

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université de Constantine 3 - SALAH BOUBNIDER



Faculté de Médecine
Département de Pharmacie



Mémoire de Fin d'Étude en vue de l'Obtention du
Diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème :

L'électrophorèse des protéines urinaires : Approche technique et interprétative

Réalisée et présentée par :

DJEBLIA Aya

HOUARI Meriem Abir Djihene

Encadrée par :

Dr.BENATALLAH Anouare

(Maitre assistante en biochimie)

Membres de jury :

Présidente : Dr BOUKHALKHAL Amira

(Maitre assistante en biochimie)

Examinatrice : Dr BOUFAMA Aya

(Maitre assistante en biochimie)

Année universitaire : 2024-2025

Table des Matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figuresiv

Liste des tableaux.....v

Liste des abréviations.....vi

Chapitre 1 : Partie Théorique

Problématique.....1

Introduction2

I. Généralités sur l'électrophorèse des protéines2

1. Principe de l'électrophorèse2

2. Historique6

3. Les différentes techniques d'électrophorèse7

3.1. Électrophorèse sur papier et sur acétate de cellulose7

3.2. Électrophorèse sur gel d'agarose11

3.3. Focalisation Isoélectrique (IEF – Isoelectric Focusing)13

3.4. Électrophorèse Bidimensionnelle (2D-PAGE)14

3.5. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)16

3.6. Électrophorèse capillaire (CE)18

**4. Application de l'électrophorèse des protéines (différents milieux biologiques)
.....20**

4.1. Sérum20

4.2. LCR22

4.3. Urine24

II. L'électrophorèse des protéines urinaires

.....	25
1. Objectif du travail	25
2. Techniques d'électrophorèse utilisées pour la séparation des protéines urinaires	26
2.1. Électrophorèse capillaire (Capillarys®, Sebia)	26
2.2. Électrophorèse sur gel d'agarose	27
2.3. Électrophorèse sur acétate de cellulose	28
2.4. SDS-PAGE (électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS)	29
2.5. Électrophorèse bidimensionnelle (2D-PAGE)	30
3. Physiologie rénale.....	31
4. Protéinurie	34
4.1. Physiologique	34
4.2. Glomérulaire	36
4.3. Tubulaire	38
4.4. Mixte	39
4.5. De surcharge	40
5. Dosage des protéines urinaires	40
5.1. Les bandelettes urinaires	41
5.2. La méthode colorimétrique	41
5.3. La méthode turbidimétrique	42

Chapitre 2 : Partie Pratique

I. Les conditions pré analytiques.....43

1. Importance de la phase pré analytique	43
1.1. Étapes réalisées dans les services de soins	43
1.2. Acheminement de l'échantillon au laboratoire	43
1.3. Étapes réalisées au laboratoire	44
2. Recueil des urines	44

3.	Conservation des urines	46
4.	Concentration des urines	46
4.1.	Réalisation sur membrane	46
4.2.	Réalisation sur gel	47

II. Les conditions analytiques49

1.	Type d'étude	49
2.	Population d'étude et prélèvement	50
3.	Matériels et méthode	50
3.1.	Matériel de l'étude	50
3.1.1.	Architect ci8200	50
3.1.2.	Concentrateurs	51
3.1.3.	Centrifugeuse	53
3.1.4.	Système Capillarys Sebia	54
3.1.5.	Système Helena	55
3.1.6.	Système Sebia Hydrasis	56
3.1.7.	Autres matériels	57
3.2.	Méthode	58
3.2.1.	Sur Capillarys Sebia	58
3.2.2.	Sur Gel Helena	60

III. Résultats et discussion62

1.	Interprétation des cas	73
2.	Comparaison des deux techniques	78

Conclusion80

Références bibliographiques.....81

Résumé

Liste des Figures

Figure 1 : Appareillage pour l'électrophorèse sur papier.....	7
Figure 2 : Appareillage pour l'électrophorèse sur les bandes d'acétate de cellulose.....	9
Figure 3 : Electrophorèse de première dimension.....	15
Figure 4 : Electrophorèse de deuxième dimension.....	16
Figure 5 : Electrophorèse des protéines sériques.....	22
Figure 6 : Profil électrophorétique normal.....	36
Figure 7 : Architect ci8200.....	51
Figure 8 : Concentrateur.....	52
Figure 9 : Centrifugeuse.....	53
Figure 10 : Système Capillarys Sebia.....	54
Figure 11 : Electrophoresis Gel.....	56
Figure 12 : Hydrasis Sebia.....	57
Figure 13 : Matériels du Capillarys Sebia.....	60
Figure 14 : Matériels de la méthode sur Gel Helena.....	61
Figure 15 : Différents profils électrophorétiques obtenus lors de l'étude.....	72
Figure 16 : Deux pics monoclonaux obtenus en ELP sérique et en ELP urinaire.....	73
Figure 17 : Immunofixation urinaire.....	74
Figure 18 : Immunofixation sérique.....	74
Figure 19 : Profil d'ELP urinaire.....	75
Figure 20 : Profil d'ELP sérique.....	76
Figure 21 : Immunofixation urinaire.....	77
Figure 22 : Analyse comparative entre ELP Capillaire et ELP Gel.....	79

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les types de protéinurie.....	37
Tableau 2 : Les points différents entre gel urine et gel sérum.....	48
Tableau 3 : Analyse comparative des deux techniques.....	78

Résumé

La protéinurie est un marqueur biologique essentiel dans le diagnostic des pathologies rénales et des gammapathies monoclonales. Sa caractérisation repose sur des méthodes de séparation telles que l'électrophorèse des protéines urinaires. Deux techniques principales de référence sont utilisées : l'électrophorèse capillaire automatisée (Sebia) et l'électrophorèse sur gel d'agarose (Helena). Ce travail vise à maîtriser les techniques et l'interprétation des profils électrophorétiques obtenus et comparer ces deux méthodes sur le plan analytique et diagnostique pour une meilleure optimisation.

L'étude a porté sur des échantillons d'urines de 24 heures de patients collectés auprès des services.

Ces échantillons ont été analysés par les deux techniques. L'électrophorèse capillaire a été réalisée sur automate Capillarys 2 Flex Piercing® (Sebia), tandis que l'électrophorèse sur gel d'agarose a été effectuée à l'aide du système Helena®. Les profils obtenus ont été interprétés qualitativement, en identifiant les types de protéinurie : glomérulaire, tubulaire, mixte ou de surcharge.

Les deux techniques ont permis une séparation des protéines urinaires, mais avec des différences notables. L'électrophorèse capillaire a offert une meilleure résolution des pics et une automatisation complète, facilitant l'interprétation. En revanche, la méthode sur gel d'agarose, bien qu'un peu plus artisanale, permet une visualisation directe des bandes protéiques. Dans les cas de myélome, la détection de chaînes légères libres était plus nette avec l'électrophorèse capillaire. Quelques divergences ont été observées dans la typage de protéinuries mixtes.

L'électrophorèse capillaire se distingue par sa rapidité, sa sensibilité et sa reproductibilité, ce qui la rend adaptée aux laboratoires de routine spécialisés. L'électrophorèse sur gel d'agarose reste utile en contexte pédagogique ou dans des laboratoires disposant de moyens limités. La complémentarité des deux méthodes peut être envisagée dans certaines situations diagnostiques complexes. L'interprétation des profils doit toujours être corrélée au contexte clinique et biologique du patient.

Mots-clés

Protéinurie , électrophorèse capillaire, électrophorèse sur gel, chaînes légères libres, gammapathie monoclonale, profil normal.

Abstract

Proteinuria is an essential biological marker in the diagnosis of kidney diseases and monoclonal gammopathies. Its characterization relies on separation methods such as urinary protein electrophoresis. Two main reference techniques are used: automated capillary electrophoresis (Sebia) and agarose gel electrophoresis (Helena).

This work aims to master both techniques and the interpretation of electrophoretic profiles obtained, and to compare the two methods analytically and diagnostically for optimal application.

The study focused on 24-hour urine samples collected from patients in various hospital departments. These samples were analyzed using both techniques. Capillary electrophoresis was performed with the Capillarys 2 Flex Piercing® (Sebia) system, while agarose gel electrophoresis was carried out using the Helena® system. The obtained profiles were qualitatively interpreted to identify the types of proteinuria: glomerular, tubular, mixed, or overflow.

Both techniques allowed separation of urinary proteins but showed notable differences. Capillary electrophoresis provided better peak resolution and full automation, facilitating interpretation. In contrast, the agarose gel method, although more manual, allowed for direct visualization of protein bands. In cases of myeloma, the detection of free light chains was clearer with capillary electrophoresis. Some discrepancies were noted in the typing of mixed proteinurias.

Capillary electrophoresis stands out for its speed, sensitivity, and reproducibility, making it suitable for use in specialized routine laboratories. Agarose gel electrophoresis remains useful in educational contexts or in laboratories with limited resources. The complementarity of both techniques can be considered in complex diagnostic situations. Interpretation of profiles must always be correlated with the clinical and biological context of the patient.

Key words

Proteinuria, capillary electrophoresis, gel electrophoresis, free light chains, Monoclonal gammopathy, urine analysis, normal profile.

الملخص

البروتينوريا هي مؤشر بيولوجي أساسي في تشخيص أمراض الكلى والغماباثيات وحيدة النسيلة. ويعتمد تحديد نوعها على تقنيات الفصل مثل الرحلان الكهربائي لبروتينات البول. وتستخدم طريقتان مرجعيتان أساسيتان: الرحلان الكهربائي (Helena) والرحلان الكهربائي على هلام الأجاروز (Sebia) الشعري المؤتمت.

يهدف هذا العمل إلى إتقان هاتين التقنيتين وتفسير الأنماط الكهربائية الناتجة، ومقارنة الطريقتين من الناحية التحليلية والتشخيصية لتحقيق أفضل استخدام ممكن.

شملت الدراسة عينات بول مجمعة على مدار 24 ساعة من مرضى تم جمعها من مختلف المصالح الاستشفائية. وقد تم تحليل هذه العينات باستخدام الطريقتين. حيث أجري الرحلان الكهربائي الشعري باستعمال جهاز Capillarys 2 Flex وقد تم تفسير Helena® ، أما الرحلان الكهربائي على هلام الأجاروز فقد تم باستخدام نظام Piercing® (Sebia) الأنماط المحصل عليها نوعياً بهدف تحديد أنواع البروتينوريا: كُبيبية، نُبيبية، مختلطة أو ناتجة عن فرط التحميل.

مكننا الطريقتان من فصل بروتينات البول، لكن مع وجود اختلافات ملحوظة. فقد وفر الرحلان الكهربائي الشعري دقة أفضل في فصل الذرى الألكترونية وأتمتة كاملة، مما سهل عملية التفسير. في المقابل، رغم أن طريقة الهلام الأجاروز تعتبر أكثر يدوية، إلا أنها تسمح بالملاحظة المباشرة للأشرطة البروتينية.

وفي حالات المايلوما، كانت سلاسل الكابا واللامدا الحرة أكثر وضوحاً في الرحلان الكهربائي الشعري. كما تم تسجيل بعض الاختلافات في تصنيف البروتينوريات المختلطة.

يتميز الرحلان الكهربائي الشعري بالسرعة والحساسية وإمكانية إعادة الإنتاج، مما يجعله مناسباً للمخابر الروتينية المتخصصة. أما الرحلان الكهربائي على هلام الأجاروز، فلا يزال مفيداً في السياقات التعليمية أو في المخابر ذات الإمكانيات المحدودة. ويمكن الاعتماد على التكامل بين الطريقتين في بعض الحالات التشخيصية المعقدة. ويجب دائماً ربط تفسير الأنماط بالسياق السريري والبيولوجي للمريض.

الكلمات المفتاحية

الرحلان الكهربائي الشعري، الرحلان الكهربائي على الهلام، سلاسل خفيفة حرة، الاضطراب الوحيد النسيلة للغلوبولينات، تحليل البول، النمط الطبيعي.