UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE

PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :
Biologie & Santé

L'anémie hypochrome microcytaire par carence martiale

Présenté par : El Halimi Sakina

Encadré par :
FSTF : EL ABIDA KAOUAKIB
CHU. Fès : EL AMRANI MONCEF

Soutenu le : 14/6/2011
Devant le jury composé de :

- Dr. K.EL ABIDA : Président
- Dr. M.EL AMRANI : Encadrant
- Dr. R.BENCHEIKH : Examinateur

Année Universitaire : 2010-2011

Description du lieu de stage

Le centre hospitalier universitaire (CHU HSSAN II) de Fès, a été réalisé de nature à promouvoir un nouveau pôle sanitaire et médical au service du développement régional, à réduire la pression sur les unités hospitalières au service du développement régional, à réduire la pression sur les unités hospitalières de Rabat et Casablanca et à croitre les capacités universitaires régionales.

Ce complexe comprend un hôpital de spécialités, un hôpital Mère enfant, un bloc opératoire, une salle de diagnostic, un pavillon de consultation externes et un laboratoire central.

Le laboratoire central d'analyse médicales est situé au bâtiment J est conçu comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités médicales. Il se compose de :

- Salle de réception.
- Salle de prélèvements.
- Laboratoire de biochimie/pharmacotoxicologie.
- Laboratoire d'hématologie.
- Laboratoire de bactériologie/immunologie.
- Laboratoire de parasitologie.
- Laboratoire de génétique.
- Laboratoire d'anatomie pathologique.

Le Laboratoire d'hématologie au sein duquel j'ai effectué mon stage de fin d'étude est constitué de trois secteurs principaux :

- Le premier secteur, dit : cellulaire, a pour fonction d'identifier et de caractériser les cellules présentes dans le sang et la moelle osseuse.

Outre l'analyse de Numérations Formules Sanguines (NFS), ce secteur est tout particulièrement spécialisé dans le diagnostic des leucémies et autres cancers hématologiques.

- Le second secteur du laboratoire, dit : hémostase, a pour fonction d'évaluer les anomalies à risque d'hémorragie ou de thrombose.

- Le troisième secteur du laboratoire, dit, lecture des résultats, pour les lectures des frottis sanguins.

Abbreviation

CHU: Centre Hospitalier Universitaire.
OMS: Organisation mondiale de la santé.
Hb : Hémoglobine.
VGM: Volume globulaire moyen.
TCMH: Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.
CCMH: Concentration corpusculaire moyen en hémoglobine.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
ARN : Acide ribonucléique.
ARNt : Acide ribonucléique de transfert.
CFU-E: Colony forming unit érythroides.
DMT1: divalent metal transporter 1.
Nramp2: natural resistance-associated macrophage protein2.
FL : Femtolitre.
PG : Picogramme.
µg : microgramme.
MGG : May-Grunewald Geimsa.

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique.

Introduction

L'anémie est le problème de santé publique le plus fréquent dans le monde. Elle s'exprime quand le taux d'hémoglobine circulant dans le sang est bas.
Les limites fixées par l'organisation mondiale de la santé (OMS) sont respectivement 13 g/dl pour les hommes et 12 g/dl pour les femmes. A noter que le seuil préconisé pour les femmes enceintes est de 11 g/dl.
Les carences en fer, folate et vitamines B12 représentent les causes principales de l'apparition de l'anémie. Ces carences sont définies en fonction de l'âge, du sexe et de différentes conditions physiologiques particulières comme la grossesse [1].
On peut classer les anémies de plusieurs façons. Une classification d'un point de vue physiologique, à savoir les anémies dues à une baisse de production des globules rouges l'anémie ferriprive et les anémies mégaloblastiques (carence en vitamine B12 ou carence en folate) et une classification pathologiques comme les anémies dues à une destruction des globules rouges: l'anémie hémolytique.
Les conséquences de l'anémie sont multiples et variées. Parmi lesquelles le retard de croissance et la perturbation du développement mental et cognitif, chez les enfants [2].
Chez les adultes, la fatigue et la diminution de la productivité sont généralement rapportées [3].

Revue bibliographique

Objectif du travail:

Notre travail a pour objectif de savoir diagnostiquer les anémies hypochromes microcytaires par carence martiale et étudier les caractéristiques biologiques de ces anémies.

I- Les anémies hypochromes microcytaires

I-1-Définition

Les anémies hypochromes microcytaires sont les anémies les plus fréquentes, elles se définissent par un taux d'hémoglobine (Hb) circulant, un volume globulaire moyen des globulaires rouges (VGM) et un teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) inferieur à la normale. Les anémies hypochromes microcytaires relèvent de façon constante d'un défaut de synthèse de l'hémoglobine. La microcytose résulte de la poursuite dans la moelle osseuse de mitoses d'érythroblastes insuffisamment chargés en Hb (hypochrome), d'où la production des globules rouges de petite taille.

I-2-Classification

Les anémies hypochromes microcytaires sont de trois types, à savoir :

- Les anémies ferriprives

Il s'agit de la forme la plus répondue. L'anémie ferriprive est une anémie caractérise par une déplétion des réserves de fer dans l'organisme.

Les anémies inflammatoires

Diminution du taux d'Hb dans le sang due à un état inflammatoire sous-jacent (cancer, maladie rhumatismale, maladie infectieuse). Elle est la conséquence d'une insuffisance de l'érythropoïèse provoquant la déviation et la séquestration du fer dans les macrophages.

Les thalassémies

Les thalassémies sont des maladies héréditaires de l'hémoglobine caractérisées par la diminution ou l'absence de production de l'une des chaînes de globine normale (Le plus souvent α ou β) : α thalassémie ou β thalassémie [4].

II- L'épidémiologie

II- 1- les anémies ferriprives

Selon l'OMS, environ 25 % de la population mondiale souffre d'anémie [5]. La moitié de ces cas serait attribuable à une carence en fer. En Amérique du Nord, l'anémie ferriprive touche environ 20 % des femmes, 50 % des femmes enceintes et 3 % d'hommes [6].

Au Maroc: l'anémie par carence en fer est fréquent chez les enfants vivant dans les conditions socio-économiques défavorables (35%) et touche sévèrement les femmes enceintes (45%) et les femmes en âge de (31%) reproduction.sa prévalence chez les adultes de sexe masculin est relativement plus faible (10%) [7].

III- L'étiologie de l'anémie ferriprive

Les différentes étiologies de la carence martiale sont classées en deux catégories : les causes physiologiques et les causes pathologiques.

III-1-Les causes physiologiques

Elles sont les plus fréquentes, dues à une inadéquation entre les besoins physiologiques en fer et l'absorption maximale du fer provenant de l'alimentation. La croissance est la cause la plus fréquente chez l'enfant, les saignements d'origine gynécologique chez la femme en période d'activité génitale, la grossesse, a fortiori en cas de grossesse gémellaire ou de grossesses rapprochées. Enfin les dons de sang répétés augmentent le risque de carence martiale [8].

III-2-Les causes pathologiques

Elles sont dues à une perte excessive et souvent chronique de fer. Les étiologies les plus fréquentes chez l'homme et la femme ménopausée restent les saignements du tractus digestif souvent d'origine néoplasique[9] Les causes moins fréquentes sont des saignements d'origine utérine (fibrome, endométriose, cancer), les malabsorptions, l'hémosidérose pulmonaire, le syndrome de Goodpasture .

IV- L'érythropoïèse

IV-1-Généralités

L'érythropoïèse est l'ensemble des mécanismes qui concourent à la formation des Erythrocytes. 200 milliards d'hématies sont ainsi fabriquées par jour, soit 2 millions par seconde.

Chez l'homme, les premières cellules de la lignée érythroblastique apparaissent dans le mésoblaste embryonnaire.

A partir du second mois de gestation, elle s'effectue dans la rate et le foie, puis dans la moelle osseuse qui est le siège de l'érythropoïèse après la naissance.

Elle a pour finalité d'assurer le maintien d'un stock hémoglobinique constant en produisant à chaque instant un nombre de réticulocytes équivalent au nombre d'hématies phagocytées lors de l'hémolyse physiologique.

Physiologiquement, la formation des érythrocytes est continue. En cas de besoin, les capacités d'adaptation de l'érythropoïèse sont très importantes [10].

IV-2- Les éléments indispensables à l'érythropoïèse

Parmi les éléments indispensables à l'érythropoïèse on trouve

Les oligoéléments, les vitamines, l'érythropoïétine et les autres hormones (tel que les androgènes, les œstrogènes, les glucocorticoïdes et les hormones thyroïdiennes), chacun de ces éléments ayant un rôle et une action précise.

Le fer: nécessaire à la synthèse de l'hémoglobine, sa carence entraine une anémie martiale.

La vitamine B12 et les folates: nécessaires à la synthèse d'ADN, leur carence provoquent une anémie mégaloblastique.

Les autres vitamines:

Vitamine B6: nécessaire à la synthèse de l'hémoglobine.
Vitamine C: indispensable dans le métabolisme du fer.
L'érythropoïétine: C'est une hormone de nature glycoprotéique fortement glycosylée (40 %). Indispensable à l'érythropoïèse; son action accélère la prolifération des CFU-E (colony forming unit érythroides) et accroit leur différentiation.

IV-3-L'hémoglobine

Protéine constituant le pigment respiratoire des hématies, elle a la capacité de fixer, de transporter et de délivrer la quantité d'oxygène nécessaire au fonctionnement normal des tissus.
C'est un hétérotétramère formée de 4 sous unités identiques 2 à 2.
Chaque sous-unité ou monomère comporte:
· Une partie protéique : la globine
· Un groupement prosthétique non protéique : l'hème

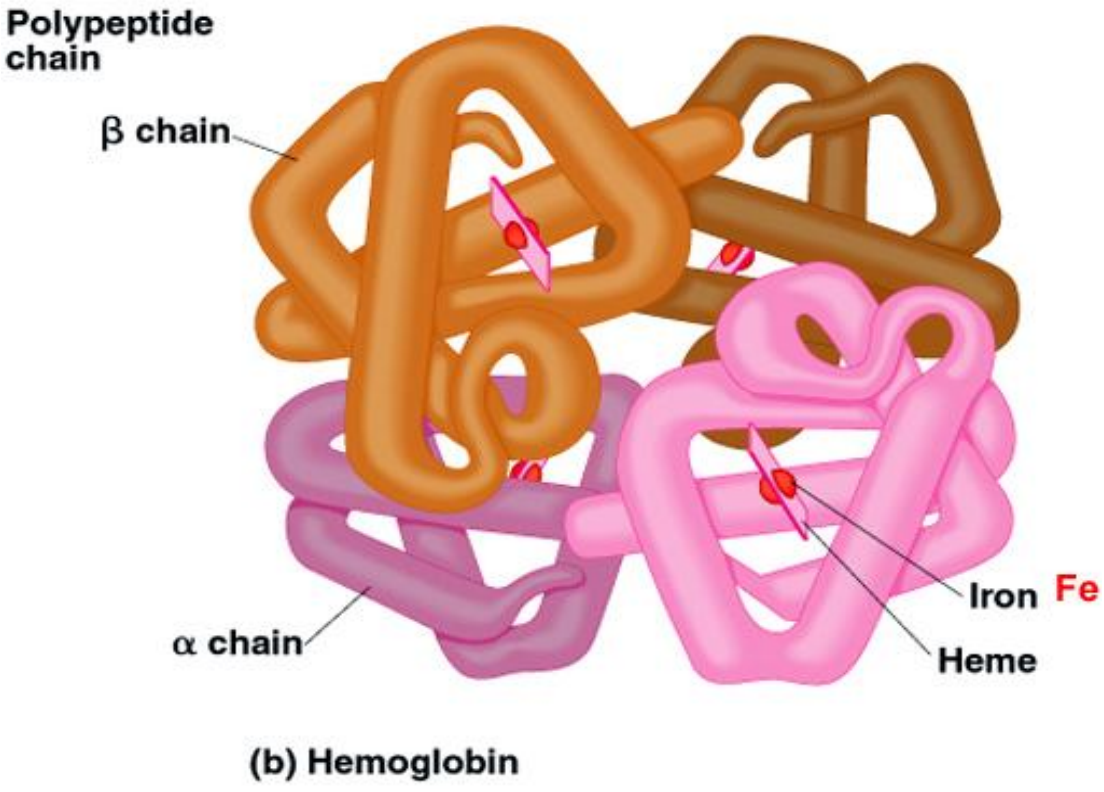


Fig3: structure d'hémoglobine

V-3-1-La biosynthèse de l'hémoglobine

a- Synthèse des chaînes polypeptidiques de la globine

Comme toute protéine la globine est synthétisée par:

Transcription: copie sous forme d'une structure de base complémentaires d'une partie de DNA correspond à un gène de structure et formation d'un ARNm d'abord natif puis fonctionnel par perte de régions non codantes.
Activation des acides aminés: par fixation des acides aminés sur un ARNt spécifiques.
Traduction: elle permet de traduire une séquence de nucléotides en séquences d'acide aminée et comprend trois étapes (initiation, élongation, puis libération des chaines polypeptidiques) [11].

b- Synthèse de l'hème

La biosynthèse de l'hémoglobine est coordonnée à celle de l'hème, qui s'effectue d'une part dans les mitochondries, d'autre part dans le cytosol. Les diverses réactions enzymatiques de cette chaîne métabolique sont résumées dans la figure 3. La première réaction, qui conduit à la formation du δ-ALA (delta acide amino lévulinique) à partir d'acide succinique et de glycocolle, se déroule à l'intérieur de la mitochondrie. L'enzyme responsable de cette réaction est l'alanine synthétase, dont le coenzyme est le phosphate de pyridoxal, dérivé de la vitamineB_6 [12].

Ensuite dans le cytosol, ou ils s'effectuent les autres réactions conduisant au porphobilinogène, à l'uroporphyrinogène et au coproporphyrinogène. Les réactions suivantes sont à nouveau intramitochondriales: transformation en protoporphyrinogène, puis en protoporphyrine IX sur laquelle s'accroche l'atome de fer. L'hème quitte alors la mitochondrie pour se fixer à la chaîne de globine. Les déficits enzymatiques de cette voie métabolique conduisent à des porphyries, dont certaines peuvent avoir des traductions hématologiques.

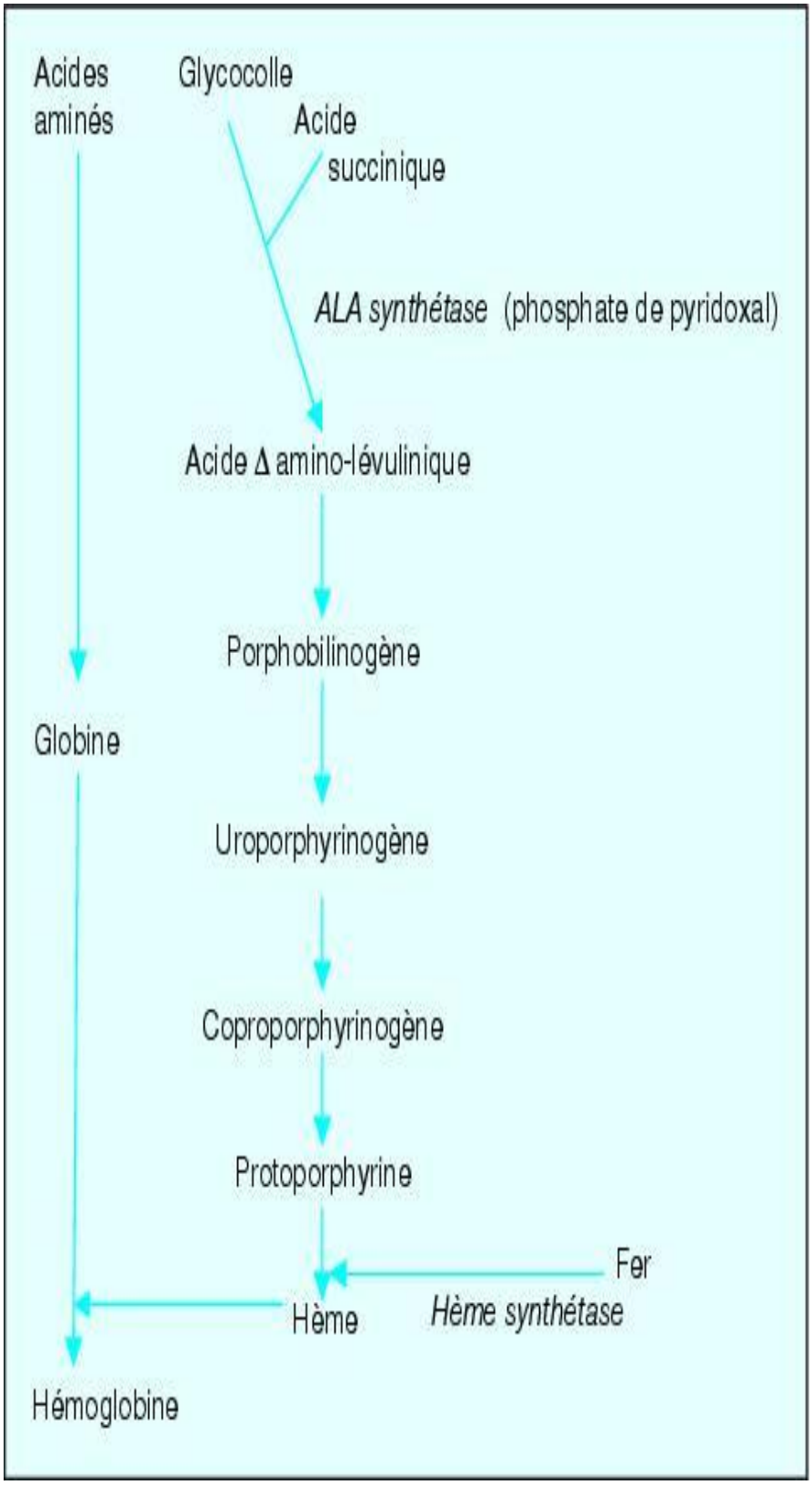


Fig2: La biosynthèse de l'hémoglobine

V- Rappels sur le fer

V-1-généralités sur le fer

Le fer est joue un rôle très important dans plusieurs métabolismes et fonctions physiologiques. IL est constitutif de l'hème que l'on retrouve dans les transporteurs d'oxygène tel que l'hémoglobine, la myoglobine et dans les cytochromes (transporteurs d'électrons). Le fer est également cofacteur de nombreuses déshydrogénases. IL est présent dans toutes les cellules et possède la propriété de gagner ou de perdre facilement un électron, passant ainsi de la forme ferreuse (Fe2+) à la forme ferrique (Fe3+), et inversement. C'est cette propriété qui lui confère un rôle primordial dans les phénomènes d'oxydation et de réduction biologique. [13]

V-2- le Métabolisme du fer:

V-2-1-Répartition du fer dans l'organisme :

IL est répartit en deux grands groupes:

- Le fer héminique (65%) ; incorporé dans la structure de l'hème,
- Le fer non héminique est présent dans certaines enzymes et correspond aux formes de transport et de réserve du fer (transferrine et ferritine) [14].

Le fer dans l'organisme est continuellement recyclé entre les sites d'absorption (duodénum) d'utilisation (moelle osseuse) et de stockage (foie et rate), ainsi qu'entre les différents compartiments intracellulaires.

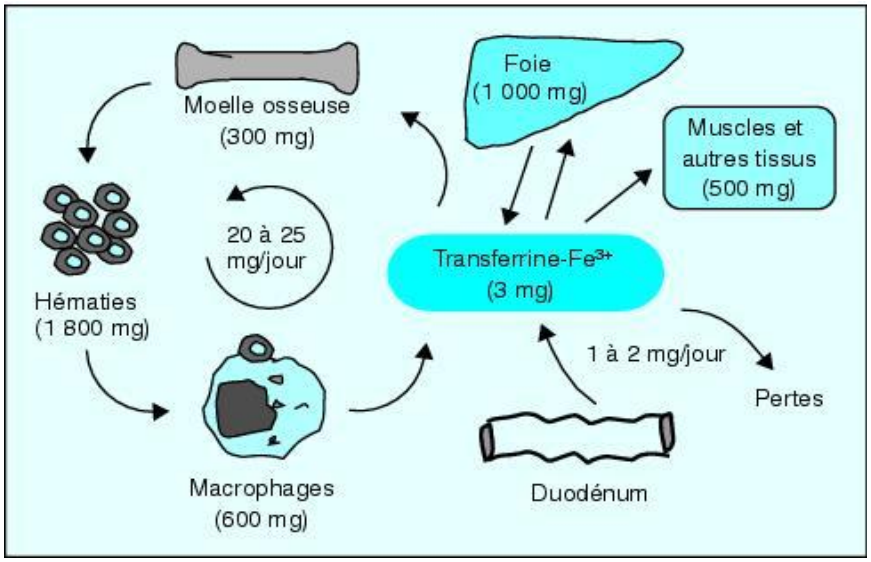


Fig3: distribution et recyclage du fer dans l'organisme.

V-2-2- Les besoins en fer

Les besoins en fer sont environ de 10 mg / jour. Besoin particulièrement plus élevé pendant la croissance, pendant et après l'accouchement, dans toutes les

conditions de la perte de sang (opération, accident, hémorragie).
Pour un homme sain une alimentation diversifiée couvre en général les besoins [15].
Les produits les plus riches en fer sont le foie, le chocolat, le persil, les légumes secs et les huîtres. On le trouve aussi dans les abats, les viandes, les poissons et les œufs, les fruits ...

V-2-3- les pertes

- Environ 1 mg/jour chez l'homme essentiellement par l'élimination fécale, desquamation des cellules de l'épithélium duodénal, pertes sanguines digestives physiologiques (0,5 ml/j), sueur, desquamation cutanéo-phanérienne, et urines (0,2 mg/jour).
- Chez la femme se surajoutent les pertes gynécologiques: la quantité de sang perdue (20-50 ml) représente 8 à 20 mg de fer. Chez la femme les pertes en fer sont en moyenne de 2 mg/jour [15].
- La grossesse: le fœtus possède environ 200-250 mg de fer à la naissance, le transfert du fer ayant lieu essentiellement au cours du 3^{e} trimestre de la grossesse. On estime que les besoins pour le fœtus, pour le placenta, et les pertes sanguines de la délivrance correspondent à environ 500 mg de fer
- L'allaitement entraîne une perte quotidienne de 1 mg/jour.

V-2-4-L'absorption digestive du fer

L'absorption intestinale du fer est limitée au duodénum et elle est assurée par les entérocytes matures présents au sommet de la villosité. Le fer est absorbé au pôle apical et adressé au pôle baso-latéral de l'entérocyte puis exporté vers le plasma; une partie du fer pourrait rester dans la cellule associé à la ferritine et être éliminé lors de la desquamation des cellules. Chez l'homme, un régime alimentaire normal journalier contient environ 15-20mg de fer, dont seuls 1-2mg sont absorbés journellement. Les mécanismes moléculaires d'absorption du fer inorganique commencent à être maintenant bien connus [16]. La première étape consiste à mobiliser le fer en le réduisant en fer ferreux. Cette étape est catalysée par Dctyb, une réductase membranaire de la famille des cytochromes b 561. Le fer ferreux (Fe2+) est ensuite transporté à travers la membrane de l'entérocyte par une isoforme de Nramp2/DMT1, un Co-transporteur des ions H^{+} et du (Fe2+) appartenant à la famille Nramp (Natural résistance associated macrophage protein), différente de celle exprimée dans les endosomes et localisée principalement au pôle apical de la cellule. L'expression de la réductase et celle du transporteur sont fortement inductibles par la carence en fer. Le fer est ensuite exporté vers le plasma par l'intermédiaire de la ferroportine, exprimée au pôle baso-latéral des entérocytes. La fixation du fer sur la transferrine plasmatique nécessite son oxydation préalable en (Fe3+)

et cette étape est catalysée par l'héphaestine. Cette protéine qui possède un domaine d'ancrage membranaire présente 50 % d'identité avec la céruloplasmine et appartient à la famille des oxydases cuivre-dépendantes.

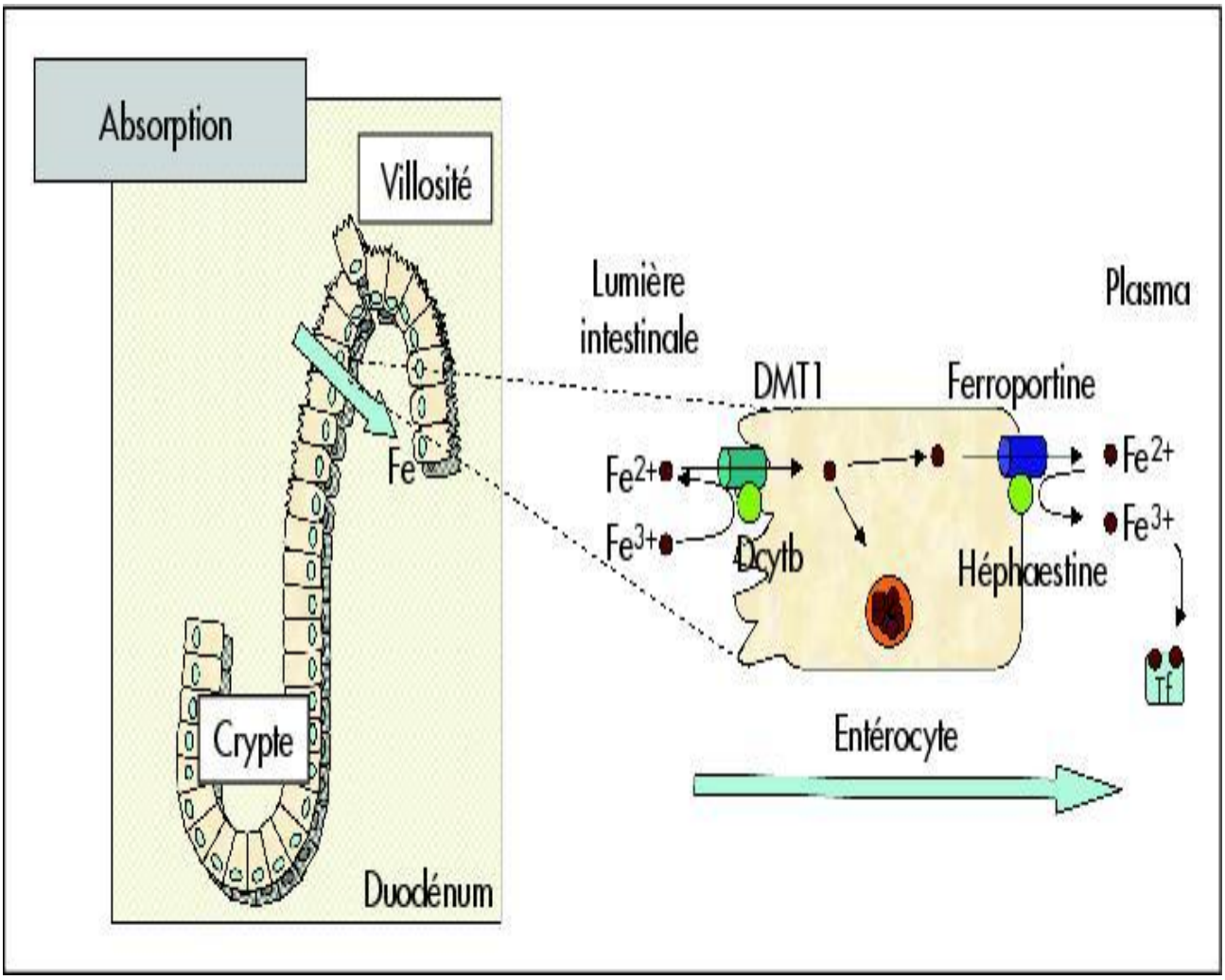


Figure 4 : L'absorption intestinale du fer.

(Author(s) : Lydie Viatte, Sophie Vaulont, Institut Cochin, 24, rue du Fg St-Jacques, 75014 Paris).

V-2-5- le transport

Les échanges de fer entre les sites d'absorption, de stockage et d'utilisation se font par l'intermédiaire de la transferrine, protéine plasmatique chargée de véhiculé le fer dans l'organisme, synthétisé et secrète principalement par le foie. Sa caractéristique majeur est de présenter deux sites de liaison capable de prendre chacun en charge un atome de fer ferrique (fe3+).

V-2-5-Le stockage

La ferritine est une molécule de stockage intracellulaire du fer qui emmagasine celui-ci sous une forme facilement accessible aux cellules, puis le libère de façon contrôlée pour répondre aux besoins de l'organisme. Par conséquent, la ferritine peut servir d'«assurance» contre les problèmes de stockage du fer en le libérant en plus grande quantité en cas de déficit ferrique dans l'organisme ou, dans une certaine mesure, en stockant le fer excédentaire en cas de surcharge ferrique dans le sang et les tissus [17]. La molécule de ferritine forme une sphère creuse capable de contenir jusqu'à 4500 ions ferriques (Fe^{3+}) [18]. La ferritine se trouve en quantité mesurable dans le sang (ferritine sérique), mais elle se situe essentiellement dans la rate, la moelle osseuse et les muscles squelettiques.

V-3-Le fer et l'érythropoïèse

Environ 200 milliards de globules rouges matures doivent être produits chaque jour par la moelle osseuse pour compenser la destruction des globules rouges sénescents par les macrophages tissulaires. Cette production est contrôlée principalement par le taux d'érythropoïétine et par la disponibilité du fer dans le plasma. La régulation de la quantité de fer dans le plasma dépend, d'une part, de la quantité de fer recyclée par les macrophages après la phagocytose des globules rouges sénescents et, d'autre part, de la quantité de fer absorbée au niveau de l'intestin.

Les besoins en fer sont très importants au cours de l'érythropoïèse, principalement pour assurer la synthèse d'hème et la formation de l'hémoglobine. Les précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse, qui ne peuvent acquérir leur fer que sous forme de complexes fer-transferrine, expriment un très grand nombre de récepteurs à la transferrine (RTf1) à leur surface. La fixation du complexe Fe2-transferrine sur son récepteur entraîne la formation d'une vésicule d'endocytose et l'internalisation du complexe. L'acidification progressive de l'endosome sous l'action d'une H^+-ATPase et la réduction du fer entraînent la dissociation du fer de sa liaison à la transferrine. Une ferriréductase endosomale réduit le Fe3+ en Fe2+, permettant ensuite le transport de l'ion Fe2+ ainsi libéré vers le cytoplasme par Nramp2/DMT1 [19].

.

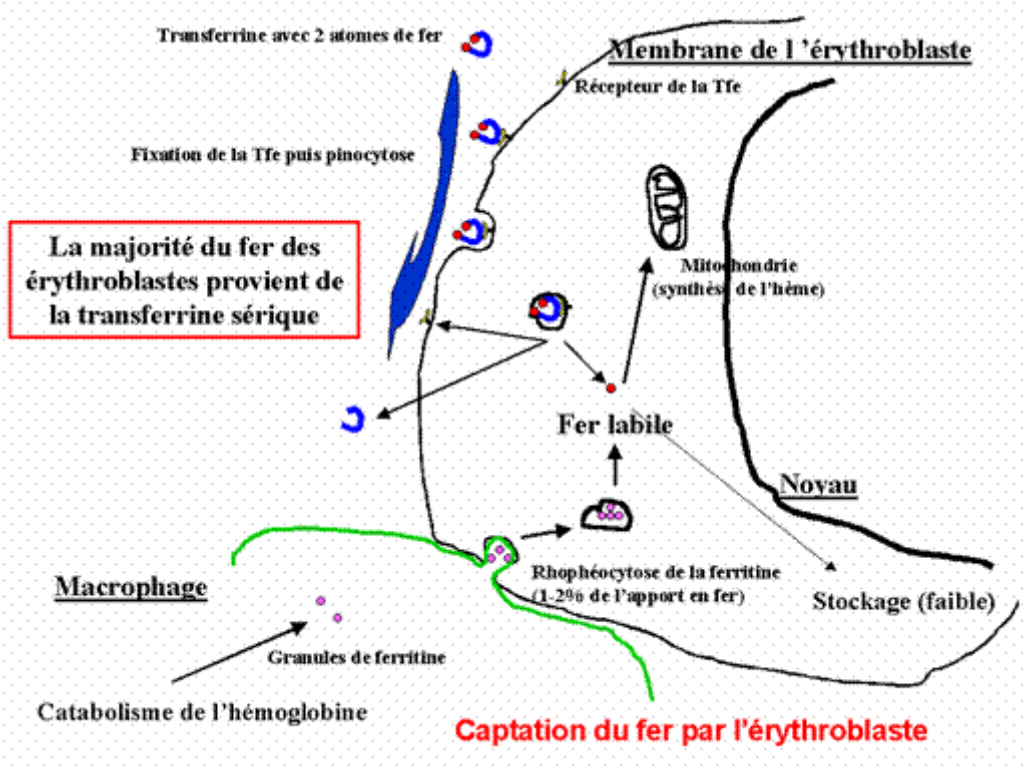


Fig5 : captation du fer par l'érythroblaste

VI- la Physiopathologie de l'anémie ferriprive

L'anémie ferriprive se développe lorsque les réserves de fer, sous forme de ferritine et d'hémosidérine stockées dans le système réticulo-endothélial (foie, rate, moelle) sont épuisées. Cette déplétion engendre des changements sur les plans cellulaire et biochimique. En effet, la ferritine diminue, les érythrocytes deviennent hypochromes, puis microcytaires. On remarque souvent une anisocytose ; inégalité de la taille des cellules. Le nombre de réticulocytes augmente avant de chuter (absence de matière première) et la capacité totale de fixation du fer ainsi que le taux de transferrine augmente [20].

VII. Le Diagnostic positif

VII-1- les signes cliniques

Le diagnostic clinique est évoqué par des signes non spécifiques : pâleur, asthénie, parfois dyspnée d'effort. Des signes de sévérité de l'anémie comme des vertiges, des palpitations ou des céphalées sont peu fréquents. La symptomatologie fonctionnelle est plus liée à la vitesse d'installation de l'anémie

et au terrain sur laquelle elle survient qu'à son importance.

Certains symptômes spécifiques de la carence martiale chronique ont été décrits. Ils sont rarement observés: perlèche, glossite avec une langue rouge et lisse par atrophie des papilles linguales, ongles mous, cassants, striés en cupules, dysphagie avec anneau œsophagien
L'anémie se manifeste parfois par la majoration de symptômes en rapport avec une insuffisance artérielle: angor, artériopathie des membres inférieurs, insuffisance vasculaire cérébrale [21].

VII-2- Le Diagnostic biologique

Le diagnostic est essentiellement biologique. La numération et la formule sanguine révèle une anémie hypochrome microcytaire souvent associée à une thrombocytose modérée (400 à 700g/l) alors que la lignée blanche est normale.
Il importe de différencier cette anémie par carence avant tout d'une anémie inflammatoire et éventuellement d'une bêta-thalassémie mineure.
Le diagnostic est parfois compliqué par la coexistence d'une carence et d'un syndrome inflammatoire (exemple: cancer du côlon à l'origine d'une anémie) ou par la coexistence de plusieurs carences (en folates ou vitamine B12 par exemple). La baisse de la ferritinémie est le critère le plus constant pour identifier la carence martiale et la distinction de la l'anémie inflammatoire.
Les thalassémies sont caractérisées par une érythropoïèse inefficace avec anémie microcytaire et hypochrome. Le diagnostic est apporté par l'électrophorèse de l'hémoglobine (augmentation de l'hémoglobine A2) [22].

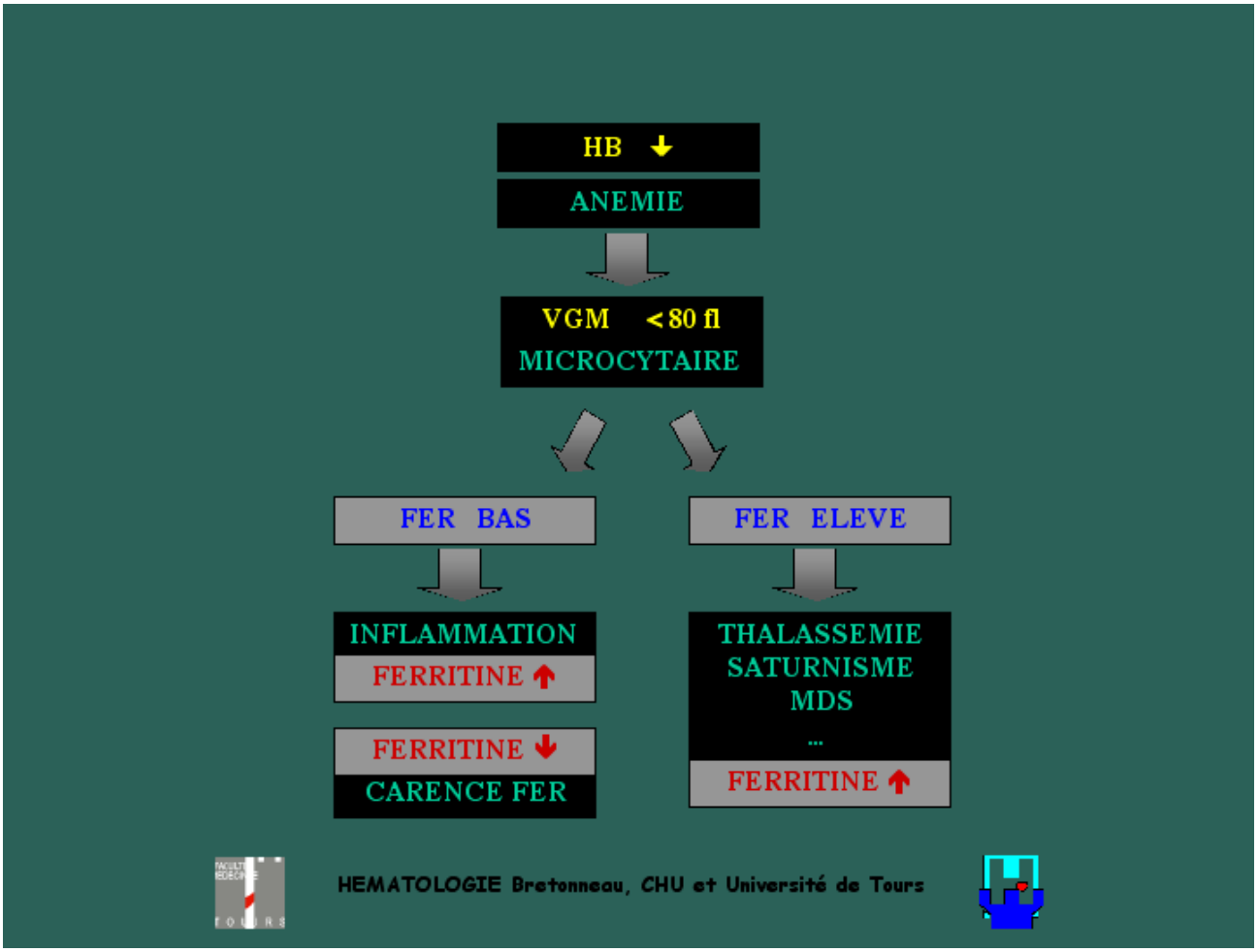


Fig. 6 : diagnostics biologiques des anémies hypochromes microcytaires

VII-3- le diagnostic étiologique

Une fois posé, le diagnostic de carence martiale, l'étape suivante consiste à identifier la cause de la carence.

- interrogatoire :

IL précise:

- Les prises médicamenteuses :

  -Traitement par le fer
  -Aspirine, anti-inflammatoires non-stéroïdiens

-Anticoagulants

- Les habitudes et mode de vie :

-Régime pauvre en viande

- Les antécédents gynécologiques:

-Règles (abondances, fréquence)
-Dispositifs intra-utérin
-Hyperplasie de l'endomètre, cancer du col utérin ou de l'endomètre
-Grossesse (répétées, multiples, rapprochées)
-Allaitement

- Les antécédents digestifs :

-Antécédents familiaux de cancers en particulier colorectaux ou utérins (syndrome de lynch)
-Ulcère gastrique ou duodénal
-Œsophagite peptique ulcérée (par reflux)
-Gastrectomie

- Signes cliniques :

-Hématémèse, méléna: Ulcère gastrique ou duodénal
-Rectorragie douleurs abdominales
-Constipation d'apparition récente: cancer colique ou rectal
-Diarrhée: maladie cœliaque, maladie de crhon
-Amaigrissement: cancer digestif ou utérin
-Ménorragies, métrorragies: cancer utérin (col ou endomètre), fibrome utérin polype du col utérin, ménorragie par insuffisance lutéale.
Au terme de cette étape clinique il convient de distinguer des types des situations, en fonction desquelles les explorations seront décidées [23].

VIII-les Principes Thérapeutiques

Le traitement repose tout d'abord sur le traitement de l'étiologie.

Le traitement substitutif repose classiquement sur l'apport oral de sel de fer fumarate de fer:3-5mg/kg/jour de fer métal pendant 3-4mois, en prise fractionnée et au décours des repas afin d'en améliorer sa tolérance digestive. Le critère d'arrêt du traitement compensateur est la normalisation de la ferritinémie. Le patient sera prévenu des effets secondaires de ce traitement

qui sont classiquement des douleurs abdominales, des nausées, des épigastralgies, des épisodes de constipation ou de diarrhée, et enfin des selles noires.

L'apport de fer peut être par voie intraveineuse en cas de malabsorption digestive, de pertes sanguines non contrôlables, d'intolérance ou de non-adhérence au traitement martial per os [24].

Matériel & Méthodes

but de ce travail vise à diagnostiquer les anémies hypochromes microcytaires
carence martiale sur des prélèvements correspondants à des patients
ovenant soit des différents services de CHU soit des consultations externes et d'étudier les caractéristiques biologiques de ces anémies.

L'échantillon d'étude est constitué des hémogrammes de 200 patients atteints d'une anémie hypochrome microcytaire par carence en fer confirmé par des dosages sériques.

I- Matériel

I-1-Appareils utilisés

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé l'automate SYSMEX XE2100 pour la détermination de la formule sanguin et les constantes de wintrobes à savoir VGM, TCMH, et l'automate Olympus AU640 pour le dosage de fer sérique et de ferritinémie

I-1-1-Principe de fonctionnement de SYSMEXXE2100

L'analyseur SYSMEXXE2100 utilise les principes de cytométrie de flux et de fluorescence des acides ribonucléiques cellulaires pour la détermination de la formule sanguine.

Après lyse des globules rouges, les cellules marquées sont injectées devant le faisceau laser ou elles sont analysées selon leur volume, leur structure, et leur fluorescence. Cette analyse permet non seulement de séparer les cinq populations leucocytaires habituelles mais également, entre autres, d'individualiser les cellules granuleuses immatures (métamyélocytes, myélocytes, promyélocytes matures) et de les quantifier.

Fig1 : photos d'un SYSMEXXE2100

I-1-2-Olympus AU 640

C'est un système qui permet une analyse automatisée des échantillons de sérum, plasma, ainsi que d'autres liquides organiques. Il mesure les différents composants de l'échantillon et génère automatiquement les résultats.
L'ensemble du processus d'analyse est contrôlé par un système informatique directement relié au système et situé à proximité de l'appareil, faisant partie intégrante du système [25].

Fig2 : photos d'Olympus AU640

I-2-Réactifs

- Colorant de May-Grunwald, neutre, contient :

  - Un colorant basique : le bleu de méthylène, sous forme d'eosinate de bleu de méthylène

- un colorant de Geimsa, neutre contient :

  - Un colorant acide : l'éosine
  - Un colorant basique : les azures de méthylène, sous forme d'eosinate d'azur de méthylène
  - Tampon phosphate

- L'acide trichloracétique.
- l'acide chlorhydrique.
- L'acide thioglycolique.

- Olympus ferritine.

II-Méthodes

II-1-Les examens biologiques

II-1-1-Hémogramme

a- Principe

L'hémogramme est le premier examen biologique utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies. Il a pour but d'apporter des informations quantitatives sur les cellules sanguines (numération formule sanguine) mais également des informations qualitatives, et sur les constantes de wintrobe à savoir CCMH, VGM, TCMH. Il peut nous informer également sur le taux de réticulocytes.
Il est réalisé à partir d'un échantion de sang prélevé par ponction veineuse et recueilli dans un tube sec contenant un anticoagulant de type EDTA.

- Exemple d'hémogramme utilisé dans cette étude.

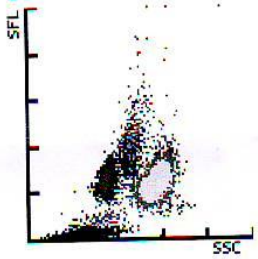
Resultats :

GR	5.29	[10^6/uL]		
HB	10.3	[g/dL]		
HCT	35.7	[%]		
VGM	67.5	[fL]		
TCMH	19.5	[pg]		
CCMH	28.9	[g/dL]		
IDP	----	[fL]		
PLQ	254	[10^3/uL]		
VPM	----	[fL]		
GB	15.84	[10^3/uL]		
NEUT	78.1	[%]	12.37	[10^3/uL]
LYMPH	13.1	[%]	2.07	[10^3/uL]
MONO	8.3	[%]	1.32	[10^3/uL]
EO	0.3	[%]	0.05	[10^3/uL]
BASO	0.2	[%]	0.03	[10^3/uL]
IG	0.6	[%]	0.10	[10^3/uL]
RET		[%]		[10^6/uL]

valeurs normales :

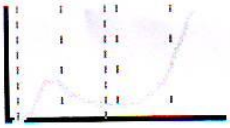
N.né	enfant	femme	homme	unité
[4.2-5.4]	[4.10-5.20]	[4.00-5.50]	[4.20-5.70]	[10^6/uL]
[16.5-21]	[11.5-15]	[12.5-15.5]	[14-17]	[g/dL]
[50-60]	[37-45]	[37-46]	[40-52]	[%]
[90-120]	[78-88]	[85-95]	[85-95]	[fL]
[84-128]	[24-30]	[27-32]	[27-32]	[pg]
[26-38]	[32-36]	[32-36]	[32-36]	[g/dL]
[150-400]	[150-400]	[150-400]	[150-400]	[10^3/uL]
[15-25]	[7-12]	[4-10]	[4-10]	[10^3/uL]
[8-12]	[3.5-6]	[2-7]	[2-7]	[10^3/uL]
[5-8]	[3.5-5]	[0.9-5.2]	[0.9-5.2]	[10^3/uL]
[0.1-1]	[0.1-1]	[0.1-1]	[0.1-1]	[10^3/ul]
[0.05-0.3]	[0.05-0.3]	[0.05-0.3]	[0.05-0.3]	[10^3/uL]
[0.01-0.05]	[0.01-0.05]	[0.01-0.05]	[0.01-0.05]	[10^3/uL]
[0.00-0.00]	[0.00-0.00]	[0.00-0.00]	[0.00-0.00]	[10^3/uL]
[0.5-4.8]	[0.2-0.8]	[0.3-0.8]	[0.3-0.8]	[%]

DIFF



RBC

PLT



GB Message(s) IP

Neutrophilie
Monocytose

Blasts?
Gran. Immatures?
Dev. Gauche?
Lympho Aty.?
NRBC?

GR/RET Message(s) IP

Anisocytose
Microcytose
Hypochromie

Carence en Fer?

PLQ Message(s) IP

Dist. PLQ anorm.

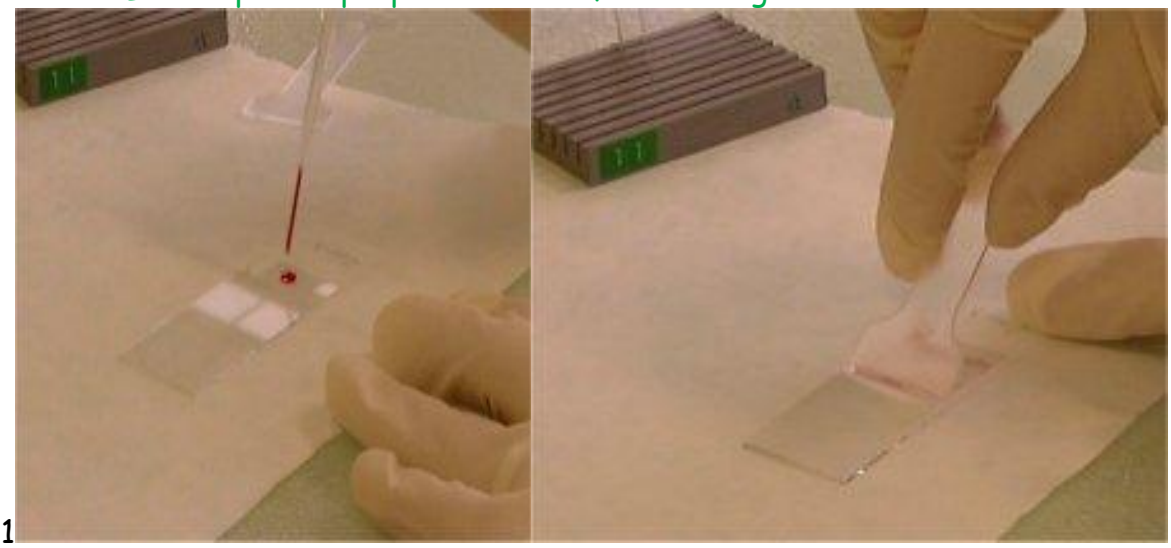
signature :

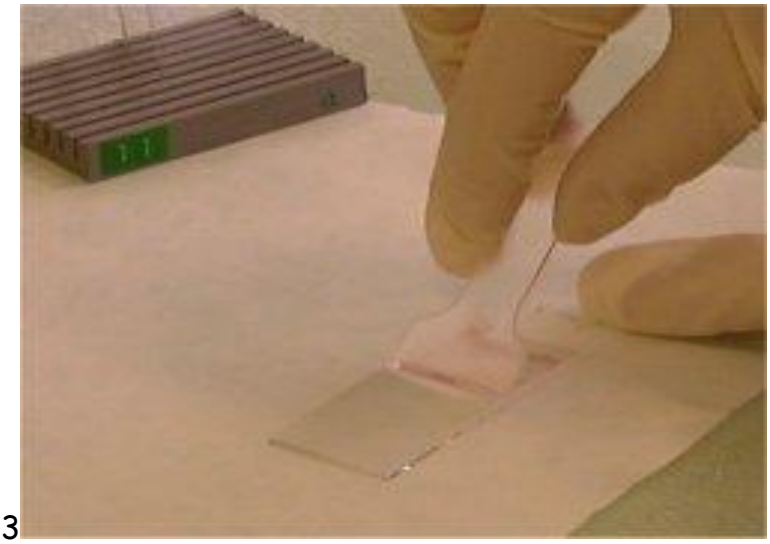
II-1-2-frottis sanguin

a- Préparation du frottis sanguin

Le frottis sanguin est confectionné à partir d'un prélèvement veineux sur l'EDTA. Il s'agit d'étaler une goute de sang sur une lame de verre de telle façon que les cellules soient séparées les unes des autres et réparties aussi régulièrement que possible.

Les étapes de préparation d'un frottis sanguin :

1 

3 

b- Coloration de frottis au May-Grunwald Geimsa (MGG)

❖ Protocole :

- Placer la lame sur un support horizontal situé au-dessus d'un bac de coloration.
- Mettre le colorant May-Grunwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis.
- Laisser agir 3 minutes.
- Rincer la lame avec de l'eau.
- Diluer le Geimsa au 1/10ème et laisser agir 10à 15 minutes.
- Rincer la lame avec de l'eau.
- Laisser sécher la lame à l'air en position inclinée.
- Observer le frottis coloré au microscope optique à l'objectif 100.

c-examen du frottis

L'examen permet de juger de la qualité de l'étalement, sa richesse et la morphologie des cellules et surtout de chercher les signes d'une anémie hypochrome microcytaire : anisocytose, et l'annulocyttose.

II-1-3-Bilan martiale

a-Dosage de fer sérique

❖ Conditions de prélèvement

Le prélèvement pour le dosage du fer sérique doit être réalisé sur tube sec, entre 8 h et 10 h du matin et toujours à la même heure s'il s'agit d'un suivie.

❖ Principe de dosage

Le principe repose sur :

- Déprotéinisation de l'échantillon par l'acide trichloracétique.
- Rupture des liaisons fer-transferrine par l'acide chlorhydrique.
- Réduction des ions ferriques en ions ferreux par l'acide thioglycolique.
- Les ions ferreux ainsi formés sont dosés par formation d'un complexe coloré avec la bathophénantroline disulfonée dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en fer présent dans l'échantillon

b-Dosage de la ferritinémie

❖ Principe de dosage

C'est un test immuno-turbidimétrique utilisé dans la détermination quantitative de la ferritine dans le sérum humain sur analyseurs OlympusAU640.
L'analyse de l'échantillon repose sur la mesure de la réduction de l'intensité de la lumière transmise au travers des particules suspendues dans la solution et qui provient des complexes formés au cours de la réaction antigène/anticorps.
Le réactif Olympus ferritine se compose d'une suspension de particules de latex polystyrène de taille uniforme qui sont enrobées d'anticorps polyclonaux de lapin anti-ferritine. Lorsque le sérum contenant de la ferritine est mélangé au réactif Olympus ferritine, un mélange d'agglutination se forme. Ce phénomène est mesurable par spectrométrie sur les analyseurs chimiques Olympus [26, 27].
Les complexes antigène-anticorps qui se forment dans la solution diffusent la lumière en proportion de leur taille, forme et concentration.
En cas d'excédent d'anticorps, l'accroissement de la quantité d'antigène entraine une augmentation de la diffusion. Les turbidimètres mesurent la réduction de la lumière incidente liée aux phénomènes de réflexion, d'absorption ou de diffusion.

Les Résultats

1-Répartition des patients selon le sexe

Nous avons étudié la répartition des patients selon le sexe et les résultats obtenus sont exprimés dans le tableau 1.

Tableau1 : répartition des patients selon le sexe

Sexe	Nombre total de patients	Pourcentage %
Hommes	76	38
Femmes	124	62

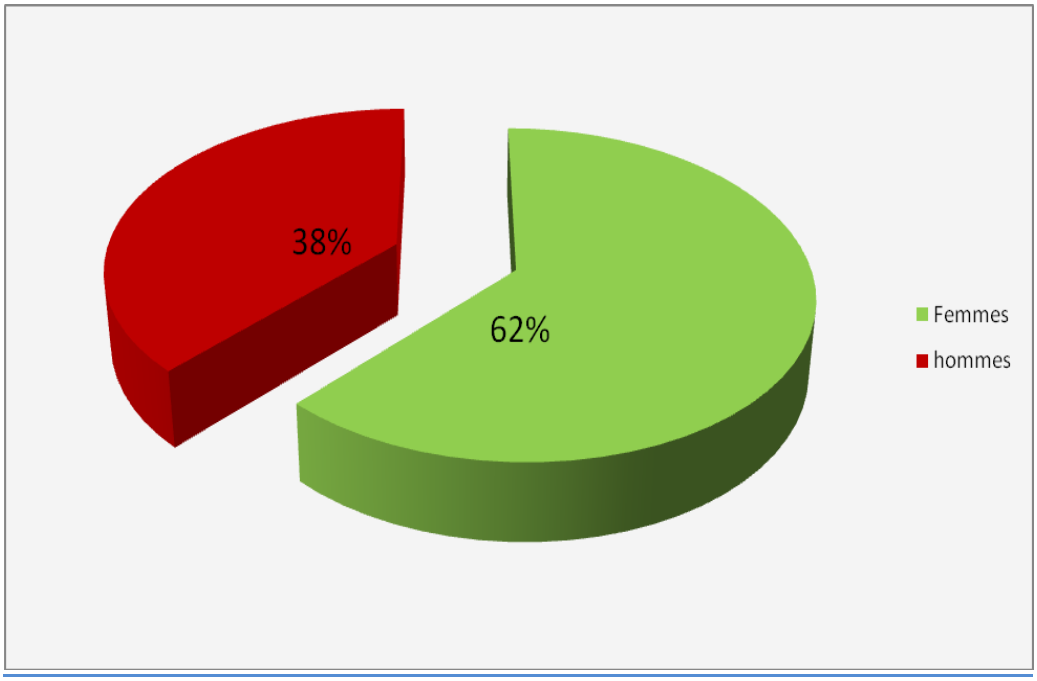


Fig1 : répartition des patients selon le sexe.

Le tableau 1 et l'histogramme 1 montrent que 124 patients sont des femmes ce qui représente un pourcentage de 62% alors que 76 patients sont de sexe masculin soit 38% de la population étudiée.
Le sexe ratio 1.63 ainsi calculé montre que l'anémie hypochrome microcytaire est plus présente chez les femmes.

I-2-Répartition des patients selon les services

Tableau 2 : répartition des patients selon les services.

Service	Nombre total de patients	Pourcentage %
Cardiologie	46	23
Dermatologie	7	3.4
Endocrinologie	4	1.9
Externe	28	13,5
Gastro-entérologie	15	7,2
Génécologie	24	11,6
Médecine interne	4	1,9
Néo-né	7	3,4
Néphrologie	13	6,3
Pédiatrie	55	27
Réanimation	8	3,9

Urgence	15	7,2

D'après Les résultats du tableau 2, on constate que les prélèvements proviennent des différents services et en particulier de la pédiatrie (27%) et de la cardiologie avec 23% de cas

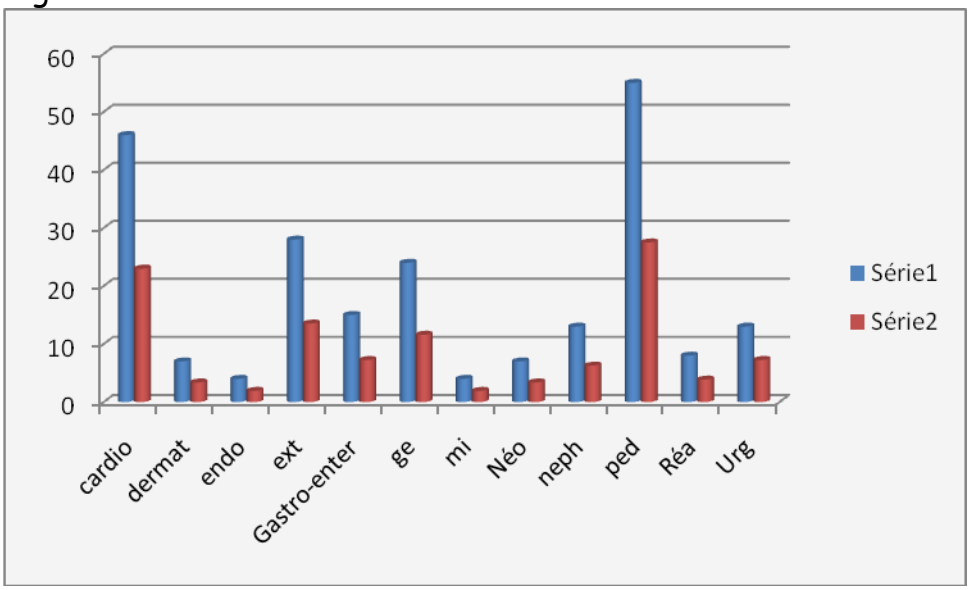


Fig2 : répartition des patients selon les services

I-3-Répartition des patients selon les paramètres hématologiques

a- Selon le taux d'hémoglobine

La répartition des patients selon le taux d'hémoglobine est illustrée ci-dessous :

Tableau 3 : répartition des patients selon le taux d'Hb

Hémoglobine (g/dl)	Nombre total de patients	Pourcentage %
2-8	107	53.5
8-11	93	46.5

Les résultats du tableau 3 montrent que 107 patients présentent une anémie sévère avec un taux d'Hb inferieur à 8 g/dl ce qui représente 53.5%. En revanche le nombre de patients qui présente une anémie modérée est de 93 patients (46.5%).

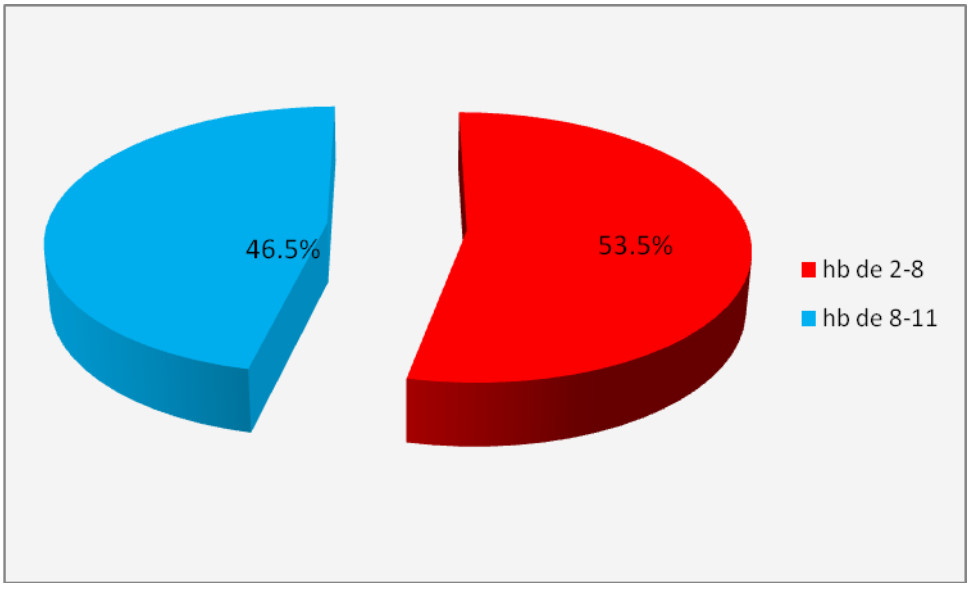


Fig3 : répartition des patients selon le taux d'Hb

b-selon la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH).

La distribution de notre échantillon en fonction de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine est représentée dans la figure 4. La plupart des patients 87.5% ont un taux de TCMH comprise entre 20 et 26 pg et présentent ainsi une hypochromie modérée, en revanche 12,5 % ont une hypochromie sévère avec un taux de TCMH inférieur à 20pg.

Tableau 4 : répartition des patients selon le TCMH.

TCMH (pg)	Nombre total de patients	Pourcentage %
15-20	25	12.5
20-26	175	87.5

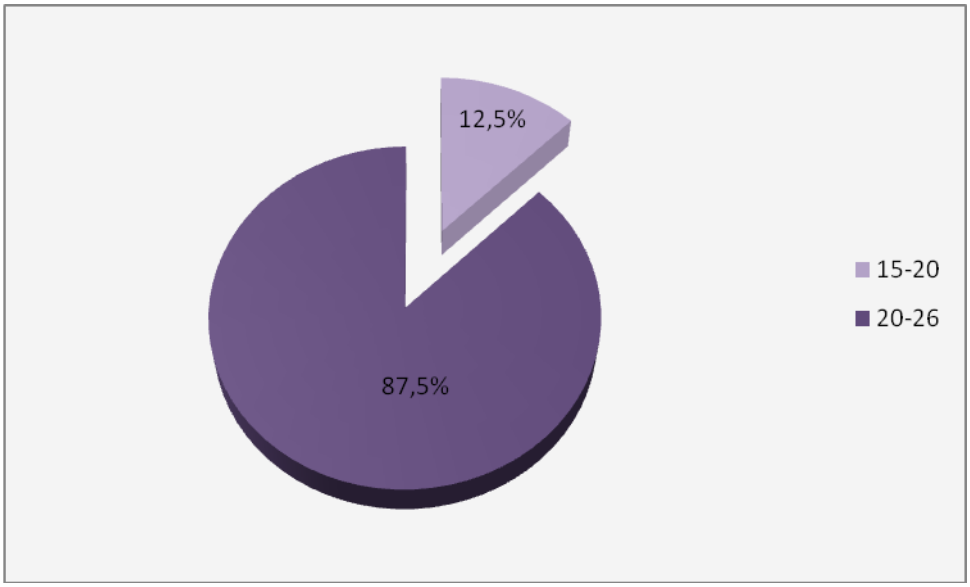


Fig4 : répartition des patients selon le TCMH :

c-Répartition des patients selon le taux de ferritinémie

La répartition des patients selon le taux de ferritinémie est présentée dans le tableau suivant :

Tableau5 : répartition des patients selon le taux de ferritine

	Les valeurs physiologiques *µg/l*	**Ferritinémie < à la normale** *µg/l*	**Pourcentage %**
Hommes	20-300	34	17
Femmes	10-120	116	58

D'après les résultats obtenus on remarque que :

- 150 prélèvements présentent un taux de ferritinémie inférieur à la normale, ce qui correspond à 75% des patients présentent une baisse des réserves en fer dans l'organisme et traduisant ainsi une anémie ferriprive.
- 77.33% sont des femmes et 22.26 % des hommes ce qui indique que, les femmes sont plus touchées par les anémies hypochromes microcytaires par carence martiale.

II- Exemple de Frottis sanguin présentant une anémie hypochrome microcytaire

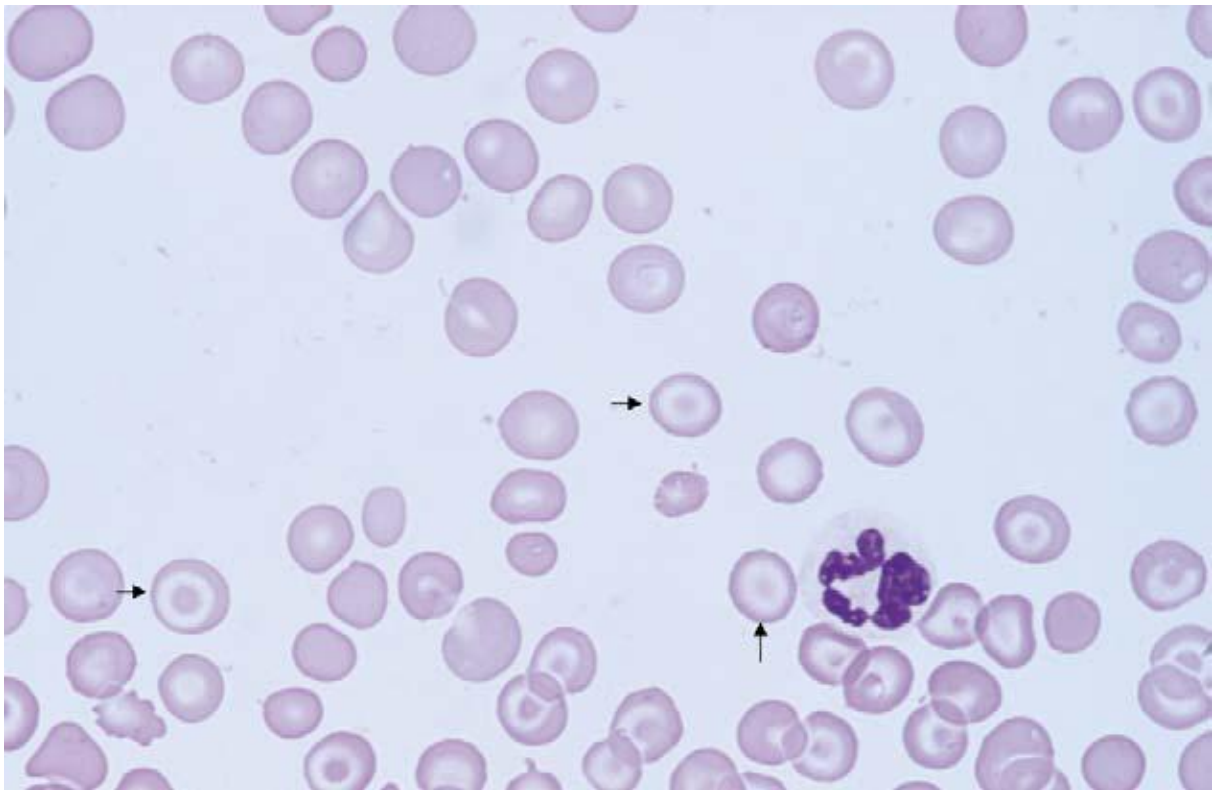


Figure 5 : Anémie microcytaire avec cellules cibles (flèches horizontales) et annulocytes (flèche verticale) (May Grünwald-Giemsa) (× 1 000).

Discussion

Au Maroc, comme dans tous les pays en voie de développement, l'anémie microcytaire hypochrome par carence martiale appelée anémie ferriprive représente le problème de santé le plus fréquent qui affecte tous les groupes d'âges, avec une prédominance chez les femmes et les enfants. L'analyse de son évolution au Maroc entre 1994 et2001 révèle une diminution d'unités de prévalence chez les femmes et les enfants et une augmentation de 10 unités chez les hommes (El Hioui *et al*, 2006).

Dans ce travail la population étudiée est constituée de 200 patients dont 62% sont des femmes et 38% sont des hommes, ce résultat traduit que l'anémie hypochrome microcytaire à dominance féminine et concorde avec ceux publiée par le ministère de la santé publique, 2001. Or, les femmes sont à risque d'être anémique beaucoup plus que les hommes pour des raisons divers à savoir la multiparité, les grossesses multiples, la menstruation, l'allaitement….

Sur le plan biologique, cette partie a été réalisée afin de pouvoir dégager l'intérêt de l'hémogramme dans la classification et le traitement de l'anémie martiale.

Les paramètres érythrocytaire, notamment le taux d'hémoglobine, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et le volume globulaire moyen (VGM) montrent que la majorité des patients ont un taux d'Hb inférieur à 8g/dl et entre dans le cadre des anémies sévères. Ces résultats sont en accord avec ceux de Djibo, 2000 et EL HIOUI, 2006.

L'hypochromie et la microcytose retrouvées chez nos patients montre une diminution de la taille des érythrocytes et une diminution de la TCMH, ces résultats sont en accord avec ceux d'El.Hioui et al 2006, ministère de la santé publique 2001.

Ce travail montre également une diminution des réserves de fer chez les trois-quarts des patients, notamment chez les femmes avec un pourcentage de 77,33 %. Ces résultats sont conformes à ceux d'ELHioui 2100, ceci peut être expliqué

par des causes multiples, dominées par la malnutrition, les hémoglobinopathies et de nombreuses affections associées à l'hygiène.

Il est habituel d'envisager un diagnostic de carence martiale chez les sujets présentant une anémie hypochrome [28.29]. Cette anémie survient tardivement dans le déroulement de la déplétion des réserves en fer de l'organisme comme en témoignent des autres paramètres hématologiques (VGM, TCMH).

Conclusion

Les anémies hypochromes microcytaires par carence martiale constituent un réel problème de santé. C'est le plus fréquent des états anémiques dans notre pays. L'absence de disponibilité du fer conduit à un défaut de synthèse de l'hémoglobine reconnu par le caractère microcytaire, hypochrome et anisocytaire de l'anémie
Au niveau étiologique les causes sous jacents sont dominés par les états hémorragiques chroniques ancienne, suive par les étiologies gynécologique et digestives. Ces étiologies varient en fonction de l'âge, de sexe et du niveau socio-économique des patients.

La répartition des patients par sexe fait apparaitre que les femmes sont plus touchées par cette pathologie. Ainsi que la répartition selon le taux d'Hb met en évidence une anémie sévère très marquée dans la majorité des cas (Hb<8g/dl).

Le traitement comportera outre celui de l'étiologie une substitution par le fer per os, à une dose quotidienne supérieure à 100 mg de fer métal pendant plusieurs mois.

Références bibliographiques

1 : Galacteros, F., Goldcher, A., 1989, les anémies hypochromes microcytaires. Encycl Médical (Paris-France), sang, pp: 16

2: Harrison, K.A., 1988, Severity of anaeimia and operative mortality and morbidity. Lancet, 1, pp: 392-3

3 : Bailey, K.V., 1994, Carence en fer et anémie. Situation mondiale urgente, pp : 1-16.

4: Zandeckchi, M., 2006, hématologie biologique. Faculté de Médecine CHU6900 Angers France.

5 : Digest, R., 1993, Association médicale canadienne. Encyclopédie médicale de la famille, Canada.

6 : Association médicale canadienne, 2009, Grand public, Maladies, *Amc.ca*.

7 : Alaoui, L., Département des Sciences Alimentaires et Nutritionnelles, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat

8 : Finch, C.A., Cook J.D., Labbe R.F., Culala M.,1977, Effect of blood donation on iron stores as evaluated by serum ferritin *Blood* , 50; pp: 441-447

9: Ioannou, G.N., Rockey D.C., Bryson C.L., Weiss N.S.,2002, Iron deficiency and gastrointestinal malignancy. a population-based cohort study *Am J Med,* 113; pp: 276-280.

10: Christin, B., 2009, Erythropoïèse ; cellules souches, morphologie, compartiments, régulation, Faculté de Médecine de tours; pp : 1.

11 : Vaubourdolle, M., Biochimie, hématologie, pp : 770

12 : Melefors O., Goossen B., Johansson HE., Stripecke R., Gray NK et al., 1993, Translational control of 5-aminolevulinate synthase mRNA by iron-responsive elements in erythroid cells. J Biol Chem, 268 ; pp : 5974-5976

13 : Coeyard R., Poirier J., Précis d'histologie humaine, pp : 187.

14 : Dupin H., Alimentation et Nutrition humaines, pp : 346

15: M Zandecki M., 2006, hématologie biologique. Faculté de Médecine CHU6900 Angers France.

16: Anderson G.J., Frazer D.M., 2005, Recent advances in intestinal iron transport Curr Gastroenterol, 7; pp: 365-372.

17: Harrison, P.M., Arosio, P., 1996, Les ferritines : propriétés moléculaires, fonction de stockage du fer et régulation cellulaire. Biochimica et Biophysica Acta, 1275; pp: 161-203.

18: Harrison, P.M., 1977, Ferritin: an iron-storage molecule. Seminars in Hematology, 14; pp: 55-70.

19: Iolascon A., De Falco L., Beaumont C., 2009, Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis Haematologica, 94; pp: 395-408.
20 : Le Médecin du Québec, 2003, 38 ;
21 : cours inport le diagnostiqs biologiqs.mht.Université Médicale Virtuelle Francophone.
22: cours inport le diagnostiqs biologiqs.mht.Université Médicale Virtuelle Francophone.
23: Berrebi W, Diagnostics et thérapeutiques: guide pratique du symptôme à la prescription, pp : 481
24: Cook J.D., 2003, Newer aspects of the diagnosis and treatment of iron deficiency. American Society of Hematology Educational Program Book, pp: 40-61.
25: Manuel d'utilisation, version 1, 2. pp: 21-23
26: Bernard A, Lawys R., 1984 .turbidimétric latex immunoassay for serum ferritin. Journal of immunological methods, 71; pp: 141-147.
27: Thompson SG, 1996, principals for competitive-binding assay, in: kaplanla, pesce Aj, Eds, clinical chemistry theory, analysis and correlation, pp: 225
28:Grosbois B, 1992, Quand demander et comment interpréter une ferritinémie?, Concours Med, 114 ; pp: 2659-63.
29 : Sultan C, Henny J, Imbert M, 1985, Le dépistage précoce des carences martiales. Concours Med, 107 ; pp : 3971-5