

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

***Effet de l'agent stimulant de l'érythropoïèse sur les patients
anémiques souffrants de l'insuffisance rénale chronique:***

Physiologie et applications

Réalisé par

LAKAB KAOUTHER & YOUNSI ROUMAÏSSA

Soutenu le 15/07/2021 devant le jury composé de:

<i>Mme DJAZOULI ALIM</i>	<i>PR</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme ZATRA Y</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme MOKRANE A</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme MAADADI A</i>	<i>MD. Néphrologue</i>	<i>Clinique d'hémodialyse</i>	<i>Co-Promotrice</i>
		<i>DIAM MOUZAIA</i>	

Session 2020 / 2021



Remerciements

Tout d'abord

*Nous remercions **Allah**, le tout puissant pour nous avoir guidé vers le chemin du savoir et de la lumière et nous avoir donné le courage, la force et la santé nécessaires de mener à bien ce travail.*

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadreur Mme : MOKRANE AHLEM pour son permanent soutien, ses précieux conseils et suggestions et de nous avoir accordé la confiance pour réaliser ce travail.

Nos gratitude vont au Docteur néphrologue Mme MAADADI AMINA notre Co-promotrice pour son aide qu'a été très précieux et pour sa disponibilité au milieu de tous ses empêchements et toutes ses orientations durant la réalisation de notre travail sans oublier son assistante BELHADEF IKRAM pour ses efforts et sa patience avec nous.

Nous adresse nos sincères remerciements à l'équipe du laboratoire d'hématologie BASHIRA, ZOLA, WISSEM, pour l'effort donné pour qu'on maîtrise bien notre pratique.

Nos sincères remerciements aux membres de jury pour avoir accepté de juger et d'examiner notre travail.

KAOUTHER ET ROUMAÏSSA



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

A ma chère maman,

Les mots n'expriment pas mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices consentis pour mon instruction et mon bien être. Tu as toujours été mon exemple, l'amie, la sœur, la conseillère. Tes prières ont été pour moi d'un grand soutien au cours de ce long parcours. En ce jour j'espère réaliser un de tes rêves, sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donné et fait pour moi. Puisse Dieu, tout puissant, te préserver du mal, te combler de santé, de bonheur et te procurer longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mes chers Grands parents,

Papi et Mamie, en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Ainsi que, pour votre éducation et soutien. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé. Que dieu vous garde pour nous.

A ma chère tante Leila,

T'es la deuxième mère pour moi, t'es toujours là pour me conseiller et m'encourager. Que dieu bénéfice vos jours avec santé et bonheur, et Beaucoup de succès pour votre unique fils Aymen.

A mes chères oncles, cousins et cousines,

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé.

Particulièrement à mon binôme, ma partenaire, ma meilleure amie et la plus douce sœur Maïssa. Je tiens à te remercier pour ton soutien et ce lien tout particulier qui s'est créé entre nous.

KAOUTHER



Dédicaces

Je dédie entièrement ce travail à,

*Mes parents, mes piliers, mes exemples, mes premiers
supporteurs et ma plus grande force.*

*Merci pour votre présence, votre soutien, votre aide
financière, et surtout votre amour, merci de n'avoir jamais
douté de moi. Tout ce que j'espère, c'est que vous soyez
fiers de moi aujourd'hui.*

*À mon cher frère Anes, et à la meilleure des sœurs Meriem
qui m'a vraiment aidée et soutenue toute au long de cette
période.*

*A mes sœurs Soumia et Salsabil qui font de mon univers
une merveille, je leurs souhaite beaucoup de bonheur et de
réussite.*

*À mon âme sœur et ma meilleure amie, ma binôme,
Kaouther, qui depuis des années m'encourage, me
comprend et a toujours été à mes côtés, que dieu lui donne
du bonheur, santé et réussite.*

ROUMAISSA

Sommaire

Liste des Figures	I
Liste des Tableaux	II
Liste des Abréviations	III
Résumé	VII
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I: RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	3
I.1. Rein et insuffisance rénale chronique	4
I.1.1. Généralités sur le rein	4
I.1.1.1. Anatomie du rein	4
I.1.1.2. Physiologie et homéostasie rénale	8
I.1.2. Insuffisance rénale chronique	11
I.1.2.1. Classification des stades de l'IRC	11
I.1.2.2. Complications rénales	12
I.1.2.2.1. Troubles cardio-vasculaires	12
I.1.2.2.2. L'hyperlipidémie	12
I.1.2.2.3. Trouble de l'hémostase primaire	12
I.1.2.2.4. Troubles hydro électrolytique	13
I.1.2.2.5. Troubles du métabolisme phosphocalcique et osseux	13
I.1.2.2.6. Troubles de l'équilibre acide-base	13
I.1.2.2.7. Troubles hématologiques	13
I.2. Anémie et insuffisance rénale chronique	14
I.2.1. Définition	14
I.2.2. Epidémiologie	14
I.2.3. Etiologie de l'anémie de l'IRC	15
I.2.4. Erythropoïèse	15
I.2.4.1. Stades de la maturation érythroïdes	16
I.2.4.2. Régulation de l'érythropoïèse	18
I.2.4.2.1. Régulation positive de l'érythropoïèse	18
I.2.4.2.2. Régulation négative de l'érythropoïèse	19
I.2.5. Physiopathologie	20
I.2.6. Facteurs de risque	21
I.2.6.1. Les toxines urémiques	21

I.2.6.2. L'hyperparathyroïdie	21
I.2.6.3. Hypersplénisme	21
I.2.6.4. La surcharge aluminique	21
I.2.6.5. Carences martiales	21
I.2.6.6. Carence en vitamine B12 et B9	22
I.2.6.7. Inflammation	22
I.2.7. Diagnostic	22
I.2.7.1. Clinique	22
I.2.7.2. Biologique	22
I.2.8. L'érythropoïétine	24
I.2.8.1. Définition	24
I.2.8.2. Structure de l'EPO	24
I.2.8.3. Lieu de production de l'EPO	26
I.2.8.4. Régulation de la synthèse de l'EPO	26
I.2.8.5. Le récepteur de l'érythropoïétine	29
I.2.8.6. Mécanisme d'action de l'EPO sur l'érythroïèse	30
I.2.9. Traitement de l'anémie	31
I.2.9.1. Prise en charge de la carence martiale	31
I.2.9.2. Traitement par r-Hu EPO	32
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	36
II.1. Matériel	37
II.1.1. Matériel biologiques	37
II.1.2. Matériel non biologiques	38
II.2. Présentation des résultats.....	43
CHAPITRE III: RESULTATS	44
CHAPITRE IV: DISCUSSION DES RESULTATS	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	58
ANNEXES	64

Liste des Figures

Figure 1: Localisation anatomique des reins	4
Figure 2: Anatomie du rein.....	5
Figure 3: Structure d'un néphron	7
Figure 4: Le glomérule, la capsule et la filtration glomérulaire.....	8
Figure 5 : Directions de la réabsorption et de la sécrétion sélectives dans le néphron	9
Figure 6: (a) Régulation par rétroaction négative de la sécrétion de l'hormone antidiurétique (ADH), (b) Régulation par rétroaction négative de la sécrétion de peptide auriculaire natriurétique (ANP)	10
Figure 7: Erythropoïèse	16
Figure 8: Différents stades de l'érythropoïèse	17
Figure 9: Expression de différents marqueurs de surface au cours de l'érythropoïèse.....	17
Figure 10: Structure primaire de l'EPO endogène.....	25
Figure 11: Modèle de régulation par le dioxygène du gène de l'EPO	27
Figure 12: Régulation de l'activité de la protéine HIF-1 α par la concentration intracellulaire en oxygène.....	28
Figure 13: Régulation du gène de l'EPO	29
Figure 14: Liaison de l'EPO à son récepteur et initiation de la transduction du signal.....	30
Figure 15: EPO et voie de signalisation JAK/STAT.....	31
Figure 16 : Schéma de la fabrication de l'EPO recombinante.....	33
Figure 17: Répartition des patients selon le sexe	44
Figure 18: Pourcentage des patients répartie selon les types d'anémie	46
Figure 19: Répartition des patients selon le taux d'hémoglobine en mois de Janvier	47
Figure 20: Répartition des patients selon le taux de fer sérique	47
Figure 21: Classification des patients anémique par carence en fer.....	48
Figure 22: Variation de dosage des injections de fer	49
Figure 23: Evolution des taux d'Hb après injection d'EPO	50
Figure 24: Analyseur d'hématologie SYSMEX XP-300.....	70
Figure 25: Analyseur de chimie, iMagic M7.....	71
Figure 26: Mindray BA-88A.....	72
Figure 27: Automate d'immunoanalyse VIDAS	73
Figure 28 : Centrifugeuse clinique DLAB, série DM0412	74
Figure 29: Réactif de fer sérique Marque: BIOLABO	
Figure 30: Réactif de ferritine Marque: BIOMERIEUX.....	75
Figure 31: Réactif d'urée Marque: SPINREACT	75
Figure 32: Réactif de créatinine Marque : SPINREACT	75
Figure 33 : Appareil stationnaire pour hémodialyse FRESENIUS 4008S.....	83
Figure 35: Fer injectable "RAZIFER".....	84



Liste des Tableaux

Tableau I: Classification des stades de l'IRC	11
Tableau II: Répartition des patients selon l'âge	44
Tableau III: Répartition des patients selon l'étiologie de l'IRC	45
Tableau IV: Répartition des patients selon les types d'anémie	46
Tableau V: Moyenne de dosage de l'EPO en fonction des mois.....	49
Tableau VI: Normes de globule rouge.....	80
Tableau VII: Normes d'hémoglobine.....	80
Tableau VIII : Normes d'hématocrite	81
Tableau IX: Normes de VGM	81
Tableau X : Normes de TCMH	82
Tableau XI : Normes de CCMH.....	82

Liste des abréviations

- Ac-SDKP:** The tetra-peptide Acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro
- ADN:** Acide Désoxyribonucléique
- ALAS2:** Delta-amino-lévuinate Synthase 2
- ANC:** Compte absolu de neutrophile
- ANP:** Peptide Auriculaire Natriurétique
- ARNm:** Acide Ribonucléique Messenger
- Asn:** Asparagine
- ASE:** Agent Stimulant L'érythropoïèse
- BFU-E:** Burst Forming Unit-Erythroid
- Box1/Box2:** Boite
- CBC:** Numération sanguine complète
- CBP:** Clinical Blood pressure
- CCMH:** Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
- CD:** Cluster of differentiation
- CERA:** Continuous Erythropoiesis Receptor Activator
- CFU-E:** Colony Forming Unit-Erythroid
- CHO-k1:** Chinese Hamster Ovary-k1
- C-Kit:** Proto-oncogène
- CKD:** Chronic kidney disease
- CRP:** C -réactive protéine
- CSH:** Cellule Souche Hématopoïétique
- CST:** Coefficient de saturation de la transferrine
- DFG:** Débit de Filtration Glomérulaire
- EDTA:** Éthylène-diamine-tétra-acétique
- ELFA:** Enzyme linked fluorescent Assay



EPO: Erythropoïétine

FCR: Force de centrifugation relative

FGF: Facteur De Croissance Des Fibroblastes

FNS: Formule de Numération Sanguine

GATA-1: Globin transcription factor 1

GR: Globule Rouge

ADH: Hormone Antidiurétique

Hb: Hémoglobine

HBS: HIF-binding site

HD: Hémodialyse

HDL: Lipoprotéine de haute densité

HIF: Hypoxia Inducible Factor

HLA-DR: Human Leucocyte antigen-DR isotype

HRE: Hypoxia Reponse Element

HTA: Hypertension Artérielle

HVG: Hypertrophie Ventriculaire Gauche

IEC: Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion

IGF-1: Insuline-like Growth Factor-1

IGF-1-R: Insuline-like Growth Factor-1-Receptor

IL: Interleukin

IRC: Insuffisance Rénale Chronique

IR: Insuffisance Rénale

IRT: Insuffisance Rénale terminale

IRT: Insuffisance Rénale Tardive

I.V: Intraveineuse

JAK: Janus kinase/ Janus Activated kinase

K/DOQI: Kidney Disease Outcome Quality Initiative

KIE: Kidney- inducible element

Kt/V: Fractional Urea Clearance

LIE: Liver inducible element

MPG-époétine: Méthoxy-polyéthyléneglycol-époétine

MRC: Maladie Rénale Chronique

NAD⁺: Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NRE: Negative Regulatory Element

OMS: Organisation mondiale de la santé

PC: Personal computer

PLT: Plaquette

Ph: Potentiel Hydrogène

PI3K/AKT: Phosphoinositide 3-kinase

PTH: Parathormone

pVHL: Von Hippel Lindau tumour suppressor protein

Ras/MAPK: Mitogen-activated Protein Kinase

RBC: Red Blood cell

R-Epo/EPOR: Récepteur de l'érythropoïétine

r-Hu EPO: Recombinant-Human Erythropoïétin

rpm: Rotation par minute

S.C: Sous-cutanée

SCF: Stem Cell Factor

Ser: Sérine



STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription

TCMH: Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

TS: Temps de Saignement

VGM: Volume Globulaire Moyen

WBC: White Blood Cell

RESUME

Le rein est un organe clé du maintien de l'équilibre du corps humain « maintien d'homéostasie », grâce à son rôle dans la filtration glomérulaire dont lequel le rein filtre les déchets toxiques. Régulation hormonale par production des hormones et des vitamines, sécrétion tubulaires, l'équilibre hydrique et aussi l'équilibre électrolytique.

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est la résultante de la perte progressive des fonctions des reins. Reste aussi une maladie silencieuse qui peut survenir sans symptômes apparent.

L'anémie de l'insuffisance rénale chronique est responsable d'une diminution de la qualité de vie et une mortalité élevée liée à un risque accru de complications cardiovasculaires. La principale cause de cette maladie est une insuffisance de production d'un facteur de croissance ou l'érythropoïétine (EPO).

Ce facteur de croissance, produit par le rein, est essentiel aux érythroblastes, en agissant sur leur survie, leur prolifération, et joue un rôle crucial dans les différentes voies de signalisation.

L'objectif de notre étude est de connaître l'importance de l'EPO pour la maturation des érythroïdes et d'établir un diagnostic précoce et une meilleure prise en charge des patients souffrants d'anémie de l'insuffisance rénale chronique. Le diagnostic de l'anémie rénale repose sur une évaluation clinique et biologique.

Le traitement par Agent stimulant de l'érythropoïèse (ASE) a révolutionné la prise en charge de l'anémie rénale qui dépendait longtemps de la transfusion sanguine.

La prise en charge clinique actuelle de l'anémie dans le cas d'IRC comprend ASE et l'administration du fer par voie orale ou intraveineuse, la transfusion sanguine a été limitée aux situations urgentes.

Mots clés: Rein, anémie, insuffisance rénale chronique, érythropoïétine, ASE.

ABSTRACT

The kidney is a key organ of maintaining the balance of the human body "maintenance of homeostasis", thanks to its role in glomerular filtration including which the kidney filters toxic waste, Hormonal regulation by production of hormones and vitamins, tubular secretion, water balance and also electrolyte balance.

Chronic kidney disease (CKD) is the result of the progressive loss of kidney functions. Also remains a silent disease that can occur without apparent symptoms.

Anemia of chronic renal failure is responsible for a decrease in quality of life and high mortality related to an increased risk of cardiovascular complications. The main cause of this disease is insufficient production of a growth factor or erythropoietin (EPO).

This growth factor, produced by the kidney, is essential for erythroblasts, by acting on their survival and proliferation, and plays a crucial role in the various signaling pathways.

The objective of our study is to understand the importance of EPO for the maturation of erythroid and to establish an early diagnosis and better management of patients suffering from anemia of chronic renal failure. The diagnosis of renal anemia is based on clinical and laboratory evaluation.

Erythropoiesis stimulating agents (ESA) therapy revolutionized the management of renal anemia that depended on blood transfusion.

Current clinical management of anemia in chronic kidney disease (CKD) includes ESAs and oral or intravenous iron administration, and blood transfusion has been limited to emergency situations.

Key words: Kidney, anemia, kidney disease, erythropoietin, ESA.

ملخص

تعتبر الكلى عضوًا رئيسيًا في الحفاظ على توازن الجسم البشري "الحفاظ على التوازن" ، وذلك بفضل دورها في الترشيح الكلوي بما في ذلك ترشيح الكلى للنفايات السامة ، والتنظيم الهرموني عن طريق إنتاج الهرمونات والفيتامينات ، والإفراز الأنبوبي ، وتوازن الماء و أيضا التوازن المنحل في الكهرياء .

ينتج مرض الكلى المزمن عن الفقد التدريجي لوظائف الكلى. ويبقى أيضًا مرضًا صامتًا يمكن أن يحدث بدون أعراض ظاهرة .

فقر الدم الناجم عن الفشل الكلوي المزمن هو المسؤول عن انخفاض جودة الحياة وارتفاع معدل الوفيات المرتبط بزيادة خطر الإصابة بمضاعفات القلب والأوعية الدموية. السبب الرئيسي لهذا المرض هو عدم إنتاج كميات كافية من الأريثروبويتين أي عامل النمو .

يعد عامل النمو هذا، الذي تنتجه الكلى ضروري للغاية لأجل خلايا الدم الحمراء الغير ناضجة ، حيث يعمل على بقائها وتكاثرها.

الهدف من عملنا هو معرفة أهمية هرمون الأريثروبويتين لنضج الكريات الحمراء ، والقيام بتشخيص مبكر ورعاية أفضل. يعتمد تشخيص فقر الدم الكلوي على التقييم السريري والبيولوجي.

أحدث العلاج بعوامل تحفيز تكوين الكريات الحمراء (تفاعل/تأثير) كبير في إعادة تأهيل فقر الدم الكلوي الذي يعتمد على نقل الدم.

يشمل العلاج السريري الحالي لفقر الدم في أمراض الكلى المزمنة عوامل تحفيز تكوين الكريات الحمراء وإعطاء الحديد عن طريق الفم أو في الوريد ، وقد اقتصر نقل الدم على حالات الطارئة.

الكلمات المفتاحية: الكلى ، فقر الدم ، مرض الكلى المزمن، هرمون الأريثروبويتين ، EPO ، ASE

Les reins sont très importants pour la santé humaine à cause de leur rôle majeur dans l'organisme. Ils interviennent dans l'épuration du sang de ses déchets en excréant l'urine. Le maintien de l'équilibre acido-basique, hémostasie et la production des hormones qui contrôlent d'autres fonctions de l'organisme.

L'insuffisance rénale chronique (IRC) représente un problème majeur de santé Publique du fait de sa gravité, de son caractère silencieux, des contraintes et du coût qu'elle engendre. Elle est définie par la diminution progressive et irréversible du débit de filtration glomérulaire (DFG).

L'insuffisance rénale chronique est responsable d'une anémie dont la fréquence et l'importance augmentent avec la sévérité de l'insuffisance rénale (AFSSPS, 2005). Elle altère profondément la qualité de vie des patients et conditionne le pronostic par son action sur le cœur (Chertow et *al.*, 2004).

L'anémie des maladies rénales est une anémie hypo proliférative résultant principalement d'un déficit en érythropoïétine (EPO) ou d'une diminution de la réponse à l'EPO, elle tendance à être normocytaire et normochrome (Kautz et *al.*, 2014). Les étiologies principales sont une production diminuée d'érythropoïétine (EPO) endogène et un déficit en fer.

Le sang contient des cellules appelées globules rouges (ou hémoglobine) qui remplissent une mission importante: transporter l'oxygène vers les muscles et les organes. En cas d'anémie, le nombre de globules rouges diminue. Bien souvent, cette pathologie est la conséquence d'une insuffisance rénale.

Les reins en effet, produisent une hormone « l'érythropoïétine (EPO) », qui stimule la production de globules rouges et donc d'hémoglobine. Lorsque votre fonction rénale diminue, votre organisme produit de moins en moins d'EPO, la croissance des globules rouges n'est plus stimulée et une anémie peut alors s'installer (Garitte, 2016).

Traditionnellement, l'anémie était traitée par des transfusions sanguines itératives. Mais le bénéfice de ces transfusions n'est que transitoire avec les risques infectieux connus et les effets indésirables dont les réactions hémolytiques, les accidents de surcharge (fer, œdème pulmonaire aigu) et d'allo-immunisation.

L'introduction, vers la fin des années 80, de l'érythropoïétine recombinante humaine (r-Hu EPO) comme traitement de l'anémie de l'IRC a révolutionné la prise en charge de cette complication. Son rôle est de remplacer l'EPO qui n'est plus fabriquée par les reins et restimuler la croissance des globules rouges (Garitte, 2016).

Les objectifs de notre travail sont de faire l'état des lieux actualisés concernant la physiopathologie, la symptomatologie clinique, le diagnostic et la prise en charge thérapeutique de l'anémie survenant au cours de l'IRC en:

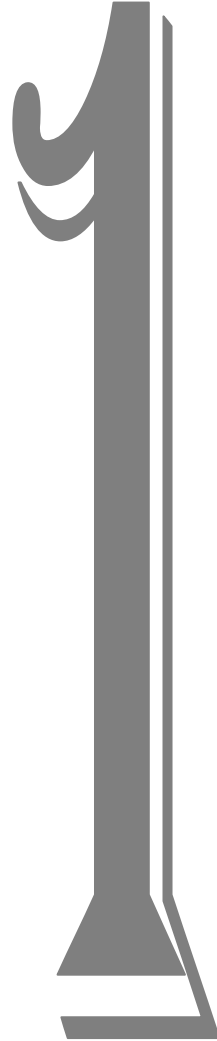
- ✓ Déterminant la fréquence de l'anémie chez les patients insuffisants rénaux chroniques au cours de l'hémodialyse chronique.
- ✓ Déterminant les critères de prise en charge de l'anémie par l'EPO, le fer.
- ✓ Suivant l'évolution du taux d'Hb sous traitement.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons:

- Appris des informations sur la maladie rénale chronique et sur le dysfonctionnement de l'anémie chez les patients insuffisants rénaux chroniques.
- Appris à manipuler aux différents paramètres hématologique et biochimique au niveau de laboratoire d'hématologie.
- Analysé les résultats obtenus en suivant les normes résiduels des différents paramètres.
- Arrivé à diagnostiquer les cas pour prescrire le traitement correct.

Notre étude comporte quatre chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur le rein, l'insuffisance rénale et le mécanisme de l'anémie lors de l'insuffisance rénale et son traitement. Nous décrivons le matériel et les techniques utilisés dans le deuxième chapitre. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième et quatrième chapitre. A la fin, une conclusion et des perspectives sont présentées.

Chapitre



Rappels Bibliographiques

I.1. Rein et insuffisance rénale chronique

I.1.1. Généralités sur le rein

I.1.1.1. Anatomie du rein

Le rein est une paire d'organe en forme de haricot rougeâtre (Figure 01). Situé dans l'espace rétro-péritonéal, entre la douzième vertèbre thoracique et les trois premières vertèbres lombaires, des deux côtés de la colonne vertébrale entre le péritoine et la paroi postérieure de la cavité abdominale (Tortora et Derrickson, 2016). La partie supérieure du rein est protégée par la onzième et la douzième paire de côtes (côtes flottantes). Le rein droit est légèrement plus bas que le rein gauche car le foie au-dessous prend beaucoup de place (Tortora et Derrickson, 2016).

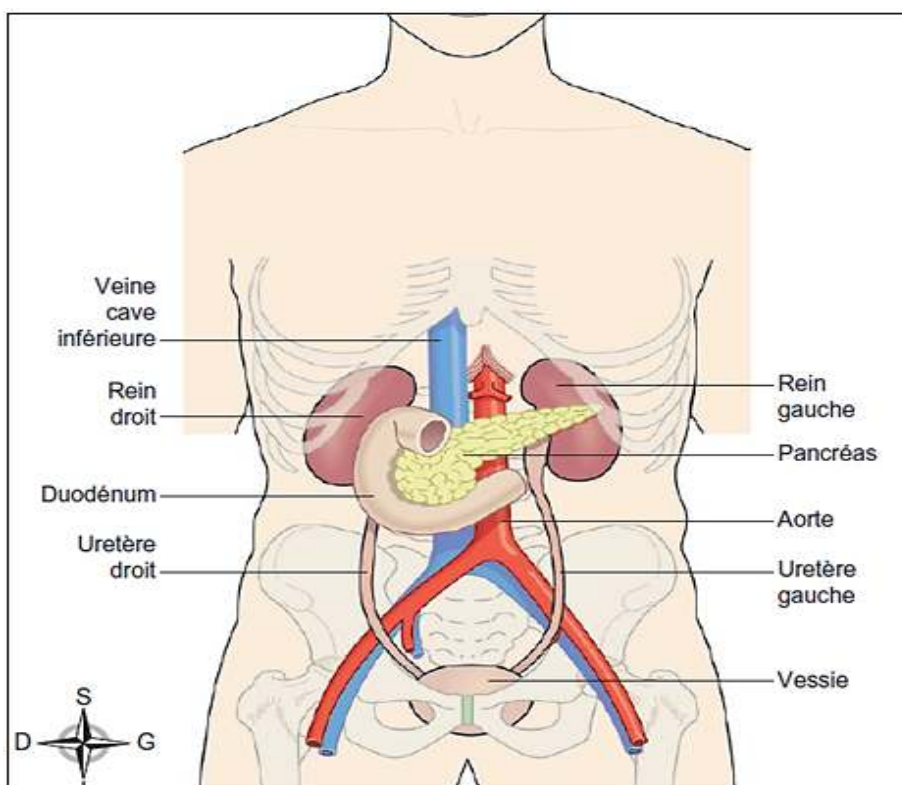


Figure 1: Localisation anatomique des reins (Cossierat et *al.*, 2015)

Le rein révèle deux régions principales : une zone superficielle rougeâtre, le cortex rénal (cortex: écorce), et une zone profonde, brun rougeâtre, la médullaire rénale (medula: moelle) (Figure 02). La médullaire rénal est constituée de plusieurs pyramides rénales de

forme conique. Des prolongements du cortex rénal, appelés colonnes rénales, remplissent les espaces entre les pyramides. Au fur et à mesure de sa formation, l'urine s'écoule par des milliers de conduits papillaires situés à l'intérieur des pyramides rénales et qui s'ouvrent par des papilles rénales dans des structures ressemblant à des coupes, appelées calices rénaux mineurs. Chaque rein contient de 8 à 18 calices mineurs. À partir de ces calices, l'urine passe en deux à trois calices majeurs, puis dans une grande cavité, appelée bassin, ou pelvis rénal (pelvis: bassin) avant de s'écouler dans un uretère, lequel transporte l'urine jusqu'à la vessie où elle est stockée, puis éliminée plus tard du corps (Tortora et Derrickson, 2016).

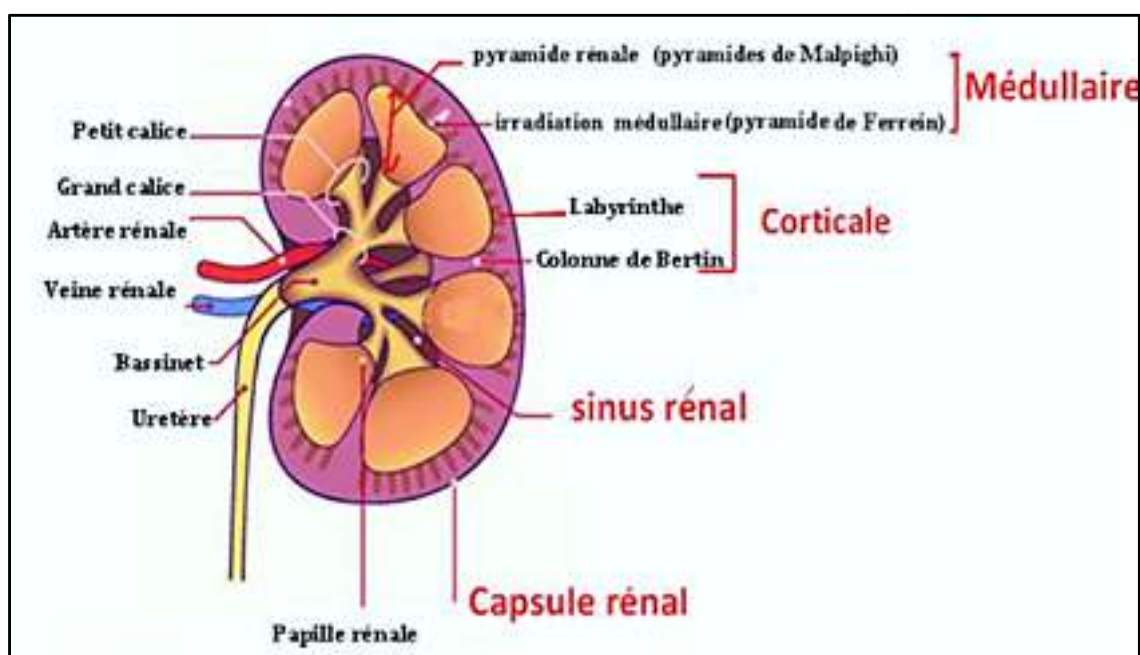


Figure 2: Anatomie du rein (Bouayed, 2014-2015)

➤ **Médulla rénale**

La médulla rénale est constituée de zones triangulaires appelées pyramides rénales (ou pyramides de Malpighi). Les pyramides rénales contiennent des tubules rénaux droits et les tubules collecteurs. Elles sont au nombre de huit à dix par rein. Leur sommet fait saillie dans le sinus rénal et forme les papilles rénales (Henry et Sèbe, 2008).

➤ **Cortex rénal**

Le cortex rénal fait référence à la zone de texture lisse qui s'étend de l'extérieur (capsule rénale) aux bases des structures striées de forme conique appelées pyramides rénales et dans les espaces entre les deux. La capsule rénale est la membrane qui recouvre

la surface du rein (Anthony et Killeen, 2017). Ainsi, le cortex rénal est la zone de filtration glomérulaire. Il mesure 1 cm d'épaisseur entre la base des pyramides rénales et la capsule.

Il s'insinue entre les pyramides, et chaque segment de cortex rénal inter pyramidal est appelé colonne rénale ou colonne de Bertin. Le cortex rénal est constitué d'une portion contournée et d'une portion radiée (Anthony et Killeen, 2017).

La portion radiée est située au contact de la base des pyramides rénales. Elle est constituée de nombreux faisceaux striés: les pyramides corticales (ou pyramides de Ferrein), qui sont des prolongements des stries de la médullaire rénale correspondant à une condensation des tubules rénaux droits et de leur vascularisation. Chaque pyramide rénale, avec la zone de cortex rénal qui l'entoure et la prolonge jusqu'à la capsule du rein, forme un lobule rénal. Raison pour laquelle il existe une lobulation des reins chez l'enfant, qui disparaît chez l'adulte (Hanba, 2019).

➤ **Sinus rénal**

Le sinus rénal est une cavité qui contient les ramifications du pédicule rénal. Ses parois sont constituées de parenchyme rénal. Elles sont irrégulières et faites de saillies coniques, les papilles rénales. Entre les papilles, le parenchyme forme des bourrelets appelés colonnes rénales recouvertes par la capsule. Il existe des papilles régulièrement coniques, les papilles simples, et d'autres résultants de la réunion de plusieurs papilles simples (de deux à quatre) appelées les papilles composées. Le sommet des papilles est perforé de petits trous formant l'aire criblée de la papille rénale (Henry et Sèbe, 2008).

➤ **Le corpuscule rénal**

Le corpuscule rénal ou corpuscule de Malpighi est constitué du glomérule qui est un réseau capillaire dense entouré par une capsule, la capsule de BOWMAN: structure épithéliale à double paroi (Bernard, 2016). Le glomérule est donc formé par un réseau de quatre à six capillaires issus de l'artériole afférente, enroulés autour d'une tige mésangiale, formée de cellules mésangiales, qui ont la propriété d'être contractiles grâce aux filaments d'actine qu'elles contiennent.

Tous les deux vascularisés par une artère rénale principale, qui donne naissance aux artères segmentaires, aux artères interlobaires, aux artères arquées et aux artères interlobulaires (Deray et *al.*, 2012).

➤ **Néphron**

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein qui élabore l'urine évacuée dans les voies urinaires (Figure 03). Chaque néphron est composé de deux parties: le corpuscule et le tubule urinaire. Chaque rein contient 1 à 1,5 million de néphrons qui ne sont pas strictement identiques. Il existe donc une hétérogénéité néphronique.

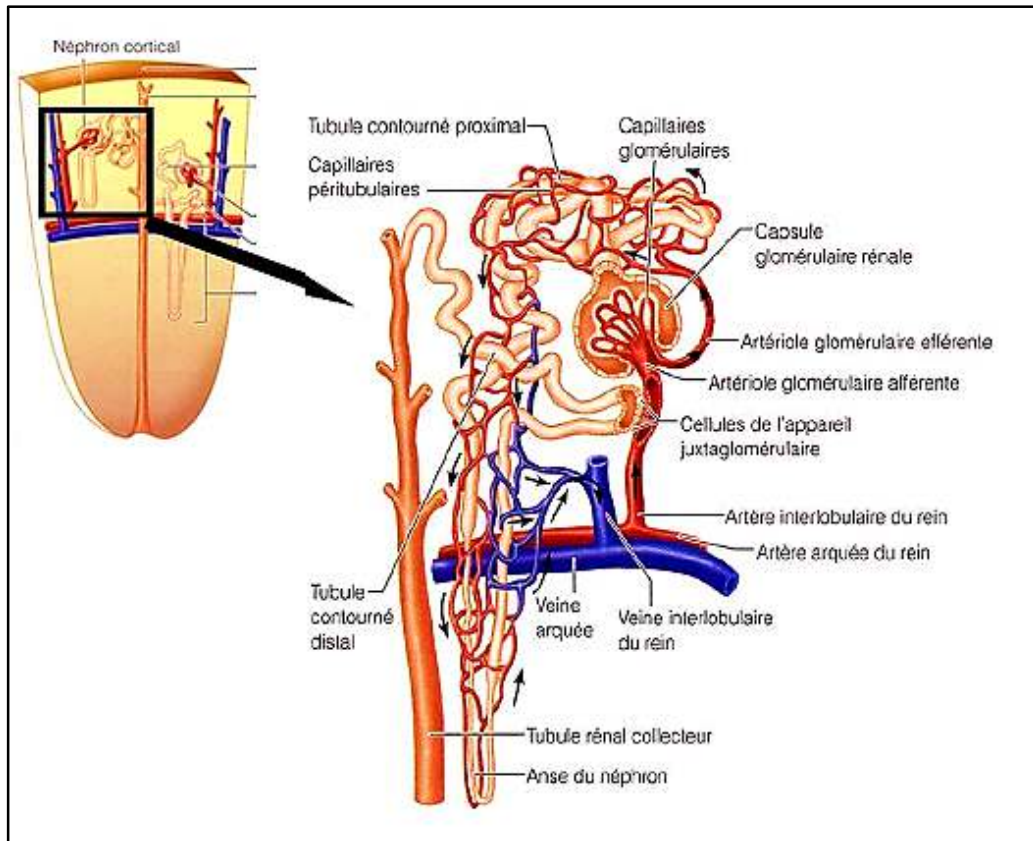


Figure 3: Structure d'un néphron (Zeller, 2016)

Dans chaque rein, l'artère rénale se divise en vaisseaux de plus en plus petits (les artères segmentaire, interlobaires, arquées et interlobulaires), qui acheminent le sang dans les artérioles glomérulaires afférentes (affère: apporter). Chaque artériole glomérulaire afférente se divise en un réseau de capillaires enchevêtrés, appelé glomérule (glomerulus: petite boule).

Les capillaires composant le glomérule se joignent pour former une artériole glomérulaire efférente (efferre: porter hors). Cette artériole se divise pour constituer un nouveau réseau de capillaires. Ces capillaires péri-tubulaires (peri: autour de) finissent par former les veinules péri-tubulaires, les quelles s'élargissent et convergent pour créer des

veines de plus en plus grosses (les veines interlobulaires, arquées et interlobaires). Finalement, toutes ces veines se jettent dans la veine rénale, qui se déverse à son tour dans la veine cave inférieure (Bernard, 2016).

I.1.1.2. Physiologie et homéostasie rénale

La filtration glomérulaire se produit à travers la paroi semi-perméable des capillaires glomérulaires et de la capsule glomérulaire (Figure 04). De l'eau et d'autres petites molécules les traversent facilement, bien qu'une certaine réabsorption se produise ultérieurement. Des cellules du sang, des protéines plasmatiques et d'autres grosses molécules sont trop grandes pour filtrer et restent donc dans les capillaires. Le filtrat dans le glomérule a une composition très semblable à celle du plasma, aux importantes exceptions près que sont les protéines plasmatiques et les globules rouges. La filtration se produit parce qu'il existe une différence de pression entre celle du sang dans le glomérule et celle du filtrat dans la capsule glomérulaire (Netter et Scott, 2019).

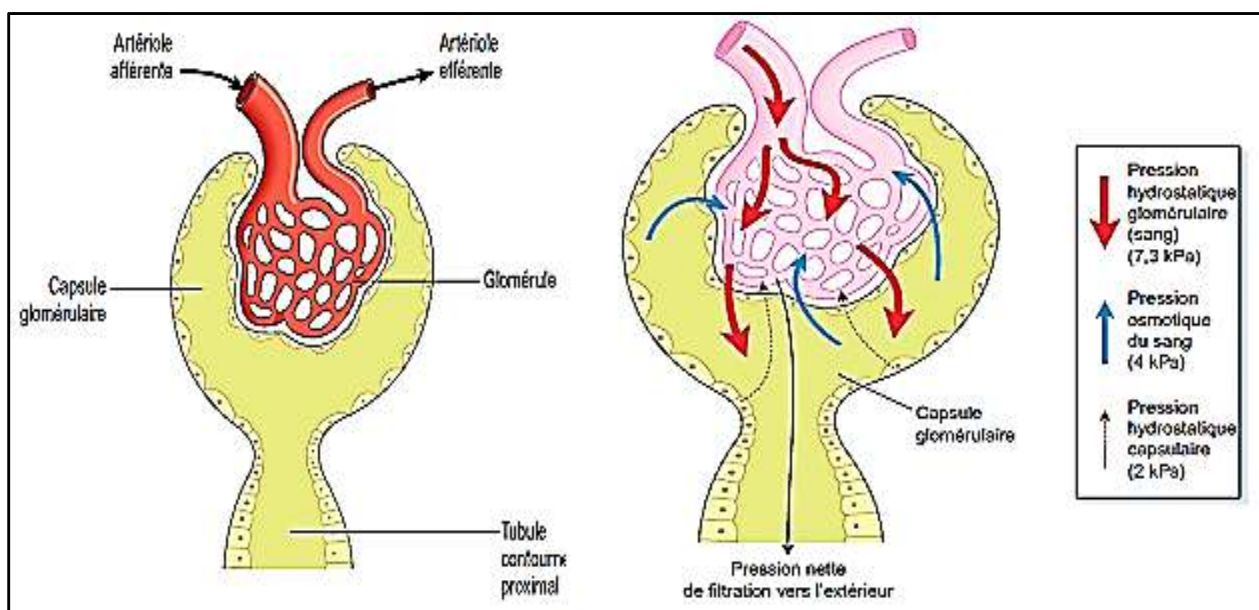


Figure 4: Le glomérule, la capsule et la filtration glomérulaire (Cosserrat *et al.*, 2015)

La plus grande partie de la réabsorption du filtrat par le sang a lieu dans le tubule contourné proximal, dont les parois sont recouvertes de microvillosités pour augmenter la surface d'absorption (Figure 05). Beaucoup de substances sont réabsorbées à cet endroit, notamment une certaine quantité d'eau, des électrolytes et des nutriments organiques

comme le glucose (Cosserat et *al.*, 2015). Une partie de la réabsorption est passive, mais des substances, comme le glucose, sont transportées de façon active.

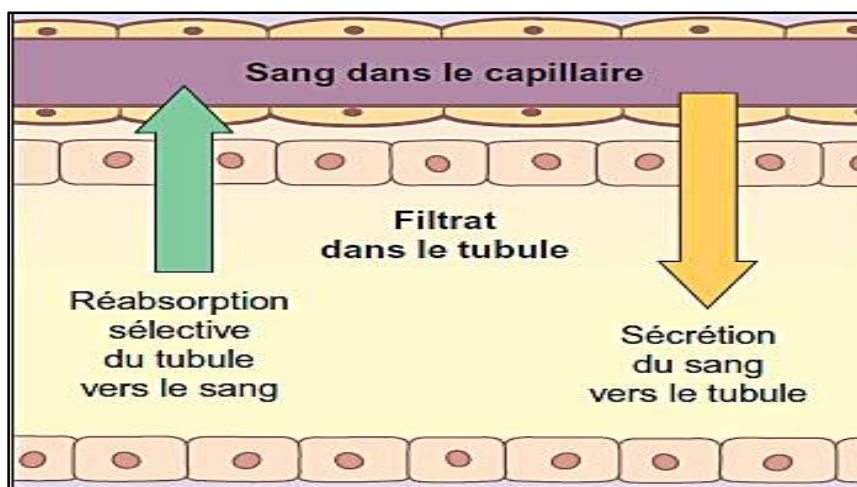


Figure 5 : Directions de la réabsorption et de la sécrétion sélectives dans le néphron
(Cosserat et *al.*, 2015)

➤ Régulation hormonale

Les reins produisent des hormones et des vitamines. Les reins fabriquent des hormones comme l'érythropoïétine (EPO). Ceux-ci sont chargés du transport de l'oxygène dans le sang (Hanba, 2019). Ils transforment également la vitamine D de façon à la rendre active (Calcitriol), qui aide aussi à réguler le taux de calcium cela s'effectue sous l'action d'une hydroxylase localisée dans les mitochondries du tube proximal (Hanba, 2019). Le rein sécrète la rénine, hormone qui est synthétisée par les cellules granulaires de l'artériole afférente, libérée dans l'interstitium, elle permet la formation d'angiotensine I. Cette dernière est convertie en angiotensine II en présence de l'enzyme de conversion (Anthony et Killeen, 2017 ; Hanba, 2019).

➤ Equilibre hydrique et excrétion d'urine

L'équilibre entre les apports liquidiens et les pertes est contrôlé par les reins (Cosserat et *al.*, 2015). De grands volumes d'urine sont excrétés (polyurie), ce qui entraîne une déshydratation malgré une production accrue d'ADH (Figure 06) (Cosserat et *al.*, 2015).

Lorsque le volume sanguin est augmenté, les récepteurs de l'étirement dans les atriums du cœur sont stimulés et les cellules musculaires cardiaques libèrent le peptide auriculaire natriurétique (ANP) (Cosserat et *al.*, 2015). Cela réduit d'une part la réabsorption du sodium et de l'eau par les tubules contournés proximaux et les tubules collecteurs, d'autre

part, il diminue le volume sanguin et réduit l'étirement auriculaire, ce qui provoque l'arrêt de la sécrétion d'ANP. L'augmentation des taux d'ANP inhibe la sécrétion d'ADH et d'aldostérone, accentuant encore la perte de sodium et d'eau (Cosserat et *al.*, 2015).

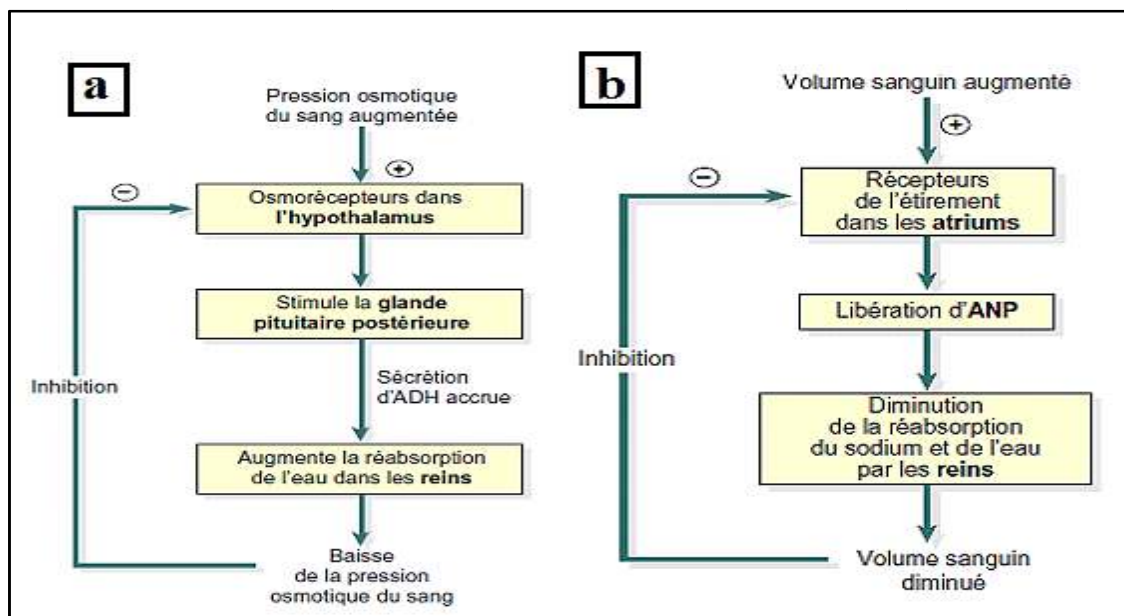


Figure 6: (a) Régulation par rétroaction négative de la sécrétion de l'hormone antidiurétique (ADH), (b) Régulation par rétroaction négative de la sécrétion de peptide auriculaire natriurétique (ANP) (Cosserat et *al.*, 2015)

➤ Equilibre électrolytique

Des modifications de la concentration des électrolytes dans les liquides corporels peuvent être dues:

- Au contenu en eau du corps.
- Au niveau des électrolytes.

Plusieurs mécanismes maintiennent l'équilibre de l'eau et des électrolytes. Le sodium est le cation (ion positivement chargé) le plus abondant dans les liquides extracellulaires, et le potassium est le cation intracellulaire le plus abondant. Le sodium est un constituant de presque tous les aliments, et il est souvent ajouté lors de leur cuisson. Aussi, il est amené en quantités supérieures aux besoins corporels (Cosserat et *al.*, 2015).

La régulation des taux de calcium se fait par la sécrétion de l'hormone parathyroïdienne et de la calcitonine. Afin de maintenir le pH normal du sang, le tubule contourné proximal sécrète des ions hydrogène dans le filtrat où ils se combinent avec des tampons: bicarbonate, ammoniac, et hydrogène phosphate (Cosserat et *al.*, 2015).

I.1.2. Insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est la résultante de la perte progressive des fonctions des reins. Elle est la conséquence commune de la réduction du parenchyme rénal fonctionnel au cours de maladie très diverses affectant les reins ou les voies excrétrices.

Elle se traduit par un ensemble d'altérations cliniques et biologiques qui réalisent le syndrome urémique. Les altérations biochimiques sanguines apparaissent précocement et se majorent peu à peu avec la réduction de la masse néphronique active, tandis que les manifestations cliniques de la toxicité urémique sont plus tardives et ne deviennent patentes qu'au stade avancé. Lorsque le niveau de la fonction rénale devient inférieur à un seuil critique, défini comme l'insuffisance rénale terminale (IRT), le maintien de l'homéostasie n'est plus possible et le recours au différent traitement s'impose (Joly *et al.*, 2011).

I.1.2.1. Classification des stades de l'IRC

La classification universellement utilisée aujourd'hui est celle de K/DOQI. Elle désigne toutes les situations caractérisées par la présence de signes biologiques de néphropathie ou par une réduction du DFG. Cette classification distingue cinq stades de l'IRC présentés dans le tableau I (Dussol, 2011).

Tableau I: Classification des stades de l'IRC (Dussol, 2011)

Stade	Description	DFG (ml/mn/1,73 m ²)
À risque élevé	Existence de facteurs de risque de maladie rénale (diabète, hypertension, antécédents familiaux, sujet âgé, etc.)	≥ 90
1	Signes d'atteinte rénale (protéinurie, taille des reins, etc.) et DFG normal	≥ 90
2	Atteinte rénale et réduction "légère" du DFG	60 à 89
3	Réduction "modérée" du DFG	30 à 59
4	Réduction sévère du DFG	15 à 29
5	Insuffisance rénale terminale (dialyse ou transplantation nécessaire)	< 15

I.1.2.2. Complications rénales

I.1.2.2.1. Troubles cardio-vasculaires

▪ Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle est un des facteurs majeurs de progression de l'IRC et il est essentiellement volo-dépendant, justifiant le régime pauvre en sel et l'utilisation des diurétiques dans l'HTA de l'IRC (Bruno, 2016).

▪ Lésions artérielles accélérées: athérosclérose et artériosclérose

Le risque vasculaire des IRC est beaucoup plus élève, plus de 50 % des décès sont liés à un accident vasculaire au sens large (Bruno, 2016):

- Cardiopathie ischémique (infarctus du myocarde 3 fois plus fréquent).
- Accident vasculaire cérébral.
- Artériopathie des membres inférieurs.

▪ Atteinte cardiaque

Les atteintes cardiaques (Bruno, 2016) sont:

- L'hypertrophie ventriculaire gauche secondaire essentiellement à l'HTA et à l'anémie.
- Les calcifications valvulaires et coronariennes.
- Une cardiopathie urémique d'étiologie pluri-factorielle (ischémie, toxines urémiques...).

I.1.2.2.2. L'hyperlipidémie

Deux profils d'hyperlipidémie (Bruno, 2016), peuvent être observés:

- Une hyper triglyceridémie associée à une diminution du HDL-cholestérol.
- Une hypercholestérolémie souvent majeure en cas de pathologie glomérulaire.
- Il est souhaitable de traiter l'hyperlipidémie, ce qui permet de réduire le risque cardiovasculaire des IRC.

I.1.2.2.3. Trouble de l'hémostase primaire

Les hémorragies sont plus fréquentes au cours de l'IRC avancée (saignements digestifs occultes, règles prolongées) (Bruno, 2016). Seule l'hémostase primaire est

anormale, le Temps de saignement (TS) allongé, résulte du fait d'un défaut d'agrégation plaquettaire et d'une baisse de l'hématocrite.

I.1.2.2.4. Les troubles hydro-électrolytiques

Les troubles du bilan du sodium, de l'eau, et du potassium sont en général tardifs car les néphrons restants sont capables d'augmenter leur fonction d'excrétion (Bruno, 2016).

I.1.2.2.5. Les troubles du métabolisme phosphocalcique et osseux

Les troubles du métabolisme phosphocalcique et osseux sont caractérisés par une hyperparathyroïdie secondaire précoce, un déficit en vitamine D, une hypocalcémie, une hyperphosphatémie liée à la diminution de l'excrétion rénale des phosphates, et l'acidose métabolique aggrave les lésions osseuse (Bruno, 2016).

Le FGF, hormone d'origine osseuse a été récemment identifiée. Son augmentation permet aux deux stades précoces de l'IRC (2 et 3) de maintenir l'excrétion rénale des phosphates (Bruno, 2016).

I.1.2.2.6. Les troubles de l'équilibre acide-base

Une acidose métabolique survient au cours de l'IRC en raison d'un défaut d'élimination de la charge acide. Elle est en règle modérée (sauf lors de certaines tubulopathies), avec une diminution des bicarbonates, une augmentation faible du trou anionique, et un pH conservé jusqu'à un stade évolué des IRC (Bruno, 2016).

I.1.2.2.7. Troubles hématologiques

▪ Anémie normochrome normocytaire arégénérative

Le défaut de synthèse rénale d'érythropoïétine entraîne une anémie. Les conséquences de l'anémie sont: l'asthénie, l'anorexie, l'altération de la qualité de vie, parfois un angor fonctionnel, et l'augmentation du débit cardiaque avec hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) (Bruno, 2016).

L'origine rénale de l'anémie est affirmée sur:

- Le caractère arégénératif: taux de réticulocytes bas.
- Le caractère normochrome, absence de carence martiale (saturation de la transferrine et ferritinémie).
- Le caractère normocytaire, absence de carence en folates et vitamine B12.

- L'absence d'inflammation chronique ou aiguë (CRP: C-Reactive Protein).

I.2. Anémie et insuffisance rénale chronique

I.2.1. Définition

La définition classique de l'anémie est celle proposée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1968 : « taux d'hémoglobine (Hb) dans le sang veineux inférieur à 13 g/dl chez l'homme adulte, inférieur à 12 g/dl chez la femme non enceinte, inférieur à 11 g/dl chez la femme enceinte ». Cette définition est actuellement discutée et les chercheurs soulignent l'intérêt de tenir compte de l'âge dans la mesure où l'Hb diminue chez l'homme de façon physiologique avec l'âge en raison d'une baisse de la testostérone.

L'anémie de l'IRC est généralement normochrome, normocytaire et arégénérative. Cependant, elle peut être microcytaire en cas de carence martiale qui est fréquente au cours de l'insuffisance rénale. L'anémie peut devenir macrocytaire lorsqu'un traitement par érythropoïétine (EPO) est entrepris, car l'EPO augmente la proportion d'érythrocytes jeunes dans la circulation. Une macrocytose doit aussi faire rechercher une carence en vitamine B 12 ou en folates (Brunet *et al.*, 2006).

I.2.2. Epidémiologie

Elle est principalement due à un déficit de synthèse d'érythropoïétine endogène qui est produite par le rein, conduisant à une augmentation de la prévalence et de la sévérité de l'anémie avec l'augmentation de la sévérité de l'IRC (Janus et Launay-Vacher, 2011).

En Amérique du nord (Etats-Unis). La fréquence de l'anémie dans l'insuffisance rénale chronique est proportionnelle à la sévérité de la maladie, autrement dit, à la baisse du débit de filtration glomérulaire (Boffa *et al.*, 2009). L'anémie associée à l'insuffisance rénale chronique due à la baisse de la sécrétion endogène de l'érythropoïétine (EPO), à la production de cytokines inflammatoires et enfin à la carence martiale. L'interaction, en terme pronostique (mortalité), entre l'insuffisance rénale chronique et l'anémie a été étudiée dans une cohorte de 17 030 sujets âgés ≥ 65 ans (Boffa *et al.*, 2009).

En France, les études montrent que 4 personnes sur 5 atteintes de maladie rénale chronique à un stade avancé c'est-à-dire, une perte de plus de 50 % de la fonction rénale ne savent pas qu'elles en sont atteintes (Couchoud *et al.*, 2013 ; Couchoud *et al.*, 2009).

Au Maroc, une étude sur l'estimation de la prévalence de l'IRC a été menée en 2009 et 2010 (Artz et *al.*, 2004), dans le premier rapport annuel, la prévalence brute de l'insuffisance rénale chronique terminale a été estimée à 267,1 mph dans quatre régions du Maroc (Bahri et *al.*, 2014). L'incidence de l'insuffisance rénale chronique terminale a été estimée entre 100 et 150 mph (Raj, 2009).

En Algérie, malheureusement, aucune étude épidémiologique exacte n'est publiée en ce qui concerne la prévalence de l'anémie au cours de l'insuffisance rénale chronique.

I.2.3. Etiologie de l'anémie de l'IRC

L'insuffisance rénale chronique représente une des principales causes d'anémie normocytaire arégénérative. L'anémie est une complication fréquente de l'insuffisance rénale chronique (IRC). L'anémie de l'IRC est multifactorielle. Une carence en fer et un déficit en érythropoïétine (EPO) sont les deux grandes anomalies (Chaouchi et Haouas, 2018), qui peuvent entraîner une anémie au cours de l'IRC:

- ✓ La carence en fer est due aux petits saignements du tube digestif (gastrites) et aux pertes de sang qui surviennent dans le circuit de dialyse. La carence est due aussi à un blocage du fer à l'intérieur de certaines cellules du foie et de l'intestin.
- ✓ L'EPO est l'hormone qui stimule la fabrication des globules rouges dans la moelle osseuse. Dans l'IRC, il existe une diminution de la production d'EPO par les reins ainsi qu'une résistance à l'action de l'EPO due à certaines toxines urémiques.

L'exploration de l'anémie doit être débutée dès le stade d'anémie modérée. Les principales causes de l'anémie de l'IRC sont une insuffisance de production d'érythropoïétine en réponse à l'anémie et une résistance à l'action de l'EPO. Celle-ci est due à la carence martiale et à des inhibiteurs de l'érythropoïèse dont les principaux sont les cytokines pro-inflammatoires (Brunet et *al.*, 2006).

I.2.4. Erythropoïèse

L'érythropoïèse est un processus en plusieurs étapes qui comprend l'engagement précoce des cellules souches hématopoïétiques (CSH), la différenciation érythroïde terminale et la maturation des réticulocytes (Figure 07). Ces cellules, anucléées, de forme biconcave et dont le composant principal est l'hémoglobine, permettent le transport de l'oxygène dans tous les tissus de l'organisme (Ribeil, 2010).

Il existe deux étapes principales de l'érythropoïèse:

- ✓ L'érythropoïèse précoce pendant laquelle une cellule souche hématopoïétique médullaire restreint sa multipotence et s'engage définitivement dans la voie de la lignée rouge. Cette phase correspond à l'activation d'un programme complexe de différenciation aboutissant à l'apparition de progéniteurs érythroïdes unipotents.
- ✓ L'érythropoïèse tardive correspond à la phase de maturation terminale de ces progéniteurs, sous la dépendance de l'érythropoïétine. Cette phase est marquée à la fois par l'acquisition des caractéristiques cytologiques et phénotypiques spécifiques de la lignée rouge et par une expansion massive et finement régulée du compartiment érythroïdes jusqu'au stade réticulocytaire.

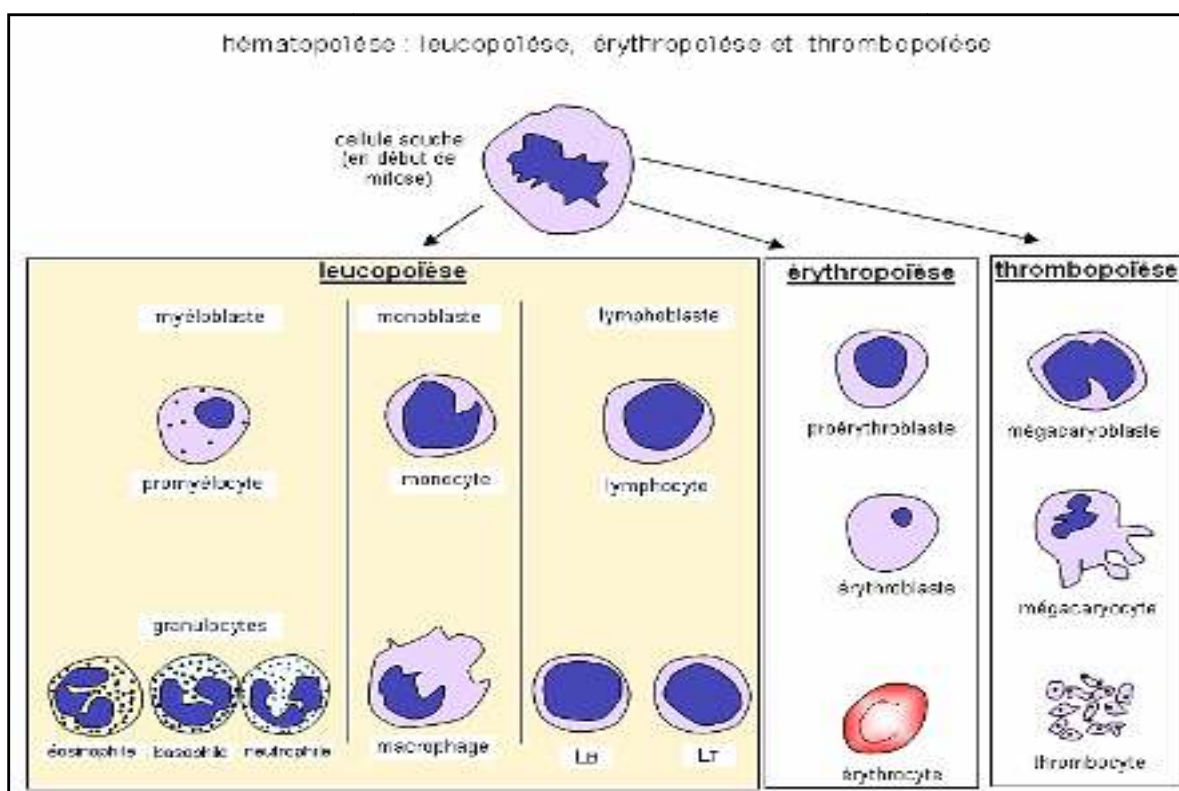


Figure 7: Erythropoïèse (Alain, 2009)

I.2.4.1. Stades de la maturation érythroïdes

Partant d'une population indifférenciée de cellules souches progéniteurs, l'engagement érythroïde est évident dès 8 jours de culture. Les cellules suivent alors les stades physiologiques de la différenciation: proérythroblastes, érythroblastes basophiles, acidophiles, réticulocyte, jusqu'au globule rouge mature qui a expulsé son noyau (érythrocyte) (Figure 08).

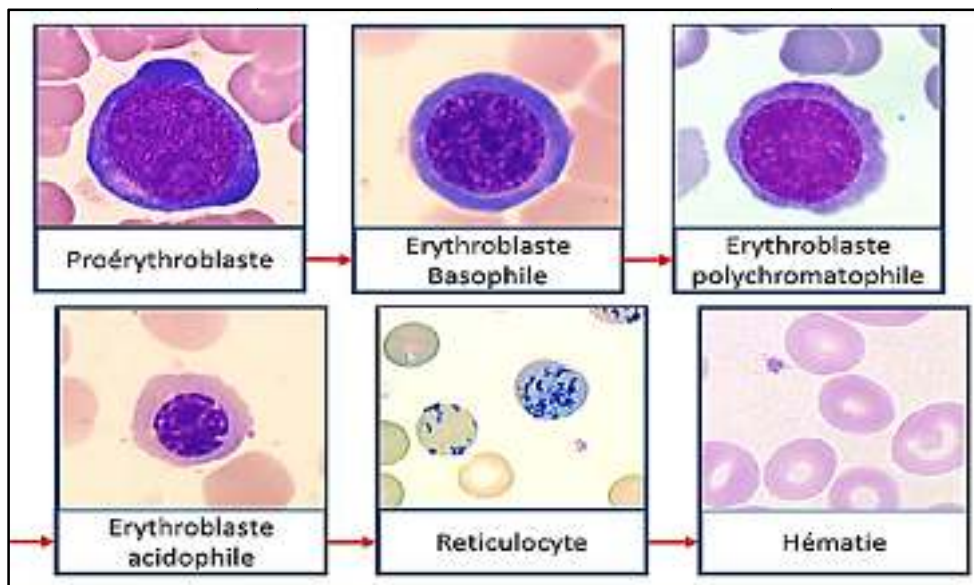


Figure 8: Différents stades de l'érythropoïèse (Alahmadi, 2016)

Les différents stades de l'érythropoïèse peuvent aussi être mis en évidence par l'acquisition ou la perte d'un certain nombre de marqueurs de surface (Figure 09). En effet, les progéniteurs érythroïdes les plus précoces expriment l'antigène CD34 et le récepteur au Stem Cell Factor (SCF) C-Kit.

A partir du stade BFU-E, le récepteur à l'érythropoïétine (R-Epo) commence à être exprimé avec un maximum d'expression au niveau des CFU-E (Alahmadi, 2016). Cependant, celui-ci est difficilement détectable par cytométrie en flux en raison de la faible densité de récepteur présent à la surface des cellules (Brugnara et *al.*, 2006).

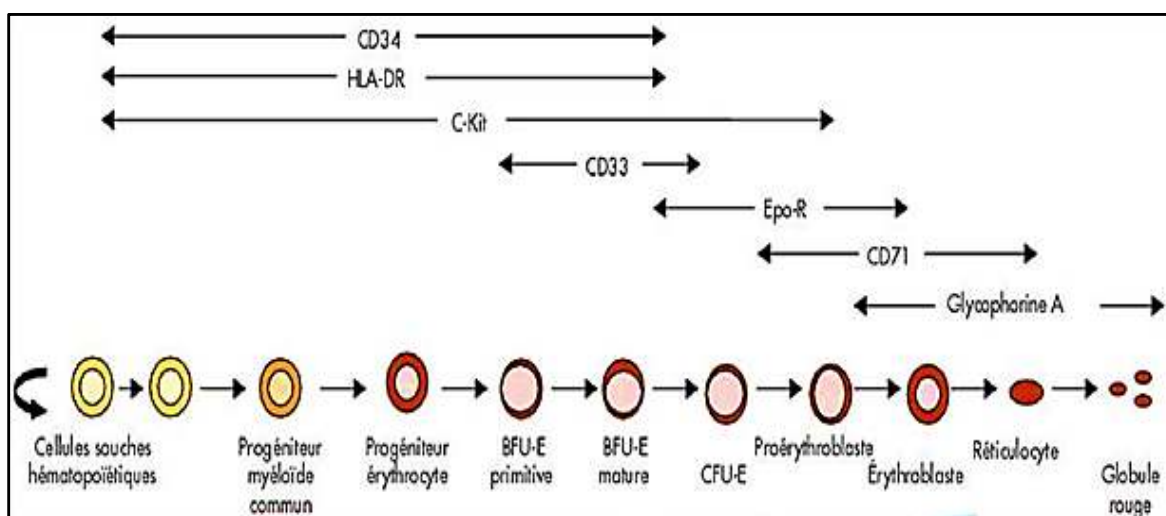


Figure 9: Expression de différents marqueurs de surface au cours de l'érythropoïèse (Alahmadi, 2016)

I.2.4.2. Régulation de l'érythropoïèse

L'érythropoïèse est un processus qui se déroule dans différents organes au cours du développement.

I.2.4.2.1. Régulation positive de l'érythropoïèse

- **Régulation de l'érythropoïèse par des facteurs de transcription**

L'engagement des progéniteurs multipotents vers la voie érythroïde semble s'effectuer grâce à une combinaison d'expression de facteurs de transcription qui peuvent activer la transcription de gènes érythroïdes ou diminuer la transcription de gènes cibles spécifiques d'autres lignages. Parmi eux, GATA-1 est le facteur indispensable à l'érythropoïèse (Arnold et *al.*, 1985).

GATA-1 fait partie de la famille des facteurs de transcription nommé GATA du fait de leur capacité à se lier aux motifs situés sur les promoteurs cibles. Ce sont des facteurs de transcription à deux doigts de zinc : un doigt C-terminal nécessaire à la liaison de l'ADN et un doigt N-terminal nécessaire à l'interaction avec d'autres facteurs de transcription ou co-facteur (Alahmadi, 2016). GATA-1 est nécessaire dans les phases tardives de l'érythropoïèse puisqu'il régule, positivement et progressivement, l'expression des gènes érythroïdes comme les chaînes α et β des globines (Eleouet et *al.*, 1989). D'autre part, GATA-1 permet la différenciation terminale en inhibant la progression du cycle cellulaire au niveau de la phase G1/S et en diminuant l'expression du proto-oncogène c-kit (tyrosine-protein kinase kit) (Chodosh et *al.*, 2003). L'activité de GATA-1 est finement régulée durant l'érythropoïèse au niveau transcriptionnel, traductionnel et post-traductionnel. Son expression augmente progressivement lors de la différenciation. En effet, GATA-1 se fixe à son propre promoteur et au niveau de sa séquence activatrice régulant ainsi positivement sa transcription (Kuroha et *al.*, 2000). La dégradation de GATA-1 semble nécessaire à la différenciation terminale puisque la surexpression de GATA-1 bloque la différenciation de cellules érythroïdes (Ferreira et *al.*, 2005).

- **Régulation hormonale de l'érythropoïèse**

La production constante de globules rouges nécessite différents composants incluant: le fer indispensable à la synthèse de l'hème et donc de l'hémoglobine, l'acide folique et la vitamine B12 pour la synthèse de l'ADN ou encore la vitamine B6 cofacteur de l'ALAS2 (Delta- Aminolevulinate Synthase 2), enzyme impliquée dans la synthèse de l'hème.

L'IGF- 1 « Insulin-like Growth Factor-1 » et l'insuline stimulent la formation de BFU-E et de CFU-E humaines et murines (Bauer et *al.*, 1982). Le récepteur IGF-1-R est exprimé à la surface des progéniteurs érythroïdes (Pertusini et *al.*, 1998). IGF-1 (comme l'insuline) agit de façon synergique avec d'autres facteurs de croissance comme le SCF sur la prolifération et la survie des érythroblastes ou l'Epo lors de la différenciation érythroïde terminale (Krantz et Muta, 1993).

- **Régulation de l'érythropoïèse par des facteurs de croissance**

Les cytokines jouent un rôle crucial dans la régulation positive de l'érythropoïèse: stem cell factor, le SCF est essentiel à la prolifération, à la survie et à la différenciation des BFU-E immatures en CFU-E et les proérythroblastes (Bondurant et *al.*, 1994). Le SCF permet donc l'amplification d'un compartiment de progéniteurs immatures (Bondurant et *al.*, 1994).

L'Epo régule l'érythropoïèse selon un mode endocrine. Elle agit sur ses cellules cible en activant son récepteur spécifique (Epo-R) présent à leur surface. Des études récentes ont montré que l'Epo-R jouait non seulement un rôle dans l'érythropoïèse, mais surtout participait à une fonction globale de protection des tissus vis à vis de l'hypoxie. L'ablation du rein entraîne une perte de la réponse érythropoïétique à l'hypoxie (Geissler et *al.*, 1998).

L'Epo et le SCF agissent de façon synergique pour amplifier l'érythropoïèse. Le SCF sensibilise les cellules à l'Epo et ainsi le taux d'Epo nécessaire à la prolifération érythroïde et à la survie est moindre. Parallèlement, le SCF ralentit la différenciation des progéniteurs érythroïdes, permettant ainsi l'expansion des cellules érythroïdes (Ribeil, 2010).

1.2.4.2.2. Régulation négative de l'érythropoïèse

- **Production d'EPO**

La production d'Epo est bien contrôlée par l'état d'oxygénation du parenchyme rénal. Une quantité suffisante de globules rouges est produite, l'oxygénation en résultant induit la diminution de production d'Epo par le rein, via la dégradation de HIF (facteur induit par l'hypoxie). En plus de la diminution de la production d'Epo, une modulation de l'action de l'Epo a lieu après l'interaction Epo/Epo-R par l'endocytose et la dégradation d'Epo et d'Epo-R par le protéasome des progéniteurs érythroïdes (Ribeil, 2010). Ces niveaux de régulation négative contribuent au contrôle précis de la concentration d'Epo

dans le sang, permettant de prévenir une polyglobulie secondaire après la reconstitution d'une hémorragie ou d'une hémolyse (Ribeil, 2010).

▪ Rôle des capasses dans la régulation de l'érythropoïèse

Les capasses participent à la régulation de l'érythropoïèse de deux façons: d'une part, elles permettent de diminuer la production médullaire d'érythrocytes lorsque le taux d'Epo est bas, et d'autre part, comme dans d'autres systèmes de différenciation avec ou sans énucléation, les capasses peuvent aussi jouer un rôle dans la maturation des précurseurs érythroïdes (Ribeil, 2010).

I.2.5. Physiopathologie

L'anémie de l'insuffisance rénale chronique est une maladie multifactorielle. Plusieurs mécanismes physiopathologiques peuvent conduire à la progression de cette maladie (Baaiza, 2015):

- Une insuffisance de l'érythropoïèse en rapport avec un déficit de synthèse d'érythropoïétine, une action directe inhibitrice des toxines urémiques, la fibrose médullaire favorisée par l'hyperparathyroïdie, la carence en fer et en vitamines (B12 et folates).
- Une diminution de la durée de vie des hématies (membrane érythrocytaire fragilisée par les toxines urémiques) dont l'importance est bien moindre.
- Présence d'une inflammation chronique.
- Accumulation du fer dans le système des phagocytes mononuclées: l'anémie due à la diminution de l'érythropoïèse s'accompagne d'une séquestration du fer présent dans les globules rouges dans le système des phagocytes mononuclées.
 - Des pertes sanguines augmentées.
 - Surcharge aluminique.

L'hypothèse physiopathologique actuelle explique la diminution de la synthèse de l'EPO dans l'insuffisance rénale par l'installation progressive d'une fibrose interstitielle et une apoptose des cellules myofibroblastiques à l'origine de la synthèse de l'EPO. Le déclin du débit de filtration glomérulaire corrèle vraisemblablement à celui de la synthèse d'EPO. Néanmoins, en 2010, un groupe de recherche californien a émis l'hypothèse qu'en

cas d'insuffisance rénale, la production d'EPO est réduite en raison d'une mauvaise sensibilité à l'oxygène (Bernhardt et *al.*, 2010).

I.2.6. Facteurs de risque

I.2.6.1. Les toxines urémiques

Chez les patients atteints de maladie rénale chronique, les toxines urémiques favorisent l'aggravation de l'anémie, en association avec les produits d'inflammation, en réduisant la durée de vie des érythrocytes, car ils sont capables d'induire des changements fonctionnels et une perturbation de la membrane érythrocytaire, et ainsi perturbant l'érythropoïèse (Belo et *al.*, 2019).

I.2.6.2. L'hyperparathyroïdie

L'hyperparathyroïdie peut majorer l'anémie par l'intermédiaire d'une myélofibrose, et cause une pancytopenie. L'anémie est améliorée chez certains patients hémodialysés après parathyroïdectomie subtotale. Il semble que l'érythropoïèse soit plus limitée par la fibrose médullaire que par les taux élevés de parathormone (PTH) (Mohini et *al.*, 1993). La PTH à un taux élevé pourrait agir sur la durée de vie des hématies (Donnelly et Marticorena, 2004). Cependant, le rôle de l'hyperparathyroïdie paraît mineur par rapport à d'autres facteurs tels que la carence martiale et l'inflammation (Drüeke et Eckardt, 2002).

I.2.6.3. Hypersplénisme

La destruction excessive des hématies dans la rate entraîne une splénomégalie d'hyperfonction. Cette splénomégalie représente une cause autonome de raccourcissement de la durée de vie des hématies par la majoration de l'hémolyse (El-Mahdaoui, 2021).

I.2.6.4. La surcharge aluminique

Un phénomène de compétition entre l'aluminium et le fer a été rapporté tant au niveau de l'absorption intestinale que du transport plasmatique ou de la liaison avec la ferritine (Alahmadi, 2016).

I.2.6.5. Carences martiales

L'anémie ferriprive est une complication courante de la maladie rénale chronique (MRC). La carence absolue en fer est définie par des réserves de fer fortement réduites ou absentes, tandis qu'une carence fonctionnelle en fer est définie par des réserves de fer

adéquates mais la disponibilité du fer est insuffisante pour l'incorporation dans les précurseurs érythroïdes (Gafer-Gvili, 2019).

I.2.6.6. Carence en vitamine B12 et B9

Plusieurs vitamines B sont impliquées dans la synthèse de l'hémoglobine (Hb) ou le métabolisme du fer, notamment la riboflavine (B2), la pyridoxine (B6), la cobalamine (B12) et le folate. Les carences de ces nutriments ont été associées à l'anémie (Alahmadi, 2016). La carence en vitamine B12 (cobalamine) et en folate peut entraîner une anémie macrocytaire. La carence en folate peut également entraîner une diminution de la durée de vie des érythrocytes (Chaparro et Suchdev, 2019).

I.2.6.7. Inflammation

L'inflammation, qui commence tôt chez les patients atteints d'une maladie rénale, est particulièrement développée chez les patients atteints d'insuffisance rénale tardive (IRT) sous hémodialyse (HD) (Belo et *al.*, 2019).

I.2.7. Diagnostic

I.2.7.1. Clinique

De nombreuses manifestations ont été décrites au cours de l'anémie par déficit de l'EPO. Ces descriptions reposent soit sur des notions classiques concernant l'anémie chronique, soit sur des observations faites chez des patients avec IRC traités par EPO (Alahmadi, 2016).

Il faut cependant souligner que ces observations ne permettent pas de démontrer avec certitude l'existence d'une relation de cause à effet entre l'anémie et les manifestations. Seules des études d'intervention comparant des patients recevant des traitements différents peuvent démontrer ce type de relation.

I.2.7.2. Biologique

- **Hémogramme**

L'anémie de l'IRC est généralement normochrome, normocytaire et arégénérative (Alahmadi, 2016). Cependant, elle peut être microcytaire en cas de carence martiale qui est fréquente au cours de l'IRC. L'anémie peut devenir macrocytaire lorsqu'un traitement par érythropoïétine (EPO) est entrepris, car l'EPO augmente la proportion d'érythrocytes

jeunes dans la circulation. Une macrocytose doit aussi faire rechercher une carence en vitamine B12 ou en folate (Martens, 2009).

- **Le Bilan martial**

- **Fer sérique**

Le fer sérique est un mauvais marqueur de la carence martiale. Son taux sérique est sujet à de nombreuses variations : en fonction des apports alimentaires, des traitements ou de l'existence de l'hémolyse. En revanche, son dosage est nécessaire à la mesure de la capacité de fixation de la transferrine. D'autres protéines peuvent jouer le rôle de transporteur comme l'albumine ou la lactoferrine. Cependant la transferrine est le seul transporteur capable d'alimenter la moelle en fer (Rymer, 1996).

- **Coefficient de saturation de la transferrine**

Il est également considéré comme le reflet des stocks de fer de l'organisme. Il correspond au coefficient de liaison du fer à sa principale protéine de transport (EL Azami, 2013).

- **Ferritine**

L'exploration indirecte du pool de réserve repose sur les dosages de la ferritine sérique ou plasmatique et érythrocytaire. Chez le sujet sain, la concentration en ferritine plasmatique ou érythrocytaire est corrélée à la ferritine tissulaire et donc au fer de réserve.

Une ferritine basse prouve donc que le fer en réserve est insuffisant, mais pas que l'érythropoïèse est concernée, et de ce fait elle ne permet pas de dire si une anémie est imputable à une carence martiale ou non. La ferritine érythrocytaire serait peu sensible à l'inflammation mais son dosage est rarement pratiqué en l'absence d'automatisation de la phase de lavage des érythrocytes (Mark, 2004).

- **Dosage de l'EPO**

Les seules techniques de dosage de l'érythropoïétine consistaient à mesurer son activité biologique. *In vivo*, chez l'animal après blocage de la production de l'érythropoïétine endogène par transfusion ou hypoxie, l'activité érythropoïétique de l'échantillon à tester est proportionnelle à l'incorporation du fer dans les globules rouges nouvellement formés (Marfaing-Koka et Tertian, 2000). *In vitro*, l'activité érythropoïétique est mesurée en culture, en utilisant des cellules de moelle ou des cellules de foie fœtal de souris (Marfaing-Koka et Tertian, 2000). L'érythropoïétine est présente dans le sang

et dans les urines ou il est possible de mesurer les variations de sa concentration sérique et de son excrétion par 24 heures (Marfaing-Koka et Tertian, 2000).

I.2.8. Erythropoïétine

L'hématopoïèse est un phénomène complexe, contrôlé positivement et négativement par des glycoprotéines appartenant à la famille des cytokines. Parmi ces cytokines l'érythropoïétine (Epo).

I.2.8.1. Définition

L'érythropoïétine (Epo) stimule à la fois la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices érythropoïétiques. Produite principalement dans le rein et le foie, sa synthèse est induite par l'hypoxie tissulaire (Jauzein et Audran, 2018). En cis du gène codant pour l'Epo, des séquences géniques déterminent la spécificité tissulaire de sa production. Une courte séquence d'ADN en 3' du gène joue un rôle d'amplificateur de la transcription lorsqu'elle lie le facteur HIF-1 (hypoxia-induced-factor). Ce facteur ubiquitaire stimule, dans les conditions d'hypoxie, la transcription d'autres gènes dans des cellules ne produisant par l'Epo. Le récepteur de l'Epo appartient à la superfamille des récepteurs des cytokines (Jauzein et Audran, 2018). La transmission intracellulaire du signal relayé par ce récepteur emprunte les voies de la PI 3-kinase et de Ras/MAP kinase. Certaines polyglobulies secondaires sont liées à une production aberrante d'Epo par des cellules tumorales tandis que les polyglobulies primitives et certaines érythrocytoses familiales résultent d'une hypersensibilité du récepteur.

Dès son apparition sur le marché, l'Epo recombinante est devenue le traitement de choix de l'anémie de l'insuffisance rénale chronique terminale et préterminale (Jauzein et Audran, 2018). L'utilisation de cette cytokine pour d'autres indications est actuellement envisagée. La thérapie génique par l'Epo est en cours d'étude.

I.2.8.2. Structure de l'EPO

L'EPO humaine est une glycoprotéine de 30 kDa, contenant 165 acides aminés. La masse molaire moléculaire moyenne d'un acide aminé étant de 110 Da, une protéine de 165 acides aminés devrait avoir une masse molaire moléculaire de seulement 18 kDa environ. L'excès de masse de l'EPO est dû à la présence de quatre motifs glucidiques qui sont greffés sur certains acides aminés (Figure 10), ceux-ci représentant environ 40 % de la masse moléculaire de l'EPO. Ces quatre chaînes glucidiques contiennent, chacune, entre

deux et quatre molécules d'acide sialique. Il existe ainsi plusieurs isoformes de l'EPO, définies par le nombre de molécules d'acides sialiques (entre 4 et 14), leur comportement biologique, l'affinité pour leur récepteur et leur demi-vie (Jauzein et Audran, 2018).

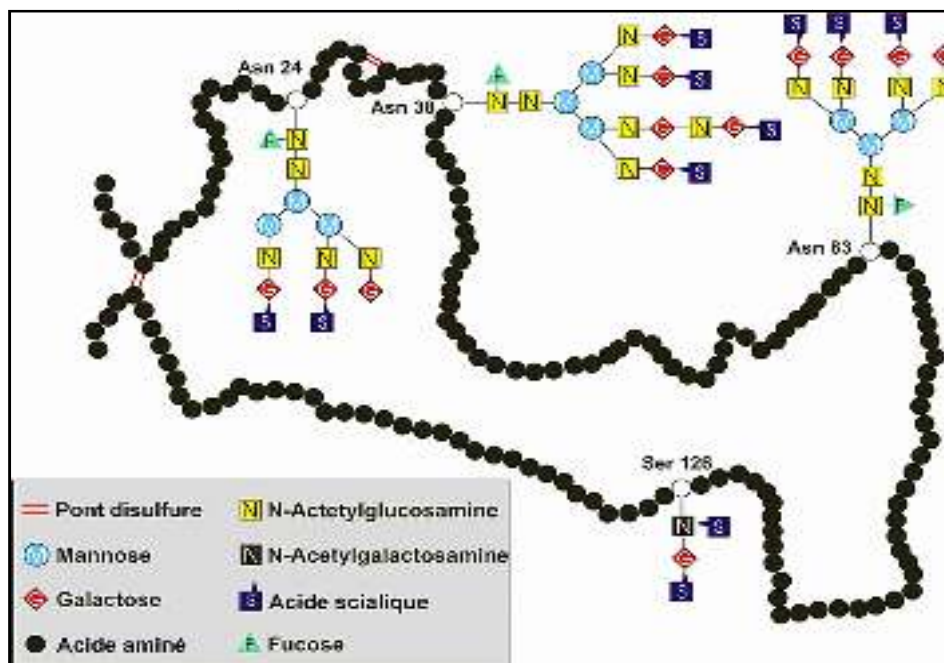


Figure 10: Structure primaire de l'EPO endogène (Jauzein et Audran, 2018)

L'EPO comporte un cœur protéique et 4 chaînes glucidiques. Il existe quatre sites de glycosylation. Trois de ces sites correspondent à de la N-glycosylation (sur l'acide aminé asparagine: Asn 24, 38 et 83), ces acides aminés portent des arbres glucidiques relativement importants, et un site de O-glycosylation (sur la sérine: Ser 126), dont le motif glucidique est plus petit (Jauzein et Audran, 2018).

L'EPO est une cytokine qui a pour particularité de ne pas être produite par des cellules du système immunitaire. Elle partage une structure secondaire commune avec de nombreuses cytokines, au sein de la sous-famille de type IL-2 (interleukine de type 2), Cette structure secondaire se caractérise par la présence de 4 hélices alpha antiparallèles (Jauzein et Audran, 2018). Par ailleurs, le récepteur de l'Epo possède un domaine « récepteur de cytokines » commun avec plusieurs interleukines (IL 2, 4, 7 et 9), la prolactine et l'hormone de croissance.

I.2.8.3. Lieu de production de l'EPO

Les cellules produisant l'Epo dans le rein ont été identifiées en 1988 comme une sous population de cellules interstitielles péritubulaires situées dans le cortex rénal et la médullaire externe. Toutefois, certains auteurs ont décrit une production d'Epo par les cellules tubulaires proximales (Lacombe et Mayeux, 1995). Ainsi, il semble qu'au niveau du rein, la synthèse d'Epo soit réalisée par une population spécialisée de cellules interstitielles fibroblastiques (Lacombe et Mayeux, 1995). Des études montrent que l'identification des cellules synthétisant l'Epo dans le foie a été plus difficile en raison de la plus faible quantité d'Epo produite par cet organe (Lacombe et Mayeux, 1995). Deux populations cellulaires distinctes semblent sécréter l'hormone Epo: les cellules majoritaires sont des hépatocytes distribués autour des veines centro-lobulaires du foie, il existe également un contingent plus faible de cellules interstitielles positives en hybridation *in situ* pour la synthèse d'ARN messager d'Epo (Lacombe et Mayeux, 1995).

I.2.8.4. Régulation de la synthèse de l'EPO

- **Bases moléculaires de la régulation du gène par l'hypoxie**

L'hypoxie est le stimulus déclencheur de la production d'EPO au niveau des organes producteurs. L'hypoxie agit directement sur le niveau d'expression du gène. Le pic de synthèse d'ARNm codant pour l'EPO est atteint en 4 à 8 heures et son amplitude est proportionnelle au degré d'hypoxie (Lacombe et Mayeux, 1995). Seules la séquence promotrice et la séquence «enhancer» sont indispensables à l'induction de l'expression du gène lors d'hypoxémie (Lacombe et Mayeux, 1995).

La forme oxydée de HIF-1 α est rapidement reconnue et dégradée par un complexe enzymatique appelé protéasome. Il existe dans le cytosol un complexe protéine-hème faisant intervenir les ions ferreux et ferriques dans leur réaction d'oxydoréduction. Lorsqu'il interagit avec le dioxygène, l'hème est responsable de la libération d'ions superoxydes (O²⁻) au puissant pouvoir oxydatif. Cet ion oxyde HIF-1 α et provoque donc sa dégradation. En présence de dioxygène, le promoteur du gène de l'EPO n'est donc pas activé. En l'absence de dioxygène, HIF-1 α n'est pas oxydé et passe dans le noyau (Lacombe et Mayeux, 1995).

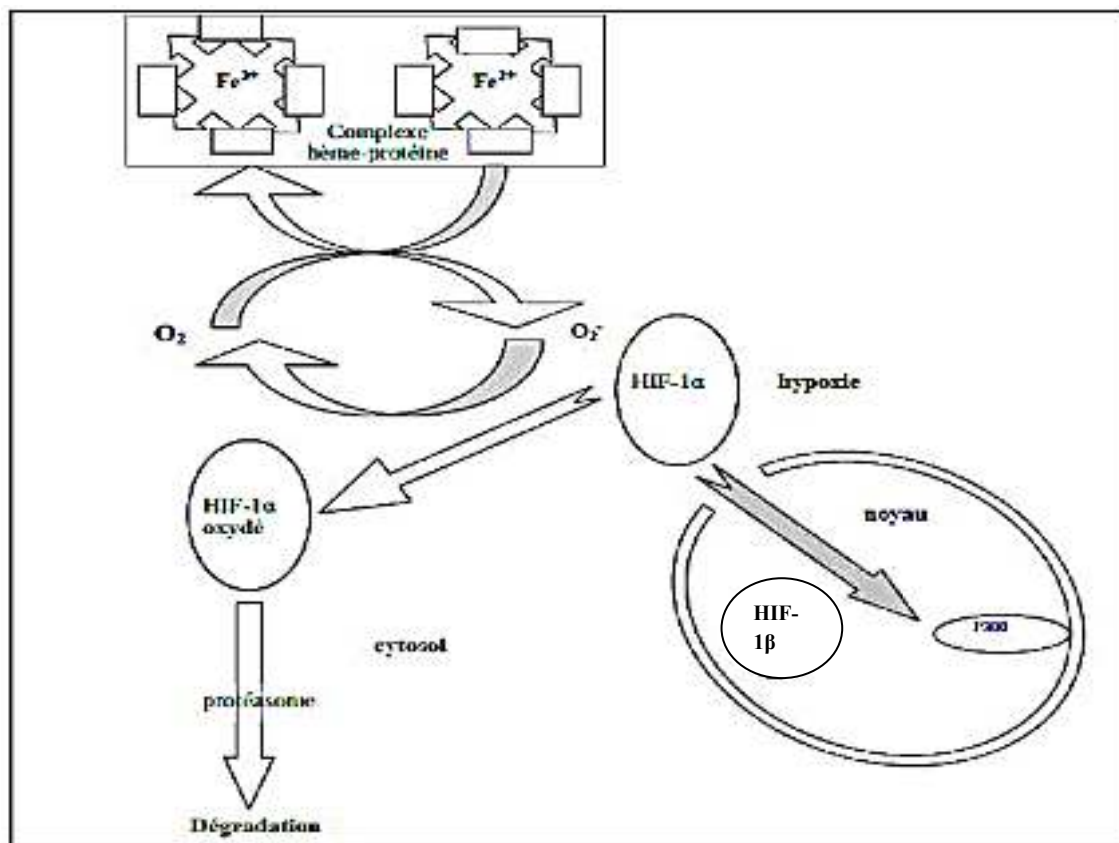


Figure 11: Modèle de régulation par le dioxygène du gène de l'EPO (Agonoude, 2013)

➤ **Hypoxie et voie de signalisation**

La principale voie par laquelle les cellules détectent et répondent à l'hypoxie est celle de l'HIF-1. L'HIF-1 est une protéine cytosolique synthétisée en permanence par les cellules et le facteur transcriptionnel pour l'EPO (Jauzein et Audran, 2018). C'est un hétérodimère composé de deux sous unités α et β .

- **En normoxie :** l'HIF-1 α est très instable et en permanence dégradée (demi vie est ≤ 5 minutes) par le système ubiquitine-protéasome dans le cytoplasme et le noyau. En effet, une prolyl-hydroxylase hydroxyle un résidu proline de la protéine HIF-1 α , ce qui permet son interaction avec la protéine pVHL et sa dégradation par le protéasome (Figures 12) (Jauzein et Audran, 2018).
- **En condition d'hypoxie :** la prolyl-hydroxylase étant inactive, la protéine HIF-1 α est très rapidement stabilisée et migre dans le noyau où elle s'associe à son partenaire HIF-1 β (Jauzein et Audran, 2018).

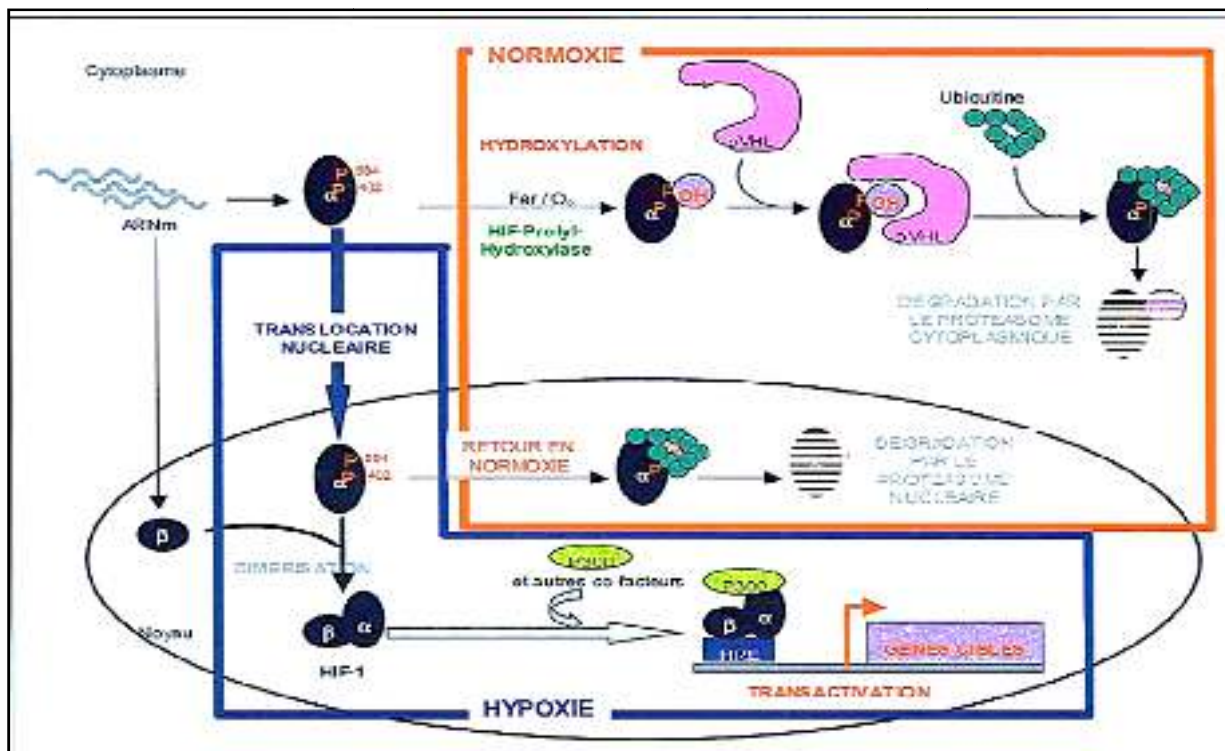


Figure 12: Régulation de l'activité de la protéine HIF-1 α par la concentration intracellulaire en oxygène (Gothié et Pouyssegur, 2002)

Le complexe ainsi formé recrute d'autres partenaires, en particulier CBP/p300, et se fixe sur la séquence nucléotidique spécifique de reconnaissance du facteur HIF-1 (motif HBS) située dans les régions régulatrices des gènes cibles. L'activation de la protéine HIF-1 β par l'hypoxie entraîne la synthèse de facteurs protéiques impliqués notamment dans l'érythropoïèse, l'angiogenèse et la glycolyse anaérobie. Le recrutement de CBP/p300 par HIF-1 α dans le noyau est également régulé par la tension en oxygène (Brahimi-Horn *et al.*, 2005).

De nombreuses autres modifications post-traductionnelles interviennent dans la régulation de l'activité de HIF-1 α parmi celles-ci, les phosphorylations de HIF-1 α et de ses partenaires par les MAP-kinases et la voie PI3K/Akt (Brahimi-Horn *et al.*, 2005).

- **Spécificité tissulaire de la production d'EPO**

Trois séquences d'ADN gouvernant l'expression tissulaire du gène de l'EPO illustrées dans la figure 13.

Une région de 6 kb située en 5' du gène (NRE) inhibe l'expression ubiquitaire non spécifique du gène de l'EPO, l'expression hépatique du gène nécessite une région de 0,4 kb

(LIE) située en 5' du gène, et l'expression rénale requiert une région de 8 kb située de -14 à -16 kb en 5' du gène (KIE). De plus, une région de 0,7 kb située en 3' est nécessaire à la régulation par l'hypoxie: HRE, la séquence de fixation de HIF-1 (Lacombe et Mayeux, 1995).

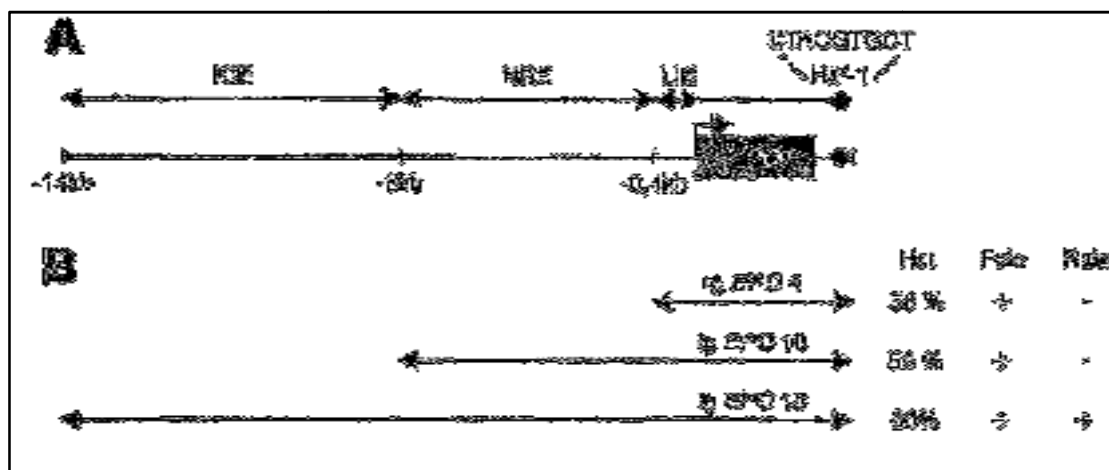


Figure 13: Régulation du gène de l'EPO (Lacombe et Mayeux, 1995)

1.2.8.5. Le récepteur de l'érythropoïétine

- **Structure**

Le récepteur de l'érythropoïétine (EPO-R) est une protéine constituée de 507 acides aminés appartenant à la superfamille des récepteurs aux cytokines de type 1. Le domaine extracellulaire de l'EPO-R possède deux domaines nommés D1 et D2 (Livnah et *al.*, 1996), l'un nécessaire à la dimérisation du récepteur et l'autre jouant un rôle dans la liaison au ligand et la transduction du signal. Le domaine transmembranaire contient deux résidus leucines essentiels la dimérisation du récepteur et la transduction du signal et le domaine intracellulaire possède deux séquences conservées, nommées Box1 et Box2 (Ketteler et *al.*, 2001). L'EPO-R est dénué de toute activité tyrosine kinase intrinsèque. C'est pourquoi celui-ci a besoin de l'ancrage au niveau du domaine D1 de la tyrosine kinase JAK2 qui est le pivot central de la signalisation de l'EPO (Ketteler et *al.*, 2001).

En absence de son ligand, l'EPO-R est présent à la surface cellulaire sous forme de dimère inactif. Sa liaison à l'EPO induit un changement conformationnel du récepteur au niveau des domaines D1 et D2 et permet la transphosphorylation de chaque protéine JAK2 présente au niveau de chaque monomère (Barber et *al.*, 2005). Ainsi, la kinase JAK2 joue

un rôle majeur dans la transduction du signal consécutif à la liaison de l'EPO sur son récepteur (Kroemer *et al.*, 2005 ; Saharinen *et al.*, 2000). Cependant, de façon surprenante et contrairement à JAK2, ces résidus ne sont pas indispensables à l'activation des voies de signalisation (McKay *et al.*, 2001 ; Bunn, 2007).

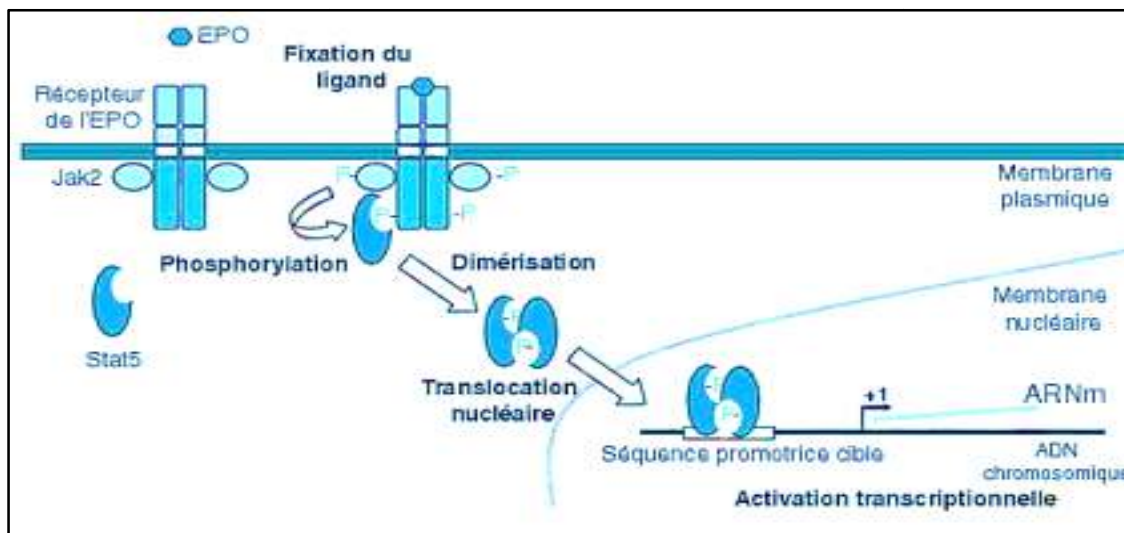


Figure 14: Liaison de l'EPO à son récepteur et initiation de la transduction du signal (Aoki *et al.*, 1998)

I.2.8.6. Mécanisme d'action de l'EPO sur l'érythropoïèse

L'EPO agit comme un facteur de croissance. Comme toute hormone, son action passe par une liaison à un récepteur spécifique, nommé EPO-R. Celui-ci est membranaire, l'EPO étant une glycoprotéine hydrophile.

Le récepteur à l'EPO est constitué d'un dimère d'une unique chaîne, à un seul segment transmembranaire. Ce récepteur possède un domaine extracellulaire assurant la fixation avec l'EPO (deux sites de fixation d'affinité différente, l'un de haute affinité, de l'ordre du nanomolaire, et l'autre de faible affinité, de l'ordre du micromolaire) et un domaine, intracellulaire, d'activation de la voie de signalisation JAK/STAT. Ce dernier est susceptible d'être phosphorylé sur quatre sites différents, et active plusieurs relais intracellulaires (voies JAK/STAT5, PI3-kinase, Ras/MAP kinase) qui vont agir en empêchant l'apoptose de la cellule cible et stimuler sa prolifération et sa différenciation (Jauzein et Audran, 2018).

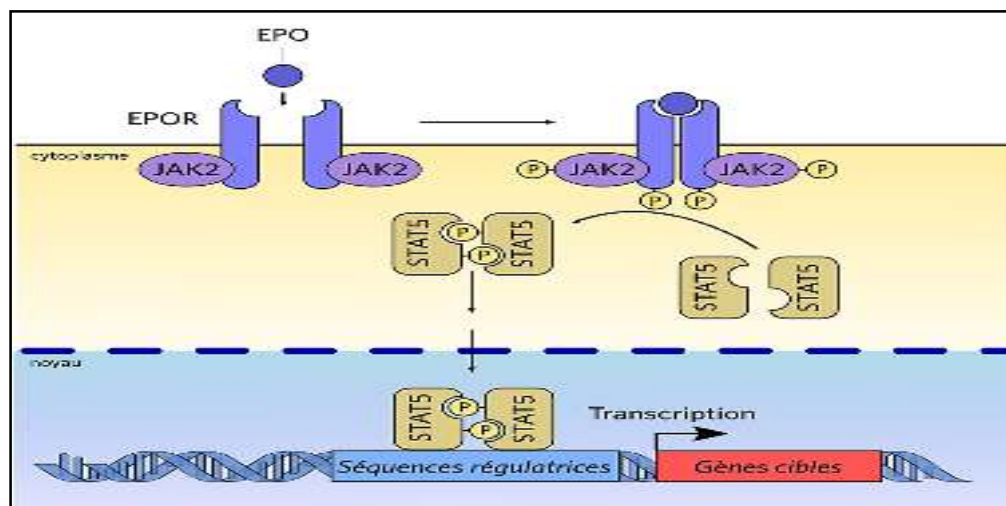


Figure 15: EPO et voie de signalisation JAK/STAT (Jauzein et Audran, 2018)

La fixation du ligand EPO sur son récepteur entraîne un changement de conformation de ce dernier et un rapprochement des deux molécules du récepteur (homo-dimérisation). Ceci induit la phosphorylation des deux Janus kinases 2 (JAK2, une tyrosine kinase) ainsi que celle des tyrosines du récepteur de l'EPO. Cela permet la fixation du facteur de transcription STAT5, qui est à son tour phosphorylé par JAK2. Le facteur de transcription STAT5, sous forme phosphorylée, va se dimériser, migrer vers le noyau et agir sur la transcription (Jauzein et Audran, 2018).

I.2.9. Traitement de l'anémie

Le traitement par EPO a révolutionné la prise en charge de l'anémie de l'IRC. Chez les patients insuffisants rénaux les injections d'EPO sont administrées après la séance de dialyse (l'hémodialyse (HD) est une méthode d'épuration du sang par la création d'un circuit de circulation extracorporelle est son passage dans un dialyseur).

Il faut cependant souligner qu'un certain nombre des mesures énumérées ci-dessus continuent d'être appliquées afin de faciliter la réponse à l'EPO (Berland et *al.*, 2006).

I.2.9.1. Prise en charge de la carence martiale

Son dépistage est essentiel. La correction de la carence martiale permet souvent de corriger partiellement l'anémie. La carence martiale limite l'efficacité du traitement par EPO. De plus, une carence martiale apparaît souvent chez les malades traités par EPO car

l'érythropoïèse stimule l'utilisation des réserves en fer de l'organisme (Berland et *al.*, 2006).

➤ **Administration du fer par voie orale**

Le fer est mal absorbé par voie digestive chez les patients avec IRC et sa tolérance digestive est parfois mauvaise. De plus, l'administration par voie intraveineuse est plus efficace que l'administration par voie orale. Il est cependant admis que le traitement martial peut être débuté par voie orale, en particulier chez les patients avec IRC non hémodialysés pour lesquels la voie intraveineuse i.v, n'est pas pratique. Les études des chercheurs n'ont pas montré de différence d'efficacité entre le fer i.v et le fer oral chez les patients avec IRC avant le stade de la dialyse à condition d'utiliser des doses importantes de fer par voie orale (Berland et *al.*, 2006).

➤ **Administration du fer par voie intraveineuse**

La fréquence optimale d'administration i.v du fer n'est pas connue. Les recommandations européennes proposent une fourchette de doses assez large: 100 à 600 mg par mois au cours des 6 premiers mois d'un traitement par EPO. D'autres publications suggèrent des doses plus élevées: 400 à 600 mg au cours des deux premières semaines pour Berland et *al.*, 200 mg par semaine pendant 5 semaines chez des patients en pré-dialyse. Berland et *al.*, insiste sur l'intérêt d'une administration régulière, hebdomadaire, sans attendre que le bilan martial ne révèle une carence. Cette stratégie semble diminuer les besoins en EPO. Les protocoles où la stratégie d'administration du fer est guidée par des marqueurs de bilan martial plus stables que le CST permettraient d'administrer des doses de fer moindres (Berland et *al.*, 2006).

1.2.9.2. Traitement par r-Hu EPO

L'EPO humaine a été purifiée pour la première fois par l'équipe de Miyake en 1977. Pour obtenir quelques milligrammes d'EPO homogène, 2500 litres d'urine de sujets anémiques ont été nécessaires. Ainsi, cette technique ne permettait pas de subvenir aux besoins en hormone pour un traitement de substitution. Les équipes de Jacobs et de Lin ont pu grâce au génie génétique, produire de l'EPO humaine *in vitro* en quantité suffisante pour permettre des études cliniques. Le gène de l'EPO humaine est isolé à partir d'une banque d'acide désoxyribonucléique (ADN) complémentaire de foie fœtal humain, puis transfecté dans des cellules de mammifère (cellules cancéreuses d'ovaires de hamster chinois CHO-K1), le gène s'exprime et il est traduit. Ces cellules produisent ainsi dans leur

surnageant une EPO active ayant des propriétés physiques, structurales, immunologiques et biologiques parfaitement identiques à celles de l'EPO endogène.

Cependant, seules l'EPO-a (Eprex ®) et l'EPO-b (NeoRecor-mon ®) sont commercialisées (Berland et *al.*, 2006).

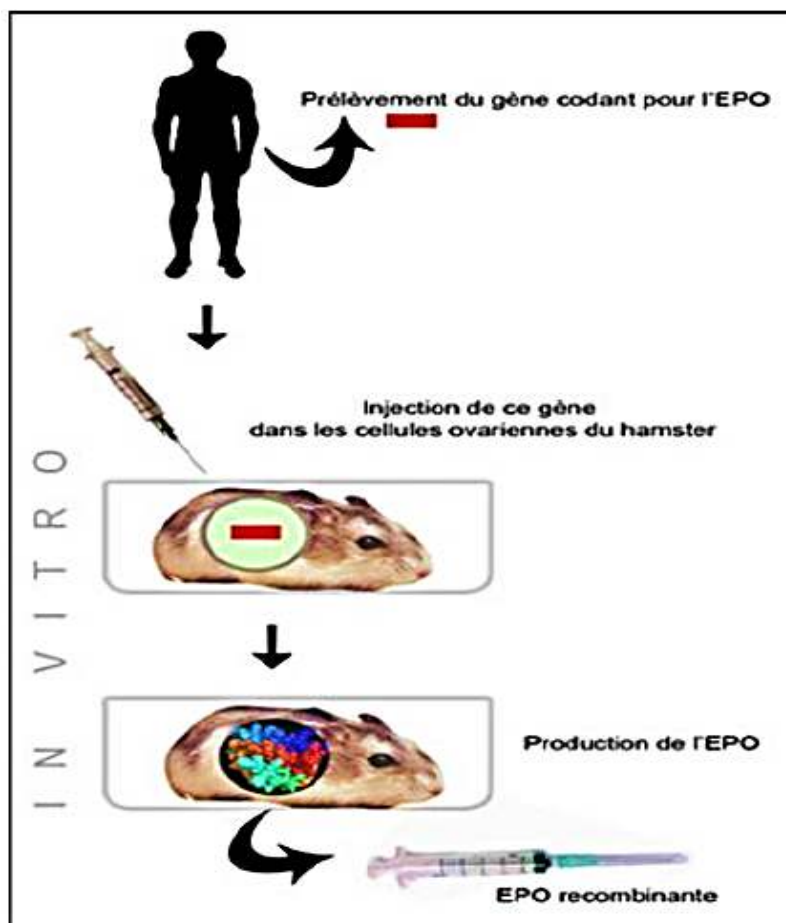


Figure 16: Schéma de la fabrication de l'EPO recombinante (Agonnoude, 2013)

Récemment, une nouvelle protéine stimulant l'érythropoïèse a été synthétisée, la darbépoétine à (Aranesp ®). Elle stimule l'érythropoïèse selon le même mécanisme que celui de l'hormone endogène. Elle possède cinq chaînes N-glycosidiques alors que l'hormone endogène et l'EPO humaine recombinante n'en ont que trois. La présence de résidus glycosidiques supplémentaires confère à la darbépoétine à une demi-vie biologique plus longue, qui permet de réduire la fréquence des injections. La darbépoétine est produite de la même façon que l'EPO, par la technique de l'ADN recombinant dans des cellules de hamster chinois comme il est illustré dans la figure 16 (Berland et *al.*, 2006).

➤ Voie d'administration de l'érythropoïétine

Avant le stade de la dialyse ou chez les patients en dialyse péritonéale, la voie d'administration de choix est la voie sous-cutanée. Chez les patients traités par hémodialyse, la voie i.v est souvent préférée car elle évite les douleurs éventuelles au point d'injection. La voie s.c est possible et permet d'obtenir une même efficacité que la voie i.v avec des doses moindres (Berland et al., 2006).

▪ Résistance au traitement par érythropoïétine

La résistance à l'EPO est définie par l'impossibilité d'atteindre les concentrations cibles d'Hb avec une posologie d'EPO supérieure à 300 UI/kg/semaine voie s.c ou 450 UI/kg/semaine voie i.v après 4 à 6 mois de traitement. La résistance à l'EPO peut être liée à de nombreuses causes (Berland et al., 2006).

L'effet des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ou des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II sur l'anémie reste controversé. Le mécanisme par lequel ces médicaments induiraient l'anémie n'est pas connu. Il pourrait s'agir de l'inhibition de l'angiotensine II qui est une substance capable de stimuler l'érythropoïèse et la production d'EPO. Il pourrait s'agir également d'une augmentation des taux plasmatiques de Ac-SDKP (acétyl-N-seryl-aspartyl-lysyl-proline) qui est un peptide qui bloque le cycle des cellules souches hématopoïétiques. Ce peptide est habituellement dégradé par l'enzyme de conversion. Sur le plan clinique, plusieurs études n'ont absolument pas confirmé l'influence des IEC sur l'anémie (Berland et al., 2006).

▪ Les différents EPO commercialisées

Les Agents stimulants l'érythropoïèse (ASE) obtenues par génie génétique, c'est-à-dire par production sur cellules de mammifères dont le génome a été modifié par ajout du gène humain codant pour la synthèse de l'EPO. Les molécules ainsi obtenues présentent une composition en acides aminés (165 acides aminés) et en glucides (trois chaînes N-glycosylées et une chaîne O-glycosylée) identiques à celle de l'EPO naturelle, et stimulent l'érythropoïèse selon le même mécanisme que l'hormone endogène, qui régule l'érythropoïèse par son interaction spécifique avec l'EPO-R. Les différents ASE diffèrent entre eux par leurs glycosylations. L'époétine alpha présente une plus forte teneur en acide sialique que l'époétine bêta (Lamikanra et al., 1998).

Ces différences de glycosylation n'ont pas de traduction clinique, ni en termes d'efficacité ni en termes d'effets indésirables. Plusieurs biosimilaires de l'EPO sont disponibles:

Les EPO: l'époétine- α , époétine- β , époétine-oméga (ω), et époétine-delta (δ).

Les dérivés de l'EPO: darbépoétine, MPG-époétine (méthoxy-polyéthylèneglycol-époétine), époétine- β pégylée (CERA).

Ils ont des propriétés différentes, notamment en termes de pharmacocinétique. D'autres agents stimulant l'érythropoïèse sont en cours de développement, avec des mécanismes d'action différents de l'EPO.

Chapitre



2

Matériel & Méthodes

Dans le but de déterminer la fréquence et la sévérité de l'anémie chez les patients insuffisants rénaux chroniques au cours de l'hémodialyse, une série des bilans biochimiques et hématologiques sont effectués au niveau de laboratoire, tout cela pour établir la bonne prise en charge de cette maladie.

II.1. Matériel

II.1.2. Matériel biologiques

Il s'agit d'une étude rétrospective/prospective, effectuée au niveau de la clinique d'hémodialyse DIAM à Mouzaïa, sur une période allant du 24 Mars 2021 au 31 Mai 2021.

✓ Population cible et source d'étude

Notre étude est composée de 50 patients, présentaient un tableau clinique évocateur de l'anémie chez les insuffisants rénaux au cours de l'hémodialyse, qui avaient bénéficié des doses d'EPO afin de traiter et corriger l'anémie.

✓ Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins sont réalisés à jeun le matin pour (urée, créatinémie) et pour FNS, fer, ferritine n'est pas obligatoire d'être à jeun au niveau de Laboratoire de Dr BERRAF.S spécialiste en hématologie à Mouzaïa sur le sang veineux prélevé au niveau de la veine de pli de coude (system vacutainer), avec garrot sur deux tubes: les deux tubes avec anticoagulant (EDTA et héparine).

- Le tube héparine est destiné pour certaine bilan biochimique.
- Le tube EDTA pour la numération de la formule sanguine (FNS).

✓ Recueil des données

Les prélèvements sanguins sont accompagnés d'une fiche de renseignements **(Annexe 01)**.

- L'identité du patient : nom, prénom, âge, sexe.
- La date de réception.
- Le nom du médecin traitant.
- Les signes cliniques.

- Le diagnostic suspecte.

✓ **Préparation du sérum (Centrifugation)**

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire pour le dosage. L'étape de centrifugation est préliminaire avant le dosage des différents paramètres, elle consiste à séparer le culot du surnagent « plasma », à l'aide d'une centrifugeuse DLAB DM0412 (30.000 rpm pendant 5 min). La FNS est faite sur sang total sans centrifugation.

✓ **Enregistrement des patients**

Pour chaque patient, les tubes ont des étiquettes qui portent: le nom, le prénom, le numéro d'enregistrement. Ces derniers, sont accompagnés de paramètres biochimiques à doser.

✓ **Sujets malades**

50 patients Anémiques atteints d'une insuffisance rénale chronique des deux sexes, hospitalisés dans la clinique d'hémodialyse DIAM à Mouzaïa. Les analyses sont portées sur le profil martial, urée, créatinine, et FNS des sujets malades.

II.1.2. Matériel non biologique

Le matériel nécessaire pour le fonctionnement d'un laboratoire d'hématologie comporte un équipement spécifique. **(Annexe 01)**

✓ **Paramètres étudiés**

Nous avons étudié certains paramètres biochimiques qui déterminent la carence martial (fer sérique, Ferritine, FNS). Les échantillons sanguins sont dosés au laboratoire de Dr. BERRAF. S spécialiste en hématologie. La vérification de fonctionnement des appareils et la qualité de réactif, ainsi que la précision et exactitude d'une technique doivent être contrôlée chaque jour avant le début du dosage des différentes paramètres biochimiques pour améliorer la fiabilité et d'assurer la qualité des résultats.

Techniques de dosage des différents paramètres biologiques

▪ Paramètre hématologique

Dosage de la Numération De Formule Sanguine (Hémogramme)

Le dosage de FNS a été effectué à l'aide d'un analyseur Sysmex XP-300 (**Annexe 02**). FNS étudie les cellules du sang. Il comporte:

- ✓ **Une étude quantitative des cellules:** numération des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes, mesure ou calcul de l'hématocrite, dosage de l'hémoglobine, étude des constantes ou indices érythrocytaires.
 - Moyenne des volumes de toutes les GR mesurées, VGM (**Annexe 04**).
 - Taux moyen d'Hb par hématie, TCMH (**Annexe 04**).
 - Moyen d'Hb dans le volume occupé par les GR dans le sang obtenu en divisant le taux d'Hb par l'hématocrite CCMH (**Annexe 04**).
- ✓ **Une étude qualitative des cellules:** formule leucocytaire, étude de la morphologie des cellules sanguines.

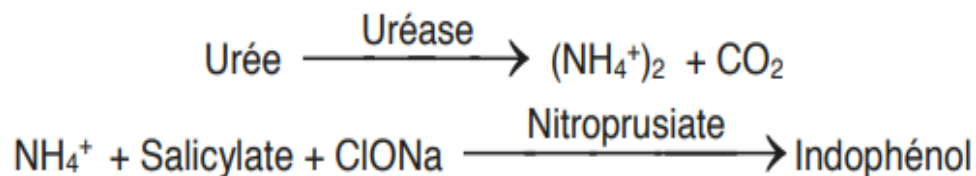
▪ Paramètres Biochimiques

Le dosage des bilans biochimiques (urée, créatinine, fer sérique) a été effectué à l'aide d'un automate intégré iMagic M7 analyseur automatique de biochimie. Pour le dosage de la ferritinémie est effectué à l'aide d'un VIDAS.

✓ Dosage de l'urée

Méthode enzymatique, colorimétrique: l'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2).

Les ions ammonie réagissent avec salicylate hypochlorite (ClONa), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un indophénol vert:



L'intensité de couleur formé est proportionnelle à la concentration d'urée. La diminution de la concentration de NAD^+ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé (**Annexe 03**).

✓ **Dosage de créatinine**

Méthode colorimétrique: Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium décrit par Jaffé.

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé (**Annexe 03**).

✓ **Dosage du fer**

Après rupture de liaison fer-transferrine en présence d'acide citrique, le fer « Fe » est réduit par l'acide ascorbique en ions Fe^{2+} . Les ions de fer forment, avec le 3-(2-Pyridyl) -5, -6-difuryl-1, -2, 4-tiazine disulfonate, (férène) un complexe coloré, dont l'absorbance, mesurée à 600 nm (580- 620), est directement proportionnelle à la concentration en fer dans le spécimen (**Annexe 03**).

➤ **Méthode de dosage**

Le fer sérique est dosé par réactif du BIOLABO à l'aide d'un automate iMagic-M7.

- L'introduction des données des patients dans logiciel auto analyseur iMagic-M7 (prénom, nom, âge, sexe et les paramètres étudiés: fer sérique, urée, créatinine).
- Préciser à partir de logiciel l'emplacement de chaque réactif dans l'appareil « A-B » et le tube qui contient plasma du patient « E ».
- Lancer l'appareil.

Pour que les résultats soient fiables, on peut les confirmer par dosage de fer sérique par spectrophotomètre sous la méthode suivante:

- Une solution est préparée contenant 500 µl de réactif (mélange de 50 µl de R1 et 1 volume de R2) et 100 µl du plasma de patient dans un tube et on homogénéise, incubation 15 min à température ambiante.

Au niveau de la machine (**Annexe 02**):

- Faire passer l'eau distillée (Water Blanc).
- Tube contenant 500 µl de réactif sans plasma du patient (Réagon blanc).
- Faire passer le tube contenant la solution préparée d'avant (Sample).
- Le résultat est obtenu.

✓ **Dosage de la ferritine**

Le principe du dosage associe la méthode immuno-enzymatique par sandwich en une étape à une détection finale en fluorescence (ELFA). Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel. Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône, l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliférol) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument (**Annexe 03**).

➤ **Méthode de dosage**

Le dosage est réalisé par un réactif de SPINREACT à l'aide d'un automate VIDAS:

- Identifier le patient et distribuer les échantillons.
- Placer la baguette et la cartouche dans le système.
- Ajouter 100 µL du plasma à l'aide d'une pipette graduée à la baguette.
- Fermez l'appareil.

- Lancer l'appareil pendant 22 min.
- Appuyer sur la touche « Démarrer ».

- **Paramètre Hématologique**

- ✓ **Dosage de l'FNS**
- Scanner le tube pour l'introduction des données des patients dans le logiciel de l'analyseur Sysmex XP-300 (numéro de tube, prénom, le nom, l'âge, sexe).
- Appuyer sur Entrer.
- Homogénéiser bien le tube pour bien mélanger le sang avec l'anticoagulant.
- Placer le tube dans sa position et lancer l'appareil.
- Après 30 secondes les résultats s'affichent dans l'écran de l'appareil.

II.2. Présentation des résultats

Les résultats sont exprimés en pourcentage par « Excel 2007 » figurés dans des histogrammes, des secteurs... etc.

Chapitre



3

Résultats

III-Résultats

Notre étude rétrospective/prospective s'est étalée du 24 Mars 2021 jusqu'au 31 Mai 2021 sur une période de 3 mois. 50 dossiers des patients anémiques souffrants d'une insuffisance rénale chronique ont été colligés. Notre étude rétrospective débute le mois de Janvier (sur une période de 5 mois).

III.1. Aspect épidémiologique de la population étudiée**✓ Répartition des patients selon le sexe**

L'étude effectuée touche une population de deux sexes (homme et femme). La figure 17 montre les résultats de la répartition des patients en fonction du sexe.

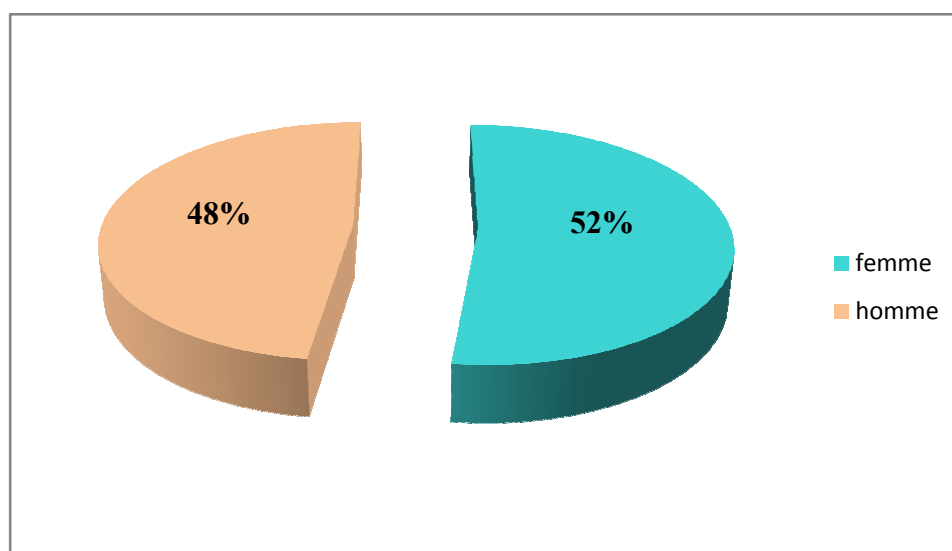


Figure 17: Répartition des patients selon le sexe

✓ Répartition des patients selon l'âge

Dans notre série, l'âge moyen des patients au moment du diagnostic est de 56 ans (20 – 93 ans). Les résultats de la répartition de 50 patients en fonction des tranches d'âge sont représentés dans le Tableau II ci-dessous:

Tableau II: Répartition des patients selon l'âge

Classe d'âge	≤ 30	[30-40[[40-50[[50-60[[60-70[[70-80[[80-93[
Nombre de patients	1	8	9	10	14	7	1

En termes d'âge, il a été constaté que les patients dont l'âge varie entre 40-85 ans représentent 82% de l'ensemble des patients, tandis que le pic de la maladie est enregistré chez les patients qui ont une tranche d'âge entre 60 et 70 ans. Les patients dont l'âge est moins de 40 ans ne représentent que 18% souffrants d'une anémie liée à une insuffisance rénale chronique.

✓ **Répartition des patients selon l'Étiologie de l'IRC**

Plusieurs maladies peuvent être la cause initiale d'une insuffisance rénale chronique dans lequel ses conséquences apparaissent immédiatement ou après long terme. La répartition des patients en fonction de ses maladies est représentée dans le tableau III.

Tableau III: Répartition des patients selon l'étiologie de l'IRC

	Diabète	Néphropathie Vasculaire	Uropathie malformative	Polykystose rénale	Autres indéterminée
Effectifs	16	21	3	3	7

Selon nos résultats, nous avons constaté que:

- ✓ 32% des patients présentent un diabète.
- ✓ 42% des patients présentent une néphropathie vasculaire.
- ✓ 06% des patients présentent une uropathie malformative.
- ✓ 06% des patients présentent une polykystose rénale.
- ✓ 14 % des patients présentent une néphropathie indéterminée ou autres.

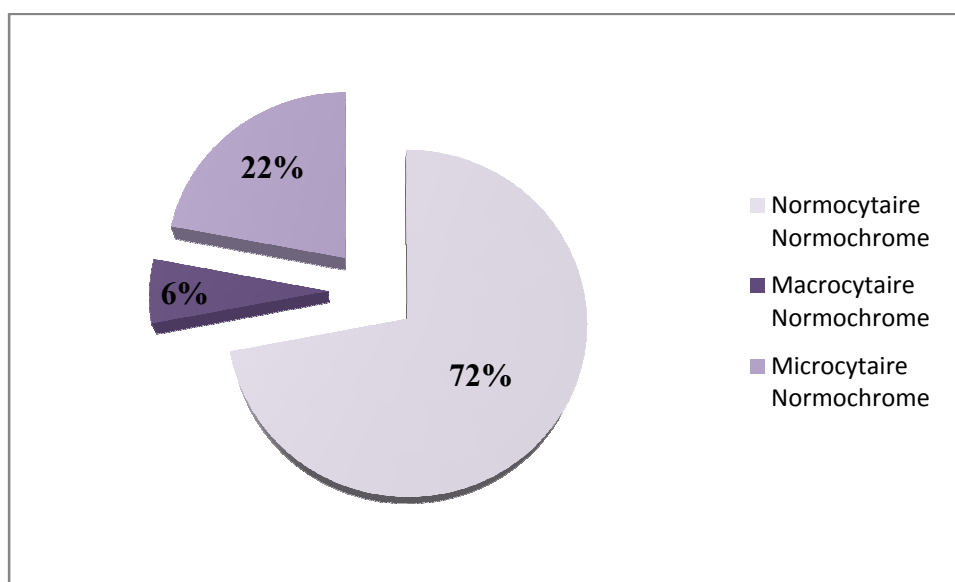
III.2. Paramètres biologiques

✓ **Répartition des patients Selon les constantes érythrocytaires « VGM »
« CCMH »**

Notre étude a montré que l'anémie normocytaire normochrome est la plus fréquente parmi les autres types d'anémie, l'anémie microcytaire normochrome en deuxième position, suivi par l'anémie macrocytaire normochrome.

Tableau IV: Répartition des patients selon les types d'anémie

Types d'anémie	Effectif
Normocytaire Normochrome	36
Macrocytaire Normochrome	3
Microcytaire Normochrome	11

**Figure 18:** Pourcentage des patients répartis selon les types d'anémie

D'après la figure 18, nous avons constaté que le type d'anémie est:

- Normocytaire normochrome dans la majorité des cas avec un pourcentage de 72%, il s'agit surtout d'un déficit en EPO.
- Macrocytaire normochrome dans 6 % des cas.
- Microcytaire normochrome dans 22 % des cas.

✓ **Répartitions des patients selon le taux d'hémoglobine**

✓ **Avant le traitement**

Numération De Formule Sanguine (FNS) en première diagnostic

FNS a été faite chez tous les patients souffrant de l'anémie de l'IRC. Nous avons reporté la moyenne du premier dosage en moi de Janvier. Chez les insuffisants rénaux qui ne recevaient pas d'érythropoïétine, l'anémie a été définie par un taux d'Hb < 13g/dl chez l'homme et <12 g/dl chez la femme. Le taux moyen de l'hémoglobine de la population était de 10.01g/dl. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 19.

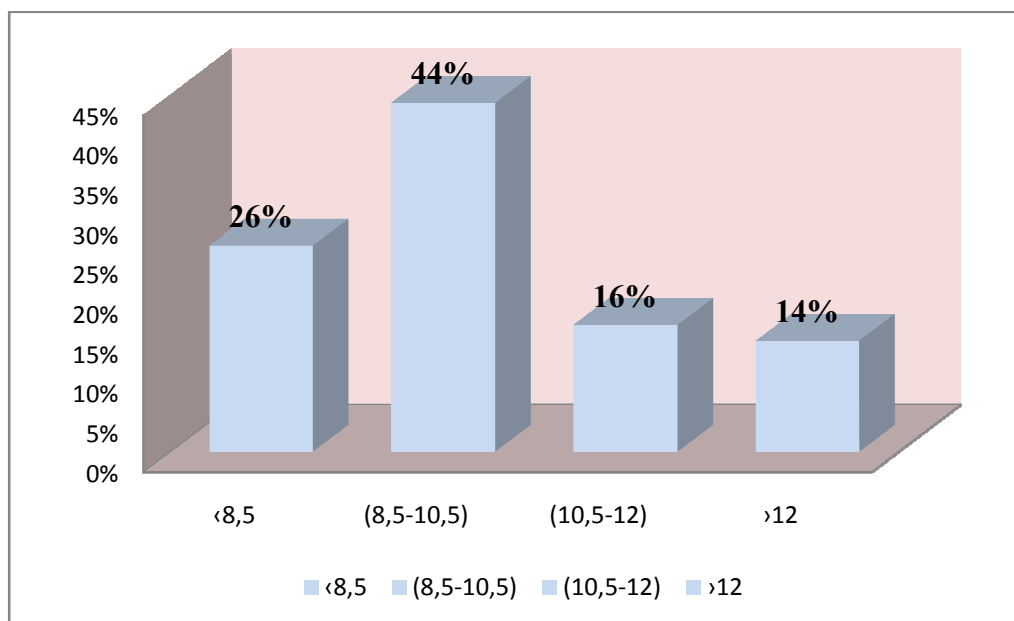


Figure 19: Répartition des patients selon le taux d'hémoglobine (g/dl) en mois de Janvier

En fonction du taux d'hémoglobine, l'anémie est divisée en plusieurs types:

- ✓ 26% Anémie sévère (< 8.5 g/dl).
- ✓ 44% Anémie modéré (8.5-10.5 g/dl).
- ✓ 16 % Anémie légère (10.5-12 g /dl).
- ✓ 14% (> 12 g/dl) Pas d'anémie.

✓ **Répartition des patients selon le taux de fer sérique**

Chez les 50 patients anémiques un dosage de fer sérique est réalisé, les résultats sont représentés dans la figure 20:

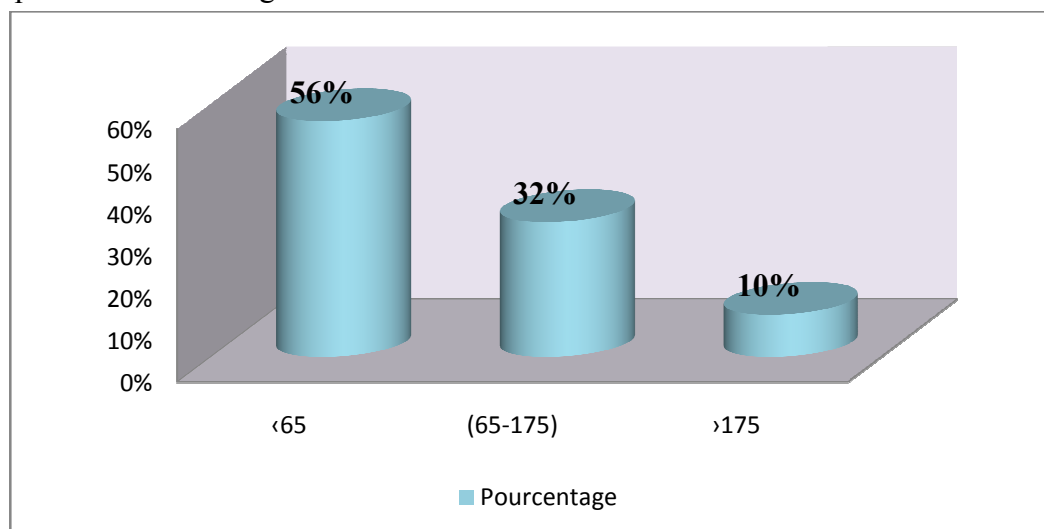


Figure 20: Répartition des patients selon le taux de fer sérique (µg/dl)

Les patients avaient un taux de fer sérique inférieur à 65 dont 56 % (28 patients) des cas, les patients avaient un taux de fer sérique normal dans 32 % (16 patients) des cas, les patients avaient un taux de fer sérique supérieur au taux normal 10% (5 patients).

✓ **Répartition des patients selon la ferritinémie**

Un dosage de ferritine est pratiqué aux patients pour préciser la carence et le type d'anémie, les résultats obtenus sont représentés dans la figure 21.

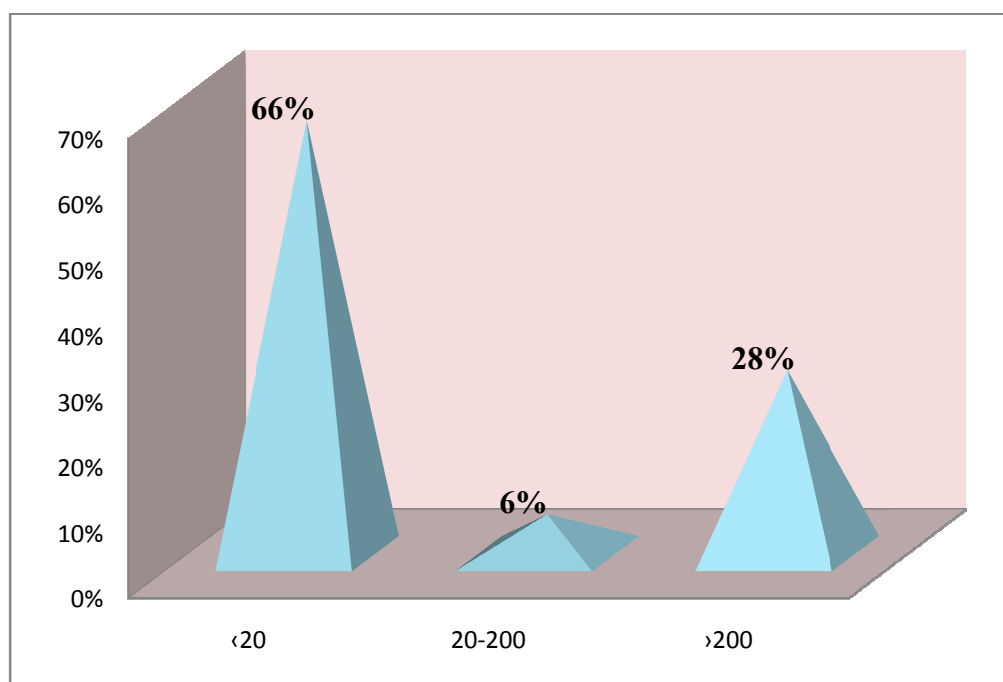


Figure 21: Classification des patients anémiques par carence en fer (µg/l)

66% ayant une ferritinémie < 20 µg/l et 28% des cas sont élevés > 200 µg. Donc, 46% des anémies microcytaires sont carencielles. Les valeurs normales de la ferritinémie 20 - 200 µg/l. Donc, on parle d'une anémie par carence en fer, si la valeur de ferritine est < 20 µg/l.

III.3. La prise en charge thérapeutique

✓ **Dose de fer injectable**

23 patients recevaient le fer injectable, les résultats sont représentés dans la figure 22.

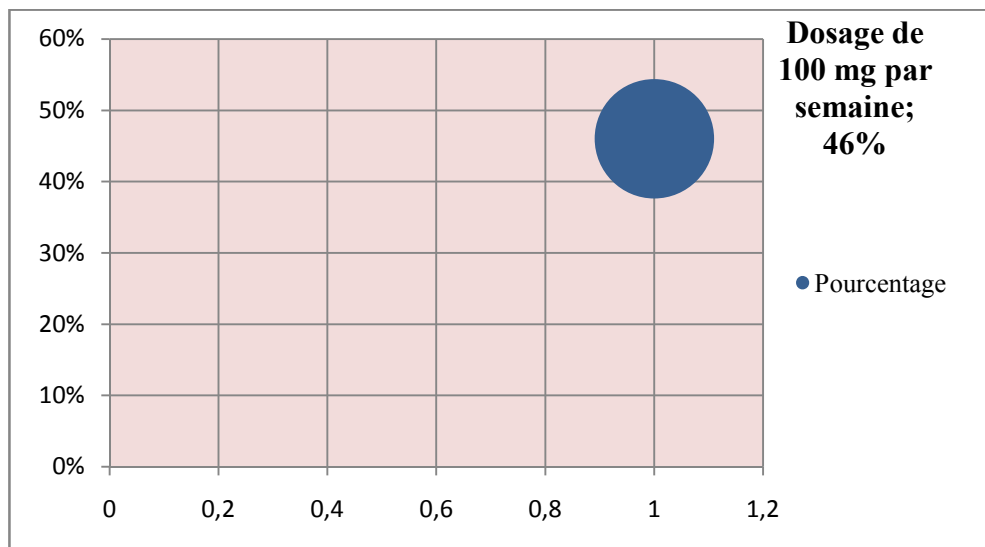


Figure 22: Variation de dosage des injections de fer

46 % des patients avec une anémie carencielle en fer subit des injections de 100 mg par semaine, pour améliorer les réserves en fer.

✓ **Dose d'érythropoïétine administrée**

La dose moyenne d'Epo de type HEMAX est 6000 UI par semaine, la moyenne de dosage d'EPO aux patients est représentée dans le tableau V.

Tableau V: Moyenne de dosage de l'EPO en fonction des mois

Mois	Mo	M1	M2	M3
6000 UI par semaine	406	336	307	231

Un dosage d'EPO aux patients par semaine (Certains subissent une dose, 2000 UI par semaine et d'autres trois doses 6000 UI par semaine), on remarque que, le nombre de doses est en diminution par rapport au premier mois.

✓ Evolution de l'anémie après traitement

Les auto-injections d'EPO ont permis le maintien de l'anémie au cours de notre étude, chez les patients dialysés, l'anémie a été définie par un taux d'Hb < 10 g/dl, l'évolution des valeurs d'hémoglobine est représentée sur la figure 23.

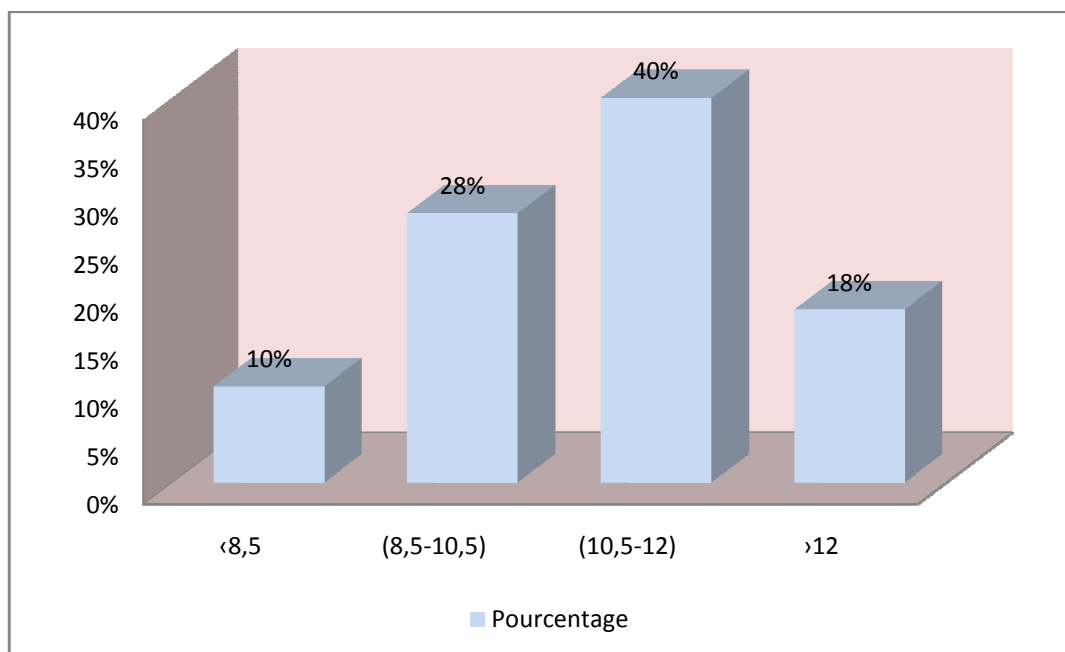


Figure 23: Evolution des taux d'Hb après injection d'EPO

Au cours de dialyse la moyenne du taux d'Hb était de 11.12 g/dl. Les patients non anémiques présentant 18% Hb > 12 g/dl, les patients anémiques présentant 78 %. Un taux d'Hb compris entre 10.5 – 12 g/dl a été observé dans environ 40% des cas. Une anémie de moins de 10 g/dl d'Hb est présente dans environ 21% des patients hémodialysés qui reçoivent l'EPO, avec un taux d'Hb moyen de 8,5 g/dl.

Chapitre



4

Discussion des Résultats

IV. Discussion des Résultats

L'anémie des maladies rénales est une anémie hypo-proliférative résultant principalement d'un déficit en érythropoïétine (EPO) ou d'une diminution de la réponse à l'EPO, elle est normocytaire normochrome.

- **Sexe et âge**

Selon des études épidémiologiques réalisées à la clinique d'hémodialyse DIAM, les patients souffrants d'une insuffisance rénale chronique suivis au niveau de cette structure sont répartis selon le sexe avec un sexe ratio de 1.08. L'insuffisance rénale touche plus de 82% de sujet adulte dont l'âge varie entre (40 - 85 ans) et cela est justifié par l'évolution de l'étiologie de l'insuffisance rénale.

- **Etiologie de l'IRC**

Par ordre de fréquence les principales étiologies de l'IR retrouvés chez nos patients sont: 42% présentent une néphropathie vasculaire, 32% présentent une néphropathie diabétique, 6% présentent une uropathie malformative, 6% une néphropathie héréditaire, et 14% des néphropathies indéterminées. Nos résultats rejoint les résultats trouvés dans d'autres études établies en Algérie, contrairement à l'Europe et aux Etats-Unis (USA) où elle touche les sujets âgés (Dykstra et *al.*, 2002).

En Côte d'Ivoire (Diallo et *al.*, 1997) une étude menée sur 800 cas d'IR dénombrés dans le service de médecine interne a trouvé une prédominance de l'HTA, la néphropathie vasculaire était deux fois plus fréquente aux Etats-Unis qu'au Canada et en France, et trois fois plus qu'au Japon et en nouvelle Zélande. La néphropathie diabétique était cinq fois plus fréquente au Japon et quatre fois plus aux USA qu'en France. Nos résultats rejoignent la littérature en montrant ainsi la prédominance de la néphropathie hypertensive dans la causalité de l'IR.

- **Taux d'Hb**

En mois de Janvier 2021, le taux moyen de l'hémoglobine est de 8.85 g/dl, 26 % des patients avaient une anémie sévère (< 8.5 g/dl), 44% avaient une anémie modérée et 16% avaient une anémie légère. Il s'agit, d'une anémie normocytaire normochrome dans 72 % des cas et 22% cas d'une anémie microcytaire normochrome.

En littérature, plusieurs études ont été menées : Yombossi *et al.*, 1994 rapportaient dans leur étude que plus de (80%) des anémies de l'IR étaient normocytaire normochrome.

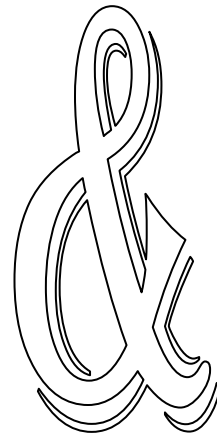
Les études antérieures menées dans le même service on montre la prédominance de l'anémie normocytaire normochrome chez les patients insuffisants rénaux (Cavaillon, 1996), l'anémie normocytaire normochrome arégénérative de l'IR est due à un défaut de synthèse de l'EPO, et pour la carence en fer est suggéré dans le cas d'anémie microcytaire.

- **Dosage d'EPO et Fer injectable**

Après 5 mois d'utilisation d'EPO une amélioration du taux d'Hb par rapport au début de traitement. Le taux moyen d'Hb passe de 10.01 g/dl à 11.12 g/dl, et cela est expliqué par la mise en route de traitement spécifique (EPO, fer). Nos résultats rejoignent ceux de la France, où le taux moyen d'Hb était de 11,2 g/dl, de la Suède 11,2 g/dl, de Norvège 11,9 g/dl, et de Suisse 11,7g/dl (Harnett, 1995). Les causes de l'anémie microcytaire étaient carentielles (en fer) dans 46% des patients.

Au début du traitement tous les patients ont bénéficié du traitement par l'EPO (6000 UI/semaine). Dans notre étude le traitement martial a été instauré chez 46%. Ces patients ont reçu 100 mg de fer dans le but de corriger l'anémie des patients qui avaient une carence absolue en fer et d'avoir des réserves plus importantes en fer nécessaires avant de débiter un traitement par l'EPO. L'administration du fer est arrêtée lorsque la ferritinémie est supérieure à 500 µg/l.

Conclusion



Perspectives

Conclusion et Perspectives

Les résultats de notre étude, s'appuient forcément sur la sévérité de l'anémie chez les insuffisants rénaux et l'importance du diagnostic précoce afin d'assurer une bonne prise en charge.

Le diagnostic de l'anémie chez des patients qui ont des problèmes rénaux est relativement pratique, mais la multiplicité des facteurs intervenant dans la pathogénie de cette anémie, en plus du défaut d'érythropoïétine, rend le diagnostic étiologique et la prise en charge complexes (carences en fer, vitamine B12 et folates, pertes de sang chroniques, toxines urémiques).

La mise au point de l'EPO recombinante a révolutionné la prise en charge des patients de l'IR. La transplantation rénale est actuellement pratiquée dans un nombre restreint de structures, constitue également une alternative intéressante pour corriger l'anémie en stade terminal d'insuffisance rénale.

Les résultats de notre étude rejoignent les données de littérature quant à la prévalence globale de l'anémie, la sévérité de l'anémie observée, le type de l'anémie et l'âge des patients atteints.

Il est important d'attirer l'attention sur l'importance d'un bilan biologique bien codifié, qu'il sera ainsi systématique est orienté devant toute anémie de l'IR, afin d'établir le diagnostic étiologique de l'anémie et cela avant tout traitement substitutif, pour mettre en route le traitement spécifique selon la cause. Les difficultés rencontrées dans ce travail sont: la courte durée du stage et manque des moyens d'exploration au sein du laboratoire.

L'idéal aurait été:

Une population plus variée en diversifiant les régions pour pouvoir généraliser nos conclusions sur toute l'Algérie et réalisé le dosage de concentration plasmatique des EPO pour confirmer la relation entre la concentration plasmatique de l'EPO et la quantité des hématies produit au cours de l'IR et aussi dosé les concentrations des vitamines B et détermine le statut du fer.

Comme perspective, une hypothèse mise en terrain correspond à la greffe des cellules souches hématopoïétiques de cordon ombilical de l'enfant au sujet malade. Cette technique est encore à ses balbutiements, mais elle suscite un intérêt croissant pour l'amélioration de l'anémie.

Références Bibliographiques

1. **Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, mai 2005.** Traitement de l'anémie au cours de l'insuffisance rénale chronique argumentaire
2. **Agonnoude Wilfried, K. (2013).** Erythropoïétine: de la physiologie aux applications (Doctoral dissertation).
3. **Alahmadi, B. (2016).** Anémie par défaut de stimulation d'érythropoïèse (Doctoral dissertation).
4. **Alain. Gallien, (2009).** Hématopoïèse: leucopoïèse, érythropoïèse et thrombopoïèse. <http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/spip.php?article2025>
5. **Anthony A, Killeen Ph D. (2017).** Formation, Transport, et Elimination de l'urine. le rien série guide d'apprentissage. Vol 43, p. 22-23-24
6. **Arnold, R., Calvo, W., Heymer, B., Schmeiser, T., Heimpel, H., & Kubanek, B. (1985).** Extramedullary haemopoiesis after bone marrow transplantation. Scandinavian journal of haematology, 34(1), 9-12.
7. **Artz, A. S., Fergusson, D., Drinka, P.J., Gerald, M., Bidenbender, R., Lechich, A., & Ershler, W. B. (2004).** Mechanisms of unexplained anemia in the nursing home. Journal of the American Geriatrics Society, 52(3), 423-427.
8. **Santos-Silva. A., Ribeiro. S., Reis. F., et Belo. L. (2019).** « Hepcidin in chronic kidney disease anemia », in Vitamins and Hormones, vol. 110, Elsevier, p. 243-264.
9. **Baaiza, I. (2015).** Anémie de l'insuffisance rénale (Doctoral dissertation).
10. **Bernard Lacour, jean-Paul Belon. (2016).** Physiologie humaine. Elsevier Masson SAS.
11. **Bernhardt, W. M., Wiesener, M. S., Scigalla, P., Chou, J., Schmieder, R. E., Günzler, V., & Eckardt, K.U. (2010).** Inhibition of prolyl hydroxylases increases erythropoietin production in ESRD. Journal of the American Society of Nephrology, 21(12), 2151-2156.
12. **Bouayed. (2014-2015).** Les Riens. Service d'anatomie normale CHU. 63(1), 18.
13. **Brahimi-Horn, C., Mazure, N., Pouysségur, J., (2005).** Signaling via the hypoxia-inducible factor-1 requires multiple posttranslational modifications. Cell Signal, 17 : 1-9.

14. **Bruno, M., et Marie-Noëlle, P. (2016).** Insuffisance Rénale Chronique et Maladies Rénales Chronique. Néphrologie 7eme édition. Vol .432, n°261, p.241-249.
15. **Brunet, P., Faure, V., Burtsey, S., Sichez, H., & Berland, Y. (2006).** Anémie de l'insuffisance rénale chronique. EMC - Néphrologie, 1(1), 1–12.
16. **Bunn, H. F. (2007).** New agents that stimulate erythropoiesis. Blood, 109(3), 868-873.
17. **Cavaillon, J., (1996).** " Les Cytokines". 2^e édition. Paris, Milan, Barcelone: Masson, .P.589.
18. **Chaouchi, Keltoum., & Haouas, Nassira. (2018).** Le traitement de l'anémie chez les patients hémodialysés au niveau d'EPH Ain defla.
19. **Chassagne, P., Bahri, O., & Roca, F. (2014).** Iron deficiency in elderly people Clinical presentation and management. Geriatrie et psychologie neuropsychiatrie du vieillissement, 12(2), 11-15.
20. **Chaparro, C. M., et, Suchdev, P. S, (2019).** « Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries », Ann. N. Y. Acad. Sci., p. n.14092.
21. **Couchoud, C., Lassalle, M., Stengel, B., & Jacquelinet, C. (2009).** Renal epidemiology and information network: 2007 annual report. Néphrologie & thérapeutique, 5, S3-144.
22. **Couchoud, C., Lassalle, M., & Jacquelinet, C. (2013).** Rapport Rein 2011– Synthèse. Néphrologie & Therapeutique, 9, S3-S6.
23. **Cosserat, J., Grant, A., & Waugh, A. (2015).** Ross et Wilson. Anatomie et physiologie normales et pathologiques. Elsevier Masson.
24. **Dussol, B. (2011).** Différents stades de l'insuffisance rénale chronique: recommandations. Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée, 26(2), 55–59.
25. **Drüeke, T. B., Eckardt, K. U. (2002).** Role of secondary hyperparathyroidism in erythropoietin resistance of chronic renal failure patients. Nephrology Dialysis Transplantation, 17(suppl_5), 28-31.
26. **EL Azami, K. (2013).** Le fer: aspects métaboliques, problèmes de carence et situation actuelle au Maroc (Doctoral dissertation).
27. **EL Mahdaoui, M. (2021).** Anémie de l'insuffisance rénale. Thèse de doctorat. Université de Mohammed v de rabat

28. Ferreira, R., Ohneda, K., Yamamoto, M., & Philipsen, S. (2005). GATA1 function, a paradigm for transcription factors in hematopoiesis. *Molecular and cellular biology*, 25(4), 1215-1227.
29. Jauzen, F., Audran, M. (2018). Rôles Physiologiques de l'EPO. EPO et dopage.
30. Gafter-Gvili, A., Schechter, A., et Rozen-Zvi, B. (2019). « Iron Deficiency Anemia in Chronic Kidney Disease », *Acta Haematol.*, vol. 142, no 1, p.44-50.
31. Garitte, Lauranne. (2016). Anémie et insuffisance rénale : quelles solutions?.
32. Geissler, E. N., Ryan, M. A., & Housman, D. E. (1988). The dominant-white spotting (W) locus of the mouse encodes the c-kit proto-oncogene. *Cell*, 55(1), 185-192.
33. Go, A. S., Chertow, G. M., Fan, D., Mc Culloch, C. E., & Hsu, C.Y. (2004). Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *New England Journal of Medicine*, 351(13), 1296-1305.
34. Gothié, E., & Pouysségur, J. (2002). HIF-1: régulateur central de l'hypoxie. *médecine/sciences*, 18(1), 70-78.
35. Gueutin, V., Deray, G., Isnard-Bagnis, C. (2012). Physiologie rénale. *Bulletin du cancer*, 99(3), 237-249.
36. Hanba, M. (2019). Facteurs pronostiques de l'insuffisance rénale aigue chez l'adulte à l'hôpital militaire régional universitaire d'Oran « Doctorat ». Université d'Oran 1 Ahmed benbella.
37. Harnett, J., Kent, G., Foley, R., Parfrey, P., (1995). "Cardiac function and hematocrit level". *AmJ. Kidney Dis*; 25: 3-7.
38. Henry, N., & Sèbe, P. (2008). Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure. *EMC-Néphrologie*, 1(1), 1-10.
39. Jungers, P., Man, N. K., Joly, D., & Legendre, C. (2011). L'insuffisance rénale chronique: prévention et traitement. Lavoisier.
40. Kautz, L., Jung, G., Valore, EV., Rivella, S., Nemeth, E., Ganz, T. (2014). Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 46:678–684.
41. Kubatzky, K. F., Ruan, W., Gurezka, R., Cohen, J., Ketteler, R., Watowich, S. S., & Klingmüller, U. (2001). Self assembly of the transmembrane domain promotes signal transduction through the erythropoietin receptor. *Current Biology*, 11(2), 110-115.

42. Kurtz, A., Jelkmann, W., & Bauer, C. (1982). A new candidate for the regulation of erythropoiesis: Insulin-like growth factor I. *FEBS letters*, 149(1), 105-108.
43. Lacombe, C., & Mayeux, P. (1995). L'érythropoïétine. *Médecine/sciences*, 11, 947-55
44. Liu, Y., Pop, R., Sadegh, C., Brugnara, C., Haase, V. H., & Socolovsky, M. (2006). Suppression of Fas-FasL coexpression by erythropoietin mediates erythroblast expansion during the erythropoietic stress response in vivo. *Blood*, 108(1), 123-133.
45. Livnah, O., Stura, E. A., Johnson, D. L., Middleton, S. A., Mulcahy, L. S., Wrighton, N. C., & Wilson, I. A. (1996). Functional mimicry of a protein hormone by a peptide agonist: the EPO receptor complex at 2.8 Å. *Science*, 273(5274), 464-471.
46. Ly, J., Marticorena, R., & Donnelly, S. (2004). Red blood cell survival in chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases*, 44(4), 715-719.
47. Marfaing-Koka A, Tertian G. (2000). Effects of hemoglobin normalization on quality of life and cardiovascular parameters in ends-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant*.
48. Mark, W. (2004). Indication of iron status of population: ferritin. assessing the iron status of population. Second edition. World health organisation. Vol 112. p 31-48.
49. Martens, F. (2009). Appréciation de l'effet de la L-carnitine sur les posologies d'érythropoïétine chez l'hémodialysé chronique (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
50. Mignotte, V., Eleouet, J. F., Raich, N., & Romeo, P.H. (1989). Cis-and trans-acting elements involved in the regulation of the erythroid promoter of the human porphobilinogen deaminase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(17), 6548-6552.
51. Muta, K., & Krantz, S. B. (1993). Apoptosis of human erythroid colony-forming cells is decreased by stem cell factor and insulin-like growth factor I as well as erythropoietin. *Journal of cellular physiology*, 156(2), 264-271.
52. Muta, K., Krantz, S. B., Bondurant, M. C., & Wickrema, A. (1994). Distinct roles of erythropoietin, insulin-like growth factor I, and stem cell factor in the

- development of erythroid progenitor cells. *The Journal of clinical investigation*, 94(1), 34-43.
53. **Netter, F. H., & Scott, J. (2019).** Atlas d'anatomie humaine. Elsevier Health Sciences.
54. **Nishimura, S., Takahashi, S., Kuroha, T., Suwabe, N., Nagasawa, T., Trainor, C., & Yamamoto, M. (2000).** A GATA box in the GATA-1 gene hematopoietic enhancer is a critical element in the network of GATA factors and sites that regulate this gene. *Molecular and Cellular Biology*, 20(2), 713-723.
55. **Niamkey, E., Diallo, A., Yao Beda, B. (1997).** "L'insuffisance rénale chronique en cote d'ivoire: étude de 800 cas hospitaliers". Article scientifique. *Biologique clinique* 3P. Manuscrit n°1849 "santé publique".
56. **Pisoni, R. L., Young, E. W., Dykstra, D. M., Greenwood, R. N., Hecking, E., Gillespie, B., & Held, P. J. (2002).** Vascular access use in Europe and the United States: results from the DOPPS. *Kidney international*, 61(1), 305-316.
57. **Raj, D. S. (2009).** Role of interleukin-6 in the anemia of chronic disease. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 38, No. 5, p. 382-388). WB Saunders.
58. **Rao, D. S., Shih, M. S., Mohini, R. (1993).** Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *New England Journal of Medicine*, 328(3), 171-175.
59. **Ratajczak, J., Zhang, Q., Pertusini, E., Wojczyk, B. S., Wasik, M. A., & Ratajczak, M. Z. (1998).** The role of insulin (INS) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in regulating human erythropoiesis. Studies in vitro under serum-free conditions—comparison to other cytokines and growth factors. *Leukemia*, 12(3), 371-381.
60. **Ribeil, J. A. (2010).** Hsp70 est un nouveau régulateur majeur de l'érythropoïèse empêchant le clivage du facteur de transcription GATA-1 par la caspase-3 au cours de la différenciation (Doctoral dissertation, Université Paris-Diderot-Paris VII).
61. **Richmond, T. D., Chohan, M., & Barber, D. L. (2005).** Turning cells red: signal transduction mediated by erythropoietin. *Trends in cell biology*, 15(3), 146-155.
62. **Rymer, J. C. (1996).** Aspects récents du métabolisme du fer; les outils biochimiques de son exploration. *Hématologie*, 2(1), 45-56.
63. **Saharinen, P., Takaluoma, K., & Silvennoinen, O. (2000).** Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudo kinase domain. *Molecular and cellular biology*, 20(10), 3387.

64. Storrington, P. L., Tiplady, R. J., Re, G. D., Stenning, B. E., Lamikanra, A., Rafferty, B., & Lee, J. (1998). Epoetin alfa and beta differ in their erythropoietin isoform compositions and biological properties. *British journal of hematology*, 100(1), 79-89.
65. Syed, R. S., Reid, S. W., Li, C., Cheetham, J. C., Aoki, K. H., Liu, B., & Stroud, R. M. (1998). Efficiency of signaling through cytokine receptors depends critically on receptor orientation. *Nature*, 395(6701), 511-516.
66. Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2016). *Éléments d'anatomie et de physiologie. du renouveau pedagogiqueinc. (erpi)*.
67. Zang, H., Sato, K., Nakajima, H., McKay, C., Ney, P. A., & Ihle, J. N. (2001). The distal region and receptor tyrosines of the Epo receptor are non-essential for in vivo erythropoiesis. *The EMBO journal*, 20(12), 3156-3166.
68. Zeller, M. (2016). *Physiologie Rénale. UE 2.2 Cycle de la vie et grandes fonctions*. 35(1), 7.

A 01

Médecin traitant: Docteur MAADADI. Amina (Néphrologue)

N ^o	Date de réception	Age	Sexe	Signes cliniques	Diagnostic suspecte
01	09/01/2021	44	Homme	Fièvre très modérée, Vertiges, Fatigue inhabituelle, Saignements digestifs, Tension artérielle est souvent basse.	Uropathie malformative
02	11/01/2021	32	Femme	Vomissements, Palpitation, Bourdonnements d'oreilles, Maux de tête, Pâleur (bien visible a l'intérieur des paupières, au niveau des ongles et des lèvres).	Uropathie malformative
03	16/01/2021	32	Homme	Fatigue inhabituelle, Essoufflement, Perte d'appétit, Des mouches volantes, Tension artérielle est souvent basse.	Indéterminée
04	18/01/2021	39	Homme	Pâleur, Apparition d'un ictère, Maux de tête, Augmentation du volume de la rate, Palpitation.	HTA
05	09/01/2021	59	Homme	Vertiges, Essoufflement, Difficultés de concentration, Impuissance chez l'homme, Saignements digestifs.	Néphropathie diabétique
06	09/01/2021	35	Homme	Perte d'appétit, Fièvre très modérée, Palpitation, Fatigue inhabituelle, Pâleur, Maux de tête.	Uropathie malformative
07	02/01/2021	49	Femme	Vertiges, Tension artérielle est souvent basse, Apparition d'un ictère, Vomissements, Baisse de désir sexuel.	Polykystose rénale

08	05/01/2021	44	Femme	Palpitation, Bourdonnements d'oreilles, Saignements digestifs, Difficultés de concentration, Perte d'appétit.	Néphropathie indéterminée
09	07/01/2021	51	Homme	Fatigue inhabituelle, Palpitation, Saignements digestifs, Essoufflement, Cheveux et les ongles deviennent fragiles.	Néphropathie indéterminée
10	05/01/2021	73	Homme	Maux de tête, Fièvre très modérée, Fatigue inhabituelle, Difficultés de concentration, Pâleur.	Néphropathie indéterminée
11	09/01/2021	66	Femme	Vertiges, Des mouches volantes, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Perte d'appétit, Apparition d'un ictère.	HTA
12	09/01/2021	66	Femme	Vomissements, Maux de tête, Augmentation du volume de la rate, Saignements digestifs, Essoufflement.	Indéterminée
13	09/01/2021	51	Homme	Tension artérielle est souvent basse, Fatigue inhabituelle, Apparition d'un ictère, Pâleur, Saignements digestifs.	Indéterminée
14	09/01/2021	58	Femme	Fatigue inhabituelle, Saignements digestifs, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, palpitation, Essoufflement.	HTA
15	09/01/2021	59	Femme	Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Apparition d'un ictère, Maux de tête, Essoufflement, Palpitation.	Indéterminée

16	20/01/2021	43	Femme	Des mouches volantes, Augmentation du volume de la rate, Vomissements, Aménorrhée, Fièvre très modérée.	Polykystose rénale
17	23/01/2021	61	Homme	Vertiges, Essoufflement, Vomissements, Pâleur, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Palpitation.	Néphropathie diabétique
18	16/01/2021	77	Femme	Fatigue Inhabituelle, Bourdonnements d'oreilles, Tension artérielle est souvent basse, Difficultés de concentration, Maux de tête.	HTA
19	07/01/2021	69	Femme	Difficultés de concentration, Augmentation du volume de la rate, Pâleur, Vertiges, Maux de tête.	Indéterminée
20	07/01/2021	48	Homme	Saignements digestifs, Des mouches volantes, Vomissements, Apparition d'un ictère, Fièvre très modérée.	Néphropathie diabétique
21	16/01/2021	71	Femme	Essoufflement, Pâleur, Augmentation du volume de la rate, Perte d'appétit, Vomissements.	HTA Vasculaire
22	09/01/2021	68	Homme	Tension artérielle est souvent basse, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Palpitation, Perte d'appétit.	HTA Vasculaire
23	16/01/2021	56	Femme	Palpitation, Tension artérielle est souvent basse, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Vertiges, Vomissements.	HTA Vasculaire
24	09/01/2021	63	Femme	Vertiges, Augmentation du volume de la rate, Difficultés de concentration, Pâleur.	Diabète

25	10/01/2021	68	Femme	Difficultés de concentration, Des mouches volantes, Pâleur, Tension artérielle est souvent basse, Maux de tête.	Diabète
26	30/01/2021	37	Homme	Tension artérielle est souvent basse, Vertiges, Essoufflement, Baisse de désir sexuel, Fatigue inhabituelle.	Autres
27	23/01/2021	20	Homme	Saignements digestifs, Essoufflement, Difficultés de concentration, Palpitation, Fièvre très modérée.	HTA
28	09/01/2021	67	Femme	Tension artérielle est souvent basse, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Perte d'appétit, Fatigue inhabituelle, Pâleur.	Indéterminée
29	17/01/2021	36	Femme	Apparition d'un ictère, Essoufflement, Palpitation, Perte d'appétit, Aménorrhée.	HTA
30	19/01/2021	50	Femme	Saignements digestifs, Fatigue Inhabituelle, Difficultés de concentration, Maux de tête, Fièvre très modérée.	HTA
31	19/01/2021	76	Homme	Vertiges, Tension artérielle est souvent basse, Maux de tête, Essoufflement, Palpitation, Vomissements.	HTA
32	19/01/2021	31	Femme	Vomissements, Tension artérielle est souvent basse, Saignements digestifs, Baisse de désir sexuel, Difficultés de concentration.	HTA
33	09/01/2021	60	Homme	Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Palpitation, Maux de tête, Vertiges, Essoufflement.	Diabète + HTA

34	04/01/2021	46	Homme	Difficultés de concentration, Augmentation du volume de la rate, Vomissement, Pâleur, Bourdonnements d'oreilles.	HTA
35	15/01/2021	40	Homme	Vertiges, Difficultés de concentration, Essoufflement, Tension artérielle est souvent basse, Maux de tête.	HTA
36	03/01/2021	52	Homme	Pâleur, Des mouches volantes, Maux de tête, Fièvre très Modérée, Difficultés de concentration.	Diabète
37	03/01/2021	57	Homme	Tension artérielle est souvent basse, Difficultés de concentration, Perte d'appétit, Vertiges, Maux de tête.	HTA
38	05/01/2021	77	Homme	Vertiges, Vomissements, Saignements digestifs, Augmentation de volume la rate, Des mouches volantes.	HTA
39	03/01/2021	74	Femme	Maux de tête, Bourdonnements d'oreilles, Augmentation du volume de la rate, Fièvre très modérée, Difficultés de concentration.	HTA
40	03/01/2021	45	Homme	Vomissements, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Perte d'appétit, Baisse de désir sexuel, Fatigue Inhabituelle.	HTA
41	05/01/2021	61	Femme	Fièvres très modérée, Vertiges, Perte d'appétit, Maux de tête, Augmentation du volume de la rate.	Indéterminée
42	28/01/2021	65	Femme	Tension artérielle est souvent basse, Perte d'appétit, Pâleur, Fatigue inhabituelle, Vomissement.	Diabète + HTA

43	17/01/2021	52	Femme	Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Bourdonnements d'oreilles, Tension artérielle est souvent basse, Vertiges, Essoufflement.	Polykystose rénale
44	02/01/2021	63	Homme	Saignements digestifs, Vomissement, Palpitation, Essoufflement, Cheveux et les ongles deviennent fragiles.	HTA
45	09/01/2021	69	Homme	Maux de tête, Saignement digestifs, Perte d'appétit, Bourdonnements d'oreilles, Difficultés de concentration.	Indéterminée
46	09/01/2021	63	Homme	Palpitation, Vertiges, Augmentation du volume de la rate, Bourdonnements d'oreilles, Perte d'appétit.	HTA
47	12/01/2021	70	Femme	Tension artérielle est souvent basse, Saignements digestifs, Cheveux et les ongles deviennent fragiles, Bourdonnements d'oreilles, Vertiges.	Diabète
48	08/01/2021	85	Femme	Tension artérielle est souvent haute, Maux de tête, Palpitation, Difficultés de respiration, Pâleur.	HTA Vasculaire
49	07/01/2021	77	Femme	Vomissements, Bourdonnement d'oreilles, Vertige, perte d'appétit.	Diabète
50	11/01/2021	49	Femme	Pâleur, fatigue inhabituelle, fièvre très modérées, tension artérielle très basse.	Autres

A 01

<p>Matériel consommable</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Aiguille épicroânienne vacutainer • Coton • Garrot en caoutchouc • Sparadrap médical • Compresse stérile • Gants chirurgicaux • Masques applicateurs • Tubes secs • Tubes héparines • Tubes EDTA • Tubes à essais stériles • Micropipettes de 5-50uL / 100-1000uL • Embouts (jaune et bleu) • Portoirs des tubes • Etiquettes d'identité + Bon de laboratoire
<p>Appareillages (Annexe 02)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Automate SYSMEX XP-300 • Automate iMagic-M7 • Mindray - spectrophotomètre BA-88A • Automate VIDAS • Centrifugeuse DLAB DM0412 • Minuterie (Dgital Timer) • Agitateur LAB LINE • Réfrigérateur (6 à 8 °C)
<p>Réactifs (Annexe 02)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Alcool éthylique • Eau distillé stérile • Réactif de fer sérique BIOLABO • Réactif de créatinine SPINREACT • Réactif de l'urée SPINREACT • Réactif de ferritine BIOMARIEUX

A 02

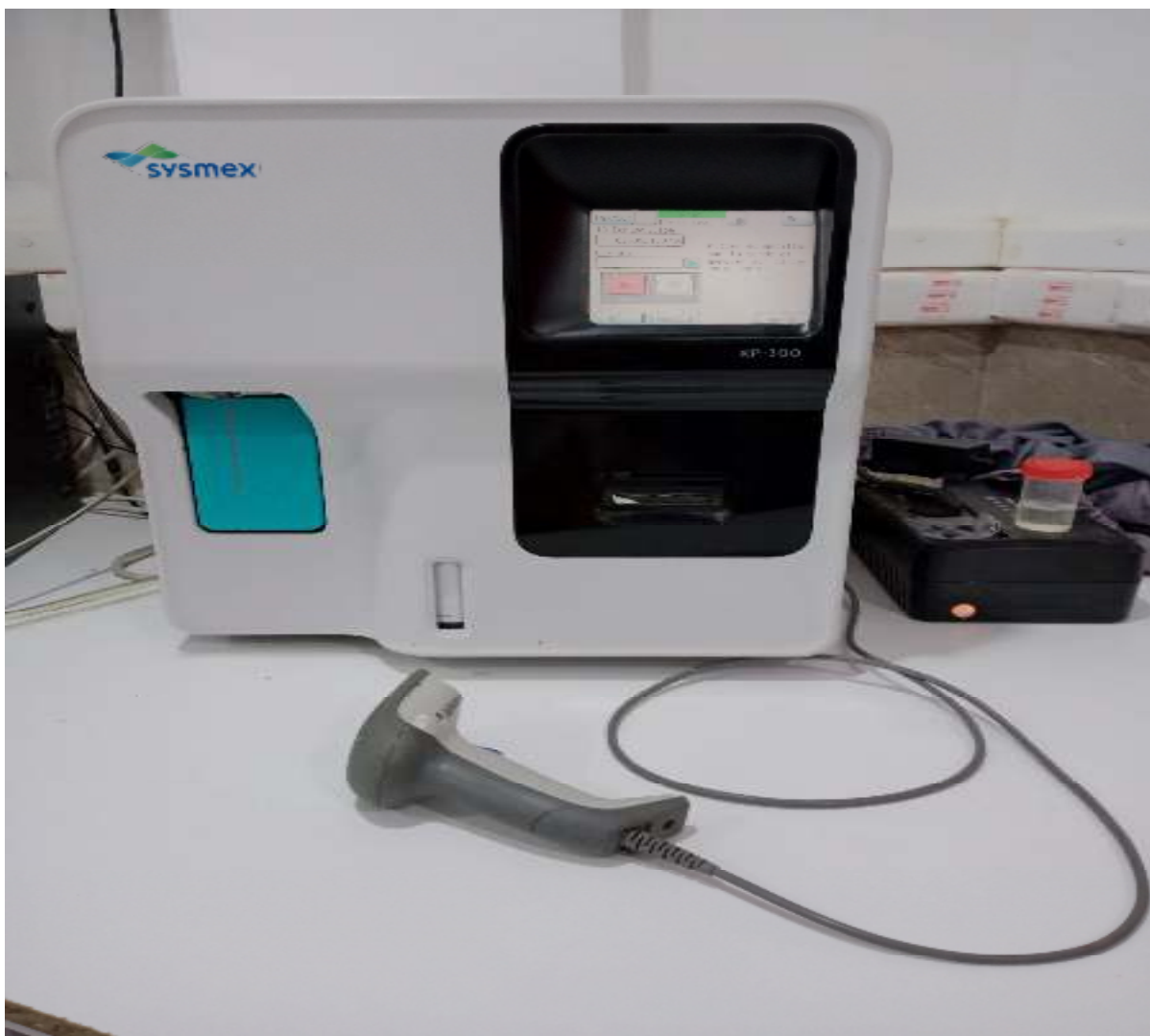


Figure 24: Analyseur d'hématologie SYSMEX XP-300

Pays de Fabrication : Allemagne

Avec son fonctionnement simplifié, le XP-300 est un analyseur d'hématologie idéal pour un laboratoire satellite clinique. Il fournit un CBC (numération sanguine complète) avec 8 paramètres rapportables et un différentiel WBC (white Blood cell) en 3 parties, qui comprend un nombre absolu de neutrophiles (ANC). Le système offre un haut niveau de précision grâce à l'utilisation de discriminateurs flottants automatiques. Construit sur la technologie fiable Sysmex, il dispose d'un menu de démarrage simple et d'une sélection de bouton unique pour l'échantillonnage et la maintenance quotidienne avec une conception compacte et peu encombrante.

A 02 (Suite)



Figure 25: Analyseur de chimie, Modèle: iMagic M7

Pays de Fabrication: Chine

iMagic M7 est un analyseur de chimie entièrement automatique avec un débit constant de 100 à 120 tests par heure et un volume d'échantillon minimum requis de 3L et un volume de réaction de 180 μ L. Il offre 72 positions de réactifs/échantillons et 48 cuvettes réutilisables/jetables, et a un poids net de seulement 37 kg. Caractérisé par: Vaste choix de réactifs, Homogénéisation automatique des échantillons Nettoyage de sonde automatique, Compartiments réfrigérés, Chargement continue des analyses, Thermostat intégré pour contrôler la température graduation de 0,1°C, Nécessite une connexion à un PC, Nettoyage de sondes interne et externe automatique.

A 02 (Suite)



Figure 26: Mindray BA-88A, Modèle: Mindray

Pays de fabrication: Bamako, Mali

L'analyseur semi automatique de biochimie encore appelé spectrophotomètre Modèle BA-88 est équipé d'un logiciel simple et facile a utilisé. L'écran tactile de ce spectrophotomètre favorise une utilisation aisée en laboratoire. Cet analyseur semi automatique de biochimie est doté de deux ports USB permettant ainsi la connexion d'un clavier et d'une imprimante.

A 02 (Suite)



Figure 27: Automate d'immuno-analyse, Modèle: VIDAS

Pays de fabrication: France

Vidas est reconnu pour être un automate de paillasse robuste très simple d'utilisation et toujours opérationnel, ne nécessitant pas de maintenance journalière. Il est un système de test de dosage immunologique automatisé multiparamétrique. Ce dispositif de test spécialement conçu stocke l'étalonnage dans la mémoire de l'analyseur, optimisant ainsi le résultat de coût par patient. De plus, avec ses réactifs prêts à l'emploi, un minimum d'entretien, facilité d'utilisation et uni / interface bidirectionnelle, le coût du travail est également optimisée. Automatisation et analyse cinétique des réactions donnent le temps de réponse rapide.

A 02 (Suite)



Figure 28: Centrifugeuse clinique DLAB, série DM0412, Modèle: DLAB

Pays de Fabrication: Chine

Idéale pour échantillons de petits volumes dans les laboratoires cliniques, industriels et de recherche. Facile à programmer et à utiliser pour obtenir une haute précision dans le contrôle de la vitesse. La vitesse du rotor peut se configurer et se visualiser de manière claire via RPM ou FCR (Force de Centrifugation Relative) de 300 rpm jusqu'à 4500 rpm / 2490 xg (paliers: 100 rpm). Précision de vitesse: ± 20 rpm. Le rotor inclut avec l'équipement (CCEN-A01-001) est conçu pour des tubes de type Vacutainer de 1,5 ml jusqu'à des tubes coniques de 15 ml, en utilisant des adaptateurs et espaceurs (inclus).

A 02 (Suite)



Figure 29: Réactif de fer sérique

Marque: BIOLABO

REF: 1001012 Pays de fabrication:

Espagne



Figure 30: Réactif de ferritine

Marque: BIOMERIEUX

REF: 92108 Pays de fabrication:

France



Figure 31: Réactif d'urée

Marque: SPINREACT

REF: 1001333 Pays de Fabrication:

Espagne



Figure 32: Réactif de créatinine

Marque: SPINREACT

REF: 1001111 Pays de fabrication:

Espagne

A 03



UREA-B

Urée-B

Berthelot, Enzymatique colorimétrique

Détermination quantitative d'urée

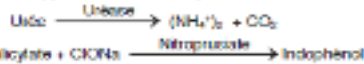
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'urée catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2).

Les ions ammoniac réagissent avec salicylate et hypochlorite (ClO_2^-), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un indophénol vert.



L'intensité de couleur formé est proportionnelle à la concentration d'urée en le test à diminution de la concentration de NAD^+ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines, elle se forme dans le foie à partir de sa destruction.

Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisance cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales^{1,4,5}.

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

REACTIFS

R 1	Tampon phosphates pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mmol/L
R 2	Hypochlorite de sodium (ClO_2^-)	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
R 3	Uréease	30000 U/L
Enzymes		
UREA CAL	Patron primaire de détection d'urée	50 mg/dL

PRECAUTIONS

R2: H314: Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
Surveillez les conseils de précaution donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

- Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) une tablette de R3 dans le flacon de R1. Remuer et mélanger doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.
- Stabilité: 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).
- Le R2: ClO_2^- prêt à l'emploi.

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. Ne pas utiliser les tablettes si apparaît cassé.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 580 nm $\geq 0,32$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 580 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire^{6,7,8,9,10,11}.

ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma hépariné^{6,7}: Ne pas utiliser de sérum d'ammonium ni de fluorure comme anticoagulants.
 - Urine⁸: Diluer l'échantillon à 1/50 dans de l'eau distillée, mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution). Eviter le développement de bactéries, en réglant le pH < 4.
- L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 - Longueur d'ondes: 580 nm
 - Cuvette: 1 cm d'éclairage
 - Température: 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipeter dans une cuvette: ^{9,10,11}

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon ^{9,10,11} (µL)	—	10	—
Echantillon (µL)	—	—	10

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

5 Pipeter

	Blanc	Etalon	Echantillon
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mélange et incubé 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 à 15-25°C.

CALCULS

$(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc} \times 50 \text{ (Etalon conc.)} = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$
 $(A) \text{ Etalon} - (A) \text{ Blanc}$

$\text{mg/dL Urée} \times 0,4166 = \text{mg/dL d'Urée BUN (Blood Urea Nitrogen)}^{\dagger}$.

Facteur de conversion: $\text{mg/dL} \times 0,1665 = \text{mmol/L}$.

CONTROLE DE QUALITE

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

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser finement, 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

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2,45-7,49 mmol/L)

Urine: de 20 à 35 g/24 heures

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 mesure: Depuis la limite de détection de 0,001 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 225 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:

Moyenne (mg/dL)	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
25	0,56	2,17	40,0	1,27
125	2,12	1,68	0,93	2,48
225	1,43	1,68	2,33	1,96

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,00605 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^2): 0,99143

Equation de la Courbe de régression: $y=1,0476x - 0,2846$

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

INTERFERENCES

Comme anticoagulants, il est conseillé d'utiliser de l'héparine. Ne jamais utiliser d'ammonium ou de fluorure⁶.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée^{4,5}.

REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, manipuler avec précaution, être contaminé très facilement.
- Le matériel utilisé et l'eau distillée ne doivent ni contenir d'ammonium, ni de fluorure.
- 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 sériels.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diluer le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce kit dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urée. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. To Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Tabacco A et al. Clin Chem 1979; 25: 336-337.
- Fawcett J K et al. J Clin Path 1960; 13: 156-169.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1991.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burris 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

Réf: 1001331 Cont. R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 15 CAL: 1 x 5 mL

Réf: 1001329 Cont. R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 5 CAL: 1 x 5 mL

A 03 (Suite)



CREATININE -J

Créatinine

Jaffé. Colorimétrique - cinétique

Détermination quantitative de créatinine

IVD

Conservée à 2-8°C.

PRINCIPE DE LA METHODE

Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connues pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La créatinine est le résultat de la dégradation de la créatine, composant des muscles et qui peut être transformée en ATP, source d'énergie pour les cellules.

La production de créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Elle varie peu et les niveaux sont généralement très stables. Elle est diminuée par le rein. En cas d'insuffisance rénale progressive, il existe une rétention de créatinine dans l'urine, la créosine et l'acide urique. Des niveaux élevés de créatinine sont un signe de pathologie rénale^{1,2}. Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	Réactif picrique	Acide picrique	17,5 mmol/L
R 2	Réactif alcalinisation	Hydroxyde de sodium	0,25 mol/L
CREATININE CAL	Paquet premier de dilution de la créatinine - 2 mg/dL		

- Mélanger et activer le chromogène.
- Constituer l'absorbation (A₁) au bout de 30 secondes puis de 90 secondes (A₂) après avoir ajouté l'échantillon de test.
- Calculer: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CALCULS

$$\frac{\Delta A \text{ Echantillon} - \Delta A \text{ Blanc}}{\Delta A \text{ Etalon} - \Delta A \text{ Blanc}} \times 2 \text{ (Conc. Etalon)} = \text{mg/dL de créatinine dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 88,4 = $\mu\text{mol/L}$.**CONTROLE DE QUALITE**

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINREACT H Normal et pathologique (Ref: 1002133) et 1002210.

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser finement, 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 REFERENCE¹

Sérum plasma:

Hommes	0,7 - 1,4 mg/dL	=	61,8 - 123,7 $\mu\text{mol/L}$
Femmes	0,6 - 1,1 mg/dL	=	53,0 - 97,2 $\mu\text{mol/L}$
Dose: 15-25 mg/Kg/24 h			
Hommes	10 - 20 mg/Kg/24 h		
Femmes	8 - 18 mg/Kg/24 h		

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

CHARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,000 mg/dL jusqu'à la limite de mesure de 35 mg/dL. Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de mesure, diluer 1:2 avec du CREA R q1 et multiplier le résultat final par 2.

CALIBRAGE

La sensibilité du réactif de PCR-latex est standardisé au moyen du matériel de référence ERM-DA 472/IFCC.

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 congeler. La congélation des réactifs altère de manière irréversible leurs fonctionnalités.

Toujours maintenir les flacons en position verticale. Si la position est changée mélanger délicatement pour dissoudre les agrégats qui peuvent être présents.

Indices de détérioration des réactifs: Présence de particules et turbidité.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Agitateur mécanique rotatif à vitesse réglable de 60-100 t.p.m.
- Agitateur Vortex
- Pipettes de 50 μL .

ECHANTILLONS

Sérum frais. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons à restes de fibrine doivent être centrifugés avant le test.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés ou lipémiques.

PROCEDURE**Méthode qualitative**

- Tempérer les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité du test réduit à températures basses.
- Déposer 50 μL de l'échantillon (Remarque 1) à tester ainsi qu'une goutte de chaque substance de contrôle positif et négatif, sur cercles différentes d'une porte.
- Mélanger le réactif PCR-latex vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant utilisation. Déposer une goutte (50 μL) à côté de chaque goutte précédente.
- Mélanger les gouttes au moyen d'une baguette, en essayant d'étendre le mélange sur toute la surface intérieure du cercle. Utilisez des baguettes différentes pour chaque échantillon.
- Situer la porte sur un agitateur rotatif à 80 - 100 L.p.m. et agiter durant 2 minutes. Trop de temps peut donner lieu à des résultats positifs erronés.

INTERFERENCES

La bilirubine (20 mg/dL), l'hémoglobine (10 g/L) et les lipides (10 g/L) n'interfèrent pas. Les facteurs rhumatoïdes (100 UI/mL), interfèrent. D'autres substances peuvent interférer³.

REMARQUES

- Une concentration très élevée en PCR dans l'échantillon du patient peut donner lieu à un résultat négatif erroné, étant donné l'effet prozone. Il est dans ce cas conseillé de recommencer le test, en utilisant un volume de 20 μL .
- L'intensité de l'agglutination n'indique pas la concentration de PCR dans les échantillons testés.
- Le diagnostic clinique ne soit pas se baser que sur un test, mais doit prendre un compte les données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

- Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 186-201.
- M.M. Pepys. The Lancet 1961; March 21: 653 - 656.
- Chelana Vashnav. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 138 - 144.
- Yoshitugu Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 - 27.
- Yasumoto S et al. Veterinary Immunology and Immunopathology 1993; 35: 257 - 264.
- Charles Wadsworth et al. Clinica Chimica Acta; 1984; 138: 309 - 318.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACO Press, 1985.

PRESENTATION

Ref: 1200301 50 tests		: 2,5 mL PCR-Latex
		: 1 mL Contrôle +
		: 1 mL Contrôle -
		: 9 x 6 portes jetables
Ref: 1200302 100 tests	Cont.	: 5 mL PCR-Latex
		: 1 mL Contrôle +
		: 1 mL Contrôle -
		: 18 x 6 portes jetables
Ref: 1200305 200 tests		: 2 x 5 mL PCR-Latex
		: 1 mL Contrôle +
		: 1 mL Contrôle -
		: 36 x 6 portes jetables



A 03 (Suite)



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

FER Méthode directe (Féréne)

Réactif pour le dosage quantitatif du fer
dans le sérum ou le plasma humains

REF 92108 R1 2 x 125 mL R2 1 x 10 mL R3 1 x 10 mL

CODE CNQ : GB

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 258 258



USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1)

La concentration en fer sérique est caractéristique du fer Fe^{2+} lié à la transferrine du sérum et n'inclut pas le fer de l'hémoglobine libre.
La concentration en fer sérique est abaissée chez la plupart des patients présentant une anémie hypochrome, dans le cas de syndromes inflammatoires chroniques tels qu'une infection, immunisation, et en cas d'infarctus du myocarde. Des concentrations en fer sérique supérieures à la normale sont constatées dans l'hémochromatose, lors d'ingestion médicamenteuse ou accidentelle importante de fer (empoisonnement chez l'enfant) ou d'hépatites aiguës.

PRINCIPE(4)

Après rupture de la liaison fer-transferrine en présence d'acide citrique, le fer Fe^{3+} est réduit par l'acide ascorbique en ions Fe^{2+} . Les ions Fe^{2+} forment, avec le 3-(2-Pyridyl)-5,6-difuryl-1,2,4-triazino-diauronal, (Féréne) un complexe coloré, dont l'absorbance, mesurée à 600 nm (580-620), est directement proportionnelle à la concentration en fer dans le spécimen. La thiorée contenue dans le réactif permet de prévenir l'interférence du cuivre.

REACTIFS

Flacon R1	REACTIF REDUCTEUR
Acide citrique	150 mmol/L
Acide ascorbique	30 mmol/L
Thiorée	27 mmol/L

Flacon R2	REACTIF CHROMOGENE
Féréne	600 µmol/L

Flacon R3	ETALON
Fer	2,00 mg/L (35,8 µmol/L)

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
 - Ne pas pipeter avec la bouche.
 - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
 - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - Élimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Préparer un réactif de travail en respectant les proportions suivantes :
R1 (50 volumes)/R2 (1 volume).

Utiliser un matériel lavé soigneusement avec HCl 0,1 N et bien rincé à l'eau distillée. Apporter une attention particulière à la qualité de l'eau, des réactifs et/ou des spécimens.

Certains automates requièrent une préparation différente (consulter la procédure spécifique).

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien rebouché et à l'abri de la lumière.

- Éviter (flacon R3) : Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées.
- Le réactif de travail (RT) est stable au moins 3 mois en l'absence de contamination.
- Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou si le blanc réactif (RT) à 600 nm est = 0,100.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (6)

Sérum du matin non hémolysé, prélevé avant les autres spécimens nécessitant des anticoagulants. Ne pas utiliser EDTA, oxalate ou citrate. Plasma hépariné.

Le fer sérique est stable : 4 jours à température ambiante
une semaine à 2-8°C.

INTERFERENCES (3) (5)

Hémoglobine : interférence positive.
EDTA : interférence négative.
Bilirubine totale : pas d'interférence.
Bilirubine directe : pas d'interférence.
Toute médication à base de fer peut conduire à une augmentation du fer sérique jusqu'à 2 à 4 semaines après administration.
Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

- Équipement de base du laboratoire d'analyses médicales
- Sérum de contrôle normal et pathologiques.

CALIBRATION (7)

- Flacon du coffret (flacon R3) ou BIOLABO Multicalibrator REF 85015 traçables sur SRM 3126a.
- Cu tout calibrant rattaché sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend de la programmation et des performances de l'analyseur, ainsi que des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

- Changement de lot de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
- Les valeurs de contrôle obtenues sortent des limites de confiance indiquées, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

A 03 (Suite)

BIOMÉRIEUX

REF 30 411

06036 L - fr - 2015/06



VIDAS® Ferritin (FER)



VIDAS Ferritin est un test quantitatif automatisé sur les instruments de la famille VIDAS, permettant la détermination de la Ferritine humaine dans le sérum ou le plasma humain (héparinate de lithium ou EDTA) par technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La ferritine est la forme de stockage du fer la plus répandue dans le corps humain (1). Ses molécules se retrouvent dans les cellules du système réticulo-endothélial, plus particulièrement dans le foie et la rate. Elle se présente sous la forme d'une enveloppe protéinique creuse sphérique, composée de 24 sous-unités protéiques. Le fer se situe au centre de la molécule, sous forme d'hydroxyphosphate ferrique. Cette molécule peut renfermer en moyenne 4500 atomes de fer (2). L'anémie ferri-prive est une affection commune pouvant être expliquée par un apport ferrique trop pauvre, une grossesse, une hémodialyse ou un don de sang (3). La chute du niveau de ferritine sérique peut être le signe d'un déficit en fer précédant l'apparition de l'anémie. La détection d'un niveau insuffisant de ferritine permet donc un traitement anticipé (4). En outre, la surcharge ferrique est caractéristique de maladies comme la thalassémie et l'anémie sidéroblastique. Dans de tels cas, la mesure de la ferritine sérique aide au diagnostic et permet la surveillance des patients (5, 6). Le niveau de ferritine sérique agit donc comme un indicateur de la quantité de fer dans l'organisme (7,8). Il est également en étroite corrélation avec le niveau de fer de la moelle osseuse. La détermination de la concentration en ferritine sérique permet d'obtenir des données quantitatives et d'éviter la biopsie de moelle osseuse, pratique plus invasive (9, 10, 11).

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par sandwich en 1 étape à une détection finale en fluorescence (ELFA). Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel. Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône : l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombellifénone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (60 TESTS) :

60 cartouches FER	STR	Prêtes à l'emploi.
60 cônes FER 2 x 30	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par des immunoglobulines monoclonales de souris anti-Ferritine.
Contrôle FER 1 x 2 ml (liquide)	C1	Prêt à l'emploi. Tampon Tris (0,1 mol/l) pH 7,4 + Ferritine d'origine humaine + Albumine bovine + stabilisants protéiques et chimiques. Les données MLE fournissent l'intervalle de confiance en ng/mL ("Control C1 Dose Value Range").
Calibrateur 1 x 2 ml (liquide)	S1	Prêt à l'emploi. Tampon Tris (0,1 mol/l) pH 7,4 + Ferritine d'origine humaine + Albumine bovine + stabilisants protéiques et chimiques. Les données MLE fournissent la concentration en ng/mL ("Calibrator (S1) Dose Value") ainsi que l'intervalle de confiance en "Relative Fluorescence Value" (Calibrator (S1) RFV Range).
Tampon de dilution FER 1 x 25 ml (liquide)	R1	Prêt à l'emploi. Tampon Tris (0,1 mol/l) pH 7,4 + Albumine bovine + stabilisants protéiques et chimiques.
Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : • Données MLE (Master Lot Entry) fournies dans le kit, ou • Code à barres MLE imprimé sur l'étiquette étui.		
1 notice fournie dans le kit ou téléchargeable sur www.biomerieux.com/techlib		

VIDAS® Ferritin (FER)

06036 L - fr - 2015/06

Réalisation du test

- Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.
- Placer une cartouche "FER" et un cône "FER" pour chaque échantillon, contrôle ou calibrateur à tester. Vérifier que le sachet de cônes a été reformé complètement après chaque utilisation.
- Le test est identifié par le code "FER" sur l'instrument. Le calibrateur identifié obligatoirement par "S1" doit être utilisé en double. Si le contrôle doit être testé, il sera identifié par "C1".
- Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le calibrateur, le contrôle et les échantillons (pour sérum ou plasma séparé du culot).
- La prise d'essai du calibrateur, du contrôle et des échantillons est de 100 µl pour ce test.
- Placer dans l'instrument les cônes "FER" et les cartouches "FER". Vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.
- Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument.
- Reboucher les flacons et les remettre à 2-8°C après pipetage.
- Les résultats sont obtenus en 30 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.
- Éliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée (modèle mathématique : « modèle logistique à 4 paramètres ») et sont exprimés en ng/ml (préparation NIBSC 90/578).

Les échantillons, présentant des concentrations en ferritine supérieures à 1 200 ng/ml doivent être recosés après dilution au 1/10 voire au 1/100 dans le tampon de dilution FER (R1). Si le facteur de dilution n'a pas été saisi lors de la création de la liste de travail (voir Manuel d'Utilisation), multiplier le résultat par le facteur de dilution pour avoir la concentration de l'échantillon. L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle est inclus dans chaque coffret VIDAS FER. Ce contrôle doit être utilisé à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ce contrôle. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur du contrôle, il faut l'identifier par C1. Si la valeur du contrôle s'écarte des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITE DU TEST

Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique. L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.

VALEURS ATTENDUES

Ces résultats sont donnés à titre indicatif, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.
« Les valeurs ont été établies sur 206 sujets en bonne santé clinique, hématologiquement normaux et indemne d'atteinte hépatique ».

Si on décrit la population observée par la méthode des pourcentages, on obtient les résultats suivants :

Hommes :

Zone de valeurs	0 - 68 ng/ml	68 - 208 ng/ml	208 - 434 ng/ml	Moyenne
Fréquence	5%	45%	45%	236 ng/ml

Femmes cycliques :

Zone de valeurs	0 - 9,3 ng/ml	9,3 - 45 ng/ml	45 - 159 ng/ml	Moyenne
Fréquence	5%	45%	45%	58 ng/ml

A 04

Tableau VI: Normes de globule rouge (millions par microlitre)

Age / SEXE	HOMME	FEMME
0-8 Jours	4,30-5,70	4,30-5,70
8-15 Jours	4,20-5,40	4,20-5,40
15-31 Jours	3,40-4,60	3,40-4,60
0-3 Mois	3,40-4,60	3,40-4,60
3-7 Mois	3,20-4,80	3,20-4,80
7-12 Mois	3,70-4,80	3,70-4,80
0-4 ans	3,70-5,00	3,70-5,00
4-8 ans	4,00-5,20	4,00-5,20
8-15 ans	4,00-5,40	4,00-5,40
15-100 ans	4,20-5,50	4,20-5,50

Tableau VII: Normes d'hémoglobine g/dL

Age/Sexe	HOMME	FEMME
0-8 Jours	15,50-21,50	15,50-21,50
8-15 Jours	15,50-20,50	15,50-20,00
15-31 Jours	12,00-16,50	12,00-16,50
0-7 mois	10,40-12,50	10,40-12,50
7-12 Mois	10,50-12,50	10,50-12,50
0-4 ans	10,50-13,00	10,50-13,00
4-8ans	11,00-13,00	11,00-13,00
8-15 ans	12,00-14,50	12,00-14,50
15-100 ans	13,00-17,00	11,50-15,00

Tableau VIII : Normes d'hématocrite %.

Age / Sexe	Homme	Femme
0-8Jours	47,00-68,00	47,00-68,00
8-15Jours	47,00-65,00	47,00-65,00
15-31Jours	37,00-49,00	37,00-49,00
0-3 Mois	37,00-49,00	37,00-49,00
3-7Mois	30,00-36,00	30,00-36,00
7-12Mois	33,00-39,00	33,00-39,00
0-4 ans	33,00-39,00	33,00-39,00
4-8 ans	36,00-44,00	36,00-44,00
8-16 ans	37,00-45,00	37,00-45,00
16-100 ans	40,00-54,00	37,00-47,00

Tableau IX: Normes de VGM μ 3.

Age/sexe	Homme	Femme
0-8jr	110,00-125,00	99,6-109,2
8-31jr	98,00-112,00	98,00-112,00
0-3 mois	98,00-112,00	98,00-112,00
3-7	70,00-86,00	70,00-86,00
7-13	80,00-96,00	80,00-96,00
0-4 ans	70,00-86,00	70,00-86,00
4-8	74,00-88,00	74,00-88,00
8-10	77,00-91,00	77,00-91,00
10-100	82,00-98,00	82,00-98,00

Tableau X : Normes de TCMH l/l.

Age/sexe	Homme	Femme
0-8jr	35,00-40,00	35,00-40,00
8-15	35,00-39 ,00	35,00-39 ,00
15-31	33,00-37,00	33,00-37,00
0-3mois	33,00-37,00	33,00-37,00
3-7	24,00-34,00	24,00-34,00
7-13	24,00-30,00	24,00-30,00
0-8ans	24,00-30,00	24,00-30,00
8-10	24,00-27,00	24,00-27,00
10-100	27,00-32,00	27,00-32,00

Tableau XI : Normes de CCMH g/100ml.

Age/sexe	Homme	Femme
0-31jr	30 ,00-34,00	30 ,00-34,00
0-3mois	30,00-34,00	30,00-34,00
3-7	32,00-36,00	32,00-36,00
7-13	28,00-36,00	28,00-36,00
0-8ans	28,00-33,00	28,00-33,00
8-10	30,00-35,00	30,00-35,00
10-100	30,00-37,00	30,00-37,00

A 05



Figure 33: Appareil stationnaire pour hémodialyse FRESENIUS 4008S

Un générateur d'hémodialyse est ainsi une machine permettant l'extraction, l'épuration et la réinjection automatique du sang. Cette filtration s'effectue à travers une membrane filtrante contenue dans le dialyseur et permettant la diffusion. La membrane sépare le sang d'un liquide appelé dialysat contenant de l'eau pure minéralisée (potassium, calcium...) aux concentrations voulues.

Annexe 06



Figure 34: Hemax 2.000 UI (Erythropoïétine humaine recombinante)



Figure 35: Fer injectable "RAZIFER"