tableau 06).

Tableau 6: L'influence de l'âge sur une sélection de paramètres . (44)

Diminue avec l'âge	Augmente avec l'âge
Albumine	Cholestérol
Calcium	Vitesse de sédimentation des érythrocytes
Clairance de la créatinine	Ferritine
Phosphate inorganique	Glucose
pO ₂	
Temps de Quick	

1-2-Le sexe du patient:

C'est un facteur à prendre en compte dans la majorité des explorations biologiques , surtout pour la concentration des constituants dépendants de la masse musculaire et en hormonologie (45) (Tableau 07).

Tableau 7: Différences liées au sexe. (46)

	Homme	Femme	Unité
Alanine aminotransferase	< 50	< 35 U/l	U/l
Fer	6,3 - 30,1	4,1 - 24	μmol/l
Ferritine	18 - 360	9 - 140	μg/l
Acide urique	3,6 - 7	2,3 - 6,1	mg/dl
Créatinine, cinétique réaction de Jaffé	0,81 - 1,44	0,66 - 1,09	mg/dl
Hématocrite	40 - 53	36 - 48	%
Hémoglobine	13,5 - 17,5	12 - 16	g/dl
Vitesse de sédimentation des érythrocytes	< 15	< 20	mm/1Std.

1-3-Poids et Taille :

Souvent leur détermination est essentielle pour l'interprétation de certains paramètres comme le calcul du débit de filtration glomérulaire à partir du taux de la créatininémie par la formule de Cockcroft etc.

1-4-Grossesse :

Plusieurs variation biologique surviennent au cours de la grossesse (44). En effet, sous l'effet de l'hémodilution observé, certains paramètres voit leurs taux plasmatiques diminués (albumine, Protides), alors que pour d'autres des élévations des taux plasmatique sont observées (phosphatase alcaline d'origine placentaire, cortisol, cholestérol, triglycérides, alpha-foetoprotéine...) (47).

1-5-Rythme circadien:

L'exploration et l'interprétation de certains paramètres nécessite de prendre en considération leurs rythme de libération au cours de la journée (Tableau 08), tel que pour le Cortisol (figure 10) (48).

Tableau 8: Fluctuations au cours de la journée (rythme journalier). (44)

Fluctuations maximales au cours de la journée en %

Maximum le matin	
Hormone corticotrope (ACTH)	200 %
Rénine	140 %
Noradrénaline	120 %
Prolactine	100 %
Aldostérone	80 %
Cortisol	50 %
Testostérone	50 %
Adrénaline	20 %
Hémoglobine	20 %
Hématocrite	20 %
Leucocytes	20 %
Protéine	20 %
Thyroxine (T4)	20 %
Bilirubine	20 %
Maximum à midi	
Fer	100 %
Granulocytes éosinophiles	30 %
Potassium	15 %
Maximum le soir	
Créatinine	100 %
Acide urique	50 %
Thyrotropine (TSH)	50 %
Phosphatase acide	200 %

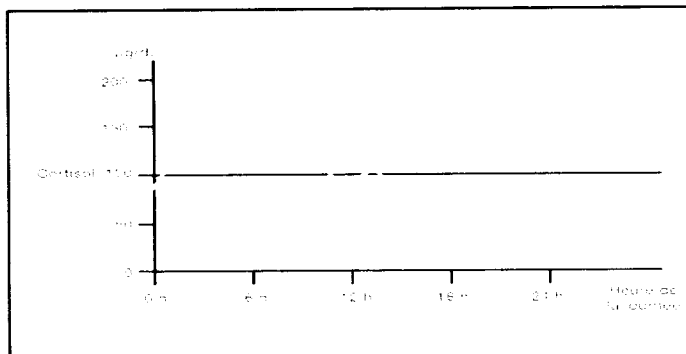


Figure 9: La fluctuation du cortisol au cours de la journée. (44)

1-6-Population et ethnie:

En physiologie, il est admis que les normes biologiques peuvent différer d'une ethnie à une autre, d'où la nécessité de l'établissement de normes de référence propre à chaque population ou groupe ethnique.

Par exemple il est observé chez la population noire africaine une augmentation des taux des leucocytes sanguins, de la vitamines B12, de la créatinine et de l'alpha-amylase par rapport à la population européen. Ce qui plaide en faveur de la différence de leurs normes respectives. (8)

2- Paramètres maîtrisables :

2-1-Le jeûne :

C'est l'abstinence de toute prise alimentaire dans les 12 heures précédant le prélèvement (boire de l'eau est possible), même s'il est souvent préféré, il n'est strictement nécessaire que pour quelques analyses, qui requièrent un jeûne impératif (Bilan lipidique, Electrophorèse des Protides, Glycémie à jeun, VS, Acide Urique) D'autres peuvent être effectués à distance d'un repas (environ 3h à 4h) (Plaquettes, Hormones diverses, Hémostase, Bilan hépatique, Créatinine.) (48)

2-2-Le tabac :

Le tabagisme, induit des modifications d'origine métabolique (14). La prise de 1 à 5 cigarettes par jour peut accroître les taux sanguins des leucocytes, des lipoprotéines, des hormones (d'aldostérone et de cortisol), des marqueurs tumoraux (antigen carcino-embryonnaire (ACE)).

D'autres paramètres, comme l'enzyme de conversion de l'angiotensine, la prolactine sont abaissés sous l'effet du tabac (5).

2-3-Alcool :

L'alcool peut induire 2 à 4 heures après sa prise, une acidose métabolique (augmentation du taux des acides lactique et acétique sériques avec diminution du taux des bicarbonates). A long terme il y a augmentation progressive des tests hépatiques(ASAT,ALAT, γ GT) et des modifications de la formule sanguine(VGM) (Figure 11). (5)

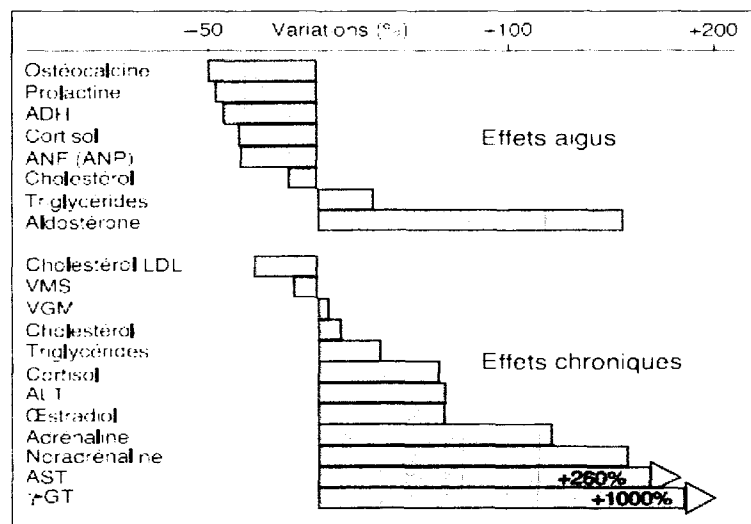


Figure 10: Effets aigus et chroniques de l'absorption d'alcool sur certains paramètres de laboratoire (5)

2-4- Prise médicamenteuses :

Nombreux sont les médicaments capables d'influencer les résultats biologiques directement (par mécanisme métabolique), ou indirectement (par leurs interférences lors de certains dosage) (40) exemple:

- ✓ Les traitements antihistaminiques entraînent une diminution des IgE sériques (35).
- ✓ fortes doses de bêta-lactamines peuvent donner une fausse bisalbuminémie (49).

2-5-Effort physique :

L'activité physique précédant un prélèvement sanguin peut induire une hyperprotéinémie. Ainsi une hyperleucocytose et une hyperglycémie peuvent être observées sous l'effet des variations hormonales engendrées par l'effort (l'ascension de l'adrénaline, de la noradrénaline, du glucagon, de l'hormone de croissance, du cortisol et de l'ACTH, et diminution de l'insuline) (5).

Des entraînements prolongés (plus de 3 mois) induisent une baisse du potassium, du taux de Brain Natriuretic Peptide (BNP) (50).

2-6-Stress :

Tout état de stress, induit une libération hormonale variée, comme par exemple d'aldostérone, de catécholamine, de cortisol, de prolactine et de rénine. L'augmentation des taux de l'albumine, du fibrinogène, du glucose et de l'insuline peut également être observée (44).

2-7-La position lors du prélèvement :

Le type de position debout, assise ou couchée peut influencer de nombreux paramètres. Le passage de la position couchée à la position debout abaisse le volume plasmatique d'environ 12% (5). Ce changement modifie également la concentration de certains paramètres, tel que l'albumine, les apolipoprotéines et tout particulièrement la rénine (51)(Tableau 09).

Tableau 9: Variations de certains taux biologiques observés lors du changement de la position allongée à la position assise. (8)

Proportions de l'accroissement des taux	Paramètre
Jusqu'à 10 %	- Hémoglobine
	- Leucocytes
	- Calcium total
	- Aspartate Aminotransférase
	- Phosphatase alcaline
	- Thyroxine
	- Ig G et Ig A
	- Albumine
	- Protéine totale
	- Cholestérol
Entre 10 et 20 %	- Triglycérides
	- Hématocrite
	- Apolipoprotéine
Plus de 50 %	- Erythrocytes
	- Adrénaline
	- Rénine
	- Noradrénaline

2-8-La pose du garrot:

La pose prolongée d'un garrot (>1min) trop serrée peut induire une stase sanguine au site de la ponction, ce qui modifie certains taux plasmatique (albuminémie, protéinémie, transferrinémie ...) en conséquence de l'hémoconcentration locale induite.

Cette dernière, peut perturber l'équilibre hydrique des cellules entraînant ainsi une hémolyse (36), d'où la nécessité de le desserré après le remplissage du premier tube (52). Dans le cas contraire le biologiste doit en être informé (35).

3- L'hémolyse :

3-1-Définition :

C'est la libération d'hémoglobine et du contenu intracellulaire dans le surnageant (sérum ou plasma) suite à une destruction érythrocytaire excessive responsable de la coloration rougeâtre du sérum (ou du plasma), détecté à l'œil nue qu'a des concentrations d'hémoglobine supérieures à 0,3g /L (0,03g /dl) (5). L'intensité de la couleur rouge indique l'intensité de l'hémolyse (Figure 12).

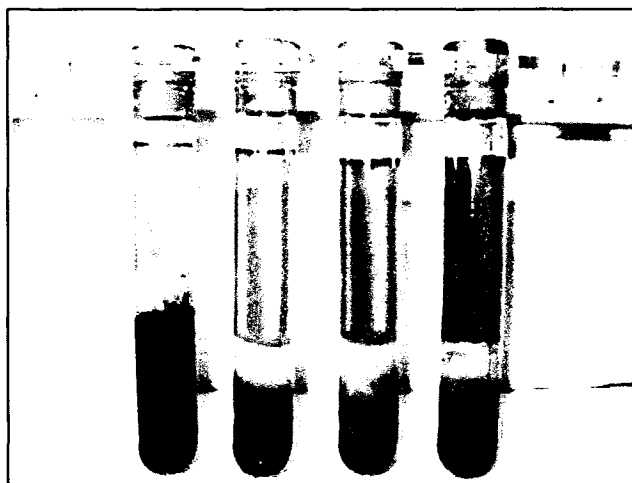


Figure 11: Echantillons présentant des hémolyses de différentes intensités. (45)

3-2-Facteurs déclenchant l'hémolyse in vitro :

Peuvent se situer au niveau du prélèvement, du transport, du stockage des échantillons. Ces facteurs varient en fonction de l'état du patient (fragilité des veines), de la compétence de la personne effectuant le prélèvement (formation), et de l'environnement local (température, durée du transport, transport par pneumatiques, vibrations, chocs). Les causes majeures d'hémolyse sont liées à des mauvaises pratiques de prélèvement et de traitement des échantillons sanguins (53) (54) (Tableau 10) .

Tableau 10: Facteurs et mécanismes déclenchants l'hémolyse (55)

Facteurs déclenchants l'hémolyse	Mécanisme	Prévention
pose prolongée de garrot	Induction d'une hémococoncentration locale	Desserrage rapide du garrot après ponction
Effet direct de l'alcool désinfectant	ponction sur site imprégné d'alcool.	S'assurer du séchage de l'alcool avant de ponctionner
Réajustement de l'aiguille après ponction	Traumatisme veineux répété.	Nécessité d'un préleveur habile.
Cathéter de Calibre inadéquat	Par la violence des turbulence de l'écoulement sanguin.	Utilisation de Cathéter de calibre adapté
Défaut de raccordement du dispositif de prélèvement	L'air peut s'introduire dans l'échantillon et entraîner la formation d'écume.	Ne pas mélanger des pièces provenant de fabricants différents
Prélèvement de volume insuffisant	Une concentration excessive d'additifs peut lyser les hématies	Respecter rapport sang/additif recommandé

3-3-L'effet de l'hémolyse :

- augmentation des éléments intracellulaires dans le liquide extracellulaire (potassium, phosphate, ASAT, LDH, etc.) (Figure 13) ;
- La coloration rouge causée par l'hémoglobine interfère avec les mesures photométriques ;
- Les réactions chimiques qui se déroulent au cours des analyses peuvent être influencées par des substances cellulaires (44).

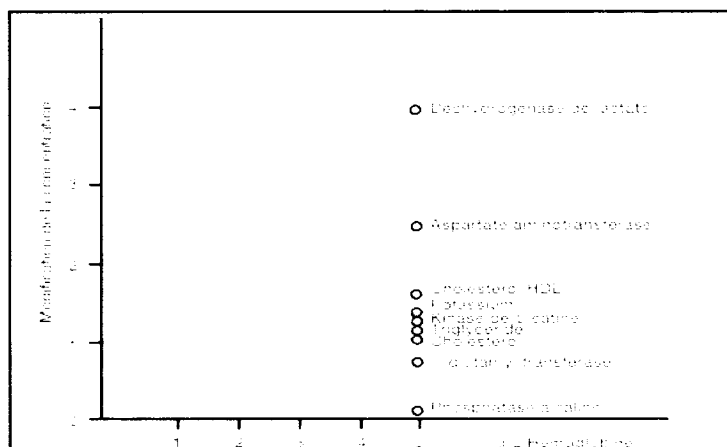


Figure 12 : Modification de différents paramètres avec une concentration d'hémoglobine de 5 g/l. (44)

III- Chapitre III : l'immunochimie

1- Définition :

L'immunochimie est une discipline de l'immunologie qui s'intéresse à l'analyse immunologique des profils protéiques dans les liquides biologiques (sérums, LCR, urines) (56).

2- Techniques utilisés en Immunochimie :

Ces analyses Immunochimiques sont appelées à deux types de techniques :

2-1-Technique qualitatives :

Dominés par les techniques électrophorétiques et d'immuno-fixation des protéines sériques et urinaires.

2-1-1- Techniques électrophorétique :

a- Principe :

Elle est fondée sur le principe du déplacement des protéines sous l'effet d'un champ électrique sur un support solide (Gel d'agarose) ou liquide (Flux dans un capillaire de silice), dont le Ph est alcalin. (57) La majorité des protéines ont un pHi inférieur à 7, c'est pour cette raison qu'on utilise le plus souvent des solutions tamponnées à pH 8,6 pour permettre à toutes les protéines de se charger négativement et se déplacer vers l'anode.

Parallèlement, une couche mobile de charge positive se forme sur support électrophorétique (chargé négativement) entraîne un courant physique opposé au sens du champ électrique, appelé phénomène d'électro endosmose. Dans certaines situations ce phénomène est plus puissant que les forces électriques ce qui fait des protéines chargées négativement peuvent migrer vers la cathode (cas des gammaglobulines dans l'électrophorèse sur gel d'agarose ou dans le cas de l'électrophorèse capillaire).

L'EPS permet la séparation de six fractions de protéines sériques (Figure 14) : albumine, Alpha-1 (α 1) globuline, Alpha-2 (α 2) globuline, Beta-1 (β 1) globuline, Beta-2 (β 2) globuline, Gammaglobulines. La quantification est possible à partir du dosage des protéines totales et de la détermination des pourcentages des fractions protéiques.

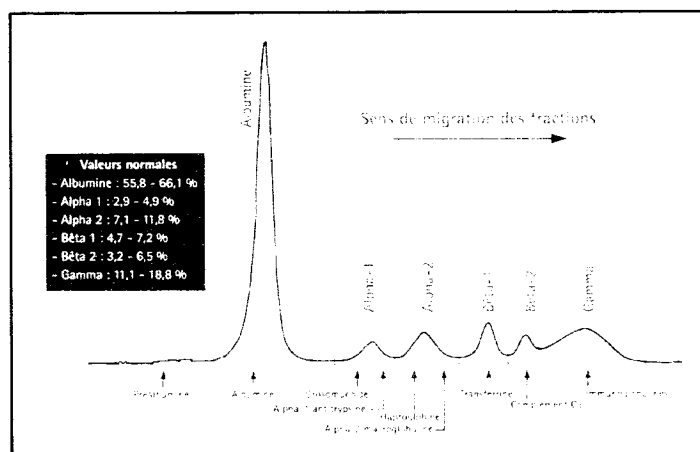


Figure 13 : électrophorégramme obtenu par électrophorèse capillaire. (58)

b- Indication :

⇒ **Electrophorèse des protéines sériques (EPS):**

Proteinurie

Trouve son indication dans l'exploration de plusieurs syndromes biologiques :

* L'inflammation :

La réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression.

Elle comprend :

- Des phénomènes locaux au niveau des tissus conjonctifs vascularisé (Rougeur, Chaleur, Tuméfaction (gonflement), Douleur).
- Des phénomènes généraux marqué cliniquement de façon variable, allant d'une simple fièvre à une altération importante de l'état général.

Chronologiquement, on reconnaît :

- L'inflammation aiguë durant depuis quelques jours à quelques semaines, pouvant apporter des destructions tissulaires importante ou se résoudre spontanément ou sous traitement,
- L'inflammation chronique qui est une inflammation persistante n'ayant aucune tendance à la résolution et qui peut évoluer vers l'aggravation sur plusieurs mois ou plusieurs années. (59)

* Les gammopathies monoclonale

Les gammopathies monoclonales regroupe un ensemble de pathologies malignes (Myélome multiple, Maladie de Waldenstrom) ou le plus souvent de signification indéterminé (Gammopathie monoclonale de signification indéterminé ; GMSI) (60) (Tableau 11), Caractérisées généralement par la présence dans le sérum et/ou dans les urines d'une immunoglobuline monoclonale témoin d'une prolifération de clones plasmocytaires ou lymphoplasmocytaires.

Cette immunoglobuline monoclonale est caractérisée par son homogénéité électrophorétique qui s'associe à son homogénéité isotypique mise en évidence par les techniques d'immunotypage (Ex : Immun fixation), où un même type de chaîne lourde s'associé à un même type de chaîne légère. (61)

Tableau 11: les gammopathies monoclonal.

Variable	GMSI	Myélome multiple	Macroglobulinémie de Waldenström
Plasmocytose médullaire (%)	<10 Et	>= 10 Et/ou	>10 Et
Taux sérique du composant monoclonal (g/l)	<30	Pas de valeur seuil	Pas de valeur seuil
Manifestations cliniques	Asymptomatique	<ul style="list-style-type: none"> - Hypercalcémie, - Atteinte rénale, - Anémie, - Lésions osseuses lytiques, - Infections bactériennes récurrentes - Plasmocytomes extra-médullaires. 	<ul style="list-style-type: none"> - Anémie, - Hémorragie cutanéomuqueuse, - Hépatosplénomégalie - Composant monoclonal d'isotype IgM 19s.

* Syndrome néphrotique

C'est la présence d'une protéinurie supérieure à 3 g par 24h chez l'adulte ou supérieure à 50 mg par kg et par jour chez l'enfant, associée à :

- Une protidémie inférieure à 60 g/litre
- Une albuminémie inférieure à 30 g/litre
- Une électrophorèse sanguine perturbée

Chez l'enfant un rapport protéinurie/créatinémie supérieur à 3 en g/g ou supérieur à 0.33 en g/mmol a la même signification qu'une protéinurie supérieure à 50 mg par kg et par jour (62)

Tableau 12: classification du syndrome néphrotique. (62)

Syndrome néphrotique impure	Syndrome néphrotique pur
Association de l'un des 3 signes :	Absence des 03 signes :
- Présence d'hématurie	- Pas d'hématurie
- HTA	- Pas d'insuffisance rénale
- Insuffisance rénale	- Pas d'HTA

*** Autres :**

- **L'insuffisance hépatocellulaire :**

Ensemble de manifestations clinico-biologiques secondaire à l'altération de la fonction hépatique (synthèse, épuration, sécrétion biliaire) compliquant une pathologie aiguë ou chronique. (63)

- **Déficits immunitaires primitifs et secondaires :**

Essentiellement d'expression humorale (Tableau 13)

Tableau 13: expression des déficits immunitaires à l'EPS. (64)

Types de Déficits		Expression électrophorétique
Déficits immunitaires primitifs	Les agammaglobulinémies	Hypo-gammaglobulinémie
	CVID	Hypo-gammaglobulinémie
Déficits immunitaires secondaires	SIDA	Hyper-gammaglobulinémies polyclonale
	dénutrition sévère	- Hypoalbuminémie ; - Diminution des Alpha-1 globulines ; - Diminution Alpha-2 globulines ; - hypo-gammaglobulinémie.
	Fuites protéiques	- Hypoalbuminémie ; - Diminution des Alpha-1 globulines ; - Diminution Alpha-2 globulines (sauf en cas d'atteinte rénale) ; - Diminution des Beta globulines ; - hypo-gammaglobulinémie.
	Diabète de type 2	hypo-gammaglobulinémie
	Chimiothérapie et médicaments immunosuppresseurs	hypo-gammaglobulinémie

⇒ **Electrophorèse des protéines urinaires (EPU):**

Elle trouve son indication dans le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales et permet :

- Le dépistage et la classification des protéinuries (Sélective / Non sélective) ;
- La détection d'un pic monoclonal urinaire ;
- La quantification du pic monoclonal urinaire, nécessaire au suivi des patients et à la stratification des patients (65).

b- Résultats et interprétation :

⇒ **Electrophorèse des protéines sériques :** (Tableau 14)

* **Albumine :**

C'est la protéine circulante la plus abondante d'origine hépatique et représentant 55 à 60 % de l'ensemble des protéines sériques (Normes : 40 à 50 g/l) (66).

* **Les Alpha-1 globulines :**

Groupe hétérogène de glycoprotéines d'origine hépatique et représentant 4 % de l'ensemble des protéines sériques (Normes : 1 à 4 g/l) (67) (68) . Ils sont essentiellement représenté par l' α 1 antitrypsine, orosomucoïde (α 1 glycoprotéine acide) , α 1 antichymotrypsine, α 1 lipoprotéine, α 1-foeto-protéine (AFP), prothrombine, transcortine et Thyroxine binding globuline (TBG) (69).

* **Les Alpha-2 globulines :**

Groupe hétérogène de glycoprotéines d'origine hépatique et représentant 7% de l'ensemble des protéines sériques (Normes : 6 à 10 g/l) (67) (68) . Ils sont essentiellement représentés par l'haptoglobine, α 2 macroglobuline, Ceruloplasmine, Antithrombine III, Choline-estérase, Plasminogène et Rétinol binding proteine (RBP) (69).

* **Les Beta globulines :**

Groupe hétérogène de glycoprotéines d'origine hépatique et représentant 12 % de l'ensemble des protéines sériques (Normes : 6 à 13 g/l) (67) (68). Ils sont essentiellement représenté par la Transferrine ,CRP, Fibrinogène si plasma (migration β - γ) ,Hémopexine, Beta apolipoprotéine, Fraction C3 et C4 du complément ,Sex hormone binding globulin (SHBG) et Transcobalamine (69)

Cette zone peut être le siège de variations d'origines indépendante des fractions là constituants tel que par (64):

- La présence d'hémoglobine libérée lors de l'hémolyse in-vitro ;
- La présence d'une immunoglobuline monoclonale (Exemple : IgA) ;
- La formation d'un bloc beta-gamma lors des cirrhoses hépatiques.

* **Les Gammaglobulines (immunoglobulines) :**

C'est la zone de migration des immunoglobulines d'origines plasmocytaires (70), représentant 17 % de l'ensemble des protéines sériques (Normes : 7 à 15 g/l) (67) (68). Ils sont essentiellement représenté par les isotypes IgG, IgA, IgM et IgE (69)

Tableau 14 : des cas pathologiques d'altérations de l'électrophorèse sérique . (57) (64)

Pathologie	albumine	Alpha-1	Alpha-2	Beta	Gamma
Syndrome inflammatoire	Aigu ↘ OU N	↗	↗	N	N
	Chronique ↘ OU N	N	N	↗ OU N	↗
	Chronique évolutif ↘ OU N	N	↗	↗ OU N	↗
Syndrome néphrotique	↘↘	↘	↗	↘	↘ OU N
Insuffisance hépatique	↘↘	↘	↘	↘	↗
Cirrhose hépatique	↘↘				Bloc beta gamma
Gammapathie monoclonal					Pic monoclonal
Hypo ou agammaglobuline					↘↘
Déficit génétique en α1 antitrypsine (homozygote/ Hétérozygotes)	N	↘	N	N	N
dénutrition sévère	↘	↘	↘	↘	↘
Surcharge martiale (Transfusions répétées)	N	N	N	↘	N
Anémie ferriprive (hypertransferrinémie adaptative)	N	N	N	↗	N
Anémie hémolytique			↘		

N=normal ; ↗ ou ↘ = augmentation ou diminution relative.

⇒ **Electrophorèse des protéines urinaires :**

Le tracé électrophorétique permet de distinguer plusieurs types de protéinuries (71) (72):

* **Protéinuries Physiologique :**

La protéinurie physiologique (inférieure à 120 mg/24 h) chez l'adulte, constituée principalement de protéines plasmatiques (dont 20 à 55 % d'albumine, associée à de la transferrine, de la RBP et des IgG).

* **Les protéinuries glomérulaires :**

- **Protéinurie glomérulaire sélective :** l'urine contient un composant majeur, l'albumine (> 80 %), associée à la transferrine (pic β) et éventuellement à l'orosomucoïde (pic α 1), c'est-à-dire des protéines de faible poids moléculaire. Ce tracé apparaît dans les stades précoces des néphropathies glomérulaires.
- **Protéinurie glomérulaire non sélective :** l'aspect électrophorétique est proche de celui du sérum, car il y a passage de toutes les protéines sériques à l'exception des protéines de haut poids moléculaire (lipoprotéines, IgM, α 2-macroglobuline).

* **Les protéinuries tubulaires :**

Le tracé électrophorétique présente une albumine peu abondante (< 25 % de la protéinurie totale) et des globulines prépondérantes. Les protéines suivantes sont retrouvées dans les atteintes tubulaires : β 2- microglobuline, lysosyme, RBP, chaînes légères libres, α 1-microglobuline, cystatine C.

* **Les protéinuries associées aux dysglobulinémies :**

- Passage de composant monoclonal dans les urine ;
- Protéinurie essentiellement constituée de chaînes légères kappa ou lambda (protéinurie de Bence Jones).

2-1-2- Immunofixation :

a- Principe :

A- Technique immunochimique réalisée en deux temps (73):

- Une étape de séparation électrophorétique.
- Une étape d'immunoprécipitation par des immun-sérums monospécifiques.

b- Indication :

C'est une technique d'immunotypage des immunoglobulines monoclonales détectés à l'EPS et à l'EPU (74).

c- Résultats et interprétation :

La présence d'une immunoglobuline monoclonale se traduit par une bande étroite révélée avec un antisérum anti-chaîne lourdes, associée à une bande étroite révélée avec un antisérum anti chaîne légères (Figure 15).

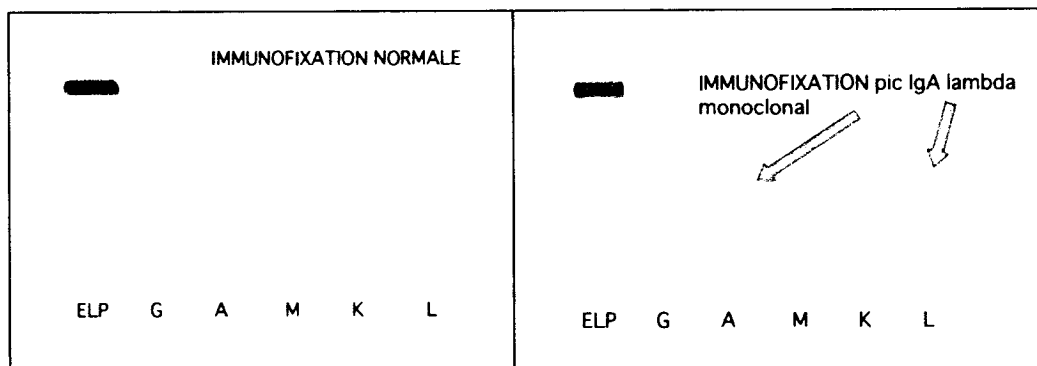


Figure 14: immunofixation sérique. (58)

2-1-3- L'immuno-soustraction :

a- Principe :

La première étape consiste à mettre en contact les protéines et les anticorps spécifiques fixés sur billes de sépharose. Chaque échantillon dilué est déposé dans cinq puits différents. (Chacun puit contient des billes couplées respectivement à un antiserum monospécifique anti chaînes lourds et anti chaînes légères des immunoglobulines).

Les complexes antigènes-anticorps précipitent au fond des puits par sédimentation (immunosoustraction). Les surnageants sont ensuite prélevés et injectés dans les capillaires ou à l'étape de séparation électrophorétique (75).

b- Indication :

Idem immunofixation

c- Résultats et interprétation :

La présence d'une immunoglobuline monoclonale se traduit par la disparition ou la diminution du pic observé lors de l'électrophorèse sérique de dépistage. Sachant que son typage est indiqué par les antisérums anti chaînes lourds et anti-chaînes légères responsable de la précipitation du composant monoclonal avant la réalisation de l'électrophorèse pratiquée lors de l'immunosoustraction (75).

2-2-Techniques quantitatives :

2-2-1- Technique de dosage :

a- Colorimétrie : (Tableau15)

⇒ Méthode du biuret :

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé. (76) (77)

⇒ **Méthode du Rouge pyrogallol :**

Les protéines en milieu acide réagissent avec le rouge pyrogallol, en formant un complexe coloré. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines dans l'échantillon testé. Le plus souvent utilisé pour le dosage des protéinuries. (76) (78)

⇒ **Méthode de Lowry :**

Dans la méthode de Lowry, qui est une variante de la méthode du biuret, le cuivre réduit (Cu⁺) est utilisé pour réduire le réactif de Folin (une solution phénolique contenant des composés de tungstène et de molybdène) qui change sa couleur du jaune au bleu. (79)

Tableau 15 : caractéristique des méthodes de dosage colorimétrique des protéine. (79)

Méthode	Longueur d'ondes	la limite de détection	Précision
biuret	540 nm	1-6 g/l	Bonne
Rouge pyrogallol	598 nm	0,020 g/l	Bonne
Lowry	750 nm	0.1-1.5 g/l	Bonne

b- Immunonéphélométrie laser et immunoturbidimétrie :

- C'est des techniques automatisées de dosage qui mettent en contact l'anticorps avec l'antigène correspondant à doser, en milieu liquide.
- L'interaction antigène-anticorps induit l'apparition d'un trouble évalué par :
 - ✓ Turbidimétrie : via la mesure du rayonnement absorbé
 - ✓ Néphélométrie (plus sensible): via la mesure du rayonnement diffusé (utilisant un faisceau laser). (80)
- La concentration est déterminée à partir d'une gamme d'étalonnage

2-2-2- Indication des dosages protéiques :

a- Taux de protéines sériques :

En immunochimie le taux de protéide total trouve son intérêt lors de l'interprétation des EPS.

b- Les profils protéiques :

C'est l'analyse simultanée de plusieurs protéines sélectionnées selon leur implication dans les différentes fonctions biologiques de l'organisme. En pratique, deux types de profils protéiques se distinguent (81) :

⇒ **Le profil protéique d'orientation:**

C'est l'analyse simultanée de 8 protéines : les immunoglobulines (IgG, IgA et IgM), la fraction C3 du complément, l'orosomucoïde, l'haptoglobine, la transferrine et l'albumine (Figure 16).

Ce profil permet l'orientation diagnostique devant une clinique peu caractéristique (fièvre prolongées, fatigue au long cours, pathologie dysimmunitaire, altération de l'état général, perte de poids, ...etc.) surtout chez les sujets jeunes. Alors que chez les sujets âgés, l'électrophorèse des protéines sériques est

2.2.2.2. Profil d'orientation

généralement préférée au profil protéique (parfois ils sont associés) afin de mettre en évidence la présence d'une éventuelle dysglobulinémie. (81).

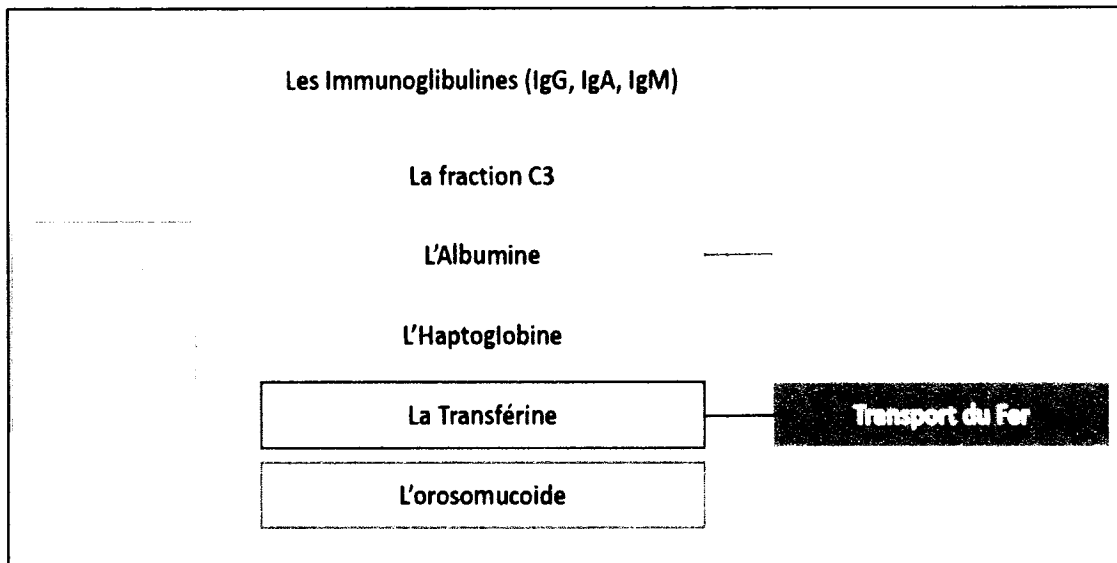


Figure 15: profil d'orientation. (81)

⇒ Les profils protéiques cibles (suivi de pathologie) :

Composés d'un nombre plus réduit de protéines, ces profils permettent l'étude et le suivi évolutif de certaines protéines impliqués lors de processus pathologiques particuliers (Tableau 16).

Tableau 16: les profils protéiques cibles. (81) (82)

Type du profil	Protéines dosées	Intérêt
Profil protéique immunitaire	- IgG, - IgA, - IgM	Orientation diagnostic et suivi des déficits immunitaires humoraux
Profil protéique inflammatoire	- CRP - orosomucoïde.	Association d'une protéine à cinétique rapide (CRP) et une protéine à cinétique lente (orosomucoïde)
Profil protéique hémolytique	- Haptoglobine - Orosomucoïde.	Exploration des états d'hémolyse intravasculaire et/ou intra-tissulaire.
Profil nutritionnel	- Albumine, - Pré albumine - orosomucoïde.	Dans les situations de dénutritions : - Dépistage - Evaluation de la sévérité - Estimation de l'ancienneté de la dénutrition. - Evaluation de l'efficacité de la réalimentation.

c- Dosage d'une protéine unique :

C'est la prescription de dosage d'une protéine seule dans des circonstances cliniques spécifiques (Tableau 17)

Tableau 17: dosage unique de certain protéines sérique. (83)

Protéine	Indication	Normes	
Les chaînes légères libres (CLL)	Les anomalies du ratio Free κ / Free λ signe le caractère monoclonal de la dysglobulinemie étudié	Free kappa(mg/l)	3,3-19,4
		Free Lambda (mg/l)	5,71-26,3
		Ratio Free κ / Free λ	0,26-1,65
		Ratio Free κ / Free λ en cas d'insuffisance rénale	0,37-3,1
La béta-2 microglobulines	Exploration du myélome multiple et des lymphopathies B malignes.	0.8-2.4 mg/l	
La ferréтинémie	Anémie ferriprive	Homme	18 - 360
		Femme	9 - 140
Alpha-1 antitripsine	Déficit génétique e n α 1-antitrypsine	0,8 – 2,0 g/l	
CRP	Protéine de la phase aiguë de l'inflammation	<5mg/l	

C-Partie pratique

I- Objectifs de l'étude :

1- Objectif principal

Notre travail vise à étudier les paramètres pré-analytiques influençant les résultats de l'électrophorèse des protéines sériques par l'évaluation des paramètres suivants :

- ✓ Position des tubes lors de la formation du coagulum.
- ✓ Température lors de la formation du coagulum.
- ✓ Temps nécessaire à la décantation.
- ✓ Paramètres de la centrifugation (Vitesse et temps).

2- Objectif secondaire :

Evaluation de l'influence de ces paramètres pré-analytiques sur :

- ✓ Les taux de protéines sériques ;
- ✓ Les concentrations sériques des composants monoclonaux étudiés.

II- Description de l'étude :

Il s'agit d'une étude statistique descriptive prospective, réalisée au niveau de l'unité d'immunologie de l'Unité-Hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida.

III- Matériel et méthodes :

1- Matériel biologique :

1-1-Population d'étude :

Notre étude a intéressé des échantillons sériques de 93 patients explorés en immunochimie, recrutés sur une période de 03 mois allant du 24 Janvier 2018 au 10 Avril 2018,

Les données relatives aux échantillons étudiés ont été recueillies sur une fiche de travail détaillée. (Annexe 1).

1-2-Critères d'inclusion :

Les échantillons issus des patients présentant une prescription médicale d'électrophorèse des protéines sériques et prélevés au laboratoire d'immunologie d'UHU HBB du CHU BLIDA. Avec le recrutement de 08 patients par jours de prélèvement (Les lundis et les mercredis de chaque semaine).

1-3-Caractéristiques démographiques de la population étudiée :

1-3-1- Répartition des patients selon les tranches d'âges :

La moyenne d'âge de notre population est de 57 ans avec des extrêmes de 24 ans et de 89 ans. La tranche d'âge la plus représentée est celle des adultes âgées [50 à 80 ans [, représentée par 68 % des cas (Tableau 18).

Tableau 18 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Age	Effectif	Effectif relatif
[20-30[3	3%
[30-40[10	11%
[40-50[13	14%
[50-60[21	23%
[60-70[21	23%
[70-80[20	22%
[80-90[5	5%
Total	93	100%

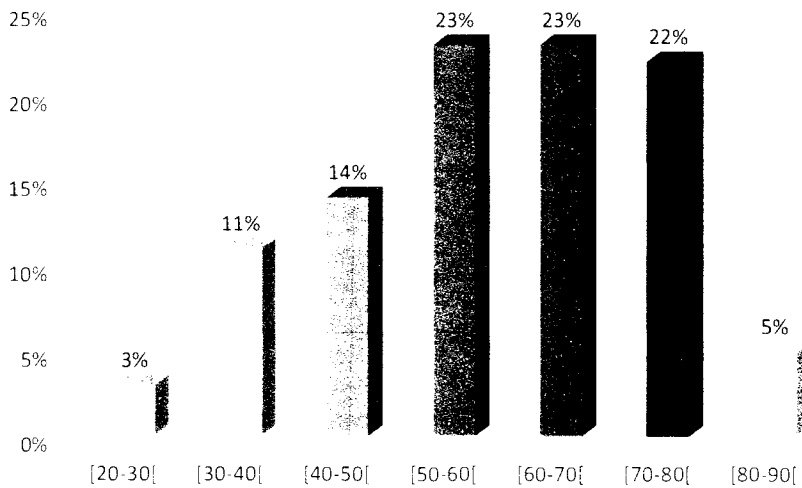


Figure 16: Répartition des patients selon les tranches d'âge.

1-3-2- Répartition des patients selon le sexe :

Dans notre série le sexe ratio = 2.32 avec prédominance féminine (70% des cas) (tableau 19).

Tableau 19: Répartitions des patients selon le sexe.

Sexe	Effectif	Effectif relatif
Homme	28	30%
Femme	65	70%
Total	93	100%

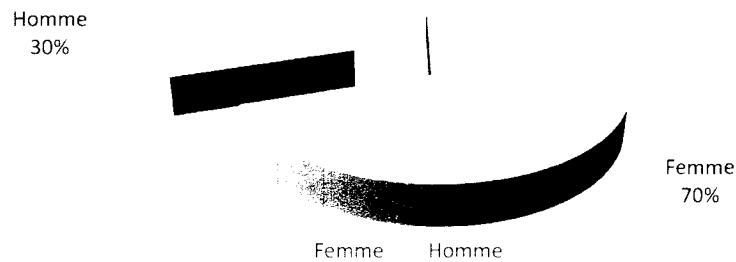


Figure 17: Répartition des patients selon le sexe.

2- Matériel non biologique :

2-1-Pour le recueil des données

- ❖ Instruments et consommables :
 - La demande d'analyse contenant les renseignements cliniques de patient.
 - **Fiche de travail**, utilisées pour recueillir les données de manipulation (ANNEXE 01)

2-2-Pour le prélèvement et l'acheminement

- ❖ Instruments et consommables :
 - Gants,
 - Garrots,
 - Seringues (5 /10ml),
 - Epicrâniens,
 - Cotons,
 - Tubes (sec, conique),
 - Portoirs,
- ❖ Produits et réactifs :
 - Alcool désinfectant

2-3-Pour l'extraction et conservation des Sérums

- ❖ Instruments et consommables :
 - Portoirs,
 - Pipette pasteur,
 - Micropipettes (1000/35µl),
 - Tubes de 2 cc de type épendorffs,
 - Étiquettes.
- ❖ Appareillages : (Annexe 04)
 - **Centrifugeuse** : de marque thermo-jouan®, model CR3i multifonction pouvant être réglé au choix en RFC (g) ou en RPM (Tourres / Minute) (ANNEXE 02), dotée du rotor T40® muni de godets (N° Cat : 11175711) dotés de leurs supports de tube (N° : 11175730) offrant un rayon final de 163 mm (Annexe 03).
 - Des réfrigérateurs offrant des températures de conservation à +4°C et a -20°C.

2-4-Pour l'analyse biologie

- Produits et réactifs pour la mesure du taux de protide
- ❖ Produits et réactifs : (Annexe 05)
 - Kit SPINREACT Pour le dosage des protéines sériques.
- ❖ Appareillages : (Annexe 04)
 - Spectrophotomètre Vital scientific®
 - Agitateur,
- Pour l'électrophorèse des protéines sériques
- ❖ Produits et réactifs :(Annexe 05)
 - Kit SAS-1 protéines sérique SB : est utilisé pour la séparation et la quantification des protéines sériques par électrophorèse en gel d'agarose (Annexe 06).
- ❖ Appareillages : (Annexe 04)
 - Helena SAS 1 plus et SAS 2 : C'est un appareil pour l'électrophorèse des protéines sériques constitué de deux sous unité :
 - Sous unité SAS 1 plus** : Contenant un système de génération de champs électrique et de refroidissement utile à la réalisation d'électrophorèse.
 - Sous unité SAS 2** : Contenant des circuits fluidiques utiles aux étapes de lavage et de révélation de l'électrophorèse par coloration au bleu acide.

2-5-Logiciels informatiques de traitement des données :

- Un logiciel Platinum
- Un logiciel Microsoft Excel version 2007 : pour le recueil des données et les calculs statistiques.
- Un logiciel GraphPad Prism 7

3- Méthodes :

3-1-La phase pré analytique :

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la salle des prélèvements du laboratoire de l'unité HBB -CHU Blida-, au cours de notre travail chaque patient a subi deux prélèvements simultanés. Ces derniers ont été traités par deux méthodologies distinctes, nommées méthode-A et méthode-B.

3-1-1- Méthode-A :

Elle constitue la méthode appliquée en routine au laboratoire d'immunologie de l'unité HBB -CHU Blida.

a- Prélèvements sanguins :

Il s'agit des prélèvements sanguins réalisés au niveau des veines du pli du coude, après un jeûne de 10 à 12 h avec recueil des échantillons dans des tubes secs, identifiés préalablement. (Annexe 10)

b- Extraction des Sérums :

- Etape de coagulation et de formation du coagulum : Les échantillons sont placés dans un premier temps à l'horizontale sur la pailasse (Figure 18) (à température ambiante) pendant 30 à 40 min, puis ils sont transférés au bain marie (37 c°) et placés à la verticale pendant 20 à 30 min.

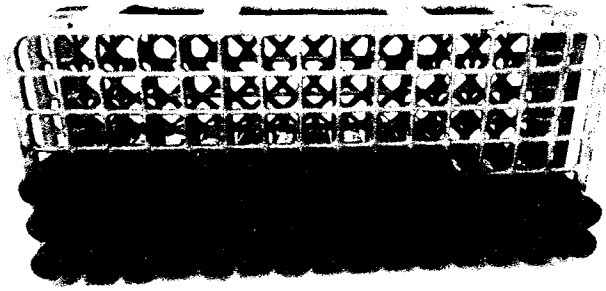


Figure 18: Prélèvements placés horizontalement dans un portoir (Méthode A).

- Etape de centrifugation : à la vitesse de 3000 Tours/min (RFC= 1700 g, r=168) pendant 5 min.
Par fois une deuxième centrifugation (du sang total) est réalisée en cas de défaut de décantation.
- La conservation : les sérums sont conservés dans des tubes de 2 cc de type eppendorf a -20c°.

3-1-2- Méthode-B

Il s'agit d'une méthode élaborée à partir des données bibliographiques dédiées aux traitements pré-analytiques des prélèvements sanguins (40) (38).

a- **Prélèvements sanguins :** (Idem méthode A)

b- **Extraction des Sérums :**

- Etape de coagulation et de formation du caillotum : deux types de positions ont été utilisés, une série (73% des cas) a été placée verticalement dans un portoir et une deuxième (27% des cas) a été placée incliné à un angle de 45°.
Le temps de formation de caillot varie entre 1h-2h (pour une moyenne de 1h20min) à température ambiante.
Des fois, un décollerment du caillot par pipette pasteur été nécessaire (Figure 19).

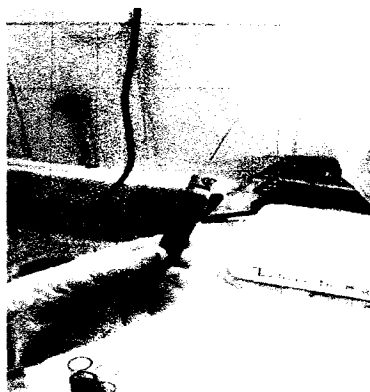


Figure 19: Décollement du caillot par pipette pasteur (Méthode B) .

- Etape de centrifugation : Les échantillons ont subi une force centrifuge de 2000 à 2200 g (3300 à 3500 T/min) pendant 10 à 15 min (Tableau 20).

Après cette première centrifugation, les sérums recueilles sont recentrifugés dans les mêmes conditions pour une meilleure séparation (Figure 20).



Figure 20: A gauche les échantillons après premier centrifugation, à droite les échantillons après la deuxième centrifugation (Méthode B).

Tableau 20: Répartition des échantillons selon la vitesse et temps de centrifugation (Méthode B).

Vitesse de centrifugation		Temps de centrifugation						Total	
RPM	RFC	10 min		12 min		15 min			
		Effectif	%	Effectif	%	effectif	%	Effectif	%
3300 T/min	2000 g	5	5%	0	0%	0	0%	5	5%
3500 T/min	2200 g	62	67%	18	19%	8	9%	88	95%
Total		67	72%	18	19%	8	9%	93	100%

- Conservation : les sérums sont aliquotes dans des tubes de 2cc de type eppendorf (Figure 21) et conservés à +4 C° pendant 24h puis transférés à -20C°.

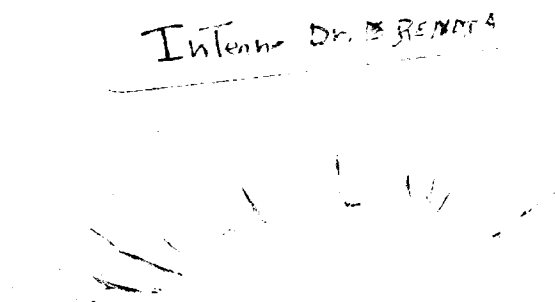


Figure 21: Conservation des échantillons dans des tubes 2cc de type eppendorf (Méthode B).

3-2-La phase analytique :

3-2-1- Examen de l'aspect des sérums :

L'examen a été réalisé par une méthode visuelle après le recueil des sérums.

a- Sérum normal :

Un sérum normal a un aspect clair de couleur jaune paille.

b- Sérum hémolysé :

L'hémolyse dans un prélèvement de sang pour l'analyse colore le sérum, plus ou moins fortement selon son degré, en rouge orangé.

c- Sérum lipémique :

C'est celui dont l'aspect est trouble, translucide ou laiteux suite à l'augmentation des lipoprotéines par la non observance de jeûne avant le prélèvement voir même dans certaines dyslipidémies.

d- Sérum ictérique :

C'est celui dont l'aspect a perdu sa couleur normale (jaune paille), en virant vers le jaune foncé, brun ou verdâtre.

3-2-2- Dosage des protéines sériques par technique de Biuret :

a- Principe :

C'est une technique colorimétrique en milieu alcalin où des ions de cuivre (Cu^{2+}) du sulfate de cuivre (CuSO_4 ; qui donne la coloration bleue au réactif) interagissent avec les liaisons peptidiques présentes dans un sérum donné pour former un complexe Cu-protéine de couleur bleu violacé, caractéristique dont l'intensité (densité optique) est proportionnelle au taux de protide dans le sérum étudié (Figure 22).

Avant utilisation, la stabilité du réactif est assurée par le tartrate de sodium-potassium qui empêche la précipitation des ions Cu^{++} . Ainsi que par l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium qui empêchent l'auto réduction de cuivre.

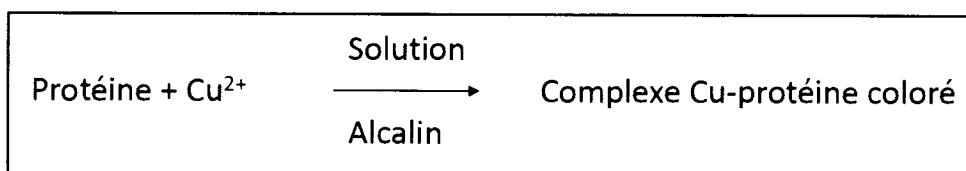


Figure 22 : Réaction chimique de formation de complexe Cu-protéine coloré.

b- Mode opératoire : (Annexe 07)

c- Caractéristique de la méthode :

La limite de détection de 1-6 g/l jusqu'à la limite de linéarité de 140 g/l. Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du sérum salé isotonique 9 ‰ multiplier le résultat obtenu par 2.

d- Lecture :

Par spectrophotomètre, dont la densité optique (DO) du mélange réactionnel est mesurées à une longueur d'onde de 540 nm, où la DO est directement proportionnelle à la protidémie après comparaison avec un calibreur, Le calibreur utilisé est Patron primaire d'albumine bovine 70g/l.

e- Les normes:

Tableau 21: Les Valeurs normales de taux de protéines sériques total selon l'âge. (84) (85)

Age		Valeurs normales (g/l)
Prématuré		40 g/l
Nouveau-né	J1 a J4	60 g/l
	J4 a J28	45-50 g/l
Nourrisson		60 g/l
adulte		70g/l (60-80 g/l)
Femme enceinte		60 g/l
Après 70 ans		65 g/l

3-2-3- Electrophorèse des protéines sériques :

a- Principe :

Technique de séparation des protéines sérique selon leur charge électrique et leur poids moléculaire sous l'effet d'un champ électrique, sur gel d'agarose(Réactif) et dont le pH est égal à 8.6.(Annexe 08)

Une lecture visuelle du profil électrophorétique permet de reconnaître les six fractions protéiques sous formes des bandes bleues (Annexe 12) ; Albumine, Alpha 1, Alpha 2, Beta 1, Beta 2, Gamma.

a- Lecture : (Annexe 11) (Annexe 12)

Le profil électrophorétique obtenu est analysé par logiciel d'interprétation ; le Platinum®. Ce dernier permet d'obtenir un profil densitométrique (électrophorégramme) dont l'ensemble de la superficie correspond au taux de protide du sérum analysé.

Le Platinum® permet aussi d'identifier et de délimiter l'aire de chacune des six fractions (exprimées en pourcentage de la surface total) et permet une quantification pondéral (g/l) de chacune d'elle.

b- **Interprétation :** (Annexe 09)

Tableau 22: Interprétation des résultats d'EPS.

Pathologie	Albumine	Alpha-1	Alpha-2	Beta	Gamma
Syndrome inflammatoire					
Aigu	↘ OU N	↗	↗	N	N
Chronique	↘ OU N	N	N	↗ OU N	↗
Chronique évolutif	↘ OU N	N	↗	↗ OU N	↗
Syndrome néphrotique	↘↘	↘	↗	↘	↘ OU N
Insuffisance hépatique	↘↘	↘	↘	↘	↗
Cirrhose hépatique	↘↘				Bloc beta gamma
Gammopathie monoclonal					Pic monoclonal
Hypo ou agammaglobuline					↘↘
Malnutrition	↘↘	↗ OU N	↗ OU N	↗ OU N	↗ OU N

IV - Résultats :

1- Données relatives aux aspects des sérums :

1-1-Répartition des échantillons traités par la méthode B selon l'aspect des sérums obtenus:

Sur les 93 sérums traités par la méthode B, 90% d'entre eux sont d'aspect normal, 9% d'aspect hémolysé et 1% d'aspect lipémique (tableau 23).

Tableau 23: Répartition des échantillons traités par la méthode B selon l'aspect des sérums obtenus.

Aspect	Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif
Normal	84	90%
Hémolysé	8	9%
Lipémique	1	1%
Ictérique	0	0%
Total	93	100%

Aspects des sérums

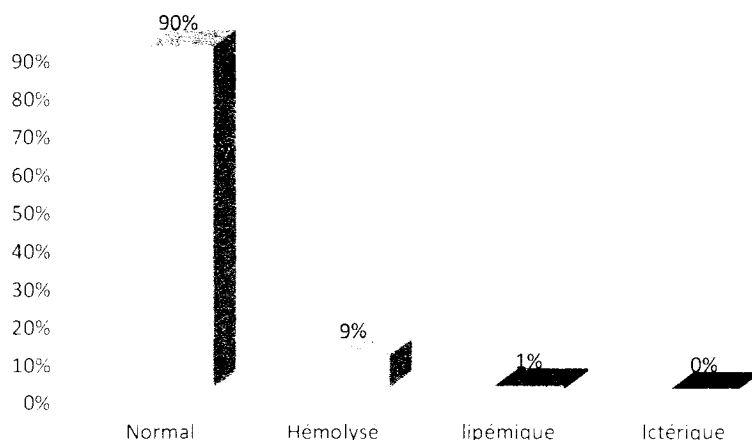


Figure 23:Répartition des échantillons (N=93) traités par la méthode B selon l'aspect des sérums obtenus.

1-2-Comparaison des aspects des sérums traitaient par la méthode A et B :

Il a été possible de comparer l'aspect de 64 sérums (69% des échantillons) traités simultanément selon la méthode A et B.

L'aspect normal est retrouvé chez 51 sérums traités par méthode A (79.69%des échantillons) et 60 sérum traités par méthode B (93.75% des échantillons).

L'hémolyse est rencontrée dans 20.31% des échantillons traités par la méthode A (13 échantillons), alors qu'elle n'est rencontrée que dans 06.25% des cas (04 échantillons) lors du traitement par la méthode B.

Statistiquement il existe une différence significative entre les deux méthodes en terme de qualité de sérum vue qu'il y a moins de sérum hémolysé après traitement par méthode B par apport à la méthode A ($P < 0.05$) (tableau 24).

Tableau 24: Comparaison de l'aspect des sérums résultant du traitement selon les methdes A et B.

Aspect	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
Normal	51	79.69%	60	93.75%
Hémolysé	13	20.31%	4	6.25%
Total	64	100%	64	100%

Test du Khi² P=0.037 corrigé Yates

Figure 24

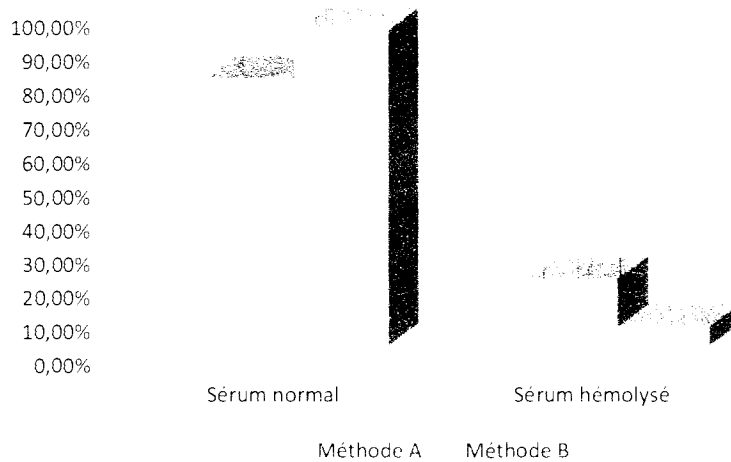


Figure 24: Comparaison de l'aspect des sérums résultant du traitement selon les méthodes A et B (N=64) (P=0.037).

1-3-Concordance des aspects des sérums obtenus par la méthode A et B :

Sur 64 échantillons traités par la méthode A et B, 77% d'entre eux (49 échantillons) ont un aspect identique, alors que les autres 23% (15 échantillons) diffèrent par leur aspect (tableau 25).

Tableau 25: Concordance des aspects des sérums obtenus par la méthode A et B (N=64).

	Effectif	Effectif relatif
Concordants	49	77%
Discordants	15	23%
Total	64	100%

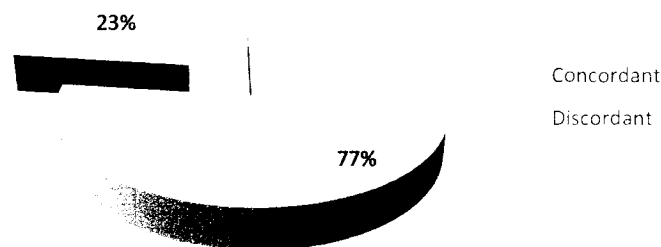


Figure 25: Concordance des aspects des sérums obtenus par la méthode A et B (N=64).

Parmi ces 15 échantillons discordants on distingue que :

- 12 d'entre eux avaient un aspect hémolysé après leurs traitements par la méthode A et un aspect normal après le traitement par la méthode B.
- 03 d'entre eux avaient un aspect normal après leurs traitements par la méthode A et un aspect hémolysé après le traitement par la méthode B.

2- Données relatives aux taux de protéines sériques des patients :

2-1-Répartition des taux de protéines sériques:

La moyenne des taux de protéides sériques obtenus par la méthode A est de $78.82 \pm 1.117g/l$, avec des extrêmes de 57 et 113g/l. une variance égale 116.

Alors que la moyenne des taux de protéides sériques par la méthode B est de $74.22 \pm 1.099g/l$, avec des extrêmes de 46 et 115g/l. une variance égale 112.

Statistiquement il existe une différence significative entre les moyennes des deux méthodes ($p=0,0037$) (tableau 26).

Tableau 26: Comparaison des taux des protéines sériques des deux méthodes A et B .

Taux de protéines sérique g/l	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[40-47[0	0%	1	1%
[47-54[0	0%	1	1%
[54-61[4	4%	2	2%
[61-68[7	8%	21	23%
[68-75[19	20%	25	27%
[75-82[28	30%	25	27%
[82-89[20	22%	13	14%
[89-96[9	10%	2	2%
[96-103[3	3%	1	1%
[103-110[2	2%	1	1%
[110-117[1	1%	1	1%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student P=0.0037

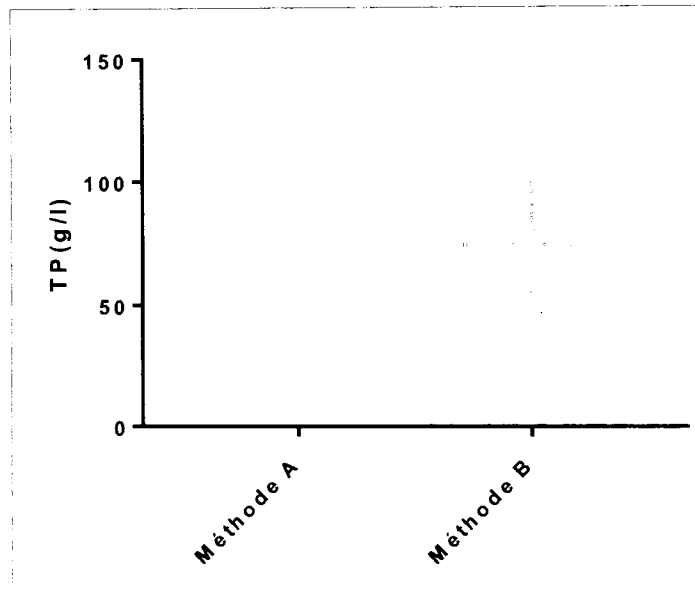


Figure 26: Comparaison des taux des protéines sériques des deux méthodes A et B (P=0.0037).

2-2-Répartition des patients en fonction des valeurs des taux de protide sérique:

Le dosage du taux de protide par la méthode A retrouve les résultats suivants :

- 52 des patients (56% des cas) présentent une protéinémie normale,
- 38 des patients (41% des cas) présentent une hyperprotéinémie,
- 4 patients (4% des cas) ayant une hypoprotéinémie.

Le dosage du taux de protide par la méthode B retrouve les résultats suivants :

- 67 des patients (72% des cas) présentent un taux de protéinémie normal [60 -80 g/l],
- 22 patients (24% des cas) présentent une hyperprotéinémie > 80 g/l,
- 04 patients (4% des cas) présentent une hypoprotéinémie < 60 g/l.

2-2-1- Présence d'une dysprotéinémie :

L'analyse des taux de protide obtenus pour cette même série des échantillons montre des discordances entre les résultats obtenus par les deux méthodes. En effet, la méthode B offre plus de résultats normaux (Protéinémie normale) que la méthode A. Tandis que cette dernière offre plus de résultats en dessous ou en dessus des normes utilisés (Dysprotéinémie).

Cette différence des résultats entre les deux méthodes est statistiquement significative (P<0.05) (tableau 27).

Tableau 27: Répartition des patients en fonction de la présence d'une dysprotéinémie (selon les deux méthodes).

	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
Protéinémie normal	52	55.91%	67	72.04%
Dysprotéinémie	41	44.09%	26	27.96%
Total	93	100%	93	100%

Test du Khi² P=0.032

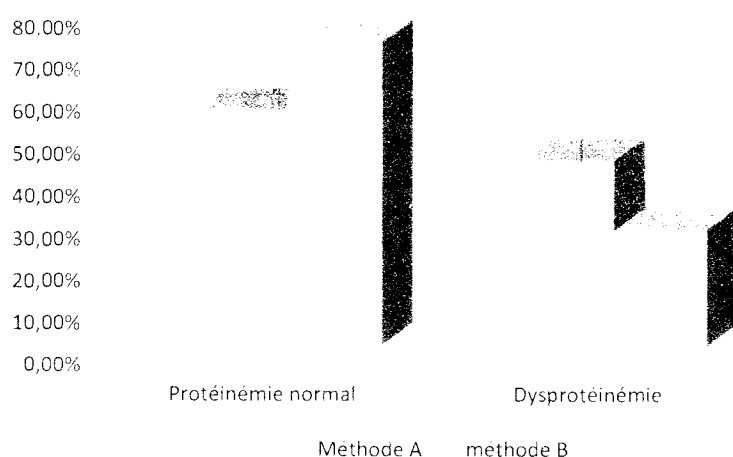


Figure 27: Répartition des patients en fonction de la présence d'une dysprotéinémie (selon les deux méthodes) (P=0.032).

2-2-2- Présence d'une hyperprotéinémie :

L'analyse des taux de protide obtenus pour cette même série des échantillons montre des discordances entre les résultats obtenus par les deux méthodes. En effet, la méthode A offre plus de résultats au-dessus des normes utilisés (Hyperprotéinémie) par rapport à la méthode B.

Cette différence des résultats entre les deux méthodes est statistiquement significative (P<0.05) (tableau 28).

Tableau 28: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hyperprotéinémie (selon les deux méthodes).

	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
Hyperprotéinémie ie	38	40.86%	22	23.66%
Pas d'hyperprotéiném	55	59.14%	71	76.34%

Test du Khi² p= 0.0183

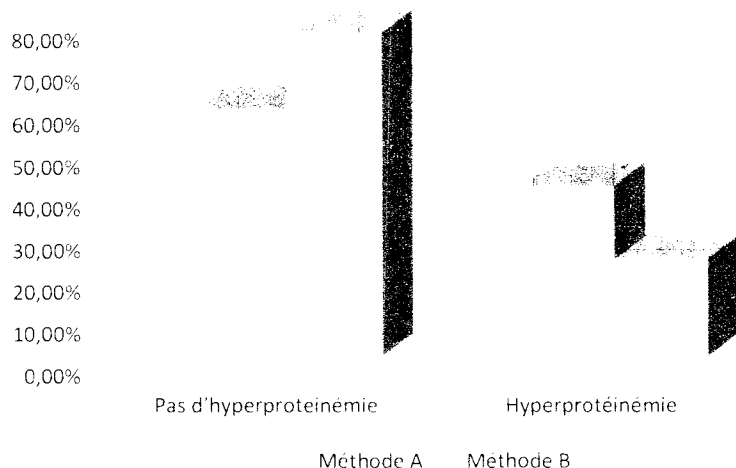


Figure 28: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hyperprotéinémie (selon les deux méthodes) ($p = 0.0183$).

2-2-3- Présence d'une hypoprotéinémie :

L'analyse des taux de protide obtenus pour cette même série des échantillons montre une concordance entre les résultats obtenus par les deux méthodes. En effet, la méthode A offre pratiquement le même type des résultats par rapport à la méthode B, concernant les taux retrouvés ou dessous des normes utilisés (Hypoprotéinémie).

Statistiquement il n'existe pas une différence significative entre les deux méthodes en terme de hypoprotéinémie ($P > 0.05$) (tableau 29).

Tableau 29: Répartition des patients en fonction de la présence d'une hypoprotéinémie (selon les deux méthodes).

	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
Hypoprotéinémie	3	3.23%	4	4.30%
Pas d'hypoprotéinémie	90	96.77%	89	95.70%
Test Khi² $P > 0.999$ corrigé de Yates				

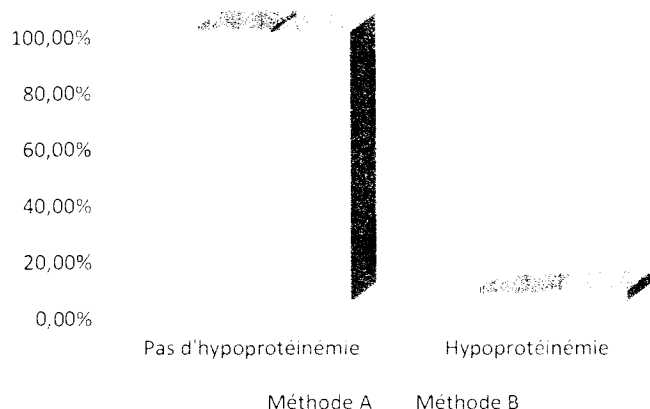


Figure 29:Répartition des patients en fonction de la présence d'une hypoprotéinémie(selon les deux méthodes).

2-3-Variations inter méthodes des taux de protéines sériques :

La différence des taux des protéines sériques est évaluée par la soustraction du taux obtenus par la méthode B de celui obtenus par la méthode A pour chaque patient. La moyenne de différence obtenue est de 5g/l avec des extrêmes de -19 et de +29.

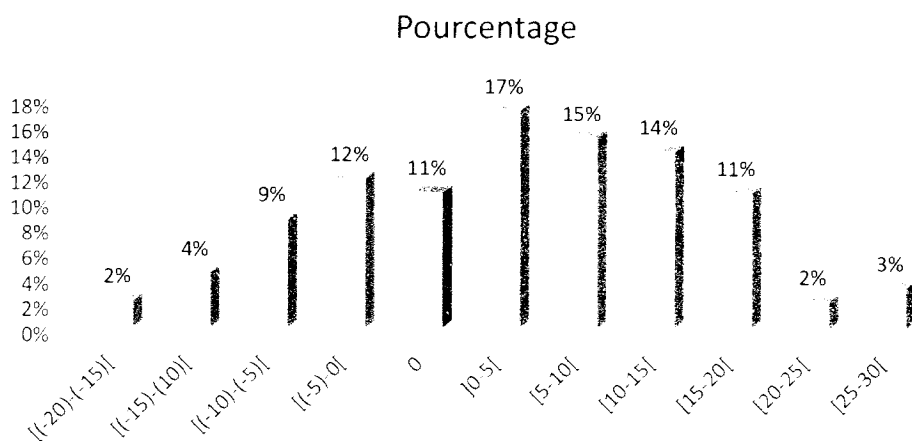


Figure 30: Variations inter méthodes des taux de protéines sériques .

La moyenne des valeurs sous-estimées est de 7 ± 1.061 g/l, avec des extrêmes de -1 et -19. La moyenne des valeurs surestimées est de 10.4 ± 0.8912 g/l, avec des extrêmes de 1 et 29. (Tableau 32).

Tableau 30 : Variations inter méthodes des taux de protéines sériques.

Résultats	Effectif	Effectif relatif
Concordants	10	11%
Sous-estimé	25	27%
Surestimé	58	62%
Total	93	100%

2-4-Variations intra méthode des taux de protéines sériques :

Lors de la formation du coagulum, 68 échantillons (73% des cas) ont été placés verticalement alors que 25 échantillons (27% des cas) ont été placés inclinés à un angle de 45°.

La moyenne des taux de protéides obtenus dans les tubes placés à la verticale est de 74.01 ± 1.191 g/l, avec des extrêmes de 46 et 105g/l. une variance égale 96.40.

Alors que la moyenne des taux de protéides obtenus dans les tubes inclinés à 45 ° est de 69.4 ± 1.427 g/l, avec des extrêmes de 58et 85g/l. une variance égale 50.91.

Statistiquement il n'existe pas de différence significative entre les variances des deux séries (P= 0.0832) (tableau 31).

Tableau 31 : Variations intra méthode des taux de protéines sériques .

Taux de protéines sérique g/l	Méthode B			
	Position verticale		Position inclinée (à 45°)	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[40-47[1	1%	0	0%
[47-54[0	0%	0	0%
[54-61[2	3%	1	4%
[61-68[15	22%	12	48%
[68-75[20	29%	6	24%
[75-82[16	24%	4	16%
[82-89[11	16%	2	8%
[89-96[1	1%	0	0
[96-103[1	1%	0	0
[103-110[1	1%	0	0
[110-117[0	0%	0	0
Total	68	100%	25	100%

Test de Fisher P= 0.0832

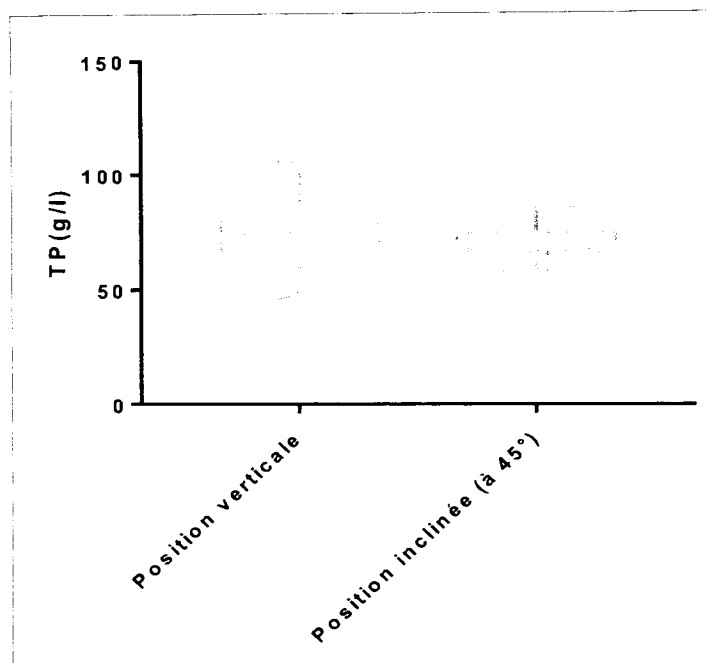


Figure 31 : Variations intra méthode des taux de protéines sériques .

3- Données relatives aux résultats d'EPS :

3-1-Comparaison des résultats d'EPS obtenus par les méthodes A et B:

L'analyse des résultats de l'EPS obtenus pour cette série des échantillons, par ces deux méthodes montre les résultats suivants (tableau 32) :

- Tracé électrophorèse normal : les plus représentés dans les deux cas (44% pour la méthode A et 55% pour la méthode B).
- Syndrome inflammatoire aiguë
- Syndrome inflammatoire chronique
- Syndrome inflammatoire chronique évolutif
- Présence d'un composant monoclonal
- Hypo-albuminémie
- Hypo-gammaglobulinémie

A ce niveau, l'essentiel des différences retrouvées entre ces deux techniques sont les suivantes :

- La méthode B met en évidence plus de tracés électrophorétique normaux que la méthode A.
- La méthode B met en évidence moins de profils électrophorétique en faveur de syndromes inflammatoire aiguë que la méthode A.
- La méthode B met en évidence moins profils électrophorétique en faveur de syndromes inflammatoire chronique que la méthode A.
- La méthode B met en évidence un profil électrophorétique en faveur d'une hypo-gammaglobulinémie alors que la méthode A n'en trouve aucun.

Discussion

Statistiquement il n'existe pas une différence significative entre les deux méthodes en terme des résultats d'EPS (tous les $P > 0.05$) (tableau 32).

Tableau 32: Comparaison des résultats des EPS traitaient selon la méthode A et B.

Résultats d'EPS	Méthode A		Méthode B		Valeur du P
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif	
Tracé électrophorétique normal	41	44.09%	51	55.53%	P=0.1867
Syndrome inflammatoire aigue	4	4.30%	2	2.15%	P=0.6781
Syndrome inflammatoire chronique	26	27.96%	18	19.35%	P=0.2269
Syndrome inflammatoire chronique évolutif	1	1.08%	0	0%	P>0.9999
Présence d'un composant monoclonal	20	21.51%	20	21.51%	P>0.9999
Hypo-albuminémie	1	1.08%	1	1.08%	P=0.4771
Hypo-gammaglobulinémie	0	0%	1	1.08%	P>0.9999

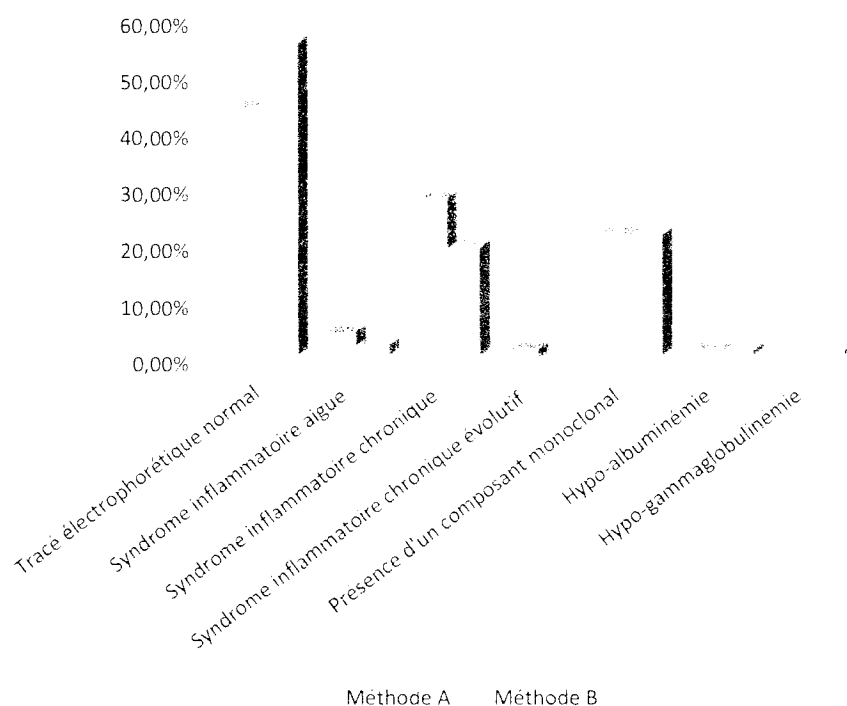


Figure 32: Comparaison des résultats des EPS traitaient selon la méthode A et B.

3-2-Concordance des résultats d'EPS :

Tableau 33 : Répartition des résultats des EPS obtenus par les méthodes A et B selon leurs concordances.

Méthode A	Méthode B							Total
	TEN	SIA	SIC	SICE	CM	HYPOALB	HYPOGAMMA	
TEN	36	1	3	0	0	0	1	41
SIA	3	1	0	0	0	0	0	4
SIC	12	0	14	0	0	0	0	26
SICE	0	0	1	0	0	1	0	2
CM	0	0	0	0	20	0	0	20
HYPOALB	0	0	0	0	0	1	0	1
HYPOGAMMA	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	51	2	18	0	20	2	1	93

Parmi les résultats d'EPS obtenus par méthodes A et B, 72 résultats (77% des échantillons) concordent entre eux alors que 21 résultats (23% des échantillons) sont en discordance (tableau 34).

Tableau 34: Concordance des résultats d'EPS des deux méthodes A et B.

Résultats	Effectif	Effectif relatif
Concordant	72	77%
Discordant	21	23%
total	93	100%



Figure 33: Concordance des résultats d'EPS des deux méthodes A et B.

3-3-Étude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B :

La moyenne de concentration de la fraction d'albumine (Normes : 32-50g/l) est de :

3-3-Étude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B:

- $39.17 \pm 0.5427\text{g/l}$ pour la méthode A, avec des extrêmes de 17.75 et 48.71g/l.
- $37.68 \pm 0.5506\text{g/l}$, pour la méthode B, avec des extrêmes de 16.24 et 46.51g/l.

Statistiquement il n'existe pas une différence significative entre les moyennes de concentration de la fraction d'albumine obtenus par les deux méthodes ($p > 0.05$) (tableau 35).

Tableau 35 : Etude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B.

Albumine (g/l)	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[16-20[1	1%	1	1%
[20- 24[0	0%	3	3%
[24-28[2	2%	2	2%
[28-32[3	3%	1	1%
[32-36[19	20%	24	26%
[36-40[22	24%	31	33%
[40-44[30	32%	22	24%
[44-48[14	15%	9	10%
[48-52[2	2%	0	0%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student P= 0.0554

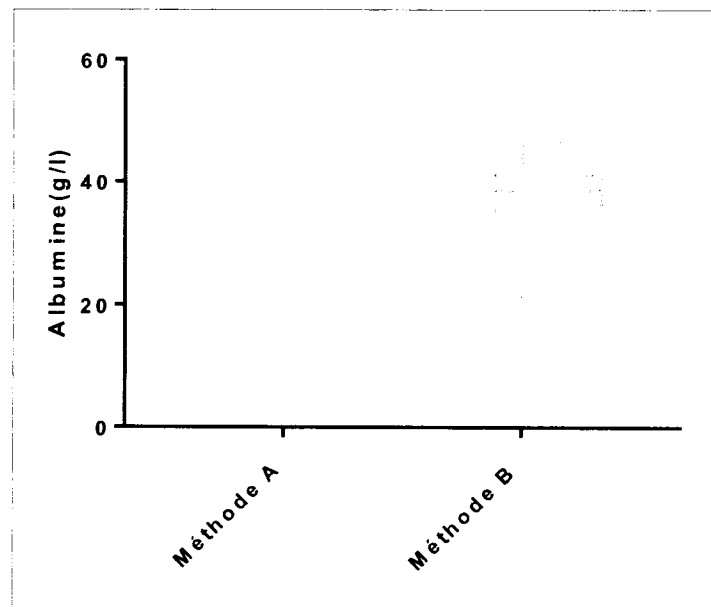


Figure 34: Etude des résultats des fractions de l'albumine obtenus par les méthodes A et B ($P = 0.0554$).

3-4-Étude des résultats des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les méthodes A et B:

La moyenne de concentration des fractions des Alpha 1 globulines (Normes :1-4g/l) est de :

3-4-Étude de la concentration

- 2.4 ± 0.079 g/l pour la méthode A, avec des extrêmes de 1.29 et 5.76 g/l.
- 2.24 ± 0.060 g/l, pour la méthode B, avec des extrêmes de 1.27 et 4.55g/l.

Statistiquement il n'existe pas une différence significative entre les moyennes de concentration des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les deux méthodes ($p > 0.05$) (tableau 36).

Tableau 36 : Étude des résultats des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les méthodes A et B.

Alpha 1 globulines (g/l)	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[1-1.5[4	4%	6	6%
[1.5-2[27	29%	28	30%
[2-2.5[30	32%	34	37%
[2.5-3[17	18%	18	19%
[3-3.5[9	10%	4	4%
[3.5-4[3	3%	1	1%
[4-4.5[1	1%	1	1%
[4.5-5[0	0%	1	1%
[5-5.5[1	1%	0	0%
[5.5-6[1	1%	0	0%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student $P=0.1022$

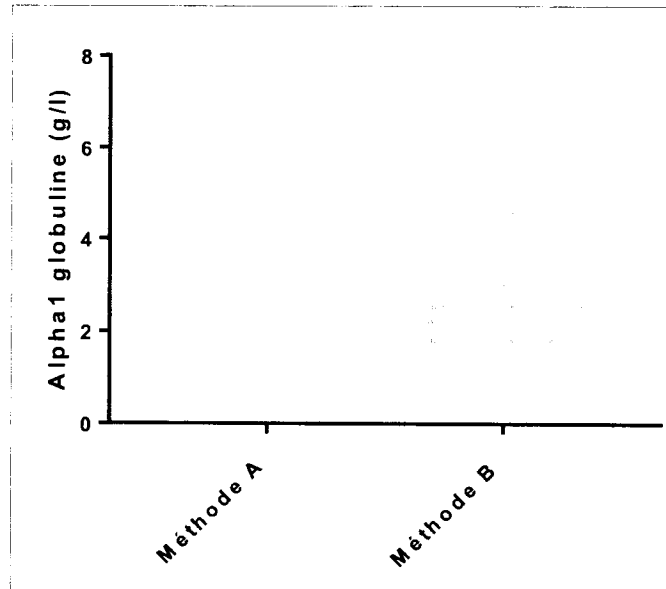


Figure 35 : Étude des résultats des fractions des Alpha 1 globulines obtenus par les méthodes A et B ($P=0.1022$).

3-5-Étude des résultats des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les méthodes A et B :

La moyenne de concentration des fractions des Alpha 2 globulines (Normes : 5-11g/l) est de :

- 8.85 ± 0.22 g/l pour la méthode A, avec des extrêmes de 4.77 et 16.43 g/l.
- 7.71 ± 0.20 g/l, pour la méthode B, avec des extrêmes de 4.17et 14.55g/l.

Cette différence entre les moyennes de concentration des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les deux méthodes est statistiquement significative ($P=0.0002$) (tableau 37).

Tableau 37: Étude des résultats des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les méthodes A et B.

Alpha 2 globulines (g/l)	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[4-6[9	10%	17	18%
[6-8[25	27%	42	45%
[8-10[33	35%	24	26%
[10-12[20	22%	8	9%
[12-14[4	4%	1	1%
[14-16[1	1%	1	1%
[16-18[1	1%	0	0%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student $P=0.0002$

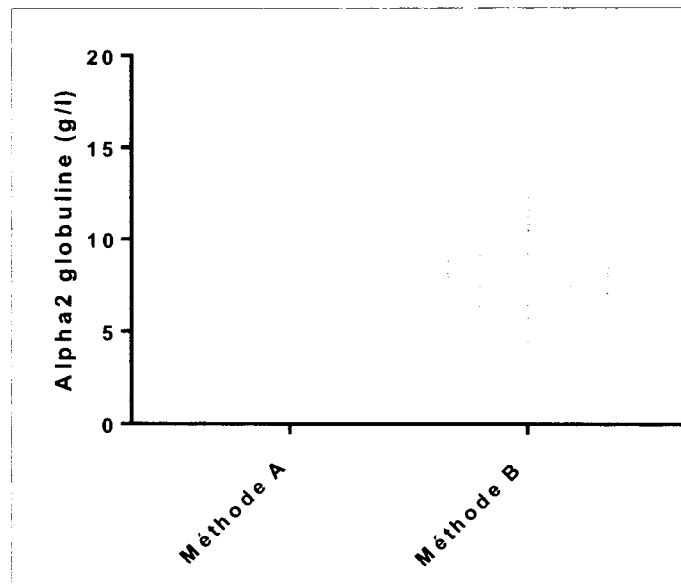


Figure 36: Étude des résultats des fractions des Alpha 2 globulines obtenus par les méthodes A et B ($P=0.0002$).

3-6-Étude des résultats des fractions des Béta-1 globulines obtenus par les méthodes A et B:

La moyenne de concentration des fractions des Béta 1 globulines (Normes : 2.5-6g/l) est de :

- 6.023 ± 0.24 g/l pour la méthode A, avec des extrêmes de 1.39 et 24.81 g/l.
- 6.90 ± 0.29 g/l, pour la méthode B, avec des extrêmes de 1.14et 28.47 g/l.

Cette différence entre les moyennes de concentration des fractions des Béta 1 globulines obtenus par les deux méthodes est statistiquement significative (P=0.0197) (tableau 38).

Tableau 38: Étude des résultats des fractions des Béta-1 globulines obtenus par les méthodes A et B

Béta 1 globulines	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[1-2,5[1	1%	1	1%
[2,5-4[1	1%	2	2%
[4-5,5[35	38%	16	17%
[5,5-7[42	45%	41	44%
[7-8,5[12	13%	20	22%
[8,5-10[1	1%	9	10%
[10-11,5[0	0%	3	3%
[11,5-28,5[1	1%	1	1%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student P=0.0197

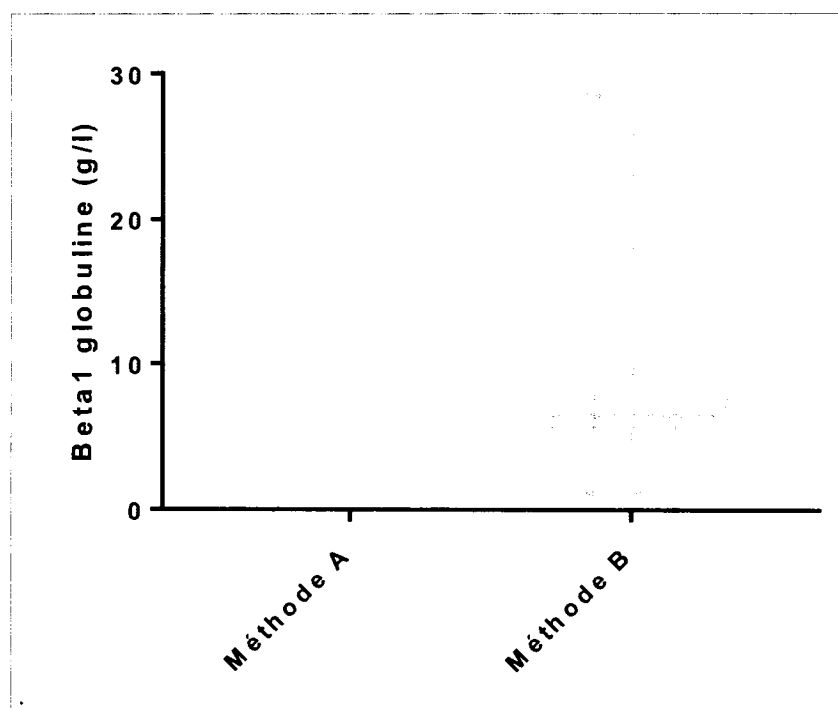


Figure 37: Étude des résultats des fractions des Béta-1 globulines obtenus par les méthodes A et B (P=0.0197).

3-7-Étude des résultats des fractions des Béta-2 globulines obtenus par les méthodes A et B:

La moyenne de concentration des fractions des Béta 2 globulines (Normes :3.5-7g/l) est de :

- 4.62± 0.136 g/l pour la méthode A, avec des extrêmes de 1.39 et 7.48 g/l.
- 3.78 ± 0.14 g/l, pour la méthode B, avec des extrêmes de 0.83et 7.84 g/l.

Conclusion

Cette différence entre les moyennes de concentration des fractions des Béta 2 globulines obtenus par les deux méthodes est statistiquement significative (P=0.0001) (tableau 39).

Tableau 39 : Étude des résultats des fractions des Béta-2 globulines obtenus par les méthodes A et B.

Béta 2 globulines (g/l)	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[0-1[0	0	2	2%
[1-2[2	2%	9	10%
[2-3[8	9%	15	16%
[3-4[24	26%	29	31%
[4-5[22	24%	21	23%
[5-6[20	22%	9	10%
[6-7[15	16%	7	8%
[7-8[2	2%	1	1%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student P=0.0001

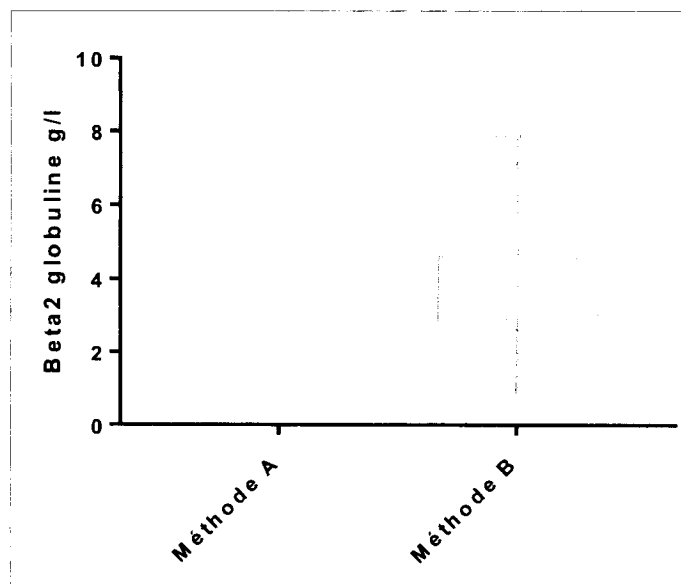


Figure 38 : Étude des résultats des fractions des Béta-2 globulines obtenus par les méthodes A et B (P=0.0001) .

3-8-Étude des résultats des fractions des gammaglobulines obtenues par les méthodes A et B :

La moyenne de concentration des fractions des gammaglobulines est de (Normes :8-16g/l) :

- 17.06 ± 0.76 g/l pour la méthode A, avec des extrêmes de 1.037 et 52.22 g/l.
- 15.76 ± 0.78 g/l, pour la méthode B, avec des extrêmes de 4.9et 54.99 g/l.

Statistiquement il n'existe pas une différence significative entre les moyennes de concentration des fractions des gammaglobulines obtenues par les deux méthodes ($p > 0.05$) (tableau 40).

Tableau 40 : Étude des résultats des fractions des gammaglobulines obtenues par les méthodes A et B

Gammaglobulines (g/l)	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[1-7[4	4%	4	4%
[7-13[19	20%	29	31%
[13-19[46	49%	44	47%
[19-25[15	16%	9	10%
[25-31[4	4%	1	1%
[31-37[3	3%	4	4%
[37-43[0	0%	0	0%
[43-49[1	1%	1	1%
[49-55[1	1%	1	1%
Total	93	100%	93	100%

Test du Student $P=0.235$

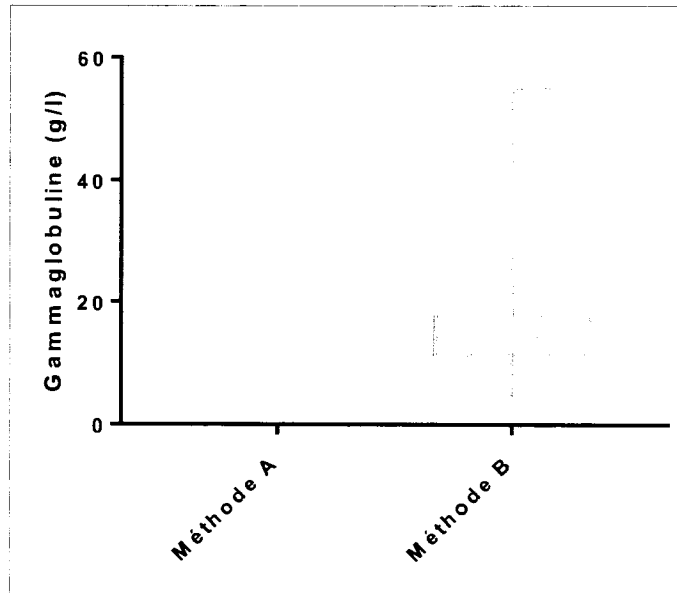


Figure 39 : Étude des résultats des fractions des gammaglobulines obtenues par les méthodes A et B ($P=0.235$) .

3-9-Analyse des composants monoclonaux obtenus à l'EPS:

3-9-1- Étude de la présence de composant monoclonal à l'EPS par les méthodes A et B :

Dans notre étude, la mise en évidence des composants monoclonaux à l'EPS n'a pas été influencé par le type du traitement pré analytique (Méthode A ou B) vu que dans les deux méthodes c'est les mêmes 20 échantillons (21.5% des cas) qui comportaient des composants monoclonaux (tableau 41).

Tableau 41: Étude de la présence de composant monoclonal à l'EPS par les méthodes A et B .

Résultats d'EPS	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
Présence d'un composant monoclonal	20	21.51%	20	21.51%
Autre résultats	73	78.49%	73	78.49%
Total	93	100%	93	100%

3-9-2- Étude de position de migration de composant monoclonal obtenu par les méthodes A et B :

L'analyse de position de migration de composant monoclonal obtenu pour ces 20 échantillons montre une concordance entre les résultats obtenus par les deux méthodes, où 19 patients (95% des cas) présentaient un composant monoclonal en position Gamma, et 01 patient (5% des cas) présentait un composant monoclonal en position Beta.

En effet, la position de migration est la même pour méthode A comme pour la méthode B (tableau 42).

Tableau 42: Étude de position de migration de composant monoclonal obtenu par les méthodes A et B.

Position de migration	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
Gamma	19	95%	19	95%
Beta	1	5%	1	5%
Total	20	100%	20	100%

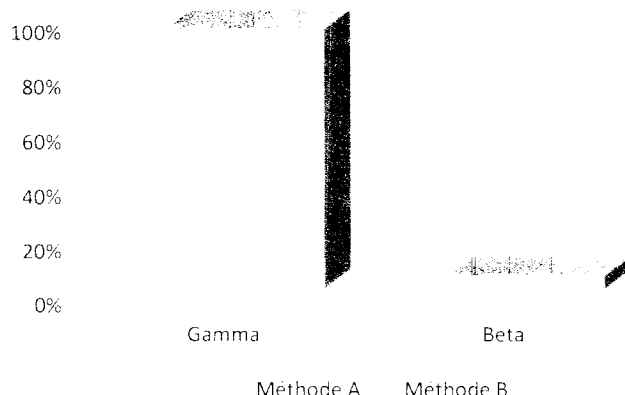


Figure 40: Étude de position de migration de composant monoclonal obtenu par les méthodes A et B.

3-9-3- Étude des concentrations des composants monoclonaux obtenus par les méthodes A et B:

La moyenne de concentration des composants monoclonaux est de :

- 11.37 ± 2.758 g/l pour la méthode A, avec des extrêmes de 1.84 et 47.85 g/l et une variance égale 152.17
- 12.15 ± 3.992 g/l, pour la méthode B, avec des extrêmes de 1.75 et 48.17 g/l et une variance égale 166.51

Statistiquement il n'existe pas une différence significative entre les moyennes de concentration des composants monoclonaux obtenus par les deux méthodes ($p > 0.05$) (tableau 43).

Tableau 43: Étude des concentrations des composants monoclonaux obtenus par les méthodes A et B.

Concentration de CM	Méthode A		Méthode B	
	Effectif	Effectif relatif	Effectif	Effectif relatif
[1.75-10.75 [11	58%	12	63%
[10.75-19.75 [6	32%	4	21%
[19.75 -28.75 [0	0%	1	5%
[28.75-37.75 [0	0%	0	0%
[37.75-46.75 [0	0%	1	5%
[46.75-55.75 [2	11%	1	5%
Total	19	100%	19	100%

Test du Student P=0.846

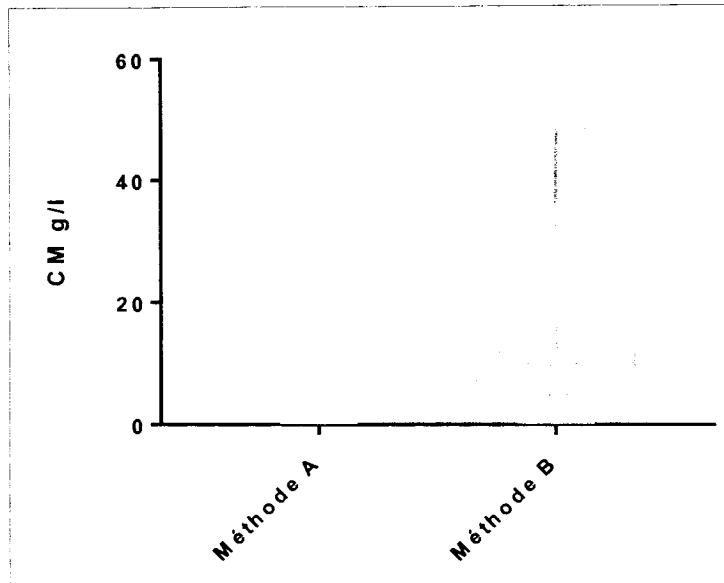


Figure 41: Étude des concentrations des composants monoclonaux obtenus par les méthodes A et B.

D-Discussion

I- Aspects des sérums obtenus par la méthode A et B

Du point de vue qualité visuelle des sérums analysés, il apparaît que les sérums obtenus après traitement par la méthode B sont de meilleure qualité que ceux obtenus après traitement par la méthode A. Vu que la comparaison des fréquences des sérums hémolysés obtenus par les méthodes de l'étude, 20.31% pour la méthode A et 6.25% pour la méthode B, été statistiquement significative ($P=0.037$). Ceci peut être probablement due à :

- Utilisation de bain marie pour accélérer la formation de coagulum ;
- Centrifugation insuffisante à l'origine de présence des globules rouges résiduelle des sérums conservés.

Toutefois, parmi les sérums extraits par la méthode B trois (03) d'entre eux avait un aspect hémolysé alors que leur aspect était normal après traitement via la méthode A. Ceci est due au fait que ces trois échantillons hémolysés sont les 03 premiers qui ont été traités dans notre série où l'utilisation des pipettes pasteurs semble être en cause.

Tableau 44 : Répartition des sérums traités par la méthode A et B selon la concordance de leurs d'aspects (N=64).

	Méthode A Hémolysé	Méthode A Normale	Totale
Méthode B Hémolysé	1	3	4
Méthode B Normale	12	48	60
Totale	13	51	64

Pour cela, l'utilisation plus prudente des pipettes pasteur par des gestes plus délicats nous a permis de mieux maîtriser le geste ce qui a facilité la décantation des sérums et à améliorer la qualité des sérums extraits

II- Les taux de protéines sériques obtenus par la méthode A et B

En comparant les taux de protéines obtenus par les deux méthodes, la méthode B paraît offrir plus de résultats dans les normes (Protéïnémie normale) que la méthode A. Cette différence de résultats entre les deux méthodes est statistiquement significative ($P<0.05$)

D'autre part, il est clair qu'il y a une surestimation des taux de protéines dans les sérums obtenus par la méthode A (dans 62% des cas) par rapport aux taux obtenus par la méthode B avec une moyenne de variation de 10.4 g/l et des extrêmes de 1 g/l et 29 g/l. Ceci est conforté par le fait que :

- Il existe une différence statistiquement significative entre les moyennes ($p=0,0037$), où les moyennes des deux méthodes A et B étaient de 78.82 g/l et 74.22 g/l, respectivement.
- La méthode A offre plus de résultats au-dessus des normes utilisés (Hyper protéïnémie dans 40.86% des cas) par rapport à la méthode B (Hyper protéïnémie dans 23.66% des cas). Cette différence de résultats entre les deux méthodes est statistiquement significative ($P<0.05$).

Ceci peut être expliqué par l'hémolyse qui semble plus fréquent dans la méthode A pouvant induire une surestimation des taux des protéines sériques.

D'autre par l'existence d'une surestimation des taux de protides dans les sérums obtenus par la méthode B (dans 27% des cas) par rapport aux taux obtenus par la méthode A avec une moyenne de variation de 7 g/l et des extrêmes de 1 g/l et 19 g/l, semble incriminer la qualité de la technique de dosage. Vue quel affecté grandement les deux méthodes.

L'absence de différences statistiquement significatives concernant les taux de protide obtenus par les méthodes A et B, en dessous des normes (Hypoprotéinémie) peut être due au fait que la méthode A a tendance a surestimé les taux de protide obtenues.

Dans notre étude, l'inclinaison des tubes à un angle de 45° lors de la formation du coagulum pour faciliter l'individualisation du sérum surnageant ne semble pas affecter les taux de protides obtenus vu que statistiquement il n'y a pas de différence significative entre la variance de la série dont les tubes sont inclinés à un angle de 45° et la variance de la série dont les tubes sont placés verticalement.

III- Les résultats d'EPS obtenus par les méthodes A et B

L'existence de discordances dans les résultats des EPS des sérums des deux méthodes, où 21 résultats (23% des échantillons) étaient discordants entre eux, est directement imputé aux différences observé dans les taux de protides obtenus, entre les méthodes A et B. Une différence de résultats électrophorétiques qui restent statistiquement non significative dans l'ensemble.

Tableau 45: Résultats des EPS obtenus par les méthodes A et B et leurs fréquences.

Résultats d'EPS	Méthode A	Méthode B	P
	Effectif relatif	Effectif relatif	
Tracé électrophorétique normal	44.09%	55.53%	P=0.1867
Syndrome inflammatoire aigue	4.30%	2.15%	P=0.6781
Syndrome inflammatoire chronique	27.96%	19.35%	P=0.2269
Syndrome inflammatoire chronique évolutif	1.08%	0%	P>0.9999
Présence d'un composant monoclonal	21.51%	21.51%	P>0.9999
Hypo-albuminémie	1.08%	1.08%	P=0.4771
Hypo-gammaglobulinémie	0%	1.08%	P>0.9999

D'un autre côté, la comparaison des fractions de l'EPS entre elles selon qu'elles aient été obtenus selon la méthode A ou la méthode B retrouve des différences significatives dans les moyennes des concentrations des fractions :

- Alpha 2 globulines(P=0.0002), avec des concentrations moyennes de 8.85 g/l et de 7.71 g/l obtenus par les méthodes A et B, respectivement.
- Béta 1 globulines (P=0.0197), avec des concentrations moyennes de 6.023g/l et de 6.90 g/l obtenus par les méthodes A et B, respectivement.
- Béta-2 globulines (P=0.0001), avec des concentrations moyennes de 4.62g/l et de 3.78g/l obtenus par les méthodes A et B, respectivement.

Conclusion

L'analyse séparé des fractions et la mise en évidence des différences de concentration des fractions ont obtenu par les deux méthodes met en évidence l'impact directement de la qualité du sérum sur les résultats des EPS obtenus.

IV- Les composants monoclonaux obtenus à l'EPS:

Dans notre étude, ni la mise en évidence du composant monoclonal, ni sa position de migration, ni sa concentration sérique n'ont été influencés par les paramètres pré-analytiques étudiés. D'autant plus qu'il n'existe pas de différences statistiquement significatives entre les concentrations des composants monoclonaux ($P=0.846$) et les concentrations des fractions des gammaglobulines ($P=0.235$) obtenues par les méthodes de l'étude.

E-Conclusion

Conclusion

Lors des explorations immunologique la maitrise de la phase pré-analytique est un élément fondamental dans le control qualité des bilans effectués.

La mise en place d'un manuel de référence quant aux méthode à suivre et à respecter pour un meilleur contrôle de qualité de la phase pré-analytique propre à chaque paramètre est un atout important.

Pour une analyse objective, une communication parfaite ente tous les acteurs impliqués dans cette phase devrait être consulté lors de son élaboration et dans leur déroulement.

Dans l'idéal, il serait même préférentiel d'élaborer un ouvrage de référence commun à tous les laboratoires au niveau national.

Recommandations de l'étude :

- ✓ **Pour l'extraction d'un sérum de bonne qualité :**
 - Temps de formation de coagulum : 30 min à 2h ;
 - Température de formation de coagulum : 25°C ;
 - Décollement du coagulum par pipette pasteur si nécessaire par une manipulation délicate ;
 - Centrifugation : à température ambiante, a 1300-2500 g pendant 10 à 15min ;
 - Appliqué une deuxième Centrifugation si nécessaire pour le sérum seul : à température ambiante, a 1300-2500 g pendant 10 à 15min ; Transvasée sérum surnageant dans un tube neuf soit directement (de tube à tube) soit à l'aide d'une micropipette (1000 µl).
 - Veillez à l'étiquetage correcte et fidèle des échantillons ;
 - Conservation a + 4°C à court terme (24h) et à -20°C à long terme (jusqu'à 01 mois).
- ✓ **Pour une meilleure centrifugation :**

Respect des recommandations lors de la variation des paramètres de la centrifugeuse (ex : rayon du rotor)

- ✓ **Pour le dosage du taux de protide plus crédible :**

Contrôle des performances de la technique du biuret ainsi que des réactifs utilisés, et pourquoi pas utiliser une technique plus performante tel que les techniques de néphélométrie laser.

Références

1. **A.HUCHET.** La démarche qualité dans un laboratoire.Mise en place du GBEA (Guide de Bonne Exécution des Analyses). Paris : s.n., 1998. P 213.
2. **Collombel, C et Villemagne, S.** Assurance qualité de la phase pré- analytique des prélèvements biologiques dans un CHU (Centre Hospitalier Lyon Sud) :]. *Analyse préalable à l'élaboration de procédures. Thèse de pharmacie. Université Claude Bernard-Lyon I.* 1998. 224 , p. 112.
3.] **Banque d'items de la phase pré-analytique.** *Direction Générale de la Santé* . [En ligne] 2009. <http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/bio3.pdf>.
4. **Murat, Philippe.** La Phase Préanalytique Analyse de Biologie Médical .Rôle du PHISP : comment le biologiste assure la maîtrise de cette étape. *Mémoire de l'Ecole Nationale de la Santé Publique.* 2003. p. 37 .
5. **Togni , G, Volken, C et Sabo, G.** Pré-analytique. 2002. 6, pp. 113-120.
6. *Phase pré-analytique, qualité des résultats de laboratoire et démarche qualité à l'hôpital.* **Gouget, B.** 1997, Revue Française des Laboratoires, Vol. 292, pp. 44-45.
7. **Valérie, Favez.** Amélioration de la préanalytique à l'hôpital de Martigny. *Ecole supérieure de la santé (ESSanté), Lausanne Institut central des Hôpitaux Valaisans (ICHV).* Martigny : s.n., avril 2011.
8. **Guder , W.G, et al.** *sampels : from the patient to the laboratory.* 3eme édition. s.l. : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003.
9. **Gérome , P, et al.** La phase pré- analytique en bactériologie. 2001. Vol. 335, pp. 23-28.
10. **Auge, B et Colard, N.** La phase pré-analytique.Séminaire de Formation. 2010. Vol. 61.
11. la Norme ISO, 15189. Chap 5.4.3.1de. 2007.
12. *Guide de bonne exécution des analyses de la biologie médicale.* 1 Décembre 1999.
13. **Bustin, A.** Mieux réaliser les prises de sang pour assurer des résultats de qualité. 2008. Vol. 256, pp. 320-2-325.
14. **Duchassaing, D.** Phase pré-analytique en biochimie : Processus de maîtrise de la qualité. 1999. Vol. 317, pp. 27-23.
15. **pré-analytique, MANUEL de. LABOUDIE & Associés** laboratoire des cedres. *Laboratoire de biologie Médicale mumtisites Accrédité dans la norme NF EN ISO 1518 par le COFRAC.*
16. **Woo, J et Henry, J B.** Clinical pathology: laboratory medicine purposes and practice. In: Clinical Diagnosis Management by Laboratory Methode. . Saunders, Philadelphia : s.n., 1991. pp. 1-26.
17. **G.Thérasse.** CHU UCL namur MANUEL DE PRELEVEMENT QUPRELPR01 – Version 07 . 12 10 2016.
18. **GUIDE DES ANALYSES BIOLOGIQUES . LABORATOIRE DE MANGOT VULCIN** (*Auto-Immunité, Hémoglobines, Immuno- hématologie*ABORATOI IREDEANGOTVUL LCI IN((PTRR, *Auto- Immuni ité, Hémoglobines , Immuno- -hématologie* . 2016 .

19. Delahaye , A. Méthodes pratiques de prélèvements. [En ligne] <http://www.arnobio2.com>.
20. GEHT. Recommandations générales s'appliquant aux tests courants d'hémostase . 2007.
21. Messoudi , Amar. manuel de prelevement assurance qualite . *service de biochimie EHU ORAN* . 2013.
22. Guide méthodologique Haute Autorité de Santé HAS . *Activités de biologie médicale et certification des établissements de santé* . [En ligne] Novembre 2014. <http://www.has-sante.fr>.
23. Préanalytique. *Hôpital du valais, (s.d.)*. [En ligne] consulté Avril 2018. <http://www.rsvgnw.ch/fr/ichv/labo/prestations/preanalytique/Pages/default.aspx>.
24. Conseils et techniques en préanalytique. *Document officiel SARSTEDT (s.l)*. consulté Avril 2018.
25. Association des collègues des enseignants d'immunologie des universités de langue française. . *Item 126 : Immunoglobulines monoclonales*. [En ligne] 2011. <http://campus.cerimes.fr/immunologie/enseignement/im>.
26. Barbier, F, et al. Recommandations pour la maîtrise de l'étape de prélèvement des échantillons biologiques Qualité et accréditation en biologie médicale. *Ann Biol Clin*. 2010. 68, pp. 69-104.
27. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations (& Stability of blood, plasma and serum samples)*. Genève, : s.n., 15 janvier 2002.
28. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Third Edition *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, Approved Guideline*., Pennsylvania : s.n., 2004.
29. Oddoze, C et Lombard, E. Portugal Conservation des échantillons biologiques avant et après centrifugation : effet de la nature des tubes, de la températures et du délai avant analyse. *Feuillets de biologie*. 2012. Vol. 308, pp. 51-59.
30. Tanner , M. Stability of common analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times precentrifugation. . *ann clin biochem* . 2008.
31. Zhang , DJ. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *clin chem*. 1998.
32. Groupe d'Etude Français d'Amélioration du Préanalytique. *Acceptation limit basis for human blood samples stability : a review. Communictaion à European Conference on Preanalytical Phase*., Zagreb : s.n., mars 2013.
33. Laessig , RH. Changes in serum chemical values as a result of prolonged contact with the clot. . *am j clin pathol* . 1976.
34. fiche technique ABBOTT.
35. Cazenille , E et Cynober, DL. Dysfonctionnements et non conformités au cours de la phase pré-analytique au laboratoire de biochimie. *Thèse de pharmacie. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques. Université Paris V- Rene*. PARIS : s.n., 2005. p. 98.

36. Moran, RF et Feuillu, A. Critical care analytes : pre-analytical factors affecting result quality for combined blood gas and electrolyte systems. *Journal of Automatic Chemistry* . 1989. Vol. 11, pp. 201-205.
37. ISO, 15189. chapitre 5.4.7.
38. Laurence , Vernez et Dagmar , Kessler. Centrifugation. *CSCQ*. Janvier 2017.
39. Olivier , Preynat-Seauve et Dagmar , Kessler. FICHE TECHNIQUE : 29 Sérum ou Plasma. *CSCQ* . [En ligne] juin 2010. http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-Serum-plasma.pdf.
40. Daniel, Lambert, Hind , Berrahmoune et Bernard , Herbeth. Variations pré-analytiques des biomarqueurs protéiques MEDECINE/SCIENCES . *recommandation CLSI Clinical and laboratory standards institute*. 2007. 23 , pp. 9-12] .
41. LUREAU , B. Conservation des échantillons biologiques (GCS Biologie 85). 2016. pp. 1-16.
42. Annette-Reisch, M, Soubiran, P et Szymanowicz , A. Recommandations concernant le traitement pré-analytique et le transport des échantillons de biologie médicale. *Ann Biol Clin*. 2010. 68 (Hors série no 1), pp. 111-130].
43. Siest, G, Henny, J et Schiele, F. Références en biologie clinique. *Collection Option Bio*. paris : Elsevier, 1990.
44. Dieter Meißner; , Dresden. Guide préanalytique. *Recommandations préanalytique (Accompagnement vers l'accréditation)*. s.l. : Greiner Bio-One GmbH.
45. Buchmann, Marlise, et al. *CSCQ*. Juin 2016. v02.
46. Thomas, L. Labor und Diagnose, TH Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt. 6th Edition 2005.
47. Drosdowsky, SC. Facteurs à prendre en compte pour le prélèvement sanguin en vue de l'établissement des valeurs de référence.(conseils et techniques pré analytique). *Ann.Biol.Clin*. 1980. Vol. 38, pp. 251-260.
48. GUIDE Pour la maîtrise de la phase pré-analytique labo-gascogne. consulté avril 2018.
49. Bach-Ngohou , k, et al. Les dysalbuminémies. *Ann Biol Clin*. Paris : s.n., 2005. 63, pp. 127-34].
50. Clerico, A, et al. Clinical relevance of biological variation: the lesson of brain natriuretic peptide (BNP) and NT-proBNP assay. . *Clin Chem Lab Med*. 2006. Vol. 44, p. 366.
51. Plouin, PF, et al. Recent advances in the clinical study of the renin system. Reference values and conditions of validity. . *Presse Med*. 1989. Vol. 18, pp. 21-917.
52. Laboratoire de biologie médicale multi sites accrédité dans la norme ISO 15189.
53. Stankovic , AK et Smith , S. Elevated serum potassium values: the role of preanalytic variables.. *Am J ClinPathol* . 2004. Vol. 121, pp. 105-112.

54. Lemery , L D. Oh, No! It's Hemolyzed!" What, Why, Who, How? . *Advance for Med Lab Prof.* 1998. pp. 24-25.
55. Dufou, Marie-Josée. COMMENT ÉVITER LES PRÉLÈVEMENTS HEMOLYSÉS . 2017.
56. attal, nabila. laboratoire immunochimie et neuro-immunologie département d'immunologie institue pasteur d'algerie. *institut pasteur d'algerie*. [En ligne] <https://www.pasteur.dz/fr/departement-immunologie>.
57. *Proposition de commentaires interprétatifs Prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques*. Szymanowicz, A, et al. 4, 14 mars 2006, annales de biologie clinique 2006, Vol. 64, pp. 367-380.
58. Deconinck, Eric . Diagnostique une immunoglobuline monoclonale chez les sujet agé. *Université de Franche-Comté / IRF 133 Service d'hématologie - CHU BESANCON* .
59. (CoPath), Collège Français des Pathologistes. La réaction inflammatoire. Les inflammations. [En ligne] 2012.
60. Andres, Emmanuel. conduite a tenir devant une gammopathie monoclonal. *Service de Médecine Interne, Diabète et Maladies Métaboliques, Clinique Médicale B, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg*. consulté février 2018.
61. Association des collèges des enseignants d'immunologie, des universités de langue française. Item 126 : Immunoglobulines monoclonales. [En ligne] 2011. http://campus.cerimes.fr/immunologie/enseignement/immuno_126/site/html/cours.pdf.
62. BELARBIA, Anis. Syndrome néphrotique service de néphrologie CHU Sahloul . SOUSSE : s.n., consulté février 2018 .
63. IRAMBONA, Danatien. Insuffisance hépatocellulaire . s.l. : CHU Mertinique service d'Hépatogastroentérologie , février 2014.
64. Carrer , D. Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques. Interprétations. *Laboratoires SEBIA*,. Issy-les-Moulineaux : s.n., 1994 . p. 122 .
65. Boulard. évaluatuiou des lésions rénales , comparaison de la détection du pic monoclonal et de sa quantification . *44ème colloque national des biologistes des hopitaux nantes , realisees pour l'ACNBH* . 23-25 septembre 2015.
66. Valdiguie, P. Biochimie clinique. . 2eme édition s.l. : Tec & Doc, ISBN, 2000. pp. 2-7430-0415-0.
67. Moussa, Ibrahim. These de doctorat en pharmacie. Mali : Université de Bamako, Faculte de Medecine de Pharmacie et d'odonto-stomatologie, 2003.
68. Daunizeu, A. Electrophorèse des protéines du sérum. *Cahier de formation biologie medicale N°28 BIOFORMA.Immunoglobulines monoclonales*. paris, france : s.n., 2003.
69. LES PROTEINES PLASMATIQUES . *DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE. Université de RENNES 1*. 2006/2007.

70. Raisonnier, A. structures fonctions. paris : Cours. Universités Pierre et Marie Curie Faculté de Médecine Petie-Salpetriere, 2002-2003.
71. Bricon , T. Identification et dosage des protéines urinaires au laboratoire d'analyses. *Ann Biol Clin* . 2002 ; 60/5 : 525-540. pp. 525-540.
72. Szymanowicz , A, Neyron , MJ et Denis , I. Proposition de textes interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse. *Spectra Biol* . 2006 ;. 155 , pp. 41-51.
73. Beauvillain , C, et al. immunoglobulines monoclonales : methodes daignostiques . *revue francophone des laboratoire* . 2011. Vol. 433, pp. 55-62.
74. Albarede, S, et al. Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale. Biochimie spécialisée/Immunopathologie. *Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé*. saint-denis : s.n., 2004.
75. Graziani , M.S, et al. Multicenter evaluation of the Paragon CZETM 2000 capillary zone electrophosis system for serum protei, electrophoresis and monoclonal component typing. *Clin. Chem* . 1998. Vol. 44, pp. 599-605.
76. Koller , A, Kaplan, A et et al. Total serum protein. . *Clin Chem The C.V. Mosby Co.* . St Louis.Toronto. Princeton : s.n., 1984. pp. 1316-1324.
77. Burtis, A et et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, AACC . 3rd ed 1999.
78. Orsonneau, JL et et al. An improved Pyrogallol Red-Molybdate Method for Determining Total Urinary Protein.. . *Clin Chem* . 1989. Vol. 35, pp. 2233-2236.
79. LENER, Daniela . DOSAGE DE PROTEINES ET ELECTROPHORESE :PARTIE THÉORIQUE. consulté mai 2018.
80. La réaction antigène anticorps et ses applications. *Pharmaetudes*. [En ligne] www.pharmaetudes.com.
81. Giraudet, P. Concept et intérêt clinique des profils protéiques. *Feuillets Biol* . 1992. 61-69.
82. Bach-Ngohou, K, et al. Évaluation clinico-biologique de la dénutrition. *Ann Biol Clin* . 2004 . Vol. 62, pp. 395-403.
83. Denis, Rivier. Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies. 2012. pp. 585-592.

Annexes

Annexe 01 :

Fiche de travail

Fiche de travail

☆Date de prélèvement : /...../.....

☆Nombre de prélèvement :

☆Identification du prélèvement :

☆Préparation de l'échantillon :

1-Acheminement :

- Température lors de l'acheminement : T°ambiante

-Heure de l'acheminement:h.....min

2-formation de caillot :

- position des tubes : verticale horizontale Autre :

-Temps de formation de caillot 1h 1h30 2h

-Température de formation de caillot

3-Centrifugation :

-VPMT/min

-Temps 10min 15min

-température : 24C°

Annexe 01 :

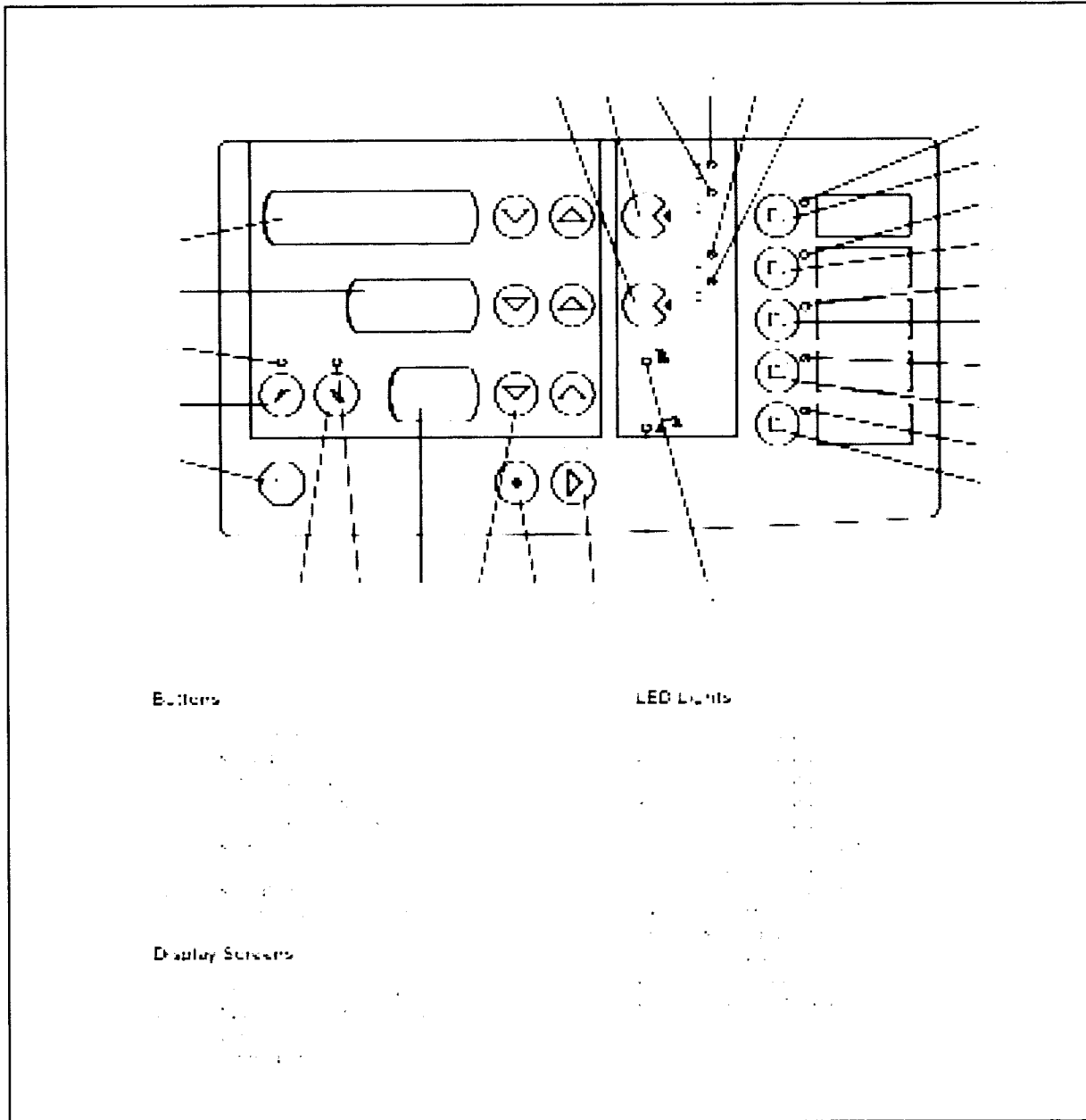
Fiche de travail. (Suite)



Identifiant	Nom et prénom	Age	Sexe	Quantité prélevait	Heure de prélèvement	Paramètres demandés	Conservation			
							T° ambiante	+4C°	-20C°	-80C°
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				
		M Fmlh.....min	EPS CRP				

Annexe 02:

Centrifugeuse thermo-jouan® , model CR3i multifunction



Annexes 03:

Rotor T40® de centrifugeuse thermo-jouan®, model CR3i multifunction

Rotor selection table

Product Code	Volume	Tube	Dimensions (mm)	Max. Weight (g)	Max. Speed (rpm)	Max. Temperature (°C)	Max. Time (h)
17571	14	Standard	12x75	1000	4000	4	24
17572		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17573		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17574		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17575		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17576		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17577		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17578		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17579		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17580		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17581		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17582		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17583		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17584		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17585		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17586		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17587		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17588		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17589		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17590		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17591		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17592		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17593		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17594		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17595		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17596		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17597		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17598		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17599		Standard	12x75	1000	4000	4	24
17600		Standard	12x75	1000	4000	4	24

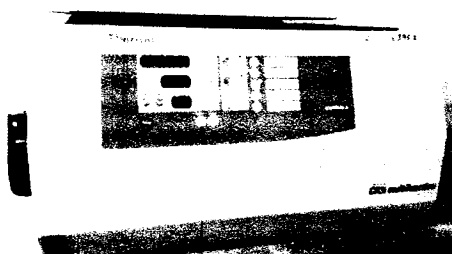
Notes: 1. For specific information, please refer to the user manual.
2. Capacity may vary.

Annexe 04 :

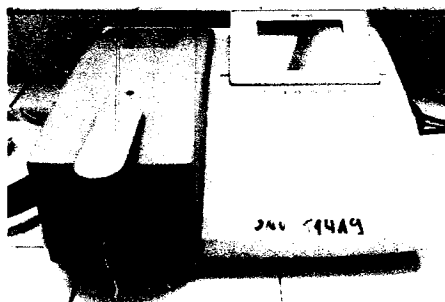
Appareils utilisés à l'unité d'immunologie.

Appareils

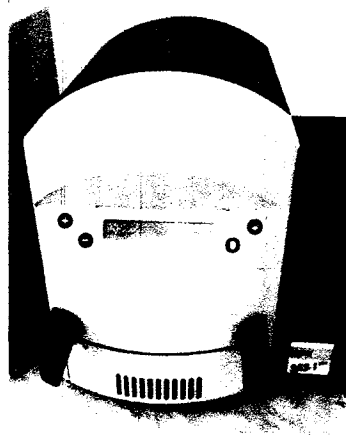
**Centrifugeuse de marque
thermo-jouan®**



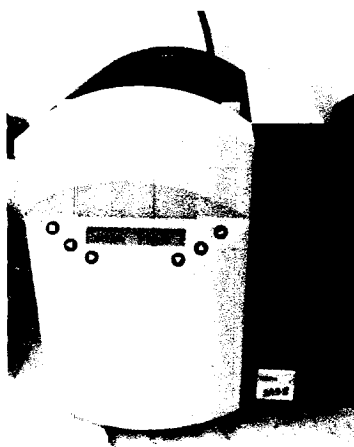
**Spectrophotomètre Vital
scientific®**



Helena SAS 1 plus



Helena SAS 2



Agitateur

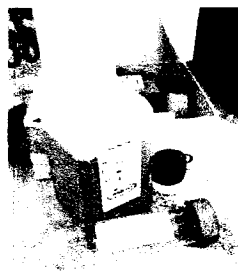


Annexe 05 :

Réactifs utilisés à l'unité d'immunologie.

Réactifs

Kit SPINREACT Pour le dosage des protéines



Kit electrophorèse



Annexe 06 :

Kit SAS-1 plus d'électrophorèse sérique

Kit SAS-1 protéines sérique SB composer de

- 1- **Plaque SAS-1 Protéines sérique SB (x10):**
Contient de l'agarose dans un tampon Tris/Barbital additionné de thimérosal et d'azide de sodium comme conservateurs
- 2- **Colorant bleu acide (1x75ml) :**
Contient de colorant bleu acide concentré. Dissoudre le contenu du flacon dans 700ml d'eau distillée, laisser sous agitation toute une nuit. Filtrer avant utilisation.
Conserver en bouteille hermétiquement fermée.
- 3- **Solution décolorante (1x10g décolorant A,1x40ml décolorant B) :**
Diluer le contenu de décolorant A avec 1 litre d'eau distillé. Ajouter ensuite le contenu de décolorant B puis, lentement, 1 autre litre d'eau distillé.
- 4- **Autre composants de kit :**
Chaque Kit contient également 1 fiche technique et des buvards C pour 10 gel.

Annexe 07:

Méthode de biuret

Procédure de dosage des protéines sériques

1. Conditions de test: Longueur d'ondes: 540 nm (530-550)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C/.15-25°C

2. Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée

3. Pipeter dans une cuvette:

	Blanc	Étalon	Echantillon
R (mL)	2.0	2.0	2.0
Étalon (µL)	--	35	--
Echantillon (µL)	--	--	35

4. Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante.
5. Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

Annexe 08 : Processus Helena SAS-1 plus et SAS-2 d'électrophorèse des protéines sérique

Mode opératoire d'électrophorèse des protéines sériques :

SAS-1 PLUS :

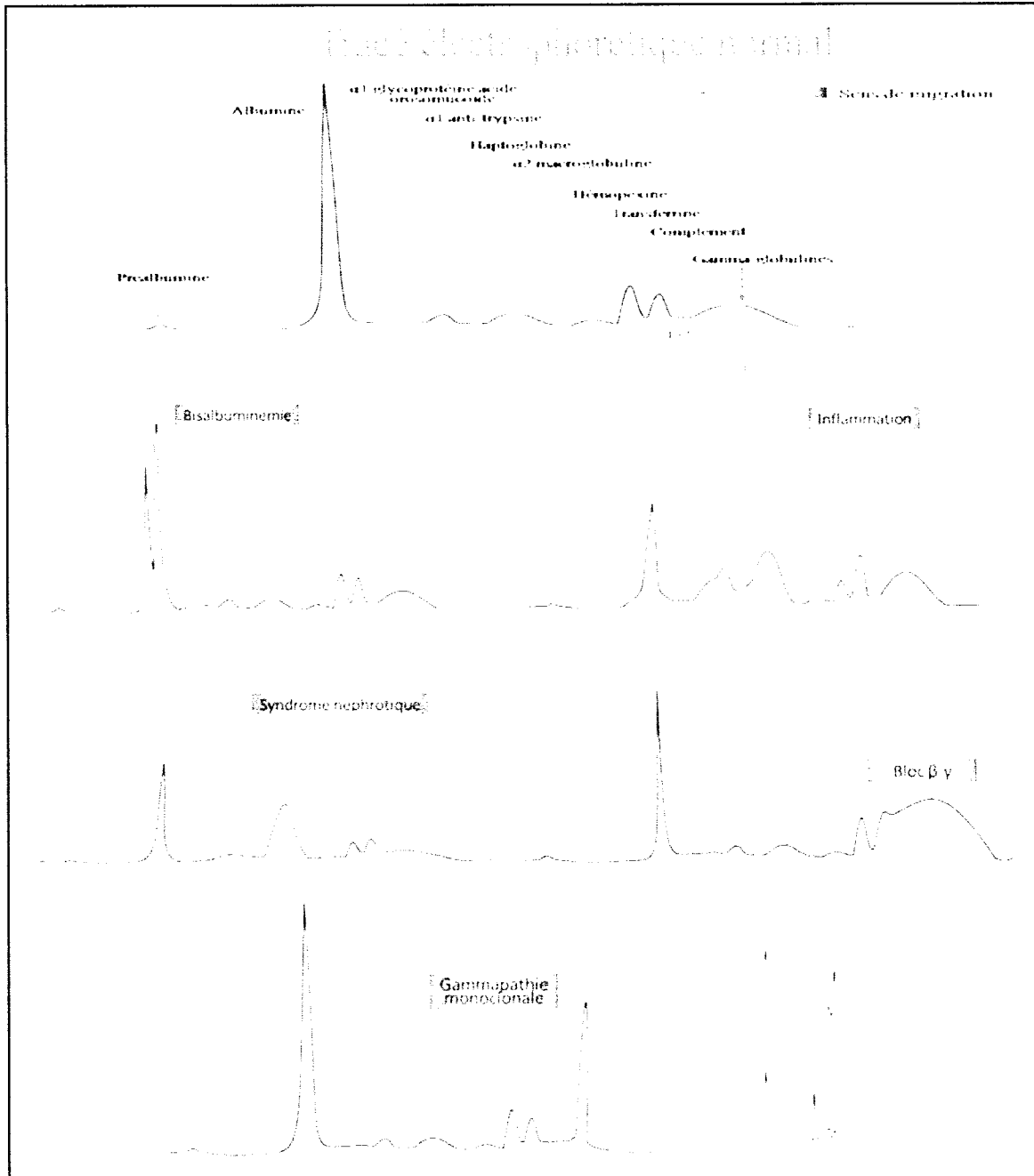
1. Pipeter 35 µl d'échantillon dans les puits correspondants du porte -échantillon du SAS-I ou dans les cupules échantillons jetables.
2. Placer avec précaution le porte-échantillon sur le chariot applicateur. S'assurer qu'il est solidement mis en place.
3. Sortir le gel de son emballage protecteur, retirer le film plastique et :
Déposer 400 µl de Rep-prep dans le dissipateur thermique. Placer le gel sur le dissipateur thermique agarose vers le haut. En respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel.
4. Sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C, jeter le buvard.
5. Mettre le couvercle sur le gel et les électrodes et faire pression 5secondes pour assurer un bon contact.
6. Mettre en place 2 applicateurs dans l'instrument.
7. Réaliser l'électrophorèse : 80 Volts, 22min.
8. Une fois l'électrophorèse terminée enlever le couvercle
9. Fixer le gel sur le support de la chambre de coloration.
10. Sélectionner le programme protéines sériques du module de coloration puis, en suivant les messages, colorer, décolorer et sécher le gel.

SAS-2 (module de coloration)

Etape	Solution	durée (mm :ss)	Orifice	T (°C)
Colorer	Colorant bleu acide	10 :00	6	
Laver	Eau distillée	01 :00	1	
Sécher		15 :00		65
Décolorer	Solution décolorante	05 :00	2	
Sécher		10 :00		65
Décolorer	solution décolorante	05 :00	2	
Laver	Eau distillée	01 :00	1	
sécher		10 :00		65

Annexe 09 :

Interprétation d'électrophorèse des protéines sérique .



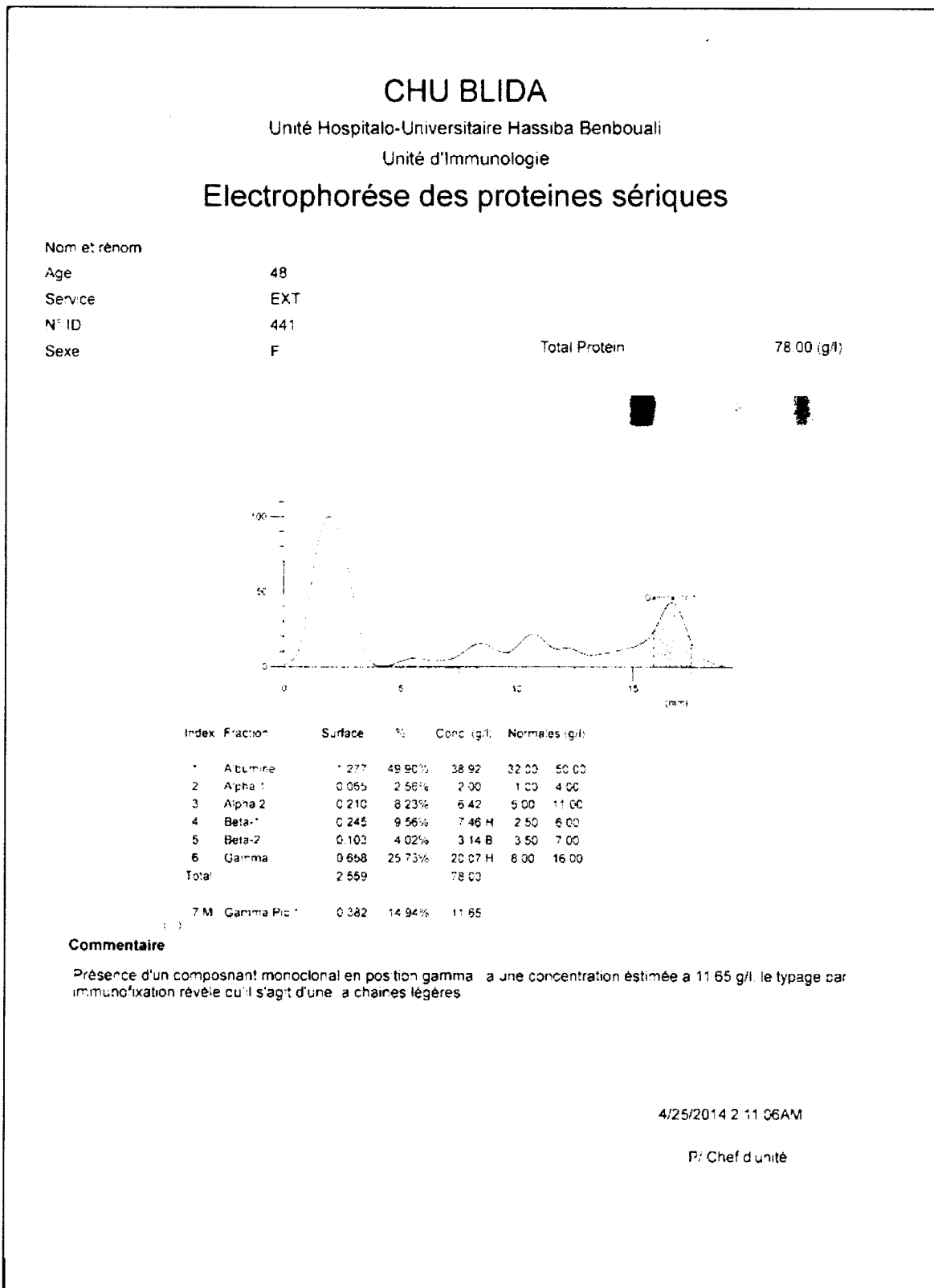
Annexe 10 :

Acte d'un prélèvement sanguin au niveau de plie de coude.

	<ul style="list-style-type: none"> • Mettre les mains • Essuyer avec un papier essuie-tout pour éliminer l'excès d'alcool • Essuyer le point de ponction avec un coton-tige imprégné d'antiseptique • Essuyer le point
	<ul style="list-style-type: none"> • Essuyer le point de ponction • Insérer le point de ponction • Retirer le tube et tout sans la interruption de l'écoulement du sang • Essuyer le point de ponction avec un coton-tige imprégné d'antiseptique • Encaisser dans la syringe les différents types de tubes (vérifier l'écoulement de sang dans le tube) Si unité à aiguilles : Bleu → Blanc → Vert → Violet → • Retirer le point de ponction et le compresseur en appliquant une pression • Les patients doivent se reposer pendant 2 à 3 minutes • Encaisser le sang dans le petit verre ou l'autre si cette dernière est utilisée (PASEP/T) • Identifier les tubes et les compresseurs • Répéter la procédure pour le 2^{ème} point de ponction

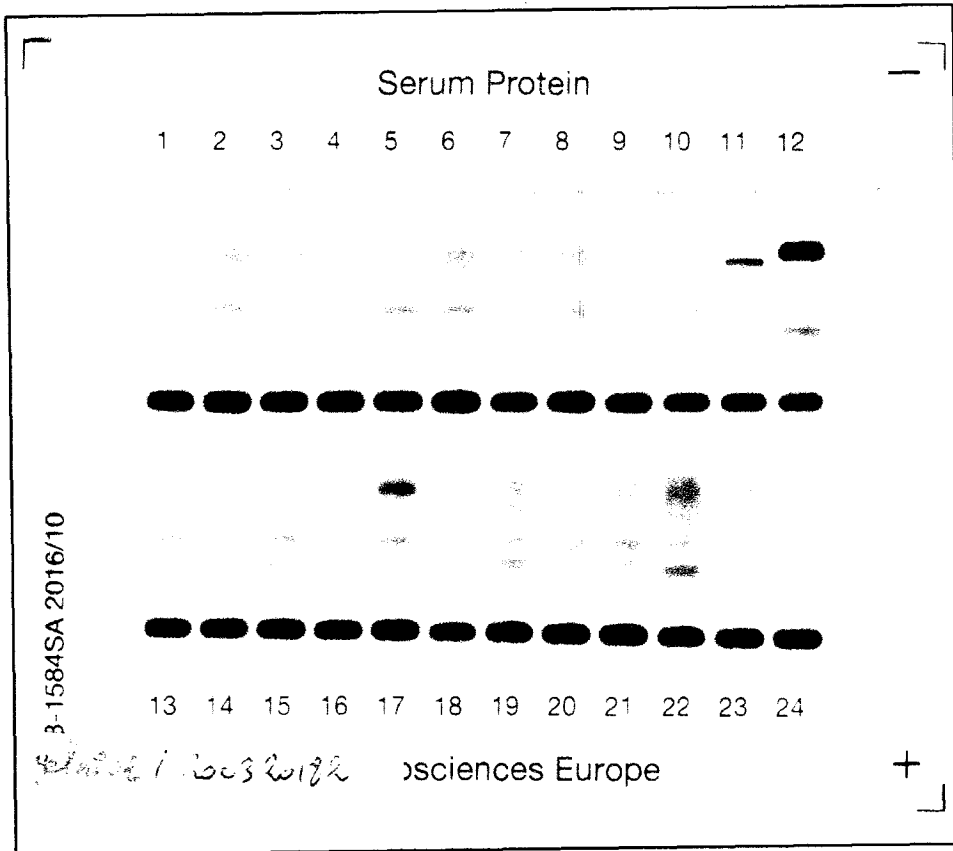
Annexe 11 :

Resultats d'un patient exploré par la méthode B



Annexe 12 :

Electrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose (Méthode B).



Résumé:

Les explorations immunologiques et notamment immunochimiques représentent une part importante dans les pratiques médicales quotidiennes. De ce fait, la maîtrise de leurs aspect pré-analytique, analytique et post-analytique permet de limiter les erreurs pouvant survenir, surtout à la phase pré-analytique où près de 85% y sont observés.

Cette dernière est celle allant de la prescription médicale jusqu' à la conservation des échantillons avant analyse.

Notre travail porte sur 93 échantillons issus de patients explorés au laboratoire d'immunologie de l'unité Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida, sur une période de 03 mois (du 24 Janvier 2018 à 10 Avril 2018). Et qui vise a étudié l'impact de certains paramètres pré analytiques sur les résultats des bilans immunochimiques.

Nos résultats montrent, influence des paramètres étudiés sur la qualité des sérums obtenus, le taux de protide sérique dosé et des résultats de l'électrophorèse des protéines sériques

Mots clé : Phase pré-analytique, Immunochimie, centrifugation.

Abstract:

Immunological explorations including immunochemical represent an important part in everyday medical practice. Thus, the reliability of their pre-analytical aspect, analytical and post-analytical limits the errors that can occur, especially in the pre-analytical phase in which nearly 85% are observed there.

The latter is the one from the prescription until the storage of samples prior to analysis.

Our work focuses on 93 samples from patients investigated in the immunology laboratory of unity Hassiba Ben Bouali University Hospital Blida, over a period of 03 months (from January 24, 2018 to April 10, 2018). And which aims to study the impact of certain pre analytical parameters on the results of immunochemical balance sheets.

Our results show influence of the parameters studied on the quality of the sera obtained, serum Protein-rate measured and the results of the serum protein electrophoresis

Keywords: pre-analytical phase, Immunochemistry, centrifugation.