



A L'HEURE DE LA PROTEINE C-REACTIVE, QUELLE PLACE POUR L'ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES DANS L'EXPLORATION DU SYNDROME INFLAMMATOIRE BIOLOGIQUE EN MILIEU PEDIATRIQUE AU TOGO ?

KOLOU MALEWE^{1,2*}, FETEKE LOCHINA³, SABI-ISSA ABDUL-RAOUF², NADJIR LIZA^{2,3}, HALATOKO AFIWA WEMBOO⁴, BAKONDE BAKOE⁵, PRINCE-DAVID MIREILLE².

¹ Service des Laboratoires du CHU Campus de Lomé, Togo.

² Laboratoire de Biologie Moléculaire et d'Immunologie de la Faculté des Sciences de la Santé de l'Université de Lomé (BIOLIM-FSS/UL), Togo.

³ Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS), Lomé, Togo.

⁴ Institut National d'Hygiène (INH), Lomé, Togo.

⁵ Service de Pédiatrie du CHU Campus, Lomé, Togo.

*Auteur correspondant : Kolou Maléwé ★ [E-mail: koloumalewe@hotmail.fr](mailto:koloumalewe@hotmail.fr) ★ Adresse postale : 13 BP 378 Lomé

★ [Téléphone : +228 90106600](tel:+22890106600).

RESUME

Dans les pays aux ressources limitées comme ceux de l'Afrique subsaharienne, l'accès à un bon diagnostic d'orientation en cas de suspicion d'un syndrome inflammatoire biologique (SIB) reste faible surtout en situation d'urgence. **Objectif** : déterminer la place à réserver à l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) dans l'exploration du SIB au moment où l'on dispose du dosage de la protéine C-réactive (CRP). **Matériel et méthodes** : Nous avons mené une étude transversale analytique du 1^{er} Août au 31 octobre 2012 au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Campus de Lomé. Un dosage de la CRP et une EPS ont été réalisés chez des enfants de moins de 15 ans, fébriles. La CRP a été dosée par méthode semi-quantitative par agglutination de particules de latex sur plaque alors que l'EPS a été réalisée sur plaque d'acétate de cellulose. Nous avons analysé la capacité de ces deux examens à détecter un SIB en fonction de la durée d'évolution de la maladie.

Résultats : Cent sept enfants ont été inclus dans cette étude. La sex-ratio était de 1,1 avec 53,3% de garçons contre 46,7% de filles et une moyenne d'âge de 3,7±3,4 ans. Le taux global de positivité pour la détection d'un SIB était de 45,8% pour l'EPS et celui de la CRP était de 48,6%. L'analyse du taux de positivité de ces deux examens en fonction de la durée de la maladie montre une évolution en sens inverse. En effet, pour les prélèvements effectués précocement (moins de 24 heures après le début de la fièvre), la CRP détecte un SIB dans 65,9% des cas alors que l'EPS ne le détecte que dans 46,3% des cas. Pour les échantillons prélevés dans un délai moyen (deux à quatre jours après le début de la fièvre), les taux de positivité des deux examens se rapprochent avec 43,1% pour l'EPS et 41,4% pour la CRP. Enfin, pour les échantillons prélevés tardivement (au-delà du quatrième jour après le début de la fièvre), le taux de positivité de l'EPS devient plus élevé (62,5%) que celui de la CRP (12,5%). **Conclusion** : Il est préférable d'utiliser la CRP pour la recherche d'un SIB aigu et réserver l'EPS non seulement à l'exploration tardive d'un SIB aigu mais également à l'exploration du SIB chronique.

Mots clés : Protéine C-réactive, électrophorèse des protéines sériques, syndrome inflammatoire biologique, Togo.

ABSTRACT

What place for the serum protein electrophoresis in the Exploration of Biological Inflammatory Syndrome in Pediatric field in Togo at a time when C-reactive protein is available?

In countries with limited resources such as those in sub-Saharan Africa, the availability of a good guidance diagnosis of biological inflammatory syndrome (BIS) remains low especially in emergency situation. **Objective**: To determine the place to be reserved for serum protein electrophoresis (SPE) in the exploration of BIS as the C-reactive protein (CRP) is now available. **Methods**: We carried out an analytical cross-sectional study from August 1st to October 31, 2012 at the Campus Teaching Hospital of Lomé. The dosage of CRP and the SPE were assessed in children under 15 years old with fever. The dosage of CRP was done by semi-quantitative method using latex particle agglutination while the SPE was performed on a cellulose acetate plate. We analyzed the ability of these two tests to detect a BIS according to the duration of the disease. **Results**: One hundred and seven children were included in this study. The sex-ratio was 1.1 with 53.3% of boys versus 46.7% of girls and an average age of 3.7 ± 3.4 years. The overall positivity rate for the detection of the BIS was 45.8% for SPE and that of the CRP was 48.6%. The analysis of the positivity rate of these two tests according to the duration of the disease shows an evolution in opposite direction. Indeed, for the samples taken early (less than 24

hours after the onset of the fever), the CRP detects a BIS in 65.9% of cases, whereas SPE only detects it in 46.3% of cases. For samples taken within an average timeframe (two to four days after the onset of the fever), the positivity rates of the two tests were similar with 43.1% for SPE and 41.4% for CRP. Finally, for the samples taken later (beyond four days after the onset of fever), the SPE positivity rate was higher (62.5%) than that of the CRP (12.5%). **Conclusion** : It is preferable to use CRP for the search for an acute BIS and to reserve SPE not only for the late exploration of an acute BIS but also for the exploration of chronic BIS.

Key words: C-reactive protein, serum protein electrophoresis, biological inflammatory syndrome, Togo.

INTRODUCTION

Le syndrome inflammatoire biologique (SIB) est accessible par diverses méthodes dont l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) et le dosage de la protéine C-Réactive (CRP). L'EPS a été développée par A. Tiselius en 1930 [1]. La même année, Tillett et Francis isolaient la CRP [2] qui ne commencera à être utilisée en routine qu'en 1977 dans le diagnostic et la surveillance des maladies dont les manifestations incluent un SIB. L'élévation de la CRP est plus significative au cours d'une infection bactérienne qu'au cours d'une infection virale ou d'une parasitose [3,4]. En pratique hospitalière, la clinique est parfois peu informative sur l'origine d'une fièvre et les examens paracliniques nécessitent malheureusement le plus souvent un délai d'attente relativement long avant l'obtention des résultats [5]. Ceci peut retarder la mise en route d'un traitement urgent et souvent, les patients vont être traités à l'aveugle pendant plusieurs jours.

Le dosage de la CRP est utilisé dans les pays développés en cabinet médical directement par le médecin pendant la consultation comme un examen de biologie médicale délocalisée. Ceci permet au praticien d'obtenir un résultat rapide par un simple prélèvement de sang capillaire et avec une valeur équivalente à celle obtenue par un laboratoire d'analyses médicales [6-11]. Un tel dosage sur sang capillaire présente d'énormes avantages en pédiatrie [12] où les urgences infectieuses sont fréquentes.

Au Togo, l'usage de la CRP connaît un engouement récent de la part des praticiens, en particulier les pédiatres. Ce dosage est souvent utilisé de façon concomitante avec d'autres examens comme la vitesse de sédimentation globulaire et l'EPS. Dans les pays tropicaux aux ressources limitées et au moment où le dosage de la CRP devient de plus en plus accessible, la présente étude a été initiée en vue de déterminer la place à réserver à l'EPS par rapport à la CRP dans un contexte fébrile chez un enfant. Les objectifs spécifiques étaient de déterminer le taux de

positivité de la CRP et de l'EPS dans la détection d'un SIB chez les enfants fébriles et d'analyser ce taux de positivité en fonction de la durée d'évolution de la maladie.

MATERIEL ET METHODES

Une étude transversale analytique a été menée sur une période de 3 mois (1^{er} Août au 31 octobre 2012) au CHU Campus de Lomé où les patients ont été recrutés dans le service de pédiatrie et les examens biologiques réalisés dans le service des Laboratoires. Cette étude a inclus des enfants des deux sexes, âgés de 15 ans au maximum, ayant présenté à leur admission une fièvre avec une température supérieure à 37°C et dont les parents ont donné un consentement éclairé. L'âge, le sexe, la température à l'admission et la durée d'évolution de la fièvre ont été recueillis puis un prélèvement de sang veineux a été réalisé sur tube sans anticoagulant.

Après centrifugation, le sérum a été recueilli pour le dosage de la CRP et pour l'EPS. La CRP a été dosée dans un délai maximal de quatre heures après le prélèvement alors qu'une aliquote de 500 microlitres du sérum a été conservée au congélateur à -20°C pendant 1 mois au maximum pour la réalisation de l'EPS. Soixante-cinq enfants dont les échantillons sanguins étaient hémolysés, lactescents, opalescents ou insuffisants pour réaliser à la fois le dosage de la CRP et l'EPS ont été exclus de l'étude.

La CRP a été dosée par agglutination sur plaque avec le CRP Latex Kit (Atlas Medical, Cambridge, UK). Les particules de latex sont sensibilisées par des anticorps de mouton dirigés contre la CRP humaine. Il s'agit d'une technique semi-quantitative en deux temps. Le premier temps est qualitatif et consiste à mélanger sur une plaque, 50µl du sérum à tester (mais aussi des contrôles positif et négatif incorporés du kit) avec 50µl du réactif CRP-latex puis on met à agiter pendant deux minutes. A l'issue, l'observation d'une agglutination indique que l'échantillon contient de la CRP à une concentration égale ou supérieure à 6 mg/l (seuil de détection). Pour

ces échantillons dits positifs, le deuxième temps du dosage est appliqué et consiste à faire une estimation semi-quantitative de la concentration de CRP dans l'échantillon en réalisant une série de dilutions de moitié de l'échantillon avec une solution de NaCl à 9‰ puis on procède pour chaque dilution de la même manière que la méthode qualitative. La concentration approximative de CRP est obtenue en multipliant le titre de la dernière dilution qui donne un résultat positif avec le seuil de détection qui est de 6 mg/l.

En ce qui concerne l'EPS, nous avons effectué une migration du sérum sur plaque d'acétate de cellulose. La révélation a été ensuite réalisée en plusieurs étapes : fixation par l'acide acétique, coloration par le Rouge Ponceau, lavages dans l'acide acétique à 5%, transparisation dans le méthanol et séchage au four. A l'issue, on obtient 5 bandes correspondant de l'anode vers la cathode à l'albumine et aux 4 familles de globulines (alpha-1, alpha-2, bêta et gamma).

Dans une approche quantitative, la protidémie totale a été dosée sur l'automate *Lysa-500 Plus* par la méthode colorimétrique de Biuret.

La lecture des plaques d'acétate de cellulose a été faite avec la plateforme Platinum de Helena qui comprend un scanner relié à un ordinateur sur lequel est installé un logiciel d'intégration de la plaque. Cette plateforme permet d'obtenir une image scannée de la plaque, la courbe électrophorétique, le pourcentage de chacune des 5 classes de protéines et le poids en g/l de chaque classe de protéines.

Les données obtenues ont fait l'objet d'une saisie informatique à l'aide du logiciel Excel 2007 puis exportées vers le logiciel Epi-Info™7 pour analyse. Pour la CRP, le SIB a été défini par une concentration supérieure ou égale à 12 mg/l. Pour l'EPS, le SIB a été défini par une augmentation des alpha-globulines (α 1-globulines > 3 g/l et α 2-globulines > 12 g/l).

RESULTATS

Cent sept enfants dont 57 (53,3%) garçons et 50 (46,7%) filles soit une sex-ratio de 1,1 ont été inclus dans cette étude. L'âge moyen des patients était de $3,7 \pm 3,4$ ans avec des extrêmes de 1 jour et 14 ans. Les données socio-démographiques et cliniques sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Données socio-démographiques et cliniques de la population d'étude.

		Effectif	Pourcentage
Sexe[™]	Masculin	57	53,3
	Féminin	50	46,7
	Total	107	100
Age[¥]	0-30 jours	7	6,5
	31 jours – 5 ans	68	63,6
	5-10 ans	26	24,3
	10-15 ans	6	5,6
	Total	107	100
Durée d'évolution de la fièvre^Φ	Moins de 24 heures	41	38,3
	Du 2 ^{ème} au 4 ^{ème} jour	58	54,2
	Au-delà du 4 ^{ème} jour	8	7,5
	Total	107	100

[™] concernant le sexe, sex-ratio M/F = 1,1.

[¥] Concernant l'âge, moyenne = $3,7 \pm 3,4$ ans, minimum = 1 jour, maximum = 14 ans.

^Φ Concernant la durée d'évolution de la maladie, moyenne = $2,5 \pm 2,4$ jours, minimum = 1 jour, maximum = 19 jours.

Un SIB a été retrouvé chez 52 (48,6%) patients sur la base de la CRP contre 49 (45,8%) sur la base de l'EPS (tableau 2).

Tableau 2 : Résultats de l'EPS et du dosage de la CRP en fonction de la durée d'évolution de la maladie.

		< 24 heures n(%)	2-4 jours n(%)	Plus de 4 jours n(%)	Total ligne n(%)
EPS^ψ	EPS- ^χ	22 (53,7)	33 (56,9)	3 (37,5)	58 (54,2)
	EPS+ ^ζ	19 (46,3)	25 (43,1)	5 (62,5)	49 (45,8)
	TOTAL colonne	41 (100)	58 (100)	8 (100)	107 (100)
CRP^ψ	CRP- ^χ	14 (34,2)	34 (58,6)	7 (87,5)	55 (51,4)
	CRP+ ^ζ	27 (65,8)	24 (41,4)	1 (12,5)	52 (48,6)
	TOTAL colonne	41 (100)	58 (100)	8 (100)	107 (100)

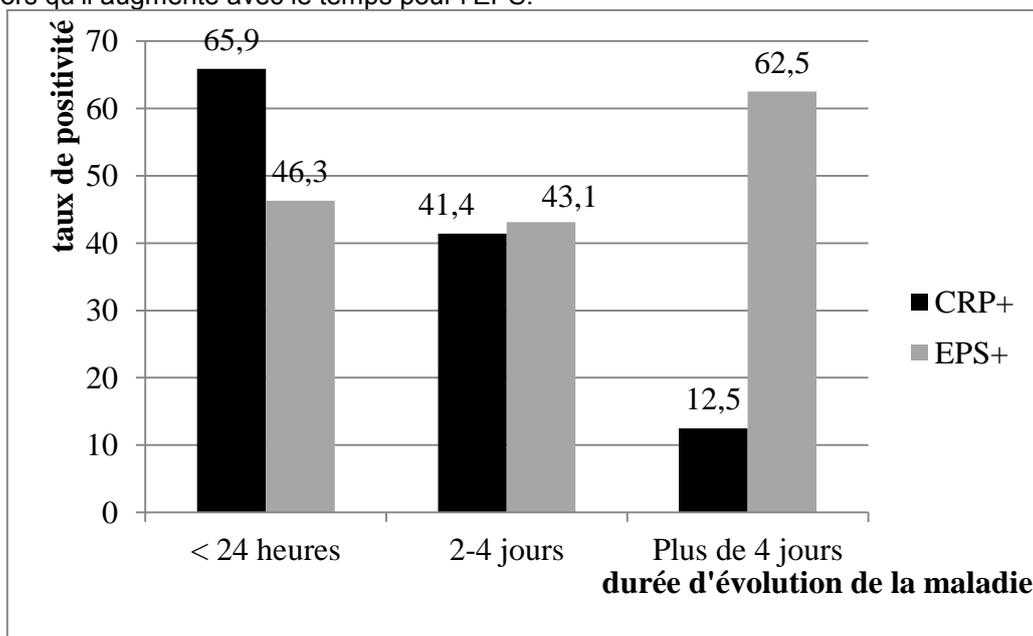
^ψ pour chacun des examens, les pourcentage ont été calculés pour chaque colonne en prenant comme dénominateur le total colonne qui correspond au nombre total d'échantillons prélevés dans un délai de temps correspondant à la tête de colonne.

^χ EPS- ou CRP- signifie que l'EPS ou la CRP a permis de conclure à l'absence d'un syndrome inflammatoire biologique.

^ζ EPS+ ou CRP+ signifie que l'EPS ou la CRP a permis de conclure à la présence d'un syndrome inflammatoire biologique.

L'étude du taux de positivité de ces deux examens en fonction de la durée d'évolution de la maladie a montré une évolution en sens inverse.

La figure 1 illustre cette évolution en montrant que le taux de positivité diminue avec le temps pour la CRP alors qu'il augmente avec le temps pour l'EPS.



CRP+ signifie que la CRP a permis de conclure à la présence d'un syndrome inflammatoire biologique. EPS+ signifie que l'EPS a permis de conclure à la présence d'un syndrome inflammatoire biologique.

Figure 1 : Comparaison des taux de positivité de l'EPS et de la CRP en fonction de la durée d'évolution de la maladie.

DISCUSSION

La population d'étude comptait 70% d'enfants de moins de 5 ans dont 7 nouveau-nés. Puisqu'elle ne traverse pas la barrière placentaire, la CRP présente un intérêt particulier en permettant en période néonatale, de différencier une inflammation d'origine maternelle d'une inflammation propre au nouveau-né [3,13].

Le dosage de la CRP est réalisé plus ou moins précocement après le début de des symptômes puisque ce dosage est fait en moins de 24 heures dans 38,3% des cas et entre le deuxième et le quatrième jour dans 54,2% des cas. La CRP étant une protéine de la phase aiguë de l'inflammation, son dosage précoce est utile du fait de sa cinétique et ce dosage est un examen d'urgence permettant de prendre une décision thérapeutique adaptée. Elle permet essentiellement d'écarter des infections bactériennes graves quand sa valeur est basse [14].

La CRP était indétectable chez 45,8% des enfants fébriles. Ceci ne signifie en aucun cas une mauvaise sensibilité de cet examen. Il s'agit tout simplement du fait que le paludisme représente la première cause de fièvre dans notre contexte. Au cours de cette parasitose, la CRP n'augmente en principe pas. En général, pour ne pas perdre du temps, les pédiatres demandent concomitamment le dosage de la CRP et une goutte épaisse à la recherche d'un paludisme. Ceci leur permet de démarrer en urgence soit un traitement antipalustre ou soit une antibiothérapie à large spectre lorsqu'aucun foyer infectieux évident n'est retrouvé. Il est important de souligner aussi que les causes virales ne sont pas négligeables en matière de fièvre chez l'enfant.

Au seuil de 12 mg/l, la CRP a révélé la présence d'un syndrome inflammatoire dans 48,6% des cas. Avec l'EPS, un syndrome inflammatoire a été détecté dans 45,8% des cas. Ces deux taux globaux de positivité sont voisins mais la différence de performance se dégage nettement lorsqu'on analyse les taux de positivité en fonction de la durée d'évolution de la maladie. Pour les échantillons prélevés dans les 24 heures suivant le début de la fièvre, la CRP a permis de détecter un SIB dans 65,8% des cas alors que l'EPS ne l'a détecté que dans 46,3% des cas. Cette tendance évolue en s'inversant si bien qu'au-delà du quatrième jour d'évolution de la maladie, les taux de positivité passent à 12,5% seulement pour la CRP contre 62,5% pour

l'EPS. Il en ressort donc qu'à l'opposé de la CRP, l'EPS est un mauvais examen pour apprécier le SIB aigu. Par contre, l'EPS reste plus valable que la CRP dans l'exploration d'un syndrome inflammatoire chronique. En plus, l'interprétation de l'EPS est plus difficile que celle de la CRP [15].

On peut donc dire que pour l'urgence thérapeutique, la CRP reste le meilleur examen mais l'EPS garde sa valeur lorsqu'il s'agit d'explorer tardivement un SIB aigu ou les maladies responsables de SIB chronique comme les maladies du système ou les tumeurs. Par ailleurs, l'EPS donne un panorama sur les autres protéines et son utilisation ne saurait se limiter à l'étude du SIB. Le rôle de l'EPS dans le dépistage des gammopathies, y compris les gammopathies monoclonales, demeure d'ailleurs incontestable à ce jour [16].

Le marqueur idéal pour explorer une réaction inflammatoire aiguë doit avoir les qualités suivantes : rapport exclusif avec la réaction inflammatoire, non lié à la cause de l'inflammation, cinétique rapide, augmentation significative pour une réaction inflammatoire modérée, augmentation proportionnelle au degré de la réaction immunitaire, dosage facile, reproductible, standardisable et coût modéré. La CRP semble réunir la majorité de ces qualités. Par contre, l'EPS souffre des contraintes liées à la longueur de sa réalisation, à la nécessité de multiples équipements et réactifs et surtout à la difficulté de son interprétation. En pratique courante, le résultat du dosage de la CRP est disponible le jour même du prélèvement alors que pour l'EPS il faut attendre en moyenne une semaine pour obtenir les résultats.

Enfin, pour augmenter la valeur diagnostique de la CRP dans notre contexte d'exercice, il semble nécessaire que des études soient menées dans le but d'établir les valeurs de référence de ce paramètre. En effet, les normes que nous utilisons à ce jour proviennent d'études sur des populations caucasiennes et lorsqu'on sait que beaucoup de maladies infectieuses sont endémiques dans nos régions tropicales, il est impératif d'établir des normes propres à nos populations. Ceci est d'autant plus vrai que des études ont prouvé que les valeurs normales de la CRP chez les Asiatiques seraient plus basses que les normes caucasiennes.

CONCLUSION

Compte tenu des contraintes techniques de réalisation de l'EPS, du délai d'obtention des résultats qui est largement plus long que celui de la CRP, de la nécessité de prendre une décision thérapeutique urgente en cas de fièvre et surtout des difficultés d'interprétation de l'EPS, il apparaît plus judicieux de préférer le dosage de la CRP pour la recherche d'un SIB aigu car la CRP est plus précoce dans la détection du SIB. Néanmoins, l'EPS ne deviendrait pas pour autant un examen désuet pour apprécier le SIB puisque cette étude nous a montré que lorsque la maladie évolue depuis plus de 4 jours, le taux de positivité de l'EPS supplante celle de la CRP. L'EPS doit donc être réservée non seulement à une exploration tardive du SIB aigu mais également à l'exploration des maladies responsables d'un SIB chronique comme les maladies du système et les tumeurs.

REFERENCES

1. Tiselius A. The moving boundary method of studying the electrophoresis of proteins. *Nova Acta Soc. Sci. upsal.* 1930 ; 7 (4).
2. Tillet WS, Francis T Jr. Serological reactions in pneumonia with non protein somatic fraction of *pneumococcus*. *J Exp Med.* 1930; 52:561-71.
3. Mauris A, Morandi PA, Borghini T, Deom A. CRP/VS, fiche technique OMS, 2005.
4. Frigerio C, Spertini F. L'intérêt clinique des protéines de la phase aiguë. *Médecine et Hygiène* 1994 ; 52. 1706-13
5. Baudy C. Intérêt du dosage de la protéine C-réactive par microméthode dans la prise en charge de l'enfant fébrile sans point d'appel infectieux : étude prospective de 95 patients. Thèse de doctorat d'Etat en Médecine ; Université Paris 5 ; 2008.
6. Caflisch M. La protéine C-réactive et l'état fébrile sans foyer chez l'enfant de moins de 24 mois. *Médecine et hygiène* 2000 ; 58 :366-70.
7. Cohen R, Romain O, Levy C et al. Impact of CRP rapid test in management of febrile children in paediatric emergency units of Ile-de-France. *Arch Pediatr.* 2006 Dec; 13 (12) : 1566-71.
8. Hobbs FD, Kenkre JE, Carter YH. et al. Reliability and feasibility of a near patient test for C-reactive protein in primary care. *Br J Gen Pract.* 1996 July; 46(408): 395-400.
9. Dahler-Eriksen BS, Lauritzen T. et al. Evaluation of a near-patient test for C-reactive protein used in daily routine in primary healthcare by use of difference plots. *Clin Chem.* 1997 Nov; 43(11): 2064-75.
10. Hjortdahl P, Landaas S, Urdal P, Steinbakk M, Fuglerud P, Nygaard B. C-reactive protein: a new rapid assay for managing infectious disease in primary health care. *Scand J Prim Health Care.* 1991 Mar; 9(1): 3-10.
11. Monteny M, ten Brinke MH, van Brakel J, de Rijke YB, Berger MY. Point-of-care CRP testing in febrile children in general practice. *Clin Chem. Lab Med.* 2006 Dec; 44 (12):1428-32.
12. Evrard B, Roszyk L, Fattal S, Dastugue B, Sapin V. Evaluation of rapid, semi quantitative assay of C-reactive protein in whole blood, Actim CRP. *Ann Biol Clin (Paris).* 2005 Sept-Oct; 63(5): 523-9.
13. Najib J, Bouharrou A, Abid A. Intérêt du dosage de la C. réactive protéine (C.R.P) dans différentes pathologies infectieuses. *Revue marocaine de Médecine et Santé.* 1996 ; 18(1) : 65-71
14. Beau V, Partouche H, membres de SFTG Paris-Nord. Exploration de la réaction inflammatoire en médecine générale. *SFTG Paris-Nord* 2000 Juin.
15. Onraed B, Faucompre JL, Hennache B. Interpretation difficulties in serum proteins electrophoresis: case of CRP. *Ann Biol Clin (Paris).* 1999 Mar-Apr; 57(2):224-8.
16. Lee AY, Cassar PM, Johnston AM, Adelstein S. Clinical use and interpretation of serum protein electrophoresis and adjunct assays. *Br J Hosp Med (Lond).* 2017 Feb 2; 78(2):C18-C20. doi: 10.12968/hmed.2017.78.2.C18.