ELECTROPHORESE DES PROTEINES

DEFINITION

L'électrophorèse des protéines sériques permet d'apprécier la répartition des protéines totales dans le sang entre les différentes classes dont elle a assuré la séparation. Les techniques utilisées sont l'électrophorèse sur gel d'agarose et l'électrophorèse capillaire. L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique semi-automatisée permettant la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin sur un gel d'agarose. Les protéines sont séparées en 5 fractions, colorées, et quantifiées par densitométrie. L'électrophorèse capillaire est automatisée : il s'agit d'une technique de séparation électrocinétique, effectuée dans un tube de diamètre inférieur à 100 µm, rempli d'un tampon composé d'électrolytes.

Synonyme : protéinogramme.

BIOPATHOLOGIE ET INDICATIONS

L'électrophorèse des protéines est un examen de routine dont le principal intérêt aujourd'hui est le diagnostic et la surveillance d'une gammapathie monoclonale (Ig mc). Dans un contexte diagnostique, elle s'intègre dans une démarche complète à côté d'autres examens biochimiques (dosage des immunoglobulines, immunofixation/immunoélectrophorèse, analyse des protéines urinaires) et d'informations complémentaires (hématologie, radiologie, âge du patient, secteur d'hospitalisation ou motif de la consultation…).

L'électrophorèse des protéines permet également le dosage de l'Ig mc, par intégration de la surface du pic en densitométrie. Le taux est rendu en g/l.

En pratique, une Elp est indiquée en présence de manifestation(s) clinique(s) ou biologique(s) listée(s) ci-dessous :

Manifestations cliniques	Manifestations biologiques
- Altération de l'état général	- Hypercalcémie
- Lombalgies inexpliquées	- Anémie
- Lésions ostéolytiques	- Insuffisance rénale
- Fractures pathologiques	- Hyperprotidémie…
- Ostéoporose	
- Syndrome d'hyperviscosité	
- Infections récidivantes…	

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

PRELEVEMENT

Sang veineux recueilli dans un tube ne contenant pas d'anticoagulant.

Le jeûne n'est pas impératif, mais recommandé. La pose du garrot ne doit pas excéder 1 minute. Un temps de pose supérieur avant le prélèvement peut conduire à surévaluer la protidémie totale d'environ 5 % (voir plus si la stase veineuse est prolongée), en raison de l'hémoconcentration locale.

Éviter les prélèvements hémolysés, l'hémolyse entraînant un dédoublement de la fraction alpha-2.

L'analyse se fait de préférence sur sérum frais. Sur les échantillons de sérum anciens ou conservés dans de mauvaises conditions, les fractions bêta sont modifiées.

Ne pas utiliser de plasma, le fibrinogène migrant au niveau des bêta2-globulines (ou gamma précoces).

RENSEIGNEMENTS INDISPENSABLES

Contextes clinique et biologique

Il est utile de disposer de renseignements cliniques, en particulier dans un contexte de recherche de gammapathie monoclonale (suspicion de prolifération lymphoplasmocytaire : douleurs osseuses…; neuropathie périphérique…) et des résultats des autres examens biologiques (NFS, VS, protéinurie…) et radiologiques.

Questions à poser au patient

Prenez-vous un des traitements suivants ? Bêta-lactamines (peuvent entraîner un dédoublement du pic d'albumine), corticoïdes, immunosuppresseurs (diminution des gammaglobulines).

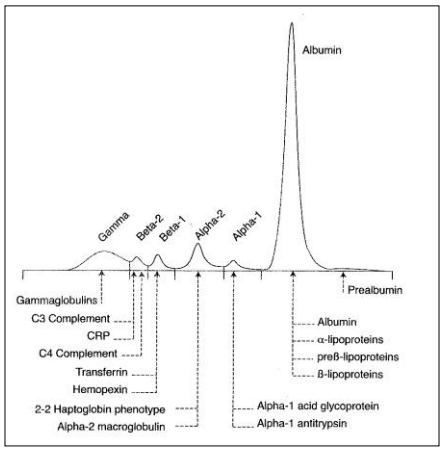
CONSERVATION ET TRANSPORT

Conservation du sérum décanté dans un tube bouché : au maximum 10 jours à + 4 °C, plusieurs mois à - 20 °C, plusieurs années à - 80 °C.

VALEURS DE REFERENCE

Les résultats sont présentés sous la forme d'un graphique, résultat de l'intégration par densitométrie des bandes obtenues après migration du sérum sur le gel d'électrophorèse ou par lecture directe en électrophorèse capillaire, complété des valeurs chiffrées pour chacune des fractions en pourcentage (valeurs relatives) et en concentration (valeurs absolues). Un protéinogramme normal est constitué de 6 fractions qui sont, de l'anode vers la cathode : albumine, alpha 1, alpha 2, bêta 1, bêta 2, et gamma-globulines

biomnis – biomnis



A titre indicatif, les valeurs de référence habituellement retenues en gel d'agarose sont mentionnées ci-dessous :

Protéines totales : 60 - 80 g/l chez l'adulte ; 40 - 60 g/l à la naissance.

Albumine : 58 ± 5 %, soit 32 à 50 g/l

Alpha 1-globulines : 3 ± 1,5 %, soit 1 à 4 g/l

Alpha 2-globulines : 9 ± 3 %, soit 6 à 10 g/l

Bêta-globulines : 14 ± 3 %, soit 6 à 13 g/l

Distinction sur électrophorèse capillaire des fractions bêta 1 (4,7 à 7,2 %) et bêta 2 (3,2 à 6,5 %).

Gamma-globulines : 16 ± 4 %, soit 7 à 15 g/l.

Les valeurs en g/l correspondent au résultat du calcul obtenu à partir des pourcentages des protides totaux et peuvent donc être différentes de celles provenant d'un dosage d'une protéine spécifique ou d'une classe de protéines.

VARIATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

- Age : chez le nouveau-né, la concentration sérique des protéines est inférieure d'environ 20 % à celle de l'adulte. Elle augmente progressivement durant l'enfance jusqu'aux valeurs de l'adulte. Chez le sujet âgé, la protidémie peut être diminuée.

- Grossesse : la diminution de la concentration sérique des protéines peut atteindre 10 %.

- Alimentation, activité physique : les régimes végétariens entraînent une diminution de la protidémie à court terme, mais sont sans effet à long terme. En cas de malnutrition, la protidémie diminue. Elle augmente après un exercice physique prolongé.

- Position allongée/debout – immobilisation : la protidémie peut varier de 8 à 10 % selon la position du sujet. En 30 minutes, la répartition des liquides est atteinte et les variations sont stabilisées. Chez un sujet alité depuis plusieurs jours, la protidémie diminue, cette diminution pouvant atteindre 5 g/l (3 g/l pour l'albumine).

VARIATIONS PATHOLOGIQUES

L'interprétation d'une électrophorèse sur gel d'agarose nécessite l'observation attentive conjointe du tracé obtenu après lecture par le densitomètre et du support (gel). L'analyse du gel permet de visualiser la qualité de la migration et de reconnaître la présence d'un artéfact technique (bulle, rayure, poussière…).

L'interprétation de l'électrophorèse des protides est quantitative (elle est en fait semi-quantitative, il n'y a pas d'étalonnage) et qualitative.

ANALYSE SEMI-QUANTITATIVE DE L'ELECTROPHORESE

Hyperprotidémies

– Augmentation de la masse protéique totale circulante : dysglobulinémie mono ou polyclonale ;

– diminution de l'eau vasculaire : hémoconcentration par insuffisance d'apport ou perte liquidienne (coup de chaleur, diarrhée, vomissement).

Hypoprotidémies

Diminution de la masse protéique totale circulante :

– défaut d'apport (malnutrition) ;

– défaut d'absorption ;

– déperdition protéique (cutanée, rénale, intestinale) ;

– insuffisance de synthèse hépatique.

Augmentation de la masse vasculaire (hémodilution) :

– surcharge hydrique.

Hypoalbuminémie

– Insuffisance d'apport : dénutrition chronique sévère ;

– diminution de synthèse : insuffisance hépatocellulaire, inflammation ;

– perte accrue de l'organisme : fuite urinaire, cutanée ou digestive ;

– hypercatabolisme : endocrinopathie acquise (syndrome de Cushing, thyrotoxicose).

Alpha 1

Diminution

– Insuffisance hépato-cellulaire, fuite protéique ou dénutrition ;

– déficit congénital en alpha1-antitrypsine (parfois associé à une pathologie hépatique chez l'enfant et pulmonaire chez l'adulte).

Augmentation

– Syndrome inflammatoire (augmentation conjointe et importante des alpha 2 globulines).

Alpha 2

Dédoublement du pic

– Écarter l'éventualité d'un prélèvement hémolysé ;

– haptoglobine de phénotype différent de celui le plus répandu en France, sans signification pathologique ;

– présence de chaînes légères libres d'immunoglobulines ou d'une Ig monoclonale.

biomnis – biomnis

Diminution

– Hémolyse intravasculaire ;

– insuffisance hépato-cellulaire, dénutrition ou fuite protéique.

Augmentation

– Syndrome inflammatoire (augmentation de l'haptoglobine et de l'alpha 2-macroglobuline) ;

– syndrome néphrotique : associée à une hypoalbuminémie, une protéinurie (> 3 g/l), une hypogammaglobulinémie et, parfois, une hyperbêtaglobulinémie (par augmentation de l'apo B).

β-globulines

Diminution

– Par insuffisance hépatocellulaire, dénutrition ou fuite protéique ;

– hypocomplémentémie C3 de consommation.

Augmentation

– Au cours des anémies ferriprives (hypertransferrinémie) ;

– parfois, augmentation modérée en cas de syndrome inflammatoire (hypercomplémentémie C3) ;

– une augmentation conjointe des gamma-globulines donnant sur le tracé un aspect de bloc beta-gamma évoque une cirrhose alcoolique (hyper IgA polyclonale observée dans cette situation).

Gamma-globulines

Diminution

– Physiologique chez le nourrisson ;

– déficits immunitaires primitifs isolés ou globaux ;

– secondaire à un traitement par corticoïdes, immunosuppressseurs, une chimio- ou une radiothérapie ;

– myélome à chaînes légères.

Augmentation

– Polyclonale au cours des pathologies infectieuses (bactériennes, parasitaires, virales (sida)…), hépatiques ou auto-immunes ;

– monoclonale associée à une gammapathie maligne (myélome multiple ou macroglobulinémie de Waldenström, LLC, lymphome) ou «bénigne» du sujet âgé.

L'étude des variations des différentes fractions protéiques permet de reconnaître certains syndromes pathologiques et est utile au suivi de leur évolution.

Les principales anomalies de l'électrophorèse sont rapportées dans le tableau ci-dessous.

		Protéines totales	Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Bêta	Gamma
Inflammation	aiguë		↓.N	↑	↑		↓.N
	subaiguë		↓.N	N	↑	N	N
	chronique		↓.N	↑	↑	N.↑	↑
Hépatite sévère		↓.N	↓↓	↓	↓	↓	↓
Cirrhose	compensée	↓.N.↑	↓↓		↓	↓	↓
	décompensée					Bloc Bêta-gamma	
Syndrome néphrotique		↓↓	↓↓		↑↑		↓.N
Hypo-ou α-globulinémie							↓↓↓
Gammapathie monoclonale		N.↑	↓	↓	↓	Pic homogène	
Hyper γ globulinémie		N.↑	↓				↑
Déperdition protéique		↓↓	↓↓	N.↑	N.↑	↓	↓N.↑
Déficit en α_1-AT				↓↓			

ANALYSE QUALITITATIVE DE L'ELECTROPHORESE

Bisalbuminémie

Dédoublement du pic d'albumine pouvant correspondre à une anomalie génétique (sans retentissement clinique notable) ou à une anomalie acquise (en cas de fistule pancréatique libérant des protéases qui dégradent l'albumine *in vivo* ou au cours d'un traitement par bêta-lactamines). Il peut aussi s'agir de la présence dans l'échantillon de triglycérides ou de pigments biliaires (avec une coloration jaune-verte caractéristique du sérum) en concentration importante, pouvant donner un aspect de bisalbuminémie.

Gammapathie monoclonale

La présence d'une bande étroite, migrant généralement au niveau des bêta ou des gamma-globulines, doit faire suspecter une immunoglobuline monoclonale, confirmée par immunofixation. Toutefois, l'absence de pic à l'électrophorèse ne suffit pas à exclure le diagnostic d'Ig mc, celle-ci pouvant être présente à une concentration inférieure au seuil de sensibilité de la technique. Dans tous les cas, une observation attentive s'impose : il faut notamment se méfier des hypogammaglobulinémies ou encore d'une chute brutale en position très cathodique (gamma distales) pouvant correspondre à une Ig mc.

L'augmentation relative de la fraction bêta-2 par rapport à la fraction bêta-1, en dehors d'un contexte de maladie inflammatoire, doit faire rechercher la présence d'une Ig mc.

Au cours du suivi des patients, l'électrophorèse reste actuellement la meilleure méthode pour quantifier l'Ig mc par intégration de la surface du pic, rendu en g/l.

Dédoublement dans la zone des alpha 2 globulines

Certains échantillons peuvent présenter un dédoublement dans la zone des alpha 2, selon le phénotype d'haptoglobine (non pathogène).

DIFFICULTES D'INTERPRETATION ET CAUSES D'ERREUR

Certaines protéines peuvent migrer sous la forme d'une bande étroite évoquant la présence d'une Ig mc

Fibrinogène : il se présente sous la forme d'un pic en gamma précoce. Il peut apparaître si le prélèvement est recueilli sur anticoagulant, ou s'il est insuffisamment

biomnis – biomnis

coagulé. Il convient dans ce cas, de répéter l'examen sur le surnageant de centrifugation de l'échantillon préalablement coagulé par addition de thrombine (la disparition du pic ou sa persistance permet de vérifier l'hypothèse).

Hémoglobine : en cas d'hémolyse, l'hémoglobine complexée à l'haptoglobine, migre sous la forme d'un pic étroit, généralement entre les alpha2 et les β-globulines, voire au-delà des β.

La C-réactive protéine, à concentration élevée (> 100 à 150 mg/l) peut apparaître sous la forme d'une bande étroite migrant en position bêta-2. Ainsi, si la CRP est très élevée, il convient de différer de quelques jours la réalisation d'une immunofixation (si le contexte clinique s'y prête).

Attention, un pic peut en cacher un autre. Chacune de ces anomalies peut masquer une véritable Ig mc. La confrontation avec les autres examens complémentaires peut être très utile.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Daunizeau A., *Électrophorèse des protéines du sérum*, Le Cahier de formation Biologie médicale n° 28, Bioforma, Paris, 2003: 26-46.
- Le Carrer D., *Électrophorèse, Immunofixation des protéines sériques*, Laboratoire Sebia, Hatier, 1994.
- Lissoir B., Wallemacq P., Maisin D., *Electrophorèse des protéines sériques : comparaison de la technique en capillaire de zone Capillarys® (Sebia) et de l'électrophorèse en gel d'agarose Hydrasis® (Sebia).* Ann Biol Clin 2003 ;61 n°5 :557-562.
- Szymanovicz A., Cartier B., Couaillac J.-P., et al, *Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques*, Ann Biol Clin 2006;64:367-380.

biomnis – biomnis
biomnis – biomnis
biomnis – biomnis