

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES SIDI BEL ABBES
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Thèse

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3eme cycle LMD

Discipline: Biologie

Option : Biologie de la cellule normale et pathologie

THEME

INTERET DU DOSAGE DES RECEPTEURS SOLUBLES DE LA
TRANSFERRINE DANS LE DEPISTAGE DE LA CARENCE
MARTIALE PENDANT LA GROSSESSE

Présentée par : Mme LEBBAH FATIMA, Née BEDDEK

Devant le jury composé de

Présidente :	MOULESSEHOUL. S	PROFESSEUR	UDL Sidi Bel Abbés
Encadreur :	DEMMOUCHE. A	MCA	UDL Sidi Bel Abbés
Examineurs :	SLIMANI M.	PROFESSEUR	UNIV SAIDA
	AOUES A.	PROFESSEUR	UNIV ORAN
	ZAHZEH.T	PROFESSEUR	UDL Sidi Bel Abbés

Année universitaire: 2015/2016

SOMMAIRE

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
INTRODUCTION.....	1
PARTIE I : REVUE DE LA LITTERATURE	3
CHAPITRE I : Le fer dans l'organisme.....	3
I. Généralité sur le fer.....	3
I.1. Le Cycle du fer (Répartition, Apport, Besoin du fer).....	3
I.1.1. Répartition du fer dans l'organisme	3
I.1.1.1. Pool fonctionnel.....	4
I.1.1.2. Pool de réserve.....	5
I.1.1.3. Pool de transfert.....	5
I.2. Mouvement du fer : Apports et besoins.....	5
I.2.1. Pertes de fer.....	5
I.2.2. Apport de fer.....	6
I.2.3. Mouvements internes.....	8
II. Régulation de l'homéostasie martiale.....	9
II. 1. Régulation de l'absorption intestinale du fer.....	9
II. 2. Transport sanguin et captation du fer par la cellule.....	11
II.2.1. Captation du fer par le récepteur de la transferrine.....	11
III. Rôle du fer dans l'organisme.....	12
IV. Érythropoïèse.....	13
V. Les marqueurs biologiques du métabolisme martial.....	14
V.1. Paramètres évaluant le compartiment fonctionne.....	14
V.1.1. Le taux d'Hémoglobine.....	14
V.1.2. VGM.....	14
V.1.3. TCMH.....	15
V.2. Paramètres évaluant le compartiment de transport.....	15
V. 2.1. Le fer sérique.....	15

V. 2.2. La transferrine.....	15
V. 2.3. Coefficient de Saturation de la Transferrine (CST).....	17
V. 2.4. Rs-Tf.....	17
V. 3. Paramètres évaluant le compartiment de réserve.....	17
V. 3.1. Ferritine sérique.....	17
VI. Fer et grossesse.....	18
<u>CHAPITRE II : L'anémie ferriprive.....</u>	<u>19</u>
VII.1. Définition de l'anémie.....	19
VII.2. Les différents types d'anémie	20
VII.3. Les facteurs de risque de l'anémie ferriprive.....	21
VII.4. Epidémiologie de l'anémie ferriprive.....	22
VII.5. Physiologie de l'anémie au cours de la grossesse.....	22
VII.6. Fluctuations physiologiques de l'érythropoïèse en cours de grossesse.....	24
VII.7. Besoin du fer durant la grossesse.....	24
VII.7.1. Les besoins maternel.....	24
VII.7.2. L'importance des réserves.....	25
VII.8. L'absorption du fer durant la grossesse.....	26
VII.9. Les besoins en fer du fœtus.....	26
VII.10. Les conséquences de L'AF sur la mère, le fœtus et le nouveau-né.....	27
VII.10.1. Le retentissement maternel.....	27
VII.10.2. Le retentissement fœtal.....	28
VII.11. Les recommandations sur le dépistage de l'anémie.....	29
VII.11.1. Sur le plan clinique.....	29
VII.11.2. Sur le plan biologique.....	30
VII.11.2.1. Les caractéristiques biologiques de l'anémie.....	31
VII.11.2.2. Les recommandations sur la Numération Formule Sanguine (NFS).....	31
VII.12. Diagnostic de l'anémie ferriprive.....	31
VII.12.1. Les signes cliniques.....	31
VII.12.2. Les signes biologiques.....	33
VII.12.3. Diagnostic différentiel.....	33
VII.12.4. Diagnostic étiologique.....	33
VII.13. La supplémentation en fer.....	34

VII.13.1. Les recommandations.....	34
VII.14. Le Traitement.....	35
VII.14.1. Le Fer.....	35
VII.14.1.1. Indication de la voie parentérale : limitées aux cas suivants.....	35
VII.14.2. Traitement accessoire.....	36
VII.14.3. Surveillance du traitement martial.....	36
VII.15. Les modalités thérapeutiques.....	36
VII.15.1. Traitement martial.....	36
VII.15.2. Traitement par les folâtes.....	38
VII.15.3. Autres traitements.....	38
VII.15.4. Intérêt d'un traitement.....	38
<u>Chapitre III</u> : Le récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf).....	40
VIII. Le récepteur de la transferrine et sa forme soluble.....	40
VIII.1. Les récepteurs de la transferrine : R-Tf1 et R-Tf2.....	40
VIII.1.1. Structure du R-Tf1.....	40
VIII.1.2. Fonction du R-Tf.....	42
VIII.1.3. Régulation de l'expression.....	44
VIII.1.4. Le R-Tf2.....	45
VIII.2. La forme soluble (circulante) Rs-Tf ou (sTfR).....	46
VIII.3. Aspects analytiques : mesure du Rs-Tf.....	48
VIII.3.1. Méthodes de dosage.....	48
VIII.3.2. Variations biologiques.....	50
VIII.3.3. Applications cliniques.....	51
VIII.3.3.1. Évaluation de l'érythropoïèse.....	51
VIII.3.3.2. Évaluation de la déficience en fer (anémie ferriprive (AF) pure).....	53
VIII.3.3.3. Évaluation de l'Anémie des maladies chroniques pure (AMC).....	54
IX. Recommandation de la Haute autorité de santé (HAS) sur le choix des examens du métabolisme du fer en cas de suspicion de carence en fer.....	56
IX.1. Position de la HAS sur la place des récepteurs solubles de la transferrine dans la recherche d'une carence martiale.....	58
PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE.....	60
I. Patients et méthodes.....	60

I.1. Méthodologie.....	60
II.1. Prélèvement et préparation des échantillons.....	61
II.2. Méthodologie préconisée.....	62
II.2.1. Méthodes de dosage de l'hémoglobine.....	62
II.2.2.Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du bilan martial et inflammatoire.....	63
II.2.2.1. Dosage du fer sérique	65
II.2.2.2. Dosage de la transferrine.....	65
II.2.2.3. Dosage de la ferritine.....	66
II.2.2.4. Dosage du récepteur soluble de la transferrine.....	67
II.2.2.5. Calcul de l'index Rs-Tf-F.....	70
III. Les marqueurs biologiques de l'état nutritionnel.....	70
III.1. Dosage de l'albumine.....	70
III.2. Dosage de la préalbumine.	71
III.3. Dosage de la protéine C-réactive.....	73
III.4. Dosage de l'orosomucoïde	74
III.5. Calcul du Prognostic Inflammatory Nutritional Index (PINI).....	75
IV. Exploitation statistique des résultats.....	76
PARTIE III. RESULTATS ET DISCUSSION.....	78
Discussion Générale.....	96
CONCLUSION	103
Références Bibliographiques.....	105
Liste des abréviations.....	122
Liste des figures.....	125
Liste des tableaux	126
Annexes	

Dédicace

Je dédie cette thèse à ma très chère mère ...

Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ces enfants suivent le bon chemin dans leur vie. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A la mémoire de mon Père ...

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que dieu t'accueille dans son vaste paradis.

A mon très cher mari..

Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin. Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de mener à terme mon travail. Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoin de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A mes très chers frères et sœurs, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous tous.

A ma belle famille qui m'a accueilli à bras ouvert, je vous dis merci.

A mes beaux frères et belles sœurs, nièces et neveux. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de Bonheur, de santé et de réussite.

Remerciements

Cette thèse constitue une riche expérience qui ne peut s'achever sans remercier les personnes qui m'ont aidé et soutenu au cours de ces quatre dernières années. Pourtant il existe une difficulté, celle de n'oublier personne. C'est pourquoi je tiens à remercier par avance ceux dont le nom n'apparaît pas dans cette page.

La rencontre avec Docteur Demmouche Abbassia a été pour moi déterminante. Je lui dois mon initiation à l'hématologie et à l'étude des anémies. Son exigence particulière m'a permis d'acquérir une expérience raisonnée, tant sur le terrain qu'au sein du Laboratoire. Elle m'a aussi fourni la documentation nécessaire et n'a cessé de me prodiguer des conseils et encouragements tout au long de mon parcours. Je mesure donc pleinement la part qu'elle a prise dans la conduite de mon travail et la prie de trouver, ici, l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

En premier lieu, je remercie vivement les membres du jury, qui ont accepté d'évaluer mon travail. Je remercie Mme MOULESSEHOUL Soraya, Professeur à l'Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbés, qui a bien voulu présider le jury. J'éprouve un grand respect pour son travail, son parcours, ainsi que pour ses grandes qualités humaines. Je remercie les examinateurs de cette thèse Mr SLIMANI M, Professeur à l'Université de SAIDA et Monsieur AOUES A, Professeur à l'Université d'ORAN, Ainsi que Mme ZAHZEH T, Professeur à l'Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbés. Je les remercie pour la rapidité avec laquelle ils ont lu mon manuscrit, malgré un emploi du temps sans doute très chargé. Je leur suis très reconnaissante pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux de recherche, ceci tout en ayant un regard critique, juste, avisé et constructif.

J'exprime ma grande gratitude au Professeur BENALI M, Directeur du Laboratoire de Biotoxicologie, et Professeur à l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbés pour son dévouement et sa sympathie, et je ne cesse de le remercier d'avoir accepté de m'aider financièrement, ce qui a facilité la réalisation de la phase pratique de ce travail.

Un grand Merci à tous ceux et celles qui ont participé directement à ce travail de thèse. Notamment le médecin chef et les techniciennes du laboratoire de l'EH Dr Benzredjeb de Aïn Temouchent. Je les remercie aussi d'avoir été toujours disponible et de m'avoir facilité la réalisation de ma partie expérimentale au sein de leurs locaux.

Un Merci particulier à Mme Bouhadjla, Laborantine au sein du Centre de Transfusion Sanguine (Service de Sérologie) de l'EPH Ahmed-Medeghri de Aïn Témouchent pour sa bonne humeur, son implication, ces suggestions et son approche pointilleuse des manipulations.

Cela va de soi, je remercie avec grande émotion ma famille pour son irremplaçable et inconditionnel soutien. Elle m'a toujours encouragé à aller de l'avant dans la vie malgré les difficultés. Merci d'avoir été là pour écarter les doutes, soigner les blessures et partager les joies. Cette thèse est aussi la vôtre. Voilà ! Je suis arrivée au bout et mon dernier remerciement, c'est pour toi maman.

Résumé

La carence martiale est la principale cause d'anémie pendant la grossesse. L'anémie maternelle est habituellement considérée comme un facteur de risque de faible poids de naissance des nouveaux nés. Beaucoup d'études ont démontré une forte corrélation entre un faible taux d'hémoglobine avant l'accouchement et le FPN. L'objectif de notre première partie d'étude est d'apprécier le retentissement de l'anémie ferriprive sur le petit poids du nouveau né. D'après notre enquête rétrospective nous avons décelés une incidence de 5.53%, soit 554 parmi 10008 naissances vivantes.

Les marqueurs biologiques actuels de la carence en fer ont tendance à être moins fiables pendant la grossesse. L'objectif de notre seconde partie est d'étudier l'utilité du dosage du récepteur soluble de la transferrine « Rs-Tf » comme nouveau marqueur de la carence en fer du début jusqu'à la fin de la grossesse et de définir le statut martial au niveau de la ville de Sidi Bel Abbés.

Nous avons effectués une évaluation transversale et longitudinale du Rs-Tf en comparaison avec la ferritine sérique et de l'hémoglobine recueillie chez 192 femmes enceintes entre 15 et 37 semaines d'aménorrhées recrutés au niveau de l'Etablissement Hospitalier Spécialisée en gynécologie Obstétrique de Sidi Bel Abbés durant l'année 2014-2015.

Sur base de la ferritine, nous constatons une fréquente carence martiale dans notre population. En effet, la ferritine est $< 20 \mu\text{g/l}$ chez 50 % des parturientes et 18 % d'entre elles présentent une ferritine $> 12 \mu\text{g/l}$. En outre, 72% des patientes présentent des Rs-Tf $> 0.87 \mu\text{g/ml}$, norme établie en fonction de l'âge et du sexe et 52 % des RsTf $> 2,81 \mu\text{g/ml}$, norme de référence du kit âge et sexe confondus. La ferritine et les Rs-Tf sont corrélés négativement ($R= 0,62$). Cette corrélation quoique faible est significative ($p < 0,001$). Chez les patientes dont le taux d'hémoglobine est compris entre 10 et 11 g/dl (40 % de notre population), les Rs-Tf sont fréquemment élevés (0,735 à 3,75 $\mu\text{g/ml}$) et la ferritine basse (6,902 à 52,350 $\mu\text{g/l}$). Chez ces patientes, une carence en fer fonctionnel est vraisemblable.

Les résultats montrent que par l'utilisation du Rs-Tf comme un marqueur, la prévalence de l'anémie ferriprive était plus élevée 32 (22,0%). Tandis qu'on se basant sur la ferritine elle était plus basse soit 25 (17,00 %). Cette différence est statistiquement significative ($P < 0,05$).

Le Rs-Tf semble être un marqueur spécifique et sensible de la carence en fer chez la femme enceinte et peut présenter des avantages sur la ferritine sérique et l'hémoglobine. D'autres études sur des échantillons encore plus grand et plus représentatif sont nécessaires afin de vérifier si la diminution de l'érythropoïèse réduit la possibilité de détection de la carence en fer en période de gestation par le Rs-Tf.

Mots clés : *Grossesse, carence en fer, récepteur soluble de la transferrine, la ferritine sérique, l'hémoglobine, l'érythropoïèse.*

Abstract

Iron deficiency is the most cause of anemia during pregnancy. Maternal anemia is usually considered a risk factor for low birth weight newborns. Many studies have demonstrated a strong correlation between low hemoglobin levels before delivery and Low Birth Weight. The objective of our first study is part of Enjoy the repercussion of iron deficiency anemia on the small weight of the newborn. In our retrospective study we have detected an incidence of 5.53%, or 554 among 10008 live births.

Current biological markers of iron deficiency tend to be less reliable during pregnancy. The aim of this second part is to study the utility of the soluble receptor assay of transferrin " sTfR " as a new marker of iron deficiency from beginning to end of pregnancy and to define the status martial at the town of Sidi Bel Abbes.

We performed a transversal and longitudinal assessment of sTfR compared serum ferritin and hemoglobin gathered in 192 pregnant women between 15 and 37 weeks of amenorrhea recruited at the Hospital Establishment Specializing in Gynecology Obstetrics Sidi Bel Abbes during the 2014-2015.

On the basis of ferritin, we find a common iron deficiency in our population. Indeed, ferritin <20 mg / l in 50% of women in labor and 18% of them have a ferritin > 12 mcg / l. In addition, 72% of patients have sTfR > 0.87 ug / ml standard established according to age and sex and 52% of sTfR > 2.81 ug / ml reference standard age and sex kit confused. Ferritin and sTfR are negatively correlated ($R = 0.62$). This is significant although weak correlation ($p < 0.001$). In patients whose hemoglobin levels between 10 and 11 g / dl (40% of our population), the sTfR are frequently high (0.735 to 3.75 ug / ml) and low ferritin (6,902 to 52.350 mg / l). In these patients, a functional iron deficiency is likely. The results show that by the use of sTfR as a marker, the prevalence of iron deficiency anemia was higher 32 (22.0%). While one based on the ferritin it was lower or 25 (17.00%). This difference is statistically significant ($P < 0.05$).

The sTfR appears to be a specific and sensitive marker of iron deficiency in pregnant women and may have advantages over serum ferritin and hemoglobin. Additional studies on samples even greater and more representative are necessary to verify if the reduction of erythropoiesis reduces the possibility of iron deficiency in the detection period of gestation by the

sTfR.

Keywords: *Pregnancy, iron deficiency, soluble transferrin receptor, serum ferritin,*

ملخص

نقص الحديد هو السبب الرئيسي لفقر الدم في الحمل . عادة ما يعتبر فقر الدم لدى الأمهات عامل خطر للولادة انخفاض الوزن عند الأطفال حديثي الولادة . وقد أثبتت العديد من الدراسات وجود علاقة قوية بين انخفاض مستويات الهيموجلوبين قبل الولادة وانخفاض الوزن عند الولادة . الهدف من الدراسة الأولى بالنسبة لنا هو دراسة بسبب نقص الحديد على وزن قليل الأطفال حديثي الولادة . والكشف عن 554 حالات انخفاض الوزن عند الولادة (5.53%) من بين 10008 ولادة حية .

العلامات الحالية لتشخيص نقص الحديد في الدم تميل إلى أن تكون أقل موثوقية أثناء الحمل . هدفنا هو دراسة تقييم مدى فعالية قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم، كاختبار جديد في التشخيص التبايني للتمييز بين أنواع فقر الدم من البداية إلى نهاية الحمل وتعيين حالة نقص الحديد في الدم ل 192 امرأة حامل في مدينة سيدي بلعباس . أجرينا تقييما مستعرضة وطولي لقياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم بالمقارنة مع فيريتين المصل والهيموجلوبين في 192 امرأة حامل بين 15 و 37 أسبوعا من انقطاع الطمث يعالجون على مستوى المستشفى المتخصص في أمراض النساء والتوليد لسيدي بلعباس خلال العام 2014-2015 .

على أساس الفيريتين، نجد نقص الحديد في الدم شائع في سكاننا . في الواقع، الفيريتين > 20 جم / لتر في 50% من النساء الحوامل و 18% منهم لديهم فيريتين < 12 ميكروغرام / لتر . وبالإضافة إلى ذلك ، 72% من المرضى لديهم كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم < 0.87 ميكروغرام / مل وفقا للسن والجنس و 52% من كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم < 2.81 ميكروغرام / مل وفقا للعمر أو للجنس . نلاحظ تعاكس نسب الفيريتين و كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم سلبا ($R = 0.62$) . هذه العلاقة منخفضة ومعنوية ($p > 0.001$) . في المرضى الذين لديهم مستويات الهيموجلوبين بين 10 و 11 غ / دل (40% من السكان لدينا)، لديهم كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم مرتفعة جدا (3،75-0،735 ميكروغرام / مل)، والفيريتين منخفضة (6،902 ل 52،350 ملغم / لتر) . نلاحظ في هؤلاء المرضى، ومن المرجح نقص الحديد الوظيفي .

يبدو أن قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم ذو أهمية كبيرة و علامة محددة وحساسة للتشخيص نقص الحديد في الدم لدى النساء الحوامل وربما يكون من المزاي أكثر من فيريتين المصل والهيموجلوبين . المطلوب منا مزيد من الدراسات على عينات أكبر وأكثر للتحقق ما إذا كان انخفاض الكريات الحمر يقلل من إمكانية الكشف عن نقص الحديد في الحمل المبكر من خلال قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم .

الكلمات الدالة: الحمل، نقص الحديد، كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم ، فيريتين المصل، الهيموجلوبين ، النخاع العظمي .

INTRODUCTION

L'anémie est un problème mondial de santé publique touchant à la fois les pays industrialisés et les pays en voie de développement. Elle se produit à tous les stades du cycle de la vie, mais elle est plus fréquente chez les femmes enceintes et les jeunes enfants [1].

L'organisation mondiale de la santé (OMS) rapporte que 51% des femmes enceintes (pays développés et pays en voie de développements confondus) présentent une anémie. Il s'agit d'un trouble de gravité variable auquel sont exposées 10 à 30% des femmes enceintes dans les pays développées et 40 à 80% dans les pays en voie de développement [1].

La carence martiale est la principale cause d'anémie pendant la grossesse. Dans nos contrées, 10 à 40 % des femmes enceintes présentent cette carence [2,3]. En effet, les réserves en fer de la femme en âge de procréer sont faibles et les besoins du fœtus particulièrement importants à partir du 2ème trimestre de gestation.

Il existe pendant la grossesse une hémodilution responsable d'une anémie dite physiologique.

L'anémie maternelle est communément considérée comme un facteur de risque de faible poids de naissance (FPN). Beaucoup d'études ont démontré une forte association entre un faible taux d'hémoglobine avant l'accouchement et le faible poids de naissance, ainsi que la prématurité [2, 3, 5]. Un complément en fer doit donc être administré systématiquement à la future mère dès le début de la grossesse afin d'éviter l'aggravation d'une anémie préexistante qui serait préjudiciable à la mère et à l'enfant [4].

Depuis quelques années un nouveau marqueur biologique dans le bilan mariale a vu le jour : c'est le récepteur soluble de la transferrine « Rs-Tf ». Il vient compléter significativement les informations apportées par les paramètres classiques du bilan martial.

Le Rs-Tf est une forme circulante produite par un clivage protéolytique de récepteur de la transferrine membranaire (R-Tf) la protéine clé pour l'acquisition cellulaire du fer

transporté par la transferrine et qui est présent à la surface de toutes les cellules de l'organisme. Le nombre de Rs-Tf sérique est directement proportionnel aux récepteurs exprimés par une cellule et à ses besoins en fer. Ce nombre diminue au fur et à mesure de la maturation cellulaire, à l'exception de deux tissus qui ont d'importants besoins en fer en permanence : la moelle érythropoïétique et le placenta.

Au cours des maladies chroniques, telles que les états inflammatoires, infections ou tumeurs, l'anémie est fréquente. Les paramètres habituels d'exploration martiale sont inopérants pour mettre en évidence une carence en fer associée (soustraient). En effet, chacun d'entre eux subit des modifications de sens opposé qui empêchent l'interprétation clinique. C'est ainsi que la ferritine se comporte à la fois comme un indicateur de carence et comme une protéine de la phase aiguë : sa concentration est « anormalement » normale ou élevée, même si une carence en fer est associée à l'inflammation. Le Rs-Tf trouve ici l'une de ses principales applications cliniques dans le diagnostic différentiel des anémies, car sa concentration n'est nullement influencée par l'inflammation ou l'infection inversement aux paramètres classiques du bilan martial.

Les objectifs de notre étude, réalisée chez nos parturientes sont multiples :

- Déterminer l'impact de l'anémie ferriprive sur le poids de naissance.
- Confirmer l'utilité et la spécificité du Rs-Tf afin de l'intégrer dans la liste des paramètres de routine du bilan martial pour le diagnostic différentiel des anémies qu'on réalise quotidiennement au sein de nos laboratoires en Algérie
- Le comparer à l'apport de la ferritine
- Evaluer le statut martial de notre population de parturientes sur base d'un échantillon représentatif.

**PARTIE I : REVUE DE LA
LITTERATURE**

CHAPITRE 1 : Le fer dans l'organisme

I. Généralités sur le fer

Du fait de sa capacité à accepter ou donner des électrons en fonction de son degré d'oxydation, le fer est un métal qui, bien que présent en traces dans l'organisme, est essentiel à la vie. Il est un constituant de l'hémoglobine, de la myoglobine et de plusieurs enzymes (peroxydases et cytochromes) qui possèdent une liaison avec une molécule appelée hème. Le fer, qui se situe au cœur de l'hème, a la capacité de se lier à une molécule d'oxygène et d'agir ainsi, en tant que constituant de l'hémoglobine, comme transporteur sanguin de l'oxygène. Le fer est aussi le cofacteur de nombreux enzymes. Ce métal étant essentiel à la vie, l'organisme dispose de nombreux mécanismes pour le stocker et le conserver [3].

I.1. Le Cycle du fer (Répartition, Apport, Besoin du fer)

L'organisme contient de 3 à 5 g de fer au total, mais son métabolisme l'économise au maximum fonctionnant quasiment en circuit fermé [5]. L'apport doit strictement compenser les pertes : un déséquilibre entraînera à plus ou moins long terme une carence ou une surcharge.

I.1.1. Répartition du fer dans l'organisme

Le stock en fer global de l'organisme est d'environ 4 g (l'équivalent du poids d'un petit clou) chez l'homme adulte normal. Le fer se répartit quantitativement dans l'organisme entre des sites d'utilisation et des sites de stockage. Soixante-dix pour cent du fer de l'organisme est utilisé dans la moelle osseuse pour être incorporé dans l'hème au cours de la synthèse de l'hémoglobine. Le muscle est le deuxième site d'utilisation de fer (10-20 % du fer total), où il est nécessaire à l'activité de certaines protéines (myoglobine en particulier). Le

foie peut capter et stocker des quantités importantes de fer (1g), notamment lorsque ce dernier est présent en excès dans le plasma [6] (**Figure 1**).

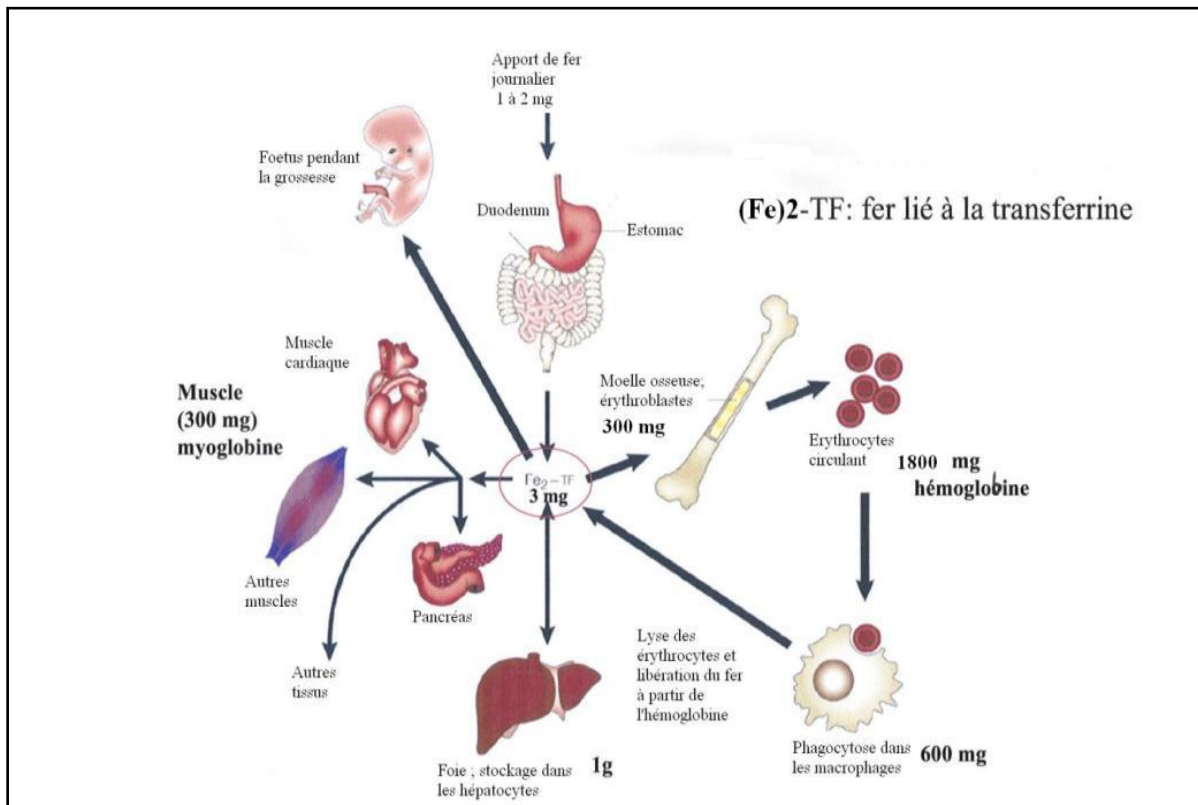


Figure 1 : Schéma illustrant la répartition du fer dans l'organisme [4]

Après avoir pénétré dans la cellule, le fer doit être correctement réparti entre trois pools différents, représentés par le pool fonctionnel, le pool de réserve et le pool de transfert [7].

I.1.1.1. Pool fonctionnel

Ce pool correspond à la quantité de fer nécessaire et suffisante pour assurer les différentes voies métaboliques indispensables à la survie propre des cellules. Ce pool concerne également les communications intercellulaires. Il s'agit plus particulièrement du fer incorporé dans les protéines héminiques dont l'hémoglobine, la myoglobine et les cytochromes mais aussi du fer cofacteur de multiples réactions enzymatiques comme par exemple : la ribonucléotide réductase [7].

I.1.1.2. Pool de réserve

Dans les conditions physiologiques, le pool du fer de stockage représente environ 1g chez l'adulte, soit 25% du stock total. Ces réserves se situent essentiellement dans les cellules du système monocytaire-macrophagique et dans les hépatocytes sous deux formes quantitativement égales :

- La ferritine hydrosoluble qui constitue une réserve échangeable
- L'hémosidérine non hydrosoluble, plus riche en fer, produit de dégradation partielle de la ferritine dans laquelle le fer est peu mobilisable et qui constitue une réserve martiale stable [8].

I.1.1.3. Pool de transfert

Encore appelé pool de fer de « bas poids moléculaire » ou pool de fer labile, il ne représente que 0.1% du total de fer, soit environ 4 mg. Dans le plasma, il n'y a pas de fer libre en circulation, car cette forme est trop toxique, il est presque exclusivement lié à la transferrine ou sidérophiline. Ce pool constitue une plaque tournante à partir de laquelle le fer est transporté soit vers le pool fonctionnel, soit vers le pool de stockage [9].

I.2. Mouvement du fer : Apports et besoins

Le métabolisme du fer se fait en circuit clos, avec échange entre les différents compartiments de l'organisme [9]. Les apports qui compensent simplement les pertes représentent une part minime de la masse totale.

I.2.1. Pertes de fer

Les pertes sont faibles de 1 à 2 mg/jour, car l'organisme est avare de son fer. Ces pertes sont essentiellement liées à la desquamation cellulaire, digestive et cutanée. Cependant une très faible quantité de fer est aussi perdue par les voies biliaires et urinaires. Chez la

femme s'y ajoutent les pertes gynécologiques qui représentent environ 12 à 15 mg par cycle menstruel, et les pertes liées au transfert du fer au fœtus lors de la grossesse, ainsi que celles en rapport avec l'allaitement. Enfin, lors du don de sang, puisque 500 mg de fer sont retirés chaque fois que 1 litre de sang est soustrait [10, 11,12].

I.2.2. Apport de fer

Un à deux mg de fer sont quotidiennement absorbés au niveau du duodénum, ce qui représente environ 10 % du fer contenu dans une alimentation normale. La captation du fer peut s'adapter, au moins en partie aux besoins de l'organisme qui peuvent varier dans différentes situations physiologiques : augmentation lors de la croissance, la grossesse et l'allaitement. Le pourcentage de fer extrait de l'alimentation par le tube digestif peut alors augmenter (**Tableau 1**).

Le contenu en fer des aliments est très variable. Dans les pays développés, le régime alimentaire contient en moyenne 10 à 20 mg de fer par jour. Sur ces 10 à 20 mg seuls 10% seront ensuite absorbés au niveau du duodénum [13]. Cette faible proportion est due d'une part à une régulation de l'absorption en fonction des besoins (voir plus loin) et d'autre part à la biodisponibilité du fer qui est très variable suivant les aliments.

Le fer présent dans l'alimentation est soit lié à l'hème (forme héminique), facilement assimilable (15 à 35% sont absorbés), soit sous forme non héminique, essentiellement dans les végétaux, plus difficile à absorber (2 à 20 % absorbés). Le régime normal chez l'homme est constitué majoritairement de fer non héminique, le fer héminique provenant surtout de la myoglobine et de l'hémoglobine trouvée dans les viandes. Dans les deux cas, le fer est oxydé en fer ferrique (Fe^{3+}) [5] (**Tableau 2**).

Tableau 1 : Apport nutritionnels conseillés en fer (14).

Tranche d'âge		Apports nutritionnels conseillés (mg/jr)
Nourrissons		7
Enfants	1-9 ans	7
	10-12 ans	8
Adolescents 13-19 ans	garçons	12
	filles	14
Adultes	hommes	9
	Femmes réglées	16
	Femmes enceintes	25 à 35
	Femmes allaitantes	10
	Femmes ménopausées	9

Tableau 2 : Quelques exemples de teneur d'aliments riches en fer héminique et non héminique [13].

Aliment	Contenu en mg de Fer/100g	Aliment	Contenu en mg de Fer/100g
Foie de porc	19	Abricots secs	5,5
Levure de bière sèche	17,3	Huitres	5,5
Cacao	12,5	Amande, noisettes	4,5
Caviar	11,8	Sardines	3,5
Foie de mouton	10,9	Noix	3,1
Lentilles	6,8	Epinards	3,1
Soja	8,4	Cote de bœuf	3,1
Jaune d'œuf	7,2	Jambon	2,5
Persil	6,2	Vin	0,3 à 0,5
Haricot blancs	6,1	Lait de vache	0,04
Moule	5,8		

Le fer d'origine héminique : L'absorption du fer héminique se fait probablement via un

récepteur spécifique situé à la membrane apicale de l'entérocyte, HCP1 (Heme Carrier Protein 1), qui a été identifié très récemment par une équipe anglaise [15]. L'hème fixé à son récepteur serait transloqué à l'intérieur de la cellule puis dégradé par l'enzyme hème-oxygénase (HO). Le fer ainsi libéré rejoindrait le pool de fer internalisé via DMT1 (Divalent Metal Transporter 1) (**Figure 1**).

- **Le fer non héminique** : L'absorption du fer non héminique peut-être facilitée par la présence dans le bol alimentaire d'acide ascorbique ou inhibée par les tannins (dans le thé, le café, le vin) ou l'acide phytique (dans les légumes, le riz). Le fer non héminique est dans un premier temps réduit par la réductase Dcytb (Duodenal cytochrome b) puis transporté à travers la membrane apicale de l'entérocyte par le transporteur transmembranaire DMT1 (**Figure 1**).

I.2.3. Mouvements internes

La boucle la plus importante est réalisée par le circuit de l'érythropoïèse. L'incorporation du fer pour la synthèse quotidienne de l'hémoglobine est identique à la quantité libérée par l'hémolyse physiologique, c'est-à-dire 20 à 50 mg/jour. Le macrophage reconnaît diverses modifications biochimiques au niveau de la membrane des globules rouges sénescents. Il phagocyte alors le globule rouge à éliminer, induisant la formation d'un érythrophagolysosome dans lequel un complexe enzymatique constitué de cytochrome réductase, d'hème-oxygénase et de biliverdine réductase, va cataboliser l'hémoglobine. Ce catabolisme libère du CO, de la bilirubine et du fer. Ce fer recyclé, alors à l'état ferreux Fe²⁺, va être soit capté par l'apoferritine intracellulaire pour former de la ferritine (stock de réserve en fer), soit être exporté par la ferroportine vers le plasma où il sera oxydé en fer ferrique Fe³⁺ par la céruléoplasmine, une ferroxidase cuivre-dépendante, pour être fixé par la transferrine qui le distribue alors aux tissus qui en ont besoin, essentiellement les précurseurs

érythroblastiques [16].

II. Régulation de l'homéostasie martiale

Les mécanismes de régulation des mouvements du fer sont restés très longtemps méconnus. Depuis quelques années, la compréhension des mécanismes moléculaires qui contrôlent l'homéostasie du fer a considérablement progressé grâce au clonage et à la caractérisation d'un grand nombre de protéines effectrices impliquées dans le métabolisme du fer [17- 4]. L'absorption intestinale est une étape capitale, car la régulation de l'homéostasie du fer n'est possible qu'à ce niveau [18].

II. 1. Régulation de l'absorption intestinale du fer

L'absorption intestinale du fer varie d'une manière inversement proportionnelle à la quantité de fer stockée et, en revanche, de façon proportionnelle à l'activité de l'érythropoïèse. À cet égard, Finch [19] a proposé l'existence de deux régulateurs: un régulateur stock-dépendant qui serait contrôlé par le contenu en fer de l'organisme et un régulateur érythro-dépendant régulé par les besoins de l'érythropoïèse. Ces derniers agiraient sur un processus de contrôle intestinal commun (informeraient les cellules cryptiques) mais de façon séquentielle et avec des effets quantitatifs différents. Ainsi, le facteur stock-dépendant permettrait d'augmenter l'absorption intestinale du fer lorsque les besoins restent limités à 1 ou 2 mg par jour. Son intervention serait typiquement nécessaire lors des pertes menstruelles. Des besoins plus importants, de l'ordre de 3 à 4 mg par jour, déclencheraient l'activation du facteur érythro-dépendant. Ce serait notamment le cas lors des soustractions sanguines volontaires (donneurs de sang) ou curatives. Ces deux régulateurs doivent être représentés par des agents plasmatiques solubles capables de communiquer avec les différents sites impliqués dans l'utilisation, la mobilisation et l'absorption du fer; sites relativement éloignés les uns des autres [17].

L'absorption du fer alimentaire s'effectue au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle, par les entérocytes matures des villosités duodénales (**Figure 2**).

Le fer alimentaire non hémunique est réduit par Dcytb puis absorbé au niveau de la bordure en brosse intestinale, par l'action coordonnée d'une réductase et du transporteur de fer Nramp2/DMT1. L'absorption du fer hémunique s'effectue par le transporteur apical spécifique HCP1 [20]. Le catabolisme successif de l'hème par HO-1 libère le fer ferreux, qui peut ainsi rejoindre le pool de fer non hémunique internalisé par Nramp2/DMT1 (**Figure 2**).

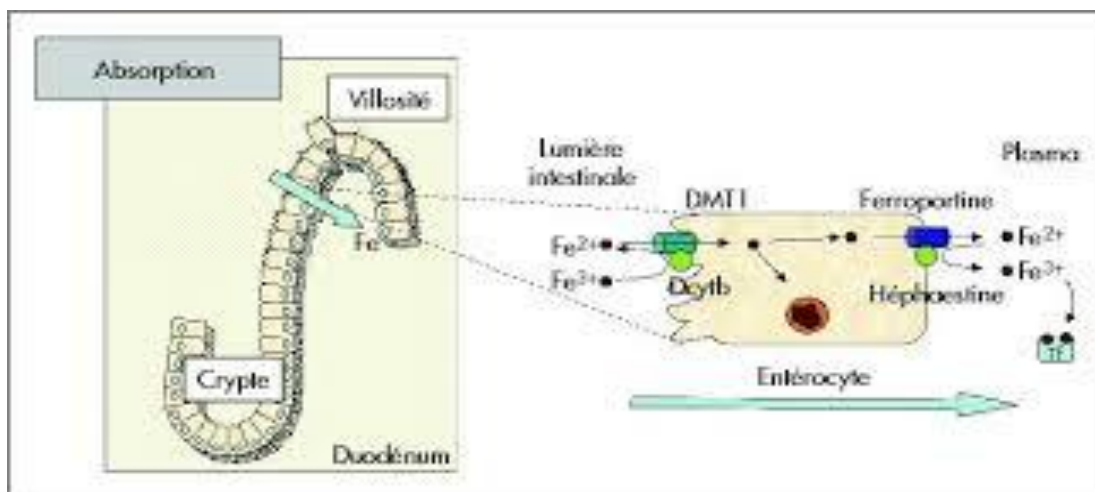


Figure 2 : L'absorption intestinale du fer

Le fer est absorbé au niveau du duodénum par les entérocytes situés au sommet des villosités duodénales. Dans la lumière intestinale, le fer non hémunique est d'abord réduit probablement par Dcytb, puis transporté par DMT1. Le fer hémunique serait pris en charge par le transporteur HCP1, et dégradé par l'hème-oxygénase (HO). Dans l'entérocyte, le fer peut, soit être stocké dans la ferritine, soit transporté par la ferroportine vers le plasma. Il est ensuite oxydé par l'héphaestine avant d'être pris en charge par la transferrine (Tf) circulante [20].

Une fois dans la cellule, le fer peut être stocké dans la ferritine ou transporté de

nouveau au pôle basolatéral vers la circulation sanguine par le transporteur transmembranaire ferroportine. Dans le sang, la transferrine (Tf) qui peut lier deux atomes de fer permet de véhiculer le fer dans tout l'organisme. Pour cela, le fer doit être préalablement oxydé par la ferroxidase héphaestine située sur la membrane basolatérale de l'entérocyte [21,22] (**Figure 2**).

II. 2. Transport sanguin et captation du fer par la cellule

Le fer lié à la transferrine (holotransferrine, holoTf ou Tf-Fe₂) est capté par les cellules via le récepteur à la transferrine 1 (RTf1). Les cellules utilisent ce fer pour synthétiser de nombreuses protéines contenant un ou plusieurs atomes de fer. Ces protéines sont impliquées dans divers mécanismes cellulaires, mais les propriétés liées au cycle d'oxydoréduction du fer en font un métal de choix pour permettre le transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, la catalyse, le transport et le stockage de l'oxygène ou bien le transport du NO [23].

II.2.1. Captation du fer par le récepteur de la transferrine

Le complexe Tf/RTf1 [24] pénètre dans la cellule par endocytose, le fer est libéré du complexe dans l'endosome tardif à la faveur d'un pH acide, puis est transféré de l'endosome vers le cytosol probablement grâce au transporteur DMT1 [25]. Très récemment, par l'étude de souris anémiques *nm1504*, a été identifiée une ferriréductase endosomale qui serait responsable de la réduction du fer lié à la Tf avant le transport transmembranaire de ce fer par DMT1 dans les précurseurs érythroïdes : STEAP3 (pour Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate) [26]. La Tf libérée de son fer, l'apo-transferrine (apoTf), et son récepteur sont ensuite tous deux recyclés à la surface cellulaire (**Figure 3**).

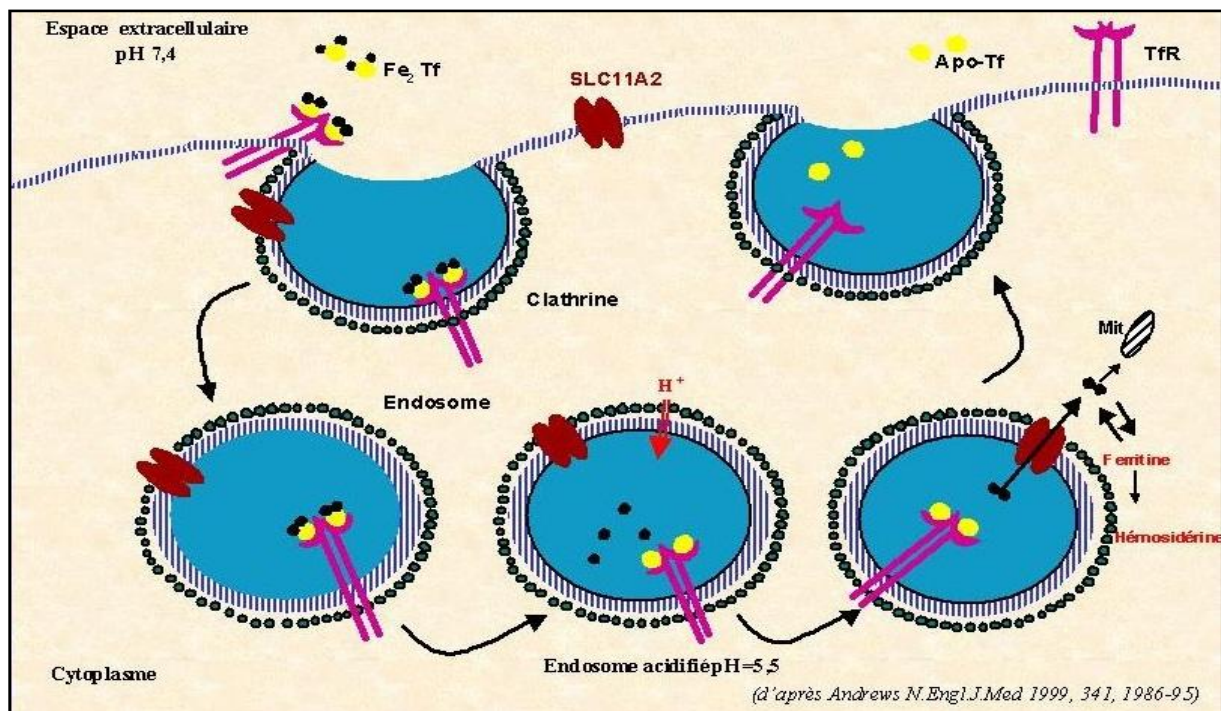


Figure 3 : Endocytose du fer lié à la Tf par RTf

L'holotransferrine (Fe₂-Tf) est reconnue par le récepteur de la transferrine (RTf) (en vert) à la surface de la cellule. Le complexe RTf-Fe₂-Tf subit une endocytose dans une vésicule recouverte de clathrine. Dans l'endosome, à la faveur d'un pH acide, le fer se dissocie de la transferrine. Le fer serait réduit ensuite par une ferriréductase, probablement STEAP3 dans les précurseurs érythroïdes, puis transportée vers le cytoplasme par DMT1. Le récepteur et l'apo-transferrine (Apo-Tf) sont finalement recyclés par fusion de la vésicule à la membrane plasmique de la surface cellulaire [24].

III. Rôle du fer dans l'organisme

La présence du fer dans l'organisme est d'une grande importance vue son rôle dans de nombreuses fonctions biologique telles que la fabrication de l'hémoglobine, et d'enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN [25].

Le fer bien que présent en très faible quantité dans l'organisme (0,005% du poids corporel), joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions biologiques. Il intervient dans la

constitution de l'hémoglobine, de la myoglobine et d'enzymes jouant un rôle capital dans de nombreuses réactions métaboliques [23].

Il sert de transporter l'oxygène et les électrons mais aussi comme catalyseur dans les réactions d'oxygénation et d'hydroxylation. Ce rôle important est lié à la possibilité de ce métal de passer rapidement et de façon réversible d'un état d'oxydation de fer ferreux Fe^{2+} à celui de fer ferrique Fe^{3+} [23].

Le fer sérique joue un rôle essentiel, car il représente la forme de transport et de mobilisation, le taux normal de fer sérique est de 1,2 à 2g/L [25].

IV. Erythropoïèse

L'érythropoïèse est la production continue de globules rouges régulée par la moelle osseuse permettant de compenser quotidiennement la perte de 1/120 ème de la masse globulaire totale due à l'hémolyse physiologique. 100 à 250 milliards de globules rouges sont ainsi produits chaque jour chez le sujet normal. En cas de besoins accrus, la production peut être multipliée de façon considérable, jusqu'à 10 fois [27].

La voie de l'érythropoïèse est un enchaînement de processus associant divisions cellulaires, apoptose et différenciation. Elle commence avec le progéniteur engagé dans la lignée myéloïde, dénommé CFU-GEMM. Les premiers stades de la lignée érythroblastique sont les BFU-E précoces, suivis des BFU-E tardives et des CFU-E, auxquelles succèdent les premières cellules identifiables morphologiquement sur le frottis médullaire, de l'érythroblaste à l'érythrocyte. L'EPO stimule l'érythropoïèse à partir du stade de BFU-E tardive. L'ensemble du processus qui conduit de la BFU-E précoce aux réticulocytes, puis aux hématies, dure environ 20 jours en situation stable. En délivrant aux cellules cibles un signal de survie et de prolifération, l'EPO est l'élément clef de la régulation de l'érythropoïèse [28].

V. Les marqueurs biologiques du métabolisme martial

Nous avons vu que les échanges de fer s'opèrent entre trois compartiments métaboliques principaux : fonctionnel, de transport et de réserves. A chaque compartiment correspond des tests d'exploration spécifiques qui relèvent de la biochimie et de l'hématologie.

V.1. Paramètres évaluant le compartiment fonctionnel

L'exploration biologique du fer fonctionnel consiste à évaluer le fer hémoglobinique. Deux sortes de paramètres étroitement associés doivent être distinguées, le taux d'Hb et les indices érythrocytaires (VGM, TCMH) [29].

De nouveaux marqueurs se développent et sont candidats à une évaluation plus spécifique de la carence martiale. Il s'agit du pourcentage de globules rouges hypochromes et du contenu réticulocytaire en hémoglobine. Ces paramètres mettent en évidence, non pas une diminution du stock en fer de l'organisme, mais une baisse de la disponibilité du fer pour les tissus utilisateurs.

V.1.1. Le taux d'Hémoglobine

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique bien standardisé consistant à transformer l'Hb en cyanméthémoglobine et à lire l'absorbance à 540 nm. Un standard international est largement utilisé pour la calibration. En fait, cette mesure est depuis longtemps intégrée dans les automates électroniques de cytologie. Le taux d'Hb ne doit pas être interprété isolément, mais en relation avec les deux indices érythrocytaires ci-dessous [30].

V.1.2. VGM

Il s'agit d'un indice mesuré pendant une courte période au cours de laquelle les globules rouges en suspension dans un liquide de dilution passent à travers un orifice et déclenchent une impulsion électronique. Le nombre d'impulsions enregistrées correspond au

nombre de globules rouges et l'amplitude de l'impulsion permet de mesurer le VGM. Le VGM est aussi donné par les automates électroniques de cytologie [31].

V.1.3. TCMH

Indice calculé en divisant le taux d'Hb (exprimé en g/l) par le nombre de globules rouges (exprimé par μ l) [32]. La TCMH est aussi donnée par les automates électroniques de cytologie.

V. 2. Paramètres évaluant le compartiment de transport

Pour ce type de fer, l'exploration biologique est focalisée sur les dosages suivants : le fer sérique, la transferrine, le CST, et le Rs-Tf.

V. 2.1. Le fer sérique

Chez le sujet normal, le fer circulant sous une autre forme que l'hémoglobine est presque exclusivement du fer lié à la transferrine (et très peu à la lactoferrine ou à la ferritine). Par contre à l'état pathologique, on peut trouver aussi du fer d'origine hémoglobinique (hémolyse), du fer lié à la ferritine en quantité élevée (nécrose hépatique, surcharge), une forme atypique de fer non lié à la transferrine (hémochromatose) ou du fer chélaté sous forme de ferrioxamine[33].

V. 2.2. La transferrine

La transferrine a été découverte en 1946 dans le plasma et a d'abord été appelée sidérophiline pour son affinité pour le fer. C'est une glycoprotéine sérique (de masse relative environ 80 kDa). Elle est composée de 679 acides aminés qui forment deux lobes, un lobe N terminale et un lobe C-terminale. Chaque lobe peut lier un ion ferrique (Fe^{3+}). La

conformation de la protéine est sensible au pH : à pH acide, le site de liaison du fer s'ouvre, facilitant la libération du fer. Le gène présente un grand nombre de polymorphismes tolérés dans la population avec 3 isotypes majeurs nommés B, C et D [34].

La transferrine est principalement produite à l'âge adulte par les hépatocytes (6500 molécules de Tf par cellule) [35]. Il existe également d'autres sites d'expression du gène *Tf* : le cerveau (83 molécules / cellule) et les testicules (114 molécules / cellule) [35]. Pendant le développement fœtal, le gène *Tf* est fortement exprimé dans le muscle et les tissus non-hépatiques et non-nerveux puis l'expression diminue lors du développement postnatal. À l'inverse, dans le cerveau, le gène *Tf* est faiblement exprimé à la naissance et l'expression augmente avec l'âge jusqu'à atteindre un plateau à l'âge adulte [36].

Seule l'expression hépatique de *Tf* est modulée par le contenu en fer: un régime pauvre en fer augmente la transcription de *Tf* dans le foie sans modifier l'expression extra-hépatique [35]. De même, la synthèse de Tf est induite par traitement aux glucocorticoïdes ou aux œstrogènes. La Tf est également une protéine de la réponse inflammatoire, elle est diminuée par les cytokines. Enfin, s'ajoute à ces régulations une régulation positive en situation d'hypoxie [37].

L'absence de Tf circulante chez des patients est très rare (seulement 8 patients recensés dans 6 familles différentes), c'est l'atransferrinémie [38], caractérisée par une anémie microcytaire associée à une surcharge en fer tissulaire. Les patients sont traités par des transfusions sanguines.

En absence de Tf, les précurseurs érythroïdes ne sont pas approvisionnés en fer, ce qui entraîne l'anémie. La surcharge en fer associée est due, d'une part à l'accumulation du fer non lié à la transferrine (NTBI) dans les organes, et, d'autre part, à une augmentation de l'absorption intestinale de fer pour compenser l'anémie [39].

V. 2.3. Coefficient de Saturation de la Transferrine (CST)

Moins sensible que la ferritinémie, il traduit le degré de saturation de la transferrine et reflète le taux de fer circulant disponible pour la synthèse de l'hème. Il est calculé par le rapport fer sérique / capacité totale de fixation de la transferrine (CTFT).

Le fer sérique présentant de larges fluctuations nyctémérales et la capacité totale de fixation de la transferrine étant influencée par les statuts protéiques et énergétiques, aucun test utilisé séparément n'est assez performant. En les utilisant ensemble pour calculer le CST, on compense en partie leurs limitations individuelles, mais celui-ci ne différencie pas entre une anémie par carence martiale ou par maladie chronique [40].

Il est utile de rappeler que le coefficient de saturation de la transferrine est un paramètre inutilisable chez la femme enceinte en raison des variations physiologiques de celle-ci.

V. 2.4. Rs-Tf

C'est un paramètre d'utilité importante dans l'exploration du statut martial. Objet de ce travail, nous lui consacrons tout une partie pour bien l'étudier en détail.

V. 3. Paramètres évaluant le compartiment de réserve

Ce compartiment contient le fer séquestré sous forme non toxique, ferritine et hémosidérine, comme cela a été précisé. Seule la ferritine est accessible au dosage.

V. 3.1. Ferritine sérique

La ferritine est un hétéropolymère constitué de 24 sous-unités formant une coque, pouvant accueillir en son centre jusqu'à 4500 atomes de fer (**Figure 4**). Ses sous-unités sont de deux types : la chaîne légère ou L-ferritine (FTL) (ferritin light chain) qui est la plus impliquée dans le stockage du fer proprement dit, et la chaîne lourde ou H-ferritine (FTH1) (ferritin heavy chain), qui a une activité ferroxidase permettant l'intégration du fer dans la ferritine [41]. L'association de 2 chaînes peut donner lieu à 25 formes moléculaires possibles

(L24, L23H1,..., H24) qui constituent la famille des iso-ferritines et déterminent la grande hétérogénéité moléculaire de la ferritine [42].

Dans les tissus, dont la capacité de stockage en fer est élevée comme le foie ou la rate, la ferritine est surtout constituée de L-ferritine. Outre son rôle cytoplasmique dans le stockage du fer, la ferritine (50% de réserve soit 15% du fer total) peut être sécrétée, et sa quantité dans le plasma sera alors le reflet de la charge en fer hépatique, ou se lier à l'ARN ou l'ADN (Figure 4) [43].

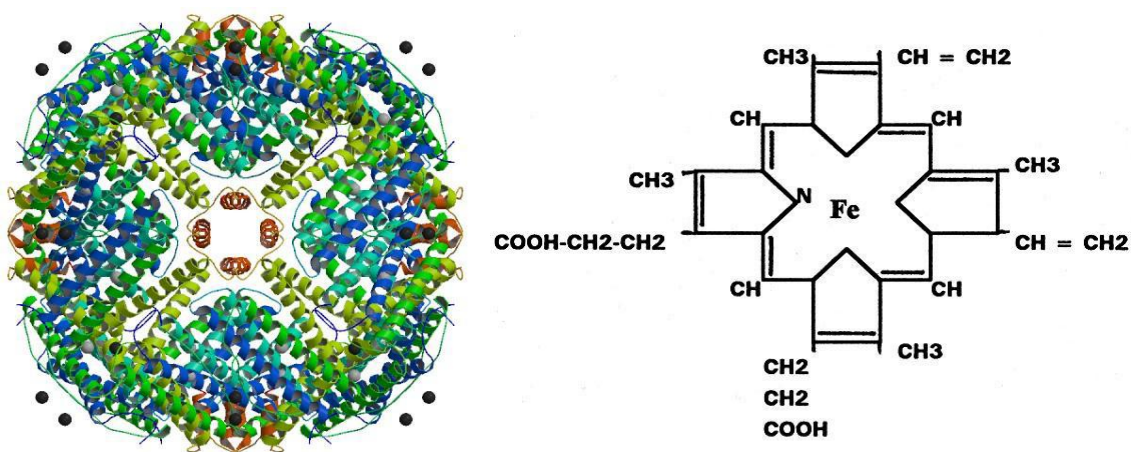


Figure 4 : Représentation schématique de la structure de la ferritine [43, 44]

VI. Fer et grossesse

La carence en fer est un problème majeur de santé publique [45]. Chez les femmes, les pertes moyennes de fer sont estimées à 0.8 à 0.9 mg/j, auxquels s'ajoutent les pertes menstruelles qui étalées sur tout le cycle, représentent en moyenne 0.5 mg/j [45]. Selon les différentes études réalisées dans divers pays, la majorité des femmes ont des pertes menstruelles qui se situent entre 25 et 40 ml/mois, ce qui correspond à des pertes en fer de 12,5 à 15 mg, soit 0,4 à 0,8 mg/jr [46]. Avec un coefficient de variation de 15%, la quantité de

fer qui doit être réellement absorbée par les femmes en période génitale pour maintenir leurs réserves à un niveau suffisant serait donc de 1.8 mg/jr [45].

CHAPITRE 2 : L'anémie ferriprive

VII.1. Définition de l'anémie

L'anémie se définit par un taux d'hémoglobine inférieur à 13g/dl chez l'homme adulte, 12g/dl chez la femme en dehors de la grossesse et l'enfant [46, 48, 50]

Selon l'OMS l'anémie est définie pendant la grossesse, par un taux d'hémoglobine inférieure à 11 g/dl au premier et troisième trimestre de la grossesse, inférieure à 10,5 g/dl au deuxième et dans le post-partum, par un taux inférieur à 10 g/dl [1]. Cette diminution du taux pendant la grossesse est due à l'hémodilution physiologique et à une certaine valeur (< 11,0 g/dl) ou elle devient pathologique [47, 49].

L'anémie est un symptôme biologique qui se définit comme la diminution du taux d'hémoglobine circulante dont les valeurs varient en fonction de l'âge et du terrain.

L'anémie ne survient que par la rupture de l'équilibre, soit par augmentation de la destruction ou de la perte des globules rouges, soit par diminution de la production. La production des globules rouges est essentiellement assurée par la moelle des os, leur destruction par la rate [51].

Tableau 3 : Définition de l'anémie (d'après l'OMS) [52].

L'âge	Taux d'hémoglobine
6 mois à 6 ans	11g/100ml
6 ans à 14 ans	12g/100ml
Adulte de sexe masculin	13g/100ml
Adulte de sexe féminin	12g/100ml
Femmes enceintes	11g/100ml

VII.2. Les différents types d'anémies

- L'anémie hypochromique microcytaire : évoque une carence martiale.
 - L'anémie macrocytaire normochrome : évoque une anémie par déficit en acide folique, diagnostiquée par l'abaissement du taux de folates.
 - L'anémie macrocytaire mégaloblastique arégnérative : évoque une anémie par carence en vitamine B12.
 - L'anémie normochrome, normocytaire ou hypochrome microcytaire : évoque une anémie des processus inflammatoires chroniques [53].
 - L'anémie par carence en acide folique (moins fréquente que l'anémie par carence martiale) pouvant toucher 2 à 5% des femmes enceintes dans les pays industrialisés, jusqu'à 25% dans les pays en développement. Les besoins journaliers d'une femme enceinte sont de l'ordre de 300µg. On ne peut pas augmenter ce taux à court terme c'est pour quoi seule une supplémentation en préconception ou en début de grossesse est utile. Les conséquences de ce déficit peuvent être : la prématurité, le faible poids de naissance, le retard de croissance intra-utérine, et les malformations du tube neural (encéphalique, anencéphalie et Spina bifida).
- ✚ Un deuxième type d'anémie survient pendant la grossesse, il est associé à une hémoglobinopathie. Ce type de pathologie ne touche que certains types de populations. Il s'agit ici de la drépanocytose et de la thalassémie.
- La drépanocytose est une maladie héréditaire due à une particularité structurelle de l'hémoglobine et pouvant avoir des conséquences lors de l'hémolyse des globules rouges.
 - La thalassémie quant à elle est également une pathologie héréditaire qui se définit par un trouble de la synthèse de l'hémoglobine [53].
- ✚ Le troisième type d'anémie est l'anémie ferriprive : se définissant par un déficit en fer. Cette pathologie touche environ 20 à 25% des femmes dans les pays industrialisés et

50% des femmes enceintes dans les pays en voie de développement. Les besoins en fer sont augmentés surtout au troisième trimestre de la grossesse pour un ordre d'idée : un fœtus de 20 semaines a un contenu en fer d'environ 30 mg et qui atteint jusqu'à 270 mg pour un enfant à terme. Les besoins en fer de la grossesse sont d'environ 850 mg. Ces besoins sont de l'ordre de 3 à 6 mg/j au cours du deuxième trimestre de la grossesse. La ferritine est la mise en réserve du fer dans des protéines, celle-ci est de l'ordre de 0,5 à 1,5 g [53].

VII.3. Les facteurs de risque de l'anémie ferriprive

L'anémie est l'une des pathologies à rechercher systématiquement lors de la présence de certains facteurs de risques tels que :

- La multiparité ;
- L'allaitement prolongé ;
- Les saignements antérieurs à la grossesse ;
- Les régimes alimentaires carencés ;
- Les grossesses rapprochées (écart entre deux grossesses de moins d'un an) ;
- Les grossesses multiples ;
- Les âges extrêmes (<18 ans ou > 40 ans), l'adolescence notamment ;
- Une mauvaise situation socio-économique ;
- Les antécédents d'anémie ferriprive, gravidique ou pas ;
- Un contexte hémorragique durant la grossesse (placenta prævia, métrorragies...)
- Un défaut de production des globules rouges ou une destruction anormale des globules rouges [54].

VII.4. Epidémiologie de l'anémie ferriprive

Les anémies de la femme enceinte sont fréquentes d'une manière générale et dépendent en partie du statut nutritionnel de la population. Dans les pays développés, elles touchent 10 à 20% des femmes de milieux aisés et plus de 30% des femmes de milieux

défavorisés [55]. Dans les pays en voie de développement et particulièrement en Afrique saharienne où le fer alimentaire est peu disponible. La déficience en fer reste la cause la plus importante d'anémie, spécialement chez les femmes en âge de procréer [55]. Les anémies s'observent chez 10 à 30 % des femmes enceintes en France et sont les anomalies hématologiques les plus fréquentes. La prévalence des anémies augmente régulièrement au cours de la grossesse de 2 % au premier trimestre à 10 % au dernier. Le niveau socio-économique et l'origine ethnique sont les principaux facteurs de risque d'anémie gravidique [55].

VII.5. Physiologie de l'anémie au cours de la grossesse

L'expansion du compartiment sanguin est une des modifications les plus précoces et les plus intéressantes qui surviennent chez la mère. Ainsi, le volume plasmatique augmente régulièrement dès les premières semaines de la grossesse puis se stabilise jusqu'à la fin de la grossesse. Cette augmentation est plus importante chez les multipares et les grossesses gémellaires [55]. En moyenne, le volume plasmatique augmente d'environ 50% par rapport à son niveau préconceptionnel, soit de 1250 ml chez la femme par rapport à un niveau de base de 2600 ml. L'augmentation du volume sanguin se fait essentiellement par l'expansion des liquides intravasculaire et à un moindre degré, des protéines circulantes et des globules rouges, mais l'expansion du volume plasmatique et celle de la masse érythrocytaire maternelle ne sont pas synchrones [45]. Il en résulte une diminution de l'hématocrite et de la concentration d'hémoglobine par un phénomène d'hémodilution [55]. Le compte des globules rouges passe ainsi en moyenne de 4.5 à 3.7 M/ μ l à la 30èmes semaines, pour remonter légèrement en fin de grossesse. La concentration de l'hémoglobine tend à diminuer également ou même davantage, passant d'une moyenne de 137 à 140 g/l à des chiffres très légèrement inférieurs à 120 g/l autour de la 20èmes semaines pour rejoindre en fin de grossesse les valeurs initiales [45].

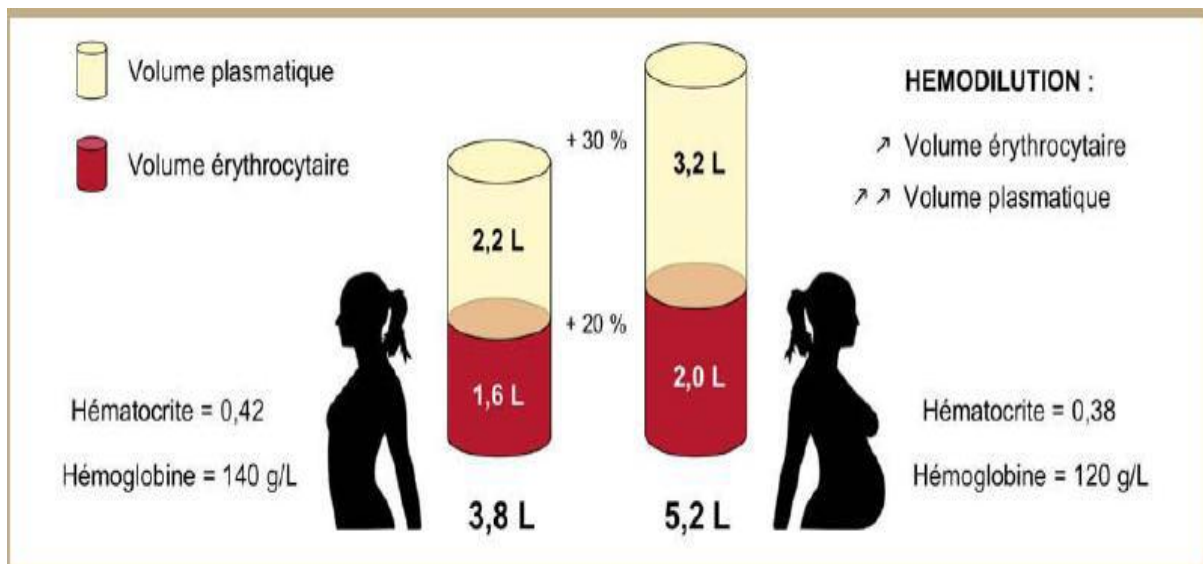


Figure 5 : Hémodilution de la grossesse [55].

L'augmentation du volume plasmatique est d'autant plus importante que le poids et le nombre de fœtus est élevé. Par ailleurs, l'augmentation du volume globulaire total est liée à une stimulation physiologique de l'érythropoïèse lors de la grossesse et permet de couvrir les besoins accrus d'oxygénation, mais reste toutefois limitée par les apports nutritionnels notamment martiaux [55]. Cette augmentation du volume globulaire total étant moins importante (+ 20 à 25 %) que l'expansion du volume plasmatique (+ 30 à 45 %), il en résulte une baisse de l'hématocrite et du taux d'hémoglobine par hémodilution. Elle protège en partie la femme enceinte et le fœtus d'une éventuelle hypotension en cas d'hémorragie [55] (Figure 5).

VII.6. Fluctuations physiologiques de l'érythropoïèse en cours de grossesse

Au cours de la grossesse, le volume plasmatique augmente plus que le volume globulaire ce qui entraîne une anémie par simple dilution. L'hémoglobine de la femme enceinte est donc en général inférieure de 1 à 2 g/dl au taux habituel : on considère qu'une patiente enceinte est anémique lorsqu'elle présente une hémoglobine < 10 g/dl [1-56].

L'activité érythropoïétique fluctue également en cours de grossesse : ralentie au cours des 20 premières semaines, elle se normalise vers la trentième semaine de gestation. En fin de grossesse, elle est légèrement supérieure à la normale [57-58].

VII.7. Besoin du fer durant la grossesse

VII.7.1. Les besoins maternels

Le fer est un nutriment essentiel à chaque étape de la vie. Il est composé essentiellement de protéines telles que les enzymes et de l'hémoglobine. Près des deux tiers de fer dans le corps, se trouve dans l'hémoglobine présente dans les cellules sanguines circulantes rouges. L'hémoglobine déplace l'oxygène vers les cellules pour le métabolisme des tissus [59].

Pendant la grossesse, les femmes ont besoin de plus de fer pour soutenir l'augmentation de la masse des globules rouges maternels. Celui-ci fournit pour la croissance du fœtus et du placenta, soutient le développement normal du cerveau chez le fœtus. Au troisième trimestre de la grossesse, le fœtus se sert des réserves de fer pour les six premiers mois de vie [59].

Les besoins varient de façon importante durant les trois trimestres de la grossesse. Durant le premier trimestre, les besoins diminuent en lien avec l'arrêt des règles, ce qui représente 0,56 mg/jour, soit un gain de 160 mg sur les 9 mois. Les seules pertes durant ces 3 mois sont liées aux pertes obligatoires du corps de 0,8 mg/jour (cutanés, digestives, urinaires).

L'augmentation de la masse globulaire ne débute qu'après la fin du premier trimestre [60].

Durant le deuxième trimestre, les besoins commencent réellement à augmenter et ce de façon continue jusqu'à l'accouchement. Les besoins en oxygène de la mère et du fœtus entraînent en effet des modifications hématologiques importantes par l'augmentation du volume plasmatique d'environ 30% et de la masse globulaire de 20 %. Ce qui nécessite des besoins en fer pour une femme de 55Kg de 1190 mg, repartis en 450 mg pour la masse globulaire, 270 mg pour le fœtus, 90 mg pour le placenta, 230 mg pour les pertes insensibles, et 150 mg pour les saignements. Pour faire face à l'augmentation de ces besoins, il faut considérer deux éléments : les réserves en fer de l'organisme, et les capacités d'absorption à partir des apports alimentaires [60].

VII.7.2. L'importance des réserves

Pour faire à l'importance des besoins précités, il apparaît évident que l'objectif ne peut être atteint sans réserve en fer correcte avant la grossesse. Si apports alimentaires en fer sont réguliers chez une femme et avec du fer héminique le mieux absorbable, un stock de 300 mg peut être atteint et alors suffisant pour aborder la grossesse dans de bonnes conditions.

Différentes études utilisant la ferritine en tant que mesure des réserves en fer ont été conduites à travers le monde, afin de mieux les évaluer [60].

L'étude de Cook sur les femmes américaines a trouvé des réserves médianes en fer de 300 mg avec 20% des femmes ne possédant aucune réserve.

Une étude suédoise retrouve des résultats inférieurs, avec des réserves médianes de 150 mg, 70mg chez les adolescentes et seulement 20% des femmes ayant des réserves de 250 mg.

Une enquête en banlieue parisienne (Val de Marne) retrouve 23% de femmes en âge de procréer carencées en fer. Si le déficit en fer est de l'ordre de 15 à 20% dans les pays industrialisés et jusqu'à 40% chez les adolescentes, il atteint 50 à 80% dans les pays en voie de développement [60].

VII.8. L'absorption du fer durant la grossesse

Le fer alimentaire se présente sous deux formes, héminique et non héminique. Le premier est présent essentiellement dans les viandes et les poissons, avec une bonne capacité d'absorption d'environ 30%, le second dans les légumes essentiellement, avec un coefficient d'absorption faible autour de 3-5% (amélioré par la vitamine C). Pour des apports usuels de 15 mg par jour dans l'alimentation, et en tenant compte d'une absorption moyenne reconnue autour de 10%, cela donne comme référence de fer absorbé en dehors d'un contexte de grossesse de 1 à 2 mg/jour.

De nombreuses études ont essayé d'appréhender les évolutions de l'absorption en cours de grossesse, les résultats finalement superposables quelque soit les méthodes et les différents régimes et apports en fer.

En début de grossesse, la capacité d'absorption diminue autour de 1 à 2,5%, passant à 10% à 24 semaines et pouvant augmenter de 5 à 9 fois entre le 3^{ème} et le premier trimestre.

En partant d'un repas normal et équilibré, mélangeant des apports animaux et végétaux, les quantités quotidiennes de fer absorbé sont autour respectivement de 4,4 et 1,9 et 5 mg au 1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} trimestre de grossesse. Mais, la question centrale de la nécessité ou non d'apporter du fer en préventif à des femmes non anémiques et non déficientes en début de grossesse reste débattue, et ce tant pour la nécessité de cette supplémentation systématique, que de la dose à donner et du moment de début du traitement [60].

VII.9. Les besoins en fer du fœtus

Du fait des besoins du fœtus, une supplémentation en fer est donc nécessaire pour maintenir les réserves en fer de la mère [61].

Entre les différents compartiments, le fer est transporté lié à une protéine, la transferrine (qui lie deux atomes de fer ferrique) [61].

Cette quantité de fer transporté, représente moins de 0,1% du fer total mais son rôle est important et le fœtus va puiser ses besoins à partir du stock de réserve maternelle, c'est la constitution des réserves fœtales [61].

Les réserves en fer du fœtus se constituent essentiellement au cours du troisième trimestre. Environ 80% du fer fœtal sont accumulés après 28-30 semaine d'âge gestationnel (entre 1000 et 3000 g), passant d'environ 50 mg à 280 mg à terme. Ces réserves se constituent à partir du fer maternel circulant, ceci soulignant l'importance d'un apport martial satisfaisant chez la mère [61].

Le fer fixé sur la transferrine maternelle est transféré sur la transferrine placentaire puis fœtale avant d'être distribué aux différents tissus. Ce système de transport unidirectionnel fonctionne même en cas de déficit maternel en fer. Au cours du dernier trimestre de la grossesse, 3 à 4 mg de fer sont ainsi transférés chaque jour vers le fœtus. 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. A la naissance un enfant a un stock en fer d'environ 75 mg/kg [61].

VII.10. Les conséquences de l'anémie ferriprive sur la mère, le fœtus et le nouveau-né

VII.10.1. Le retentissement maternel

Les conséquences d'une anémie pendant la grossesse chez la mère sont notamment une réduction des réserves au moment de la naissance et donc une menace plus importante de pertes sanguines, de transfusion, de symptômes d'anémie (fatigue, céphalées, vertiges). Dans ce cas une hypoxie due à l'hémoglobinopathie insuffisante et à la faible saturation du sang en oxygène peut s'installer ce qui engendre une augmentation de l'effort cardio-vasculaire pas toujours suffisant pour la compenser : un remplissage trop rapide peut alors être dangereux [75].

On note habituellement une fatigabilité avec une diminution de la capacité de résistance à l'effort et une moindre résistance aux infections. Au moment de l'accouchement, il existe une mauvaise tolérance à l'hémorragie de la délivrance, et éventuellement à la césarienne [63].

VII.10.2. Le retentissement fœtal

En cas d'anémie ferriprive sévère les conséquences sur le fœtus [62] peuvent être les suivantes :

- Un taux élevé de naissance prématurée et de naissance de faible poids ;
- Un retard de croissance intra utérin (RCIU) ;
- Une augmentation de la mortalité périnatale ;
- Une augmentation du risque de prématurité ;
- Une hypotrophie fœtale [76].

L'existence d'une anémie sévère en début de grossesse inférieure à 9,5 g/dl à 12 SA, entraîne un risque relatif de prématurité de 1,68 et de 2,5 si l'hémoglobine est inférieure 7g/dl liée à une anémie par carence ferrique. Une étude rétrospective portant sur 250000 patientes réalisées par John a montré la relation entre carence en fer et naissance prématurée [69].

Le risque était présent si l'anémie était dépistée plutôt au premier et au deuxième trimestre et non pas au troisième. Une augmentation de la prématurité de 10 à 20% était retrouvée pour une hémoglobine de 9,5 g/dl [63]. L'existence d'une anémie sévère inférieure à 9g/dl et surtout inférieure à 7g/dl en début de grossesse entraîne également un risque d'hypotrophie fœtal [64].

- ✓ Il est généralement admis que l'anémie augmente le risque de prématurité, de mortalité périnatale souvent d'hypotrophie fœtale accompagnée de retard mental, mais aussi le risque de donner naissance à un nouveau-né de faible poids[65]. Mais la réalité est plus complexe et la question se pose de savoir si ces complications sont liées à l'anémie, à la carence en fer, ou à toute une série de confusions, qui n'ont pas été suffisamment prises en compte dans la plus part des études [66, 68].

L'étude Knutson nous apporte néanmoins des renseignements précieux à cet égard, une étude prospective portant sur 826 femmes enceintes socialement défavorisées, a montré que le risque d'accouchement prématurée et de naissance d'enfants de faibles poids étaient respectivement 2 fois et demi à 3 fois plus élevées chez les femmes ayant une anémie ferriprive que chez les femmes ayant une anémie d'une autre cause [65]. Cette étude a montré que le risque de prématurité et de naissance d'enfants pesant moins de 2,5 kg n'était pas augmenté chez les femmes dont l'anémie ferriprive n'était découverte qu'au 3ème trimestre de la grossesse. En outre, ces risques n'étaient ni réduits ni augmentés par une supplémentation en fer à partir de la 2ème semaine. Seulement, deux études en provenance de pays sous-développés, ont conclu que les nouveau-nés de mères anémiques étaient aussi anémiques. Une étude prospective portant sur 152 nouveau-nés suivis pendant un an, a aussi mis en évidence une relation significative entre l'existence d'une anémie ferriprive chez les mères au moment de l'accouchement et celle d'une carence en fer chez les nourrissons [65].

VII.11. Les recommandations sur le dépistage de l'anémie

VII.11.1. Sur le plan clinique

L'OMS (en 2003), recommande un dépistage clinique de l'anémie dès la première consultation de grossesse et à chaque consultation prénatale à la recherche des signes suivants :

➤ **Signes généraux :**

- Pâleurs cutanéomuqueuse ;
- Pâleurs des conjonctives ;
- Asthénie physique et morale ;
- Défaut de concentration, difficultés de mémorisation .

➤ **Conséquences de l'hypoxémie :**

- Réduction des performances musculaires ;
- Crampes ;
- Dyspnée ;
- Tachycardie, angor d'effort ;
- Fatigue excessive pour un effort modéré.

➤ **Signes neurologiques : (par hypoxémie)**

- Céphalées, vertiges ;
- Acouphènes.

➤ **Autres signes associés :**

- Glossite ;
- Dysphagie ;
- Gastrite superficielle

VII.11.2. Sur le plan biologique

VII.11.2.1. Les caractéristiques biologiques de l'anémie

	Fer	Transferrine	Ferritine
Carence en fer	↓	↑	↓
Syndrome Inflammatoire	↓	↓ ou Normal	↑
Thalassémie	↓ ou Normal	Normal	Normal

- Microcytaire (VGM < 80 μm^3), mais parfois normocytaire (80 < VGM < 100 μm^3) si anémie récente [65].
- Les autres lignées sont généralement normales, mais il peut exister une thrombocytose associée (plaquettes supérieures à 500000/m). Toutefois, celle-ci est très rare pendant la grossesse, masquée par la thrombopénie physiologique [65].

VII.11.2.2. Les recommandations sur la Formule de Numération Sanguine (FNS)

Il s'agit du premier examen à réaliser, il est recommandé d'effectuer cet examen au premier trimestre de la grossesse en cas de facteurs de risques, et il est rendu obligatoire au 6^{ème} mois de la grossesse par un décret du 14 février 1992. Cependant, il apparaît que cette date serait considérée comme tardive pour le CNGOF et l'OMS [63-64].

L'ANDEM a donc recommandé en 1996 d'effectuer une FNS lors de la première consultation de grossesse, ainsi qu'un dosage de la ferritinémie. En 1997, le CNGOF a également préconisé ces recommandations, suivi par l'OMS en 2003, qui ajoute une recherche de signes cliniques de l'anémie à chaque consultation.

La HAS recommande une prescription de la FNS au 1^{er} trimestre en cas de facteurs de risques et une recherche systématiques au 6^{ème} mois. La loi de 1992 impose un dosage de la FNS au 6^{ème} mois [66].

VII.12. Diagnostic de l'anémie ferriprive

VII.12.1. Les signes cliniques

L'anémie ferriprive se constitue très progressivement et cela explique :

- *Qu'elle soit longtemps bien tolérée ;
- *Que la pâleur cutano-muqueuse soit la manifestation clinique de loin la plus fréquente ;
- *Que la circonstance de découverte la habituelle soit un hémogramme systématique.

Des signes induits par la carence en fer peuvent être au premier plan, qu'il faut toujours rechercher à l'examen [63].

- Peau sèche parfois prurigineuse ;
 - Prurit vulvaire ;
 - Cheveux secs et cassants ;
 - Ongles plats voire concaves (Koilonychie) ;
 - Fissures des commissures labiales (rhagades) ;
 - Glossite ;
 - Des conduites alimentaires anormales regroupées sous le terme de pica (nom latin de la pie vorace) : géophagie (argile, terre), pagophagie (glace), trichophagie (cheveux).
 - Gastrite superficielle ;
 - Dysphagie haute avec anneau de striction sous-cricoïdien, heureusement très rare car la lésion peut dégénérer en cancer de l'œsophage ;
 - Plus fréquentes sont les modifications de l'humeur chez l'enfant et l'adulte et la diminution des performances psychométriques ;
 - Enfin, une mauvaise tolérance au froid est souvent signalée ;
- Une splénomégalie modérée est possible, rare chez l'adulte, plus fréquente chez l'enfant [63].
- **Signes cardio-respiratoires** : dyspnée d'effort s'aggravant progressivement jusqu'à la dyspnée de décubitus, palpitations, tachycardie et même un angor d'effort [67]

- **Signes neurologiques** : habituellement modérés et peu spécifique : céphalées, vertiges, bourdonnements d'oreilles [67]

VII.12.2. Les signes biologiques

Ils reposent sur la mise en évidence d'une anémie, quand l'hémoglobine est < à 13 g/dl chez l'homme, <12g/dl chez la femme, et <11g/dl chez la femme enceinte. Elle est progressivement microcytaire (VGM<80 μ m³), arégénérative, associée à des signes de carence en fer [68]

- La sidérémie constamment basse, est inférieure à 10 μ mol/l (\leq 60 μ g/dl)
- La capacité totale de fixation de la transferrine est augmentée, supérieure à 65 μ mol/l (\geq 350 μ g/dl) ;
- Le coefficient de saturation de la transferrine est diminué, inférieur à 15% ;
- La ferritinémie est effondrée (\leq 15ng/ml), caractérisant un épuisement des réserves ;
- Le taux des récepteurs solubles à la transferrine est augmenté [68]

VII.12.3. Diagnostic différentiel

Le diagnostic des anémies inflammatoires repose sur les signes (inconstants) de la maladie causale et les signes inflammatoires biologiques (fibrinogène, α 2-globulines, protéine C réactive. La capacité totale de fixation de la transferrine est normale ou diminuée ; la ferritinémie, surtout est normale ou augmentée, traduisant une augmentation des réserves.

Les pièges diagnostiques sont les anémies ferriprives associées à une anémie inflammatoire, ou à une carence en vitamine B12 ou en folates, ainsi que les fausses hypersidérémies dues à une hémolyse du prélèvement [69].

VII.12.4. Diagnostic étiologique

La rupture de l'équilibre précaire du métabolisme du fer peut se faire par augmentation des pertes, essentiellement hémorragiques, ou par insuffisance des entrées vraies (diminution d'apport) ou relatives (augmentation des besoins ou insuffisance

d'absorption). La conduite diagnostique est différente chez l'adulte et chez l'enfant [70].

VII.13. La supplémentation en fer

VII.13.1. Les recommandations

Dans le rapport sur « la supplémentation au cours de la grossesse », recommandation pour la pratique clinique du 5 décembre 1997, le CNGOF, souligne l'importance de l'augmentation des capacités d'absorption intestinale du fer (aussi bien le fer héminique que le fer minéral) qui est une réponse physiologique à la diminution des réserves notamment au deuxième trimestre [71].

Ce rapport met également en relief qu'une anémie dépistée au-delà de 28 semaines (correspondant à une carence gravidique) n'aurait aucune conséquence néfaste. De plus, l'anémie du post-partum, ne serait pas liée au statut martial au cours du 3ème trimestre.

Ce rapport fait également état du fait qu'il n'a jamais été démontré que la supplémentation en fer améliorerait la santé du fœtus et du nouveau-né.

Certaines études vont même plus loin, et montrent que la supplémentation martiale pourrait augmenter le risque de morbidité maternelle et fœtale d'origine nutritionnelle.

Une étude conduite conjointement par des chercheurs américains et péruviens montre que les suppléments de fer (60 mg /j) au troisième mois de la grossesse rendent plus difficiles l'absorption du zinc alimentaire. Par rapport à un groupe de contrôle, celle-ci est divisée par deux chez les femmes qui reçoivent le supplément de fer, le taux de zinc dans le plasma et dans le cordon ombilical est lui aussi diminué chez les femmes enceintes supplémentées.

Dans cette étude, un groupe de femme recevait en parallèle un supplément associant fer et zinc (15mg). La présence de zinc a permis de prévenir les effets néfastes du fer sur le statut en zinc. Les déficits en zinc sont associés à des risques accrus d'éclampsie, de prématurité, d'hypotrophie du nouveau-né et de retard de maturation psychomotrice.

En 2005, la HAS préconise qu'il est inutile de proposer de façon systématique une supplémentation en fer aux femmes enceintes, car elle ne profite ni à la mère ni au fœtus.

Le traitement martial est à réserver aux patientes présentant des anémies ferriprives avérées par un test en laboratoire et aux patientes étant à risque de carence martiale [69].

VII.14. Le Traitement

VII.14.1. Le Fer

La seule thérapeutique valable, qui est remarquablement efficace, consiste en l'administration de fer (thérapeutique martiale). On le donnera par la bouche sous une forme chélée à une petite molécule organique qui assurera son passage aisé à travers les cellules épithéliales de l'intestin grêle (fumarate, ascorbate, gluconate, citrate ammoniacal de fer). Les sels ionisés sont plus irritants pour le tube digestif et ne sont pas mieux résorbés que les chélates. Pour améliorer la tolérance digestive, on commence par une dose faible que l'on augmentera graduellement. Les comprimés seront ingérés au moment des repas : la résorption est moins bonne mais la tolérance est meilleure. L'excès de fer peut passer dans les selles et les colorer en noir (sulfure de fer). L'ingestion de sel par de petits enfants peut avoir des suites mortelles (dose létale = 900 mg de fer-métal par Kg). L'antidote est la desferrioxamine.

La réponse à la thérapeutique se manifeste dès les premiers jours par l'apparition de réticulocytes. La montée du taux d'Hb est plus lente, on gagne en général 0,17 gr/100ml d'Hb par jour, soit environ 1 gr/100ml par semaine. Le succès thérapeutique est assuré mais peut exiger plusieurs mois [66].

VII.14.1.1. Indication de la voie parentérale : limitées aux cas suivants

- Fer per os = insuffisamment résorbé ;
- Intolérance digestive telle que l'état de nutrition du malade en est compromis ;
- Patient incapable d'assurer lui-même la régularité de son traitement (débiles mentaux, etc...)
- Cas d'urgence (anémie ferriprive constatée à la fin de la grossesse).
- L'administration du fer par voie parentérale se fait uniquement par injections I.M.

En effet, par voie sous-cutanée, il y a décomposition sur place d'une bonne partie du

chélate, et par voie intraveineuse, le fer est toxique comme les autres métaux lourds (ceci est valable même pour les chélates) [69].

VII.14.2. Traitement accessoire

La transfusion sanguine peut s'avérer nécessaire en cas d'anémie sévère et d'autant plus qu'on se rapproche du terme. Il est difficile de recommander un taux d'hémoglobine absolu à partir duquel il faut transfuser. Le taux d'Hb critique au dessous duquel une transfusion de sang hétérologue doit être donc envisagée est de 60 g/L environ; il dépend toutefois des symptômes cliniques. La transfusion sanguine peut être indiquée dans le cadre des traitements des hémoglobinopathies [72].

VII.14.3. Surveillance du traitement martial

Une crise réticulocytaire est observée à partir du 10^{ème} jour. La seule correction de l'anémie ne suffit pas : il doit aussi y avoir normalisation de la transferrine et de la ferritine. La persistance de l'anémie et du syndrome biochimique doit faire rechercher une autre pathologie, par exemple une thalassémie mineure (électrophorèse de l'hémoglobine). La persistance de l'anémie et du syndrome biochimique suggère un problème d'adhésion au traitement ou une malabsorption. L'injection, deux fois par semaine, de chélate de fer permet d'obtenir la guérison [73].

VII.15. Les modalités thérapeutiques

VII.15.1. Traitement martial

Le traitement est déterminé en fonction de la sévérité de l'anémie et de l'examen clinique de la femme enceinte. Le traitement doit également prendre en compte l'origine de l'anémie (s'agissant le plus souvent d'une carence martiale) [65].

L'anémie ferriprive modérée (c'est-à-dire une hémoglobine comprise entre 9 et 11g/l) doit être traitée de préférence par du fer per os. La dose recommandée est de 150 à 200 mg de fer élément par jour et doit être poursuivie trois mois après la correction de l'anémie pour reconstituer les réserves. Il en existe plusieurs types [74].

- Ascofer® (Ascorbate ferreux) : comprimé de 245 mg soit 3 à 6 comprimés par jour.
- Fero-Grad® vit C 500 mg (Sulfate ferreux + acide ascorbique) : comprimé à 105 mg soit 1 comprimé par jour.
- Fumafer® (fumarate ferreux) : comprimé à 200 mg soit 2 ou 3 comprimés par jour.
- Ferrostrane® (Féredétate de sodium) : sirop flacon de 125 ml : 3 à 6 cuillères à café par jour.
- Tardyferon® 80 mg (sulfate ferreux) : comprimé à 80 mg 1 à 2 comprimés par jr.
- Tardyferon® B9 (sulfate ferreux + acide folique) : comprimé de 160 mg soit 1 à 2 comprimés par jour.
- Timoferol® (sulfate ferreux + acide ascorbique) : gélule de 5mg soit 2 à 4 gélules par jour.

Dans certaines situations, le traitement en fer par voie intraveineuse est une bonne alternative. Si par exemple le taux d'hémoglobine est inférieur à 9 g/l, en cas de mauvaise observance ou en cas d'intolérance aux traitements en fer oraux. Il ne comporte pas les effets gastro-intestinaux indésirables des traitements en fer oraux. Le traitement le plus utilisé est le Venofer® (complexe de saccharate de fer). Il se présente sous la forme d'ampoule de 200 mg à renouveler une à deux fois. L'effet thérapeutique à dose égale, est le même quel que soit le choix du fer, mais il peut exister des tolérances parfois différentes en fonction du type et de la présentation [65].

VII.15.2.Traitement par les folates

L'acide folique est essentiel à la synthèse des acides nucléiques plus particulièrement de l'ADN et aussi nécessaire à toute division cellulaire. Le passage transplacentaire est du à un mécanisme actif, le taux de folates étant quatre fois plus élevé dans le sérum du fœtus que dans celui de la mère. Durant la grossesse, les apports journaliers recommandés en folates sont de l'ordre de 300 à 600 µg. Comme les carences en fer et en folates sont souvent associées, on recommande l'apport conjoint de fer et de folates. Les traitements les plus

courants sont :

- Spéciafoldine® : 5 à 15 mg par jour pendant 1 mois
- Tardyferon® B9 : 1 comprimé par jour [71].

VII.15.3. Autres traitements

Les transfusions sanguines sont à réserver aux anémies très sévères (hémoglobine inférieure à 8g/l) à partir de 36 semaines et plutôt s'il existe un risque d'accouchement prématuré. Car il faut au moins un mois pour corriger l'anémie avec un traitement martial et il faut toujours prendre en compte les risques de décompensation lors de l'accouchement et de la délivrance.

En cas de ferritine diminuée sans anémie, seule une surveillance est recommandée.

En cas d'anémie par spoliation sanguine au cours de la grossesse (métrorragies, placenta prævia, hémorragie...), la reconstitution de la masse globulaire peut s'avérer nécessaire avant le terme, car l'accouchement ou la césarienne peuvent aggraver une situation déjà fragile [74].

VII.15.4. Intérêt d'un traitement

L'existence d'une anémie pendant la grossesse augmente le risque de retard de croissance intra-utérin et l'hémorragie sévère du post-partum si le taux d'hémoglobine au 3ème trimestre est inférieur à 9 g/dl. Il semble que la carence martiale, plus que l'anémie elle-même augmente la morbidité néonatale. En effet, les taux d'accouchements prématurés et de retard de croissance sont respectivement multipliés par 2,5 et 3 chez les patientes souffrant d'anémie ferriprive, par rapport à celles ayant une anémie d'une autre origine.

Le but du traitement est double, d'une part il s'agit de corriger l'anémie et d'autre part il s'agit de rétablir les réserves en fer [70].

CHAPITRE 3 : Le récepteur soluble de la transferrine

VIII. Le récepteur de la transferrine et sa forme soluble

VIII.1. Les récepteurs de la transferrine : R-Tf1 et R-Tf2

VIII.1.1. Structure du R-Tf1

Comme pour la transferrine, le gène *TfR1* humain est situé sur le chromosome 3(3q26), il s'étend sur plus de 31 Kb et il est constitué de 19 exons [79]. Le RTf est une glycoprotéine transmembranaire de structure homodimérique, de masse moléculaire égale à 190 kDa [80].

Chaque monomère contient 760 acides aminés répartis en trois domaines (**Figure 6**) :

Le domaine cytoplasmique comporte l'extrémité N-terminale de la molécule, il contient 61 acides aminés. La sérine en position 24 est un site de phosphorylation par la protéine kinase C.

Une séquence peptidique particulière (tyrosine-thréonine-arginine-phénylalanine) : dans cette région est considérée comme signal indispensable à l'endocytose [81]. L'acylation par l'acide palmitique en position 52 résulte d'une modification post-traductionnelle qui favorise l'endocytose [82]; les récepteurs non acylés subissent une endocytose plus rapide.

Le domaine transmembranaire contient 28 acides aminés à prédominance hydrophobique. Il fonctionne durant la phase de synthèse comme signal de translocation à travers le réticulum endoplasmique.

Le domaine C-terminale extracellulaire contient 671 acides aminés. Les deux monomères sont unis par deux ponts disulfures en position 89 et 98. Il existe trois sites de N-glycosylation en

position 251, 317 et 727 et un seul site d'O-glycosylation sur un résidu thréonine en position 104.

Chaque molécule de récepteur peut fixer deux molécules de transferrine, mais le site de liaison est actuellement inconnu.

Plusieurs sites de glycosylation sont présents sur cette protéine, et semblent jouer un rôle dans la liaison à la transferrine, dans la localisation cellulaire et dans la protection contre le clivage.

Chaque monomère de R-Tf peut se lier à une molécule de transferrine mais les acides aminés impliqués dans cette liaison n'ont pas encore été identifiés. La biosynthèse du R-Tf suit les voies métaboliques des autres glycoprotéines de surface. Trois modifications post-traductionnelles se produisent soit la glycosylation, l'acylation et la phosphorylation. La demi-vie du R-Tf varie de 14 heures à 3 jours selon le type cellulaire.

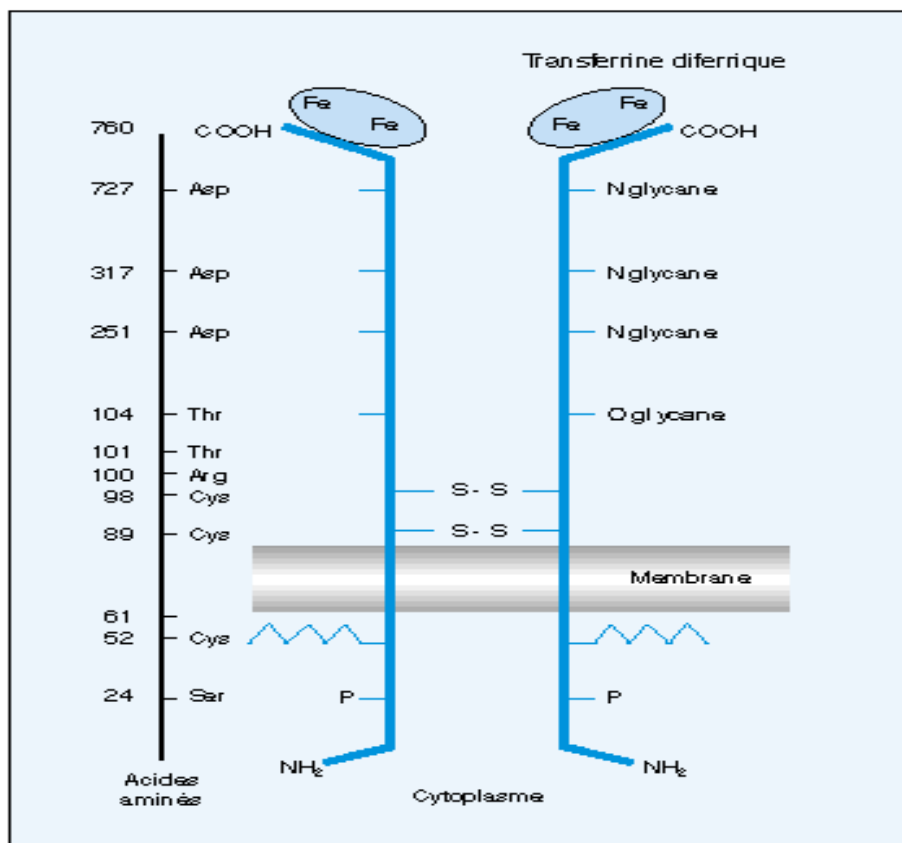


Figure 6 : Structure du récepteur de la transferrine [83].

L'extrémité N-terminale est dans le cytoplasme. Le domaine extracellulaire comporte deux ponts disulfures unissant les deux monomères, trois sites de N-glycosylation et un site d'O-

glycosylation. Le récepteur sérique circulant est une forme tronquée par protéolyse entre les acides aminés 100 et 101.

Le gène codant pour R-Tf1 est exprimée par tous les types cellulaires à l'exception des érythrocytes matures. Toutefois son expression est la plus élevée dans les précurseurs érythroïdes (cellules synthétisant l'hémoglobine), les hépatocytes, les monocytes, les cellules formant la barrière hématoencéphalique et les cellules normales en phase de division rapide ainsi que dans les cellules malignes.

Les précurseurs des érythrocytes contiennent plus des deux tiers des R-Tf de l'organisme [84]. Le récepteur est exprimé dès le stade BFU-E (Burst forming unit-E) qui est constitué des progéniteurs spécialisés les plus primitifs de la lignée érythrocytaire [85]. Son expression augmente au fur et à mesure de la maturation cellulaire pour atteindre un maximum au stade érythroblaste intermédiaire (800 000 R-Tf/cellule) pour ensuite diminuer à 100 000 R-Tf/cellule chez les réticulocytes circulants puis aller jusqu'à disparaître chez les érythrocytes matures [86].

VIII.1.2. Fonction du R-Tf

Le R-Tf membranaire est indispensable à l'internalisation du fer lié à la transferrine. Le modèle d'internalisation du fer lié à la transferrine par le R-Tf recycle le complexe Tf-R-Tf et s'appelle le "transferrin-to-cell cycle". Ce modèle débute par la liaison de la transferrine diférique à son récepteur spécifique à la surface cellulaire. Les complexes Tf-R-Tf sont internalisés par endocytose suite à la formation de puits tapissés de clathrines qui s'invaginent pour former des endosomes. Les endosomes formés subissent une acidification progressive ATPase-dépendante. La libération du fer lié à la transferrine s'effectue à un pH d'environ 5,5. Le fer ainsi libéré est alors soit utilisé par la cellule, soit emmagasiné par la ferritine [86]. Au Ph acide de l'endosome, l'apotransferrine a une forte affinité pour le récepteur. Les complexes Tf RTf ne fusionnent pas avec les lysosomes et sont retournés à la surface

cellulaire. Au pH physiologique à la surface cellulaire, l'affinité de l'apotransferrine pour le récepteur est perdue.

Elle se sépare donc de son récepteur et retourne dans le plasma. Le transit du complexe Tf-R Tf ne dure que 10 min [87]. On estime que le tiers des R-Tf se trouve à la surface des cellules, les deux tiers restants sont impliqués dans le phénomène d'endocytose [86].

L'affinité du R-Tf est maximale pour la transferrine diférique (2 à 7 x10⁻⁹ M) soit de 30 à 500 fois plus élevée que celle pour la transferrine monoférique et l'apotransferrine, respectivement [88]. Il en résulte que l'apport en fer aux cellules s'effectue principalement par la transferrine diférique dont la concentration circulante (30 - 40 µM saturé à 30% chez les individus normaux) est suffisante pour saturer tous les R-Tf. La régulation du R-Tf est cruciale pour optimiser la quantité de fer acquise par les cellules en réponse aux besoins métaboliques et pour prévenir l'accumulation excessive qui pourrait mener à la formation de radicaux libres toxiques.

Dans les cellules cryptales de l'intestin, le R-Tf se lie à la protéine HFE (Hemochromatosis gene product HFE). Cette liaison agit comme mécanisme de contrôle du fer internalisé puisqu'elle diminue l'affinité du récepteur pour la transferrine [89,90]. La mutation ponctuelle C282Y de l'HFE entraîne la production d'une protéine non fonctionnelle qui ne peut participer à ce mécanisme de régulation. Il en résulte une captation incontrôlée du fer et son accumulation excessive dans les tissus.

VIII.1.3. Régulation de l'expression

L'homéostasie intracellulaire du fer est assurée par une régulation post-transcriptionnelle des gènes codant pour le R-Tf et pour la ferritine, étroitement liée à la concentration intracellulaire en fer. La régulation de la synthèse des deux protéines s'effectue en sens inverse. Les ARNm de la ferritine et du R-Tf possèdent respectivement, dans leurs extrémités 5' et 3' non traduites, une séquence oligonucléotidique particulière de structure

tige-boucle dénommée *iron responsive element* (IRE) [91]. Les IRE ont une affinité élevée pour des protéines cytosoliques, les *iron regulatory proteins* (IRP1 et IRP2).

L'activité de liaison à l'ARNm des IRP est coordonnée avec la concentration en fer par la modulation de la conformation des protéines. Lorsque la concentration cellulaire est faible en fer, l'IRP1 se fixe sur l'IRE : cela bloque la traduction et la synthèse de ferritine et favorise l'expression du gène de R-Tf en protégeant l'ARNm du récepteur de la dégradation par les ribonucléases [92].

Il s'en suit une augmentation de la densité des R-Tf à la surface des progéniteurs érythropoïétiques.

Inversement, si la cellule est riche en fer, l'IRP1 possède une forme plus compacte avec un centre fer-soufre (*cluster 4Fe-4S*), elle perd son affinité pour l'IRE, ce qui permet la traduction de l'ARNm de la ferritine et favorise l'entreposage du fer. Par ailleurs, la dégradation de l'ARNm du R-Tf est accélérée limitant la synthèse du R-Tf et par la même occasion l'acquisition du fer. Ce mécanisme permet aux cellules de coordonner l'acquisition et l'entreposage du fer selon sa disponibilité et leurs besoins martiaux.

Dans le cas des cellules érythroïdes, l'expression du R-Tf est plutôt régulée au niveau transcriptionnel par des facteurs de croissance ou de différenciation cellulaire et serait plus indépendante du contenu intracellulaire en fer [93,94]. Le contrôle transcriptionnel de l'expression du gène du R-Tf est aussi possible dans d'autres types cellulaires en stade de prolifération [95].

Par ailleurs, la surexpression de R-Tf par les cellules malignes pourrait être exploitée pour développer une thérapie sélective. En effet, les anticorps contre le R-Tf, qui inhibe la liaison de la transferrine, exercent un effet cytostatique sur les cellules malignes [84]. De plus, des conjugués entre une drogue (ex: daunorubicine) et la transferrine ou des conjugués entre une drogue et un anti-R-Tf ont également été synthétisés afin de permettre de cibler les cellules en état de prolifération. Ils ont démontré des effets cytotoxiques sur des cellules cancéreuses [84]

mais cette toxicité n'était pas spécifique aux cellules malignes, d'autres cellules riches en R-Tf étaient également affectées.

VIII.1.4. Le R-Tf2

Le gène codant pour R-Tf2 (*TFR2*), cloné en 1999 par Kawabata *et al.* [96], est à l'origine de deux transcrits, une forme α de 2,9 kb et une forme β de 2,5kb. Il est probable que la forme β qui ne possède pas les exons 1, 2 et 3, représente une forme intracellulaire soluble du récepteur. La forme α est majoritairement exprimée dans le foie et également dans les précurseurs érythroïdes et les cellules duodénales (cryptes et villosités) [97], alors que la forme β est faiblement exprimée dans tous les tissus [96]. R-Tf2 est également exprimé par un grand nombre de lignées cellulaires dérivées de tumeurs solides de différents tissus [42].

Plusieurs équipes ont montré que la quantité de protéine R-Tf2 était augmentée *in vitro* par traitement de lignées cellulaires à l'holoTf [42,41] mais pas après traitement au fer non lié à la Tf [40]. De plus, *in vivo*, lors d'une surcharge en fer expérimentale (régime riche en fer) ou pathologique (souris KO *Hfe*, souris thalassémiques), les taux de R-Tf2 sont également augmentés[41]. Cette augmentation de quantité de protéine R-Tf2 n'est pas liée à une augmentation de l'ARNm [41] mais serait due à une augmentation de la demi-vie de la protéine [40]. Cette régulation de R-Tf2 par le fer est différente de celle de R-Tf1. En effet, l'ARNm R-Tf2, contrairement à celui de R-Tf1, ne possède pas de séquence IRE. D'autre part, alors que R-Tf1 est régulé négativement par le fer, la surcharge en fer augmente la quantité de R-Tf2.

Le R-Tf2 est homologue à R-Tf1 (45% d'identité et 66% de similarité dans le domaine extracellulaire) mais lie l'holoTf avec une affinité 25 fois plus faible. [96,42]. Enfin, R-Tf2 n'est pas capable de lier la protéine HFE.

L'implication de R-Tf2 dans l'hémochromatose héréditaire [98] suggère que R-Tf2 aurait un rôle de régulation de l'homéostasie du fer via la régulation de l'expression du gène hepcidine [99].

VIII.2. La forme soluble (circulante) Rs-Tf ou (sTfR)

Le récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf) a été isolé du sérum humain par chromatographie d'immunoaffinité avec un anticorps monoclonal [100]. Le Rs-Tf est une forme tronquée du récepteur membranaire qui a perdu ses domaines cytoplasmique et transmembranaire ainsi que les ponts disulfures qui renaient ensemble les deux monomères. Le clivage s'effectue dans le domaine extracellulaire entre l'arginine (position 100) et la leucine (position 101) (**Figure 6**). Il s'agit donc d'une forme monomérique circulante de masse moléculaire d'environ 85 kDa ayant toujours la capacité de lier une molécule de transferrine. Dans le plasma, le Rs-Tf se trouve sous forme de complexe avec la transferrine mono ou diférique ; le poids moléculaire de ce complexe est d'environ 320 kDa [101].

Chez les sujets normaux, moins de 1 % de récepteurs intacts, provenant probablement de la lyse cellulaire. La majorité est sous forme tronquée monomérique. Dans certaines pathologies, telles que la drépanocytose, l'anémie hémolytique auto-immune et le purpura thrombocytopénique, le pourcentage de récepteurs intacts peut notablement augmenter [100].

Dans le modèle d'endocytose "transferrin-to-cell cycle" décrit précédemment (**figure 6**), une fraction mineure du complexe transferrine-récepteur participe à une voie différente (secondaire) d'endocytose [87]. Dans cette voie, la membrane de la vésicule d'endocytose contenant le complexe transferrine-récepteur forme de multiples invaginations conduisant à une structure nommée endosome multivésiculaire. Chaque microvésicule portant à sa surface un R-apoTf s'appelle un exosome. La protéolyse est effectuée par une sérine protéase associée à la membrane et se produit à l'intérieur de l'endosome multivésiculaire entre les positions 100 et 101 du récepteur donc avant l'exocytose. Le Rs-Tf serait ensuite relâché par exocytose et pourrait lier la transferrine dans la circulation. Les facteurs cellulaires qui déterminent quelle voie d'endocytose utilise un complexe transferrine-récepteur restent à être déterminés. Tout ce qu'est confirmé c'est que cette perte du récepteur est un phénomène de maturation érythroïde.

La protéolyse du récepteur membranaire est fortement influencée par la présence d'une *Oglycosylation* en position 104 qui exerce un rôle protecteur contre le clivage enzymatique [101]. La taille et la charge de la chaîne glycanique conditionnent la susceptibilité du R-Tf à la protéolyse, particulièrement les résidus sialylés : si la chaîne est longue et chargée, le R-Tf est résistant.

L'intégrité du domaine cytoplasmique est un facteur de protection contre la protéolyse. La production de récepteurs mutants avec perte des amino-acides cytoplasmiques s'accompagne d'un clivage en position 91 [102]. De plus, le type cellulaire et la concentration intracellulaire de protéase peuvent influencer la formation de Rs-Tf [102].

Chez l'humain, les précurseurs médullaires érythroïdes constituent la source principale des Rs-Tf [87]. On estime que la moelle osseuse exprime plus de (80 à 95%) de la totalité des récepteurs contenus dans l'organisme [103] : cela explique la bonne corrélation existant entre la concentration sérique des Rs-Tf et l'activité proliférative de la moelle. Par conséquent, des changements dans les taux de Rs-Tf ont été observés dans certaines conditions cliniques associées à une altération de l'érythropoïèse et/ou à une déficience en fer. D'autres tissus que les cellules érythroïdes, principalement le foie et le placenta, contribuent pour une faible part à la production des Rs-Tf [103].

VIII.3. Aspects analytiques : mesure du Rs-Tf

VIII.3.1. Méthodes de dosage

En ce qui concerne le dosage du Rs-Tf, il n'existe pas de normes quant à l'utilisation d'anticoagulant, la durée de conservation des échantillons, le moment propice de la journée pour effectuer le prélèvement et le délai maximal entre la collecte et la centrifugation de l'échantillon.

Une comparaison des résultats obtenus entre le sérum et le plasma EDTA a démontré qu'il n'y avait pas de différence significative, qu'il s'agisse de sang veineux ou de sang capillaire [104].

Cependant une autre étude mentionne que la durée du contact entre le sang et l'EDTA avant la centrifugation influence à la hausse la concentration du Rs-Tf [83]. Actuellement, la plupart des trousse recommandent l'utilisation de spécimens frais de sérum ou de plasma EDTA ou hépariné. Pourtant dans certaines trousse, l'utilisation du plasma EDTA n'est pas recommandée.

Plusieurs trousse basées sur des essais immunologiques sont disponibles pour déterminer la concentration sérique ou plasmatique de Rs-Tf [105]. Quatre trousse commerciales de type ELISA sont disponibles: Quantikine IVD sTfR (R&D Systems), Cytokine sTfR (Eurogenetics), IdeA IEMA (Orion Diagnostica) et une trousse de Ramco Laboratories. Ces méthodes nécessitent cependant un long temps d'analyse et leurs variations inter-essais sont plus élevées que celles des méthodes totalement automatisées.

Aujourd'hui, plusieurs méthodes automatisées sont disponibles. Le N Latex sTfR de Dade Behring est un essai néphélométrique avec applications sur les analyseurs BN 100 et BN proSpec.

Le Nichols Advantage sTfR assay de Nichols Institute est un essai par chimiluminescence de type sandwich. Les trousse de réactifs Tinaquant sTfR de Roche Diagnostics et STfR IdeA IT de Orion Diagnostica sont des essais immunoturbidimétriques avec applications sur des analyseurs de type Hitachi, mais la trousse STfR IdeA IT peut aussi être utilisée sur le néphélomètre IMAGE de la compagnie Beckman-Coulter.

L'automatisation a permis de réduire le temps d'analyse de quelques heures, avec les méthodes ELISA, à environ 10 minutes [105]. Les coefficients de variation inter-essais sont inférieurs à 10% pour toutes les techniques automatisées. Les méthodes varient entre elles par le type d'anticorps (polyclonal ou monoclonal), par la nature du standard (récepteur intact libre, récepteur complexé à la transferrine isolé du sérum ou Rs-Tf isolé de placenta), par le type de marquage et par le signal mesuré [83]. Malgré une bonne corrélation entre les méthodes, les résultats obtenus par les différentes trousse sont très différents entre eux conduisant à des valeurs de référence et des seuils pathologiques variables.

Le développement d'un standard international pour la mesure du Rs-Tf aiderait à la concordance des méthodes et à l'utilisation en clinique de ce test. Actuellement, à notre connaissance, aucun laboratoire clinique en Algérie n'offre ce dosage. D'après un laboratoire qui travaille en collaboration avec un laboratoire en France qui offre ce test. Le coût du test est relativement élevé entre 2500 et 3000 DA dépendant de la méthode. Le laboratoire Mayo aux Etats-Unis (Mayo Medical Laboratories) offre ce test à un coût exorbitant (145\$ US). La faible connaissance de ce nouveau test, la grande variation des valeurs obtenues d'une trousse à l'autre et le fait qu'il existe le perls médullaire comme technique de référence pour confirmer une déficience en fer concomitante à une maladie chronique font que ce test est encore peu prescrit.

VIII.3.2. Variations biologiques

Chez les individus adultes normaux, la concentration du Rs-Tf suit une distribution normale (gaussienne) et n'est pas influencée par l'âge, mais influencée par le sexe et la ménopause [106].

Chez le vieillard, la concentration observée est plus faible [107]. La race est un facteur de variation puisque les noirs ont une concentration plus élevée d'environ 10% par rapport aux blancs. Une variation similaire est observée chez les sujets vivant en altitude [106]. La variabilité biologique intra-individuelle a été étudiée, soit sur une période d'un mois avec des prélèvements hebdomadaires [104], soit durant un an avec des prélèvements mensuels [108]. La variation intra individuelle se situe entre 12% et 15%, ce qui est inférieure à celle de la ferritine, du fer sérique et du coefficient de saturation de la transferrine [104].

Chez le nouveau-né, la concentration de Rs-Tf est environ le double de celle observée chez l'adulte et reflète probablement l'activité des cellules érythrocytaires mais également la prolifération d'autres types cellulaires [109].

VIII.3.3. Applications cliniques

Il a été mentionné précédemment que la concentration sérique de Rs-Tf est proportionnelle à la concentration tissulaire de R-Tf. Ainsi la concentration de Rs-Tf circulants est principalement déterminée par celle des précurseurs érythroïdes dans la moelle osseuse puisque ces cellules contiennent 75% des R-Tf de l'organisme. En effet, la relation entre les récepteurs membranaires et circulants est illustrée par la mesure du "erythron transferrin uptake" (ETU: quantité de transferrine captée par le tissu par unité de temps).

Le Rs-Tf en est un de ferrocinétique qui est relié à la prolifération des cellules érythroïdes. Une bonne corrélation a été trouvée entre le taux de Rs-Tf et l'ETU chez les individus sains et chez les patients présentant des désordres hématologiques. Par conséquent, le nombre de R-Tf membranaires est déterminé par le taux de prolifération des cellules érythroïdes sous l'action de facteurs de croissance comme l'érythropoïétine et les besoins intra-cellulaires en fer. La carence martiale s'accompagne d'une augmentation des Rs-Tf par mise en jeu du mécanisme post transcriptionnel consécutif à la diminution du contenu intracellulaire en fer et à l'augmentation du nombre de R-Tf membranaire sur toutes les cellules de l'organisme à l'exception des érythrocytes matures qui n'expriment plus le R-Tf.

VIII.3.3.1. Évaluation de l'érythropoïèse

Par sa localisation privilégiée sur les cellules immatures érythroïdes de la moelle osseuse, le R-Tf joue un rôle vital dans l'érythropoïèse. L'étude de Worwood, M *et al.* [110] a apporté la preuve qu'il existe une relation étroite entre la concentration du Rs-Tf et le niveau de l'érythropoïèse : concentration diminuée dans les anémies aplasiques, augmentée dans les anémies hémolytiques.

La très bonne corrélation entre Rs-Tf et mesures de ferrocinétique [103] justifie la mesure des Rs-Tf pour une évaluation quantitative de l'érythropoïèse.

La concentration du Rs-Tf est donc augmentée dans les états d'hyper-érythropoïèse. Il a été démontré que la concentration sérique du Rs-Tf est fortement augmentée, de 3 à 10 fois, lors des maladies hémolytiques (anémie hémolytique auto-immune, drépanocytose,

sphérocytose héréditaire et β -thalassémie) [111,112]. Dans les syndromes myéloprolifératifs, le taux de Rs-Tf est variable selon les pathologies [112]: il est normal dans la leucémie myéloïde chronique (LMC) et augmenté dans la polyglobulie vraie et dans la myélofibrose mais à un niveau moindre que dans les maladies hémolytiques [112]. L'anémie mégalo-blastique par carence en vitamine B12 ou en acide folique s'accompagne d'une masse érythrocytaire accrue avec une érythropoïèse inefficace. Le tiers des patients carencés ont une augmentation du Rs-Tf et cela constitue un indice de sévérité de la maladie [113]. Les patients avec des tumeurs hématologiques ou des tumeurs solides ont généralement des niveaux circulants de Rs-Tf normaux malgré que l'expression du Rs-Tf soit augmentée dans les cellules tumorales [114].

À l'opposé, la concentration du Rs-Tf est diminuée dans les états d'hypo-érythropoïèse comme dans l'insuffisance rénale chronique, l'anémie non régénératrice ou suite à une transplantation de moelle osseuse. Dans ces pathologies, le niveau du Rs-Tf est abaissé d'environ 50% à 60% que celui des contrôles, ce qui indique que les tissus non érythroïdes contribuent significativement à la production des Rs-Tf circulants. La correction de l'anémie des insuffisants rénaux se fait par un traitement à l'érythropoïétine (Epo) qui est une hormone normalement produite par le rein. Ce traitement donne des résultats variables d'un individu à l'autre [115]. En raison du coût élevé de l'Epo recombinante, il est important de s'assurer que le sujet est un bon répondeur. La concentration initiale de Rs-Tf et son pourcentage d'augmentation après une ou deux semaines de traitement permettent de classer les patients en répondeurs ou non-répondeurs au traitement avec une sensibilité de 92% [84]. Si la concentration du Rs-Tf est élevée et la ferritine basse, il faut d'abord instituer un traitement substitutif par le fer, avant de commencer la thérapie avec la rHu EPO (l'Epo recombinante).

VIII.3.3.2. Évaluation de la déficience en fer (anémie ferriprive (AF) pure)

La déficience en fer est la principale cause d'anémie dans les pays en voie de développement mais également dans les pays industrialisés. Le degré de déficience en fer nécessaire pour induire une augmentation du Rs-Tf a été établi en soumettant des personnes saines et volontaires à des saignées répétées [116]. Il a été observé que la ferritine chute rapidement durant la phase de diminution des réserves et pendant ce temps la concentration de Rs-Tf demeure stable. Lorsque la ferritine atteint des valeurs subnormales, la concentration de Rs-Tf augmente de façon consistante progressive, et inversement proportionnelle au déficit en fer. Cette augmentation reflète l'expression cellulaire augmentée du R-Tf, et dans les cas de déficience sévère, l'augmentation du R-Tf causée par l'érythropoïèse inefficace. L'augmentation du Rs-Tf se poursuit au cours des saignées alors que la ferritine reste constante et effondrée [117]. Cette augmentation signe la carence tissulaire en fer fonctionnel et c'est le stade de l'érythropoïèse carencée en fer. Elle intervient plus précocement que les modifications du volume globulaire moyen, de l'indice de distribution des érythrocytes et de la protoporphyrine érythrocytaire [107]. La carence en fer évolue donc selon trois étapes successives: premièrement, une déplétion des réserves en fer (diminution de la ferritine), deuxièmement, une carence tissulaire en fer (augmentation du Rs-Tf) et finalement par l'apparition de l'anémie (diminution de l'hémoglobine).

Chez les patients ayant une AF, plusieurs études ont démontré une augmentation du Rs-Tf de l'ordre de 3 à 5 fois selon la sévérité de la déficience. Alors que dans les cas d'excès en fer, comme dans l'hémochromatose, les taux sériques de Rs-Tf sont diminués ou normaux. Si l'on traite des personnes carencées avec des suppléments de fer, la concentration du Rs-Tf diminue au cours de 8 semaines de traitement malgré la normalisation de la ferritine après 4 semaines. Le Rs-Tf semble être un indicateur sensible de la carence en fer même après la reconstitution des réserves. La mesure du Rs-Tf est particulièrement intéressante chez les sujets ayant des réserves physiologiques faibles en fer pour lesquels l'intérêt du dosage de la ferritine est limité. C'est le cas des jeunes enfants, des adolescents, des athlètes et des femmes enceintes. Ainsi durant la grossesse, l'anémie est difficile d'interprétation parce que

l'augmentation du volume sanguin cause une hémodilution et que les réserves de fer sont mobilisées pour le fœtus (hypoferritinémie). Mais si la carence en fer est véritable, le taux de Rs-Tf sérique sera augmenté.

VIII.3.3.3. Évaluation de l'Anémie des maladies chroniques pure (AMC)

Le dosage du Rs-TF est particulièrement intéressant dans le diagnostic de la carence en fer des anémies des maladies chroniques (inflammation, infection, cancer). Les anémies des maladies chroniques sont causées par la maladie sous-jacente qui produit des cytokines qui font croire à une déficience en fer, principalement par une redistribution des sites de réserve du fer vers le foie et les monocytes ainsi qu'une augmentation de la ferritine circulante. Typiquement, le bilan de ces patients est caractérisé par une diminution de la concentration plasmatique du fer (Hyposidérémie) en présence d'un niveau normal ou augmenté des réserves en fer. Ainsi, ce type d'anémie ne répondra pas à une supplémentation en fer. Le diagnostic d'une déficience en fer concomitante à une maladie chronique est difficile car les marqueurs habituels d'exploration martiale sont inopérants. En effet, la ferritine et la transferrine sont des protéines de phase aiguë: la ferritine augmente et la transferrine diminue lors des maladies chroniques.

La coloration au bleu de Prusse sur un aspirat de moelle osseuse est présentement la technique de référence pour confirmer une déficience véritable en fer lors d'une maladie chronique. Cet examen est invasif et coûteux. Le taux de Rs-Tf sérique n'est pas influencé par l'inflammation ou l'infection [118,119] et demeure normal ou est légèrement diminué à cause de l'effet de certaines cytokines sur l'érythropoïèse dans ces pathologies (en absence d'une carence martiale associée).

Dans une étude récente [120] réalisée sur 129 patients anémiques dont le statut martial a été apprécié par le Perls médullaire : 64 présentaient une AMC, 48 d'une AF et 17 d'une AMC accompagnée d'une déficience en fer. Les résultats de la ferritine et du Rs-Tf ont été confrontés dans les trois groupes. Le Rs-Tf était normale et la ferritine élevée chez les patients avec une AMC pure (1,8 mg/L) mais significativement élevée chez les patients ayant une AF

(6,2 mg/L) et chez les patients ayant une anémie mixte (5,1 mg/L) [114]. Toutefois l'augmentation du Rs-Tf était significative chez seulement 13/17 patients ayant une anémie mixte. La performance diagnostique du test était améliorée par le calcul du rapport Rs-Tf / Log ferritine puisque la ferritine, normale ou légèrement élevée, avec un Rs-Tf augmenté même légèrement dans les anémies des maladies chroniques, indique probablement une déficience en fer associée. L'intérêt de ce rapport a été également rapporté pour le diagnostic d'un état carenciel au cours des maladies rhumatismales [121].

Une autre étude, qui a comparé le potentiel diagnostique de la ferritine et du Rs-Tf pour la déficience en fer dans différentes populations, conclut que la ferritine est encore la mesure de choix en routine pour évaluer la déficience en fer [122]. La sensibilité et la spécificité de la ferritine à 30 µg/L était de 92% et 98% respectivement comparativement à 92% et 84% pour une augmentation du Rs-Tf. De plus, la ferritine est le premier paramètre à diminuer lors d'une carence en fer. Néanmoins le Rs-Tf peut être utile, comme nous l'avons mentionné précédemment, en combinaison avec les autres tests de laboratoire, pour l'évaluation des carences fonctionnelles en fer et pour le diagnostic de la déficience en fer associée aux anémies des maladies chroniques. Le Rs-Tf ne remplace pas les paramètres habituels pour évaluer la déficience en fer mais ajoute une information supplémentaire permettant de mesurer la carence fonctionnelle en fer avant la diminution significative de l'hémoglobine [123].

IX. Recommandation de la Haute autorité de santé (HAS) sur le choix des examens du métabolisme du fer en cas de suspicion de carence en fer

L'identification d'une carence martiale (carence en fer) est possible grâce aux dosages sanguins des marqueurs du métabolisme du fer.

La recherche d'une carence martiale constitue une étape essentielle dans l'exploration étiologique des anémies.

En 1995, l'agence nationale pour le développement de l'évaluation médicale (ANDEM) a émis des recommandations sur le diagnostic biologique d'une carence martiale. Les principaux éléments étaient :

- L'évaluation d'un éventuel déficit martial nécessite le dosage de la ferritine sérique, OU le dosage du couple fer sérique et coefficient de saturation de la transferrine ;
- Le dosage du fer sérique ne peut être interprété que s'il est associé à la détermination du coefficient de saturation de la transferrine ;
- Le dépistage d'une carence martiale ne justifie pas la prescription simultanée du dosage du fer sérique et de la ferritine.

Cependant, en 2008, malgré les recommandations de l'ANDEM ainsi que des recommandations d'autres institutions, les dosages de fer sérique isolé et de fer sérique en association avec la ferritine correspondaient à 39 % du volume de prescription des examens de biologie explorant le métabolisme du fer dans les données de l'Assurance maladie.

Afin d'en réguler la prescription sur des bases médicales, la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAM TS) a saisi la HAS, en juillet 2009, d'une demande d'évaluation des examens de biologie à réaliser pour explorer le métabolisme du fer, en particulier dans le cas des anémies par carence en fer et des anémies inflammatoires ainsi que des surcharges en fer comme l'hémochromatose. Cette demande s'inscrit dans le cadre de la réforme de la biologie qui préconise l'optimisation des dépenses de santé par une limitation des prescriptions, rendues non pertinentes par l'évolution des connaissances médicales et scientifiques (maîtrise médicalisée des volumes d'actes).

La HAS a émis des Recommandations professionnelles en 2005 sur l'hémochromatose génétique. Ainsi, la présente évaluation n'aborde pas le thème des surcharges en fer, mais est centrée sur le choix des examens du métabolisme du fer quand une carence en fer est suspectée. Ce travail concerne la démarche de diagnostic biologique d'une carence martiale, et n'a pas pour objectif d'identifier les différentes situations cliniques qui relèvent ou non d'une analyse du métabolisme du fer [123].

La plupart des recommandations, rapports d'évaluation et conférences de consensus préconisent le dosage de la ferritine sérique pour le diagnostic d'une carence martiale.

En cas de contextes pathologiques particuliers (cancers, maladies inflammatoires chroniques intestinales et insuffisance rénale chronique) ou de suspicion clinique de carence avec une ferritine non basse, il est préconisé d'associer à la ferritine un autre marqueur du métabolisme du fer ou des paramètres hématologiques spécifiques. Les marqueurs du métabolisme du fer recommandés, dans cette situation sont : le fer sérique associé à la transferrine, ou le coefficient de saturation de la transferrine.

Aucune recommandation ne propose la prescription du fer sérique seul ni la prescription associée du fer sérique et de la ferritine sérique sans la transferrine.

Les situations d'anémie pendant la grossesse, chez les enfants et les adolescents sont moins consensuelles. Néanmoins, quand l'exploration du métabolisme du fer est recommandée, il s'agit encore de la ferritine sérique, parfois complétée par le fer sérique et la transferrine (ou coefficient de saturation de la transferrine).

La littérature originale sur les récepteurs solubles de la transferrine et l'index « récepteurs solubles de la transferrine/log ferritine » est d'un faible niveau de preuve.

Elle montre des résultats très hétérogènes, et qui ne sont pas en faveur d'une bonne performance diagnostique des récepteurs solubles de la transferrine. Il apparaît que les unités sont variables entre les études sans correspondance de l'une à l'autre (mg/L, U/L, nmol/L).

L'index récepteurs solubles de la transferrine/log ferritine pourrait être plus pertinent pour identifier une carence martiale dans un contexte inflammatoire que les récepteurs solubles de la transferrine seuls [123].

IX.1. Position de la HAS sur la place des récepteurs solubles de la transferrine dans la recherche d'une carence martiale

Le dosage des récepteurs solubles de la transferrine n'est pas utilisé en pratique courante. Le groupe de travail de la HAS est d'accord avec les conclusions de l'analyse de la littérature qui conclut à l'absence d'avantage de ce marqueur [123].

Il est consensuel sur l'absence d'indication des récepteurs solubles de la transferrine dans la stratégie d'exploration d'une carence martiale, même en situation complexe.

Les rares indications des récepteurs solubles de la transferrine relève de l'hématologie spécialisée [123].

PARTIE II : ETUDE

EXPERIMENTALE

Patients et méthodes

I. Patients et méthodes

I.1. Méthodologie

Notre travail est subdivisé en deux parties :

I. La première partie est une étude épidémiologique rétrospective, portant sur l'analyse des données de 10200 femmes enceintes âgées entre 16 à 48 ans, et de leur nouveau née dont 10008 naissances vivantes sur l'ensemble des accouchements enregistrés au niveau de la maternité de Sidi bel Abbés, durant la période allant de Janvier 2011 à Janvier 2012. Les données étaient recueillies à partir des dossiers archivés des naissances contenant des informations concernant l'âge de la parturiente, son lieu de résidence, sa parité et sa gésité ainsi que les pathologies associées, et également les caractéristiques de la grossesse actuelle (paramètres anthropométriques, âge gestationnel, mode d'accouchement, etc).

Le but de notre première étude est d'identifier l'impact de l'anémie ferriprive sur le faible poids de naissance, ainsi de déterminer les facteurs de risque et la fréquence des FPN dans la région de Sidi bel Abbes.

II. Et la deuxième partie est une étude expérimentale, portant sur le dosage d'un nouveau marqueur « Le Récepteur soluble de la Transferrine », complété des autres paramètres courants d'exploration martiale (la ferritine sérique, la transferrine, l'hémoglobine), et un bilan inflammatoire basé sur la CRP et l'Orosomucoide, et un bilan nutritionnel basé sur l'albumine et le préalbumine, chez 192 femmes enceintes âgées entre 18 et 41 ans, recrutés au niveau de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère-Enfant de Sidi Bel Abbés, entre décembre 2014 et Janvier 2015.

La grossesse et le post-partum de toutes ces patientes se sont déroulés sans problème ; les enfants sont nés en bonne santé et se sont développés normalement. L'âge gestationnel a été déterminé par un examen échographique et à partir de la date de la dernière période menstruelle. Le premier trimestre a été défini à <15 semaines d'aménorrhée (SA), le deuxième trimestre à 28 SA, et le dernier trimestre à >= 37 SA.

Pour toutes ces patientes, nous disposons d'un dossier médical. Les caractéristiques personnelles et anthropométriques des parturientes ont été enregistrées à l'aide d'un questionnaire pré établi par nos soins (**Annexe 1**). Aucun prélèvement n'a été effectué et aucun questionnaire n'a été mené sans le consentement des patientes signé au préalable.

II.1. Prélèvement et préparation des échantillons

Les prélèvements sanguins ont été effectués à jeun entre 8h et 10h du matin, et le sang veineux est récupéré sur deux types d'anticoagulants selon les exigences des fiches techniques des examens biochimiques et hématologiques à réaliser (voir les annexes).

Un tube à EDTA comme anticoagulant contient en moyenne 4ml du sang total, pour l'hémoglobine et un tube à Héparinate de lithium contient en moyenne 3,8 ml du sang total pour le dosage des autres paramètres (bilan martial, CRP et le Rs-Tf).

Les plasmas héparinés ont été séparés immédiatement du culot cellulaire par centrifugation (3000 t/min pendant 5 minutes) et recueillis soigneusement dans des tubes Eppendorf, puis conserver dans un réfrigérateur à 2-8 ° pas moins de 8 jours avant leur dosage. Les sérums hémolysés ont été exclus de l'étude.

En plus du dosage des Rs-Tf et de la ferritine, nous avons réalisé un profil inflammatoire fondé sur une protéine à cinétique rapide, la CRP, et une protéine à cinétique lente, l'orosomucoïde. Ces dosages ont été complétés par un profil nutritionnel fondé sur la pré-albumine, une protéine à cinétique rapide, et l'albumine, une protéine à cinétique lente. Nous voulons, sur base de ces résultats, éliminer toute patientes présentant un syndrome inflammatoire ou une malnutrition grave susceptible d'avoir une répercussion sur le taux de ferritine et de Rs-Tf [124].

Tous les dosages ont été réalisés au sein du laboratoire de l'Etablissement Hospitalier Dr Benzredjeb de Aïn Temouchent, tandis que le dosage du Rs-Tf à été réalisés au niveau du Centre de Transfusion Sanguine (Service de Sérologie) de l'Etablissement public hospitalier Ahmed-Medeghri de Aïn Témouchent.

II.2. Méthodologie préconisée

II.2.1. Méthodes de dosage de l'Hémoglobine (Hb)

L'hémoglobine (12,1 à 16,4 g/dl pour la femme enceinte) a été déterminée à partir d'une adaptation de la réaction de Drabkin (**Annexe 1**).

- Un volume de 25 µl du sang total aspiré est soumis à une série de dilution 1:400 avec des articles en verre de classe A avec un agent hémolytique (solution hypotonique) qui éclate les hématies et libère leurs contenus en hémoglobine pour obtenir à la fin une suspension de globules blancs et l'hémoglobine.
- La même suspension est utilisée pour la détermination des globules blancs et le dosage de l'hémoglobine.
- La concentration d'hémoglobine est déterminée par la conversion l'hémoglobine en hémiglobinecyanure (HiCN) et mesure de l'absorbance à 535 nm, conformément aux recommandations NCCLS H15-A2 et ICSH. La concentration d'hémoglobine est calculée à l'aide d'un coefficient d'absorption qui a été mémorisé lors de la calibration de l'analyseur.

II.2.2. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du bilan martial et inflammatoire

Tous les paramètres du bilan martial, du bilan inflammatoire et le Rs-Tf ont été mesurés par des méthodes de dosage Spectrophotométrique sur un Automate de biochimie clinique semi-automatique « Mindray BA-88A » (**Figure 7**) à l'exception du Rs-Tf mesuré par technique ELISA (Quantikine TM IVD TM, R&D Systems, Minneapolis, USA) sur un Lecteur d'absorbance BIO-TEK «ELx800 » (**Figure 8**) et un laveur de microplaque BIO-TEK «ELx50™ Strip Washer» (**Figure 9**) et l'hémoglobine sur un Coulter « Bayer ADVIA 60 ». Les instructions relatives à l'analyseur indiquées dans la notice de chaque test et les instructions spécifiques de l'analyseur indiquées dans le manuel d'utilisateur ont été strictement respectées pour garantir le bon fonctionnement du test.



Figure 7 : Automate de biochimie clinique semi-automatique « Mindray BA-88A »



Figure 8 : Lecteur d'absorbance BIO-TEK « ELx800 »

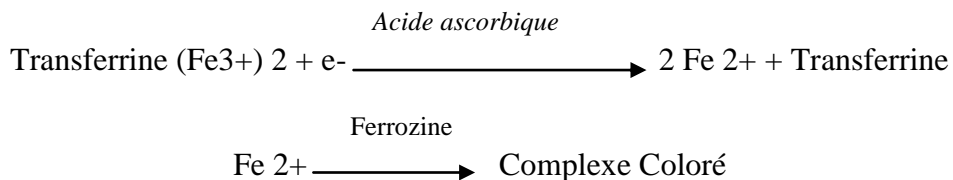


Figure 9 : laveur de microplaque BIO-TEK « ELx50™ Strip Washer »

II.2.2.1. Dosage du fer sérique

Le fer sérique (7,16 à 26,85 $\mu\text{mol/L}$ pour la femme enceinte) a été mesuré par colorimétrie à la FerroZine (SPINREACT), (Annexe 2).

- Dans le premier temps un volume de 200 μl de l'échantillon (plasma) est ajouté à 1000 μl de réactif RT (Acide ascorbique 99,7 % ; Acétate pH = 4,9 à 100 mmol/L) avec une goutte de R3 (Ferrozine 40 mmol/L) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.
- Lorsque la réaction est déclenchée : L'ascorbate réduit les ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} qui forment ensuite un complexe coloré avec la FerroZine.



- L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en fer et est mesurée par photométrie à 570 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

II.2.2.2. Dosage de la transferrine

La transferrinémie (valeurs usuelles : 2,0 à 3,6 g/L chez la femme enceinte) a été dosée par Spectrophotométrie, (**Annexe 3**):

- Une prise d'essai de 3 µl de l'échantillon (plasma frais recueilli sur héparinate de lithium) est ajoutée à 270 µl de réactif R1 (Tampon phosphate : 55 mmol/L, pH 7,2 ; NaCl : 25 mmol/L ; polyéthylèneglycol : 5% ; conservateur) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C.
- Puis l'addition de 100 µl du réactif R2 (Anticorps de lapin) anti-transferrine humaine : dépend du titre de l'antisérum ; chlorure de sodium : 100 mmol/L ; conservateur) et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction: Les anticorps anti-transferrine fixés sur des particules de latex réagissent avec la transferrine de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps.
- L'absorbance de l'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie à 505 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

II.2.2.3. Dosage de la ferritine

Le dosage radio-immunologique de la ferritine est un dosage de type sandwich. La trousse utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différents de la molécule, (**Annexe 4**).

- Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal, les échantillons ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125.
- Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée. Les

concentrations de ferritine dans l'échantillon biologique sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe standard. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de ferritine dans l'échantillon.

II.2.2.4. Dosage du récepteur soluble de la transferrine

Le test immunoenzymatique (ELISA) pour la détermination quantitative du récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf) dans le sérum et le plasma humain est conçu pour aider au diagnostic d'anémie ferriprive (Iron-Deficiency Anemia- IDA), tout particulièrement pour le diagnostic différentiel de l'IDA et de l'anémie des maladies chroniques (Anemia of chronic Disease- ACD), (**Annexe 5**).

Le test est fondé sur la technique d'immunodosage sandwich en utilisant deux anticorps monoclonaux spécifiques pour le Rs-Tf. Les échantillons ou les standards sont pipetés dans des puits d'une plaque de microtitrage pré-enduite d'un anticorps monoclonal de capture qui immobilise le Rs-Tf dans les puits. Après avoir éliminé toute protéine non liée à l'anticorps par lavage, le second anticorps monoclonal anti-Rs-Tf conjugué à la peroxydase de raifort est ajouté. L'anticorps conjugué complète le sandwich. L'excès d'anticorps conjugué est éliminé par lavage ; la quantité de conjugué restant dans les puits est proportionnelle à la quantité de Rs-Tf initialement capturé. La quantité d'enzyme conjugué dans les puits est mesurée par incubation avec un substrat chromogénique.

Procédure du test

Amener tous les réactifs et échantillons à température ambiante avant utilisation. Il est fortement recommandé de mesurer les échantillons et standards en double.

- 1.** Préparer tous les réactifs comme indiqué auparavant (**Annexe 5**) .
- 2.** Enlever les barrettes inutiles de la plaque de microtitrage, remettez- les dans la pochette en aluminium contenant le sachet de gel de silice. Renfermer la pochette.
- 3.** Ajouter 100 µl de diluant de dosage Rs-Tf dans chaque puits

4. Ajouter 20 µl de standard, d'échantillon ou de contrôle dans chaque puits. Assurez-vous que l'addition soit ininterrompue et terminée en 15 minutes. Tapoter légèrement le côté de la plaque afin de mélanger le contenu des puits. Recouvrez avec une feuille adhésive fournie. Incuber pendant 1 heure à Température ambiante (18-25°C).
5. Aspirez ou versez le contenu de chaque puits et lavez en répétant le processus 3 fois, soit un total de 4 lavages. Laver chaque puits avec un laveur automatique (**Figure 9**). L'élimination complète du liquide à chaque étape est essentielle au succès. Après le dernier lavage, assurez-vous qu'il ne reste plus le tampon de lavage dans les puits en aspirant ou en retournant la plaque sur du papier absorbant pour le sécher.
6. Ajouter 100 µl du sTfR conjugué dans chaque puits. Recouvrir avec une nouvelle feuille adhésive. Incuber pendant 1 heure à Température ambiante (18-25°C).
7. Répéter l'aspiration/ le lavage comme dans l'étape 5.
8. Ajouter 100 µl de solution substrat dans chaque puits. Incuber pendant 30 min à Température ambiante (18-25°C). Eviter d'exposer la plaque à la lumière directe.
9. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits. Si le changement de couleur n'apparaît pas uniforme, remuer délicatement la plaque pour mélanger correctement.
10. Déterminer la densité optique de chaque puits dans un délai de 30 minutes, en utilisant un lecteur de plaque à 450 nm (**Figure 8**). Si une correction de longueur d'onde existe, réglez-le à 540 ou 570 nm.

- **Résumé de la Procédure du test**

1. Préparer tous les réactifs
comme indiqué auparavant (Annexe 5)



2. Ajouter 100 µl de diluant de dosage
sTfR dans chaque puits.



3. Ajouter 20 µl de standard, d'échantillon ou de témoin dans chaque puits.
Assurez-vous que l'addition soit ininterrompue et terminée en 15 minutes.
Incuber pendant 1hr à TA (18-25°C).



4. Aspirer et laver 4 fois.



5. Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits.
Incuber pendant 1hr à TA (18-25°C).



6. Aspirer et laver 4 fois.



7. Ajouter 100 µl de solution substrat dans chaque puits.
Incuber pendant 30 min à TA (18-25°C).



8. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits.
Lire à 450 nm en 30 min. La correction I est 540 ou 570 nm

II.2.2.5. Calcul de l'index Rs-Tf-F

L'index Rs-Tf-F représente le rapport entre la concentration du récepteur soluble de la transferrine en mg/L et le logarithme décimale de la concentration de la ferritine en µg/L :

$$Rs-Tf-F = Rs-Tf (mg/L) / \text{Log} [Ferritine (\mu g/L)]$$

$Rs-Tf-Fmax = Rs-Tfmax / \text{Log}(\text{Ferritinemax}) \rightarrow 5 / \text{Log}(400) = 1,92 \approx 2$ chez l'homme.

$Rs-Tf-Fmax = Rs-Tfmax / \text{Log}(\text{Ferritinemax}) \rightarrow 4,4 / \text{Log}(150) = 2,02 \approx 2$ chez la femme.

Où :

$Rs-Tf \text{ max} = 5$ et $Rs-Tf \text{ max} = 4,4$: représente la limite supérieure de l'intervalle des valeurs normales du $Rs-Tf$.

$\text{Ferritine max} = 400$ et $\text{Ferritine max} = 150$: représente la limite supérieure de l'intervalle des valeurs normales de la ferritine

III. Les marqueurs biologiques de l'état nutritionnel

S'il n'existe aucun marqueur spécifique de la dénutrition, l'utilisation de l'albumine et du pré albumine reste à ce jour la meilleure appréciation biologique de la dénutrition.

III.1. Dosage de l'albumine

C'est le marqueur nutritionnel le plus utile. C'est le seul marqueur biologique fiable, concluant à une augmentation de la morbidité pour des concentrations inférieures à 35 g/L. L'albumine est la protéine sérique la plus abondante, responsable pour 80 % de la pression oncotique. Sa vitesse de synthèse hépatique est assez lente, 150 mg/kg/j. Son compartiment échangeable est volumineux et la fraction extravasculaire représente 60 % de sa masse totale. Elle est catabolisée au niveau du tractus digestif, du rein et du foie. Sa concentration sérique normale est comprise entre 35 et 50 g/L. Une albuminémie inférieure à 30 g/L signe une dénutrition protéique sévère. L'albuminémie, isolément, est impropre à suivre les situations rapidement fluctuantes, mais reste l'élément de référence des évolutions à long terme, sa demi-vie biologique étant de 20 jours.

Une insuffisance hépatocellulaire, des fuites glomérulaires ou digestives peuvent générer une hypoalbuminémie de même qu'un syndrome inflammatoire. Leurs fluctuations doivent être interprétées au cours des syndromes inflammatoires en tenant compte des protéines plus spécifiques du syndrome inflammatoire comme la C Réactive protéine (CRP).

- L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé.

L'albumine (valeurs usuelles : 3,5 à 5 d/dL chez la femme enceinte) a été mesuré par colorimétrie au Vert de bromocrésol (SPINREACT), (**Annexe 6**).

- Dans le premier temps un volume de 10 µl de l'échantillon (plasma) est ajouté à 2000 µl de réactif RT (Bromcresol vert pH = 4,2 à 0,12 mmol/L) dans la cuvette réactionnelle.
- Le mélange est incubé pendant 10 min à température ambiante.

III.2. Dosage de la préalbumine

La prealbumine ou transthyrétine est dosé par un turbidimétrique quantitative dans le sérum ou le plasma humain.

Les anticorps anti-Préalbumine mélangés avec des échantillons contenant la préalbumine, forment des complexes insolubles. Ces complexes provoquent un changement d'absorbance, en fonction de la concentration de la préalbumine de l'échantillon du patient, qui peut être quantifiée par comparaison à partir d'un calibrateur de la concentration de préalbumine (**Annexe 7**).

Importance clinique

La préalbumine est synthétisée dans le foie et participe au transport de la T3, de la T4 et de la vitamine A. ayant une demi-vie extrêmement courte, la détermination quantitative de ces concentrations sériques permet une évaluation plus adéquate et exacte de la malnutrition en protéines ou d'un dysfonctionnement du foie que la transferrine ou l'albumine. C'est une protéine très sensible de phase aiguë négative dont les concentrations faibles sont liées à une inflammation, à une affection maligne, une cirrhose du foie et à des maladies protéiques du tube digestif ou des reins.

Les concentrations de préalbumine diminuent également pendant les périodes de malnutrition calorique/protéique ; ainsi, lors de réactions inflammatoires liées à une malnutrition, la chute des concentrations est nette et rapide.

Des concentrations faibles de préalbumine sont également associées à une fibrose kystique, à une maladie chronique et à certaines formes d'amyloïdose héréditaire. Elle permet d'identifier les fluctuations rapides du statut nutritionnel.

- Préparer les dilutions PROT CAL suivants : Na CL 9 g / L comme diluant. Multiplier la concentration du calibre pré-albumine par le facteur correspondant indiqué dans le tableau ci-dessous pour obtenir la concentration de la préalbumine de chaque dilution.

Calibration dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrateur (µL)	--	10	25	50	75	100
Na Cl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

III.3. Dosage de la protéine C-réactive (CRP)

La protéine C réactive est la protéine la plus spécifique du syndrome inflammatoire. Les variations de la CRP sont rapides (< 24 heures), son taux plasmatique (Nle < 6 mg/l) s'élève très rapidement en cas d'inflammation.

Le dosage de la CRP se fait à partir de sérum par la technique d'immuno agglutination associée à des dilutions sériées de deux en deux, en utilisant un antisérum contenant des anticorps anti-CRP fixés sur des particules de latex.

Le kit SPINREACT, S.A.U., Ctra. Santa Coloma, 7 E-17176, Sant Esteve de Bas, G1, Spain nous a permis de doser la CRP par un dosage qualitatif (**Annexe 8**).

Les particules de CRP-Latex sont recouvertes d'anticorps anti-CRP humaine. Le réactif CRP-latex est standardisé pour détecter des taux de CRP dans le sérum aux environs de 6 mg/L, taux considéré comme étant la plus petite concentration ayant une signification clinique. Le

mélange du réactif latex avec le sérum contenant la CRP conduit à une réaction antigène-anticorps qui se traduit par une agglutination facilement visible dans les 2 minutes.

La présence ou l'absence d'agglutination visible indique la présence ou l'absence de CRP dans le spécimen, (**Annexe 8**).

- 50 µL du sérum est mis sur un cercle de la plaque de test, une goutte de contrôle positif sur un autre cercle, et une goutte de contrôle négatif sur un troisième cercle de la plaque de test. Une goutte (50 µL) de réactif CRP-latex est ajoutée sur les cercles de la plaque de test. Les gouttes sont mélangées par une strie, en utilisant toute la surface de cercle, et en utilisant une différente strie pour chaque sérum et un mouvement de rotation est réalisé à la plaque ; ensuite l'agglutination est examinée pendant une période n'excédant pas 2 minutes.
- La présence d'agglutination indique une concentration de CRP supérieure ou égale à 6 mg/L. Pour calculer la concentration de CRP dans la méthode semi-quantitative, on multiplie la valeur de la grande dilution par le seuil de détection (6 mg/L).

III.4. Dosage de l'orosomucoïde ou L'alpha-1-glycoprotéine acide (AGP)

L'alpha-1-glycoprotéine acide (AGP) ou orosomucoïde est une glycoprotéine très riche en résidus glucidiques et plus particulièrement en acide sialique, ce qui lui confère un point isoélectrique très acide. L'AGP est l'une des glycoprotéines les mieux caractérisées, ce qui contraste avec les incertitudes quant à sa fonction biologique exacte. Cette protéine représente un marqueur typique de l'inflammation, avec une élévation d'un facteur 3 à 4 après le stimulus inflammatoire, et un pic d'augmentation observé 3 à 5 jours après ce stimulus. Son dosage, réalisé par immunoturbidimétrie, est surtout utile, en association avec la protéine C réactive (CRP), dans le diagnostic et la surveillance du traitement des infections bactériennes, (**Annexe 9**).

- Préparer les dilutions PROT CAL suivantes Na Cl 9 g / L en tant que diluant. Multiplier la concentration de l'α1-Ac Glycoprotéine calibrateur par le facteur correspondant indiqué

dans le tableau ci-dessous pour obtenir la concentration de l' α 1-glycoprotéine de chaque dilution.

Calibration dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrateur (µL)	--	10	25	50	75	100
Na Cl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

III.5. Calcul du Prognostic Inflammatory Nutritional Index (PINI)

L'index pronostique inflammatoire et nutritionnelle ou PINI regroupe au sein d'un même rapport L'albumine, la pralbumine, l'orosomucoïde, et la CRP. Il est proposé pour évaluer le statut nutritionnelle et inflammatoire d'un sujet qui associé ou non à un état de dénutrition avec un syndrome inflammatoire.

Les concentrations des protéines dites nutritionnelles étant influencées par un syndrome inflammatoire, Ingenbleek et Carpentier [53], ont proposé de corriger les fluctuations de ces protéines par les variations de protéines plus spécifiques du syndrome inflammatoire comme la C.R.P. et l'orosomucoïde. Ils ont ainsi proposé un index, le P.I.N.I. ou *prognostic inflammatory and nutritional index*

$$\text{P.I.N.I.} = \frac{\text{C.R.P. (mg/L)} \times \text{orosomucoïde (mg/L)}}{\text{Albumine (g/L)} \times \text{Transthyrétine (mg/L)}}$$

Normalement le P.I.N.I. est voisin de l'unité. C'est un index pronostique qui permet de déterminer des groupes de dénutris :

PINI : < 1 non dénutri

PINI : 1-10 Faible risque

PINI : 11-20 Risque modéré

PINI : 21-30 Risque élevé

PINI: >30 Risque vital

IV. Exploitation statistique des résultats

L'exploitation statistique des résultats a été effectuée par le logiciel STAT-VIEW (1998). Les méthodes statistiques utilisées sont l'ANOVA test, le calcul des coefficients de corrélation (test de corrélation R). Pour la description de notre échantillon, nous avons utilisé la statistique description complète pour la moyenne, la déviation standard (écart-type) et la fréquence. Les moyennes ont été comparées en utilisant le test de Student.

Une P-value ($P < 0.05$) est considérée comme statistiquement significative, toutes les valeurs P sont calculées par la fonction t-test utilisant la distribution bilatérale.

**PARTIE III : RESULTATS ET
DISCUSSION**

I. Résultat de l'enquête épidémiologique

Au cours de notre première partie d'étude allant de Janvier 2011 à Janvier 2012, 10200 accouchements ont été enregistrés à l'EHS en Gynécologie-Obstétrique de Sidi Bel Abbés, dont la fréquence des naissances vivantes a été de 10008 soit 98.11 %. Parmi ceux-ci 554 soit 5.53% ont été de faible poids de naissance.

I.1. Caractéristiques générales de la mère et de la grossesse

Nos patientes sont âgées de 16 à 46 ans. Les résultats statistiques ont révélé que la plupart d'entre elles, donc 74.05% étaient âgées entre 20 et 34 ans. Le groupe âgé de <20 ans est le moins représenté avec 3.82 %. La parité moyenne était de 1.42 ± 1.41 et 80.68 % des femmes étaient des primipares.

- L'âge de la mère varie entre 16 et 46 ans. L'âge moyen de la mère se situe à 26.77 ± 6.44 ans et l'âge médian est de 26 ans. Selon l'âge de la mère au moment de l'accouchement 3.83 % (383 mères) sont âgées de moins de 20 ans, 74.05 % (7411 mères) sont âgées de 20 à 34 ans et 22,12 % (2214 mères) sont âgées de plus de 35 ans, cette différence est statistiquement significative ($p < 0.0001$).
- La parité moyenne est de 1.42 ± 1.41 et la parité médiane se situe à 1 avec une parité minimale de 0 et une parité maximale de 13. Concernant la répartition des mères selon la parité, 80.68 % (8075 mères) sont des primipares, 16.09 % (1610 mères) sont des paucipares (parité 3 - 4) et 3.23 % (323 mères) sont des multipares (parité ≥ 4), cette différence n'est statistiquement pas significative ($p = 0.4467$).
- La gésité moyenne est de 2.43 ± 1.62 et la gésité médiane se situe à 2 avec une parité minimale de 0 et une parité maximale de 6. Concernant la répartition des mères selon la gésité, 60.19 % (6024 mères) sont des primigestes, 29.36 % (2938 mères) sont des paucigestes (gésité 3 - 4) et 10.45 % (1046 mères) sont des multigestes (gésité > 4), cette différence n'est statistiquement pas significative ($p = 0.6243$).

- L'âge gestationnel varie entre 27 et 42 semaines d'aménorrhée (SA). En ce qui concerne la répartition des mères selon l'âge gestationnel, 6,46 % (645 mères) ont un âge gestationnel inférieur à 37 SA et 93.54% (9335 mères) ont un âge gestationnel supérieur ou égal à 37 SA. Cette différence n'est statistiquement pas significative ($p = 0.9110$).
- Notre étude a révélé que la majorité des parturientes résident dans la wilaya Sidi Bel Abbés (5511 mères) soit un pourcentage de 55.07 %, et le reste (3167 mères) dont 31.64 % proviennent ou sont évacuées en urgence de leur établissement des villages voisins (Sfisef, Ain el berd, Telagh, Telmouni etc.). On a recensé pareillement 1330 femmes enceintes (13.29 %) en provenance des autres villes principalement de l'ouest (Oran, Tlemcen, Tiaret, Sig, Ain Temouchent, Mascara...etc.). Cette différence n'est statistiquement pas significative ($p = 0.8553$).
- Concernant les pathologies les plus répondu chez nos parturientes, l'hypertension artérielle et les autres maladies tels que l'Appendicectomie, la myopie, le goitre, ainsi que des ablations du sein, viennent en tête avec approximativement 32.44% (304 mères), suivie de l'anémie ferriprive avec un taux de 12.27 % (115 mères), puis du diabète gestationnel avec 102 mères soit 10.89 % des cas. Cette différence n'est statistiquement pas significative ($p = 0.4266$). (304 mères), suivie de l'anémie par carence en fer avec un taux de 12.27 % (115 mères), puis du diabète gestationnel avec 102 mères soit 10.89 % des cas. Cette différence n'est statistiquement pas significative ($p = 0.4266$).

I.2. Répartition des poids de naissance des nouveaux nés selon les caractéristiques de la mère, et de la grossesse

La proportion des nouveau-nés de faible poids de naissance est la plus élevée dans la tranche d'âge maternel entre 20 et 34 ans (71.84%), contre 3.79 % et 24.37 % respectivement pour les tranches d'âge de moins de 20 ans et \geq à 35 ans. Cette différence est statistiquement significative ($p < 0,001$), (**Tableau 4**).

Le pourcentage des nouveau-nés de faible poids de naissance est la plus élevée chez les primipares (81.41%), contre 14.98 % et 3.61 % respectivement chez les paucipares et chez les multipares, cette différence est statistiquement significative ($p < 0,0001$). La comparaison des primipares aux mères paucipares et multipares montre que la proportion de nouveau-nés de faible poids de naissance est également élevée chez les primipares (81.41%), contre 18.59 % chez les paucipares et multipares. Cette différence est statistiquement significative ($p < 0,0001$).

Notre étude montre que le pourcentage du poids moyen augmente au fur et à mesure que la gésité (**Tableau 4**). Cette différence est statistiquement significative ($p < 0,0001$) chez les primigestes et les paucigestes et, n'est pas significative chez les multigestes ($p = 0.1794$).

La proportion des nouveau-nés de faible poids de naissance est plus élevée (50.90 %) chez les mères ayant un âge gestationnel inférieur à 37 semaines d'aménorrhée (SA), contre 49.10 % chez les mères ayant un âge gestationnel supérieur ou égal à 37 SA. Il y a une association positive entre l'âge gestationnel inférieur et le faible poids à la naissance et cette association est statistiquement significative ($p < 0,0001$). En outre, sur les 554 nouveau-nés de faible poids de naissance, 50.9 % (282 nouveau-nés) sont des prématurés.

La hauteur utérine moyenne chez nos parturientes est de $32.04 \pm 2,56$ cm et sa valeur médiane est de 32 cm, avec un minimum de 2 et un maximum de 97cm.

On rapporte que la proportion des nouveau-nés de faible poids de naissance est seulement de 91/554 cas, soit 8.12 % chez les mères qui ont présenté une hypertension artérielle qui est prédominante sur les autres maladies. Notre étude révèle une forte corrélation entre les pathologies de la mère comme l'anémie ferriprive et le faible poids de naissance. Cette relation est hautement significative ($p < 0,0001$).

Tableau 4: Répartition des poids de naissance selon les caractéristiques de la mère, de la grossesse

Variable	Nouveau née de faible poids de naissance	Nouveau née de poids normal	Valeur de p
<i>Age de la mère (Ans)</i>	Nombre (%)	Nombre (%)	
< 20	21 (3,79)	362 (3,83)	0.005
20-34	398 (71,84)	7013 (74,18)	0.001
>=35	135(24,37)	2079(21,99)	0.006
<i>Parité</i>			
Primipare	451 (81,41)	7624 (80,64)	0.0001
Paucipare	83 (14,98)	1527(16,15)	0.0413
multipare	20(3,61)	303(3,20)	0.094
<i>Gestité</i>			
Primigeste	342(61,73)	2682(60,10)	0.0001
Paucigeste	141(25,45)	2797(29,58)	0.0004
Multigeste	71(12,82)	975(10,31)	0.1794
<i>Age gestationnelle</i>			
< 28	7(1,26)	6(0,063)	0.0001
28-32	86(15,53)	27(0,28)	0.0577
32-36	189(34,11)	343(3,63)	0.0001
>= 37	272(49,10)	9053 (95,76)	0.0001
<i>Hauteur utérine</i>	517 (93,32)	8859 (93,71)	0.0001
<i>Lieu de résidence</i>			
Urbain	269(48,55)	4867(51,48)	0.2394
Rurale	195(35,20)	2951(31,21)	0.3605
<i>Pathologie de la mère</i>			
Anémie ferriprive	11(1,98)	104(1,10)	0.0001
Hypertension artérielle	45(8,12)	259(2,74)	0.0002
Diabète	9(1,62)	93(0,98)	0.0605
Autres maladies	25(4,51)	278(2,94)	0.0033

I.3. Caractéristiques du poids de naissance

Le poids de naissance varie entre 900 g et 5700 g. Le poids de naissance moyen global est de 3378.55 ± 520.47 g et le poids médian est estimé à 3400g. 90.79 % des nouveau-nés ont un poids qui varie entre 1500- 2499 g, et 8.84% ont un poids qui se situe entre 1000-1499 g, alors que le pourcentage de faible poids inférieur à 1000 g est de 0.36 % (**Figure 10**).

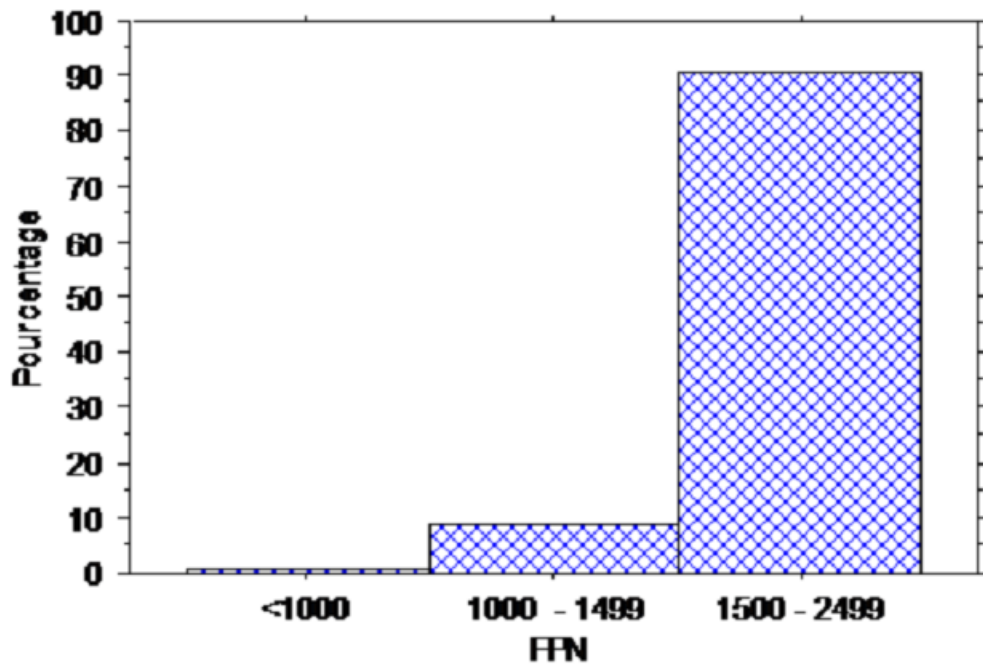


Figure 10 : Distribution en fréquences du faible poids de naissances des nouveau-nés

II. Résultats de la deuxième partie

II.1. Description de notre échantillon

Notre deuxième partie d'étude a porté sur un échantillon constitué de 192 femmes enceintes; dont l'âge moyen est de $(29,0 \pm 11,0)$ ans). L'âge gestationnelle a été définie par le nombre de semaine d'aménorrhée (SA): on remarque que 57 femmes sont au 1^{er} trimestre de grossesse (< 15 SA), 70 femmes sont au 2^{ème} trimestre (16-28 SA) et 65 femmes sont au 3^{ème} trimestre (≥ 37 SA).

II.2. Répartition des femmes enceintes en fonction de l'âge

Nos patientes sont âgées de 18 à 44 ans. Les résultats statistiques ont révélé que 121 patientes (65,02 %) ont un âge compris entre 20 et 34 ans et que 39 (20,313%) sont âgées de moins de 20 ans, tandis que le groupe de femmes de plus de 35 ans est le moins représenté (Figure 11).

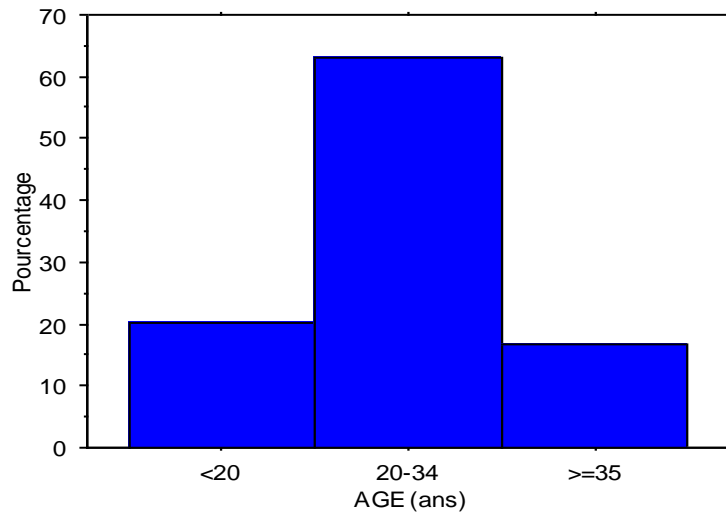


Figure 11 : Répartition des femmes enceintes en fonction de l'âge

II.3. Répartition des femmes enceintes en fonction de L'intervalle intergénésiq

Concernant l'intervalle intergénésiq, notre résultat montre que les femmes ayant un intervalle intregénésiq supérieur à 24 mois présentent des pourcentages prédominant (63,021%). Alors que des pourcentages moyens sont enregistrées entre 12-24 mois soit (31,250 %). Cependant le faible pourcentage est mentionné chez les femmes avec un intervalle intergénésiq inférieure à 12 mois soit (5,729%) (**Figure 12**).

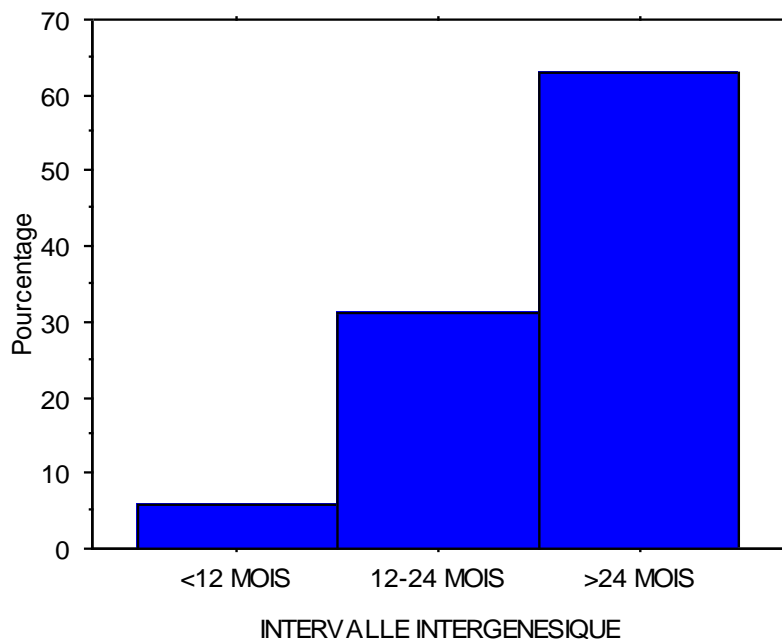


Figure 12 : Répartition des femmes enceintes en fonction de l'intervalle intergénésiq

II.4. Répartition des femmes enceintes en fonction du nombre d'enfants vivants (parité)

On a remarqué la prédominance des femmes enceintes primipare 98 (51,042 %), alors que les multipare sont de 78 cas soit (40,625 %), Alors que les femmes grandes multipares représentent un faible pourcentage (8,333 %), (**Figure 13**).

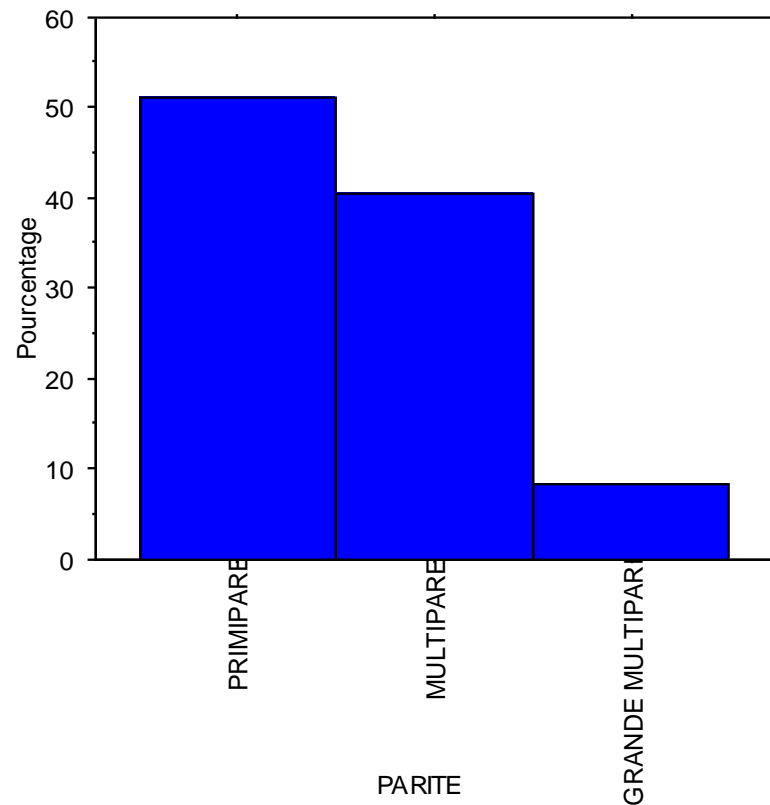


Figure 13 : Répartition des femmes enceintes en fonction de la parité

II.5. Caractéristiques du groupe d'étude en fonction du niveau d'instruction, de la profession, de la supplémentation en fer

Nous avons remarqué une prédominance des femmes enceintes avec un niveau d'instruction primaire et moyen presque aux mêmes degrés qui est respectivement de (30,208 % et 29,167 %), suivie des femmes à niveau d'instruction secondaire de (16,146 %), et que seulement 26 (13,542 %) ont eu accès à l'enseignement supérieur. Alors que les femmes illettrées représentent un faible pourcentage (10,938 %), (**Figure 14**).

Cent trente femmes enceintes (soit 67,708 %) impliqués dans cette étude avaient reçu une supplémentation en fer par voie orale. Le tableau montre également que le pourcentage

est significativement plus élevée ($P < 0,05$) chez les femmes enceintes sans emploi 130 (67,708 %) comparé avec celle qui ont un emploi rémunéré (32,292 %), (**Tableau 5 et dans la figure 14**).

Tableau 5: Caractéristiques du groupe d'étude en fonction du niveau d'instruction, de la profession, de la supplémentation en fer

Variables	Groupe d'étude (n=192)
<i>Niveau d'instruction</i>	
Illettré	21(10,938)
Primaire	58(30,208) **
Moyen	56 (29,167) **
Secondaire	31(16,146)
universitaire	26 (13,542)
<i>Profession de la mère</i>	
Oui	61 (31,771)
Non	131 (68,229) ***
<i>Supplémentation en fer</i>	
Oui	130 (67,708) ***
Non	62 (32,292)

Les valeurs sont exprimées en tant que nombre (%).

** valeur significativement plus élevé ($p < 0,05$) par rapport à ceux de l'enseignement primaire et moyen

* valeur significativement plus élevé ($p < 0,05$) par rapport à ceux qui ont été utilisés.

*** valeur significativement plus élevé ($p < 0,05$) par rapport à ceux qui ont reçu une supplémentation en fer.

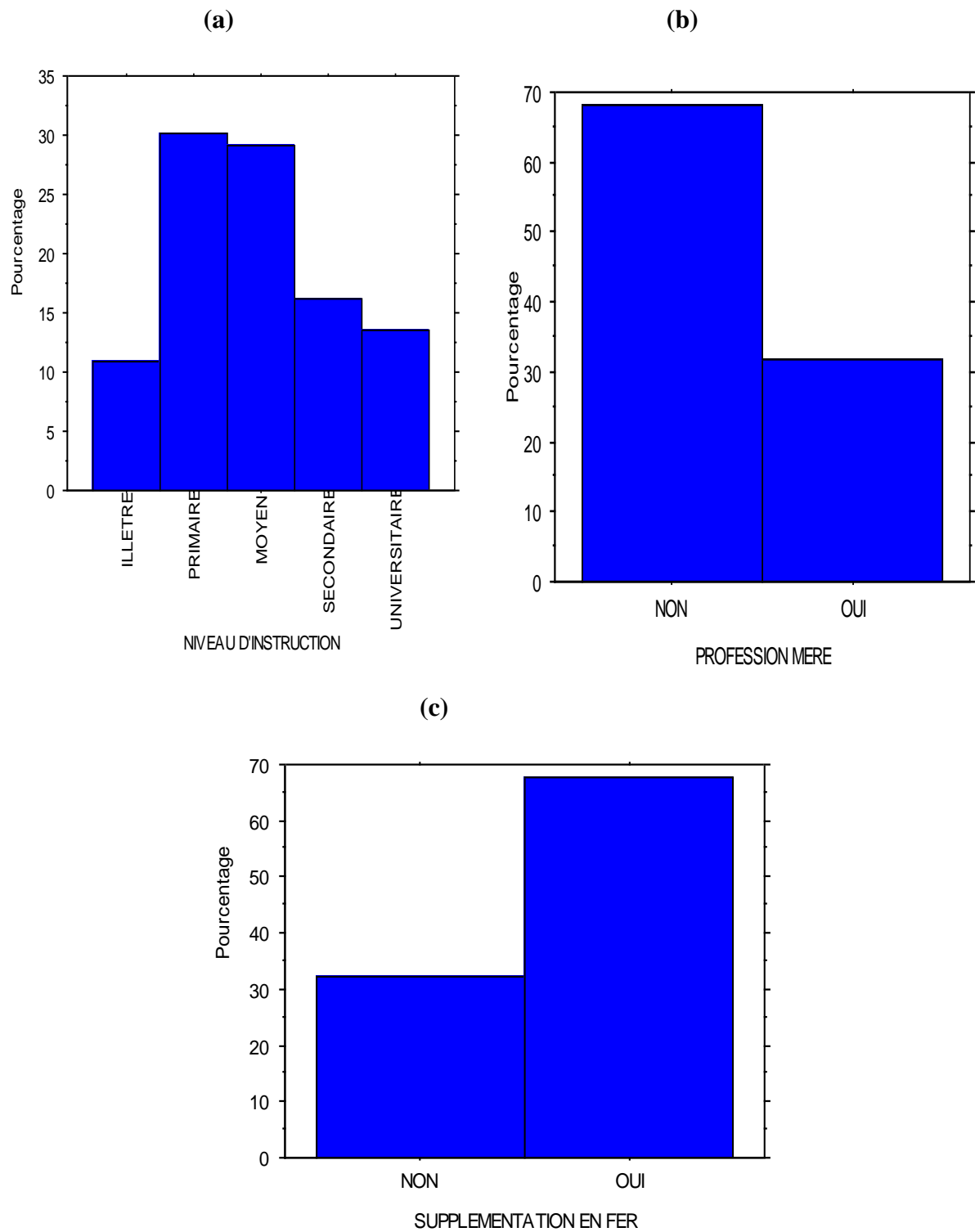


Figure 14: répartition de l'ensemble de l'échantillon (n= 192) en fonction de niveau d'instruction (a), de la profession (b), de la supplémentation en fer (c).

II.6. Caractéristiques de la population d'étude en Fonction des paramètres biologiques

II.6.1. Répartition de l'ensemble de l'échantillon en fonction des concentrations de la ferritine et du RsTf comme marqueurs

La prévalence des femmes enceintes qui souffrent d'anémie par carence en fer est évaluée indépendamment de la ferritine sérique (<12 ng / ml) et du récepteur soluble de la transferrine (> 2.4 ug / ml) par rapport à l'hémoglobine (11g / dL). Le résultat est présenté dans le tableau 4.

Les résultats montrent que par l'utilisation du récepteur soluble de la transferrine comme un nouveau marqueur, la prévalence de l'anémie par carence en fer était plus élevée 32 (22,0%). Alors on se basant sur la ferritine sérique la prévalence était moindre soit 25 (17,00%). Cette différence est statistiquement significative (P <0,05). Le tableau montre également que 17,20 % des femmes enceintes ne présentent pas d'anémie par carence en fer, tandis qu'elles sont franchement anémiques avec le récepteur soluble de la transferrine.

Tableau 6 : Prévalence de l'anémie ferriprive en utilisant la ferritine et le RsTf comme marqueurs

Ferritine sérique n =192	25 (17,00 %)*
Rs-Tf n = 192	32 (21,00 %)*
% des femmes enceintes sans AF utilisant la FS, mais présente une AF avec le Rs-tf (n=32)	32 (17,20 %) **
% de femmes enceintes avec AF en utilisant les deux marqueurs la FS et le Rs-Tf (n=32)	25(80,80 %) **

*Différence statistiquement significative en comparaison avec le Rs-Tf (P< 0.05)

** Différence statistiquement significative (P< 0.05)

AF : anémie ferriprive ou par carence en fer, FS :Ferritine sérique, Rs-Tf : récepteur soluble de la transferrine.

II.6.2. Répartition de l'ensemble de l'échantillon en fonction de tous les Bilans Biologiques étudiés

Le **Tableau 7** présente toutes les caractéristiques biologiques des parturientes.

- Nos résultats soulignent que 99 patientes soit (34,9 %) avaient un taux d'Hb compris entre 11-13 g/dl. Un taux d'Hb en dessous de 11 g/dl a été retrouvé chez 93 patientes soit (48,44%).
- D'après notre travail, est conformément aux recommandations de l'OMS définissant l'anémie par un taux d'Hb en dessous de 11 g/dl chez la femme enceinte au 1^{er} et 3^{ème} trimestre et < 10,5 g/dL au 2^{ème} trimestre de grossesse, nous avons relevé 54 patientes anémiques soit 28,12 %.
- Le fer sérique n'a pas été analysé car la plupart des auteurs considèrent qu'il ne présente pas d'intérêts pour le diagnostic de la carence martiale. Il est sujet de nombreuses variations quotidiennes individuelles, et sa diminution peut être le fait non seulement d'une carence en fer mais aussi d'une inflammation.
- Le taux de la transferrine est relativement bas (1,492 g/L) dans notre échantillon comparé aux références (2,0 - 4,0 g/L). Son augmentation constitue un marqueur de la carence martiale mais sa sensibilité est habituellement faible inférieure à 50% [45].
- Dans notre étude la valeur moyenne de la ferritine est de 52,350 ug/l. Son interprétation est rendue difficile par les nombreux facteurs qui l'influencent particulièrement le syndrome inflammatoire attesté ici par une valeur de CRP moyenne de 11,54 mg/l et d'orosomucoïde de 0,23 g/l. Cela remet en cause la fiabilité de ce paramètre.
- La valeur moyenne du Rs-Tf retrouvée dans cette étude est de 2,27 ug/ml, qui est parfaitement dans les normes de notre kit Quatikine IVD- R&D systems.

Tableau 7 : caractéristiques de toutes les parturientes en Fonction des paramètres**Biologiques étudiés**

Variables	Moyennes ± ES	Médiane	Valeurs extrêmes	Valeurs de Référence
Rs-Tf (ug/mL)	0.735±0.53	2,273	3,750	0.87-2.81
Ferritine (ug/L)	6,902±0.498	52,350	52,350	20-110
Hb (g/dL)	11,150±0.83	11,087	13,100	11-16
Albumine (g/L)	4,043±0.292	40,032	54.000	35-50
Préalbumine (g/dL)	0.050±0.004	0.215	0.310	0.20-0.40
Transferrine (g/L)	1,492±0.108	3,727	9,680	2,0-4,0
CRP (mg/L)	11,544±0.833	9,438	72,000	<= 6
Orosomucoïde (g/L)	0.231±0.017	0,682	1,3000	0.5-1.20

II.7. Calculs de l'index de PINI (prognostic inflammatory and nutritional index) chez nos patientes

Afin de vérifier l'utilité de cet index, nous l'avons appliquée au suivie de nos parturientes, pour décider de l'absence ou non d'un syndrome inflammatoire, nous avons choisi la norme traditionnelle de 06 mg/l pour la CRP et celle de 0,97 g/l pour l'orosomucoïde. Nous constatons que 25 % des patientes présentaient un léger syndrome inflammatoire qui n'a pas entraîné de manifestations cliniques. Il n'a pas eu de répercussion sur le taux de ferritine ($p : 0,22$) et de Rs-Tf ($p : 0,56$). Le taux d'albumine est inférieur aux valeurs de référence chez toutes les patientes et s'explique par un phénomène d'hémodilution. Le taux de préalbumine est $< 0,19$ g/l chez 35 % des patientes. Cette diminution a déjà été décrite dans plusieurs études. Elle serait due à des phénomènes d'hémodilution et à l'action des œstrogènes. L'index de PINI (*prognostic inflammatory and nutritional index*) déterminé à partir de l'orosomucoïde, de la CRP, de la préalbumine et de l'albumine (**Tableau 8**) est > 1 chez 30 % des parturientes en raison de cet abaissement physiologique.

Tableau 8 : Calculs de L'index de PINI chez notre groupe d'étude

Variables	Médiane	Valeurs extrêmes
PINI : Oroso (g/l) × CRP (mg/l)/albumine (g/l) × pré-albumine (g/dl)	0.50	< 1

II.8. Corrélation du Rs-Tf avec les autres paramètres biologiques

Pour estimer le degré de sensibilité du taux du Rs-Tf au statut martial, la corrélation entre les paramètres du bilan martial et le Rs-Tf a été évaluée et récapitulée dans le **Tableau 9**.

On remarque une excellente corrélation entre les principaux paramètres du bilan martial avec le Rs-Tf chez nos parturientes, tandis que le taux de ferritine est corrélé négativement avec le taux des RsTf (**Tableau 9**).

D'après notre groupe d'étude les valeurs absolues (r) sont $< 0,94$ avec une valeur ($P < 0,001$), ce qui indique la sensibilité élevée de ce paramètre au statut martial.

La corrélation est relativement moindre pour la totalité des paramètres ($P = 0,12$); ce qu'on peut expliquer par l'hétérogénéité de notre groupe d'étude (variabilité interindividuelle du taux de Rs-Tf très élevée).

On remarque aussi l'absence de corrélation entre le Rs-Tf et l'âge, ce qui exclut l'âge comme un facteur influençant les taux sérique de Rs-Tf dans cette population de femmes en période de gestation.

Les performances du diagnostic sont améliorées par le calcul de l'index Rs-Tf/Log(Ferritine). Ce rapport entre la concentration du Rs-Tf et le logarithme décimale de la concentration de la ferritine, implique ces deux paramètres en même temps qui reflètent le pool fonctionnel (les besoins) et le pool de réserve (les stocks) en fer respectivement.

Tableau 9 : Les corrélations (r) des principaux paramètres du bilan martial avec le Rs-Tf chez nos parturientes

Les variables	Corrélation	Valeur de P
Age (Ans)	- 0.05	> 0.01
Ferritine (ug/mL)	- 0.409	< 0.001
Hb (g/dL)	0.008	0.9148
Albumine (g/L)	0.064	0.3816
Préalbumine (g/L)	0.057	0.4295
Transferrine (g/L)	0.079	0.2767
CRP (mg/L)	- 0.042	0.5669
Orosomucoïde (g/L)	- 0.082	0.2559
Rs-Tf /Log(Ferritine)	0.99	0.4552

Les valeurs négatives du (r) indiquent une corrélation inverse ; les valeurs positives du (r) indiquent une variation dans le même sens.

II.9. Répartition de la concentration du Rs-Tf et des autres paramètres Biologiques étudiés en Fonction de l'âge Gestationnelle.

Quand les marqueurs sont évalués en fonction de l'âge gestationnelle, les femmes au 1^{er} trimestre de grossesse présentent un taux des Rs-Tf et de l'Hb des plus bas, comparé avec les concentrations sériques de la ferritine et des RsTf qui est significativement plus élevée ($p < 0.05$) au 2^{ème} trimestre de grossesse.

Nous avons mesuré le taux du Rs-Tf, et les marqueurs de fer, chez 192 parturientes apparemment en bonne santé. L'âge gestationnel a été déterminé par un examen échographique à partir de la date de la dernière période menstruelle.

Le premier trimestre a été défini à > 15 semaine d'aménorrhée, et le Deuxième trimestre comme 16-28 semaines d'aménorrhée, et le dernier trimestre de grossesse au ≥ 37 SA.

L'anémie est définie comme une hémoglobine <11 g /dL chez les femmes enceintes selon les critères de l'OMS.

Les changements dans les concentrations de Rs-Tf et marqueurs de fer pendant la grossesse normale sont résumés dans le tableau 1. La concentration Rs-Tf des femmes enceintes dans le

premier trimestre ne différait pas significativement de celui des femmes non enceintes ($P = 0,215$). Cependant, la concentration de Rs-Tf dans le deuxième trimestre de la grossesse a été significativement plus élevée que dans le premier trimestre de la grossesse ($P < 0,01$). La valeur moyenne Rs-Tf augmenté progressivement à partir du deuxième trimestre de la grossesse et a atteint la concentration maximale dans le troisième trimestre.

Nos données pour la concentration Rs-Tf pendant la grossesse sont en accord avec une autre étude montrant que la valeur de l'augmentation de Rs-Tf du début à la fin de la grossesse.

Cependant, des résultats contradictoires pour la concentration des Rs-Tf moyen des femmes enceintes dans le troisième trimestre ne différait pas de la concentration chez les personnes non enceintes et que les concentrations de Rs-Tf ne sont pas influencées par la grossesse en soi.

Ils ont indiqué que la concentration Rs-Tf des volontaires sains hommes et femmes était de 5,63 mg / L, qui diffère sensiblement de notre résultat pour les femmes non enceintes. Dans notre étude, nous avons sélectionné les femmes non enceintes dans le même groupe d'âge que les femmes enceintes, qui ne avaient pas la carence en fer, l'anémie ferriprive, ou l'histoire de la grossesse. Dans une étude précédente, la concentration moyenne des Rs-Tf chez les adultes sains était de 2,13 mg / L, ce qui est similaire à la valeur pour les femmes non enceintes dans la présente étude. Les différences entre nos études et cette dernière semblent provenir de l'utilisation de différentes méthodes pour le dosage de Rs-Tf et les différents âges dans le groupe témoin.

Les caractéristiques biologiques de la population étudiée en fonction de l'âge gestationnelle sont résumées dans le **tableau 10**.

**Tableau 10 : Concentration du Rs-Tf et des autres paramètres Biologiques étudiés en
Fonction de l'âge Gestationnelle.**

Age gestationnelle / Les variables	1 ^{er} trimestre	2 ^{ème} trimestre	3 ^{ème} trimestre
Nombre de cas	57	70	65
RsTf (ug/ml)	1,290±0,027*	2,821±0,046	3,545±0,048
Ferritine (ug/L)	30,924±0,453	42,320±0,480	28,903±0,263
Hémoglobine (g/dL)	10,876±0,162*	11,098±0,132	11,107±0,143
Albumine (g/L)	40,493±0,467	39,616±0,521	40,077±0,512
Préalbumine (g/L)	0,219±0,007	0,212±0,007	0,215±0,006
Transferrine (g/L)	3,654±0,174	3,897±0,206	3,608±1,378
CRP (mg/L)	9,263±1,576	9,771±1,404	9,231±1,387
Orosomucoïde	0.651±0.030	0.672±0.027	0.721±0.030

* Les différences dans les valeurs sont statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Les valeurs de ferritine, RsTf et Hb sont présentés en moyenne \pm écart type.

Il a été suggéré que la faible concentration de Rs-Tf en début de grossesse est provoquée par une érythropoïèse réduite, alors que l'augmentation de la concentration en fin de grossesse Rs-Tf reflète l'érythropoïèse augmentée.

En conclusion, nous avons constaté que les concentrations de Rs-Tf font présenter des changements liés à l'âge gestationnel pendant la grossesse: la valeur de Rs-Tf augmentait avec l'âge gestationnel pendant la grossesse et est retourné aux valeurs normales 12 semaines après l'accouchement. L'augmentation des concentrations de Rs- Tf pendant la grossesse semblent être plus influencé par l'augmentation de l'activité érythropoïétique que par l'épuisement de fer dans cette période.

Une corrélation franche a été noté entre les récepteurs soluble de la transferrine et la ferritine sérique ($r=0.408$).

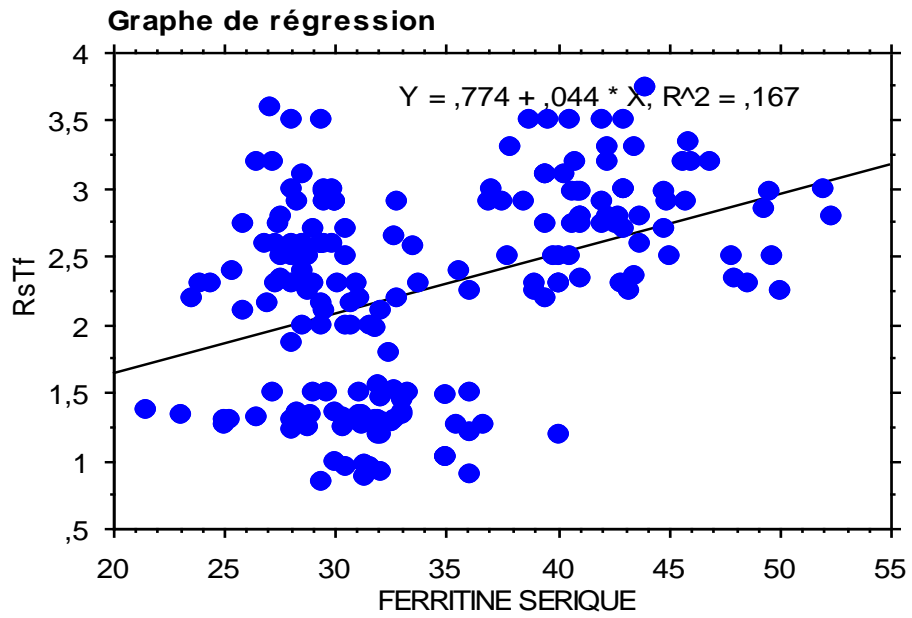


Figure 15 : Corrélation entre le taux de ferritine et de récepteurs solubles de la transferrine chez les patientes anémiques.

Discussion générale

La naissance de faible poids est relativement plus fréquente chez les femmes vivant dans des conditions défavorisées, et chez les groupes vulnérables, le faible poids est entre autres attribuable à des facteurs intermédiaires tels qu'une alimentation déficiente, causé notamment par une carence en fer.

Les chances de survie d'un nouveau-né sont étroitement associées à son poids à la naissance. La mortalité est plus élevée et les problèmes de santé physique sont plus fréquents chez les nourrissons de faible poids à la naissance (< 2 500 g) que chez ceux dont le poids à la naissance est normal [128-129].

Le taux d'incidence du faible poids de naissance dans notre région est de 5.53 % (554 nouveau-nés), ce qui est relativement élevée par rapport à la moyenne nationale chiffrée à 3.7 % en 2005 [130]. Plusieurs facteurs concourent à expliquer cette hausse. D'une part, le nombre de naissance prématurée et de faible poids de naissance a augmenté régulièrement, en partie du fait d'une plus grande utilisation des traitements contre la stérilité. D'autre part, le recul de l'âge de la maternité et le recours accru à des techniques d'accouchement telles que la provocation de l'accouchement et la césarienne, sont d'autres facteurs explicatifs.

Cette proportion de nouveau-nés de faible poids de naissance est presque analogue au taux trouvé par El Mhamdi et coll., (5,1 %) [131]. Cette valeur se rapproche plutôt des valeurs rapportés dans les études de plusieurs pays développés [129]. D'autre part, ce taux est minime comparé à celle de la maternité du centre de santé de Vélingara Sénégal (23,78%) et celles observées dans la plupart des hôpitaux de Tanzanie (12-18%) [132,133]. Nous avons trouvé une relation significative entre l'âge de la mère et le poids de naissance. Plus la mère est jeune, plus le poids de naissance est faible, plus elle court le risque de donner une naissance

de faible poids. Ce résultat est retrouvé dans plusieurs études [134-135] et une étude au Pakistan [136], celui de l'âge avancé n'est pas suffisamment élucidés [137, 138].

Selon la littérature, la primiparité est un facteur protecteur contre les issues fœtales défavorables et surtout le FPN [139] et l'augmentation de la parité est un facteur favorisant les issues défavorables de la grossesse chez la mère et le fœtus [140]. Dans notre série, la parité est relativement faible par rapport à d'autres pays en développement [140]. Plusieurs auteurs ont trouvé des résultats similaires particulièrement en ce qui concerne la primiparité [141-142] contrairement à SENGGA [135].

En ce qui concerne l'âge gestationnel, il a été constaté que l'âge gestationnel inférieur à 37 SA constitue l'un des facteurs le plus fortement associé au faible poids de naissance ($p < 0.0001$), cette constatation rejoint celles rapportées par d'autres auteurs [142-143].

La prématurité est l'une des deux principales causes de faible poids à la naissance. Par ailleurs, la proportion des prématurés parmi l'ensemble des naissances est de 6.57 % (658 sur 10008), ce qui est supérieure à celle trouvée par Letaief M. et coll. à Monastir (2%) [143]. En outre, il a été observé au cours de l'étude de l'âge gestationnel que 50.9 % (282 nouveau-nés) seulement des nouveau-nés de faible poids de naissance sont des prématurés, qui est bas comparés à ce qui se passe dans les pays développés où 70% environ des nouveau-nés de faible poids de naissance sont des prématurés [140]. L'hypertension artérielle isolée ou la toxémie gravidique sont des causes connues de faible poids de naissance [144-145], au cours de cette étude, il a été observé que la proportion des nouveau-nés de faible poids de naissance est élevée (8.12%) chez les mères présentant une HTA, contre 1.62%, chez les mères ayant du diabète gestationnel et de l'anémie par carence en fer.

Le poids moyen à la naissance de notre cohorte est de $3378,55 \pm 520,47$ g, ce qui est supérieur à ce que Razafitsalama M. et coll. ont trouvé qui a été successivement de 2.901 g , 2.962 g et 2.939 g [146], par contre, il est inférieur à ceux des pays développés qui varient de 3.460 à 3.486 gramme [147].

Notre deuxième partie d'étude a porté sur un échantillon de femmes enceintes (n=192)

toutes suivies au niveau de la maternité de Sidi Bel Abbès.

Nos patientes sont âgées de 18 à 44 ans. Les résultats statistiques ont révélés que 121 patientes (65,02 %) ont un âge compris entre 20 et 34 ans. Et que 39 (20,313%) sont âgée de moins de 20 ans, Tandis que le groupe de femmes de plus de 35 ans est le moins représenté.

Ces résultats se rapprochent avec ceux retrouvés dans la littérature. En effet plusieurs études [148, 149] ont trouvé une prédominance de l'anémie chez les patientes de moins de 35 ans.

D'abord au cap vert dans la ville de Porto Novo, l'étude sur l'association grossesse et anémie retrouve une prédominance de l'anémie chez les patientes âgée de 20 à 35 ans avec un taux de 66,13%.

Une étude de la prévalence de l'anémie dans la Wilaya de Blida, montre que chez les femmes enceintes réparties en trois groupes selon l'âge gestationnel (G1, G2, G3), on retrouve que dans le groupe 1 (premier trimestre) une prédominance de l'anémie chez les femmes de moins de 25 ans soit 16,6% contre 10% chez les femmes entre 25 et 35 ans et 3% seulement chez celles d'âge ≥ 35 ans . Dans le groupe 2, l'anémie prédomine chez la tranche d'âge comprise entre 25 et 35 ans avec 20% d'anémiques. Tandis que dans le dernier trimestre (G3), les femmes anémiques âgées entre 25 et 35 ans sont plus nombreuses avec 23% contre 17% chez les moins de 25 ans et 7% chez celles âgées de plus de 35 ans [49]

Enfin dans le Discret de Naplouse (Palestine), l'étude de la prévalence, la connaissance, et les attitudes et pratiques de l'anémie chez les femmes enceintes avait montré une nette prédominance chez les femmes dont l'âge était compris entre 25 et 35 ans avec un taux de 39,6 %, suivies des femmes jeunes âgées entre 16 et 25 ans avec 26,7 % et enfin les femmes âgées de plus de 35 ans, qui représentaient que 20 % de l'ensemble des anémiques [148].

Les femmes adolescentes sont plus à risque de développer l'anémie du fait qu'elles doivent satisfaire leurs besoins nutritionnels pour leur croissance en plus des besoins nutritionnels pendant la grossesse [148]

Dans notre étude les primipares présentent une prévalence élevée, soit 51,042 % suivi des

multipares avec une prévalence de 40,625 %.

Au CHU Ibn Rochd, l'étude était arrivée à conclure que les primipares étaient plus exposées par rapport aux multipares avec une prévalence de 65,48 % contre 29,08 % [149]. Cette étude est en parfaite concordance avec nos résultats.

En ce qui concerne l'effet de la supplémentation martiale sur l'âge gestationnel, Nos résultats révèlent qu'un traitement martial des femmes enceintes anémiques améliore le poids de naissance des nouveaux nés et la durée de la gestation. Ce qui corrobore avec une étude faite sur 513 femmes enceintes, qui a montré que la supplémentation en fer (30 mg /j) dès le premier trimestre améliore le poids des nouveau-nés et la durée de la gestation [125].

Cependant, une augmentation considérable dans le poids des nouveaux-nés chez des femmes recevant une supplémentation en fer a été observée dans plusieurs études [149]. Et selon les recommandations actuelles de l'OMS, les femmes enceintes doivent recevoir une supplémentation quotidienne de 60 mg de fer et 400 µg d'acide folique pendant toute la grossesse et les trois premiers mois du postpartum [1].

Il existe une dépendance très hautement significative du taux d'hémoglobine vis-à-vis de l'âge gestationnel [149].

On peut déduire de notre étude que le dosage des Rs-Tf soit supérieur au dosage de la ferritine dans le dépistage de la carence martiale en cours de grossesse, en absence de tout syndrome inflammatoire rendant la ferritine ininterprétable.

Dans une comparaison globale, le Rs-Tf a été évaluée par rapport à ferritine sérique et de l'hémoglobine, indépendamment de l'âge gestationnel. Toutes les femmes avec Rs-Tf > 8,5 mg / L, indiquant une carence en fer de tissu, avaient une concentration de ferritine sérique <8 mg / L.

Nos résultats sont cohérents avec les mécanismes de régulation du récepteur soluble de la transferrine. En effet, le Rs-Tf est directement proportionnel à la quantité totale de l'organisme en récepteur de la transferrine membranaire [66, 69] qui dépend d'une part, de la concentration intracellulaire du fer (principalement érythroblastique) déterminant la densité

membranaire en Rtf et d'autre part, de la quantité d'érythroblastes liée à l'activité médullaire [145].

Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de Li H et al. [25] qui ont montrés dans une étude multicentrique basée sur une grande population de patients hémodialysés traités, une corrélation négative entre le Rs-Tf et le CST ($r = -0,27$, $p < 0,05$) ainsi qu'avec la ferritine ($r = -0,29$, $p < 0,01$) [146].

Les fluctuations de l'érythropoïèse limitent l'utilisation du dosage des Rs-Tf chez la femme enceinte. Après l'accouchement, le taux des Rs-Tf diminue brusquement entre la première et la quatrième semaine du post-partum et il redevient comparable au taux d'avant grossesse après cinq semaines [150,151] et ces fluctuations devront également être prises en compte dans l'interprétation des résultats.

Le Rs-Tf n'est un paramètre de l'activité erythropoietique que lorsque les réserves de fer sont suffisantes. Si elles sont épuisées et s'il n'y a plus assez de fer disponible pour l'érythropoïèse, l'expression du récepteur de la transferrine est augmentée, tout comme la densité des récepteurs sur les précurseurs erythrocytaires. C'est ainsi que le Rs-Tf augmente proportionnellement aux besoins en fer. L'intérêt du Rs-Tf est que sa concentration n'est pas modifiée par l'existence d'un syndrome inflammatoire [152].

En revanche, les Rs-Tf permettent de quantifier la carence martiale à la différence de la ferritine dont le taux reste bas quelle que soit son importance [153, 154]. Ils permettent donc d'identifier de façon beaucoup plus précise les patientes dont la supplémentation en fer doit être particulièrement contrôlée.

Cette étude démontre une nouvelle fois que la carence martiale est la principale cause d'anémie pendant la grossesse [155, 156,157].

Il est interpellant de constater une fréquence étonnamment élevée de carence martiale dans une population médicalement suivie et systématiquement supplémenteée en fer. Elle est comparable à des données de patientes non supplémenteées [158]. Les patientes ont-elles bien compris les traitements ? Ces patientes ne présentaient-elles pas une carence

préconceptionnelle aggravée par des pratiques alimentaires différentes des nôtres ? Nausées, vomissements, constipation ou diarrhée, douleurs abdominales sont observées chez 10 % des patientes [159], les traitements ont-ils été bien suivis ? La forme galénique administrée permettait-elle une bonne résorption du fer ?

Enfin, cette étude rappelle l'importance de la détermination de normes de référence adaptées à la population étudiée.

Nous l'avons démontré pour les Rs-Tf et nous avons rappelé que le coefficient de saturation de la transferrine est inutilisable chez la femme enceinte. Il faut également déterminer des valeurs de référence propres à la grossesse pour la préalbumine si on souhaite l'utiliser comme un marqueur de malnutrition pendant la grossesse. Lors de notre étude, nous avons constaté une différence significative entre patientes présentant un syndrome inflammatoire et celles qui n'en présentant pas pour l'albumine ($p < 0,001$) et la pré-albumine ($p < 0,001$). Il semble donc pertinent de déterminer des valeurs de référence de ces paramètres et de l'index de PINI propre à la grossesse à partir d'une population présentant une CRP et une orosomucoïde normale.

CONCLUSION

Parmi les changements physiologiques pendant la grossesse, les augmentations disproportionnées du volume plasmatique et la masse de globules rouges produisent une diminution de la concentration d'hémoglobine. L'anémie de la grossesse pathologique est principalement attribuable à une carence en fer associée à l'augmentation des besoins et un apport insuffisant, mais les changements physiologiques se produisent également sur les marqueurs de fer. Le fer joue un rôle essentiel dans un éventail de processus métaboliques. L'absorption du fer cellulaire est facilitée par le récepteur de la transferrine (TfR) endocytose médiée. Le récepteur sérique de la transferrine (Rs-Tf) est un indicateur sensible de la carence en fer dans les états inflammatoires et l'anémie des maladies chroniques, parce que sa concentration n'est pas influencée par la réponse de phase aiguë. La concentration de Rs-Tf est étroitement liée à la rotation des R-Tf érythroïdes, par conséquent : le Rs-Tf peut être un marqueur utile pour surveiller l'érythropoïèse dans diverses situations cliniques.

Le Rs-Tf semble être un marqueur spécifique et sensible de la carence en fer pendant la grossesse et peut avoir des avantages sur la ferritine sérique et de l'hémoglobine. La faible concentration de Rs-Tf en début de gestation semble être causée par l'érythropoïèse réduite, alors que la hausse du début à la fin de la grossesse reflète l'érythropoïèse augmentée. D'autres études sont nécessaires pour vérifier si l'érythropoïèse diminuée réduit la possibilité de détecter une carence en fer en début de gestation par le Rs-Tf.

Perspectives

Dans le but de la continuité de ce travail, le spectre de prescription de ce marqueur peut être élargi à d'autres intérêts qui sont:

- Le diagnostic d'une carence fonctionnelle en fer chez les enfants, les adolescents, les athlètes (réserves en fer faibles donc ferritine peu informative) ;

- Le diagnostic différentiel des anémies ;
- Le suivi de l'efficacité et le meilleur ajustement du traitement à l'érythropoïétine des insuffisants rénaux ou de tout autre traitement visant à augmenter l'érythropoïèse ;
- La surveillance des transplantations de la moelle osseuse ;
- Comme examen alternatif au Perls médullaire dans l'évaluation du fer médullaire

Références Bibliographiques

- [1] Organisation Mondiale de la Santé ; Soins liés à la grossesse, à l'accouchement et à la période prénatale : guide de pratiques essentielles. Dépister une anémie, 2003.
- [2] Gillet J-Y, Gutilla J-C, Lewin D, Magnin G, Querleu D, Rozenberg P, et al. Maladie du sang et grossesse. In: Lewin David, editor. Obstétrique, ellipses. 1994. p. 128-31.
- [3] Akesson A, Bjellerup P, Berglund M, Bremme K, Vahter M. Serum transferrin receptor: a specific marker of iron deficiency in pregnancy. *American Journal of Clinical Nutrition* 1998;68:1241-6.
- [4] Duffy Thomas P. Hematologic aspects of pregnancy. fourth edition. In: Burrow G, Ferris T, editors. *Medical complications during pregnancy*. W.B. Saunders Company; 1995. p. 62-83.
- [5] Omar, S., Feki, M., et Kaabachi, N., Le métabolisme du fer : revue générale et récents développements. *Ann Biol Clin*, 2006. 64(6) : 523-34.
- [6] Mackenzie, B. and Garrick, M.D., Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005. 289(6): G981-6.
- [7] Miret, S., Simpson, R.J., and McKie, A.T., Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annu Rev Nutr*, 2003. 23: 283-301.
- [8] Johnson, D.C., Dean, D.R., Smith, A.D., and Johnson, M.K., Structure, function, and formation of biological iron-sulfur clusters. *Annu Rev Biochem*, 2005. 74: 247-81.
- [9] Cheng, Y., Zak, O., Aisen, P., Harrison, S.C., and Walz, T., Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex. *Cell*, 2004. 116(4): 565-76.
- [10] Fleming, M.D., Romano, M.A., Su, M.A., Garrick, L.M., Garrick, M.D., and Andrews, N.C., Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95(3): 1148-53.

- [11] Ohgami, R.S., Campagna, D.R., Greer, E.L., Antiochos, B., McDonald, A., Chen, J., Sharp, J.J., Fujiwara, Y., Barker, J.E., and Fleming, M.D., Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. *Nat Genet*, 2005. 37(11): 1264- 1269.
- [12] Lim, J.E., Jin, O., Bennett, C., Morgan, K., Wang, F., Trenor, C.C., 3rd, Fleming, M.D., and Andrews, N.C., A mutation in Sec15l1 causes anemia in hemoglobin deficit (hbd) mice. *Nat Genet*, 2005. 37(11): 1270-3.
- [13] Lafond, J., L., et Arnaud, J., Métabolisme du fer. *Rev Prant*, 2000. 50 : 945-49.
- [14] Bernard J , Clauvel J.P Et al ; *Abrégé Hématologie*, 9^{ème} édition . Paris : Masson, 1998, p 187.
- [15] Shayeghi, M., Latunde-Dada, G.O., Oakhill, J.S., Laftah, A.H., Takeuchi, K., Halliday, N., Khan, Y., Warley, A., McCann, F.E., Hider, R.C., Frazer, D.M., Anderson, G.J., Vulpe, C.D., Simpson, R.J., and McKie, A.T., Identification of an intestinal heme transporter. *Cell*, 2005. 122(5): 789-801.
- [16] Gunshin, H., Starr, C.N., Drenzo, C., Fleming, M.D., Jin, J., Greer, E.L., Sellers, V.M., Galica, S.M., and Andrews, N.C., Cybrd1 (duodenal cytochrome b) is not necessary for dietary iron absorption in mice. *Blood*, 2005. 106(8): 2879-83.
- [17] R'zik, S., and Beguin, Y., Serum soluble transferrin receptor concentration is an accurate estimate of the mass tissue receptors. *Exp Hematol*, 2001. 29: 677-685.
- [18] Balan, V., Baldus, W., Fairbanks, V., Michels, V., Burritt, M., and Klee, G., Screening for hemochromatosis: a cost-effectiveness study based on 12 258 patients. *Gastroenterology*, 1994. 107:453-459.
- [19] Finch, C., Regulators of iron balance in humans. *Blood*, 1994. 84(6): 1697-702.
- [20] D'après Pietrangelo A, *NEJM*, 2004.
- [21] Mackenzie, B. and Garrick, M.D., Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005. 289(6): G981-6.

- [22] Johnson, D.C., Dean, D.R., Smith, A.D., and Johnson, M.K., Structure, function, and formation of biological iron-sulfur clusters. *Annu Rev Biochem*, 2005. 74: 247-81
- [23] Wilkins, S.J., Frazer, D.M., Millard, K.N., McLaren, G.D., and Anderson, G.J., Iron metabolism in the hemoglobin deficit mouse: correlation of diferric transferrin with hepcidin expression. *Blood*, 2005.
- [24] White, R.A., Boydston, L.A., Brookshier, T.R., McNulty, S.G., Nsumu, N.N., Brewer, B.P., and Blackmore, K., Iron metabolism mutant hbd mice have a deletion in Sec1511, which has homology to a yeast gene for vesicle docking. *Genomics*, 2005. 86(6): 668-73.
- [25] Li, H. and Qian, Z.M., Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery. *Medicinal Research Reviews*, 2002. 22(3): 225-250.
- [26] Baker, E., Baker, S.M., and Morgan, E.H., Characterisation of non-transferrin-bound iron (ferric citrate) uptake by rat hepatocytes in culture. *Biochim Biophys Acta*, 1998. 1380(1): 21-30.
- [27] Inman, R.S. and Wessling-Resnick, M., Characterization of transferrin-independent iron transport in K562 cells. Unique properties provide evidence for multiple pathways of iron uptake. *J Biol Chem*, 1993. 268(12): 8521-8.
- [28] Thorstensen, K., Trinder, D., Zak, O., and Aisen, P., Uptake of iron from N-terminal half transferrin by isolated rat hepatocytes. Evidence of transferring receptor-independent iron uptake. *Eur J Biochem*, 1995. 232(1): 129-33.
- [29] Gelvan, D., Fibach, E., Meyron-Holtz, E.G., and Konijn, A.M., Ferritin uptake by human erythroid precursors is a regulated iron uptake pathway. *Blood*, 1996. 88(8): 3200-7.
- [30] Yang, J., Goetz, D., Li, J.Y., Wang, W., Mori, K., Setlik, D., Du, T., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Strong, R., and Barasch, J., An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell*, 2002. 10(5): 1045-56.
- [31] Testa, U., Apoptotic mechanisms in the control of erythropoiesis. *Leukemia*, 2004. 18(7): 1176-99.

- [32] Zermati, Y., Fakhouri, F., Delarue, R., Ribeil, J. A., Knebelmann, B., and Hermine, O., *Actualités Néphrologiques*, FLAMMARION MÉDECINE-SCIENCES, 2003
- [33] Wenger R.H., Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *Faseb J*, 2002. 16 (10): 115-62.
- [34] Gomme, P.T., McCann, K.B., and Bertolini, J., Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions. *Drug Discov Today*, 2005. 10(4): 267-73.
- [35] Idzerda, R.L., Huebers, H., Finch, C.A., and McKnight, G.S., Rat transferrin gene expression: tissuespecific regulation by iron deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986. 83(11): 3723-7
- [36] Levin, M.J., Tuil, D., Uzan, G., Dreyfus, J.C., and Kahn, A., Expression of the transferrin gene during development of non-hepatic tissues: high level of transferrin mRNA in fetal muscle and adult brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984. 122(1): 212-7.
- [37] Rolfs, A., Kvietikova, I., Gassmann, M., and Wenger, R.H., Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1. *J Biol Chem*, 1997. 272(32): 20055-62.
- [38] Heilmeyer, L., Keller, W., Vivell, O., Betke, K., Woehler, F., and Keiderling, W., [Congenital a transferrinemia.]. *Schweiz Med Wochenschr*, 1961. 91: 1203.
- [39] Craven, C.M., Alexander, J., Eldridge, M., Kushner, J.P., Bernstein, S., and Kaplan, J., Tissue distribution and clearance kinetics of non-transferrin-bound iron in the hypotransferrinemic mouse: a rodent model for hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987. 84(10): 3457-61.
- [40] Worwood M. The laboratory assessment of iron status an update. *Clinica Chimica Acta*. 259 (1997), 3-23.
- [41] Robb, A. and Wessling-Resnick, M., Regulation of transferrin receptor 2 protein levels by transferrin. *Blood*, 2004. 104(13): 4294-9.

- [42] West, A.P., Jr., Bennett, M.J., Sellers, V.M., Andrews, N.C., Enns, C.A., and Bjorkman, P.J., Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J Biol Chem*, 2000. 275(49): 38135-8.
- [43] Donovan, A., Lima, C.A., Pinkus, J.L., Pinkus, G.S., Zon, L.I., Robine, S., and Andrews, N.C., The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab*, 2005. 1(3): 191-200.
- [44] Deaglio, S., Capobianco, A., Cali, A., Bellora, F., Alberti, F., Righi, L., Sapino, A., Camaschella, C., and Malavasi, F., Structural, functional, and tissue distribution analysis of human transferrin receptor-2 by murine monoclonal antibodies and a polyclonal antiserum. *Blood*, 2002. 100(10): 3782-9.
- [45] Beaufrère K , Bresson JL, Briend A, Farriaux JP, Ghisolfi J, Navarro J, et al. Fer et grossesse. *Arch Ped*.1995 ; 2 :1209-1218.
- [46] Hercberg S, Cailhol J, Franchisseur C, Maurel M. La déficience en fer et l'anémie ferriprive dans la population française. *Revue Française des Laboratoires*. 2001 ; 2001(334) : 55-58.
- [47] Caroff-Petillon A ; Etat des lieux du dépistage de l'anémie pendant la grossesse Etude rétrospective réalisée au centre hospitalier universitaire de Brest, *La revue Sage-femme*, Volume 7, N° 2, 2008, p 51-55.
- [48] Stoltzfus RJ; Iron-deficiency anemia: reexamining the nature and magnitude of the public health problem, Summary: implications for research and program, *Journal of Nutrition*, 2001, p 1-39.
- [49] Bitam A, Belkadi N. Prévalence de l'anémie ferriprive au cours de la grossesse dans la wilaya de Blida. *Nutrition clinique et métabolisme*.2008 ; 22(2008) :100-107.
- [50] Diakite G ; Etude épidémiologique de l'anémie sur grossesse, Thèse en médecine, université de Bamako, 2005, p 83.

- [51] Raya G, Henny J, Steinmetz J, Herbeth B, Siest G. Soluble transferrin receptor: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:1162–8.
- [52] Sapin V, Alexandre M, Chaib A, Bournazeau J, Sauvant P, Borel P, et al. Effect of vitamin A status at the end of term pregnancy on the saturation of retinol binding protein with retinol. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000;71:537–43.
- [53] Inglebeek Y, Carpentier Y. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 1985;55:91–101.
- [54] Akinsoto P, Ojwang T, Govender J, Moodley C, Connolly V. Soluble transferrin receptors in anemia of pregnancy. *Obstet Gynaecol* 2001; 21:250–2
- [55] Jallades L, Dupuis O, Magaud JP. Hémogramme et grossesse. *Revue Française des Laboratoires*. Avr 2010 ; 2010(421) : 33-42.
- [56] Arias F, Kikk H. Hematologic problems during post partum. *Practical guide to high-risk delivery*. Mosby Year Book; 1998. p. 300–48.
- [57] Beguin Y, Lipscei G, Thoumsin H, Fillet G. Blunted erythropoietin production and decreased erythropoiesis in early pregnancy. *Blood* 1991;78:89–93.
- [58] Akesson A, Bjellerup P, Berglund M, Bremme K, Vahter M. Soluble transferrin receptor: longitudinal assessment from pregnancy to postlactation. *Obstet Gynecol* 2002;99:260–6.
- [59] Laurell CB, Rannevik G. A comparison of plasma protein changes induced by danazol, pregnancy and oestrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;49:719–25.
- [60] Arias F. Hematologic problems during pregnancy. *Practical guide to high-risk pregnancy and delivery*. Mosby Year Book; 1993. p. 245–62.
- [61] Remacha A, Sarda M, Parellada M, Ubeda J, Manteiga R. The role of serum transferrin receptor in the diagnosis of iron deficiency. *Haematologica* 1998;83:963–6.
- [62] Charpentier A, Perillous E ; *Le sang et les cellules sanguines*, Paris: Nathan, 1996, p 127.
- [63] Lang T, Caraher M; *Access to healthy foods: part I Food poverty and shopping deserts:*

what are the implications, 1991, p 113.

- [64] Ponka, P., Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells. *Blood*, 1997. 89(1): 1-25.
- [65] Knutson, M. and Wessling-Resnick, M., Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2003. 38(1): 61-88.
- [66] [Linder](#) Maria C; *Nutritional biochemistry and metabolism: with clinical applications*, British: Elsevier Science B. V, 1985, p 436.
- [67] Sebahoun G ; *Hématologie clinique et biologique*, Édition Arlette, 2000
- [68] Sultan C, Gaault-Helmann M , Imbert M , *aide-mémoire d'hématologie*, Paris : Flammarion Médecine, 1998, p 359.
- [69] John W. *Prévention de l'anémie ferriprive chez le nourrisson*, 1990
- [70] Nicolas, Boissel ; Institut la Conférence Hippocrate. *Anémie par Carence Martiale* (2005), [Enligne]. Disponible sur : www.laconferencehippocrate.com (consulté le 25/05/2015).
- [71] Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français, 1997.
- [72] Tescari Jessica ; *Prise en charge de l'anémie durant la grossesse et le post-partum* (2010) [En ligne], Disponible sur : <http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>. (Consulté le 25/ 05/2015).
- [73] Candio F, Hofmeyr Gj ; *Traitements de l'anémie par carence en fer au cours de la grossesse : 2007 Aspects pratiques de la BCG : Bibliothèque de Santé Génésique de l'OMS*, Genève : Organisation Mondiale de la Santé, [en ligne] Disponible sur : <http://apps.who.int> (consulté le 25/05/2015).
- [74] Gomme, P.T., McCann, K.B., and Bertolini, J., Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions. *Drug Discov Today*, 2005. 10(4): 267-73.
- [75] Arfi J.S ; *Anémies et grossesse*. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, vol 17, 2004, p181-184.
- [76] Leke L , Kremp D ; *Impact des carences nutritionnelles sur l'anémie de la femme*

enceinte, Développement et Santé, n°84, 1989.

- [77] Akkad, Favier M ; donner du fer aux femmes enceintes ? Centre de recherche et d'information nutritionnelle, Le généraliste FMC n° 1751 : 1997, p 12-13.
- [78] Scholl To, Hediger MI, Fisher RI, Shearer Jw; Anemia vs iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study, American Journal of Clinical Nutrition, 1992, 55 : p 985-988.
- [79] Testa, U., Pelosi, E., and Peschle, C., The transferrin receptor. Crit Rev Oncol, 1993. 4: 241-76.
- [80] Trowbridge, I.S., Newman, R.A., Domingo, D.L., and Sauvage, C., Transferrin receptors: structure and function. Biochem Pharmacol, 1984. 33: 925-32
- [81] Baynes, E.D., Skikne, B.S., and Cook, J.D., Circulating transferrin receptor and assessment of iron status. J Nutr Biochem, 1994. 5: 322-30.
- [82] May, W.S., and Cuatrecasas, P., Transferrin receptor: its biological significance. J Membrane Biol, 1985. 88: 205-15.
- [83] Vernet M. Le récepteur de la transferrine: rôle dans le métabolisme du fer et intérêt en biologie clinique. Ann Biol Clin 1999; 57: 9-17.
- [84] Lok, C.N., and Loh, T.T., Regulation of transferrin function and expression: review and update. Biol Signals Recept, 1998. 7: 157-78.
- [85] Lacopetta, B.J., Morgan, E.H., and Yeah, G.C.T., Transferrin receptors and iron uptake during erythroid cell development. Bioch Biophys Acta, 1982. 687: 204-10.
- [86] Huebers, H.A., and Finch, C.A., The physiology of transferrin and transferrin receptors. Physiol Rev, 1987. 67: 520-82.
- [87] Thorstensen, K., and Romslo, I., The role of transferrin in the mechanism of cellular iron uptake. Biochem J, 1990. 271: 1-10.
- [88] Ponka, P., Beaumont, C., and Richardson, D.R., Function and regulation of transferrin and ferritin. Sem Hematol, 1998. 35: 35-54.

- [89] Feder, J.N., Penny, D.M., Irrinki, A., et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998. 95:1472-7.
- [90] Lebron, J.A., Bennett, M.J., Vaughn, D.E., Chirino, A.J., Snow, P.M., Mintier, G.A., Feder, J.N., and Bjorkman, P.J., Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell*, 1998. 93(1): 111-23.
- [91] Hentze, M.W., and Kuhn, L.C., Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996. 93: 8175-82.
- [92] Address, K.J., Babilion, J.P., Klausner, R.D., Rouault, T.A., and Pardi, A., Structure and dynamics of the iron responsive element RNA: implications for binding of the RNA by iron regulatory binding proteins. *J Mol Biol*, 1997. 274: 72-83.
- [93] Kohgo, Y., Nishisato, T., Kondo, H., Tsushima, N., Niitsu, Y., and Urushizaki, I., Circulating transferrin receptor in human serum. *Br J Haematol*, 1986. 64: 277 81.
- [94] Boldt, D. H., New perspectives on iron: an introduction. *Am J Med Sci*, 1999. 318: 207-12.
- [95] Ouyang, Q., Bommakanti, M., and Miskimins, W.K., A mitogen-responsive promoter region that is synergistically activated through multiple signalling pathways. *Mol Cell Biol*, 1993. 13(3): 1796 804.
- [96] Kawabata, H., Yang, R., HIRAMA, T., Vuong, P.T., Kawano, S., Gombart, A.F., and Koeffler, H.P., Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem*, 1999. 274(30): 20826-32.
- [97] Kawabata, H., Nakamaki, T., Ikonomi, P., Smith, R.D., Germain, R.S., and Koeffler, H.P., Expression of transferrin receptor 2 in normal and neoplastic hematopoietic cells. *Blood*, 2001. 98(9): 2714-9.

- [98] Camaschella, C., Roetto, A., Cali, A., De Gobbi, M., Garozzo, G., Carella, M., Majorano, N., Totaro, A., and Gasparini, P., The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet*, 2000. 25(1): 14-5.
- [99] Kawabata, H., Fleming, R.E., Gui, D., Moon, S.Y., Saitoh, T., O'Kelly, J., Umehara, Y., Wano, Y., Said, J.W., and Koeffler, H.P., Expression of hepcidin is down-regulated in Tfr2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood*, 2005. 105(1): 376-81.
- [100] Shih, Y.J., Baynes, R.D., Hudson, B.G., and Cook, J.D., Characterization and quantitation of the circulating forms of serum transferrin receptor using domain-specific antibodies. *Blood*, 1993. 81(1): 234-8.
- [101] Rutledge, E.A., and Enns, C.A., Cleavage of the transferrin receptor is influenced by the composition of the O-linked carbohydrate at position 104. *J Cell Biol*, 1996. 168: 284-93.
- [102] Rutledge, E.A., Gaston, I., Root, B.J., McGraw, T.E., and Enns, C.A., The transferrin receptor cytoplasmic domain determines its rate of transport through the biosynthetic pathway and its susceptibility to cleavage early in the pathway. *J Biol Chem*, 1998. 273(20) : 11269-75.
- [103] Beguin, Y., Loo, M., and Fillet, G., Le dosage du récepteur circulant de la transferrine : une nouveauté pour quantifier l'érythropoïèse. *Med Hyg*, 1991. 49: 2041-5
- [104] Cooper, M.J., and Zlotkin, S.H., Day-to-day variation of transferrin receptor and ferritin in healthy men and women. *Am J Clin Nutr*, 1996. 64: 738-42.
- [105] Suominen, P., Punnonen, K., Rajamäki, A., and Irjala, K., Evaluation of new immunoenzymometric assay for measuring soluble transferrin receptor to detect iron deficiency in anemic patients. *Clin Chem*, 1997. 43: 1641-46.
- [106] Allen, J., Backstrom, K.R., Cooper, J.A., et al. Measurement of soluble transferrin receptor in serum of healthy adults. *Clin Chem*, 1998. 44(1): 35-9.

- [107] Ahluwalia, N., Diagnostic utility of serum transferrin receptors measurement in assessing iron status. *Nutr Rev*, 1998. 56: 133-41.
- [108] Maes, M., Bosmans, E., Scharpé, S., et al. Components of biological variation in serum soluble transferrin receptor: relationships to serum iron, transferrin and ferritin concentrations, and immune and haematological variables. *Scand J Clin Lab Invest*, 1997. 57: 31-41.
- [109] Kuiper-Kramer, E.P.A., Baerts, W., Bakker, R., Van Eyck, J., Van Raan, J., and Van Eijk, H.G., Evaluation of the iron status of the newborn by soluble transferrin receptors in serum. *Clin Chem Lab Med*, 1998. 36: 17-21.
- [110] Worwood, M., Serum transferrin receptor assays and their application. *Ann Clin Biochem*, 2002. 39: 221-30.
- [111] Flowers, C.H., Skikne, B.S., Covell, A.M., and Cook, J.D., The clinical measurement of serum transferrin receptor. *J Lab Clin Med*, 1989. 114: 368-77.
- [112] Huebers, H.A., Beguin, Y., Pootrakul, P., Einspahr, D., and Finch, C.A., Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoiesis. *Blood*, 1990. 75(1): 102-7.
- [113] Carmel, R., and Skikne, B.S., Serum transferrin receptor in the megaloblastic anemia of cobalamin deficiency. *Eur J Haematol*, 1992. 49: 246-50.
- [114] Feelders, R.A., Kuiper-Kramer, E.P., and van Eijk, H.G., Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med*, 1999. 37: 1-10.
- [115] Beguin, Y., Loo, M., R'Zik, S., Sautois, B., Lejeune, F., Rorive, G., and Fillet, G., Early prediction of response to recombinant human erythropoietin in patients with the anemia of renal failure by serum transferrin receptor and fibrinogen. *Blood*, 1993. 82(7): 2010-6.
- [116] Skikne, B.S., Flowers, C.H., and Cook, J.D., Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood*, 1990. 75(9): 1870-6.

- [117] Cook, J.D., Skikne, B.S., and Baynes, R.D., Serum transferrin receptor. *Annu Rev Med*, 1993. 44:63-74.
- [118] Ferguson, B.J., Skikne, B.S., Simpson, K.M., Baynes, R.D., and Cook, J.D., Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med*, 1992. 119: 385-90
- [119] Punnonen, K., Irjala, K., and Rajamaki, A., Iron-deficiency anemia is associated with high concentrations of transferrin receptor in serum. *Clin Chem*, 1994. 40(5): 774-6.
- [120] Punnonen, K., Irjala, K., and Rajamaki, A., Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood*, 1997. 89(3): 1052-7.
- [121] Petterson, T., Kivivuori, S.M., and Siimes, M.A., Is serum transferrin receptor useful for detecting iron-deficiency in anaemic patients with chronic inflammatory diseases?. *Br J Rheumatol*, 1994. 33: 740-4.
- [122] Mast, A.E., Blinder, M.A., Gronowski, A.M., Chumley, C., and Scott, M.G., Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clin Chem*, 1998. 44(1): 45-51.
- [123] Recommandations HAS. Choix des examens du métabolisme du fer en cas de suspicion de carence en fer. Février 2011.
- [124] Kuvibidila S, Warriar RP, Ode D, Yu L. Serum transferrin receptor concentrations in women with mild malnutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 1996;63:596–601.
- [125] Inglenbeek Y, DeVisscher M. Hormonal and nutritional status: critical conditions for endemic goiter epidemiology. *Metabolism* 1979;28: 9–19.
- [126] Laurell CB, Rannevik G. A comparison of plasma protein changes induced by danazol, pregnancy and oestrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;49:719–25.
- [127] Cooper, M.J., and Zlotkin, S.H., Day-to-day variation of transferrin receptor and ferritin in healthy men and women. *Am J Clin Nutr*, 1996. 64: 738-42.

- [128] Health Surveillance, Alberta Health and the Neonatal Research Unit, University of Calgary. Maternal Risk Factors in Relationship to Birth Outcome. 199
<http://www.health.gov.ab.ca/resources/publications>. Consulté le 25 mai 2015.
- [129] Bell R. A study on birth weight in a teaching referral hospital; Gondar, Ethiopia. *Hum Fertil (Camb)*. 2008; 11: 1-8.
- [130] Ministère de la Santé et de la Population. Enquête nationale sur les objectifs de la fin décennie Santé mère et enfant EDG Algérie 2000 (MICS). 2001. République Algérienne Démocratique et Populaire. Institut National de santé publique.
- [131] El Mhamdi S, Lifi B, Bouanène I, Hadded A, Sriha A, Letaief M, Ben Salem K, Soltani MS. Caractéristiques épidémiologiques et chronologiques du faible poids de naissance dans la région de Monastir (Tunisie) entre 1994 et 2007. *Rev Med Brux*. 2011; 32(3): 147-153.
- [132] Lamine D. Analyse et interprétation des données relatives aux poids des enfants à la naissance, à la maternité du centre de Santé de Vélingara (Sénégal), Bibliothèque ISED. 20 <http://www.ised.sn/epi.htm>. Consulté 23 Mai 2015.
- [133] Piechulek H, Mendoza AJ. Les enfants de poids insuffisant à la naissance : les exigences d'un programme de surveillance nutritionnelle exemple : la zone rurale de la province du littoral (Cameroun). *Médecine d'Afrique Noire*. 1996 ; 43 (2): 70
- [134] Camara B, Diack B, Diouf S, Sall MG, Ba M, Sarr M, Hanne K, Thiam C, Diouf L, Sow D, Fall M. Les faibles poids de naissance : fréquence et facteurs de risques dans le district de Guédiawaye (Banlieue de Dakar - Sénégal). *Méd Afr Noire*. 1996 ; 43 (5): 260-265.
- [135] Senga P, Mayanda HF, Djouob S, Malonga H. Faible poids de naissance à Brazzaville : facteurs déterminants, pronostic immédiat. *Pub Méd Afr*. 1989; 102: 20-23.
- [136] Badshah S, Mason L, McKelvie K, Payne R, Lisboa PJ. Risk factors for low birthweight in the public-hospitals at Peshawar, NWFP-Pakistan. *BMC Public Health*. 2008; 4: 197.

- [137] Newburn Cook CV, Onyskiw JE. Is older maternal age a risk factor for preterm birth and fetal growth restriction - A systematic review. *Health Care Women Int.* 2005; 26(9): 852-75.
- [138] Carolan M. The graying of the obstetric population : implications for the older mother. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2003; 32(1): 19-27
- [139] Coutinho PR, Cecatti JG, Surita FG, Souza JP, Morais SS. Factors associated with low birth weight in a historical series of deliveries in Campinas, Brazil. *Rev Assoc Med Bras.* 2009; 55(6): 692-9.
- [140] Odukogbe AA, Adewole IF, Ojengbede OA et al. Grandmultiparity: trends and complications: a study in two hospital settings. *J Obstet Gynaecol.* 2001; 21(4): 361-7.
- [141] Begue P, Assimadi K., Capochichi D. Les nouveau-nés de petits poids de naissance au Togo. II - Essai d'appréciation de différents facteurs étiologiques. *Ann Pédiat.* 1979 ; 26(9) : 647-651
- [142] Ndiaye O, Diallo D, MG B, Diagne I, Moreau JC, et al. Maternal risk factors and low birth weight in Senegalese teenagers: the example of a hospital centre in Dakar. *Santé.* 2001 ; 11(4) : 241-244.
- [143] Letaief M, Soltani MS, Ben Salem K, Bchir A. Epidémiologie de l'insuffisance pondérale à la naissance dans le Sahel tunisien. *Santé publique.* 2001 ; 13 (4) : 359-366.
- [144] Tietche F, Goufack G, Kago I, Mbonda E, Koki Ndombo PO, Leke RI. Facteurs étiologiques associés au retard de croissance intra-utérin à Yaoundé (Cameroun) : Etude préliminaire. *Médecine d'Afrique Noire.* 1998; 45 (6).
- [145] Chumnijarakij T, Nuchprayoon T, Chitinand S, Onthuam Y, Quamkul N, Dusitsin N, Viputsiri OA, Chotiwan P, Limpongsanurak S, Sukomol P, et al. Maternal risk factors for low birth weight newborn in Thailand. *J Med Assoc Thai.* 1992; 75(8): 445-452.
- [146] Razafitsalama M, Randriamahavory A, Raharimalala O. L'impact du développement sur les nouveau-nés à l'hôpital d'Ambohimandra de 1999 à 2001, CO, Colloque « Santé, Environnement et Développement », Célébration du centenaire de l'Académie Nationale

- des Arts, des Lettres et des Sciences, Hilton Madagascar, 24-25 juillet 2002. Arch Inst Pasteur de Madagascar. 2002 ; 68 (1-2) : 19-40.
- [147] Frank R, Pelcastre B, Salgado DE, Snyder VN, Frisbie WP, Potter JE, Bronfman-Pertzovsky MN. Low birth weight in Mexico: new evidence from a multi-site postpartum hospital survey. *Salud Publica Mex.* 2004 ; 46 (1) :23-31.
- [148] Amani Waleed Mahmoud Abu-hasira ; Iron Deficiency Anemia among Pregnant Women in Nablus District, Prevalence, Knowledge, Attitude and Practices, Palestine, An-Najah National University Faculty of Graduate Studies Nablus, 2007, p 225
- [149] Demmouche Abbassia. Anémies maternelles et issues de grossesse[en ligne]. Disponible sur : www.didac.ehu.es/antropo (consulter le 20/05/2015).
- [150] Chawla Pk; Nutrient suppliments during pregnancy improve the nutritional status of neonates [abstract]; XV International Congress of Nutrition, Adelaide, 1993,p225.
- [151] Dia Ndeye Sokhna ; Prévalence de l'anémie au cours de l'état gravidopuerperal (à propos de 553 cas),thèse doctorat en médecine, Sénégal, Université sidi Mohammed ben Abdallah, 2011, p 160.
- [152] Cook, J., D., Flowers, C., H., and Skikne, B., S., *The quantitative assessment of body iron.* Blood, 2003. **101**: 3359-3364
- [153] Quigley, J.G., Yang, Z., Worthington, M.T., Phillips, J.D., Sabo, K.M., Sabath, D.E., Berg, C.L.,Sassa, S., Wood, B.L., and Abkowitz, J.L., Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell*, 2004. 118(6): 757-66.
- [154] Cianetti, L., Segnalini, P., Calzolari, A., Morsilli, O., Felicetti, F., Ramoni, C., Gabbianelli, M., Testa,U., and Sposi, N.M., Expression of alternative transcripts of ferroportin-1 during human erythroid differentiation. *Haematologica*, 2005. 90(12): 1595-606.
- [155] Poss, K.D. and Tonegawa, S., Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. 94(20): 10919-24.
- [156] Beaumont, C., and Canonne-Hergaux, F., [Erythrophagocytosis and recycling of heme

iron in normal and pathological conditions; regulation by hepcidin]. *Transfus Clin Biol*, 2005. 12(2): 123-30.

[157] Knutson, M. and Wessling-Resnick, M., Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2003. 38(1): 61-88.

[158] Robb, A. and Wessling-Resnick, M., Regulation of transferrin receptor 2 protein levels by transferrin. *Blood*, 2004. 104(13): 4294-9.

[159] Giannetti, A.M., Snow, P.M., Zak, O., and Bjorkman, P.J., Mechanism for multiple ligand recognition by the human transferrin receptor. *PLoS Biol*, 2003. 1(3): E51.

LISTE DES ABREVIATIONS

OMS : L'organisation mondiale de la santé

FPN : faible poids de naissance

Rs-Tf : le récepteur soluble de la transferrine

R-Tf : récepteur de la transferrine membranaire

g : gramme

mg : milligramme

Fe³⁺ : fer oxydé

HCP1 : Heme Carrier Protein 1

HO : l'enzyme hème-oxygénase

DMT1 : Divalent Metal Transporter 1

Dcytb : Duodenal cytochrome b

Fe²⁺ : fer ferreux,

Nramp2 :

Tf : la transferrine

Tf-Fe₂ : holotransferrine

NO :

pH :

STEAP3: Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate

Apo-Tf : l'apo-transferrine

ADN: adenosine di-phosphate

CFU-GEMM :

BFU-E :

CFU-E :

EPO :

Hb : Hémoglobine

VGM : Volume globulaire moyen

TCMH :

nm: nanomètre

μl : microlitre

CST : Coefficient de Saturation de la Transferrine

kDa : kilo dalton

FTL : ferritin light chain

FTH1 : ferritin heavy chain

g/dl: gramme / décilitre

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma illustrant la répartition du fer dans l'organisme

Figure 2 : L'absorption intestinale du fer

Figure 3 : Endocytose du fer lié à la Tf par RTf

Figure 4 : Représentation schématique de la structure de la ferritine

Figure 5 : Hémodilution de la grossesse

Figure 6 : Structure du récepteur de la transferrine

Figure 7: Automate de biochimie clinique semi-automatique « Mindray BA-88A »

Figure 8 : Lecteur d'absorbance BIO-TEK « ELx800 »

Figure 9 : laveur de microplaque BIO-TEK « ELx50™ Strip Washer »

Figure 10 : Distribution en fréquences du faible poids de naissances des nouveau-nés

Figure 11 : Répartition des femmes enceintes en fonction de l'âge

Figure 12 : Répartition des femmes enceintes en fonction de l'intervalle intergénéral

Figure 13 : Répartition des femmes enceintes en fonction de la parité

Figure 14: répartition de l'ensemble de l'échantillon (n= 192) en fonction de niveau d'instruction (a), de la profession (b), de la supplémentation en fer (c).

Figure 15 : Corrélation entre le taux de ferritine et de récepteurs solubles de la transferrine chez les patientes anémiques

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Apport nutritionnels conseillés en fer

Tableau 2 : Quelques exemples de teneur d'aliments riches en fer héminique et non héminique

Tableau 3 : Définition de l'anémie (d'après l'OMS)

Tableau 4 : Répartition des poids de naissance selon les caractéristiques de la mère, de la grossesse

Tableau 5 : Caractéristiques du groupe d'étude en fonction du niveau d'instruction, de la profession, de la supplémentation en fer

Tableau 6 : Prévalence de l'anémie ferriprive en utilisant la ferritine et le RsTf comme marqueurs

Tableau 7 : caractéristiques de toutes les parturientes en Fonction des paramètres Biologiques étudiés

Tableau 8 : Calculs de L'index de PINI chez notre groupe d'étude

Tableau 9 : Les corrélations (r) des principaux paramètres du bilan martial avec le Rs-Tf chez nos parturientes

Tableau 10 : Concentration du Rs-Tf et des autres paramètres Biologiques étudiés en fonction de l'âge gestationnelle.

ANNEXES



Quantitative determination of α₁-Acid Glycoprotein (α₁-Ac GLY) IVD
Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti- α₁-Ac Gly antibodies when mixed with samples containing α₁-Ac Gly, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the α₁-Ac Gly concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known α₁-Ac Gly concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

α₁-Ac Glycoprotein (also known as orosomucoid) is a glycoprotein synthesized by hepatic parenchymal cells, but granulocytes and monocytes may also contribute significantly to plasma levels in sepsis. It has long been known to bind a large number of basic and lipophilic compounds (progesterone and related hormones). It is an acute phase response protein that show a 3 to 4-fold increase in most conditions associated with inflammation or tissue necrosis, and may be one of the most reliable indicators of clinical activity of ulcerative colitis. Levels also are increased by glucocorticoides effect. Synthesis and plasma levels are decreased by estrogens.

REAGENTS

R 1	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3.
Diluent	Sodium azide 0,95 g/L.
R 2	Goat serum, anti-human α ₁ -Ac Glycoprotein, pH 7.5. Sodium azide 0,95 g/L.
Antibody	
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL dilutions in ClNa 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the α₁-Ac Glycoprotein calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the α₁-Ac Glycoprotein concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	-	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity. Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spintech 240 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

SPINTECH 240 APPLICATION

DATA INFORMATION Units mg/dL Decimals 0 ANALYSIS Type END W.Length 1 340 Method Turbidimetry CODE SLOPE INTER 1.000 x +		CALIBRATION TYPE Spline STANDARD #1 0.10 x Cal.Val. #4 0.75 x Cal.Val. #2 0.25 x Cal.Val. #5 1.00 x Cal.Val. #3 0.50 x Cal.Val. #6 NORMAL RANGE SERUM LOW HIGH MALE FEMALE	
ASPIRATION KIND Single <input checked="" type="checkbox"/> Double VOLUME** SAMPLE 2,5 µL REAGENT 1 300 µL REAGENT 2 75 µL Third Mix <input checked="" type="checkbox"/> OFF ON R1 Blank <input checked="" type="checkbox"/> Water R1-B		DATA PROCESS ABSORBANCE LIMIT MAIN START END LOW HIGH 50 51 -3.000 3.000 SUB 30 31 ENDPOINT LIMIT 3 LINEAR CHECK (N) FACTOR Blank Correction 1.000 PRECISE CHECK START END LIMIT (N) FIRST <input checked="" type="checkbox"/> Low High SECOND <input checked="" type="checkbox"/> Low High THIRD <input checked="" type="checkbox"/> Low High	
MONITOR O LEVEL POINT 1 SPAN 3.000			

** Modify reagents and sample volumes according to the range accepted but keeping always the mentioned ratio. Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. This parameter calibration is stable for 30 days.

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

REFERENCE VALUES

Between 50 - 120 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Ref.:1102004) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1963.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Bienvenue J et al. Clin Chem Clin Biochem 1981; 27: 721-726.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTATION

Ref: TK1102154	Cent.	R1. Diluent: 2 x 24 mL
		R2. Antibody: 2 x 6 mL

Détermination quantitative de l'albumine
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

 L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé^{1,2,3,4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'albumine est l'une des protéines plasmatiques les plus importantes produite par le foie.

 Parmi ses multiples fonctions, on retiendra la nutrition, l'entretien de la pression oncologique et le transport des substances telles que la Ca²⁺, la bilirubine, les acides gras, les drogues et les stéroïdes.

 Des perturbations dans les valeurs de l'albumine signalent des maladies du foie, une malnutrition, des lésions de la peau telles que de la dermatite, des brûlures importantes ou une déshydratation^{5,7,8}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R	Vert de bromocrésol pH 4,2	0,12 mmol/L
---	----------------------------	-------------

ALBUMINE CAL	Patron primaire de détection de l'albumine 5 g/dL
--------------	---

PREPARATION

Le réactif et le calibre sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 630 nm \geq 0,40.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 630 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

 Sérum ou plasma sans hémolyses¹: Stabilité 1 mois à 2-8°C ou 1 semaine à 15-25°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 630 nm (600-650)
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température: 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Modèle	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle (Référence 1,0) (µL)	—	5	—
Echantillon (µL)	—	—	5

- Mélanger et laisser incuber 10 min à température ambiante (15-25°C).
- Lire l'absorption (a) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant 1 heure à température ambiante.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 5 \text{ (modèle conc.)} = \text{g/dL d'albumine dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: g/dL x 144,9 = µmol/L

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

 3,5 à 5,0 g/dL¹.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,0349 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 6 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (g/dL)	4,17	2,84	4,56	3,07
SD	0,02	0,01	0,28	0,18
CV (%)	0,42	0,53	6,20	5,90

Sensibilité analytique: 1 g/dL = 0,1839 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,992.

 Equation de la Courbe de régression: $y=1,045x - 0,028$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

 La bilirubine jusqu'à 110 mg/L, l'hémoglobine jusqu'à 1 g/L et a lipémie jusqu'à 10 g/L, interfèrent^{1,4}.

 Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'albumine^{2,3}.

REMARQUES

- ALBUMINE CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec précaution. En effet, il peut être facilement contaminé.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diluer le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Gendler S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1259-1273 and 425.
- Rodkey F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.
- Webster D. Clin Chem. 1974; Acta 53: 109-115.
- Doumas BT Clin Chem. 1971; Acta 31: 87-96.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burts A et al. Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001020	Cont.	R:2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001022		R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001023		R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL

Hémoglobine

Drabkin, colorimétrique

Détermination quantitative d'hémoglobine

IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'hémoglobine est oxydée par l'action du ferriocyanure en méta-hémoglobine et par le cyanure, elle se transforme en cyanméta-hémoglobine. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration d'hémoglobine présente dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'hémoglobine est une protéine qui contient du fer, et qui donne au sang sa couleur rouge. Elle se trouve dans les globules rouges et est chargée du transport de l'oxygène dans le sang, depuis les poumons jusqu'aux tissus. Lorsque le niveau d'hémoglobine apparaît inférieur aux niveaux normaux, cela signifie qu'il existe une anémie, qui peut être due à plusieurs causes: une anémie primaire, un cancer, une grossesse, des maladies rénales ou des hémorragies. Si le niveau d'hémoglobine est élevé, cela peut être dû à des cardiopathies, à une déshydratation, ou à un séjour passé en hauteur^{1,6,8}. Le diagnostic doit prendre en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

	Ferriocyanure de potassium	0,50
HEMOGLOBIN	Cyanure de potassium	mmol/L
60x	Dihydrogène de phosphate de potassium	77 mmol/L
	potassium	2 mmol/L

Optionnel

HEMOGLOBIN CAL	Patron de détection de l'hémoglobine 15 gr/dL Ref:1001232 Origine animale
----------------	---

PRECAUTIONS

Cyanure de potassium: Nocif (Xn); R20/21/22: Nocif en cas d'inhalation, d'ingestion et de contact avec la peau. R32: Au contact d'acides, libère des gaz très toxiques. Dangereux pour l'environnement (N); R52/53: Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner sur le long terme des effets négatifs en milieu aquatique. S7: Conserver le récipient hermétiquement fermé. S26: En cas de contact avec la peau, rincer immédiatement à grande eau claire. S45 En cas d'accident ou de malaise se rendre au plus chez le médecin. S60: Eliminer du produit et de son récipient, car il s'agit de résidus dangereux. S61: Eviter sa libération dans le milieu ambiant. Suivre les instructions à la lettre/ consulter les fiches techniques de sécurité. Cyanure (vénéneux): La concentration de cyanure dans le réactif concentré (50x) est sensiblement inférieure à la dose minimum mortelle chez l'adulte. Son acidification peut entraîner la libération d'acide cyanhydrique.

S7: Conserver le récipient hermétiquement fermé. S26: En cas de contact avec la peau, rincer immédiatement à grande eau claire. S45 En cas d'accident ou de malaise se rendre au plus chez le médecin. S60: Eliminer du produit et de son récipient, car il s'agit de résidus dangereux. S61: Eviter sa libération dans le milieu ambiant. Suivre les instructions à la lettre/ consulter les fiches techniques de sécurité. Cyanure (vénéneux): La concentration de cyanure dans le réactif concentré (50x) est sensiblement inférieure à la dose minimum mortelle chez l'adulte. Son acidification peut entraîner la libération d'acide cyanhydrique.

PREPARATION

Réactif de travail (RT):
- Pour 5 mL : 4,9 mL d'eau distillée + 2 gouttes de réactif
- Pour 250 mL : 245 mL d'eau distillée + 1 flacon (5 mL) de réactif
Bien mélanger.
Stabilité: 2 mois au réfrigérateur à 2-8°C, à l'abri de la lumière.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenues hermétiquement fermées à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 540 nm > 0,01.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 540 nm
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sang capillaire ou veineux.
Utiliser les anticoagulants tels que l'EDTA, l'héparine ou l'oxalate.
Stabilité de l'échantillon: 1 semaine à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 540 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter:

	Blanc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	5,0	5,0	5,0
Calibreur (µL)	-	20	-
Echantillon (µL)	-	-	20

- Mélanger et Incuber 3 minutes à température ambiante (15-25°C).

- Lire l'absorption (A) du calibreur et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif.

CALCULS

- Avec facteur³:

(A) Echantillon x 36,77 = gr/dL d'hémoglobine dans l'échantillon

- Avec patron:

(A) Echantillon x 15 (Patron conc.) = gr/dL d'hémoglobine dans l'échantillon

(A) Modèle

CONTROLE DE QUALITE

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Hommes 14 - 18 gr/dL ± 8,7 - 11,2 mmol/L

Femmes 12 - 16 gr/dL ± 7,5 - 9,9 mmol/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,1 gr/dL jusqu'à la limite de linéarité de 20 gr/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 gr/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (gr/dL)	8,00	15,2	7,81	15,1
SD	0,29	0,33	0,19	0,26
CV (%)	3,59	2,19	2,51	1,74

Sensibilité analytique: 1 gr/dL = 0,027 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'hémoglobine^{3,4}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Franco R S. Hemoglobin. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1994, 1294-1296 and 418.
- Van Kampen EJ et al. Standardization of hemoglobinometry Clin. Chim 1961;6: 438-544.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
- Burke A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PRESENTATION

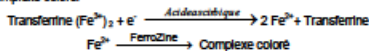
Ref: 1001230	Cont.	R:4 x 5 mL
Ref: 1001231		R:4 x 50 mL, CAL: 1 x 1 mL

Détermination quantitative de fer
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le fer se dissocie du complexe sérique fer-transferrine en milieu acide faible. Le fer libre est réduit en un ion ferreux au contact de l'acide ascorbique. Les ions ferreux en présence de FerroZine forment un complexe coloré.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de Fe dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le fer est le constituant base d'un grand nombre d'enzymes. La myoglobine, protéine musculaire, contient du fer, tout comme le foie. Le fer est nécessaire pour la production de l'hémoglobine, molécule qui transporte l'oxygène à l'intérieur des globules rouges. Un manque de fer entraîne un anémie ferropénique. On trouve des niveaux élevés de fer dans l'hémochromatose, la cirrhose, l'hépatite aigue et dans les concentrations élevées en transferrine. La variation de jour en jour est commune, chez les populations saines^{1, 5,6}. Le diagnostic doit prendre en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	Acétate pH 4,9	100 mmol/L
R 2 Réducteur	Acide ascorbique	99,7%
R 3 Couleur	FerroZine	40 mmol/L
IRON CAL	Patron primaire de détection de fer 100 µg/dL	

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

- Réf: 1001247. Dissoudre (→) le contenu d'un tube de réducteur R 2 dans un flacon de tampon R 1.

Refermer et mélanger doucement jusqu'à la dissolution du contenu.

Stabilité: 3 mois à 2-8°C ou 1 mois à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon, et s'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 562 nm $\geq 0,020$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 562 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 1).

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé.

Sans hémolyse. Séparé le plus tôt possible des hématies.

 Stabilité de l'échantillon: Le fer est stable pendant 7 jours à 2-8°C¹.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 562 nm (530-590)
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température: 37°C; 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Placer dans une cuvette, à l'aide de la pipette:

	Blanc	Modèle	Blanc	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
R3 (gouttes)	1	1	—	1
Eau distillée (µL)	200	—	—	—
Modèle ¹⁰⁰¹²⁴⁷ (µL)	—	200	—	—
Echantillon (µL)	—	—	200	200

Mélanger et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes

CALCULS

$$\frac{(A)\text{Echantillon} - (A)\text{Blanc Echantillon}}{(A)\text{Modèle}} \times 100 \text{ (modèle conc.)} = \mu\text{g/dL de fer}$$

(A)Modèle

Facteur de conversion: µg/dL x 0,179 = µmol/L

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Ref. 1002120 et 1002210). Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE⁵

 Hommes 65-175 µg/dL \pm 11,6-31,3 µmol/L (Remarque 6)

 Femmes 40-150 µg/dL \pm 7,16-26,85 µmol/L (Remarque 6)

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 1,85 µg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 1000 µg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du CNA 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

Moyenne (µg/dL)	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	102	190	107	193
SD	0,88	1,31	1,25	1,57
CV (%)	0,86	0,69	1,18	0,81

Sensibilité analytique: 1 µg/dL = 0,0009 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux.

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,987.

 Equation de la Courbe de régression: $y=1,0052x-2,3159$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Déclaire les échantillons hémolysés, car les hématies contiennent du fer qui peut donner des résultats positifs erronés^{1,2}.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances qui peuvent interférer avec la détermination de fer^{1,4}.

REMARQUES

- IRON CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec extrême attention, car il peut être contaminé facilement.
- Il est conseillé d'utiliser du matériel en plastique, pour un usage unique. Si vous utilisez du matériel en verre, immergez-le pendant 6 h dans du CH₃COOH (20% v/v), rincez à plusieurs reprises avec de l'eau distillée et séchez avant utilisation.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- Les valeurs de référence dépendent en grande partie de la méthode de test utilisée.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Perrotta G. Iron and iron-binding capacity. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1994; 1063-1065.
- Itano M M D. Cap Serum Iron Survey 1978 (70): 516-522.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1995.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

 Ref: 1001247 Cont. R1: 4 x 50 mL, R2: 4 x 100 mg, R3: 2 x 10 mL, CAL: 1 x 10 mL


Quantikine® IVD®

Human sTfR Immunoassay

REF DTFR1

This package insert must be read in its entirety before using this product.

Instructions for use in Danish, German, Spanish, French, Greek, Italian, Portuguese, and Swedish are available in the supplementary package insert.

- DK** Denne indlægsseddel indeholder instruktionsvejledning på engelsk. Instruktionsvejledning på dansk findes i den supplerende indlægsseddel.
- DE** Diese Produktbeschreibung enthält Gebrauchsvorschriften in englischer Sprache. Ein deutsches Protokoll finden Sie in der Zusatz-Packungsbeilage.
- ES** Este manual incluye las instrucciones de utilización en inglés. Para consultar el protocolo en español, deberán remitirse al manual suplementario.
- FR** La notice d'utilisation de ce produit est en anglais. Pour obtenir le protocole en français, merci de consulter la notice supplémentaire incluse avec ce produit.
- GR** Το παρόν ένθετο περιέχει οδηγίες χρήσης στην αγγλική γλώσσα. Για να διαβάσετε το πρωτόκολλο στην ελληνική γλώσσα, ανατρέξτε στο συμπληρωματικό ένθετο της συσκευασίας.
- IT** Questo inserto contiene istruzioni per l'uso in Inglese. Per il protocollo in Italiano fate riferimento all'inserto supplementare.
- PT** O folheto informativo deste produto contém instruções de utilização em Inglês. Para o protocolo em Português consulte por favor o folheto informativo suplementar.
- SE** Denna kitbroschyr är på engelska, ett kompletterande protokoll på svenska är bifogat.

IVD FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE

Quantitative determination of Ferritin IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Ferritin-turbilatex is a quantitative turbidimetric test for the measurement of ferritin in human serum or plasma. Latex particles coated with specific anti-human ferritin are agglutinated when mixed with samples containing ferritin. The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the ferritin contents of the sample that can be quantified by comparison from a calibrator of known ferritin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Serum ferritin concentration usually reflects body iron stores and is considered one of the most reliable indicators of iron status of patients. Whereas low serum concentrations of ferritin are always indicative of an iron deficiency, elevated concentrations can occur for variety of reasons. Thus, although elevated concentrations often indicate an excessive iron intake, they are also caused by liver disease, chronic inflammation and malignancies. Pregnant women, blood donors, hemodialysis patients, adolescents and children are groups particularly at risk.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, pH 8.2. Sodium azide 0.95 g/L.
Latex (R2)	Latex particles coated with anti human ferritin, pH 8.2. Sodium azide 0.95 g/L.
FERR-CAL	Calibrator. Ferritin concentration is stated on the vial label.
Optional	Ref.:1107044 Ferritin control.

PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

Use Ferritin Calibrator Reference 1107042.

The sensitivity of the assay and the target value of the calibrator have been standardized against the 2nd International Standard of Ferritin (80/578, 1992 WHO). Recalibrate when control results are out of specified tolerances, when using different lot of reagent and when the instrument is adjusted.

PREPARATION

Ferritin Calibrator: Reconstitute (->) with 3.0 mL of distilled water. Mix gently and incubate at room temperature for about 10 minutes before testing.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date. **Reagent deterioration:** Presence of particles and turbidity. Do not freeze; frozen Latex or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPIN640 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C. The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

BARCODED REAGENTS LOAD MUST BE PRECEDED OF A SPINREACT "DATABASE" COPY INTO THE ANALYZER SOFTWARE. IT IS AVAILABLE UNDER REQUEST TO SPINREACT.

SPIN640 APPLICATION

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	160	
Test	FERR	Vol. R2	40	
Full Name	Ferritin	Vol. R3		
Standard nº	4	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	18	Decimal	1	
Vol. Sample Inces.		Unit	µg/L	
Vol. Sample Dec.		Slope	1	
		Inter.	0	
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pr. Wave.	546	Reagent Blank	44-45	
Sec. Wave.		React. Time	73-74	
JUDGEMENT CRITERIA				
Absorbance	-30000/30000	Lin. Range	5-600	
Incre.Test		Lin. Limit		
Decre.Test		Subs. Limit		
Prozone (Rate-Antigen)		Q1		
PC		Q2		
ABS		Q3		
		Q4		
CALIBRATION DILUTION (3 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
Nº CAL DIL.	CONCENTRATION	SAMPLE DIL.	VOL. DIL.	VOL. SAMPLE
0	CAL *0.330	45.0	90.0	18.0
1	CAL *0.666	45.0	90.0	36.0
2	CAL	0.0	0.0	18.0

The Calibration is stable until 31 days. After this period the Calibration must be performed again in order to obtain good results.

QUALITY CONTROL

Control Sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used the SPINREACT Ferritin Control (Ref.: 1107044). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Men: 30 - 220 µg/L

Women: 20 - 110 µg/L

Each laboratory should establish its own reference range.

NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Worwood M. Blood Reviews 1990; 4: 259-269
2. Mazza J et al. Can Med Assoc J 1978; 119: 884-886
3. Rodriguez Perez J et al. Revista Clinica Española 1980; 156 (1): 39-43
4. Coral Vicente et al. J Lab Clin Med 1990; 116 (6): 779-784.
5. Milman N et al. Eur J Haematol 1994; 53: 16-20.
6. Gudrun Wiedemann et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993; 31: 453-457.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PACKAGING

Ref: MD1107140

Cont.	R1. Diluent: 2 x 40 mL
	R2. Latex: 1 x 20 mL
	FERR-CAL: 1 x 3 mL





Quantitative determination of Pre-albumin IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

PRE-ALBUMIN is a quantitative turbidimetric test for the measurement of prealbumin in human serum or plasma. Anti-precalbumin antibodies when mixed with samples containing prealbumin, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the prealbumin concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known prealbumin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The prealbumin is a non-glycosylated protein synthesized mainly in the liver and choroid plexus of the brain. It binds and transport approximately 10% of serum thyroxin and triiodothyronine, and also plays a role in the transport of vitamin A in complex with retinal-binding protein. Prealbumin is the earliest laboratory indicator of nutritional status and has emerged as the preferred marker for malnutrition because it correlates with patient outcomes in wide variety of clinical conditions. It is also a negative acute phase protein; serum levels falls in inflammation and malignancy, as well as cirrhosis, protein-losing enteropathy and zinc deficiency. However, the presence of a prealbumin producing tumor or Hodgkin's disease will increase serum concentrations.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human prealbumin pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). It is recommended the use of the PROT CAL for calibration.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.
 Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL Calibrator dilutions in cNa 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the pre-albumin calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the prealbumin concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	-	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date. Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity. Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spintech 240 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C. The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

SPINTECH 240 APPLICATION

Item Name: Pre-albumin		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		TYPE: Split	
Units	mg/dL	STANDARD	
Decimal	0	#1 0.30 x Cal. Val.	#4 0.75 x Cal. Val.
ANALYSIS	END	#2 0.25 x Cal. Val.	#5 1.00 x Cal. Val.
Type	END	#3 0.50 x Cal. Val.	#6
W.Length 1	340	NORMAL RANGE	
Method	Turbidimetry	SERUM	MALE HIGH
		SERUM	FEMALE
SLOPE	INTER	URINE	
1.000 x +	0		
Item Name: Pre-albumin		DATA POINTS	
ASPIRATION		ABSORBANCE LIMIT	
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double	READ	LOW -3.000
		START	END
		MAIN	42 43
SAMPLE	VOLUME**	SUB	30 31
REAGENT 1	240 µL	ENDPOINT LIMIT 3	
REAGENT 2	60 µL	LINEAR CHECK (N)	
		FACTOR	
		Blank Correction	1.000
		PROBING CHECK	
		START	END
		FIRST	LIMIT (N)
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
MONITOR			
O LEVEL POINT	1		
SPAN	3.000		

** Modify reagents and sample volumes according to the range accepted but keeping always the mentioned ratio.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used the SPINREACT PROT CONTROL (Ref.:1102004). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES²

Between 20 - 40 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

INTERFERENCES

Hemoglobin (16 g/L), bilirubin (40 mg/dL), rheumatoid factors (200 IU/mL), do not interfere. Lipemia (> 8 g/L), interfere. Other substances may interfere ^{5,6}.

NOTES

1. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dall F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Jayle MF et al. Progress in Hematology 1962; 3: 343-359.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

PACKAGING

Ref.: TK1102124 Cont. R1 Diluent: 2 x 24 mL
 R2 Antibody: 2 x 6 mL

Qualitative determination of C-Reactive Protein (CRP)
IVD

Store at 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The CRP-latex is a slide agglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of C-Reactive Protein (CRP) in human serum. Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP are agglutinated when mixed with samples containing CRP.

CLINICAL SIGNIFICANCE

CRP is an acute-phase protein present in normal serum, which increases significantly after most forms of tissue injuries, bacterial and virus infections, inflammation and malignant neoplasia. During tissue necrosis and inflammation resulting from microbial infections, the CRP concentration can rise up to 300 mg/L in 12-24 hours.

REAGENTS

Latex	Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP, pH, 8.2. Preservative
Control + Red cap	Human serum with a CRP concentration > 20 mg/L. Preservative.
Control - Blue cap	Animal serum. Preservative

PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

The CRP-latex sensitivity is calibrated to the Reference Material ERM-DA 472/IFCC.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components are ready to use, and will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test. Always keep vials in vertical position. If the position is changed, gently mix to dissolve aggregates that may be present. Reagents deterioration: Presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Mechanical rotator with adjustable speed at 80-100 r.p.m.
- Vortex mixer.
- Pippettes 50 µL.

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C. Samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolysed or lipemic samples.

PROCEDURE
Qualitative method

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50 µL of the sample (Note 1) and one drop of each Positive and Negative controls into separate circles on the slide test.
3. Mix the CRP-latex reagent vigorously or on a vortex mixer before using and add one drop (50 µL) next to the samples to be tested.
4. Mix the drops with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrers for each sample.
5. Place the slide on a mechanical rotator at 80-100 r.p.m. for 2 minutes. False positive results could appear if the test is read later than two minutes.

Semi-quantitative method

1. Make serial two fold dilutions of the sample in 9 g/L saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the qualitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately after removing the slide from the rotator. The presence of agglutination indicates a CRP concentration equal or greater than 6 mg/L (Note 2 and 3). The titer, in semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

CALCULATIONS

The approximate CRP concentration in the patient sample is calculated as follows:

$$6 \times \text{CRP Titer} = \text{mg/L}$$

QUALITY CONTROL

Positive and Negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation. All result different from the negative control result, will be considered as a positive.

REFERENCE VALUES

Up to 6 mg/L. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Analytical sensitivity: 6 (5-10) mg/L, under the described assay conditions
2. Prozone effect: No prozone effect was detected up to 1600 mg/L (Note 1).
3. Diagnostic sensitivity: 95.6 %.
4. Diagnostic specificity: 96.2 %.

INTERFERENCES

Bilirubin (20 mg/dL), hemoglobin (10 g/L), and lipids (10 g/L), do not interfere. Rheumatoid factors (100 IU/mL), interfere. Other substances may interfere?

NOTES

1. High CRP concentration samples may give negative results (prozone effect). Re-test the sample again using a drop of 20 µL.
2. The strength of agglutination is not indicative of the CRP concentration in the samples tested.
3. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201.
2. M.M. Pepys. The Lancet 1981; March 21; 653 - 656.
3. Chetana Valishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 - 144
4. Yoshitsugu Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 - 27.
5. Yamamoto S et al. Veterinary Immunology and Immunopathology 1993; 36: 257 - 264.
6. Charles Wadsworth et al. Clinica Chimica Acta; 1984; 138: 309 - 318.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACG Press, 1995.

PACKAGING

Ref.: 1200301 50 tests	: 2.5 mL CRP-Latex : 1 mL Control + : 1 mL Control - : 9 x 6 disposable slides
Ref.: 1200302 100 tests	: 5 mL CRP-Latex : 1 mL Control + : 1 mL Control - : 18 x 6 disposable slides
Ref.: 1200305 200 tests	: 2 x 5 mL CRP-Latex : 1 mL Control + : 1 mL Control - : 36 x 6 disposable slides