



817THV-2

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université SAAD DAHLEB -BLIDA-

Faculté des Sciences Agro-vétérinaires et Biologiques.

Institut des Sciences Vétérinaire

PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE

« DOCTEUR VÉTÉRINAIRE »

Thème

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ELECTROPHORESE
DES PROTEINES SERIQUES CHEZ LES OVINS DE LA
RACE HAMRA D'ALGERIE.

Réalisé par

M^{lle}, Lilia BABOUHCE

Jury:

Dr Amel ADEL	(M.A.A) U.S.D. Blida	Présidente.
Dr Nadia OUAKLI	(M.A.A) U.S.D. Blida	Examinatrice.
Dr Samia BETTAHER	(M.A.A) U.S.D. Blida	Promotrice.

Promotion 2013/2014

Résumé

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique d'analyse permettant la séparation de diverses fractions protéiques du sérum et son étude systématique aide le praticien dans sa démarche diagnostique, et un examen complémentaire permettant d'explorer les dysprotéïnémies. Elle permet de diagnostiquer des gammopathies ou de suivre des processus inflammatoires.

Notre travail a mis en évidence la concentration des protéines sériques ainsi que des protéinogrammes obtenus sur gel d'agarose chez l'espèce ovine (race Hamra) en fonction du sexe et du stade physiologique.

Les résultats obtenus sont en conformité avec les données de la littérature tant au niveau des tracés électrophorétiques que des valeurs usuelles calculées. Cependant la petite taille des échantillons impose de compléter ce travail avec de plus grand échantillons afin de confirmer et préciser les valeurs obtenues.

Mots clés

Électrophorèse, Protéine sérique, Gel d'agarose, Ovins.

summary

The serum protein electrophoresis is an interesting further consideration for explore dysproteinemias. It can diagnose gammopathies or follow inflammatory processes.

Our work has highlighted the concentration of serum proteins as well as protéinogrammes obtained on agarose gel in ovine (race Hamra) by sex and physiological state.

The results obtained are in accordance with literature data at both tracks as usual electrophoretic calculated values. However, the small sample size required to complete this work with larger samples to confirm and clarify values.

Keywords

Electrophoresis, Serum protein, Agarose gel, Sheep.

ملخص

إلكترو فرز بروتينات المصل إختبار تكميلي مهم لتشخيص اضطرابات البروتينات (متابعة الإلتهابات)

عملنا أبرز تركيز بروتينات المصل بطريقة هلام الأغروز عند الأغنام .

النتائج التي تحصلنا عليها توافق النتائج المتحصل عليها في المرجع السابقة , لكن العدد القليل من الأغنام يضطرنا لإكمال هذه الدراسة زيادة عدد الأغنام.

الكلمات الدالة: إلكتروفرز, بروتينات المصل, هلام الأغروز, الأغنام.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord le bon Dieu le tout puissant qui m'a donnée le courage et la volonté au cours de mon courus et pour la réalisation de ce mémoire.

Je remercie également ma promotrice Dr BETTAHER Samia, qui m'a guidé tout au long de ce travail. Pour sa disponibilité, sa gentillesse et ses conseils. Sincère reconnaissance.

Je tiens à exprimer mes sincères gratitudes aux honorables membres de jury: Dr ADEL Amel et Dr OUAKLI Nadia, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger mon travail. Sincères remerciements.

A tous les enseignants de l'institut vétérinaire de Blida ainsi qu'aux administrateurs et travailleurs.

Je tiens à remercier le responsable du laboratoire biochimie du centre Pierre et Marie Curie d'Alger Pr A. KHELIF. Pour m'avoir ouvert les portes aussi pour toute l'équipe de travail.

Un grand merci pour Dr F. BABOU.

Un grand merci

Dédicace

A mes parents, qu'aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mes sentiments.

Pour l'amour, l'attention et les sacrifices consentis, pour m'avoir donné tous les moyens pour en arriver là, et Parce que les mots sont trop faible pour exprimer certaine chose, je vous dois tout. Grand merci, longue vie et santé.

A ma chère grand-mère pour avoir toujours dit oui... Tout mon amour et bien plus encore.

A Mes frères : Arezki, Yacine, M'hend et Amayes et ma sœur Amel.

A mon oncle Mahmoud toi qui me manque vraiment trop.

A mes ami (e)s : Ines, Nihad, Amina, Karima, Neuza, Yasmine, Anou, Djoudjou, Tidal, Soumia, Sousou, Nassima, Hassiba, Batoul, Samira, Doudou, Fadou, Nawel, cilia, Salim, Tarik.

A tous mes cousins et cousines, spécialement à NANA Fatiha merci pour tout.

A mouloud pour ton soutien de chaque instant, ta patience sans limite à notre vie qui va enfin pouvoir commencer A toute sa famille et surtout Zahia.

De plus profond de moi-même je le dédie à mes camarades de la promotion « 2013-2014 ».

Au Monde Entier Pour une vie de paix ...

Lilia.

TABLES DES MATIERES

Liste des tableaux.....	
Liste des figures.....	
Liste des photos.....	
Liste des abréviations.....	
Résumé.....	
Introduction.....	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Les protéines plasmatiques.

I.1. Généralités	3
I.2. Lieu de synthèse	3
I.3. Rôle des protéines	4
I.4. Facteurs influençant la concentration des protéines plasmatiques.....	4
II. Variation de la protidémie	4
II.1. Les valeurs usuelles	4
II.2. Modifications physiologiques	5
II.2.1.Age	5
II.2.2. Sexe et influence hormonale	5
II.2.3. Gestation et lactation	5
II.2.4. Influences nutritionnelles	5
II.2.5. Stress et perte de fluides	6
II.3. Variations pathologiques	6

II.3.1. Hypoprotéinémie.....	6
II.3.2. Hyperprotéinémie	6
III. Méthodes de mesures de la protidémie	6
III.1.Réaction du BIURET	6
III.2.Réfractométrie.....	7

Chapitre II : L'électrophorèse des protéines sériques.

IV. L'électrophorèse des protéines sériques	8
IV.1. Historique de l'électrophorèse des protéines sériques	8
IV.2. Principe de l'électrophorèse des protéines sériques.....	8
IV.3. Les différents types d'électrophorèses	10
IV.4. Indications de l'électrophorèse des protéines sériques	10
IV.5. Les fractions électrophorétiques	11
A. Albumine	11
A.1.Métabolisme et catabolisme	11
A.2. Propriétés et fonctions	12
B. Globulines.....	12
B. 1. α -globulines.....	12
B.1.a. Métabolisme des α -globulines	12
B.1.b. Propriétés et fonctions des α -globulines	12
α 1-globulines	12
α 2-globulines	13
B.2. β -globulines.....	13
B.2.a. Métabolisme des β -globulines.....	13
B.2.b. Propriétés et fonctions des β -globulines.....	13
B. 3. γ -globulines.....	14
B.3.a. Métabolisme des γ -globulines	14
B.3.b. Propriétés et fonctions des γ -globulines	14

IV.6. Différents artefacts pouvant intervenir lors de la réalisation d'une électrophorèse	15
1. Influence de l'hémolyse	15
2. Influence de la prise du repas	15
3. Influence de l'état physiologique de l'animal	16
4. Influence du fibrinogène	16
5. Influence des corticoïdes	16
6. Influence de la bilirubinémie	17
IV.7. Interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques	17
1. Rapport albumine/globulines normal.....	18
2. Rapport albumine/globulines bas	19
3. Rapport albumine/globulines élevé	20

La partie expérimentale :

I Introduction	21
1. Objectif de l'étude	21
2. Lieu et période de l'étude	21
II matériel et méthode.....	21
II-1 matériels.....	21
II-2 Méthodes	24
II-2-1 Préparation des animaux	24
II-2-2 Les Prélèvements	24
II-2-3 Dosage de la Protidémie	25
II-2-4 réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques	25
III Résultats.....	31
IV. DISCUSSION.....	39
Conclusion.....	43
Bibliographie	
Annexe.....	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines normal.....	18
Tableau 2: Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines bas.....	19
Tableau 3: Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines augmenté.....	20
Tableau 4 : Taux de protidémie chez les brebis du lot A (n=4) et les males du lot D (n=4).....	31
Tableau 5 : Taux de protidémie chez les brebis en gestation lot B (n=4) et des brebis en lactations du lot C(n=4).....	32
Tableau 6: Résultats de différente fraction électrophorétique des brebis et de mâles.....	33
Tableau 7: Résultats des différentes fractions électrophorétique des brebis gestantes et des brebis en lactation.....	34
Tableau 8 : Comparaison de la concentration des fractions électrophorétiques des brebis et des mâles aux valeurs de référence.....	40

Liste des figures

Figure 1 : Profil électrophorétique d'une brebis saine adulte.....	10
Figure 2 : protéinogramme des brebis vides « lot A ».....	35
Figure 3: protéinogramme des brebis gestantes « lot B ».....	36
Figure 4: protéinogramme des brebis en lactations « lot C ».....	37
Figure 5: protéinogramme des mâles « lot D ».....	38
Figure 6 : Tracé électrophorétique antérieur normal chez l'espèce ovine.....	41
Figure 7 : Tracé électrophorétique normal chez l'espèce ovine.....	41

Liste des photos :

Photo 1: Lot de brebis vides.....	21
Photo 2: Lot de brebis en lactation.....	21
Photo 3: Lot des brebis gestantes.....	22
Photo 4: Lot des males.....	22
Photo 5: Tubes secs.....	22
Photo 6: Portoirs.....	22
Photo 7:Automate HITACHI Roche.....	23
Photo 8: Automate Helena SAS1 SAS2.....	23
Photo 9: Gel de migration.....	24
Photo 10: Prélèvement veineux	24
Photo 11:Centrifugeuse.....	24
Photo 12: Plaque à sérum.....	25
Photo 13 : Pipete.....	25
Photo 14: Plaque à sérum dans le SAS1.....	26
Photo 15: Gel d'agarose sur la chambre.....	26
Photo 16: Deux électrodes positionnés sur le gel d'agarose.....	26
Photo 17 : Déposer le couvercle.....	27
Photo 18: Dépôt d'applicateurs.....	27
Photo 19: Mise en marche de SAS 1.....	27
Photo 20: Elimination de l'excès de gel d'agarose.....	28
Photo 21: Introducion de la plaque dans la chambre a coloration.....	28

Photo 22: Mise ne place de la chambre dans le SAS 2.....	29
Photo 23: SAS 2 relié aux différents récipients de réactif.....	29
Photo 24: Plaque prête à être lu.....	30
Photo25: Mise en place de la plaque sur le scanner.....	30
Photo 26 : Impression des résultats.....	30

LISTE DES ABREVIATIONS

C° : Degré Celsius

μ g : microgramme

h: heure

mg: milligramme

min: minute

ml: millilitre

mm: millimètre

Kg : Kilogramme

g/l : gramme par litre

% : pour cent

Cu : cuivre

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

LCR : liquide céphalorachidien

Alb: albumine

Alpha =α globuline= alphaglobuline

Beta= β globuline =betaglobuline

Gamma : γ globuline =gammaglobuline

B : brebis

M : Mouton

Introduction

Parmi les grandes familles de molécules essentielles au vivant, on trouve les protéines. Elles sont un assemblage d'acides aminés. Pouvant être simples ou conjuguées à d'autres éléments tels des métaux, des glucides ou des lipides. Elles forment la base des structures cellulaires, tissulaires et organiques. Elles maintiennent la pression osmotique, assurant ainsi les échanges hydriques. Elles sont des catalyseurs (enzymes) pour les réactions biochimiques. Elles jouent le rôle de tampon acido-basique. Elles sont des régulateurs (hormones). Elles assurent la défense du corps (anticorps) et la coagulation sanguine. Elles sont nutritives, transporteurs d'éléments. Les fonctions des protéines sont donc nombreuses et essentielles au vivant. On trouve un grand nombre de ces protéines dans le sérum. Chez l'animal sain, les concentrations de ces protéines sériques sont constantes dans un intervalle normé. Lors d'état pathologique, on peut observer des variations de ces concentrations.(1)

L'étude et le dosage des protéines sériques sont donc importants pour la surveillance de l'état de santé. Mais du fait de leur multitude, le fractionnement des protéines sériques est indispensable pour interpréter toute anomalie mesurée. Il existe différentes techniques de séparation des protéines. On peut citer par exemple la turbidimétrie qui se base sur les différentes solubilités des protéines dans des solutions salines.

La méthode communément utilisée en clinique aujourd'hui est l'électrophorèse de zone. L'intérêt de cette méthode est de séparer les protéines en différents groupes en fonction de leur charge, de leur masse moléculaire et de leur structure tridimensionnelle (1).

L'électrophorèse de zone peut être réalisée sur différents supports : l'acétate de cellulose, le gel d'agarose ou les gels de polyacrylamide. Les gels de polyacrylamide proposent la meilleure résolution. Vient ensuite le gel d'agarose puis l'acétate de cellulose. Le gel d'agarose présente un coût et une toxicité moindre comparativement aux gels de polyacrylamide (neurotoxicité par ingestion ou contact sur la peau) (2). Le gel d'agarose est donc plus couramment utilisé en analyses cliniques.

INTRODUCTION

L'électrophorèse des protéines sériques est largement utilisée en médecine humaine ainsi qu'en médecine vétérinaire, facilitant le diagnostic de nombreuses maladies.

En Algérie, la médecine vétérinaire repose essentiellement sur la clinique. L'électrophorèse des protéines sériques comme outil de diagnostic est quasi inexistant, dans le domaine de la recherche peu de travaux sont consacrés à l'étude du protéinogramme.

Cependant, l'électrophorèse des protéines comme outil de diagnostic pourrait contribuer à une meilleure maîtrise et connaissance des pathologies ovines.

En effet, dans notre pays cette espèce représente la plus grande ressource animale du pays. Son effectif varie entre 17 et 18,5 millions de têtes dont près des 2/3 sont des femelles (O.N.S, 2004) Ainsi, de par son importance, cet animal joue un rôle prépondérant dans l'économie et participe activement à la production des viandes rouges. 75 % du cheptel ovin se trouvent concentrer dans la steppe et sont conduits en système extensif.

Le but de notre travail, est de contribuer à l'étude de l'électrophorèse des protéines sériques et une meilleure connaissance de l'électrophorèse des protéines sériques chez l'espèce ovine afin de généraliser son utilisation comme outil de diagnostic. Pour cela, dans un premier temps, une étude bibliographique a permis une meilleure connaissance de l'électrophorèse des protéines puis dans un second temps, une étude expérimentale a concrétisé notre travail par l'apport de données chiffrées.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

I. Les protéines plasmatiques :

I.1. Généralités :

Les protéines plasmatiques sont très nombreuses, plusieurs milliers ont été identifiées dont plus de deux cent ont été décrites et quantifiées chez l'homme et l'animal.

Lors de maladies ou lors de réaction de défense de l'organisme, beaucoup d'entre elles sont susceptibles de subir des modifications plus au moins marquées alors que d'autres peuvent ne subir aucune variation quantitative. (3)

Les protéines représentent la plus grande partie des matières solides du plasma. En dehors du fibrinogène, protéine fibreuse, ce sont toutes des protéines globulaires. Seule la sérum-albumine est une holoprotéine, toutes les autres étant des hétéroprotéines pouvant contenir des lipides (lipoprotéines), des métaux (métalloprotéines) et surtout des glucides (glycoprotéines), la plupart des protéines plasmatiques sont en effet des glycoprotéines.

Leurs propriétés sont très variables: transporteurs, anticorps, enzymes, agents de pression oncotique, marqueurs de l'inflammation, marqueurs tumoraux, Agents de la coagulation, facteurs de croissance... Mais il faudra différencier les protéines toujours présentes dans le plasma, éléments constitutifs de celui-ci et celles, d'origine cellulaire, n'y apparaissant que transitoirement. (4)

I.2. Lieu de synthèse :

La majorité des protéines plasmatiques sont synthétisées et sécrétées par les hépatocytes (3), le système immunitaire y participe aussi en particulier les plasmocytes présentes dans le tissu lymphoïde et la moelle osseuse, les cellules qui fabriquent les anticorps sont les plasmocytes et les lymphocytes, tous issus des lymphocytes B et pouvant se développer à partir d'une seule cellule souche (3,4)

Les protéines structurelles, fonctionnelles et enzymatiques qui sont synthétisées dans tous les organes de l'organisme sont présentes dans le plasma en quantité faible, résultant principalement du renouvellement cellulaire (2). Ainsi Les protéines peuvent êtres synthétisées par néoglucogénèse(3).

I.3. Rôle des protéines :

Les fonctions des protéines dans l'organisme sont très nombreuses, allant de la participation à l'architecture de base de toutes les cellules au rôle de catalyseur, et de transport en particulier l'albumine ainsi que le maintien de la pression oncotique, intervient également dans le processus de coagulation, et la défense de l'organisme... (2),

Leurs propriétés sont très variables: transporteurs, anticorps, enzymes, agents de pression oncotique, marqueurs de l'inflammation, marqueurs tumoraux, agents de la coagulation, facteurs de croissance...(4) les protéines de la réaction inflammatoire sont un ensemble des glycoprotéines qui répondent à la définition retenue par la société française de biologie clinique : « les protéines de l'inflammation sont des protéines dont le taux de production hépatique est supérieur au taux de catabolisme , au cours d'une réaction inflammatoire , quelque soit la cause de cette dernière.(3)

I.4. Facteurs influençant la concentration des protéines plasmatiques :

Les variations physiologiques de la protidémie sont liées à l'âge et le stade physiologique qui constituent d'importants facteurs des variations. Aussi en fonction de l'équilibre hormonal et hydrique, de l'état nutritionnel et autres facteurs affectant l'état de santé. Et varie également selon l'espace, la taille et enfin, divers états pathologiques peuvent être la cause de modification plus au moins importantes de la protidémie en affectant une ou plusieurs fractions protéiques voire toutes. (3)

II. variation de la protidémie :

II.1. Les valeurs usuelles

Lorsque l'on parle de valeurs usuelles, on sous entend les valeurs rencontrées chez des adulte sains, cela ne veut pas dire pour autant que la protidémie d'un individu adulte sain ne puisse pas être en dehors de l'intervalle de référence. Qu'est calculé de sorte que 95% des valeurs des individus soient dans l'intervalle de référence.les intervalles de littérature varient légèrement en fonction des auteurs.

La concentration moyenne de la protidémie mesurée à partir du sérum est légèrement inférieure a celle mesurée à partir du plasma cela étant du à la consommation du fibrinogène lors de coagulation (59)

II.2. Modifications physiologiques :

Les anomalies de la protidémie et du profil protéique doivent être interpréter à la lumière des nombreux facteurs pouvant les influencer sans être associées à une pathologie.

II.2.1. Age :

Lors du développement de la naissance à l'âge d'un an, une augmentation progressive de l'albumine, des globulines et des protéines totales sont constatés. (5, 6,7, 8).

II.2.2. Sexe et influence hormonale :

Les hormones ont des effets de deux types sur les protéines plasmatiques : anaboliques ou cataboliques. La testostérone, les œstrogènes et l'hormone de croissance ont un effet anabolisant alors que la thyroxine diminue la concentration en protéines totales. Les glucocorticoïdes ont un effet peu marqué et agissent essentiellement sur les γ -globulines. De manière générale, les influences hormonales et par conséquent celle du sexe, sont faibles et négligeable en pratique sur la protidémie, contrairement à leurs effets potentiellement marqué sur la composition du corps et le gain de poids (9).

II.2.3. Gestation et lactation :

Au cours de la gestation, l'albumine diminue alors que les globulines augmentent. A l'approche du dernier mois de gestation, dès que le colostrum se forme, les immunoglobulines quittent rapidement le plasma pour être concentrer dans la glande mammaire. Au cours de la lactation, des changements similaires à la gestation se produisent (9).

II.2.4. Influences nutritionnelles :

Les protéines plasmatiques sont soumises à des influences nutritionnelles mais les changements sont en général subtils et difficiles à interpréter. Les besoins alimentaire en protéines varient avec l'âge et le statut physiologique (9).

II.2.5. Stress et perte de fluides :

Un stress thermique, que ce soit un état de fièvre ou d'hyperthermie, s'accompagne de pertes azotées et augmente l'activité adrénargique et le renouvellement protéique. Ces stress entraînent une baisse des protéines plasmatiques, de l'albumine mais souvent une hausse des α_2 -globulines. On retrouve ce cas dans de nombreux cas de stress tels que chirurgies majeures ou accidents.

Une déshydratation conduit à une hémococoncentration par réduction du volume plasmatique sans perte de protéines et donc entraîne une hyperprotéinémie. Inversement, un afflux d'eau interstitielle vers le compartiment plasmatique induit une hypoprotéinémie aiguë (9).

II.3. Variations pathologiques :

II.3.1. Hypoprotéinémie:

L'hypoprotéinémie peut être le résultat de divers états pathologiques résultant de deux causes principales : troubles de perte de protéines qui englobent (les hémorragies, néphropathies avec fuite de protéines et les entéropathies exsudatives, voire de possible dermatopathies exsudatives, rarement rapportées,...), et les troubles causant une diminution de la synthèse de protéines. On peut rajouter aussi l'hémodilution que l'on rencontre essentiellement lors de mise en œuvre d'une thérapeutique liquidienne. (10)

II.3.2. Hyperprotéinémie:

L'hyperprotéinémie peut résulter soit de l'augmentation de la concentration de toutes les protéines plasmatiques, soit de l'accroissement de globuline seule. Une hyperprotéinémie peut être causée par une hémococoncentration, une stimulation antigénique prolongée lors d'une infection chronique, un désordre inflammatoire ou syndrome néoplasique des lymphocytes B (11).

III. Méthodes de mesures de la protidémie :

III.1. Réaction du BIURET :

Cette réaction est depuis longtemps la méthode de référence de dosage des protéines totales, même si son exactitude est faible (12) est basée sur la formation d'un complexe entre des ions cuivre Cu^{2+} et les liaisons peptidiques. Un complexe se forme (12, 13, 14). Ce

complexe apparait bleu- violet, sa formation peut ainsi être quantifiée par spectrophotomètre (15) cette méthode est très sensible pour des mesures sur sérum contenant 10 à 100 grammes de protéines par litre (12), mais le sérum ne doit pas être hémolysé car la mesure serait faussée par excès à cause de l'hémoglobine (15).

III.2. Réfractométrie :

L'indice de réfraction d'une solution de protéine est fonction de sa concentration en substance dissoutes dans un fluide. Pour un milieu biologique de forte concentration en protéines comme le sérum, l'indice de réfraction dépend essentiellement de la concentration en protéines (13). La réfractométrie est une technique rapide et suffisamment précise et exacte de dosage de la protidémie en pratique vétérinaire (16,17). Des études on montrés que cette méthode pour le dosage des protéines sériques totales donnait des résultats corrélés avec la méthode de Biuret(15).

CHAPITRE II

IV. L'électrophorèse des protéines sériques :

IV.1. Historique de l'électrophorèse des protéines sériques :

En 1859, l'allemand Georg Hermann QUINCKE (1834-1924) découvre qu'il est possible de déplacer des particules colloïdales (sous forme de colle gélatineuse) sous l'action d'un champ électrique : ce phénomène est appelé cataphorèse.

Par la suite, Hermann Von HELMHOLTZ (1821-1894) développe l'électro-osmose : sous un champ électrique, il observe que des particules chargées se déplacent vers le pôle de signe opposé à leur charge.

En 1892, S.E. LINDER et H. PICTON imaginent, eux, d'exploiter cette observation pour la séparation de particules chargées.

En 1937, c'est le Suédois Arne Wilhelm Kaurin TISELIUS (1902-1971) qui met en œuvre cette technique de séparation pour les protéines du sérum sanguin et du lait, ce qui lui vaudra le prix Nobel en 1948 (18). Sa méthode de fractionnement en phase liquide est alors trop onéreuse en matériel et en personnel pour la pratique courante. Il la perfectionne et, en 1950, il met au point l'électrophorèse sur papier, plus simple et permettant une utilisation plus large (19).

Depuis cette technique n'a cessé d'être améliorée grâce à de nouveaux supports et de nouvelles techniques de réalisation. Elle est devenue un outil indispensable dans de nombreux laboratoires, tant au niveau de la recherche et de l'industrie que des sciences médicales au sens large. En médecine vétérinaire, elle est utilisée dans des domaines aussi variés que la médecine interne, la cancérologie, la néphrologie, la parasitologie ou la gastro-entérologie.

De nombreuses affections entraînent des modifications qualitatives et quantitatives des protéines sériques. Les résultats de l'électrophorèse des protéines sériques constituent donc une aide dans la démarche diagnostique du praticien. Le sérum est ainsi le liquide biologique le plus étudié par cette approche (20).

IV.2. Principe de l'électrophorèse des protéines sériques :

L'électrophorèse est une méthode classique de séparation de protéines, d'ADN ou d'ARN.

Ces molécules sont soumises à un champ électrique dans une phase liquide. Leur séparation repose sur leurs différences de charge, de taille et de structure (21). La direction et

la vitesse de migration des particules sont régies par la charge (négative ou positive), la taille et la structure de la protéine, l'intensité du champ électrique et la nature du support.

À pH basique, la majorité des protéines sont chargées négativement (groupement COO⁻). Elles migrent de la cathode vers l'anode et vont se séparer en fractions selon leur taille (plus ou moins importante) et leur structure respective (globulaire ou non) (22).

L'albumine porte une importante charge négative : c'est elle qui migre le plus loin. Les autres protéines forment le groupe des globulines. Les globulines forment un groupe hétérogène de protéines portant une charge négative plus faible : elles migrent moins vite que l'albumine et se séparent généralement en trois bandes différentes (α -globulines, β -globulines, γ -globulines). Les α -globulines migrent le plus loin tandis que les γ -globulines restent proches de la ligne de dépôt. Chez un individu sain, chaque fraction globulinique se subdivise encore en sous-fractions dont le nombre varie selon l'espèce et la technique électrophorétique utilisée (23).

Après la migration, les protéines sont colorées (rouge ponceau, bleu de coomassie ou noir amido en général). Une analyse densitométrique de la coloration permet d'exprimer le résultat sous la forme d'une courbe. Ce tracé est dénommé électrophorégramme ou protéinogramme. Chaque fraction est repérée sur la courbe par la présence d'un pic. L'intégration des aires sous la courbe pour chaque pic définit les quantités relatives des protéines ou groupe de protéines. Ces quantités sont exprimées en pourcentage du total. En couplant une mesure des protéines totales à ces quantités relatives, on obtient la concentration de chaque protéine ou groupe de protéines (24). L'aspect de l'électrophorégramme peut déjà apporter de nombreuses informations et être évocateur de certaines affections.

L'électrophorèse peut être utilisée pour tous les liquides biologiques contenant des protéines : sérum, urines, LCR, larmes, fèces, liquide d'épanchement (25). Pour réaliser une électrophorèse des protéines contenues dans les urines ou dans le liquide céphalorachidien, les techniques mises en œuvre seront sensiblement différentes (26).

De nombreuses affections entraînent des modifications qualitatives et quantitatives des protéines sériques. Les résultats de l'électrophorèse des protéines sériques constituent donc une aide dans la démarche diagnostique du praticien. Le sérum est ainsi le liquide biologique le plus étudié par cette approche.

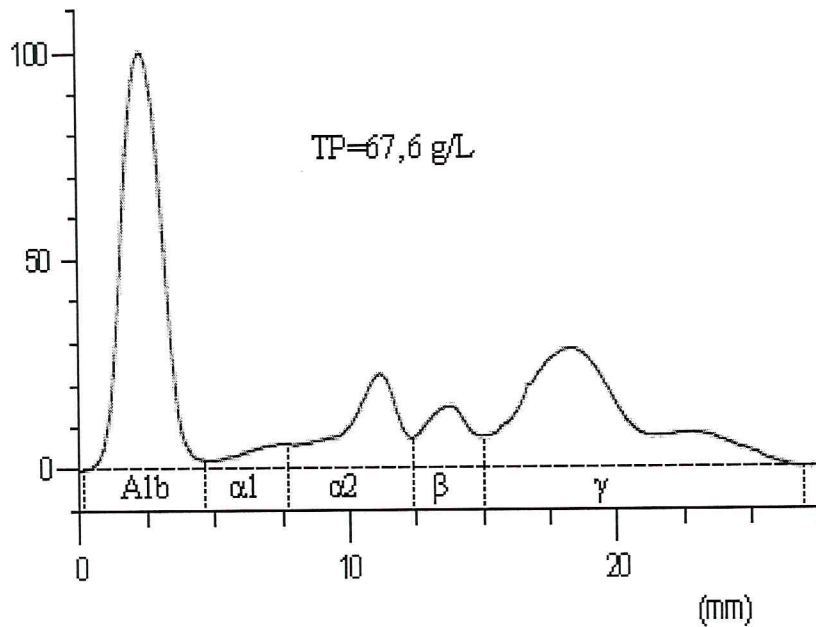


Figure 1 : Profil électrophorétique d'une brebis saine adulte (27)

IV.3. Différents types d'électrophorèses :

Il existe de nombreux types parmi lesquels :

- l'électrophorèse libre ou en veine liquide (le déplacement se réalise en milieu liquide),
- l'électrophorèse de zone sur support (le déplacement se réalise sur un support stabilisateur), pour laquelle il existe de nombreux types de supports : papier filtre, acétate de cellulose, gel d'agar, gel d'amidon, gel de polyacrylamide... (20),
- l'électrophorèse haute résolution, permettant la séparation des protéines d'une même zone électrophorétique en bandes individuelles (28),
- l'électrophorèse bidimensionnelle,
- l'immunoélectrophorèse, fondée sur les propriétés antigéniques des protéines.

Dans la suite de ce travail, nous ne traiterons que de l'électrophorèse sur gel d'agarose.(20)

IV.4. Indications de l'électrophorèse des protéines sériques :

L'électrophorèse des protéines sériques est un outil de qualité pour le praticien et un examen de coût modéré pour le propriétaire. Si elle n'est pas à mettre en œuvre en première intention, elle est toutefois extrêmement utile dans le diagnostic, le pronostic et le suivi de nombreuses affections (29).

Cependant, elle reste peu utilisée en pratique courante du fait de la méconnaissance des techniques d'interprétation et de son allure rébarbative : un tracé étrange, des symboles grecs et de nombreux pourcentages.

Cela étant, l'électrophorèse des protéines sériques est indiquée :

- ✓ lors du diagnostic d'une affection susceptible de modifier la répartition des protéines sériques,
- ✓ lorsque l'on constate une modification de la protidémie (augmentation ou diminution), afin d'apprécier les fractions affectées (30)
- ✓ lors de la réalisation d'un bilan hépatique complet, et lors de la réalisation d'un bilan gériatrique complet (31)
- ✓ lors de troubles infectieux d'évolution inhabituelle, et dans tous les cas où le praticien se trouve face à un animal dont l'état général est altéré sans connaître précisément la cause de cette altération (25).

IV.5. Les fractions électrophorétiques :

Les protéines plasmatiques sont classées en fonction de leur vitesse de migration électrophorétique dont l'albumine est la plus rapide (32), en effet, les protéines sériques sont subdivisées en deux grandes catégories (33). L'albumine qu'est la plus abondante des protéines totales chez les animaux et l'autre catégorie qui constituée les globulines que l'on peut séparer en trois groupes (4,34).

- ❖ les α -globulines
- ❖ les β -globulines
- ❖ les γ -globulines

A. Albumine ;

L'albumine est la plus abondante des protéines plasmatiques. Elle représente 35 à 50 % des protéines du sérum (35). C'est une protéine de grande taille, osmotiquement active, d'un poids approximatif de 69 000 daltons (36).

A.1.Métabolisme et catabolisme

L'albumine est synthétisée au niveau du foie (37) par 10 à 35 % des hépatocytes, à partir des protéines alimentaires ingérées par l'animal.

65 à 90 % des hépatocytes sont donc « en attente » et permettent à l'organisme de compenser rapidement une importante perte en faisant produire de l'albumine à ces hépatocytes de réserve (38). Cette synthèse hépatique est sous la régulation de l'interleukine 1 (IL-1) et d'autres cytokines (35).

Le catabolisme de l'albumine est réalisé par les organes à haute activité métabolique : rein, foie, rate, ganglions, muscles (39).

A.2. Propriétés et fonctions :

L'albumine, du fait de sa grande taille et de son abondance, joue un rôle très important dans la régulation et le maintien de la pression oncotique sanguine (35) : près de 75 % de la pression oncotique est sous la régulation de l'albumine. Ainsi, toute baisse de sa concentration expose l'individu à des risques d'hypotension, d'œdèmes ou d'épanchements (36).

L'autre grande fonction de l'albumine est le transport, via la liaison à de nombreuses autres molécules dont elle se charge : (les acides gras libres, les acides biliaires, la bilirubine non conjuguée, les porphyrines, de nombreux médicaments comme la pénicilline, l'aspirine, les barbituriques, l'histamine, certains ions : calcium, magnésium , zinc (24,35).

L'albumine permet le transport dans le plasma aqueux de certaines molécules liposolubles. Elle est donc indispensable à un grand nombre de mouvements de molécules au sein de l'organisme. De plus, en se liant à certains constituants, l'albumine évite leur fuite rénale (22).

B. Globulines

B. 1. α -globulines :

Les protéines les plus importantes des α -globulines se retrouvent majoritairement au sein des α_2 -globulines avec notamment :

- ❖ des protéines de l'inflammation : (α_2 -macroglobuline, haptoglobine, céruloplasmine).
- ❖ des lipoprotéines : High Density Lipoprotein (HDL) (30).

B.1.a. Métabolisme des α -globulines :

Les α -globulines sont synthétisées au niveau du foie (30).

B.1.b. Propriétés et fonctions des α -globulines :

α_1 -globulines :

Les α_1 -globulines ont des rôles spécifiques selon les protéines qui les composent. Ainsi

- ❖ l' α_1 -lipoprotéine a un rôle de transporteur des lipides, en particulier du cholestérol, sous la forme de High Density Lipoprotein (HDL) (24),

- ❖ l' α 1-antitrypsine et l' α 1-antichymotrypsine ont pour fonction d'inactiver les protéases, dont la trypsine et la chymotrypsine, et possèdent donc une action anti-inflammatoire (74).
- ❖ l'acide α 1-glycoprotéine a un rôle d'immunrégulation encore peu connu (11).
- ❖ la globuline liant la thyroxine a, comme son nom l'indique, la fonction de se lier à la thyroxine et de la transporter.
 - ❖ l' α 1-antithrombine III a pour fonction d'inhiber la thrombine (22) : on peut doser spécifiquement l'antithrombine III lors de l'exploration de l'hémostase.

α 2-globulines :

Les α 2-globulines se composent de plusieurs protéines aux fonctions très différentes :

- ❖ l' α 2-macroglobuline inactive les protéases et possède donc un rôle anti-inflammatoire (74). De plus, elle se lie à l'insuline et en permet le transport (22).
- ❖ l'haptoglobine se lie à l'hémoglobine libre et permet ainsi son transport (24) .
- ❖ la transcortine qui se lie au cortisol (41),
- ❖ la céruloplasmine permet le transport du cuivre,
- ❖ l' α 2-lipoprotéine a un rôle de transporteur des lipides et en particulier des Very Low Density Lipoprotein (VLDL) (22).

B.2. β -globulines

Les β -globulines regroupent des protéines nombreuses et variées dont les plus importantes sont :

- ❖ Des protéines de l'inflammation : protéine C réactive, complément, •des immunoglobulines: IgA, IgM,
- ❖ Des lipoprotéines : Very Low Density Lipoprotein, Low Density Lipoprotein (LDL).

2. a . Métabolisme des β -globulines

Les β -globulines sont majoritairement synthétisées au niveau du foie. Les cellules plasmocytaires participent également à cette synthèse (30).

2.b. Propriétés et fonctions des β -globulines

Les protéines les plus importantes dans la sous-fraction des β 1-globulines sont :

- ❖ la transferrine : Elle a pour fonction de se lier au fer et d'en permettre le transport vers la moelle érythropoïétique (24).

- ❖ La ferritine participe elle aussi au transport du fer (22).
- ❖ L'hémopexine est une autre protéine retrouvée dans la sous-fraction des β 1-globulines, Cette protéine, qui joue un rôle dans le transport de l'hématine (produit de dégradation de l'hème), est dosée parallèlement à l'haptoglobine pour caractériser des hémolyses.

La sous-fraction des β 2-globulines comporte plusieurs protéines d'importance dont :

- ❖ la β -lipoprotéine, aussi appelé LDL, ayant pour fonction le transport des lipides dont le cholestérol (24).
- ❖ la protéine C3 du complément permettant l'initiation de l'inflammation,
- ❖ les immunoglobulines M (sécrétées par les plasmocytes lors d'un premier contact avec un antigène) et A (retrouvées dans diverses sécrétions biologiques, elles empêchent les agents pathogènes de se fixer aux cellules, plus spécifiquement aux cellules de recouvrement des muqueuses et de l'épiderme) (24),
- ❖ le fibrinogène qui, en tant que précurseur de la fibrine, joue un rôle important dans la coagulation.
- ❖ la protéine C réactive (voir supra) dont le rôle est d'activer le complément et qui est très utilisée en médecine humaine, car considérée comme la protéine permettant le mieux de diagnostiquer l'inflammation aiguë (22).

B. 3. γ -globulines

Avec des protéines d'un poids de 156 000 daltons en moyenne (36), la fraction des γ -globulines regroupe différentes immunoglobulines dont les plus importantes sont les immunoglobulines M, A, E et G (30).

3. a. Métabolisme des γ -globulines

Les γ -globulines sont synthétisées au niveau des cellules plasmiques et des lymphocytes B dans les tissus lymphoïdes, en réponse à une stimulation antigénique (41).

3. b. Propriétés et fonctions des γ -globulines

La fraction γ des globulines comporte plusieurs protéines d'importance :

- ❖ les immunoglobulines G, dont la fonction est de se lier à ses antigènes spécifiques (74) en réponse à des toxines ou des agents infectieux (12). Elles fixent - pour certaines - le complément et participent à la réponse mémoire,

- ❖ les immunoglobulines A,
- ❖ les immunoglobulines E, dont la fonction est essentielle au cours des phénomènes allergiques ou de parasitisme digestif (22).

IV.6. Les différents artefacts pouvant intervenir lors de la réalisation d'une électrophorèse :

1. Influence de l'hémolyse :

Une mauvaise technique de prélèvement ou la mauvaise conservation de l'échantillon sanguin destiné à l'électrophorèse des protéines peut conduire à une hémolyse de ce prélèvement. L'hémolyse est la destruction du globule rouge, permettant ainsi la libération d'hémoglobine libre dans le plasma à analyser.

Différentes études ont montré que l'hémoglobine migre avec les β -globulines (42 ; 43). De plus, la libération d'hémoglobine libre dans le plasma entraîne la formation de complexes haptoglobine-hémoglobine. Ceux-ci vont migrer avec les α_2 -globulines (42).

Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur un sérum hémolysé, il faudra :

- sous-estimer les α_2 -globulines,
- sous-estimer les β -globulines.

2. Influence de la prise du repas :

Quel que soit le type d'analyse auquel le prélèvement sanguin est destiné, il est classiquement recommandé de le réaliser sur un animal à jeun. (44) L'influence directe et assez souvent significative de la prise d'un repas sur les tests biologiques a été démontrée chez l'homme.(45)

L'absorption digestive a des conséquences gênantes pour les analyses car elle entraîne une augmentation plus ou moins durable et intense de la concentration de certains analytes sanguins, par exemple le glucose, l'urée, les lipides (46)

Lorsque l'animal n'est pas à jeun, il existe un risque d'obtenir un sérum lipémique. Les lipides produisent un pic au sein de la fraction des α_2 -globulines. Cela peut entraîner des erreurs d'interprétation, la présence d'un pic en α_2 étant retrouvée lors

d'états inflammatoires (43). Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur du sérum lipémique, il faudra donc sous-estimer les α_2 - globulines.

Les conditions de prélèvement ne permettent pas systématiquement d'éviter le stress des animaux, surtout lorsqu'il s'agit d'espèces « émotives » comme le chat ou le lapin, ou bien d'espèces de laboratoire pour lesquelles la contention est parfois délicate.(47)

3. Influence de l'état physiologique de l'animal :

Une étude portant sur l'influence de la gestation et la lactation sur les paramètres de l'hémogramme et biochimiques a montré des variations significatives. (48)

Il faut cependant garder à l'esprit que les autres facteurs de variation (âge, conditions d'entretien, etc.) représentent des sources de variations notables des valeurs obtenues.

4. Influence du fibrinogène :

L'électrophorèse des protéines sériques est réalisée sur du sérum et non sur du plasma. Le sérum ne diffère du plasma que par l'absence de fibrinogène, la présence de thrombine et de fibrinoglobuline (49). S'il n'est pas possible d'avoir du sérum, l'électrophorèse des protéines peut être réalisée sur du plasma. Cependant, il faut rappeler que le fibrinogène est une des protéines dont la concentration augmente dans les états inflammatoires (30) , et que sa présence provoque des interférences sur le tracé électrophorétique (33).

Le fibrinogène migre entre les fractions β - et γ -globulines. Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur du plasma, il faudra donc sous-estimer les β -globulines (43).

5. Influence des corticoïdes :

Le praticien peut réaliser une électrophorèse des protéines sériques sur un animal ayant déjà reçu des traitements médicamenteux. Mais dans ce cas et parmi ceux-ci, la corticothérapie est à prendre particulièrement en compte. En effet, elle va modifier sensiblement les résultats de l'électrophorèse.

La corticothérapie induit une augmentation de la concentration sanguine en haptoglobine. Ainsi les corticoïdes provoquent une augmentation des globulines de la fraction α_2 . Lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisées sur le sérum

d'un animal ayant été traité par des corticoïdes dans les 15 jours précédents, il faudra donc sous-estimer les α 2-globulines (50).

6. Influence de la bilirubinémie :

La bilirubine peut être retrouvée de manière anormalement élevée dans le sang surtout lors d'ictère, de pathologie hépatique, de malformation des voies biliaires ou de troubles excrétoires biliaires. L'augmentation de la concentration en bilirubinémie modifie les résultats de l'électrophorèse

La bilirubine interfère avec l'albumine, les α -globulines et les β 2-globulines. Elle provoque une augmentation de l'albumine et des α 1-globulines et une diminution des α 2- et β 2-globulines (43). Et pour cela lors de l'interprétation d'une électrophorèse des protéines réalisée sur du sérum bilirubinémique, il faudra donc les sous-estimer.

IV.7. Interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques :

Avant tout début d'interprétation, il est nécessaire de recueillir une bonne anamnèse du cas :

- ✓ concernant l'animal lui-même (espèce, âge, sexe, état physiologique),
- ✓ commémoratifs, traitements en cours, hypothèses diagnostiques,
- ✓ examen clinique lors du prélèvement (déshydratation),
- ✓ mesure de la protidémie sérique.

Une fois ces renseignements pris, l'interprétation de l'électrophorèse se base sur l'observation du tracé, sur le rapport albumine / globulines puis sur l'étude des différentes fractions.

1. Rapport albumine/globulines normal

Lorsque que le rapport albumine/globulines est normal, le tracé est très souvent normal. En effet, cela signifie que les proportions entre les différentes fractions ont été conservées. La demande d'électrophorèse fait suite dans ce cas au résultat d'une valeur anormale de la protidémie.

Les causes possibles des dysprotéinémies avec un rapport albumine/globulines normal.

Tableau : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines normal.(51)

Protidémie	Etiologie
Augmentée	Déshydratation
Diminuée	Hyperhydratation Hémorragie Fuite plasmatiques (brûlures, abrasions lésions exsudatives, parasitisme, maladie gastro-intestinale)

On remarque l'importance de l'examen clinique et la mise en évidence de la déshydratation de l'animal. Une mesure de l'hématocrite et des protéines totales permet d'identifier une anomalie de l'hydratation ou une hémorragie.(51)

2. Rapport albumine/globulines bas

Ce cas est le plus couramment observé en clinique. Il a pour origine soit une diminution de l'albumine soit une augmentation des globulines. Le tableau 2 présente les causes possibles des dysprotéinémies avec un rapport albumine/globulines diminué.

Tableau : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines normal.(51)

Origines	Causes	Etiologie
Albumine diminuée	Pertes sélectives	Glomérulonéphrite Syndrome néphrotique Maladie gastro-intestinale Parasitisme
	Défaut de synthèse	Hépatite chronique Malnutrition Maladie chronique
Globulines augmentées	α 1-globulines augmentées	Maladie aigüe
	α 2-globulines augmentées	Hépatite aigüe Syndrome néphrotique
	β -globulines augmentées	Hépatite aigüe Syndrome néphrotique Dermatite suppurative
	Pont β - γ	Hépatite chronique
	γ -globulines augmentées avec un pic large (polyclonal)	Maladie inflammatoire chronique Infection Hépatite chronique Abscess hépatique Maladie suppurative Maladie auto-immune
	γ -globulines augmentées avec un pic étroit (monoclonal)	Lymphosarcome Myélome multiple Macroglobulinémie

3. Rapport albumine/globulines élevé

Ce cas est plus rare. Il a pour origine soit une augmentation de l'albumine soit une diminution des globulines. Le tableau 3 présente les causes les plus fréquentes des dysprotéinémies avec un rapport albumine/globulines augmenté.

Tableau : Etiologie des dysprotéinémies lors de rapport albumine/globulines augmenté.(51)

Origines	Etiologie
Globulines diminuées (γ -globulines diminuées)	Nouveau-né avant la prise du colostrum Immunodéficience du poulain arabe Agammaglobulinémie acquise ou Héréditaire

Partie
expérimentale

I Introduction :

1) Objectif de l'étude :

L'objectif de notre étude s'inscrit dans la perspective de la connaissance de tracé électrophorétique et des changements possibles de l'électrophorèse des protéines sériques chez l'espèce ovine pour différents stades physiologique (femelles vides, gestantes et en lactations) ainsi que chez les males.

2) Lieu et période de l'étude :

D'Octobre 2013 à Janvier 2014, nous avons réalisé nos prélèvements sur des ovins issus de la station expérimentale de l'université de Blida. La centrifugation et la conservation des sérums s'est effectuée au laboratoire de biochimie médicale de l'université.

Le traitement de sérums s'est déroulé au centre hospitalier Pierre et Marie Curie à Alger durant la période de Janvier à avril 2014.

II matériel et méthode

II-1 matériels :

II-1-1 Matériels biologique:

A Les animaux :

Pour cette étude, nous nous sommes intéressés à l'espèce ovine de race locale (Hamra), Les animaux retenus au nombre de 26 présentent un examen clinique normal et sont considérés comme des sujets sains

A-1- Les brebis : 19 femelles adultes âgées de 2 à 5 ans sont séparées en 3 lots au nombre de quatre en fonction du stade physiologique ;

Lot A : 06 Brebis vides

Lot B : 06 Brebis en stade de gestation

Lot C : 07 Brebis en stade de lactation



Photo 1 : Lot de brebis vides.

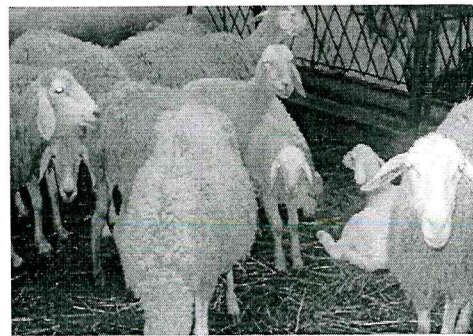


photo 2: Lot de brebis en lactation.



Photo 3: Lot des brebis gestantes.

A-2 -Les moutons : les males âgés de 2,5 ans à 3 ans sont au nombre de 05, regroupés dans un seul lot « Lot D »



Photo 4 : lot des males.

II-1-2 Alimentation:

Les animaux sont alimentés en fourrage sec (foin) ses derniers reçoivent la même ration quelque soit leur stade physiologique.

II-1-3 Matériels de prélèvement : le sang veineux a été prélevé sur des tubes secs de 5 ml déposés sur des portoirs en vue de l'analyse après le prélèvement.



Photo 5: tubes secs

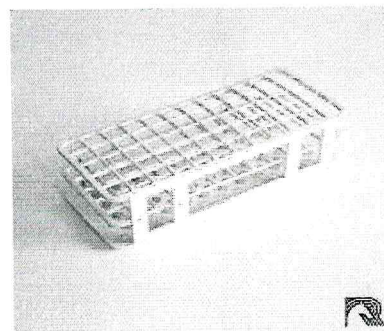


photo 6 : portoirs

II-1-4 Matériels pour le dosage de la protidémie :

Dosage des protéines totales s'est effectué sur un automate de biochimie de marque HITACHI du laboratoire Roche.

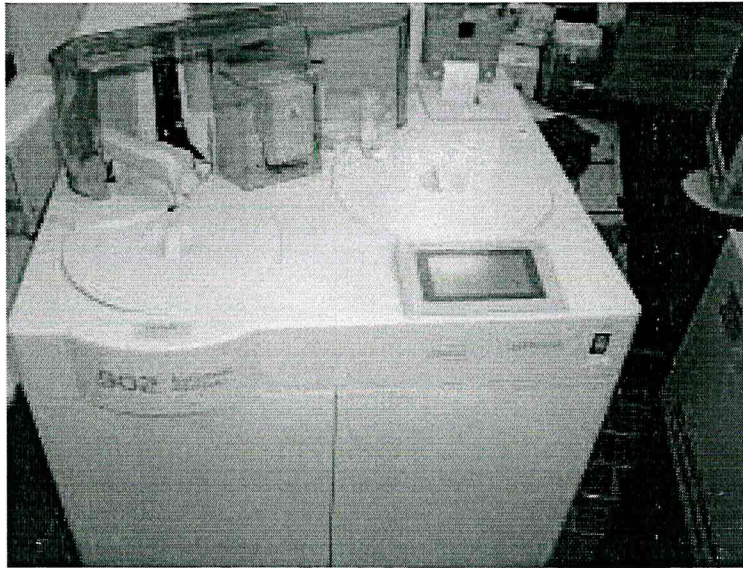


Photo 7:Automate HITACHI Roche.

II-1-5 Matériels de l'électrophorèse :

L'électrophorèse des protéines a été obtenue sur gel d'agarose par le semi automate Helena de migration et de coloration (SAS1 et SAS 2).



Photo 8: Automate Helena SAS1 SAS2.

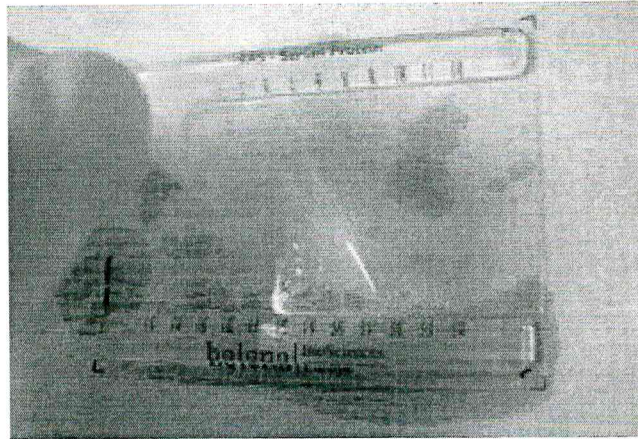


Photo 9: Gel de migration.

II-2 Méthodes :

II-2-1 Préparation des animaux :

Les animaux ont été séparés la veille et ils étaient à jeun le jour de prélèvement, et contentonnés manuellement au moment des prises de sang par le berger.

II-2-2 Les Prélèvements :

Après désinfection, nous avons prélevé 5mL de sang sur tube sec au niveau de la veine jugulaire. Les prélèvements sont laissés au repos pendant 2 heures pour que s'effectue la coagulation. Puis on dénature le caillot avec un embout et on passe à la centrifugation à 3000 tours par minute pendant 10 minutes, on obtient un sérum clair pour l'électrophorèse puis chaque prélèvement est étiqueté, daté, numéroté et conservé à -20°C .



Photo 10: prélèvement veineux

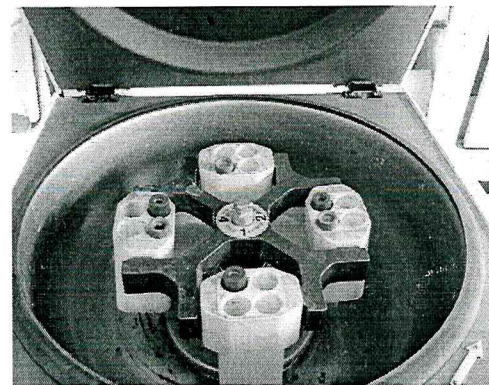


Photo 11: Centrifugeuse.

Huit sérums présentant un aspect trop hémolysés sont écartés de l'analyse en raison des artefacts possible lors de la migration des protéines en formant des complexes inter-protéique. Afin d'éviter la décongélation des sérums lors du transport, ses derniers sont placés dans une glacière.

II-2-3 Dosage de la Protidémie :

Les protéines totales sont dosées sur l'automate Hitachi de Roche par spectrophotométrie selon la méthode Biuret.

II-2-4 réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques :

L'électrophorèse s'est déroulée en plusieurs étapes à s'avoir :

II-2-4-A : le dépôt du sérum dans la plaque à sérum :

On dépose 35 μ litre du sérum à l'aide d'une pipete pasteur dans les puits de la plaque, jusqu'au remplissage de tous les puits, on peut analyser 24 sérums par plaque.

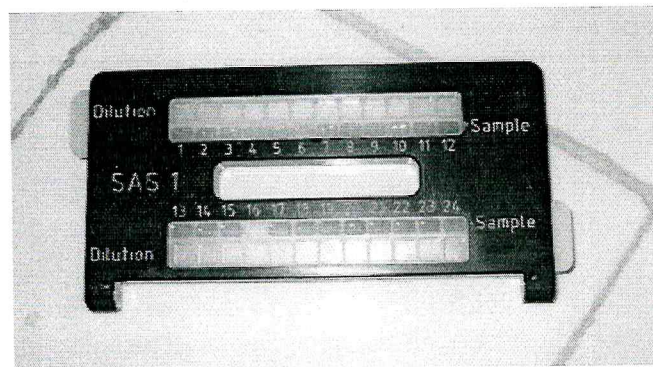


Photo 12 : plaque a sérum.

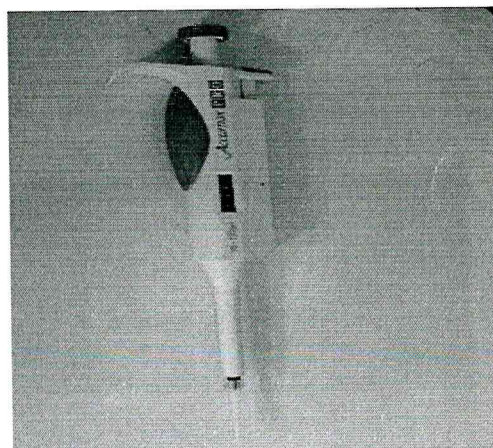


Photo 13 : Pipete

II-2-4-B : Mise en place de la plaque à sérum dans le SAS 1 :

- ❖ On place en premier lieu la plaque à sérum dans l'automate SAS 1 puis on dépose le gel sur la chambre en évitant la formation de bulles d'air sous le gel puis on passe au sécher du gel à l'aide d'un papier buvard.



Photo 14 : plaque à sérum dans le SAS1

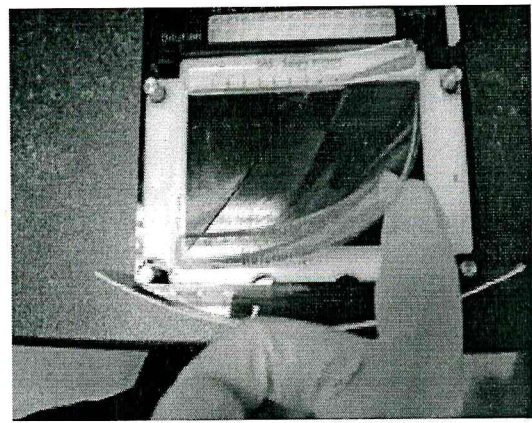


Photo 15: le gel d'agarose sur la chambre

- ❖ Une fois le gel d'agarose déposé, on positionne les électrodes sur ce dernier, ce qui permet le passage du courant électrique tout au long de la plaque ainsi que la migration des protéines. On dépose le couvercle, d'une légère pression des doigts, et on appuie afin d'assurer un contact parfait entre les électrodes et les ponts de gel.



Photo 16: Deux électrodes positionnés sur le gel d'agarose .



Photo 17 : déposer le couvercle

II-2-4-C la migration :

On dépose un nombre adéquat d'applicateur, le SAS 1 est prêt à réaliser les étapes suivantes :

1. Prélèvement des échantillons
2. Application des échantillons sur le gel
3. Appliquer une différence de potentielle entre les deux électrodes pendant un laps de temps défini.



Photo 18: dépôt d'applicateurs



photo 19 : la mise en marche de SAS 1

Une fois la migration terminée, on enlève le couvercle et les électrodes ainsi que les ponts de gel.

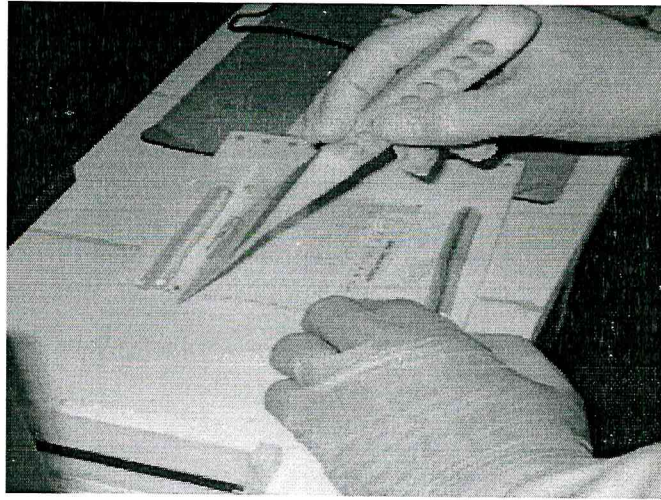


Photo 20 : Elimination de l'excès de gel d'agarose.

II-2-4-D Coloration par le SAS 2 :

- ❖ On met la plaque dans la chambre pour coloration du système SAS-2.



Photo 21 : l'introduction de la plaque dans la chambre à coloration.

- ❖ Une fois la plaque prête pour les opérations de coloration, de décoloration et de séchage. On l'introduit à l'intérieur de l'automate.



Photo 22 : la mise en place de la chambre dans le SAS 2.

- ❖ La migration des protéines est révélée par les colorants Violet et Bleu.



Photo 23 : coloration de la migration des protéines.

II-2-4-E La lecture par Platinum :

Une fois ces étapes faites on passe à la lecture de la plaque grâce à un scanner et au Platinum qui est un logiciel d'interprétation pour gel d'électrophorèse

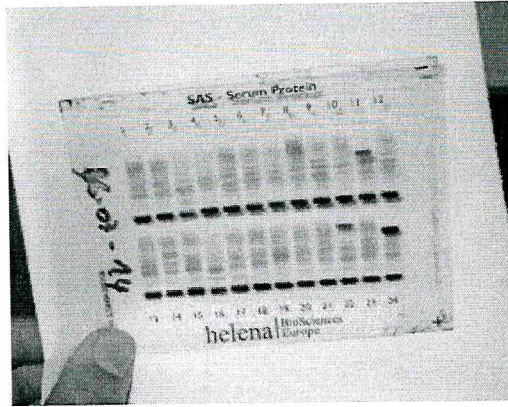


Photo 24 : plaque prête à être lu.

II-2-4-F Scanner des résultats :

On dépose la plaque sur le scanner lié à un microordinateur doté du logiciel Platinum qui permet la lecture de la plaque.

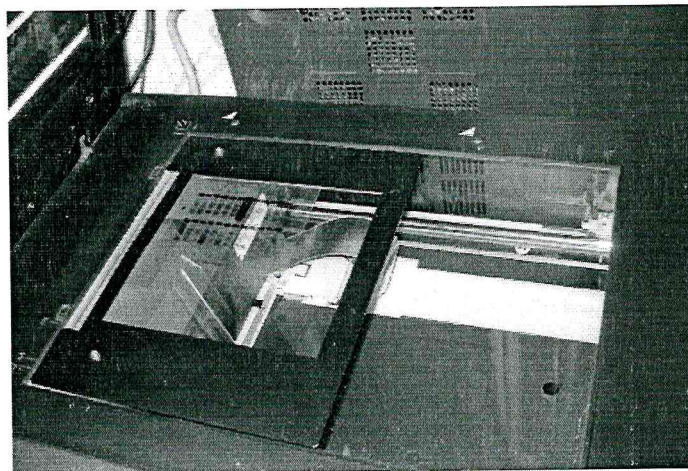


Photo 25: mise en place de la plaque sur le scanner.

II-2-4-G Impression des résultats :

La dernière étape consiste à imprimer les résultats chiffrés.

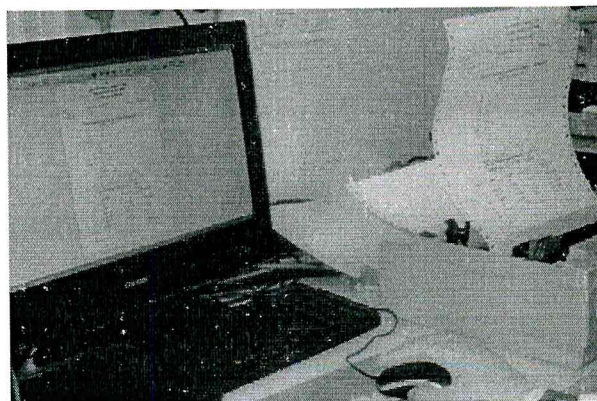


Photo 26 : Impression des résultats.

III Résultats:

III .1 Protidémie :

1) Résultats de la protidémie des brebis vides et des males :

Nous avons enregistré une protidémie moyenne chez les mâles de 69 g/l \pm 2,54 et chez les brebis de 67,75 g/l \pm 6,25. Les résultats sont donnés pour chaque lot dans le tableau n°1

Nous constatons une variation individuelle de la protidémie pour les deux sexes.

Tableau 4 : taux de protidémie chez les brebis du lot A (n=4) et les males du lot D (n=4).

Lot	Animaux	Taux de protidémie g/l
Lot A	B 6	66
	B 7	66
	B 12	61
	B 15	78
	Moyenne et écart type	67,75 \pm 6,25
Lot D	M 23	69
	M 25	70
	M 26	65
	M 27	72
	Moyenne et écart type	69 \pm 2,54
	Tous les animaux	68.37 \pm 4.853

On note une protidémie élevée de 78 g/l pour la brebis (B15) ; comparativement aux autres.

2) Résultats de la protidémie des brebis gestantes et en lactations:

Les résultats montrent que chez les brebis gestantes « lot B » la moyenne de la protidémie est de 62 g/l \pm 4,85 et chez les brebis en lactation «lot C», elle est de 73,25 g/l \pm 5,26. (Tableau n°2).

On note pour la brebis gestante (B17) une faible protidémie de 54g/l, comparativement aux autres brebis du même lot.

Tableau 5: taux de protidémie chez les brebis en gestation lot B (n=4) et des brebis en lactations du lot C (n=4).

Lot	Animaux	Taux de protidémie g/l
Lot B	B 10	63
	B 11	64
	B 17	54
	B 18	67
	Moyenne et écart type	62±4,85
Lot C	B 19	79
	B 20	68
	B 21	78
	B 22	68
	Moyenne et écart type	73,25±5,26

La brebis (B19) du lot C en stade de lactation enregistre une concentration des protéines totales de 79 g/l.

III.2 Résultats des fractions protéiques

1) Résultats des fractions électrophorétiques des brebis (vides) et des mâles:

Le tableau n°6 donne les résultats des fractions protéiques des brebis et des mâles. Chez les brebis la concentration moyenne de l'albumine est de 33,62 g/l±6,25, la fraction alpha 1 est de 1,48 g/l±0,40, la fraction alpha 2 est de 8,40 g/l ±1,9, la fraction beta 5,69g/l±0,58, et enfin la fraction gamma 18,55g/l±4,66. Nous enregistrons un rapport Albumine/Globuline de 0,51g/l±0,04.

Chez les mâles on enregistre une concentration moyenne de l'albumine de 34,65 g/l ±1,74, fraction alpha 1 2,24 g/l±1,38, fraction alpha 2 8,76 g/l±2,37, fraction beta 5,58 g/l±1,02 et en dernier la fraction gamma 17,52 g/l±2,20 et un rapport Albumine/Globuline de 0,50 g/l±0,02.

Les résultats montrent une légère augmentation de l'albumine et des fractions alpha1, alpha2 et une diminution de la fraction gamma et du rapport albumine/globulines chez les mâles par rapport aux brebis. (Tableau n°3).

Tableau 6: Résultats des différentes fractions électrophorétiques des brebis et de mâles.

Lot	Animaux	Alb	Alpha1	Alpha2	Beta	Gamma	Alb/Glob
Lot A	B6	35,49	1,16	7,79	4,97	16,56	0,54
	B7	33,73	1,23	7,80	6,44	16,80	0,51
	B12	33,54	1,35	6,46	5,29	14,37	0,55
	B15	31,73	2,18	11,57	6,06	26,47	0,44
	Moyenne et écart type	33,62±6,25	1,48±0,40	8,40±1,9	5,69±0,58	18,55±4,66	0,51±0,04
Lot D	M23	34,72	1,64	6,12	5,41	21,12	0,50
	M25	33,81	1,55	12,61	3,83	18,21	0,48
	M26	33,08	1,16	8,25	6,16	16,34	0,50
	M27	36,98	4,62	8,07	6,91	15,41	0,51
	Moyenne et écart type	34,65±1,74	2,24±1,38	8,76±2,37	5,58±1,02	17,52±2,20	0,50±0,02
A+D	Moyenne et écart type	33.13±1.79	1.86±1.09	8.58±2.15	5.63±1	18.03±3.66	0.50±0.03

2) Résultats des fractions électrophorétiques des brebis gestantes et des brebis en lactation :

Le tableau n°7 donne les résultats des fractions protéiques des brebis gestantes et en lactation.

Chez les brebis gestantes la concentration moyenne de l'albumine est de 33,83 g/l ±1,59, la fraction alpha 1 1,3 g/l ±0,40, alpha 2 7,2 g/l ±1,14, la fraction beta 4,90 g/l ±1,55, la fraction gamma 14,68 g/l ±3,54. Nous enregistrons un rapport Albumine/Globuline de 0,55±0,31.

Chez les brebis en lactation on note pour l'albumine une concentration de 33,43±3,45, la fraction alpha 1 1,77±0,25, la fraction alpha 2 8,11±1,50, la fraction beta 7,22±2,44, la fraction gamma 21,21±5,59. Et on enregistre un rapport Albumine/Globuline de 0,46±0,06.

Les résultats montrent que chez les brebis gestantes la concentration de la fraction beta et gamma sont inférieure à ceux des brebis en lactation. (Tableau n°)

Tableau 7: Résultats des différentes fractions électrophorétiques des brebis gestantes et des brebis en lactation.

Lot	Animaux	Alb	Alpha1	Alpha2	Beta	Gamma	Alb/Glob
Lot B	B10	31,13	1,69	9,05	7,04	14,09	0,49
	B11	35	1,18	6,12	3,43	18,27	0,55
	B17	34,19	0,68	6,53	3,44	9,16	0,63
	B18	35	1,65	7,42	5,71	17,22	0,52
	Moyenne et écart type	33,83±1,59	1,3±0,40	7,2±1,14	4,90±1,55	14,68±3,54	0,55±0,31
Lot C	B19	27,62	2,20	9,85	10,12	29,21	0,35
	B20	34,24	1,72	7,09	5,12	13,83	0,50
	B21	35,29	1,59	9,26	9,13	22,74	0,45
	B22	36,55	1,57	6,27	4,52	19,06	0,54
	Moyenne et écart type	33,43±3,45	1,77±0,25	8,11±1,50	7,22±2,44	21,21±5,59	0,46±0,06

I. Le tracé électrophorétique :

Nous avons obtenu chez l'espèce ovine un tracé électrophorétiques qui se caractérisent par 5 fractions protéiques (albumine, alpha1, alpha2, beta, et gamma).

1) Profil électrophorétique chez les brebis vides :

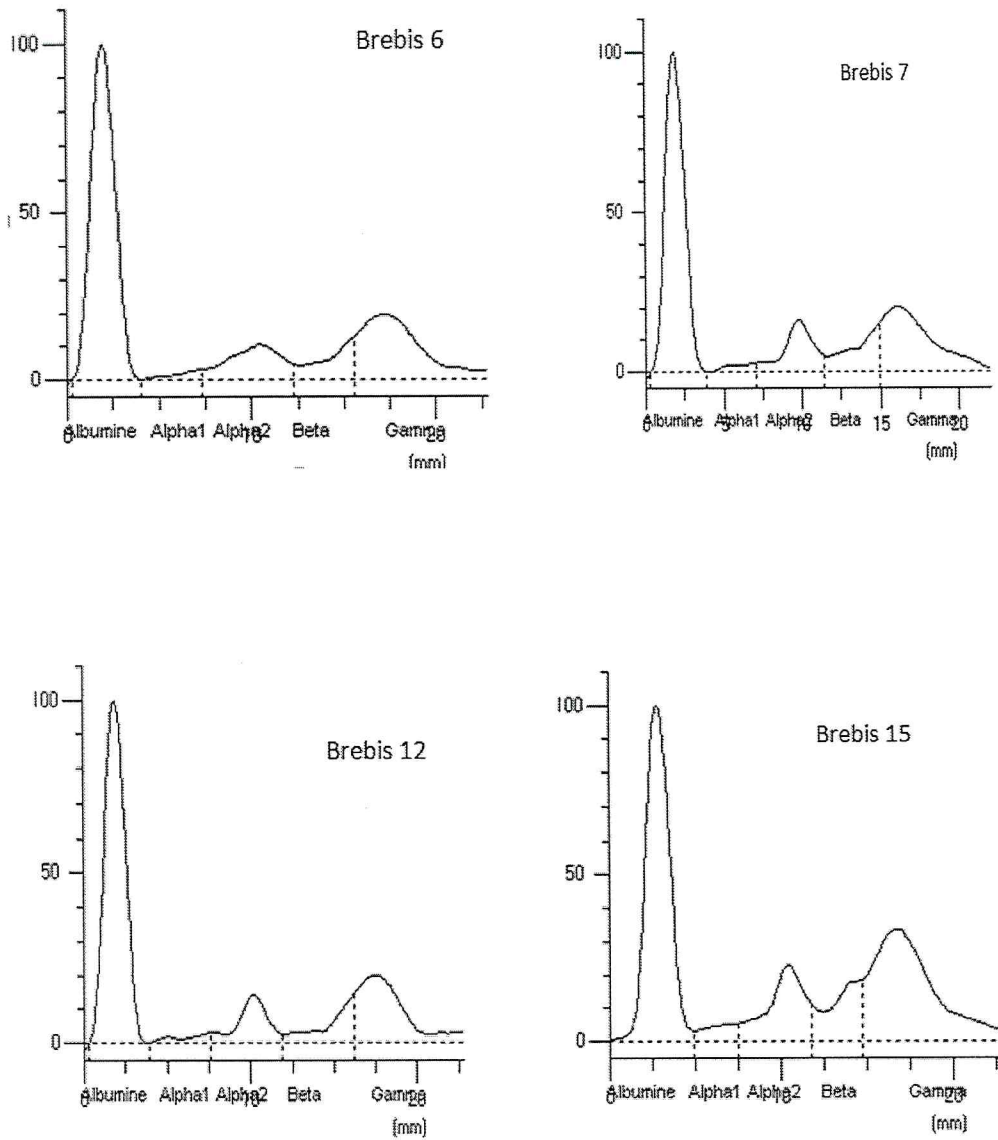


Figure 2: protéinogramme des brebis vides « lot A »

On remarque quelques disparités entre les profils obtenus.
Le profil électrophorétique de la brebis (B15) présente un pic dans la fraction des gammaglobulines.

2) Profil électrophorétique chez les brebis gestantes :

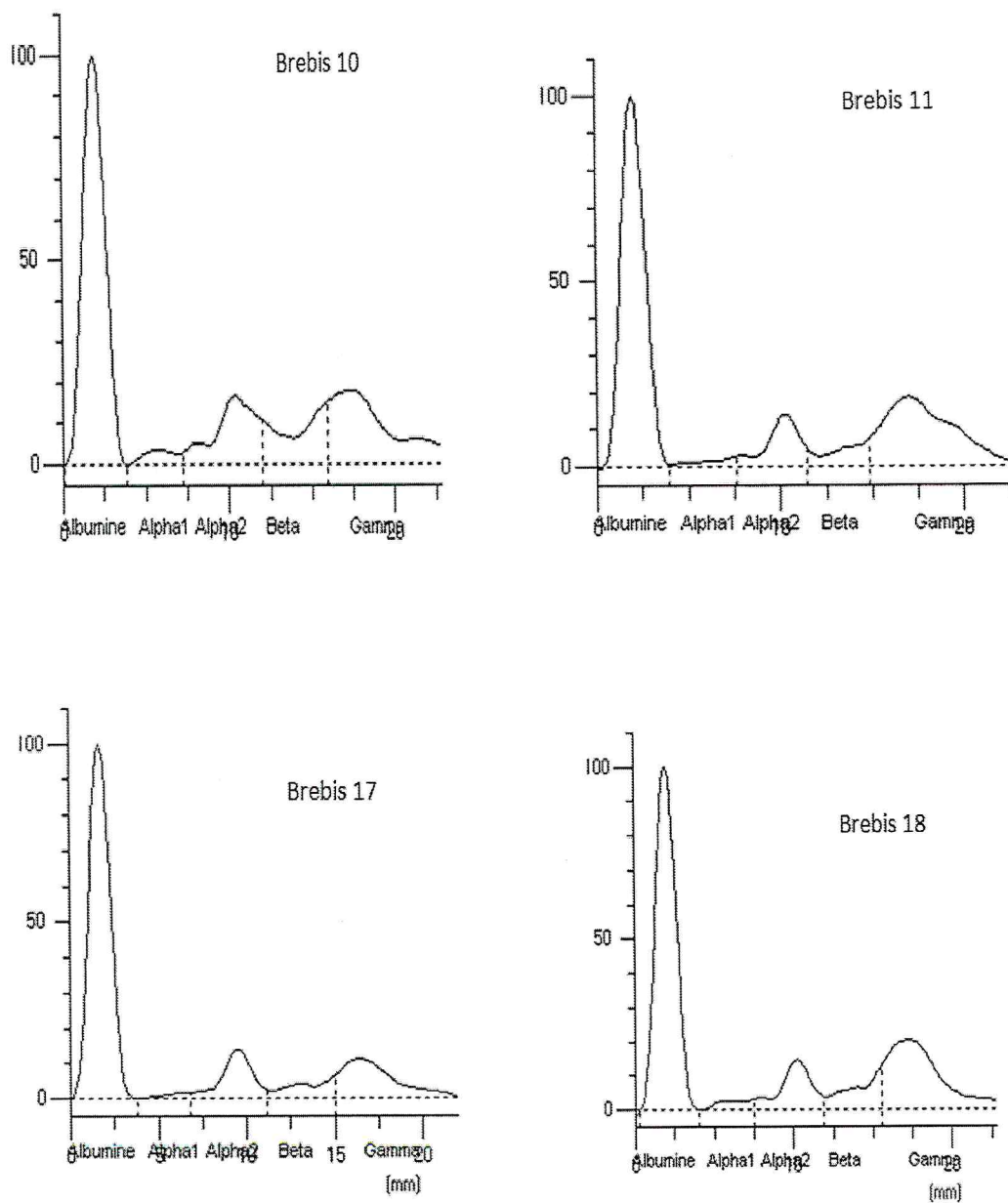


Figure 3: protéinogramme des brebis gestantes « lot B ».

La brebis B17 montre un tracé électrophorétique aplati au niveau de la fraction alpha 1 et beta et une diminution de la courbe des gammaglobulines.

3) Profil électrophorétique chez les brebis en lactation :

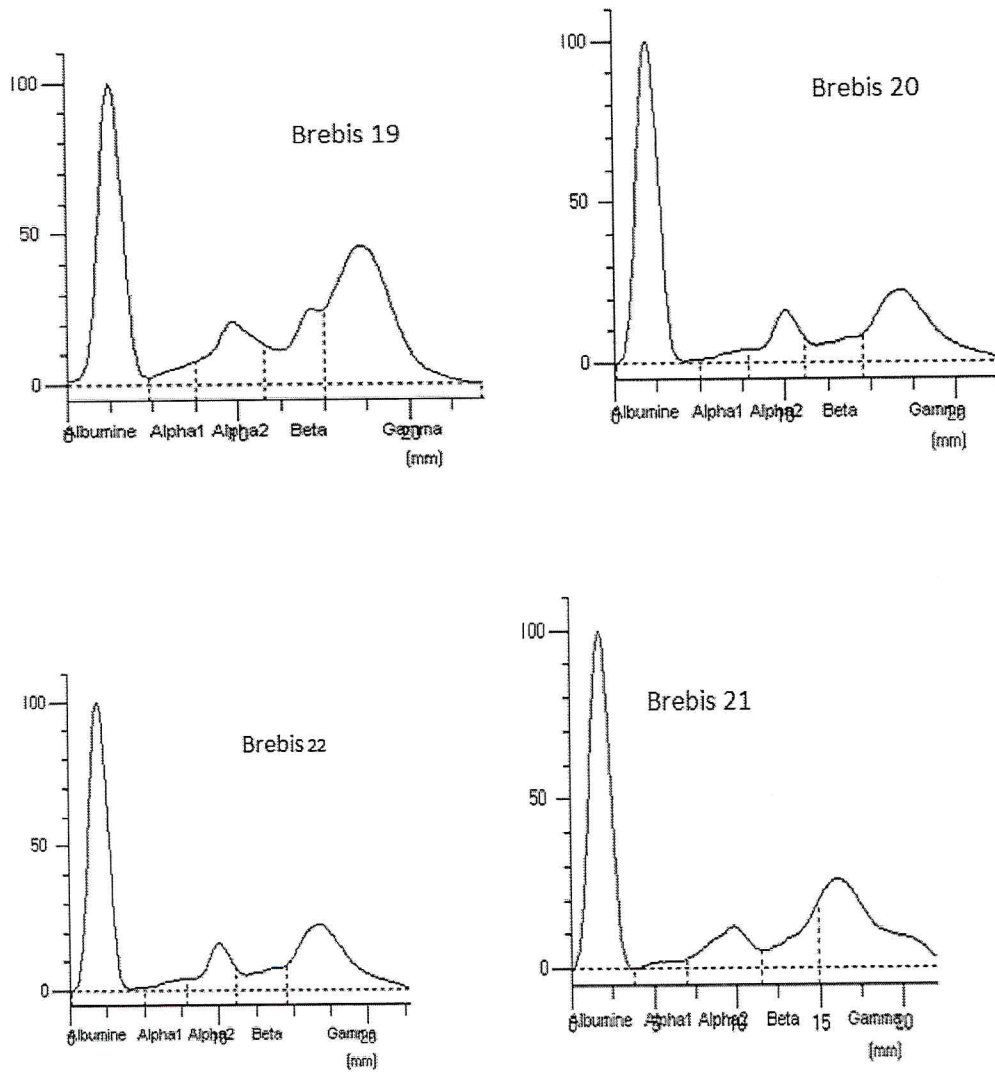


Figure 4 : protéinogramme des brebis en lactation « lot C »

On note chez la brebis (B19) une forte augmentation au niveau de la fraction beta et gamma.

4) Profil électrophorétique chez les mâles :

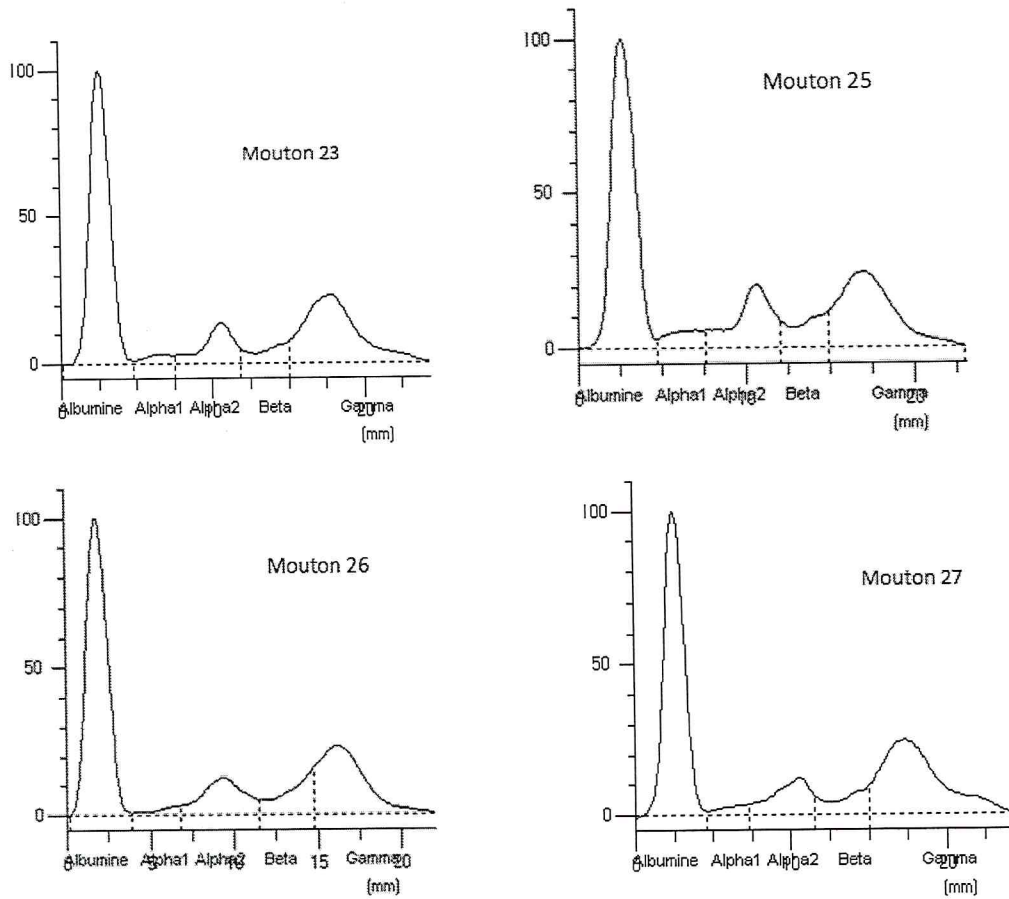


Figure 4: protéinogramme des mâles « lot D ».

DICUSSION

I .Protidémie:

I.1.la protidémie chez les brebis vide et les males (ovin) :

Les résultats de la protidémie révèlent une concentration moyenne chez les brebis vides de $67,75\text{g/l} \pm 6,25$ et chez les mâles de $69\text{ g/l} \pm 2,54$. Les valeurs de référence de la protidémie enregistrées par les auteurs sont entre $62,6\text{ g/l}$ et $79,4\text{g/l}$ (27) et entre 60 g/l et 79g/l (22). Nous constatons que nos résultats sont dans les intervalles de référence donnés par les auteurs.

Nos résultats montrent une protidémie légèrement plus élevée chez les mâles, selon les auteurs cet effet est du à l'action anabolisante de la testostérone sur la concentration des protéines totales (9).

I.2.la protidémie chez les brebis gestantes et les brebis en lactation :

Nos résultats montrent que la protidémie est élevée Chez les femelles en lactation 73.25 ± 5.22 et elle est basse chez les femelles gestante $62\text{g/l} \pm 4.85$ les mêmes résultats on été obtenu par (9) et cela s'explique du fait que les protéines plasmatiques quittent rapidement le sang à l'approche de la mise bas pour se concentrer au niveau du colostrum en particulier pour les gammaglobulines.

II. L'électrophorèse :

II.1 Concentrations des fractions protéiques :

II.1.1. Concentration des fractions protéiques en fonction du sexe :

Nous avons regroupés les moyennes des fractions des deux sexes dans le tableau n° afin de comparer les résultats aux valeurs de référence. Nous constatons que nos résultats sont en concordance avec les résultats obtenus chez des animaux de référence néanmoins la fraction de l'albumine pour les deux sexes est légèrement élevée aux valeurs de référence. (27,2).

Cette augmentation est liée probablement à l'effet race (2)

On note également, une augmentation des gammaglobulines de la brebis (B15), due probablement à une réponse immunitaire des immunoglobulines. (2,9, 22, 25).

Ce résultat a entraîné l'augmentation de la moyenne de la fraction de l'ensemble des brebis.

Tableau 8 : comparaison de la concentration des fractions électrophorétiques des brebis et des mâles aux valeurs de référence.

	Moyenne et écart type brebis	Moyenne et écart type mâles	Kaneno et al 2008	Hubert 2011
Alb	33,62±6,25	34,65±1,74	24-30	23.4-30.8
Alpha 1	1,48±0,40	2,24±1,38	3-6	1.8-3.8
Alpha 2	8,40±1,9	8,76±2,37	3-6	6.6-9.7
Beta	5,69±0,58	5,58±1,02	7-22	1.6-10.5
			2-11	
Gamma	18,55±4,66	17,52±2,20	7-22	16.9-36.9
			2-11	
Alb /Glob	0,51±0,04	0,50±0,02	0.42-0.76	0.40-0.90

II.1.2. Fractions électrophorétiques chez les brebis gestantes et les lactations:

On note une influence du stade physiologique des brebis sur les fractions protéiques obtenues, ce qui correspond aux données bibliographiques (9). Selon les mêmes auteurs la période de gestation et de lactation correspondent à un besoin accru en protéines plasmatiques.

Chez les femelles en lactation le taux de gammaglobuline est élevé par rapport aux femelles gestantes ce qui correspond au passage des immunoglobulines dans le colostrum. (9,27)

II.2. le tracé électrophorétiques_:

Pour l'ensemble des tracés obtenus chez l'espèce ovine nous obtenons des tracés similaires aux références bibliographiques. (22, 27) (figure 6).

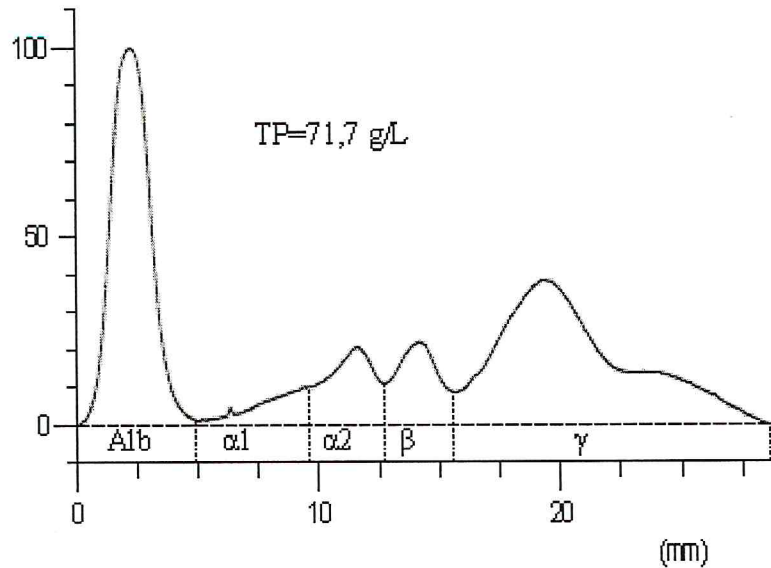


Figure 6 : Tracé électrophorétique antérieur normal chez l'espèce ovine. (65).

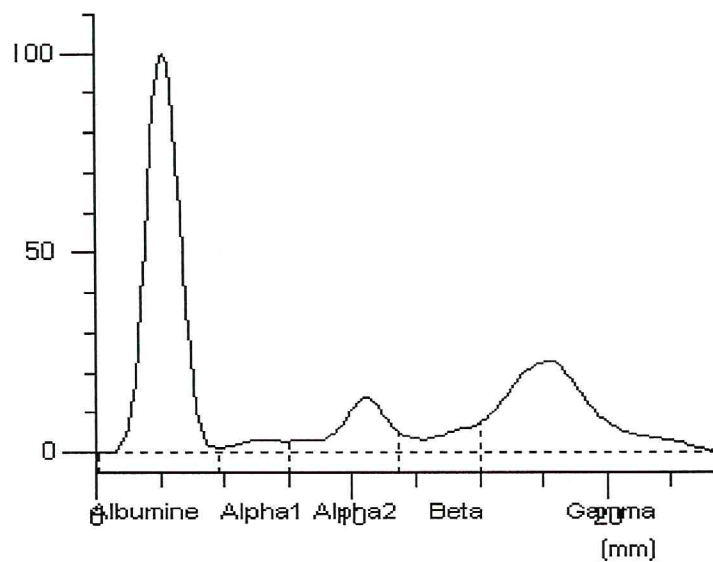


Figure 7 : Tracé électrophorétique normal chez l'espèce ovine.

Selon Key & Doxey, 1981 () dans l'espèce ovine la fraction α se subdivise en deux zones $\alpha 1$ et $\alpha 2$. Ces zones peuvent également être divisées en deux fractions $\alpha 1a$ et $\alpha 1b$, $\alpha 2a$ et $\alpha 2b$. La fraction β ne contient qu'une zone. La fraction γ se compose de deux zones $\gamma 1$, $\gamma 2$.

Selon Hubert René Alber DARTOIS, 2011. Le protéinogramme-type se caractérise par 5 fractions. La fraction β est présente mais n'est pas subdivisée en deux sous-fractions. En revanche la fraction γ , prépondérante, pourrait être subdivisée en deux sous-fractions $\gamma 1$ et $\gamma 2$. Nous avons aussi pu proposer des valeurs usuelles des fractions protéiques majeures de cette espèce.

Notre tracé est similaire aux caractéristiques décrites mais nous n'avons pas obtenu de sous fractions ($\alpha 1a$, $\alpha 2b$) sur les protéinogrammes ainsi que les sous divisions des fractions beta ($\beta 1$, $\beta 2$), et gamma ($\gamma 1$, $\gamma 2$), ce qui est dû à la méthodologie, au gel utilisé de l'obtention du tracé mais qui n'influence pas la validité du protéinogramme.

Conclusion :

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique d'analyse permettant la séparation de diverses fractions protéiques du sérum et son étude systématique aide le praticien dans sa démarche diagnostique, et lui permet de juger de l'efficacité d'un traitement ou de suivre l'évolution d'une maladie.

Notre travail a permis de visualiser les différences ainsi que les similitudes de la protidémie, des fractions protéiques et des tracés électrophorétiques selon le sexe et le stade physiologique des animaux.

Cette étude préliminaire a permis d'obtenir des données en concordances avec les valeurs usuelles. Nous avons pu mettre en évidence l'existence de variations physiologiques en fonction du sexe des animaux et du stade physiologique des brebis.

Cependant, en raison du faible effectif des échantillons, il nous paraît plus judicieux de compléter l'étude par un plus grand nombre d'animaux afin de pouvoir réaliser des analyses statistiques.

En conclusion, l'emploi de l'électrophorèse des protéines sériques devrait se généraliser en médecine vétérinaire au même titre que la médecine humaine permettant ainsi un meilleur diagnostic des pathologies.

REFERANCES

BIBILIOGRAPHIQUES

- (1) Magniez f. (2008) L'électrophorèse [en ligne], Mise en ligne le 02 juillet 2008 [<http://biotechnologie.over-blog.com/article-21737522.html>], (consulté le 18 octobre 2013).
- (2) P. David Eckersall, Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias, *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* page 126-135; 6eme edition . (2012)
- (3) Mathieu, alban benoist, étude critique des techniques de mesure de la protidémie chez le cheval, 2005.
- (4) Pierre Valdiguie *Biochimie clinique* 2eme édition ;2002
- (5) Stato, t., Oda, k., et Kubo ? m ; 6 Haematological and biochemical values of thoroughbred foals in the first six months of life. – *Cornell Vet.* 1979, 69, 3-19.
- (6) Bauer, j.e., Harvey, j.w., Asquith, et al. – Clinical chemistry reference values of foals during the life. – *Equine Vet. J.* – 1984, 16, 361-363
- (7) Ferraro, l., Voss, J.L., Mcchesney ,A.E, et al. – Hematologic and serum protein values in Arabian and non-arabian foals – *J. Equine Med. Sur.* – 1979, 3, 411- 418
- (8) Jain nc. (1993) The plasma proteins, dysproteinemias and immune deficiency disorders. In : *Essentials of veterinary hematology*, Lea et Febbiger, Philadelphia, 349-380.
- (9) Kaneko, j.j. – serum proteins and the dysproteinemias – In : Kaneko, j.j. – *Clinical biochemistry of domestic animals* – San Diego Academic press, 1997, 118-138.
- (10) Herd, r.p., Kent? J.e. – Serum protein changes in ponies on different parasite control programmes. – *Equine Vet. J.* -1986? 18? 453-457
- (11) Stockham? S.l. – Interpretation of equine serum biochemical profile results, - *Vet. Clinics.* – 1995, 11, 391-414.
- (12) Stockham s.l., Scott m.a.: Dans : *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2nd Edition, Wiley and Sons, 2008, 369-413
- (13) P. Metais, j. Agneray, g. Ferard, j-c. Fruchart, j-c. Jardillier, a. Revol, g. Siest, and a. Staht. Protéines. In p. Metais, j. Agneray, g. Ferard, j-c. Fruchart, j-c. Jardillier, a. Revol, g. Siest, and a. Staht, editors, *Biochimie clinique, 1-Biochimie analytique*. Simep, 2`eme edition, 1990, pages 114–163.
- (14) C. Sapan, r. Lundblad, and c. Price. Colorimetric protein assay techniques. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 1999, 29 : 99–108.
- (15) Eckersall d , :Protéine, proteomics and the dysproteinemias. dans : Kaneko j.j., Harvey j.w., Bruss m.l : *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th edition, Elsevier, 2008, 117-155
- (16) E.H. Coles. Liver function. In E.H. Coles, editor, *Veterinary clinical pathology*. W.B. Saunders company, 3`eme edition, 1980, pages 183–216.

- (17) J.j. Kaneko. Serum proteins and the dysproteinemias. In J.J. Kaneko, J. Harvey, and M. Bruss, editors, *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press, 5^eme edition, 1997, pages 117–138.
- (18) Magniez f. (2008) *L'électrophorèse* [en ligne], Mise en ligne le 02 juillet 2008 [<http://biotechnologie.over-blog.com/article-21737522.html>], (consulté le 18 octobre 2013).
- (19) Groulade p. (1978)b L'électrophorèse des protéines sériques chez le chien à l'état normal et pathologique. *Rec. Med. Vet.*, 154(10), 833-846.
- (20) Moretti j. électrophorèse. In : *Encyclopaedia Universalis* version 5, support CD. (1999)
- (21) Lender t., Delavault r., le Moigne a. Dictionnaire de biologie, Presses Universitaires de France, Paris, (1994), 655p
- (22) Kaneko jj, Harvey jw, Bruss ml. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th edition, Academic Press, San Diego, (2008) 928p.
- (23) Thomas js. b Protein electrophoresis (chapter 135). In : *Schalm's veterinary hematology*, 5th edition, Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, (2000)899-903.
- (24) Bush bm. Nutrients and metabolites. In : *Interpretation of laboratory results for small animal clinicians*, Blackwell Scientific Publication, Oxford, (1991) 221-310.
- (25) Groulade p. (1978)a Aperçus sur l'électrophorèse des proteines sériques en médecine vétérinaire et en particulier chez le chien. *Bull. Soc. Vet. Prat. de France*, 69(4), 235-268.
- (26) Riviere o. (1988) Techniques. In : *Des normes vétérinaires vestal à la biologie clinique pratique ou constance et inconstance du milieu intérieur*, Vestal, 42-44.
- (27) Hubert Rene Albert, dartois, contribution à la mise en oeuvre d'une méthode d'analyse des protéines sériques par électrophorèse en gel d'agarose à l'enva _ (2011).
- (28) Abate o., Zanatta r., Malisano t., Dotta u. Canine serum protein patterns using high-resolution electrophoresis. *Vét. J.*, (2000), 159, 154-160.
- (29) Foulon t, Groulade p, Gros Lambert m, Gros Lambert p, Cadore JI. Hyperbêtoglobulinémie et sous-classe d'IgG chez le chien, étude sur 50 cas. *Bull. Acad. Vet. de France*(1996), 69, 87-93.
- (30) Trumel c, Schelcher f, Braun jp, Guelfi jf. L'électrophorèse des protéines sériques : principes d'interprétation chez le chien, le chat et le cheval. *Revue de Médecine Vétérinaire.*, (1996) 147, 123-130.
- (31) Batamuzi e.k., Kristensen f., Jensen a.l. Serum protein electrophoresis : potential test for use in geriatric companion animal health programmes. *J. Vet. Med.* (1996), A43, 501-508.

- (32) Jain J.C. The plasma proteins, dysproteinemias, and immune deficiency disorders. In : JAIN J.C. - Essentials of veterinary hematology – Philadelphia : Lea and Febiger, 1993-349-378.
- (33) J.J. Kaneko. Serum proteins and the dysproteinemias. In J.J. Kaneko, J. Harvey, and M. Bruss, editors, *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press, 5^e edition, 1997, pages 117–138.
- (34) P-E. Laurent. Induction et régulation de la réaction inflammatoire systémique. *Ann. Biol. Clin.*, 1988, 46 : 329–355.
- (35) Jain J.C. (1993) The plasma proteins, dysproteinemias and immune deficiency disorders. In : *Essentials of veterinary hematology*, Lea et Febiger, Philadelphia, 349-380.
- (36) McGrotty Y, Knottenbelt C. (2002) Significance of plasma protein abnormalities in dogs and cats. *In Pract.*, 24(9), 512-517.
- (37) Trumel C, Schelcher F, Braun JP, Guelfi JF. (1996) L'électrophorèse des protéines sériques : principes d'interprétation chez le chien, le chat et le cheval. *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 147, 123-130.
- (38) Groulade P. (1985) L'électrophorèse des protéines sériques dans les affections chroniques chez le chien, aperçus. *Prat. Med. Chir. Anim. Cie*, 20(6), 569-576.
- (39) Groulade P. (1978) a) Aperçus sur l'électrophorèse des protéines sériques en médecine vétérinaire et en particulier chez le chien. *Bull. Soc. Vet. Prat. de France*, 69(4), 235-268.
- (40) Thomas JS. (2000) a) Overview of plasma proteins (chapter 134). In : *Schalm's veterinary hematology*, 5th edition, Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, 891-898.
- (41) Bush BM. (1991) Nutrients and metabolites. In : *Interpretation of laboratory results for small animal clinicians*, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 221-310.
- (42) Amog VM, Bull RW, Michel RL. Comparison of electrophoregrams of normal canine serum and plasma and of serum and plasma of hemolysed specimens. *Am. J. Vet. Res.*, (1977) 38(3), 387-390.
- (43) Martinez-Subiela S., Tecles F., Montes A., Gutierrez C., Ceron J.J. Effects of haemolysis, lipaemia, bilirubinemia and fibrinogen on protein electrophoregram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. *Vet. J.*, (2002) 164, 261-268.
- (44) Schalm OW. *Veterinary haematology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1965
- (45) Charlier C, Therer C, Plomteux G, Albert A. Variations postprandiales de quelques tests biologiques sanguins. *Ann Biol Clin (Paris)* 1988;46 :377–80

- (46) De la farge f, Regnier a, Braun jp, Rico ag, Valdighie p. Effets de la durée de la diète sur les concentrations de lipides sériques et le lipidogramme du chien. *Prat Méd Chir Anim Comp* 1987;22 :107–10.
- (47) Bickhardt k, Büttner d, Müschen u, Plonait h. Influence of bleeding procedure and some environmental conditions on stress-dependent blood constituents of laboratory rats. *Lab Anim* 1983; 17 :161–5
- (48) Allard rl, Carlos ad, Faltin ec. Canine hematological changes during gestation and lactation. *Comp Anim Pract* 1989; 19 :3–6
- (49) Garnier m. Dictionnaire des termes de médecine, 26ème édition, Maloine, Paris. (2000) .
- (50) Harvey jw, west cl. Prednisone-induce increases in serum α 2-globulin and haptoglobin concentrations in dogs. *Vet. Pathol.* (1987) , 24, 90-92
- (51) Camus g. (2009) L'électrophorèse [en ligne], Mise en ligne le 16 Février 2009 [<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/electrophorese/electrophorese.html>], (consulté le 18 octobre 2013).

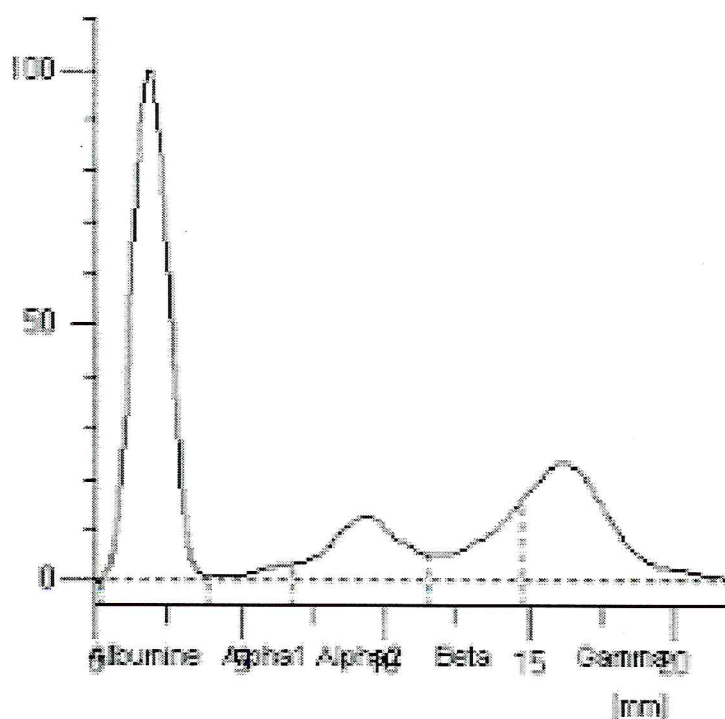
Annexe

EHS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom **Mouton 26**
 Service
 Dossier N°

21/01/2014 13:10:26

Electrophorèse des protéines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	Nc
1	Albumin	50.89%	33.08	33
2	Alpha 1	1.79%	1.16	1
3	Alpha 2	12.69%	8.25	6.1
4	Beta	9.49%	6.17	6.1
5	Gamma	25.14%	16.34 H	7.1
Total			65.00	
Rapport		0.51		

Nom

Service

Casier N°

Brebis6

23010014 12 51 05

Centre de Diagnostic et de Recherche

CENTROFISIOLOGIE ET BIEN-ÊTRE

LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

SERVICE P. A. KHELIF

Nom

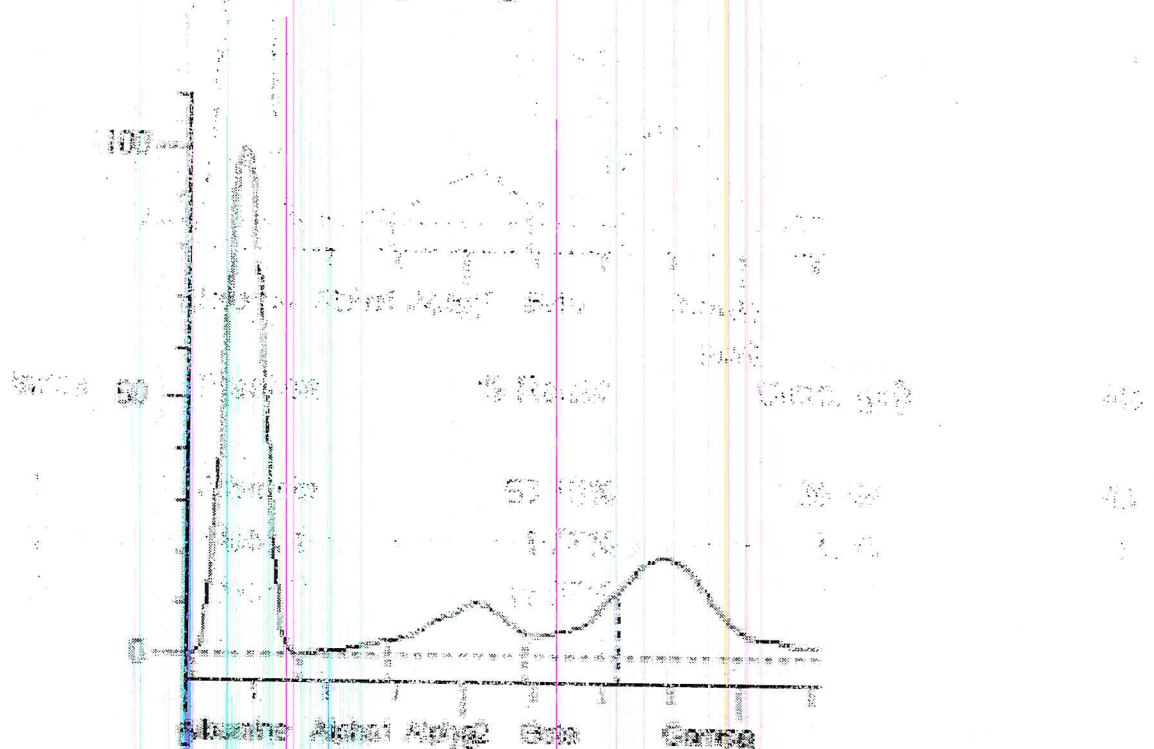
Service

Casier N°

Brebis6

23010014 12 51 05

Electrophorese des proteines seriques sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	53.78%	35.49	33
2	Alpha 1	1.76%	1.18	4
3	Alpha 2	11.80%	7.79	60
4	Beta	7.52%	4.97 B	60
5	Gamma	25.14%	16.59 H	70
Total			66.00	

Rapport

0.54

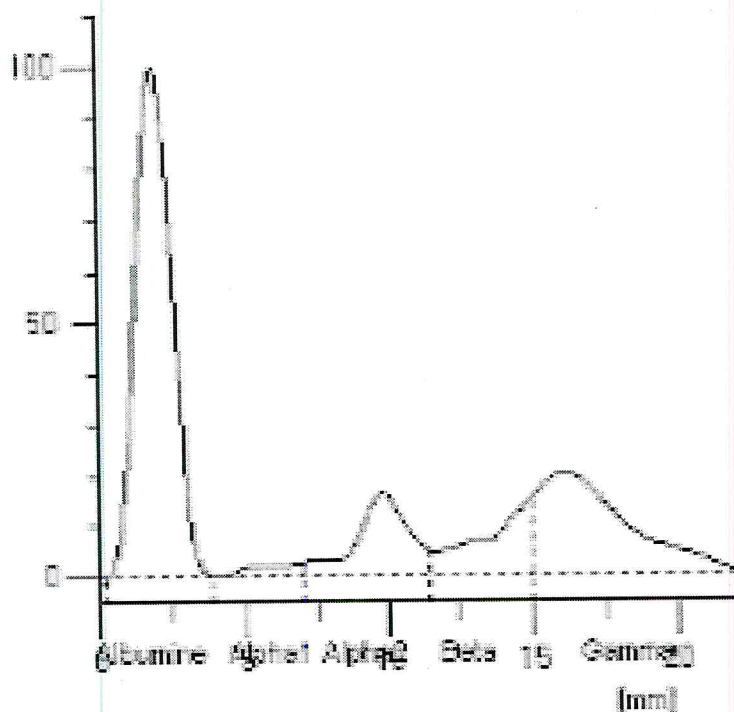
EHS
 CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
 LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
 SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 7

21/01/2014 13:04:31

Electrophorèse des protéines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	51.10%	33.73	33
2	Alpha 1	1.87%	1.23	1
3	Alpha 2	11.82%	7.80	6.0
4	Beta	9.76%	6.44	6.0
5	Gamma	25.45%	16.80 H	7.0
Total			66.00	
Rapport		0.51		

Prat
Service
Dossier N°

Prat
Service
Dossier N°

23/01/2014 12:45:00

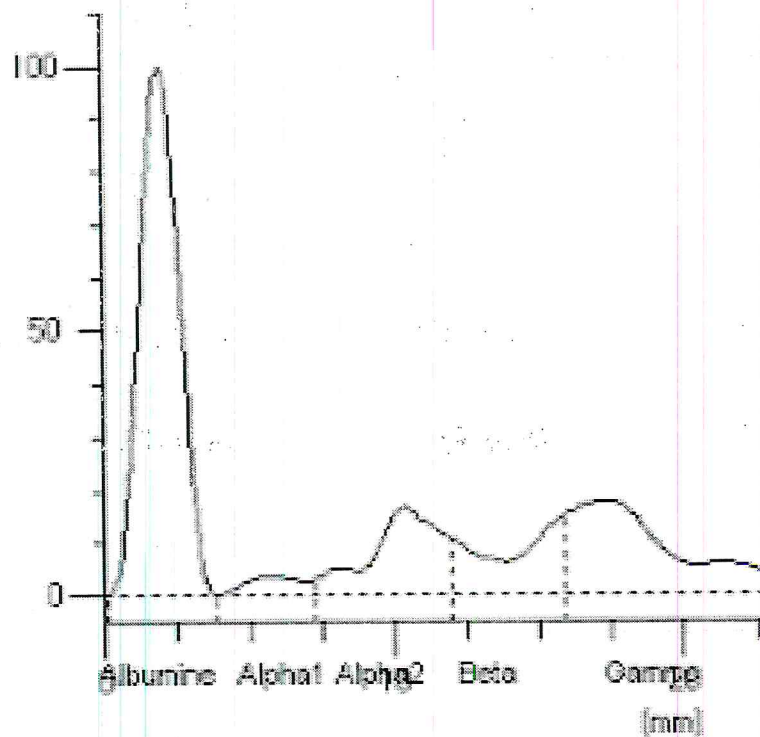
EHS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
Service
Dossier N°

Brebis 10

23/01/2014 12:45:00

Electrophorèse des protéines sériques
sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	N
1	Albumin	49.41%	31.13 B	3
2	Alpha 1	2.68%	1.69	.
3	Alpha 2	14.37%	9.05	6
4	Beta	11.18%	7.04	6
5	Gamma	22.36%	14.09	7
Total			63.00	
Rapport		0.49		

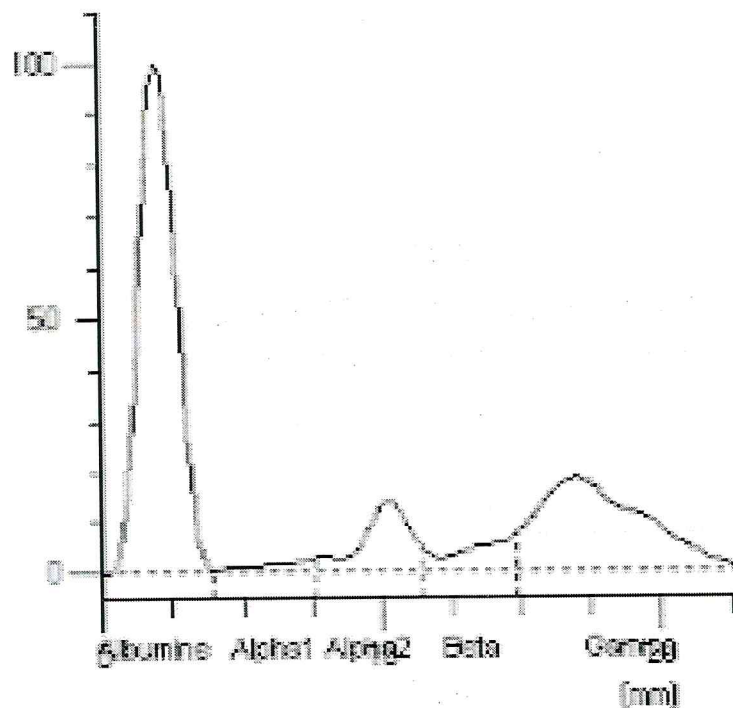
EHS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 11

19/01/2014 13:14:22

Electrophorèse des protéines sériques
sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	54.69%	35.00	33.
2	Alpha 1	1.84%	1.18	1.
3	Alpha 2	9.67%	6.12	6.0
4	Beta	5.36%	3.43 B	6.0
5	Gamma	28.55%	18.27 H	7.0
Total			64.00	

Rapport

CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
 LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
 SERVICE Pr. A. KHELIF

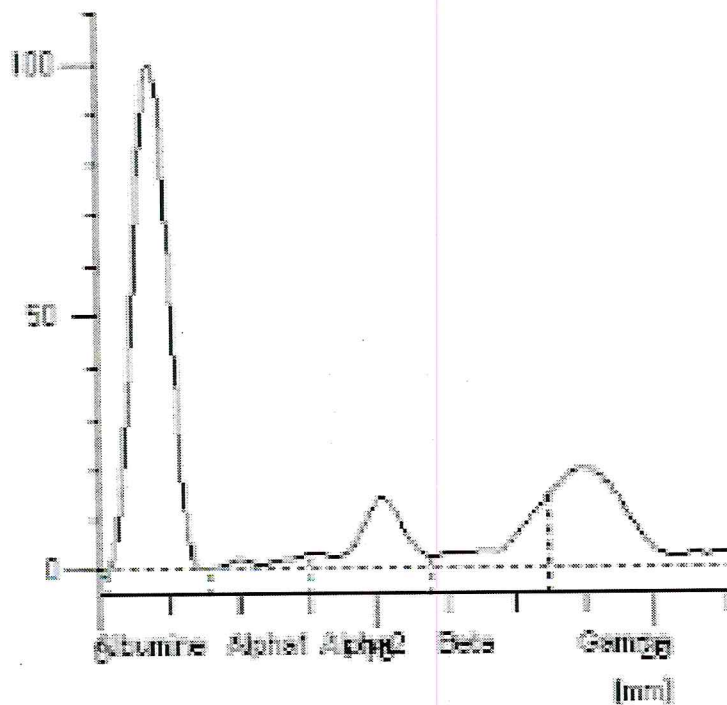
EHS
 CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
 LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
 SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 12

23/01/2014 12:40:00

Electrophorèse des protéines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	54.96%	33.54	33
2	Alpha 1	2.21%	1.35	1.
3	Alpha 2	10.59%	6.46	6.0
4	Beta	8.67%	5.29	5.0
5	Gamma	23.55%	14.37	7.0
Total			61.00	

Rapport

0.55

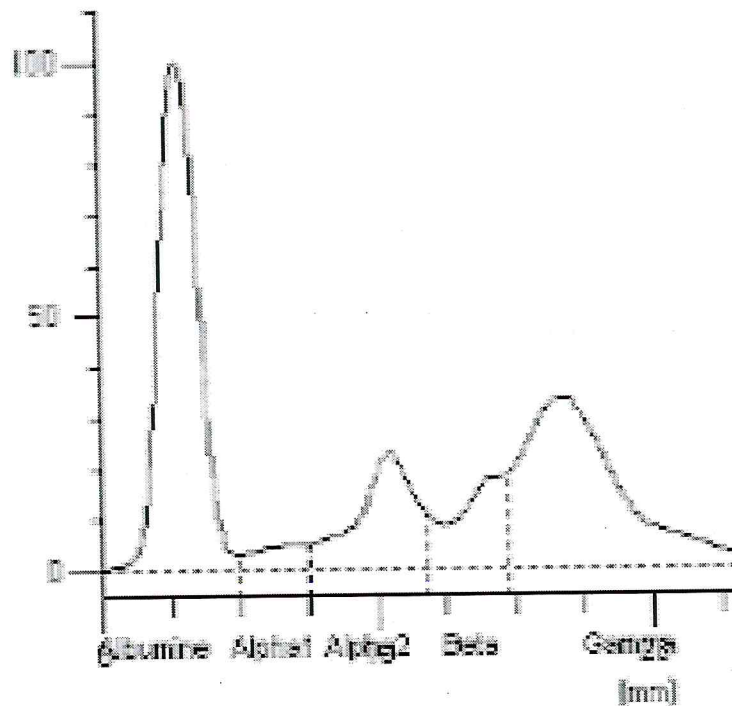
EHS
 CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
 LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
 SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 15

11/03/2014 12:47:02

Electrophorèse des protéines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	Not
1	Albumin	40.68%	31.73 B	33.1
2	Alpha 1	2.79%	2.18	1.1
3	Alpha 2	13.34%	10.40 H	6.0
4	Beta	9.26%	7.22	6.0
5	Gamma	33.93%	26.47 H	7.0
Total			78.00	

Rapport

10.41

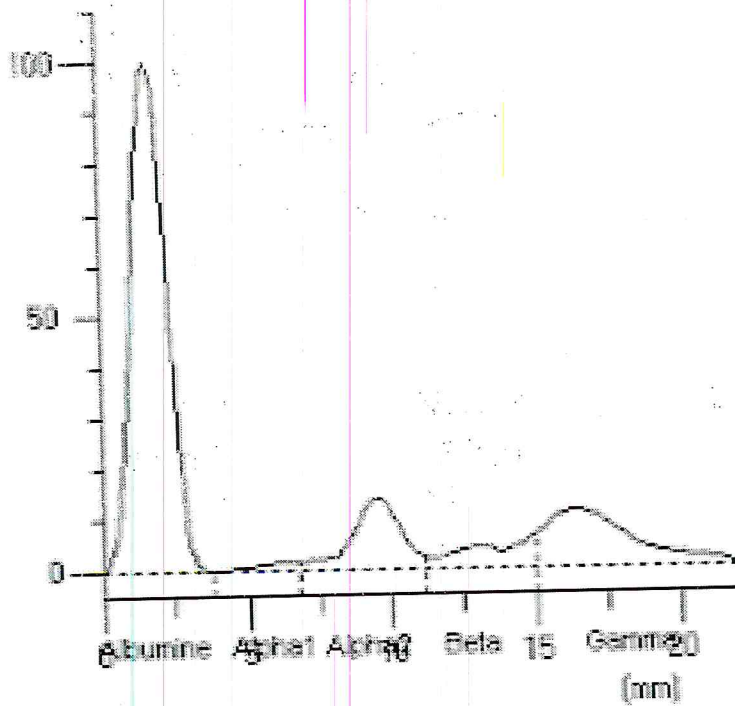
EHS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 17

21/01/2014 13:15:20

Electrophorèse des proteines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	63.32%	34.19	33.
2	Alpha 1	1.26%	0.68 B	1.
3	Alpha 2	12.10%	6.53	6.0
4	Beta	6.37%	3.44 B	6.0
5	Gamma	16.96%	9.16	7.0
Total			54.00	
Rapport		0.63		

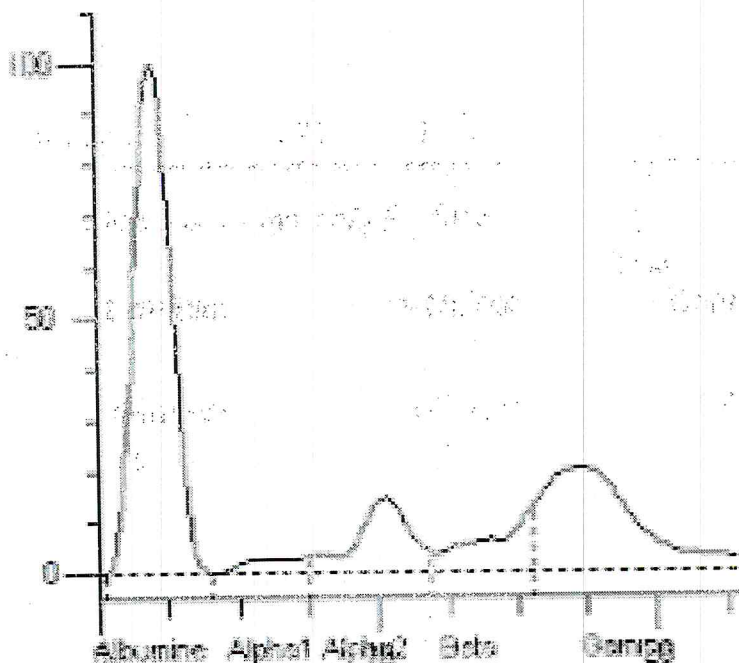
HIS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE PL. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 18

23/01/2014 12:50:11

Electrophorèse des proteines sériques
sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Cone. (g/l)	Nu
1	Albumin	52.23%	35.00	33
2	Alpha 1	2.46%	1.65	1
3	Alpha 2	11.08%	7.42	6.1
4	Beta	7.95%	5.33 B	6.1
5	Gamma	28.27%	17.60 H	7.1
Total			67.00	
Rapport		0.52		

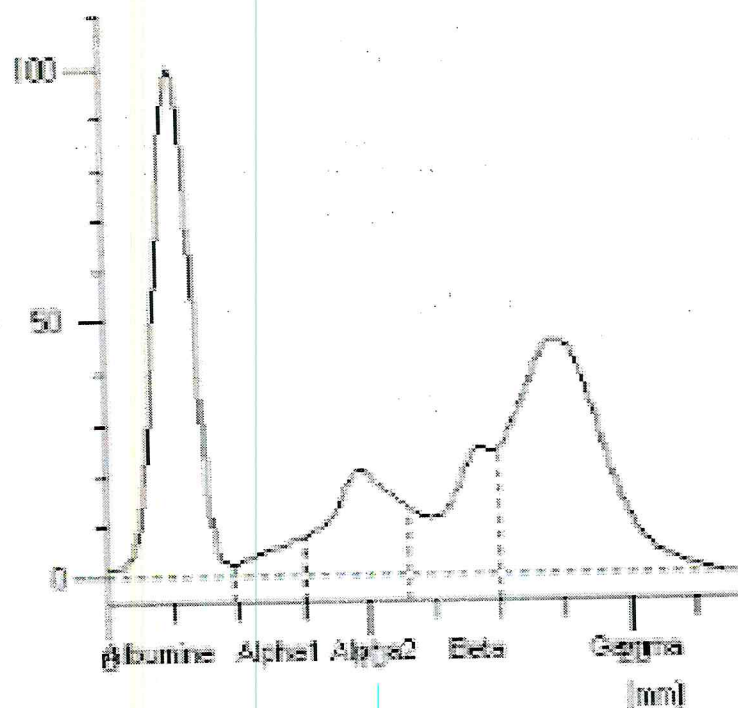
EHS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 19

13/09/2014 14:25:35

Electrophorèse des protéines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	34.96%	27.62 B	32.
2	Alpha 1	2.79%	2.20	1.
3	Alpha 2	12.47%	9.85	6.1
4	Beta	12.80%	10.12	6.1
5	Gamma	36.97%	29.21 H	7.1
Total			79.00	
Rapport		0.35		

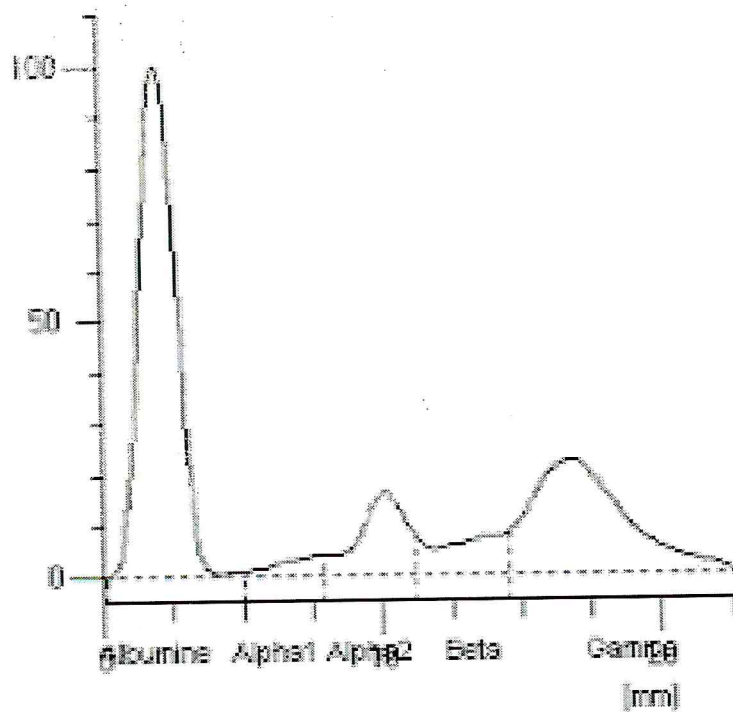
EHS
CENTRE PIERRE ET MARIE CURIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
SERVICE Pr. A. KHELIF

Nom
 Service
 Dossier N°

Brebis 20

19/01/2014 13:10:54

Electrophorèse des protéines sériques
 sur gel d'agarose



Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	No
1	Albumin	50.35%	34.24	33.
2	Alpha 1	2.52%	1.72	1.
3	Alpha 2	10.43%	7.09	6.0
4	Beta	7.53%	5.12 B	6.0
5	Gamma	29.16%	19.83 H	7.0
Total			68.00	

Rapport

0.50