



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

LES ANÉMIES FERRIPRIVES
DIAGNOSTIQUES AU LABORATOIRE
« CENTRE BIOLOGIE MAROC »

Présenté par : EZ-ZERYATI KHADIJA

✚ Encadré par : - Pr . EL FARRICHA OMAR
- Dr .LAABOUDI EL HASSAN

✚ Soutenu le : 08/06/2017

✚ Devant le jury composé de :

✚ Pr . EL FARRICHA OMAR
✚ Dr .LAABOUDI EL HASSAN
✚ Pr.BELRHITI ALAOUI AZIZ

Stage effectué au : Laboratoire Centre Biologie Maroc - Fés

Année universitaire 2016-2017

DEDICACES

ET

REMERCIEMENTS

DEDICACES

*Humblement, avec tout mon amour et ma profonde reconnaissance,
Je dédie ce PROJET*

A mon Dieu, Le Tout Puissant

Merci mon Dieu car tu m'as conduite tout au long de ces années, tu m'as protégée et comblé de tes grâces,

A mes chers parents

Aux deux êtres qui m'ont prodigué tant d'amour, d'affection et de bonheur, qui ont fait tant de sacrifice pour mon éducation, mes études et mon bien être. Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments profonds d'amour, de respect que je porte pour vous. Sans vos prières, votre soutien, je n'aurais pu surmonter le stress de ces longues années d'étude. Vous êtes pour moi l'exemple de patience et de persévérance. Seul Dieu le tout puissant pourra vous récompenser. Que ce modeste travail puisse être le résultat de vos efforts et de vos sacrifices et un début de mes récompenses envers vous. Puisse Dieu vous protéger et vous accorder une bonne santé et une longue vie

A mes frères et mes sœurs

J'ai beaucoup de chance de vous avoir eus comme frères et sœur, merci pour votre présence, vos Encouragements et votre soutien inconditionnel. Sans vous je sais que rien n'aurait été pareil merci beaucoup, je vous aime du fond du cœur

A mes amis

Tous les mots de remerciement, de reconnaissance et de gratitude ne seront exprimés ce que j'éprouve pour chaque personne entre vous

REMERCIEMENTS

A Mes encadrants

- *PR.OMAR ELFARRICHA*
- *Dr. LAABOUDI EL HASSANE*

*Vous m'avez guidé et orienté avec sympathie et bien
vaillance malgré vos préoccupations,*

*Vos qualités humaines et professionnelles, ainsi que
votre compréhension m'inspire une grande
admiration. Permettez-moi de vous exprimer ma
haute considération ;*

Mon respect et mon vif remerciement.

A Mr le doyen et les enseignants de la FST

*Je vous remercie pour les efforts considérables que vous
avez déployés pour ma formation, votre encouragement et votre
soutien m'a touché tout au long de cette formation.*

A Pr. BELRHITI LALOUI AZIZ

*Je vous remercie d'avoir voulu prêter votre aimable attention à
mon travail en acceptant d'être mon jury.*

Abréviations

- ✓ *AF* : Anémie ferriprive
- ✓ *CCMH* : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
- ✓ *Cs* : Coefficient de saturation
- ✓ *CTF* : Capacité totale de fixation
- ✓ *DCYTb* : Duodenal cytochrome reductase b
- ✓ *DMT1* : Divalent métal transporter 1
- ✓ *EDTA* : Éthylène-diamine-tétraacétique
- ✓ *EPO* : Érythropoïétine
- ✓ *Fe²⁺* : Fer ferreux
- ✓ *Fe³⁺* : Fer ferrique
- ✓ *GB* : Globule blancs
- ✓ *GR* : Globule rouge
- ✓ *g/dl* : Grammes par décilitre
- ✓ *Hb* : Hémoglobine
- ✓ *IRP* : Iron regulator protein
- ✓ *MO* : Moelle osseuse
- ✓ *OMS* : Organisation Mondiale de la Santé
- ✓ *SRH* : Système réticulohistiocytaire
- ✓ *TCMH* : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
- ✓ *Tf* : Transferrine
- ✓ *TFRc* : Récepteur de la transferrine
- ✓ *VGM* : Volume globulaire moyen

Liste des figures et des tableaux

✓ Figure 1 : Cycle du fer dans l'organisme.....	3
✓ Figure 2 : Principe de fonctionnement d'un cytométrie en flux.....	16
✓ Figure 3 : ABX Pentra XL 80.....	17
✓ Figure 4 : Exemple d'un hémogramme	18
✓ Figure 5 : Coloration du frottis.....	19
✓ Tableau(1) : Répartition des patients selon le sexe.....	21
✓ Figure (6) : Répartition des patients selon le sexe.....	21
✓ Tableau (2) : Répartition des patients selon le taux d'Hb	22
✓ Figure (7): Répartition des patients selon le taux d'Hb	22
✓ Tableau(3) : Répartition des patients Selon la (CCMH)	23
✓ Figure (8): Répartition des patients Selon la (CCMH).....	23
✓ Tableau (4) : Répartition des patients selon le taux du Ferritinémie.....	24
✓ Figure (9) : Répartition des patients selon le taux du Ferritinémie	24

Sommaire

Partie bibliographique

Introduction	1
I-Métabolisme du fer	2
1-Répartition dans l'organisme	2
2-Cycle du fer	2
3-Besoins en fer	3
4-Absorption intestinale du fer	3
5-Transport du fer	4
6-Réserves en fer de l'organisme	4
7-Régulation du métabolisme cellulaire du fer	5
II-Généralité sur les anémies	5
1-Définition	5
2-les paramètres hématologiques	6
3-principaux mécanismes d'anémies	7
III-Les anémies ferriprives	8
1-Étapes du déficit	8
2- Étiologies	8
3- Diagnostic	9
3-1-Diagnostic positif	9
3-2-Diagnostic Différentiel	10
4-Les symptômes	11
5-Prévention	12
Partie pratique.....	13

A-Matériel	15
A-1-Appareil utilisé	15
A-2-Les réactifs	16
B-Méthodes	17
B-1- L'hémogramme	17
B-2- La frottis sanguins	18
C-résultats discussion.....	20
C-1-Répartition selon le sexe	21
C-2-Répartition des patients selon les paramètres Hématologiques.....	22
C-2-1-Selon le taux d'hémoglobine	22
C-2-2-Selon la Concentration corpusculaire moyenne en Hb	23
C-3-Selon le taux de ferritinémie	24
Discussion	25
Conclusion.....	25

Partie bibliographique

Introduction

L'anémie carencielle est définie selon l'OMS par un état pathologique dans lequel la teneur du sang en hémoglobine est devenue anormalement faible suite à une carence en un ou plusieurs nutriments essentiels.

L'anémie par carence martiale (anémie ferriprive) est l'anémie la plus répandue dans le monde avec 2.15 milliards de personnes atteintes selon l'OMS ; c'est un problème de santé public majeur dans le monde (2). Puisque Le fer, est un élément indispensable à la croissance et à la survie des organismes, il joue un rôle essentiel dans le transport de l'oxygène par l'hémoglobine, la synthèse de l'ADN et dans l'activité d'oxydoréduction de nombreuses enzymes mitochondriales.

L'anémie ferriprive est une pathologie dont les facteurs de risque sont connus ce qui rend possible sa prévention. Chez le sujet adulte, l'anémie est souvent liée à une perte chronique d'origine souvent gynécologique chez la femme et digestive chez l'homme. Chez l'enfant, il s'agit surtout d'une carence d'apport

Au Maroc, la prévalence de l'anémie ferriprive est de 37,2% chez les femmes enceintes et 31,6% chez les enfants âgés de 6 mois à 5 ans (1,2)

Le but de notre travail est l'étude de l'anémie ferriprive dans un laboratoire d'analyse médicale tout en décrivant les méthodes utilisées pour son diagnostic et en établissant la répartition de ces anémies selon certains paramètres : sexe, les paramètres hématologiques (Hb, CCMH) et biochimiques (ferritine).

I. Métabolisme du fer

1. Répartition dans l'organisme

Un adulte sain possède environ 4 g de fer (71 moles) répartis entre fer héminique à l'état ferreux (Fe^{2+}) et fer non héminique à l'état ferrique (Fe^{3+}). La majeure partie du fer héminique entre dans la composition de l'hémoglobine, myoglobine, cytochromes et catalases (60 % du fer total), alors que les réserves sous forme de ferritine et d'hémosidérine possèdent un fer non héminique (35 % du fer total)

2. Cycle du fer (Figure 1)

Plus de la moitié du fer de l'organisme est contenu dans les globules rouges (GR) au sein de l'hémoglobine (Hb). Ce fer est à l'état ferreux (Fe^{2+}).

Les hématies vieilles sont captées par les macrophages du système réticulohistiocytaire (SRH) principalement du foie, de la rate et de la moelle osseuse. L'hémoglobine détruite va libérer le fer, dont une partie est stockée sous forme de ferritine et d'hémosidérine

Et une autre partie est libérée dans le plasma. Le fer plasmatique est transporté par une protéine, la transferrine qui est normalement saturée au tiers de ses capacités de transport.

Le fer plasmatique peut avoir deux destinées :

- la plus importante est son retour au niveau de la moelle osseuse où il sera incorporé au sein des érythroblastes, cellules précurseurs des GR.
- l'autre voie permet la mise en réserve sous forme de ferritine et d'hémosidérine dans les cellules parenchymateuses du foie (hépatocyte)

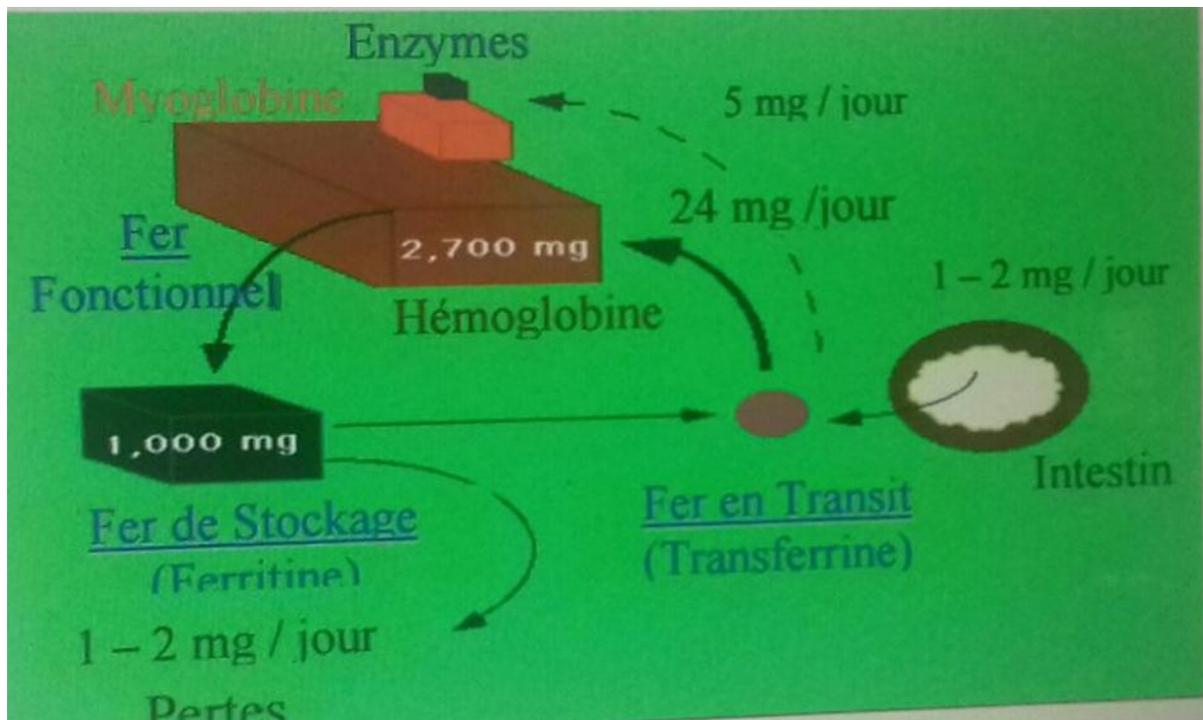


Figure 1 : Cycle du fer dans l'organisme

3. Besoins en fer

Le fer est recyclé dans l'organisme et les besoins doivent juste compenser les pertes :

- pertes régulières dont la plus importante est la desquamation des cellules intestinales épithéliales. S'y associent des pertes faibles par la bile, la peau et l'urine ;
- pertes épisodiques liées aux hémorragies, aux pertes menstruelles, à la grossesse, à l'allaitement.

Les besoins quotidiens sont d'environ :

- 1 mg chez l'homme,
- 2 mg chez la femme en période d'activité génitale.

La grossesse demande pour la mère un apport supplémentaire de l'ordre de 3 mg/jour pour les deux premiers trimestres et de 10 mg/jour pour le dernier.

Chez l'enfant les besoins sont plus importants pendant les deux premières années et au moment de l'adolescence.

Le fer est apporté principalement par la viande, le poisson, les légumes secs, les fruits, les légumes.

4. Absorption intestinale du fer

Les entérocytes des villosités du duodénum et de la partie proximale du jéjunum sont responsables de la quasi-totalité de l'absorption du fer héminique et non héminique.

Pour passer de la lumière intestinale au plasma, le fer doit traverser la membrane apicale, l'entérocyte lui-même puis la membrane basolatérale

Le fer héminique est endocyté avec la molécule d'hème après liaison avec un récepteur potentiel non encore identifié, Le fer est ensuite libéré dans l'entérocyte après clivage de la molécule d'hème par un hème oxygénase(6)

Le fer non héminique, solubilisé grâce au pH acide de l'estomac, est présent dans la lumière digestive sous forme de Fe^{3+} . Il est alors réduit sous l'action d'une réductase ancrée dans la membrane apicale de l'entérocyte DCYTB (duodéal cytochrome réductase b). Le Fe^{2+} ainsi produit est pris en charge par DMT1 (divalent métal transporter1) qui assure son transfert dans la cellule

Au sein de l'entérocyte, le fer va soit:

- Être couplé à une protéine de stockage : la ferritine
- Soit de diriger vers le pôle basal

Au pôle sanguin, deux protéines interviennent:

- La ferroportine permet le transport transmembranaire du fer
- Héphaestine protéine d'ancrage membranaire peut réoxyder le fer

5. Transport du fer

Le fer est principalement transporté dans le plasma sous forme de fer lié à la transferrine. Le complexe fer transferrine est ensuite capté par le récepteur 1 de la transferrine (RTf1) présent au niveau de différents organes, en particulier le foie et les cellules érythropoïétiques. Au cours des surcharges en fer, une forme biochimique particulière du fer apparaît. Il s'agit du fer non lié à la transferrine dont la particularité, contrairement au fer lié à la transferrine, est d'être captée de façon préférentielle par le foie Cette forme du fer, capable de générer des radicaux libres(6)

6. Réserves en fer de l'organisme

Elles représentent à peu près 35 % du fer total sous deux formes de stockage, la ferritine et l'hémosidérine dans laquelle le fer est sous forme ferrique.

Ces deux types de réserves se trouvent surtout au niveau du foie, de la rate et de la moelle osseuse:

- La ferritine représente la forme de stockage rapidement disponible
- L'hémosidérine le fer est plus difficilement mobilisable.

6.1. Ferritine

➤ Ferritine tissulaire

- ✓ La ferritine tissulaire est une structure ubiquitaire constituée d'une protéine : l'apoferritine, et du fer à l'état ferrique
- ✓ La ferritine est localisée plus particulièrement dans certaines cellules : dans les macrophages du SRH du foie, de la rate, de la moelle osseuse, et dans les hépatocytes.

➤ Ferritine plasmatique

- ✓ Une très petite quantité de ferritine se trouve dans le plasma,
- ✓ Une grande partie viendrait des macrophages du SRH (système réticulohistiocytaire), une autre partie proviendrait de la lyse des cellules de différents tissus

6.2. Hémosidérine

Forme stable de réserve martiale elle ne libère son fer que très lentement. C'est un complexe fer-protéine qui dériverait d'une digestion lysosomiale des agrégats de ferritine. Elle se trouve, comme la ferritine, dans les macrophages du SRH et dans les hépatocytes

7. Régulation du métabolisme cellulaire du fer

Cette régulation intervient dans l'approvisionnement de la cellule en fer mais aussi dans la protection de celle-ci contre une surcharge potentiellement toxique de ce métal .C'est le stock de fer lui-même de la cellule qui régule ces deux versants du métabolisme du fer par l'intermédiaire d'une protéine cellulaire appelée IRP (ion regulatory protein). Celle-ci en cas de stock cellulaire bas :

- ✓ empêche la synthèse des sous unités d'apoferritine ;
- ✓ permet la synthèse des RTF de la cellule (7)

II. Généralités sur les anémies

1. Définition

L'anémie est définie par une baisse du taux d'hémoglobine. Les seuils inférieurs d'hémoglobine varient en fonction de l'âge, du sexe d'une personne, de l'altitude à laquelle elle vit, de ses habitudes tabagiques et du stade de la grossesse. Le diagnostic d'anémie est porté lorsque le taux d'hémoglobine est inférieur à ces valeurs seuils:

- Hb <14 g/dL chez le nouveau-né ;
- Hb <13 g/dL chez l'homme adulte ;
- Hb <12 g/dL chez la femme adulte ;
- Hb <11 g/dL chez la femme enceinte,

Il faut néanmoins faire une réserve à cette définition, à savoir que l'hémoglobine doit refléter ce qui se passe dans l'ensemble de l'organisme.

Il existe une fausse anémie par hémodilution: l'augmentation du volume plasmatique entraîne une dilution d'Hb (grossesse, insuffisance rénale etc.) et une anémie masquée par une hémococoncentration (déshydratation) (3,4)

2. Paramètres hématologiques

- **Volume Globulaire Moyen (VGM)** : est le rapport de hématocrite au nombre de GR. Sa valeur est comprise entre 80 et 100 FL chez l'adulte.
- **Concentration Corpusculaire Moyenne de l'Hémoglobine (CCMH)**:est le Rapport du taux d'hémoglobine à l'hématocrite. Sa valeur normale est comprise entre 31 et 35 g/dl.
- **Réticulocytes** : Ils correspondent aux hématies les plus jeunes, de moins de 48 heures, dans le sang. Leur comptage permet d'évaluer la capacité de production médullaire en tenant compte de la valeur de l'hémoglobine

3. Principaux mécanismes d'anémies

3.1. Anémies centrales

- ✓ par défaut de production des globules rouges par la moelle osseuse
- ✓ les réticulocytes sont inférieurs à $100,000/\text{mm}^3$ Elles sont dites arégénératives.
- ✓ Les anémies centrales témoignent d'une atteinte de production : par atteinte de la cellule hématopoïétique ou par atteinte de son environnement. Elles peuvent être dues à :
 - une disparition des cellules souches de la moelle osseuse ou insuffisance médullaire quantitative (aplasie médullaire)
 - une Dysérythropoïèse ou insuffisance médullaire qualitative : anémies réfractaires (syndromes myélodysplasiques)
 - un envahissement de la moelle par des cellules anormales
 - une anomalie de structure de la moelle
 - un manque de matière première : B9, B12, fer
 - une stimulation hormonale diminuée (déficit en EPO).

3.2. Anémies périphériques ou régénératives

Ces anémies périphériques ont en commun un signe biologique : le nombre de réticulocytes est supérieur à $150,000/\text{mm}^3$. Elles sont dites régénératives. Dans ce cas, la production médullaire est normale,

Elles sont normocytaires ou macrocytaires : sont définies par un VGM supérieur à 80 fL.

Il existe deux mécanismes

- ✓ les hémorragies abondantes
- ✓ l'hémolyse : l'hémolyse est un phénomène irréversible conduisant à la destruction des globules rouges et la libération de leur contenu dans la circulation générale :
 - ✓ **les causes extra corporelles** : Il y a les causes immunologiques (les maladies auto-immunes : la maladie hémolytique du nouveau-né), parasitaires

(paludisme, ankylostome, leishmanie etc.), médicamenteuses et toxiques, et la splénomégalie.

- ✓ **les causes corpusculaires** : sont dues à des anomalies liées aux globules rouges : anomalies de l'hémoglobine (la drépanocytose, thalassémie), de déficit en G6PD et anomalies de la membrane.

III. Anémies ferriprives

1. Étapes du déficit

La carence martiale évolue en deux grandes étapes :

- La première étape correspond à une diminution des réserves en fer de l'organisme sans anomalie de l'hémogramme. A ce stade, le test le plus sensible en routine est le dosage de la ferritinémie qui est, dans ce cas, inférieure à 30 mg/L
- La seconde étape correspond à un épuisement des réserves en fer qui cette fois a un retentissement sur l'érythropoïèse. Ce retentissement se traduira initialement sur l'hémogramme par une diminution de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) inférieure à 28 pg (hypochromie), et du volume globulaire moyen du globule rouge (VGM) inférieur à 80 mm (microcytose) (10)

2. Étiologie

On distingue classiquement les carences d'apport et les pertes excessives ,on peut y ajouter des problèmes d'utilisation du fer :

- Les carences d'apport peuvent provenir de besoins augmentés comme pour les nourrissons, les enfants, les adolescents et les sujets dialysés traités par l'érythropoïétine (EPO) dont la maladie rénale a touché le tissu produisant l'EPO, principal facteur de croissance pour l'érythropoïèse médullaire ; ces carences ne sont donc que relatives à ces besoins augmentés.

- Par ailleurs, on peut noter des apports diminués en fer dans les régimes déséquilibrés (comme chez les végétariens) et certaines malabsorptions. Les pertes excessives proviennent essentiellement de saignements, soit digestifs chroniques (ulcères gastriques, hémorragies intestinales ou rectales), soit gynécologiques chroniques
- Enfin, plus rarement on retrouvera un problème d'utilisation du fer, soit à sa entrée digestive ou cellulaire (mutations rares), soit sur son transport par la transferrine

3. Diagnostic

3-1-Diagnostic positif :

Les examens biologiques doivent permettre le diagnostic d'anémie ferriprive.

3-1-1-Hémogramme :

L'anémie ferriprive est classiquement :

- ✓ Microcytaire (volume globulaire moyen [VGM] < 80 mL)
- ✓ Hypochrome,
- ✓ Souvent profonde (taux d'Hb fréquemment inférieur à 7 g/dL)
- ✓ Non ou peu régénérative (réticulocytose faible).

3-1-2- Frottis sanguin :

L'AF s'accompagne d'anomalies morphologiques aisément observables sur le frottis telles que :

- L'anisocytose : variabilités des globules rouges dans leurs diamètres.
- Poïkilocytose : variabilités des globules rouges dans leurs formes.
- L'annulocytose : globules rouges vides d'hémoglobine, se présentant sous la forme d'un simple anneau formé par la membrane de l'élément

3-1-3-Bilan martial :

a. Dosage du fer sérique:

Le dosage isolé du fer est sans intérêt. Il est toujours associé aux autres paramètres du bilan ferrique notamment à la transferrine et la ferritine

b. La Ferritinémie :

Le diagnostic de la carence martiale est basé sur le dosage de la ferritine, qui a une corrélation excellente à l'état de réserve. Les seuils de la Ferritinémie qui définissent la carence martiale sont :

- Inférieur à 15 µg/L chez la femme (normale 15 - 200 µg/L).
- inférieur à 30 µg/L chez l'homme (normale 30 - 300µg/L).
- inférieur à 15 µg/L chez Enfant (normale 15 - 80 µg/L)

c. Dosage de la transferrine :

C'est la protéine plasmatique qui assure le transport du fer jusqu'aux cellules cibles. Elle est dosée par des techniques immunochimiques utilisant des anticorps spécifiques. Dans les carences martiales son taux est typiquement augmenté, la normale étant comprise entre 1.80-3g/L, tandis que son coefficient de saturation (rapport entre le fer sérique et la CTF) est diminué

d. Capacité totale de fixation de la transferrine (CTF) :

La CTF est une estimation indirecte de la transferrine ; associée au dosage du fer, elle permet d'évaluer le coefficient de saturation de la transferrine afin d'avoir une idée des réserves en fer de l'organisme et de leur disponibilité. Elle est augmentée dans la carence en fer atteignant 360mg/l alors que sa valeur normale est de 200-300mg/l. (10)

3-2- Diagnostic différentiel

1. **Les anémies inflammatoires** : Ce sont des anémies normochromes normocytaires mais qui deviennent progressivement microcytaires par défaut de redistribution du fer capté par les macrophages
2. **Les syndromes thalassémiques** sont la conséquence d'une insuffisance de la synthèse d'une ou plusieurs chaînes de globine

4. Les symptômes

Les signes cliniques de l'anémie associent des signes fonctionnels (en rapport avec l'hypoxie tissulaire) et des signes physiques.

→ Signes fonctionnels : ce sont des signes fonctionnels, non pathognomoniques, variables d'un patient à l'autre, mais souvent révélateurs :

- ✓ l'asthénie
- ✓ la dyspnée d'effort puis de repos
- ✓ la tachycardie
- ✓ les vertiges
- ✓ les céphalées.

La décompensation ou l'aggravation d'une pathologie préexistante : angor, artériopathie des membres inférieurs, insuffisance cardiaque, insuffisance circulatoire cérébrale.

Ces symptômes sont d'autant plus importants et précoces que l'installation de l'anémie est rapide (absence de temps suffisant pour mettre en place des systèmes d'adaptation) et qu'il existe un terrain sous-jacent responsable d'une hypoxie (insuffisance cardio-respiratoire, athérome...).

→ Signes physiques

- ✓ Pâleur : en rapport avec la diminution du pigment que représente l'hémoglobine. Elle est généralisée, cutanée et muqueuse. Elle est surtout nette au niveau de la coloration unguéale et au niveau des conjonctives. Elle peut être très variable d'un patient à l'autre.
- ✓ Souffle cardiaque systolique : ce souffle (anorganique) est en rapport avec la baisse de la viscosité sanguine.

5. Prévention

- ✓ Consommez des aliments riches en fer (céréales, foie, légumineuses, tofu, légumes verts, poissons, fruits secs, viande rouge maigre).
- ✓ Mangez et buvez des aliments riches en vitamine C parce qu'ils aident votre corps à absorber le fer (oranges, fraises).

- ✓ Ne prenez pas de thé ou de café en même temps que les repas : la caféine peut bloquer votre absorption de fer.
- ✓ Les mères doivent veiller à allaiter leurs bébés ou à leur donner du lait maternisé enrichi en fer.
- ✓ Les femmes enceintes dès le 4ème mois de grossesse ; la supplémentation doit être poursuivi jusqu'à l'accouchement

Partie pratique

Cette étude a été effectuée au sein du Laboratoire Centre Biologie Maroc pendant une durée de 7 semaines. Le but de ce stage est de diagnostiquer les anémies hypochromes microcytaires par carence martiale sur des prélèvements sanguins des patients et d'étudier les caractéristiques biologiques de ces anémies L'échantillon d'étude est composé de 233 patients atteints d'anémie ferriprive

Présentation de la structure d'accueil :

Notre stage est réalisé au sein du Centre Biologie Maroc. Il s'agit d'un laboratoire privé d'Analyses Médicales situé à avenue lalla asmae gare du train à Fès. Il a été créé en 2001 Le laboratoire occupe une superficie de 110 m² et se compose de :

- ✓ Salle d'accueil
- ✓ Deux salles de prélèvement
- ✓ Local administratif
- ✓ Plateau technique (laboratoire)

Ce laboratoire réalise une large gamme d'analyses de biologie médicale dans les différents domaines :

- ✓ Bactériologie et parasitologie avec la mycologie
- ✓ Hématologie
- ✓ Immunologie
- ✓ Sérologie
- ✓ Toxicologie
- ✓ Biochimie

A-Matériel

A-1-Appareil utilisé

ABX Pentra XL 80 : automate d'analyses médicales permet de mesurer directement le nombre de la lignée rouge (hématies), de la lignée blanche (globules blancs) et des plaquettes

A-1-1- principe ABX Pentra XL 80 (Figure : 2)

La cytométrie en flux (CMP) est une technique permettant de faire défiler des particules, molécules ou cellules à grande vitesse dans le faisceau d'un laser, en les comptants et en les caractérisant.

C'est la lumière réémises (par diffusion ou fluorescence) qui permet de classer la population suivant plusieurs critères et de les trier

La cytométrie en flux est définies comme l'étude précise de particules isolées ou de cellules , bactéries, etc.(vivantes ou mortes) entraînées par un flux liquide ou gazeux .

C'est une technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative de particules en suspension dans un liquide

ABX Pentra XL 80 utilise les principes de cryométrie en flux ; un échantillon de sang est aspiré et proportionné, puis dilué pour atteindre une teneur prédéfinie et marqué à l'aide d'un fluorochrome qui se lie spécifiquement aux acides nucléiques.

L'échantillon est ensuite transporté dans la chambre de mesure. L'échantillon est illuminé par le faisceau d'un laser semi-conducteur, capable de séparer des cellules au moyen de trois signaux différents :

- ✓ diffusion frontale de la lumière
- ✓ diffusion latérale de la lumière
- ✓ fluorescence latérale de la lumière

Principe de fonctionnement d'un analyseur-trieur

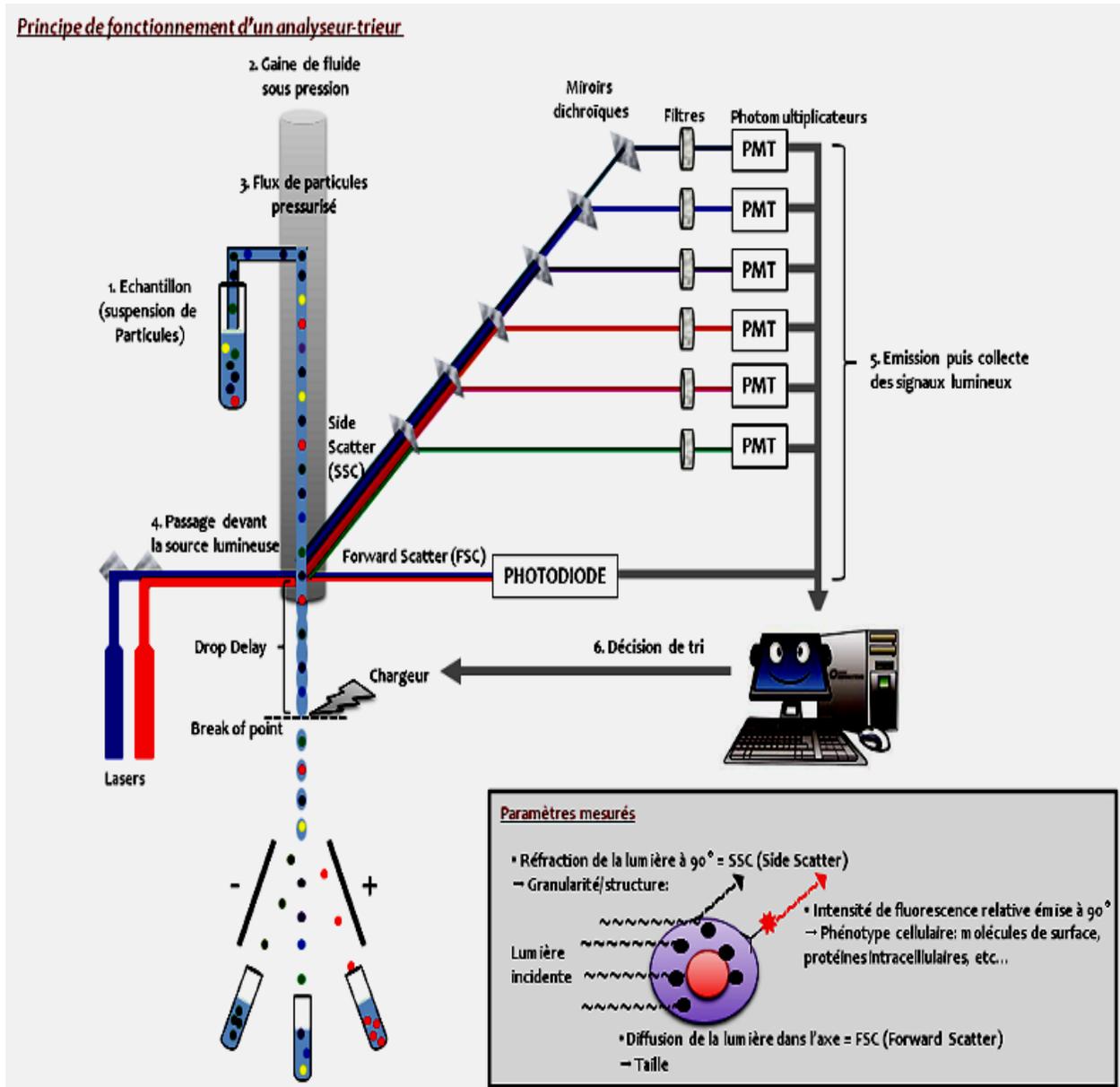


Figure 2 : Principe de fonctionnement d'un cytométrie en flux

A-1-2- Principe ABX Pentra XL 80 (Figure : 3)

- ✓ Agitation rotative des tubes pour une homogénéisation parfaite de l'échantillon
- ✓ Microprélèvement et homogénéisation échantillons et réactifs

- ✓ Reprélèvement automatique des tubes : sélectif et programmable (paramètres hématologiques, alarmes, limites...)
- ✓ Réactifs: seulement 4 réactifs embarqués et 1 diluent



A-2-Réactifs

- ✓ Colorant de May Grunwald
- ✓ Colorant de Giemsa

B- Méthodes

1. Hémogramme (Figure : 4)

- ✓ L'hémogramme est le premier examen biologique utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies
- ✓ L'hémogramme ou numération-formule sanguine (NFS) a pour but d'apporter des informations quantitatives et qualitatives des éléments figurés du sang : hématies (globules rouges ou érythrocytes), leucocytes (globules blancs) et thrombocytes (plaquettes) par un automate d'analyses médicales. Cette machine mesure directement le nombre d'érythrocytes, le volume globulaire moyen (VGM) de chacun d'entre eux et dose le taux d'hémoglobine. Il calcule ensuite l'hématocrite (rapport représenté par l'ensemble des globules rouges dans le sang), la concentration

corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH),

- ✓ Il est réalisé à partir d'un échantillon de sang prélevé par ponction veineuse et recueilli dans un tube contenant un anticoagulant de type EDTA. Il n'est pas
- ✓ nécessaire d'être à jeun pour cet examen
- ✓ Une bonne technique de prélèvement améliore la qualité des résultats de l'hémogramme

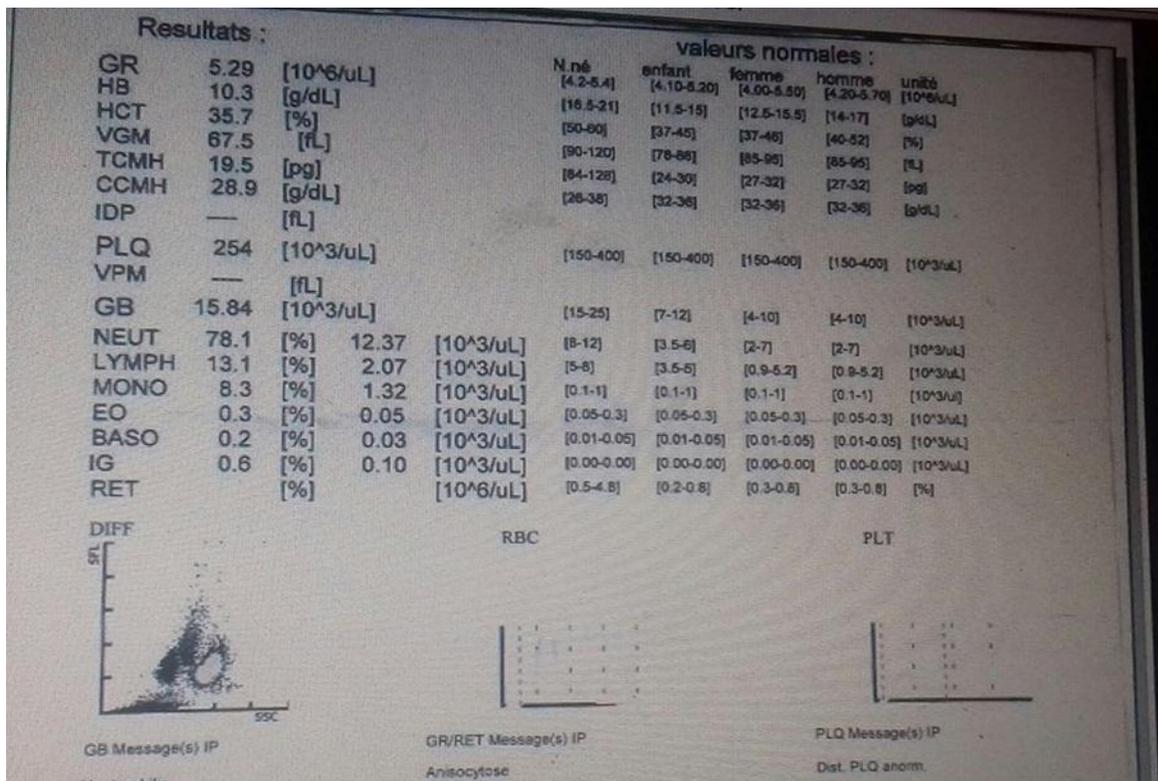


Figure 4 : Exemple d'un hémogramme

2. Frottis sanguins (Figure : 5)

Un frottis sanguin est l'observation au microscope d'une goutte de sang étalée sur une lame de verre afin d'examiner les cellules sanguines. Il reste l'outil de diagnostic essentiel lorsqu'une anomalie a été repérée lors d'une analyse sanguine ou d'un hémogramme

Cette technique permet de faire une étude morphologique des cellules du sang, de repérer les anomalies cellulaires et la présence de certains parasites dans le sang

Il doit subir une coloration pour révéler certaines cellules qui sans cela seraient transparentes, donc non visibles.

2-1-Préparation du frottis sanguin

On dépose une goutte de sang à l'extrémité de la lame à environ 1cm du bord. On place devant la goutte une deuxième lame et on forme un angle de 30 à 45° avec la première lame. On Recule cette deuxième lame inclinée, jusqu'au contact de la goutte de sang pour la faire s'étendre par capillarité, sur toute la largeur de la lame inclinée. On déplace cette deuxième lame, d'un mouvement rapide vers l'avant, on glissant sur la première lame.

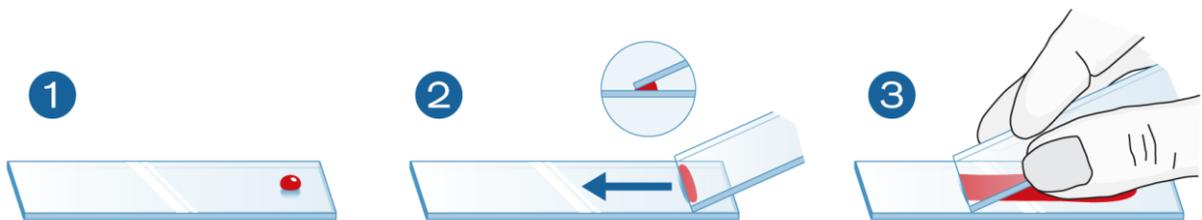


Figure 5 : coloration du frottis

2-2-Coloration de May-Grunewald-Giemsa (MGG)

MGG est une méthode de coloration utilisée en hématologie pour étudier les cellules sanguines lors des préparations cellulaires (cytologie). Il repose sur l'action combinée de deux colorants neutres:

- a. **Le May-Grunwald** , contenant un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, le bleu de méthylène.
- b. **Le Giemsa**, contenant lui aussi de l'éosine, et un colorant basique, l'azur de méthylène. Les deux colorants sont en solution dans l'alcool méthylique sous forme inactive. Lors de l'addition d'eau, les sels précipitent (éosinate de méthylène et azurs de méthylène) et se fixent électivement sur les constituants cellulaires

Protocole expérimentale :

- ✓ On place le frottis horizontalement dans une boîte de coloration et verser 15 à 20 gouttes de colorant May-Grunwald de façon à recouvrir totalement la lame.
- ✓ On attend 2 à 3 minutes pour que le méthanol fixe les cellules.
- ✓ On laisse agir deux minutes et rince la lame à l'eau neutre.
- ✓ On dilue le Giemsa immédiatement et on laisse agir 15 min.
- ✓ On rince à l'eau neutre.
- ✓ On laisse la lame sécher à l'air.
- ✓ On attend le séchage complet avant observation au microscope

3. Bilan Martial

Dosage de fer sérique et de ferritine : Le dosage de fer sérique et de ferritine se font au service de biochimie et notre étude est limitée seulement au service d'Hématologie.

C-Résultats et Discussion :

L'objectif de mon projet de fin d'étude c'est une étude rétrospective de l'analyse des patients qui ont atteint d'une anémie hypochrome microcytaire par carence martiale et aussi la description de la démarche de diagnostic de cette pathologie. Concernant les prélèvements afférents au CENTRE BIOLOGIE MAROC de l'année 2016 ; et en vue de réaliser l'étude rétrospective nous avons utilisé un système informatique qui contenait les résultats d'analyses et informations correspondant à 233 patients marocains ayant consulté le laboratoire d'analyse pendant la période 1-1-2016 jusqu'au 31-12-2016, pour un diagnostic de l'anémie par carence martiale

C-1-Répartition des patients anémiques selon le sexe :

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

Tableau1 : Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Nombre de patient	pourcentage %
Hommes	73	31,33
Femmes	160	68,66

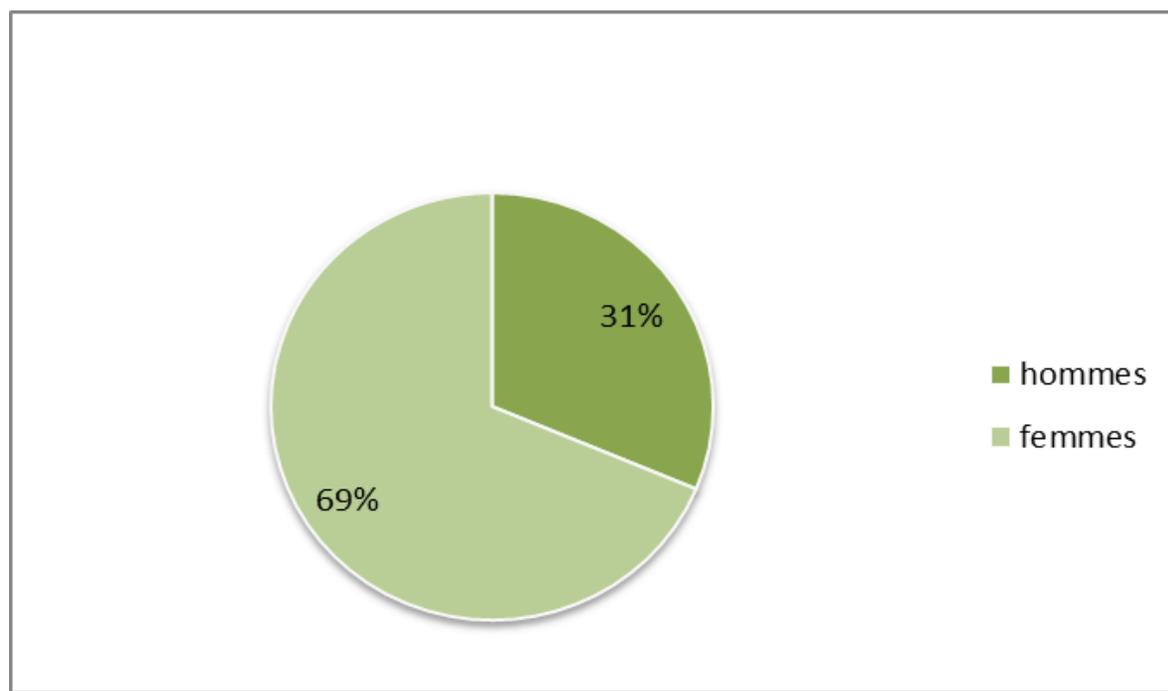


Figure (6) : Répartition des patients selon le sexe

- D'après les résultats obtenus, la répartition des patients selon le sexe montre que l'anémie ferriprive est présente chez 68,66% des femmes, en revanche chez les hommes ne représentent que 31,33 % de la population étudiée
- on peut conclure que l'anémie ferriprive est une pathologie à dominance féminine

C-2-Répartition des patients selon les paramètres hématologiques :

C-2-1-Selon le taux d'hémoglobine:

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

Tableau 2 : Répartition des patients selon le taux d'Hb

<i>Hémoglobine (g/dl)</i>	<i>Nombre des patients</i>	<i>Pourcentages%</i>
<i>6---8</i>	<i>120</i>	<i>51,5</i>
<i>8---11</i>	<i>113</i>	<i>48,5</i>

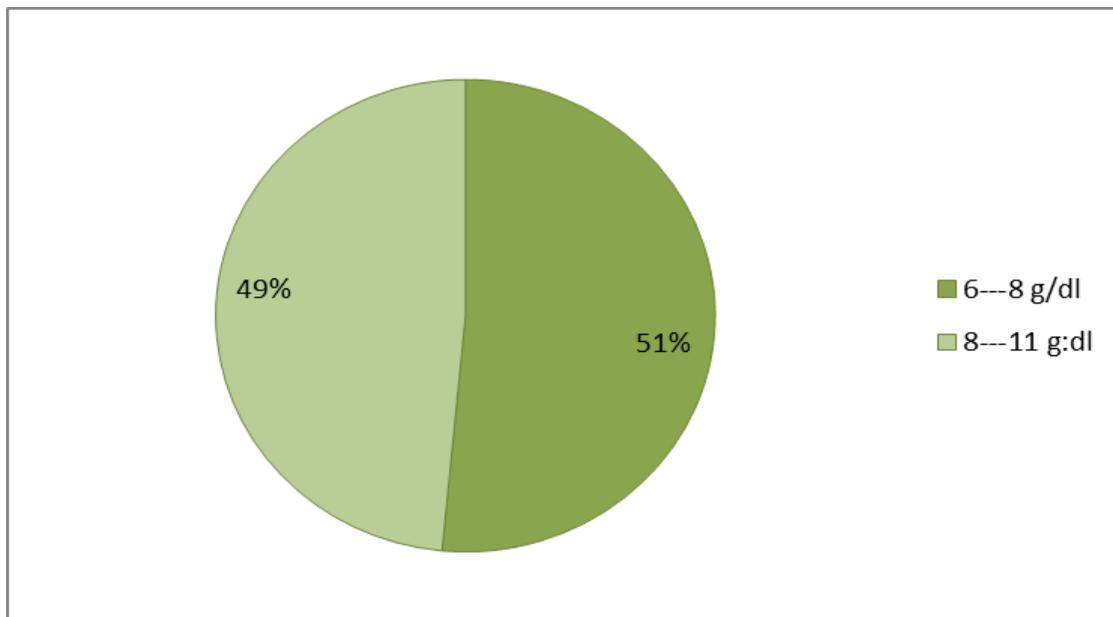


Figure (7) : Répartition des patients selon le taux d'hémoglobine

Les résultats illustrés dans le tableau et la figure(7) montrent que 51 % des patients présentent une anémie sévère .En revanche 49 % des patients présentent une anémie modérée.

C-2-2-Selon la Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

Tableau(3) : Répartition des patients Selon la Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

Taux du (CCMH) en (g /dl)	Nombre des patients	Pourcentage %
24-28	67	28,75
28-31	166	71,24

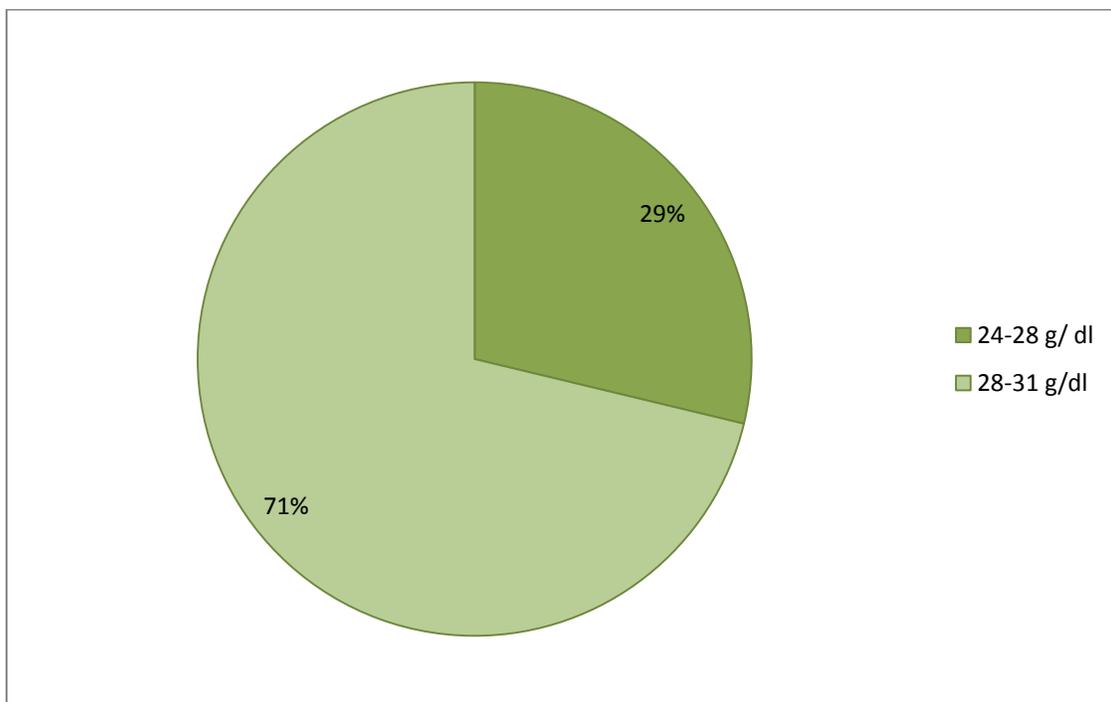


Figure (8) : Répartition des patients selon la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

- D'après le tableau 3 et la figure (8), on observe que 29 % de la population étudiée Présentent une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine entre 24 et 28 g/dL et 71 % ont un taux entre 28 et 31g/dL.

- On parle d'hypochromie quand la CCMH est inférieure à 32g/dL, et se traduit par une faible teneur en hémoglobine due principalement à une carence en fer.

C-3-Selon le taux du ferritinémie

Tableau (4) : Répartition des patients selon le taux du Ferritinémie

Valeurs normales de ferritine en (µg/l)	Ferritinémie < à la normale (µg/l)	Pourcentage (%)
10-120	170	68,66
20-300	63	31,33

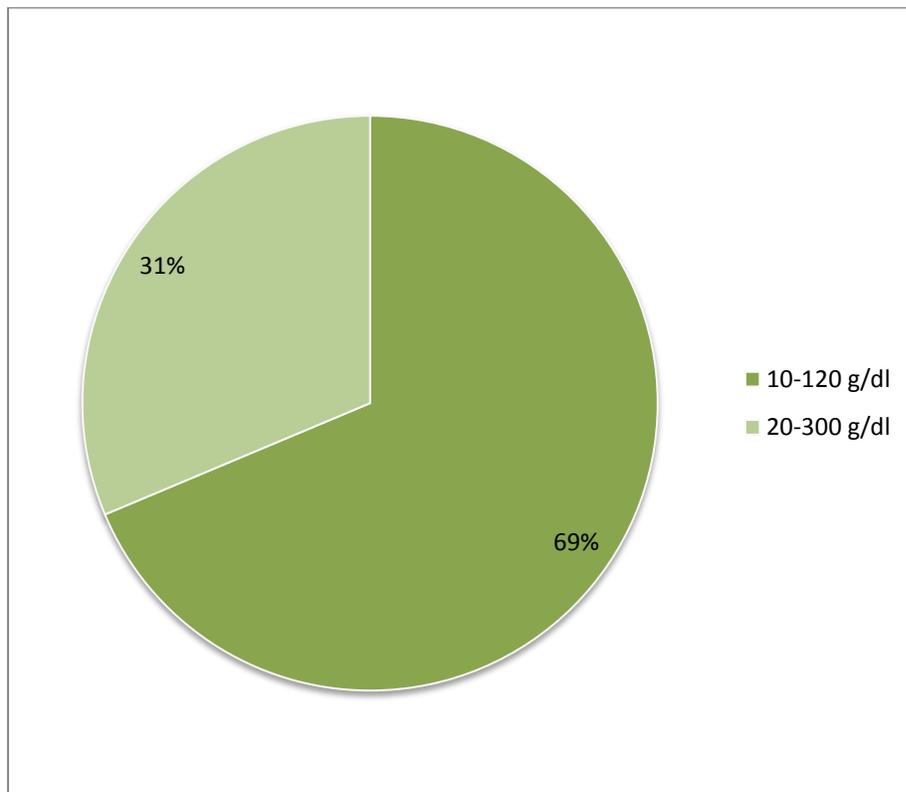


Figure (9) : Répartition des patients selon le taux du ferritinémie.

D'après le tableau et la figure(9) on remarque :

- L'ensemble des patients présentent un taux de ferritinémie inférieure à la normale ce qui traduisant une manque de réserve du fer dans l'organisme

Discussion

- L'anémie ferriprive est due à une carence en fer (anémie par carence martiale). C'est la plus fréquente des anémies, elle affecte toutes les tranches d'âge, dans tous les pays.
- Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (2009), environ 25 % de la population mondiale présente une anémie. La moitié de ces cas serait attribuable à une carence en fer
- Les résultats obtenus dans ce travail sont réalisés sur 233 patients dont 69 % sont des femmes Et 31 % sont des hommes. Ce résultat traduit que l'anémie hypochrome microcytaire à dominance féminine et concorde avec ceux publiés par le ministère de la santé publique, 2001.(12) 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
- Le dosage de la ferritine qui représente les réserves en fer de l'organisme, montre des valeurs fortement diminuées chez la population étudiée, ce qui confirme l'état d'anémie ferriprive chez nos patients

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
- Le diagnostic en est simple à partir d'une numération globulaire, qui met en évidence une anémie microcytaire hypochrome.
Un dosage de ferritine, lorsqu'il est possible, permet de confirmer la carence en fer et d'apprécier les réserves en fer.
- Le traitement vise à corriger l'anémie et à reconstituer les réserves en fer .Il doit durer plus de 3 mois, en moyenne 5 à 6 mois. L'anémie est corrigée en 1 à 2 mois mais le traitement doit être poursuivi pour reconstituer les réserves.

- La mise en place du traitement sera suivie avec l'apparition d'une réticulocytose en quelques jours, puis de la normalisation de la numération globulaire.

Bibliographie

1. Dillon, J C. Prévention de la carence et des anémies ferriprives en Milieu tropical. Med Trop .2000 .60 page 83-91
2. Alaoui Larbi Prévenir la carence en fer au Maroc Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA n° 131 page 1-4. Aout 2005
3. -Agarwal, K. N., Agarwal, D. K. et Mishra, K. P. (1991). Impact of anaemia prophylaxis in pregnancy on maternal haemoglobin, serum ferritin & birthweight. Indian J Med Res, 94, 277-280
4. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, de Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993- 2005. Public Health Nutr. 2009 Apr;12(4):444-54
5. E. Pautas Unité gériatrique aiguë, hôpital Charles Foix (AP-HP), 7, avenue de la République, 94205 Ivry-sur-Seine cedex 5, France
6. E. Cadet Parmley RT, Barton JC, Conrad ME, Austin RL, Holland RM. Ultrastructural cytochemistry and radioautography of hemoglobin-iron absorption. Exp Mol Pathol 1981; 34:131-44.
7. Pierre valdiguié .biochimie clinique.2^e édition-édition médicale internationales page (118-125)
8. -Dillon J C. Prévention de la carence et des anémies ferriprives en milieu tropical. Med Trop 2000;60(12):83- 91.
9. -Alaoui Larbi. Prévenir la carence en fer au Maroc Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA 2005;131:1-4.
10. C. EspaneL Iron deficiency anaemia: Clinical presentation, biological
11. - Pr. Michel Pavic, Pr. Patrick Gérome : Université Médicale Virtuelle Francophone -2013

12. Benoist B et al., eds. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2008.