



**HAL**  
open science

## Place des indices érythrocytaires (%HYPO et CHr) dans l'évaluation du statut martial de la femme enceinte

Arnaud Raymond

► **To cite this version:**

Arnaud Raymond. Place des indices érythrocytaires (%HYPO et CHr) dans l'évaluation du statut martial de la femme enceinte. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-03108910

**HAL Id: dumas-03108910**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03108910>**

Submitted on 13 Jan 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

faisant office de mémoire pour l'obtention du

DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE MÉDICALE

soutenue publiquement le 17 juin 2019 à Amiens (80)  
par Arnaud RAYMOND, né le 02 juin 1992 à Aurillac (15)

Place des indices érythrocytaires (%HYPO et CHr) dans  
l'évaluation du statut martial de la femme enceinte

Jury :

Professeur Saïd Kamel, Biochimie, Président du jury  
Professeur Loïc Garçon, Hémato-biologie, directeur de thèse  
Professeur Jean Gondry, Gynécologie-Obstétrique  
Docteur Pierre Morel, Hématologie Clinique  
Docteur Volker Thiel, Anesthésie-Réanimation

# Remerciements

A Monsieur le Professeur Saïd Kamel,

Pour avoir accepté la présidence de ce jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Jean Gondry,

Je vous remercie pour l'intérêt que vous portez pour ce travail, et d'en avoir accepté le déroulement, il y a presque deux ans. Veuillez trouver ici l'expression de mon respect et de ma sincère considération.

A Monsieur le Docteur Pierre Morel,

Pour avoir accepté de juger ce travail, pour vos conseils et votre analyse aux balbutiements de cette thèse, je vous remercie. Ma sincère sympathie et mon profond respect vous sont acquis.

A Monsieur le Docteur Volker Thiel,

Pour avoir répondu présent à nos sollicitations et avoir accepté de juger ce travail, Vielen Dank !

A Monsieur le Professeur Loïc Garçon,

Pour avoir accepté de conduire cette thèse, je te remercie. Sois assuré de mon respect et de ma reconnaissance pour tes remarques et ton analyse, toujours pertinentes, ainsi que ton immense aide pour mener à bien ce travail.

Au laboratoire d'hématologie du CHU d'Amiens,

J'ai aimé apprendre et travailler parmi vous, merci pour ces deux semestres !

Au laboratoire du CH d'Abbeville,

Merci pour votre accueil et votre confiance !

A ma chère famille,

Merci pour votre soutien constant, votre joie de vivre. Ma chère maman, tu n'imagines pas comme je t'admire, pour ton amour, pour tout ce que tu as fait pour tes enfants. Je suis devenu adulte le jour où j'ai compris tout ça. Papalain, tu es un exemple.

Je vous aime.

Aux Lillois,

La fin d'un cycle approche, et grâce à vous, j'ai passé des belles années dans le ch'nord ! Merci !

Au colocs' de la Réunion,

Je compte sur vous pour le buffet, « on va pas laisser ça »... !

A mes co-internes,

« Raymonar » est partout, il est passé par là et repassera peut être ! Merci pour ces bons moments.

A ma chère et tendre épouse, Sarah,

Merci d'avoir donné de ta personne pour cette thèse ! mais aussi pour ta relecture attentive.

Je ne compte plus les années, tellement il est facile de vivre à tes côtés. Que de chemin parcouru !

On s'est soutenu l'un l'autre dans ces études, dans ce concours, et voilà le résultat. Je pense sincèrement que je ne serais pas là sans toi. En plus d'être une femme formidable, tu es une maman attentionnée et merveilleuse ! Je t'aime.

A ma fille, mon Aliénor,

Tu es un bébé adorable, te regarder grandir est un bonheur extraordinaire, et il est impossible de ne pas t'aimer.

# Serment

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

# Table des matières

Remerciements .....	2
Serment .....	4
Table des matières .....	5
Abréviations .....	8
Liste des tableaux .....	9
Liste des figures .....	10
1. Introduction.....	11
1.1. Le fer.....	11
1.1.1. Un composé indispensable à l'organisme .....	11
1.1.2. Fer héminique .....	12
1.1.3. Fer non héminique.....	14
1.1.4. Fer libre.....	14
1.2. Métabolisme du fer et érythropoïèse.....	15
1.2.1. Besoins et réserves en fer .....	15
1.2.2. Apports en fer .....	15
1.2.2.1. Coefficient d'absorption du fer .....	15
1.2.2.2. Facteurs influençant l'absorption du fer .....	16
1.2.2.3. Le fer dans l'alimentation.....	16
1.2.2.4. Recommandations alimentaires.....	17
1.2.2.5. Une alimentation trop riche en fer.....	18
1.2.3. Absorption.....	19
1.2.4. Transport et stockage du fer .....	19
1.2.4.1. Transferrine.....	19
1.2.4.2. La distribution du fer aux cellules de l'organisme .....	20
1.2.4.3. Le stockage du fer .....	20
1.2.5. Régulation du métabolisme du fer.....	21
1.2.5.1. Ferroportine .....	21
1.2.5.2. L'hepcidine .....	21
1.2.5.3. Erythroferrone .....	22
1.2.6. Le recyclage: une source importante de fer.....	23
1.2.7. Le fer et l'érythropoïèse.....	25
1.3. Carence martiale absolue ou fonctionnelle .....	26
1.3.1. Epidémiologie.....	26
1.3.2. Physiopathologie.....	26
1.3.2.1. De l'érythropoïèse restreinte en fer à l'anémie .....	26
1.3.2.2. L'insuffisance fonctionnelle en fer .....	27
1.3.2.3. La déplétion des réserves.....	28
1.3.3. Anémie ferriprive .....	29
1.3.3.1. Définition de l'anémie .....	29

1.3.3.2. Aspects cliniques .....	29
1.3.3.3. Biologie.....	30
1.3.3.3.1. Hémogramme.....	30
1.3.3.3.1.1. VGM.....	30
1.3.3.3.1.2. CCMH et TCMH.....	30
1.3.3.3.1.3. Frottis sanguin .....	31
1.3.3.3.2. Réticulocytes .....	32
1.3.3.3.3. Bilan martial .....	34
1.3.3.3.3.1. Gold standard .....	34
1.3.3.3.3.2. Ferritine .....	34
1.3.3.3.3.3. Définir les valeurs normales de la ferritine sérique .....	35
1.3.3.3.3.4. Coefficient de saturation de la transferrine.....	36
1.3.3.3.3.5. Fer sérique .....	37
1.3.3.3.3.6. Récepteur soluble de la transferrine .....	38
1.3.3.3.3.7. Protoporphyrine liée au zinc.....	38
1.3.3.3.3.8. Hpcidine .....	38
1.4. Le fer pendant la grossesse.....	39
1.4.1. Des apports supplémentaires .....	39
1.4.2. Epidémiologie de l'anémie et de la carence martiale chez la femme enceinte .....	39
1.4.3. Retentissement chez le nouveau-né.....	40
1.4.4. Pratiques actuelles en terme de supplémentation chez la femme enceinte .....	41
1.4.4.1. Recommandations anglaises .....	41
1.4.4.2. Recommandations OMS.....	42
1.4.4.3. Recommandations françaises.....	42
1.4.4.4. Intérêt du diagnostic de la carence martiale au début de grossesse .....	42
1.4.4.5. Supplémentation martiale de la femme enceinte.....	43
1.4.5. Ferritine et grossesse .....	45
1.4.6. Synthèse.....	45
1.5. Des indices étudiés mais peu utilisés : le %HYPO et la CHR.....	46
1.5.1. %HYPO .....	46
1.5.1.1. %HYPO : principe de mesure des Advia® 2120.....	47
1.5.1.2. Valeurs du %HYPO.....	48
1.5.2. La chromie réticulocytaire : CHR.....	49
1.5.2.1. CHR : principe de mesure des Advia® 2120.....	49
1.5.2.2. La CHR, un paramètre déjà étudié .....	50
1.5.2.3. Quelles valeurs de CHR? .....	50
1.5.3. Synthèse.....	53
1.6. Objectif de l'étude .....	54
2. Méthode .....	55
2.1. Automates : Advia® 2120 et 2400 Siemens .....	55
2.2. Population.....	55
2.3. Ferritine .....	55

2.4. Etudes rétrospectives : 2012-2017 et 2018 .....	56
2.5. Logiciels .....	56
3. Résultats .....	57
3.1. Partie 1 : Etude rétrospective 2012-2017 .....	57
3.1.1. Description de la population d'étude.....	57
3.1.2. Identification de la carence martiale absolue chez la femme enceinte .....	58
3.1.2.1. L'hémoglobine pour identifier une carence martiale absolue .....	58
3.1.2.2. Le %HYPO pour identifier une carence martiale absolue .....	60
3.1.2.3. La CHR pour identifier une carence martiale absolue.....	63
3.1.3. Conclusion de la partie 1 : 2012-2017 .....	66
3.2. Partie 2 : Etude rétrospective sur l'année 2018.....	68
3.2.1. Description de la population d'étude.....	68
3.2.2. Performances diagnostiques des indices érythrocytaires .....	70
3.2.3. Performances diagnostiques avec le CST pour référence .....	74
4. Discussion .....	75
4.1. Perspectives .....	78
4.1.1. Proposition d'algorithme diagnostique .....	78
4.1.2. Étude prospective .....	78
5. Conclusion .....	79
Bibliographie.....	80



# Abréviations

%HYPO: pourcentage de globules rouges

hypochromes

ACD: anemia of chronic disease

ADN : acide désoxyribo-nucléique

ANAES: Agence Nationale de l'accréditation et de l'Evaluation en Santé (remplacée par la HAS)

ANSES: Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARN: acide ribo-nucléique

AUC : area under the curve

BCSH: British Committee for Standards in Haematology

CCMH: concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CNGOF : Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français

CTFT : capacité totale de fixation de la transferrine

CHr: chromie réticulocytaire

CM : carence martiale

CMA : carence martiale absolue

CMF : carence martiale fonctionnelle

CST : coefficient de saturation de la transferrine

DCYTB: duodenal cytochrome B, ou cytochrome B reductase 1

DMT1: divalent metal transporter 1

EDTA: Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

EPO: érythropoïétine

FID: functional iron deficiency

HAS : Haute Autorité de Santé

HCP1: heme carier protein 1

HMOX1: hème oxygenase 1

HTA: hypertension artérielle

INPES: Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé

IRC : insuffisance rénale chronique

IR-E: iron responsive elements

IRIDA: Iron Refractory Iron Deficiency Anemia

IR-P: iron responsive protein

IV : intra-veineuse

LDH%: low haemoglobin density

MGG: May Grümwald Giemsa

NFS: numération formule sanguine

NTBI: non-transferrin bind iron

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PCBP : Poly(rC)-binding protein

PO : per os

RDW: red cell distribution width

ROC : receiver operator characteristics

SFP: Société Française de Pédiatrie

SIL: Système Informatique du Laboratoire

STEAP3: Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate 3

sTf-R : récepteur soluble de la transferrine

TCMH: teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

Tf-R: récepteur de la transferrine

VGM: volume globulaire moyen

# Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : quantité d'aliment nécessaire pour absorber 1 mg de fer</i> .....	16
<i>Tableau 2 : teneur en fer des principaux aliments</i> <sup>21</sup> .....	17
<i>Tableau 3 : besoins en fer selon l'âge et le sexe</i> .....	18
<i>Tableau 4 : besoins recommandés en fer absorbé : 1 mg/j en moyenne, et 2 mg/j chez les filles de plus de 12 ans (premières menstruations)</i> .....	18
<i>Tableau 5 : concentration en hémoglobine définissant l'anémie chez la femme enceinte</i> .....	29
<i>Tableau 6 : principaux signes cliniques de l'anémie</i> <sup>52</sup> .....	29
<i>Tableau 7 : valeurs normales de l'hémogramme</i> <sup>58</sup> .....	32
<i>Tableau 8 : valeurs seuils de ferritine en dessous desquelles il est permis d'affirmer une carence martiale vraie (CMA) selon l'OMS</i> <sup>34</sup> .....	35
<i>Tableau 9 : propositions de seuils de ferritine et de CST pour définir la CMA et la CMF en fonction des situations pathologiques ?</i> .....	37
<i>Tableau 10 : valeurs des protoporphyrines érythrocytaires selon l'état martial</i> .....	38
<i>Tableau 11 : prévalence du déficit en fer dans la population française, 2001</i> <sup>5</sup> .....	40
<i>Tableau 12 : traitement de l'anémie par carence martiale pendant la grossesse et en post-partum, 2011</i> <sup>29</sup>	44
<i>Tableau 13 : cut-off de %HYPO et leur signification</i> .....	48
<i>Tableau 14: cut-off de CHr et leur signification</i> .....	51
<i>Tableau 15 : principaux paramètres étudiés, étude rétrospective 2012-2017, n = 248</i> .....	57
<i>Tableau 16: comparaison de l'utilisation de l'hémoglobine du %HYPO et de la CHr pour guider la supplémentation en fer</i> .....	66
<i>Tableau 17 : répartition des populations carencées/non carencées selon le cut-off de ferritine pris à 15 µg/L, selon la valeur de l'hémoglobine. Données rétrospectives 2018</i> .....	69
<i>Tableau 18 : principaux paramètres étudiés : rétrospectif 2018, n = 50</i> .....	69
<i>Tableau 19 : performances diagnostiques des indices érythrocytaires, rétrospectif 2018, n = 50</i> .....	70
<i>Tableau 20 : valeurs des %HYPO et CHr chez les patientes ayant une CM absolue sans anémie, population rétrospective 2018</i> .....	71
<i>Tableau 21 : état de l'érythropoïèse chez les femmes enceintes au 3<sup>e</sup> trimestre ayant un CST ≥ 15% et une ferritine effondrée (&lt; 15 µg/L)</i> .....	73
<i>Tableau 22 : courbes ROC, valeurs diagnostiques, rétrospectif 2018, n = 50</i> .....	74

# Liste des figures

<i>Figure 1 : structure de l'hème de l'hémoglobine : l'atome de Fe sous forme Fe<sup>2+</sup> est lié à la protoporphyrine IX via les atomes d'azote. L'atome de fer lie, d'un côté l'histidine d'une chaîne de globine, de l'autre une molécule d'oxygène (O<sub>2</sub>)<sup>14-16</sup> .....</i>	12
<i>Figure 2 : structure quaternaire de l'hémoglobine A (α<sub>2</sub>β<sub>2</sub>)<sup>14</sup> .....</i>	12
<i>Figure 3 : courbe de Barcroft d'association/dissociation de l'oxygène de l'hémoglobine .....</i>	13
<i>Figure 4 : courbe d'association/dissociation de l'oxygène de la myoglobine.....</i>	13
<i>Figure 5 : métabolisme du fer<sup>24</sup> .....</i>	15
<i>Figure 6 : le fer et l'entérocyte<sup>30</sup> .....</i>	19
<i>Figure 7 : le métabolisme simplifié du fer, sous l'angle de l'hepcidine<sup>39</sup> .....</i>	21
<i>Figure 8 : le couple hepcidine/ferroportine et l'érythroferrone dans la régulation du métabolisme du fer<sup>37</sup> .....</i>	22
<i>Figure 9 : le circuit du fer dans le macrophage<sup>40</sup> .....</i>	23
<i>Figure 10 : métabolisme du fer<sup>3</sup> .....</i>	24
<i>Figure 11 : les différentes sources et utilisation du fer dans une cellule<sup>31</sup> .....</i>	25
<i>Figure 12 : étiologies de l'érythroïèse déficiente en fer<sup>46</sup> .....</i>	27
<i>Figure 13 : frottis sanguin observé chez un patient présentant une carence martiale<sup>59</sup> .....</i>	31
<i>Figure 14 : frottis sanguin montrant des hématies normales, laboratoire d'Abbeville.....</i>	31
<i>Figure 15 : proposition d'algorithme diagnostic devant une anémie<sup>52</sup> .....</i>	33
<i>Figure 16 : scattergramme érythrocytaire (Advia 2120) .....</i>	47
<i>Figure 17 : algorithme diagnostic pour identifier le mécanisme de la carence martiale chez des patients anémiés : absolue ou fonctionnelle (inflammatoire) : les cases 1 et 4 correspondent à une absence d'inflammation, les cases 2 et 3 à la présence d'une inflammation ; les cases 4 et 3 regroupent les patients présentant une carence en fer. ....</i>	52
<i>Figure 18 : proposition d'algorithme diagnostic devant une anémie, intégrant la CHR, au seuil de 29 pg .....</i>	53
<i>Figure 19: hémoglobine selon le niveau de ferritine. Données rétrospectives, n = 248 .....</i>	58
<i>Figure 20 : courbe ROC de l'hémoglobine .....</i>	59
<i>Figure 21 : courbe ROC du %HYPO .....</i>	60
<i>Figure 22 : répartition des valeurs du %HYPO selon le niveau de ferritine. Données rétrospectives 2012-2017, n = 248 .....</i>	60
<i>Figure 23 : %HYPO en fonction du statut martial et de la valeur de l'hémoglobine (N = 152) .....</i>	62
<i>Figure 24 : courbe ROC de la CHR.....</i>	63
<i>Figure 25 : répartition des valeurs de CHR selon le niveau de ferritine. Données rétrospectives 2012-2017..</i>	64
<i>Figure 26 : CHR en fonction du statut martial et de la valeur de l'hémoglobine (N = 14) .....</i>	65
<i>Figure 27 : hémoglobine en fonction du niveau de ferritine. Données rétrospectives 2018, n = 50 .....</i>	68
<i>Figure 28 : état martial selon de CST. Les barres vertes représentent les différents seuils : hémoglobine à 11g/dL, ferritine à 15 µg/L, %HYPO à 1% et CHR à 27,5 pg. Données rétrospectives 2018, n = 50.....</i>	72
<i>Figure 29 : CHR en fonction du CST chez les femmes enceintes ayant plus de 11g/dL d'hémoglobine et une ferritine effondrée, n = 25.....</i>	73
<i>Figure 30 : %HYPO en fonction du CST chez les femmes enceintes ayant plus de 11g/dL d'hémoglobine et une ferritine effondrée, n = 25.....</i>	73
<i>Figure 31 : courbe ROC de l'hémoglobine, seuil de CST à 15%.....</i>	74
<i>Figure 32 : courbe ROC du %HYPO, seuil de CST à 15%.....</i>	74
<i>Figure 33 : courbe ROC de la CHR, seuil de CST à 15% .....</i>	74

# 1. Introduction

## 1.1. Le fer

### 1.1.1. Un composé indispensable à l'organisme

L'homme a depuis longtemps compris l'importance du fer en médecine<sup>1</sup>, à travers l'utilisation de plantes médicinales riches en fer, comme *Urtica dioica* (l'ortie), ou *Panax ginseng* (le ginseng)<sup>2</sup>. Au 17<sup>e</sup> siècle, le fer est utilisé pour traiter la chlorose, une pathologie quasi disparue, probablement provoquée par une carence en fer<sup>1</sup>. L'étude de son métabolisme ne date pas d'aujourd'hui, la ferritine a été, en 1937, la deuxième protéine mise en évidence par cristallisation<sup>3</sup>.

Le fer est un élément essentiel à la vie des organismes vivants, en participant à la synthèse de l'ADN, à la transcription de certains ARN messagers, ainsi qu'à des réactions enzymatiques comme cofacteur de la catalase et de la peroxydase, ou encore à des réactions d'oxydoréduction ( $\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \Leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$ )<sup>4</sup>. C'est un constituant de plusieurs cytochromes, des molécules participant notamment au métabolisme des médicaments. Mais la principale fonction du fer est de participer au transport de l'oxygène. En effet, c'est un élément constitutif de l'hème, une molécule qui, associée aux chaînes de globine, constitue l'hémoglobine, protéine des globules rouges qui permet le transport de l'oxygène dans la circulation sanguine<sup>5</sup>. Le fer, inséré dans l'hème et associé à une seule chaîne de globine, fait partie d'une autre protéine, cytoplasmique : la myoglobine, qui transporte également de l'oxygène<sup>6,7</sup>.

Les anomalies du métabolisme du fer sont responsables de pathologies répandues, comme l'anémie ferriprive avec environ 1 milliard de personnes concernées<sup>8</sup>, soit une prévalence d'environ 20% chez les femmes<sup>5</sup>, ou l'hémochromatose, dont la prévalence, moindre et variable selon les régions, est de 0,1 à 0,5%<sup>9</sup>.

### 1.1.2. Fer héminique

Le fer héminique représente environ 10% du fer qui est absorbé quotidiennement par l'organisme<sup>10</sup>, et représente environ 70% du fer total contenu dans l'organisme<sup>11,12</sup>.

L'atome de fer est présent sous deux valences : le fer ferrique,  $Fe^{3+}$ , et le fer ferreux  $Fe^{2+}$ , qui ont chacun leur fonction biologique<sup>4,13</sup>. Le fer est sous forme  $Fe^{2+}$  lorsqu'il est associé à une molécule de protoporphyrine, une structure plane composée de quatre noyaux pyrroles : ce complexe est alors nommé « hème », et le fer est dit « héminique ».

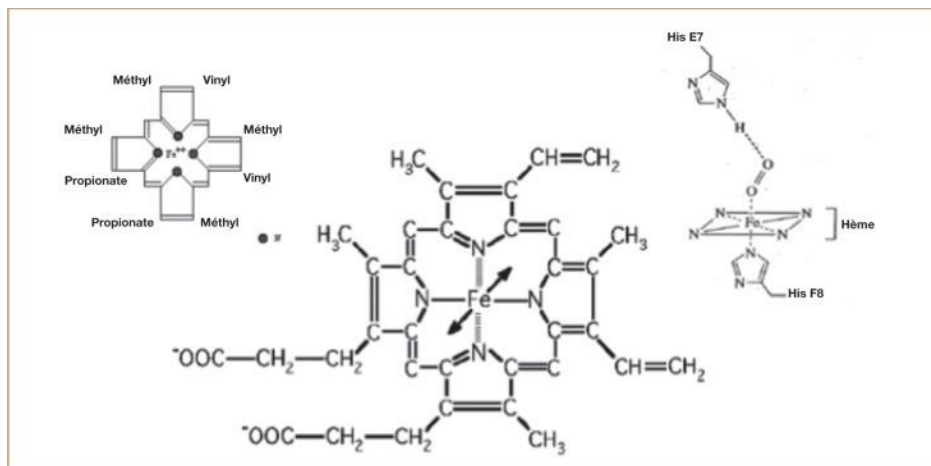
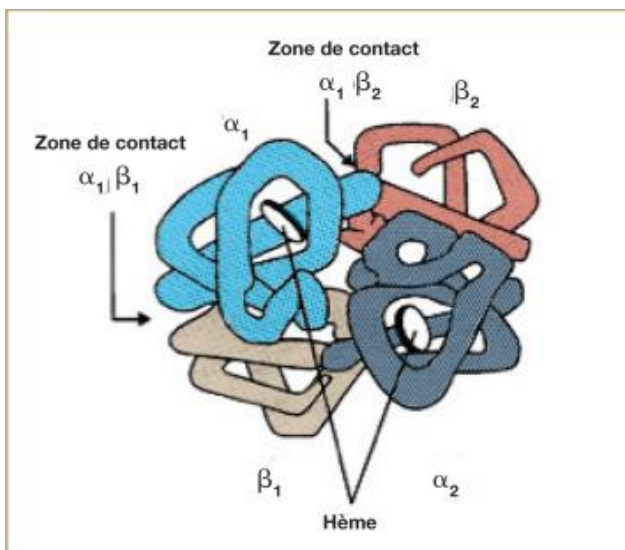


Figure 1 : structure de l'hème de l'hémoglobine : l'atome de Fe sous forme  $Fe^{2+}$  est lié à la protoporphyrine IX via les atomes d'azote. L'atome de fer lie, d'un côté l'histidine d'une chaîne de globine, de l'autre une molécule d'oxygène ( $O_2$ )<sup>14-16</sup>.



L'hémoglobine est une hémoprotéine : c'est-à-dire une molécule contenant un groupement héminique (fer + protoporphyrine). L'hémoglobine est constituée de quatre chaînes de globine, chacune étant liée à un atome de fer, lui-même capable de fixer une molécule d'oxygène.

Figure 2 : structure quaternaire de l'hémoglobine A ( $\alpha_2\beta_2$ )<sup>14</sup>.

L'oxygène de la myoglobine est transporté depuis le cytoplasme des cellules musculaires, vers leurs mitochondries, afin qu'il soit utilisé dans des conditions d'hypoxie, comme source d'énergie pour le métabolisme<sup>7</sup>.

L'hémoglobine et la myoglobine peuvent fixer l'oxygène et le transporter, cependant elles ne le fixent pas de la même manière, et cela s'explique lorsque l'on regarde leur courbe d'association à la molécule d'oxygène, en fonction de la pression partielle en oxygène ( $PO_2$ ) (figures 3 et 4).

L'association entre une molécule d'oxygène et l'hémoglobine ou la myoglobine dépend de la  $PO_2$ , comme en témoigne les deux courbes<sup>17,18</sup> d'association/dissociation ci-dessous :

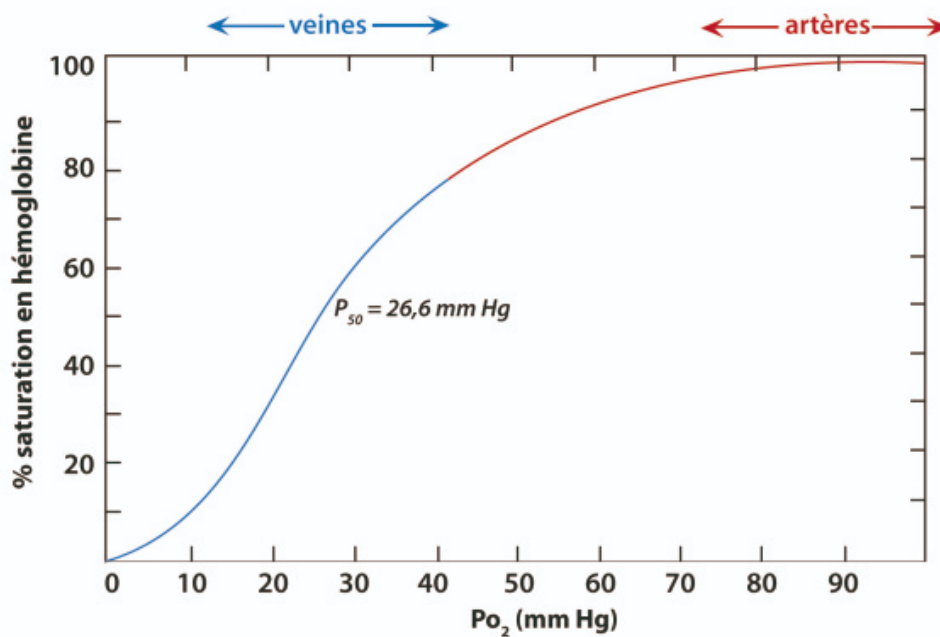


Figure 3 : courbe de Barcroft d'association/dissociation de l'oxygène de l'hémoglobine.

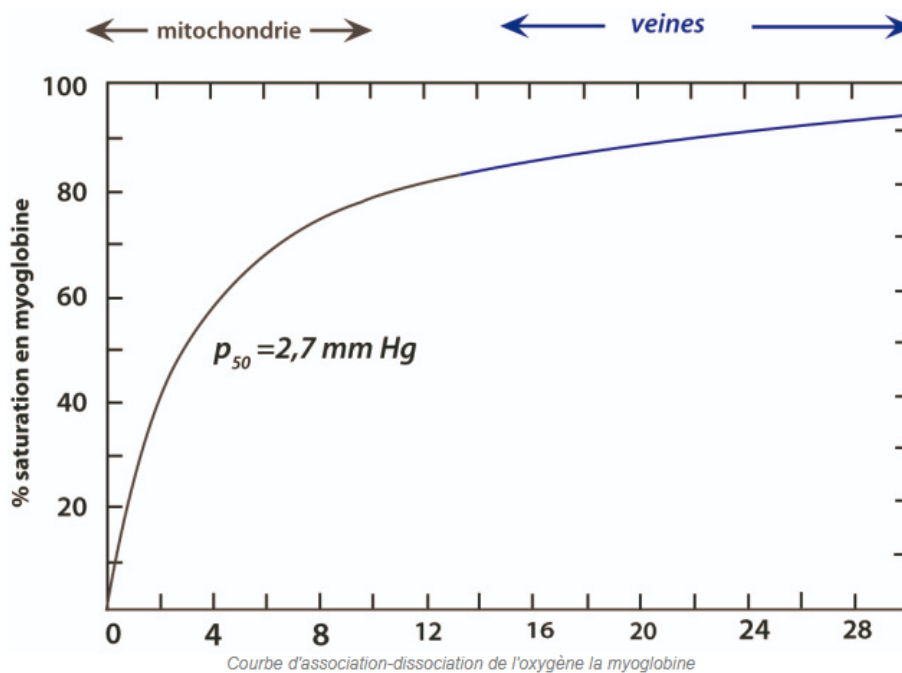


Figure 4 : courbe d'association/dissociation de l'oxygène de la myoglobine.

L'hémoglobine a une forte affinité pour l'oxygène dans la circulation artérielle, elle peut donc fixer un maximum de molécules d'oxygène dans le sang artériel, pour ensuite les libérer dans la circulation veineuse, car l'affinité hémoglobine-O<sub>2</sub> diminue.

La myoglobine présente quant à elle une forte affinité pour l'oxygène dans la circulation veineuse: elle fixe l'oxygène provenant de la circulation veineuse, et lorsque la PO<sub>2</sub> diminue fortement comme dans les mitochondries, elle libère ainsi l'oxygène. Globalement, on remarque que l'affinité O<sub>2</sub>-myoglobine est forte, même pour des valeurs faibles de PO<sub>2</sub> : il faut donc des conditions d'hypoxie importantes pour que la myoglobine joue pleinement son rôle d'oxygénation des tissus.

### 1.1.3. Fer non héminique

La plus grande quantité de fer alimentaire se trouve sous forme non héminique : cette forme de fer se retrouve dans les vacuoles des cellules végétales par exemple, ou encore lié à d'autres protéines, (comme la ferritine), que l'on peut retrouver à la fois dans les aliments d'origine animale, végétale ou laitière.

### 1.1.4. Fer libre

Environ 2% du fer total contenu dans l'organisme correspond à du fer libre<sup>10</sup>. Lors d'une surcharge en fer dans l'organisme, ce fer libre apparaît dans le sang : c'est le non-transferrin bind iron (NTBI), c'est-à-dire le fer « non lié à sa protéine de transport », la transferrine. Il se lie alors à différentes molécules comme l'albumine, à des groupements citrates et acétates de protéines et peut alors occasionner des dommages cellulaires<sup>13,19</sup>.

En effet, l'oxydoréduction permettant le transfert d'électrons (c'est la réaction de base de la machinerie cellulaire), et bien que le fer soit vital, sa forme libre peut, via la réaction de Fenton, conduire à la formation de radicaux libres, tel que le radical hydroxyde OH°, qui endommagent les lipides, les protéines et les acides nucléiques :  $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightleftharpoons Fe^{3+} + OH^- + OH^\circ$

L'excès de fer favorisant la production de radicaux libres, les cellules doivent donc maintenir une quantité de fer adéquat pour la machinerie cellulaire, tout en évitant de créer des radicaux oxydants destructeurs : il s'agit donc de réguler correctement le métabolisme du fer, via le transport, le stockage, et le recyclage du fer<sup>4,12</sup>.

## 1.2. Métabolisme du fer et érythropoïèse

### 1.2.1. Besoins et réserves en fer

Environ 4 g de fer, soit en moyenne 50 mg/kg, sont présents dans l'organisme adulte, dont :

- 2 à 3 g dans l'hémoglobine,
- 1 g dans la ferritine,
- 0,5 g dans les autres protéines héminiques et non héminiques,
- 3 mg seulement dans la transferrine<sup>20</sup>,

Chaque jour, 25 mg de fer sont consommés pour la production des érythrocytes dans la moelle osseuse.

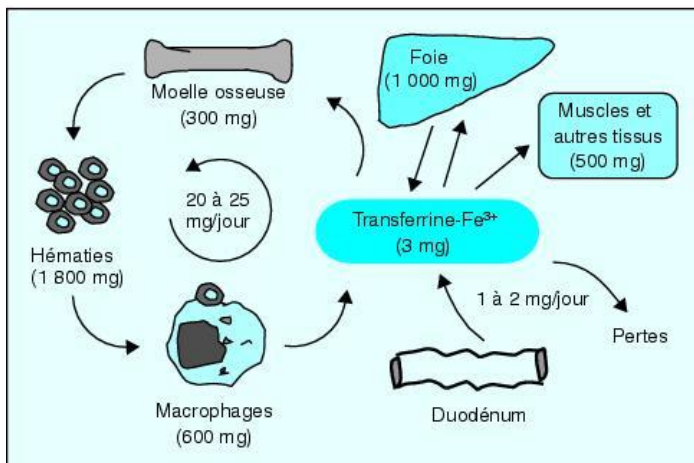


Figure 5 : métabolisme du fer<sup>24</sup>.

Le fer est excrété lors de la sudation, lors de la desquamation des cellules intestinales, des cellules de la peau et des muqueuses<sup>20,21</sup>, et lors de pertes sanguines<sup>22</sup>. Les pertes journalières en fer sont de l'ordre de 1 mg. Ainsi, seule l'absorption journalière d'1 à 2 mg de fer est nécessaire pour compenser les pertes<sup>23</sup>.

### 1.2.2. Apports en fer

L'alimentation est l'unique source de fer pour notre organisme<sup>13</sup>.

Le fer est absorbable sous deux formes : la forme héminique, que l'on retrouve notamment dans les produits carnés, les produits de la mer, et la forme non héminique, retrouvée dans les aliments végétaux, et au sein de nombreuses protéines (enzymes, transferrine, ferritine), dans le lait, le germe de blé, les œufs, le foie (qui contient beaucoup de ferritine)<sup>10,21</sup>.

#### 1.2.2.1. Coefficient d'absorption du fer

Le coefficient d'absorption du fer héminique, de 20 à 30%, est peu influencé par le reste de l'alimentation et lors de la digestion. Le fer non héminique, sous forme ferrique Fe<sup>3+</sup>, est moins bien absorbé que le fer héminique<sup>10</sup>. En effet, le coefficient d'absorption du fer non héminique est bien inférieur, de l'ordre de 2 à 5%<sup>21</sup>. Le rendement de l'absorption est donc sensiblement différent selon l'aliment considéré: les produits carnés permettent d'absorber environ 10 fois plus de fer que le fer d'origine végétal ou laitier, pour une même quantité d'aliments ingérés. Une particularité chez les



nourrissons allaités : leur coefficient d'absorption du fer est plus élevé, car le fer est lié à la lactoferrine, une protéine dont les récepteurs se situent à la surface des globules rouges, augmentant ainsi l'absorption du fer<sup>21</sup>.

#### 1.2.2.2. Facteurs influençant l'absorption du fer

Le coefficient d'absorption du fer non héminique, contrairement au fer héminique, est influencé par les autres aliments : la vitamine C et les tissus musculaires augmentent son absorption en réduisant le fer Fe<sup>3+</sup> en fer Fe<sup>2+</sup><sup>25</sup>. Les phytates, présents dans les légumes et les céréales complètes, et les polyphénols présents notamment dans le thé, le café et les légumes diminuent l'absorption de fer<sup>21</sup>. La cuisson de la viande favorise le passage vers la forme non héminique du fer, ce qui diminue donc l'absorption du fer<sup>26</sup>.

#### 1.2.2.3. Le fer dans l'alimentation

Selon l'INPES, les produits de la mer et les éléments carnés sont une source de fer de bonne qualité, car il est héminique. Ainsi, adopter un régime alimentaire restrictif s'expose à une éventuelle carence martiale, surtout chez les personnes à risque, comme les femmes et les enfants végétariens<sup>27</sup>.

Des formulations alimentaires infantiles existent pour favoriser l'absorption du fer. Ainsi, des céréales riches en fer ferreux, se voient ajoutées de l'EDTA, qui réduit l'effet des phytates dans la diminution de l'absorption du fer. De la vitamine C est également ajoutée pour augmenter l'absorption du fer.

Avec une alimentation variée et équilibrée, un individu aura un coefficient d'absorption moyenne du fer de 10 à 15%<sup>28</sup>.

#### Équivalences alimentaires moyennes en termes de fer absorbé (avec l'aliment pris isolément).

1 mg de fer absorbé =	5,7 L de lait de femme
	1 100 ml de lait pour nourrissons
	740 ml de lait de suite
	610 g de laitage au lait de suite
	510 ml de lait de croissance
	57 L de lait de vache
	17 g de boudin noir
	80 g de foie de veau
	180 g de produits carnés
	130 g de viande de bœuf
	190 g de viande d'agneau
	240 g de charcuterie
	330 g de viande de veau ou de cuisse de poulet
	360 g de viande de porc
	800 g de poisson
	1 kg de blanc de poulet
	1,3 kg d'épinards
	1,5 kg d'œufs
	1,7 kg de haricots blancs
	1,8 kg de légumes secs
	2 kg de légumes cuits
	14 kg de fruits

Tableau 1 : quantité d'aliment nécessaire pour absorber 1 mg de fer.

Aliments	Teneur en fer en mg/100g	Coefficient d'absorption (%)	Quantité de fer absorbée (mg/100g)	Aliments	Teneur en fer en mg/100g	Coefficient d'absorption (%)	Quantité de fer absorbée (mg/100g)
Boudin noir	23	20-30	4.6-6.9	Lentilles	1.6	2-5	0.03-0.08
Chocolat noir	10.7	2-5	0.21-0.54	Légumes secs	1.6	2-5	0.03-0.08
Céréales (petit-déjeuner)	7.8	2-5	0.16-0.39	Baguettes	1.5	2-5	0.03-0.08
Rognons	6.8	20-30	1.4-2.0	Légumes cuits	1.3	2-5	0.03-0.07
Chevreuil	6.1	20-30	1.2-1.8	Laits de croissance	1.3	10-20	0.13-0.26
Abricot sec	4.3	2-5	0.09-0.22	Cuisse de poulet, viande de veau	1.2	20-30	0.24-0.36
Canard rôti	3.4	20-30	0.7-1.0	Viande de porc	1.1	20-30	0.22-0.33
Viande de boeuf	3	20-30	0.6-0.9	Frites	0.9	2-5	0.02-0.05
Tofu	2.9	2-5	0.06-0.15	Laits pour nourissons	0.6	10-20	0.06-0.12
Steak haché de bœuf 20%MG	2.5	20-30	0.5-0.75	Poisson	0.5	20-30	0.10-0.15
Haricots rouges	2.3	2-5	0.05-0.12	Blanc de poulet	0.4	20-30	0.08-0.12
Viande d'agneau	2.1	20-30	0.42-0.63	Pommes de terre à l'eau	0.3	2-5	< 0.01
Raisins secs	2.1	2-5	0.04-0.11	Fromages	0.2	2-5	< 0.01
Epinards cuits	2.1	2-5	0.04-0.11	Fruits	0.2	2-5	< 0.01
Pruneaux	2.0	2-5	0.04-0.1	Cabillaud	0.1	20-30	0.02-0.03
Charcuterie	1.7	20-30	0.34-0.51	Yaourts	0.1	2-5	< 0.01
Sardines	1.7	20-30	0.34-0.51	Lait entier de chèvre/vache	0.08/0.05	2-5	< 0.01

Tableau 2 : teneur en fer des principaux aliments<sup>21</sup>.

Ainsi, compte tenu du rendement moyen lors de l'absorption de fer<sup>20</sup>, une alimentation normale équilibrée qui apporte 20 mg de fer/jour est suffisante pour espérer absorber au moins 1 mg de fer par jour<sup>29</sup>.

#### 1.2.2.4. Recommandations alimentaires

Les recommandations d'apport de fer alimentaire de la Société Française de Pédiatrie (SFP) actualisées en 2017, prennent en compte les pertes journalières en fer, ainsi que les besoins en fer. Elles tiennent compte du coefficient d'absorption moyen selon l'âge et le sexe, et prennent en compte une variabilité de 40% autour de la valeur calculée. Ces recommandations, qui insistent sur la différence et le calcul entre le fer ingéré et le fer absorbé, sont les suivantes :

Besoins en fer selon l'âge et le sexe [10].							
	0 – 6 mois	7 – 11 mois	1 – 3 ans	4 – 6 ans	7 – 11 ans	12 – 17 ans	
						Garçons	Filles
Pertes de fer (mg/kg/j)	–	0,022	0,022	0,012	0,012	0,012	0,012 + 0,25 mg/j (pertes menstruelles)
Besoins en fer pour la croissance (mg/j)	–	0,60	0,25	0,27	0,39	0,61	0,26
Besoins moyens en fer absorbé (mg/j) <sup>1</sup>	0,14	0,79	0,51	0,50	0,76	1,27	1,13
Besoins moyens en fer ingéré (mg/j) <sup>2</sup>	0,27	7,9	5,1	5,0	7,6	7,9	7,1
ANC en fer (mg/j) <sup>3</sup>	0,38	11	7	7	11	11	13

<sup>1</sup>Somme des pertes de fer et des besoins de la croissance.

<sup>2</sup>Calculés à partir des besoins en fer absorbé avec un coefficient d'absorption probabiliste moyen de 50 % de 0 à 6 mois, 10 % de 6 mois à 11 ans et 16 % de 12 à 17 ans.

<sup>3</sup>Calculés en ajoutant 40 % de la valeur des besoins moyens en fer ingéré et en arrondissant à la valeur entière la plus proche, sauf pour les adolescentes de 12-17 ans (voir texte).

ANC : apports nutritionnels conseillés

Tableau 3 : besoins en fer selon l'âge et le sexe.

Besoins recommandés en fer absorbé.							
	0 – 6 mois	7 – 11 mois	1 – 3 ans	4 – 6 ans	7 – 11 ans	12 – 17 ans	
						Garçons	Filles
Besoins recommandés en fer absorbé (mg/j)	0,20	1,1	0,7	0,7	1,1	1,8	2,4

Tableau 4 : besoins recommandés en fer absorbé : 1 mg/j en moyenne, et 2 mg/j chez les filles de plus de 12 ans (premières menstruations).

Chez l'adulte, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) propose des apports journaliers de fer ingéré de 9 mg/j pour un homme et de 16 mg/j pour une femme non ménopausée. Chez l'enfant de 3 à 17 ans, les apports journaliers conseillés vont de 7 à 14 mg/j.

Ainsi, compte tenu du rendement de l'absorption du fer, les apports journaliers recommandés en fer par la SFP et l'ANSES permettent de couvrir les pertes journalières en fer (1 mg/j)<sup>11,21</sup>.

#### 1.2.2.5. Une alimentation trop riche en fer

Il n'existe pas de dose maximale tolérable de fer chez l'homme, et les conséquences d'une alimentation trop riche en fer (hors compléments alimentaires) sont, sauf chez les homozygotes pour l'hémochromatose (mutation C282Y du gène HFE), réputées faibles: il n'existe pas de risque de surcharge en fer de l'organisme par l'alimentation. Une alimentation riche en fer ne poserait donc pas de problème pour l'organisme<sup>11</sup>.

### 1.2.3. Absorption

Les entérocytes, au niveau du duodénum, et des cellules apicales du jéjunum, sont le lieu d'absorption du fer alimentaire.

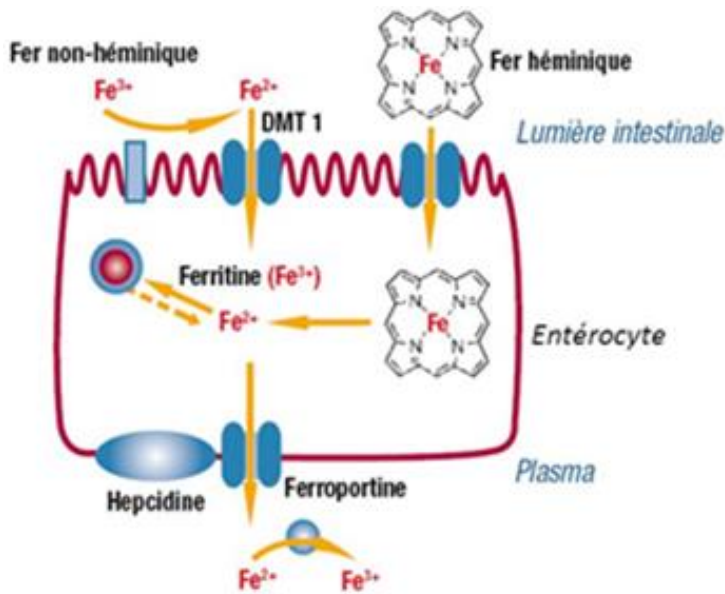


Figure 6 : le fer et l'entérocyte<sup>30</sup>.

Le fer ingéré non héminique est alors sous forme ferrique,  $Fe^{3+}$ . Il est réduit, sous forme  $Fe^{2+}$  par le cytochrome duodéal B (DCYT B, ou cytochrome B reductase 1), localisé à la surface des entérocytes, afin d'être absorbé par le transporteur proton-dépendant DMT1 (dimetal transporteur 1).

Concernant le fer héminique, le mécanisme d'absorption est partiellement élucidé : le transporteur apical permettant l'absorption de l'hème directement à travers la membrane plasmique est HCP-1 (heme carrier

protein-1). Une fois dans l'entérocyte, l'hème est pris en charge par une hème-oxygénase (HMOX-1), afin de libérer le fer ferreux  $Fe^{2+}$ <sup>13,30</sup>.

Ce fer est alors soit stocké sous forme de ferritine, soit exporté au pôle basal de l'entérocyte : la ferroportine lui fera traverser la membrane basale où l'héphaestine, une ferropéroxydase membranaire, l'oxydera en fer  $Fe^{3+}$  (la forme circulante de l'héphaestine pour les autres types cellulaires, est la céruléoplasmine)<sup>13,20</sup>. Les mécanismes de l'absorption du fer contenu dans diverses protéines, comme la ferritine, ne sont pas aussi clairement élucidés<sup>31</sup>.

### 1.2.4. Transport et stockage du fer

Après avoir traversé la membrane basolatérale de l'entérocyte, le fer  $Fe^{3+}$  sera directement fixé à la transferrine, la protéine du transport sanguin du fer.

#### 1.2.4.1. Transferrine

La transferrine<sup>31</sup> est une glycoprotéine monomérique synthétisée par le foie. Elle permet la distribution du fer dans l'organisme, via le compartiment sanguin, principalement au niveau de la moelle osseuse, lieu de l'érythropoïèse, et au foie, lieu de stockage sous forme de ferritine, ainsi que dans les autres tissus de l'organisme. Selon le nombre d'atome de fer qu'elle fixe, la transferrine est présente sous trois formes: diferrique si elle en fixe deux, monoferrique si elle en fixe un, et elle est nommée apotransferrine lorsqu'elle ne fixe pas d'atome de fer.

#### 1.2.4.2. La distribution du fer aux cellules de l'organisme

La transferrine distribue le fer aux cellules de l'organisme en se fixant au récepteur de la transferrine (Tf-R) situé à la surface de tous les types cellulaires. Il existe deux types de Tf-R<sup>32,33</sup>: le Tf-R1 et le Tf-R2. Ce dernier est exprimé à la surface des hépatocytes, des cellules duodénales et au niveau de la moelle osseuse et a une affinité moindre que le Tf-R1 pour la transferrine. Le complexe transferrine/récepteur est alors internalisé dans une vésicule d'endocytose de la membrane cellulaire, ce qui permet la libération du fer. Ce dernier, alors sous forme  $Fe^{3+}$ , est réduit en  $Fe^{2+}$  par une métallo-réductase, STEAP3, puis pris en charge par le DMT1 pour être internalisé dans la cellule.

La transferrine, toujours liée à son récepteur, repasse alors à la surface de la cellule, où le pH, celui du sang, neutre, lui permet d'être libérée. En effet, à pH sanguin, le récepteur à la transferrine a peu d'affinité pour l'apotransferrine mais une forte affinité pour la forme diferrrique, tandis qu'à pH acide, l'affinité est faible pour la forme chargée de deux atomes de fer.

Le devenir du fer va ensuite dépendre des besoins cellulaires.

Le fer est utilisé principalement par les tissus à fort renouvellement cellulaire comme l'intestin, par le foie car il est l'organe de stockage du fer, et surtout par la moelle osseuse où les érythroblastes mûrissent pour devenir les globules rouges. En cas d'insuffisance d'apport, l'utilisation du fer par les érythroblastes est priorisée, ainsi que lors de la grossesse, où le fer est d'abord utilisé par le fœtus en développement, au dépend de la femme enceinte.

D'autres sources de fer sont disponibles pour la cellule : le NTBI (par transfert passif, donc sans régulation), le fer de l'hème de l'hémoglobine (en cas d'hémolyse par recyclage du fer) et des autres protéines héminiques, et enfin le fer contenu dans la ferritine.

#### 1.2.4.3. Le stockage du fer

La ferritine, protéine de 24 sous-unités, est la principale forme de stockage du fer. Elle peut contenir jusqu'à 4500 atomes de fer<sup>34</sup>. La synthèse de la ferritine intracellulaire et celle des Tf-R sont inversement régulées par le système de l'IR-P (iron responsive protein) et des IR-E (iron responsive elements) : une déplétion cellulaire en fer augmente le nombre des Tf-R et diminue la synthèse de la ferritine et, vice versa, si la teneur cellulaire en fer est satisfaisante<sup>35</sup>. Le rôle biologique de la ferritine, si ce n'est sa fonction de stockage du fer, n'est pas connu<sup>3</sup>.

## 1.2.5. Régulation du métabolisme du fer

Ce sont les réserves en fer qui régulent le métabolisme du fer: lorsqu'elles diminuent, l'absorption digestive augmente pour assurer les besoins et reconstituer les réserves<sup>35</sup>.

Le métabolisme du fer repose sur une équation à plusieurs variables: la bonne absorption intestinale du fer, le recyclage et le stockage du fer dans les macrophages, et son utilisation, principalement pour l'érythropoïèse.

### 1.2.5.1. Ferroportine

La ferroportine est une protéine exprimée en forte quantité sur la membrane des globules rouges, mais aussi des entérocytes et des macrophages. Son rôle est d'exporter le fer intracellulaire vers la circulation sanguine, afin de réguler, mais surtout de diminuer la quantité de fer libre délétère pour la cellule.

La ferroportine joue un rôle de protecteur des cellules l'exprimant à sa surface<sup>36</sup>. A l'état basal, la ferroportine, à travers l'action de l'hepcidine, serait le principal régulateur des réserves et du métabolisme du fer, en agissant sur l'absorption du fer intestinal<sup>37</sup>.

### 1.2.5.2. L'hepcidine

L'hepcidine, une protéine synthétisée par le foie, est l'hormone centrale de régulation du métabolisme du fer. Elle inhibe le passage du fer vers la circulation sanguine, en inhibant de manière stérique la ferroportine. L'hepcidine inhibe également le transporteur apical des entérocytes DMT1<sup>13,38,39</sup>.

L'hepcidine inhibe donc l'absorption intestinale du fer.

L'hepcidine est une protéine qui augmente également en présence d'une inflammation<sup>39</sup>. L'érythropoïétine (EPO), induite notamment dans des conditions hypoxiques, provoque une diminution de l'hepcidine. Dans une revue sur l'hepcidine<sup>39</sup>, Nicolas *et al* explique le rôle de ce peptide, résumé sur le schéma ci-dessous :

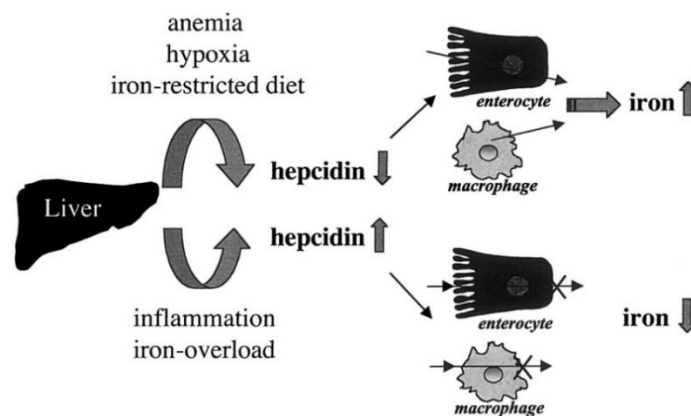


Figure 7 : le métabolisme simplifié du fer, sous l'angle de l'hepcidine<sup>39</sup>.

Lors d'un manque de fer, que ce soit lors d'une carence ou d'une augmentation des besoins, la concentration d'hepcidine diminue, ce qui permet d'augmenter l'absorption de fer alimentaire au niveau intestinal<sup>21</sup>.

### 1.2.5.3. Erythroferrone

Lors d'une anémie, l'érythropoïèse est stimulée par l'EPO, synthétisée par les reins : on observe alors une diminution de la production d'hepcidine. Cette diminution de l'hepcidine induit donc une augmentation de l'exportation du fer des macrophages et des cellules intestinales par la ferroportine, et donc une augmentation du fer disponible pour l'érythropoïèse.

Mais l'EPO n'agit pas directement pour diminuer la synthèse d'hepcidine : en 2014, un facteur nommé érythroferrone a été identifié comme répondant à la stimulation de l'EPO dans la lignée érythroblastique, via la voie JAK2-STAT5. Ce facteur érythroïde servirait d'intermédiaire entre la synthèse d'EPO et la diminution d'hepcidine. La régulation du métabolisme du fer ne se ferait donc pas uniquement avec les réserves en fer de l'organisme, mais serait modulée également par les érythroblastes après stimulation par l'EPO<sup>37</sup>.

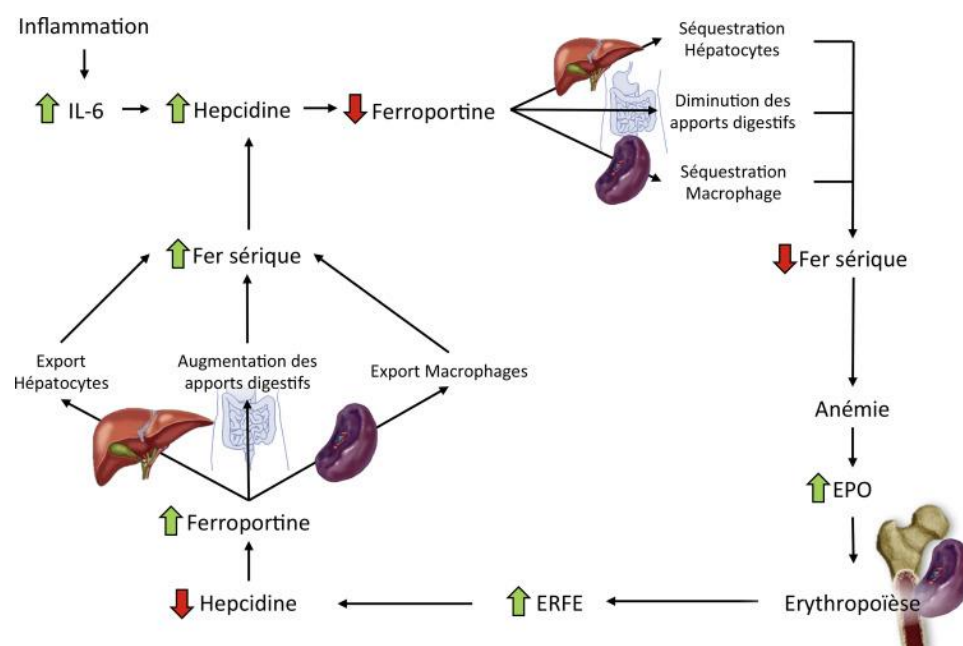


Figure 8 : le couple hepcidine/ferroportine et l'érythroferrone dans la régulation du métabolisme du fer<sup>37</sup>.

### 1.2.6. Le recyclage: une source importante de fer

Les macrophages présents dans le foie et la rate permettent le recyclage de l'hème, et donc du fer, en phagocytant les globules rouges, ce qui constitue une source non négligeable en fer pour l'érythropoïèse<sup>24</sup>.

Les macrophages situés au niveau de la pulpe rouge de la rate sont les principaux pourvoyeurs de fer de l'organisme, davantage que le fer alimentaire. En effet, les macrophages ont notamment pour fonction de dégrader les globules rouges sénescents, en les phagocytant après environ 120 jours passés dans la circulation sanguine, lorsque ces derniers ne se déforment plus correctement lors de leur passage à travers les cordons spléniques. Une fois le globule rouge phagocyté par le macrophage, une enzyme, l'hème oxygénase (HMOX-1) permettra de libérer le fer de la protoporphyrine IX de l'hème. Ce fer d'origine hémique pourra donc, via la ferroportine et l'hépcidine, être par exemple exporté dans le compartiment plasmatique, ou être stocké sous forme de ferritine<sup>13</sup>.

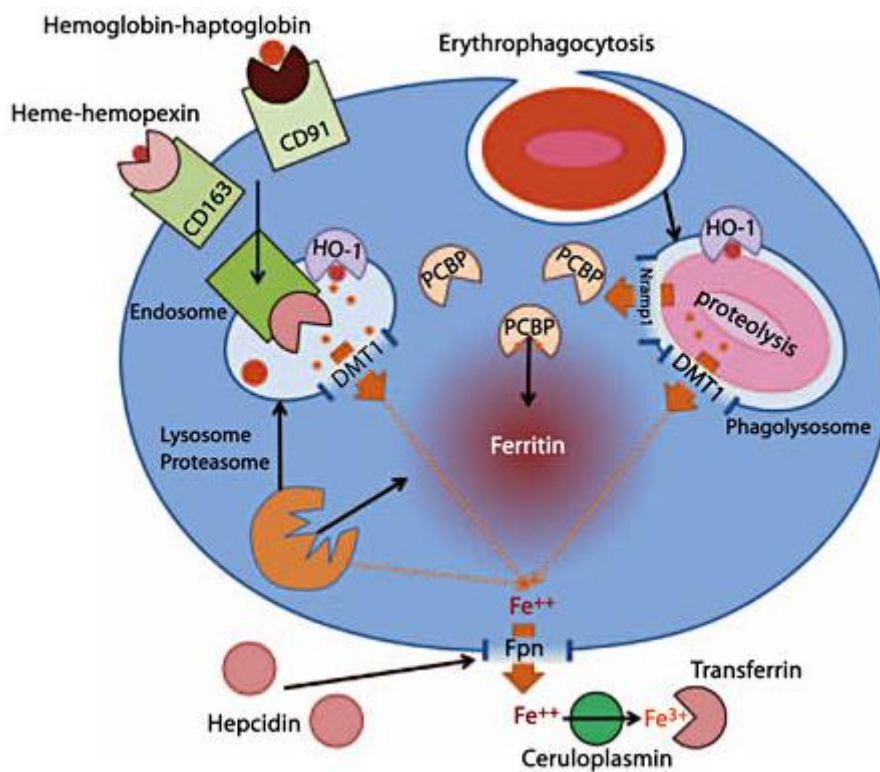


Figure 9 : le circuit du fer dans le macrophage<sup>40</sup>.

Lors d'une situation inflammatoire, et la sécrétion, entre autres, d'interleukine de type 6, l'augmentation de l'hépcidine, qui va bloquer de manière stérique la ferroportine, induira la séquestration du fer dans les macrophages. Ce fer sera alors indisponible pour l'érythropoïèse, et il en résultera une anémie d'origine inflammatoire<sup>40</sup>.



Le schéma suivant résume de manière globale le circuit du fer dans l'organisme : de son absorption par les entérocytes vers le sang, où le fer est transporté par la transferrine, qui délivre au foie le fer nécessaire à la synthèse de la ferritine. La transferrine va apporter le fer à la moelle osseuse, premier consommateur de fer pour la synthèse des globules rouges, au sein des érythroblastes. Puis c'est au niveau de la rate que le fer de l'hème de l'hémoglobine est récupéré, pour à nouveau être pris en charge par la transferrine.

Ici, on comprend bien que seules les pertes dues aux menstruations et à la desquamation des cellules épithéliales contenant du fer, et les besoins de l'érythropoïèse principalement, vont conditionner les apports nécessaires en fer.

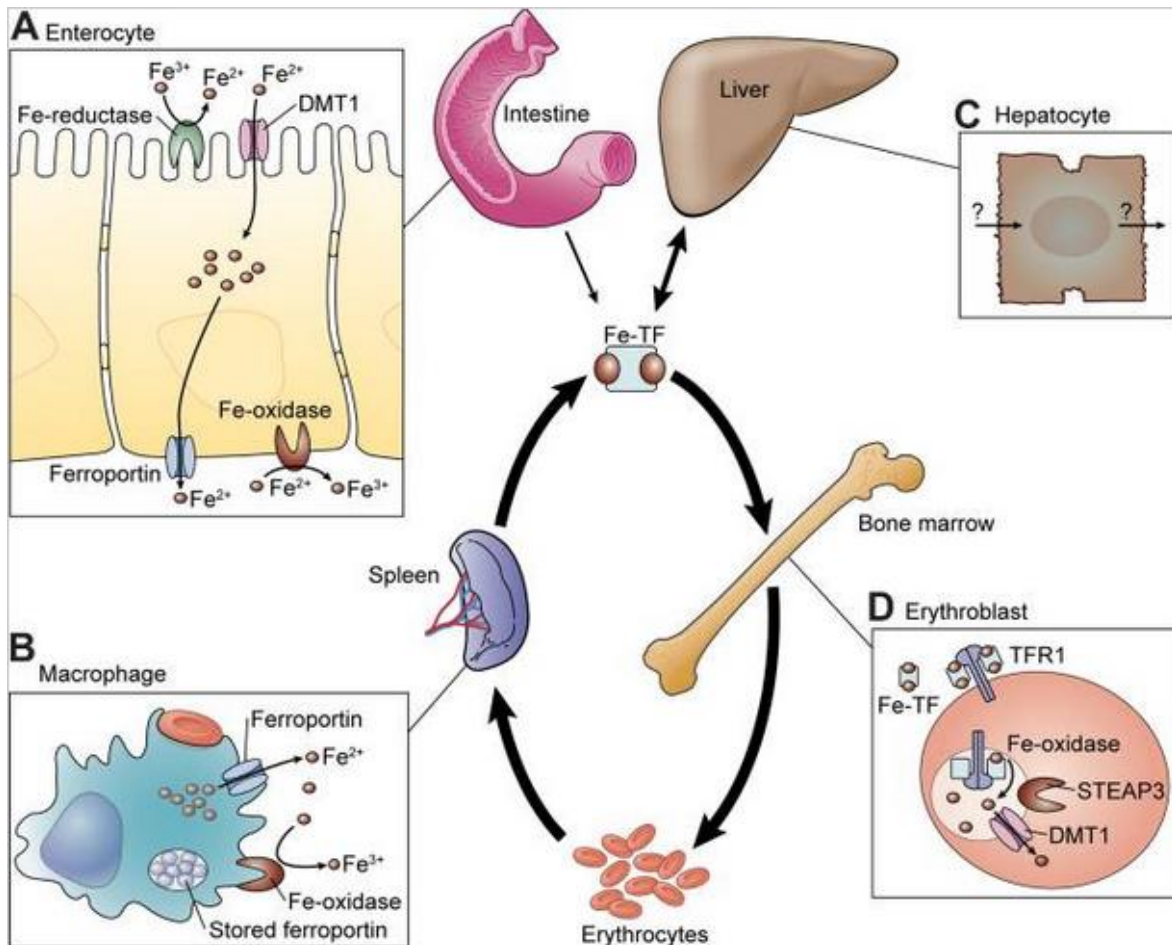


Figure 10 : métabolisme du fer<sup>3</sup>.

### 1.2.7. Le fer et l'érythropoïèse

La quasi-totalité du fer sérique est utilisé pour les besoins de l'érythropoïèse, et dans l'érythroblaste, la majorité du fer est utilisé pour la synthèse de l'hème<sup>41</sup>.

1 à 2% de l'apport en fer pour les érythroblastes provient directement de la ferritine : c'est ce qu'on appelle la rhophéocytose : la ferritine, contenu dans des cellules réticulaires (comme les macrophages) au centre des îlots érythroblastiques, dans la moelle osseuse, est transportée dans l'érythroblaste via des vésicules d'endocytose, et apporte ainsi du fer<sup>42</sup>.

Les érythroblastes ont comme principale source d'apport le fer provenant de la transferrine. Le fer est incorporé à la protoporphyrine IX au sein de la mitochondrie des érythroblastes de la moelle osseuse<sup>43</sup>.

Une fois dans la cellule, le fer  $Fe^{2+}$  pourra, soit être incorporé à la ferritine, soit être intégré dans les mitochondries pour participer à la synthèse de l'hème ou à la formation de cluster fer-soufre (Fe-S) nécessaires aux diverses réactions d'oxydoréduction de la chaîne respiratoire, mais ceci principalement dans les autres types cellulaires que les érythroblastes<sup>12,13,41</sup>.

Le fer non utilisé pour la synthèse de l'hème ou la formation des clusters fer-soufre est incorporé à la ferritine intra-mitochondriale, appelé mitoferritine. La ferritine cytoplasmique et la mitoferritine permettent de limiter la charge en fer libre, et donc les dommages cellulaires potentiels du fer libre, ainsi que la ferroportine, qui permet d'exporter le fer en excès<sup>19,31</sup>.

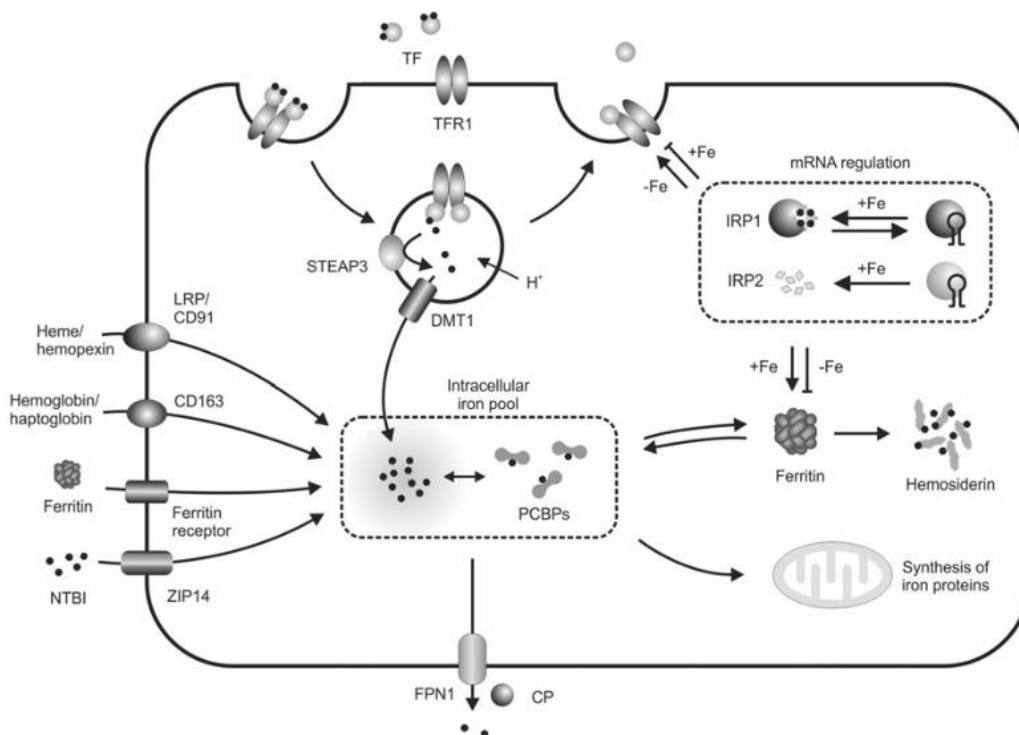


Figure 11 : les différentes sources et utilisation du fer dans une cellule<sup>31</sup>.

# 1.3. Carence martiale absolue ou fonctionnelle

## 1.3.1. Epidémiologie

La carence martiale est un problème majeur de santé publique dans le monde. Au total, l'OMS estime à 2 milliards le nombre de personnes présentant une anémie, dont la moitié serait due à une carence martiale<sup>8</sup>. Bien que les mécanismes conduisant à l'anémie soient multiples et parfois concomitants, la carence en fer apparaît comme étant la première cause d'anémie dans le monde<sup>44</sup>.

## 1.3.2. Physiopathologie

### 1.3.2.1. De l'érythropoïèse restreinte en fer à l'anémie

Un défaut d'apport en fer conduit à une érythropoïèse insuffisante, dont la manifestation ultime est l'apparition de l'anémie. La carence martiale peut être observée dans plusieurs situations cliniques :

→ La carence fonctionnelle en fer, ou insuffisance fonctionnelle en fer (FID), que l'on retrouve lors de pathologies à composante inflammatoire<sup>45</sup> ;

→ La carence martiale vraie : l'organisme ne dispose pas d'un stock de fer suffisant, soit par défaut d'apport, soit par pertes excessives.

Goodnough<sup>46</sup> distingue quatre situations conduisant à une érythropoïèse restreinte en fer, c'est-à-dire une érythropoïèse incomplète du fait d'un manque de fer pour la synthèse de l'hème: la carence martiale (déplétion des réserves) ; la séquestration du fer dans les macrophages, lors d'une inflammation ; l'insuffisance fonctionnelle en fer : la demande en fer est supérieure à l'offre ; et enfin lors de maladies héréditaires touchant le transport et l'utilisation du fer (comme l'IRIDA : Iron Refractory Iron Deficiency Anemia).

La figure suivante résume les différentes étiologies conduisant à une érythropoïèse restreinte en fer :

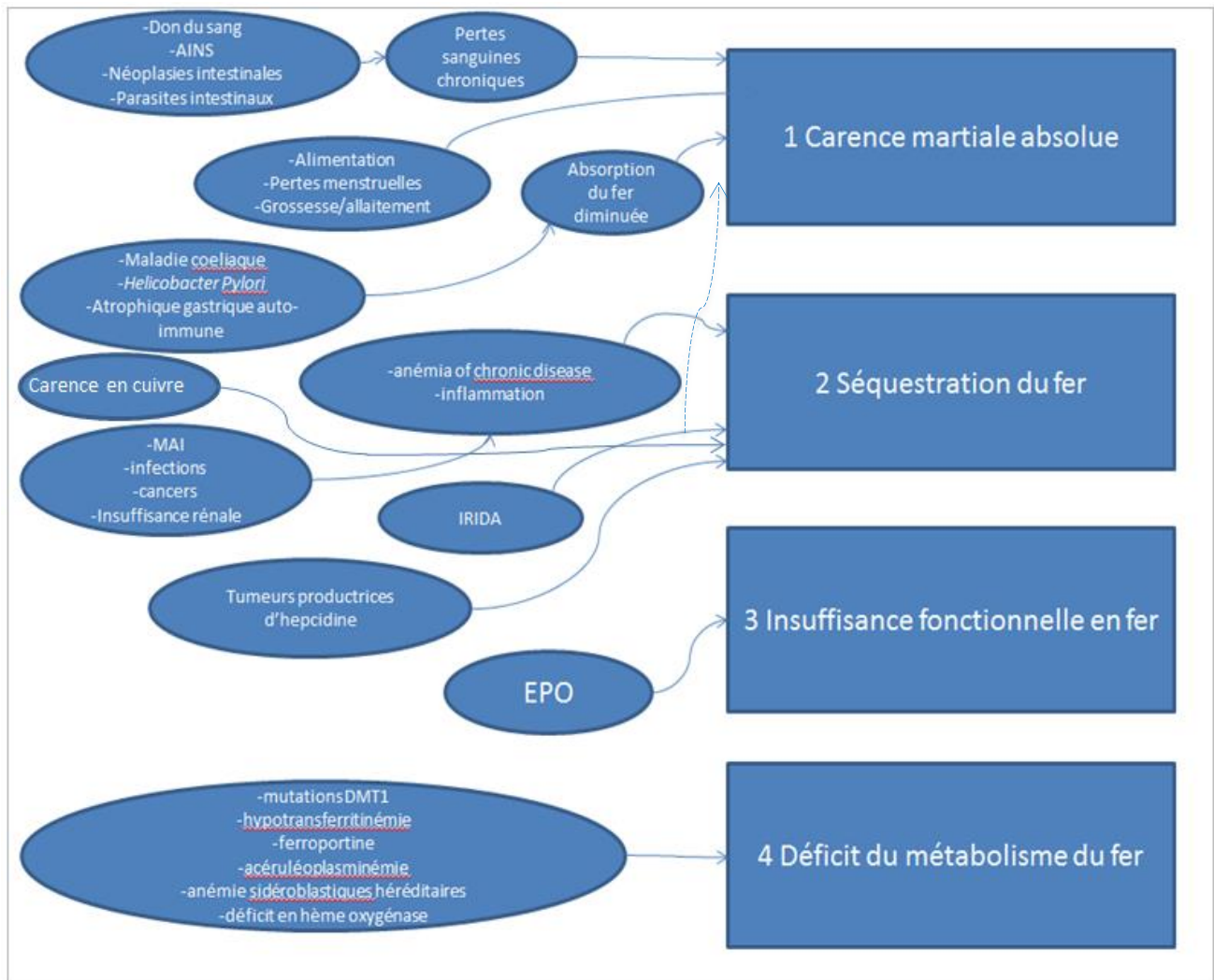


Figure 12 : étiologies de l'érythropoïèse déficiente en fer<sup>46</sup>.

### 1.3.2.2. L'insuffisance fonctionnelle en fer

L'insuffisance fonctionnelle en fer correspond à l'inadéquation entre les réserves en fer, qui sont présentes en quantité normale, et leur utilisation. Cela se manifeste par une insuffisance de l'incorporation du fer lors de l'érythropoïèse.

Deux grandes situations sont à l'origine d'une FID:

-premièrement, lors de processus inflammatoires, l'augmentation de l'hepcidine, une protéine dont la synthèse est augmentée notamment par l'IL6, une cytokine de l'inflammation, séquestre le fer dans les macrophages: ce dernier n'est donc plus disponible pour l'érythropoïèse. L'anémie résultant de cette insuffisance d'incorporation du fer dans l'hème de l'hémoglobine se nomme "ACD" en anglais: anemia in chronic disease. Lors des ACD, une insuffisance de production d'EPO est présente, ainsi qu'une inhibition des progéniteurs érythroïdes de la moelle osseuse et des anomalies de la disponibilité du fer. Les ACD sont le résultat de l'activation du système immunitaire et inflammatoire, avec une augmentation des cytokines pro-inflammatoires<sup>47</sup> ;

-deuxièmement, la FID est observée chez les patients insuffisants rénaux chroniques sous EPO. Ces patients ont un besoin accru en fer car leur l'érythropoïèse est stimulée par la présence d'EPO. La demande est trop importante pour leur stock de fer<sup>47,48</sup>.

Lorsqu'un processus inflammatoire s'installe, les paramètres habituellement utilisés pour mettre en évidence une carence martiale sont modifiés, à l'image de la ferritine, qui est une protéine positive de la phase aiguë de l'inflammation, quand bien même les réserves en fer ne sont pas effondrées.

#### 1.3.2.3. La déplétion des réserves

Les différentes étapes conduisant à l'anémie ferriprive, depuis des réserves martiales normales, chez un individu présentant une numération formule sanguine normale, sont les suivantes :

1<sup>ère</sup> étape : déplétion progressive du stock de fer conduisant à épuisement des réserves : c'est la carence martiale absolue (CMA). On observe une diminution de la ferritine, puis une augmentation du récepteur soluble de la transferrine, avec une diminution du coefficient de saturation de la transferrine,

2<sup>e</sup> étape : la NFS est toujours normale, mais l'érythropoïèse est déjà en situation d'insuffisance: le fer est insuffisamment présent pour la synthèse de l'hémoglobine. Il n'y a pas encore de retentissement sur la NFS, la durée de vie des globules rouges étant de 3 mois. Le manque de fer apporté aux érythroblastes induit une augmentation des protoporphyrines libres érythrocytaires, et une diminution de synthèse d'hémoglobine dans l'érythroblaste. On observe également une augmentation des mitoses, ce qui induit une diminution de taille des globules rouges. L'étape 2 est donc une période de transition avec un pool de globules rouges normaux, correctement hémoglobinisés, et un pool de petits globules rouges nouvellement produits, hypochromes, microcytaires, avec une faible concentration en hémoglobine

3<sup>e</sup> étape : l'anémie ferriprive : l'érythropoïèse ne produit plus que des érythrocytes déficients en fer, ces derniers sont majoritairement présents dans la circulation sanguine<sup>49</sup>. On observe alors une baisse de la concentration sanguine d'hémoglobine par insuffisance médullaire : l'anémie est d'origine centrale.

### 1.3.3. Anémie ferriprive

#### 1.3.3.1. Définition de l'anémie

L'anémie correspond à la diminution de la concentration en hémoglobine dans le sang en dessous des valeurs de référence de l'hémoграмme, ces dernières variant en fonction du sexe et de l'âge. L'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) a défini les valeurs seuils de l'hémoграмme ayant une signification clinique. Ainsi, chez la femme, la valeur seuil pour définir une anémie est de 12 g/dL. Cette valeur passe à 11 g/dL en cas de grossesse<sup>50</sup>. L'OMS, la BCSH, ainsi que les recommandations françaises ont une définition légèrement différente selon le trimestre de grossesse<sup>28,51,29</sup> :

	1 <sup>er</sup> trimestre	2 <sup>e</sup> trimestre	3 <sup>e</sup> trimestre
Valeur d'hémoglobine définissant l'anémie (en g/dL)	< 11	< 10,5	< 11 (OMS, France) < 10,5 (BCSH)

Tableau 5 : concentration en hémoglobine définissant l'anémie chez la femme enceinte.

Seule la valeur de l'hémoglobine entre en compte dans la définition d'une anémie.

#### 1.3.3.2. Aspects cliniques

En règle générale, qu'elle soit d'origine ferriprive ou non, l'anémie provoque une pâleur de la peau et des muqueuses, ainsi qu'une fatigue. La sévérité et la vitesse d'apparition de l'anémie, plutôt progressive et lente pour une anémie par carence martiale, conditionnent le tableau clinique et la tolérance de l'anémie chez le patient.

L'organisme compense la baisse de la concentration en hémoglobine par une augmentation de la fréquence cardiaque et du volume d'éjection du sang par le cœur, ainsi que par une élévation du taux d'extraction de l'oxygène des tissus. Les principaux signes cliniques de l'anémie en sont la conséquence :

Symptômes liés à l'hypoxie tissulaire	Pâleur, asthénie, dyspnée d'effort Céphalées, vertiges, confusion, syncope
Symptômes liés à l'état dynamique compensation	Palpitations, souffle cardiaque, arythmie, acouphènes
Symptômes liés à l'hypovolémie	Hypotension, marbrures, état de choc, oligurie

Tableau 6 : principaux signes cliniques de l'anémie<sup>52</sup>.

L'anémie, quelle qu'en soit sa cause, peut revêtir un caractère urgent, s'il y a une instabilité hémodynamique, et lorsque le taux d'hémoglobine est inférieur au seuil défini par la HAS en deçà duquel la transfusion des culots globulaires est discutée, selon la manière dont l'anémie est tolérée par le patient (les seuils vont de 7 à 10 g/dL)<sup>53</sup>. En dehors de ces situations, un délai variable pourra être consenti pour déterminer l'origine de l'anémie. En effet, le principal critère conduisant à une transfusion est clinique.

### 1.3.3.3. Biologie

#### 1.3.3.3.1. Hémogramme

L'hémogramme, communément appelé numération formule sanguine (NFS) comprend « la numération des hématies, des leucocytes et des plaquettes, le dosage de l'hémoglobine, de l'hématocrite, du volume globulaire moyen (VGM), des paramètres érythrocytaires (CCMH et TCMH), ainsi que la formule leucocytaire, qu'elle soit automatique ou manuelle ». Cet examen comprend la lecture du frottis sanguin devant une anomalie des paramètres précédemment cités<sup>54</sup>.

L'anémie est caractérisée par son VGM et sa CCMH depuis Wintrobles, dans les années 1930. La classification qui en découle permet encore de nos jours d'orienter sur l'origine de l'anémie<sup>55</sup>.

##### 1.3.3.3.1.1. VGM

Le VGM est le volume globulaire moyen des globules rouges. Il est exprimé en femtolitres (fL). Selon l'automate d'hématologie utilisé, le VGM est calculé ou mesuré. Le VGM présente des valeurs non interchangeable sur les différents automates d'hématologie, lié aux techniques de mesures différentes. L'anémie est qualifiée de microcytaire si son VGM est diminué, normocytaire s'il est normal, et macrocytaire s'il est augmenté. Dans le cadre d'une anémie ferriprive, le VGM est classiquement diminué, on parle donc d'anémie microcytaire<sup>56,57</sup>. En général, les normes du VGM vont de 80 à 100 fL<sup>58</sup>.

##### 1.3.3.3.1.2. CCMH et TCMH

La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine des globules rouges (TCMH) correspond au rapport de la concentration en hémoglobine (exprimée en gramme par litre de sang) par le compte du nombre de globules rouges par litre de sang (exprimé en téra par litre de sang), c'est à dire à une quantité absolue en hémoglobine contenue dans un globule rouge dit "moyen". Les normes biologiques vont de 27 à 32 pg. Contrairement à la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH ; c'est la concentration moyenne en hémoglobine dans les globules rouges, calculée en divisant la concentration en hémoglobine par l'hématocrite), et au VGM, la TCMH n'est pas influencée par les conditions pré-analytiques, tels que le temps entre le prélèvement et l'analyse. Les valeurs obtenues sur différents automates sont sensiblement équivalentes et interchangeables<sup>48</sup>. De par la durée de vie d'un globule rouge, la TCMH permet d'évaluer l'érythropoïèse sur les semaines précédant l'analyse. La corrélation entre le VGM et la TCMH est bonne et prouvée<sup>55</sup>. Classiquement, lors d'une anémie ferriprive, la CCMH et la TCMH sont diminuées, tout comme le VGM : on parle donc d'anémie microcytaire hypochrome.

#### 1.3.3.3.1.3. Frottis sanguin

Le frottis sanguin fournit un nombre non négligeables et parfois sous estimées d'informations sur l'origine d'une anémie, que ce soit à travers les anomalies de taille ou de forme des globules rouges.

Dans le cadre d'une anémie par carence en fer patente, le frottis sanguin montrera des globules rouges hypochromes (pâles, avec une TCMH et une CCMH diminuées), des microcytes (globules rouges de petite taille, donc avec un VGM diminué), une anisocytose (augmentation de la variabilité des diamètres des globules rouges, avec un indice de répartition des globules rouges (IDR) augmenté<sup>56</sup>), et parfois des annulocytes (globules rouges avec une dépression centrale agrandie et invisible, et des bords fins)<sup>52</sup>.

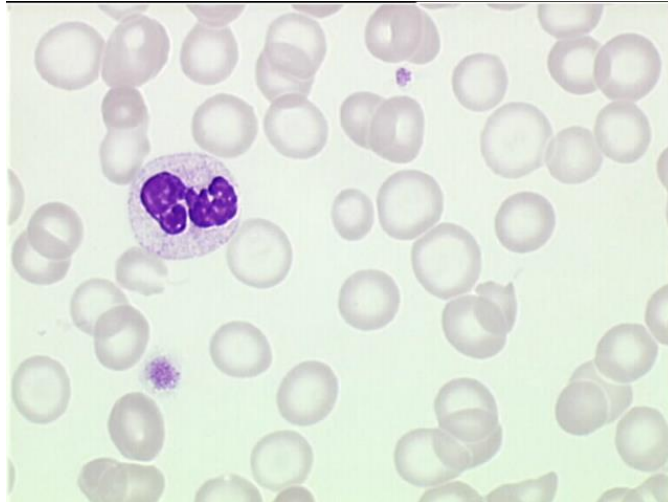


Figure 13 : frottis sanguin observé chez un patient présentant une carence martiale<sup>59</sup>.



Figure 14 : frottis sanguin montrant des hématies normales, laboratoire d'Abbeville.



### 1.3.3.3.2. Réticulocytes

L'anémie est également caractérisée par la capacité de la moelle osseuse à produire de nouveaux globules rouges, par la mesure de la concentration sanguine des réticulocytes, qui sont les précurseurs des globules rouges.

Les érythroblastes, précurseurs dans la moelle osseuse de la lignée érythroblastique, perdent leur noyau pour devenir des réticulocytes. Deux à cinq jours après, les réticulocytes passent dans le sang, et mûrissent progressivement (1 à 2 jours) pour devenir des érythrocytes : ils perdent leur ARN, leurs ribosomes et leur mitochondrie<sup>60</sup>.

Dans le cadre d'une anémie, lorsque la concentration en réticulocytes est supérieure à 150 G/L, on qualifie l'anémie de régénérative. En dessous de 100 G/L, mais surtout pour les valeurs bien inférieures, on parle d'anémie arégénérative. La valeur de la concentration en réticulocytes doit toujours être contextualisée.

Le dosage des réticulocytes est tout à fait intégré à la pratique médicale et fait partie des tests incontournables lors d'un diagnostic étiologique d'une anémie. Lors d'une carence martiale, l'anémie est arégénérative : l'érythropoïèse ne dispose pas suffisamment de fer pour produire davantage de réticulocytes, et donc de globules rouges. Cependant le dosage des réticulocytes ne fait pas partie du bilan d'une anémie par carence martiale lorsque celle-ci est suspectée : en effet, l'anémie, lorsqu'elle est ferriprive, est toujours arégénérative.

## HEMOGRAMME

### Numération globulaire (Adulte)

(H) Sg Erythrocytes	4,5 - 5,7 T/L	
(F) Sg Erythrocytes	4,2 - 5,2 T/L	
(H) Sg Hématocrite	0,42 - 0,54	42 - 54 %
(F) Sg Hématocrite	0,37 - 0,47	37 - 47 %
(H) Sg Hémoglobine		130 - 170 g/L
(F) Sg Hémoglobine		120 - 160 g/L
Sg CCMH		32 - 35 %
Sg TCMH		27 - 32 pg
Sg VGM	80 - 100 fL	
Sg Réticulocytes	20 - 80 G/L	
Sg Leucocytes	4,0 - 10,0 G/L	

Tableau 7 : valeurs normales de l'hémogramme<sup>58</sup>.

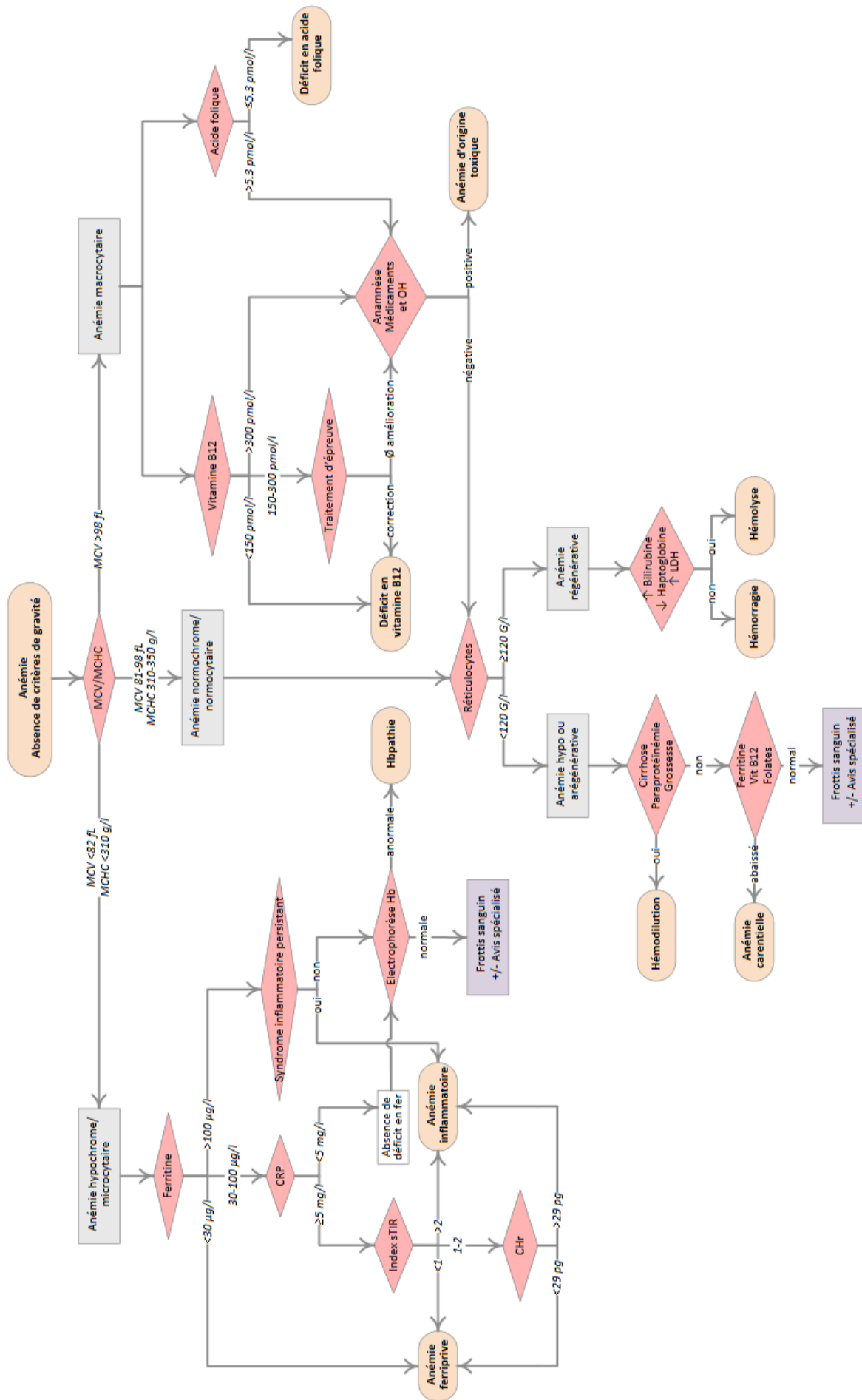


Figure 15 : proposition d'algorithme diagnostic devant une anémie<sup>52</sup>.

### 1.3.3.3. Bilan martial

#### 1.3.3.3.1. Gold standard

Sur le plan biologique, la cytologie médullaire avec coloration au Bleu de Prusse reste considérée comme le « Gold Standard » contre lequel les nouveaux marqueurs ont été testés, mais cet examen est invasif, n'est que semi-quantitatif, et n'a pas sa place en dehors de situations heureusement rares, dans le diagnostic des carences en fer. Les recommandations anglaises de 2013 évoquent la possibilité d'avoir recours à une analyse médullaire lorsque les ferritines élevées (voire très élevées, supérieures à 1200 µg/L) ne reflètent pas réellement le fer disponible pour l'érythron<sup>48</sup>. En pratique, le cytologiste notera, en cas de carence martiale, un excès d'érythroblastes (coloration May-Grünwald Giemsa), et une absence de fer intra-macrophagique sur le myélogramme après coloration au Bleu de Prusse.

#### 1.3.3.3.2. Ferritine

La ferritine est considérée comme le meilleur marqueur des réserves globales de fer dans l'organisme, les études de corrélation ayant montré une corrélation entre le fer de la moelle osseuse et la ferritine, et 1 µg/L de ferritine correspond à environ 9mg de réserve de fer dans l'organisme<sup>61,62</sup>.

D'un point de vue biologique, le dosage de la ferritine seule est la première étape dans la démarche étiologique.

Une diminution de la ferritine est le meilleur moyen et le seul examen de première intention à prescrire dans le diagnostic de carence en fer selon la HAS<sup>5</sup>, les autres examens biochimiques associant fer sérique et transferrine (afin de disposer du coefficient de saturation de la transferrine (CST) ) étant limités en deuxième intention, dans des situations plus complexes où cette corrélation est perdue.

La ferritine intra-érythrocytaire est un bon reflet des stocks, mais son dosage exige un sang fraîchement prélevé et une séparation des leucocytes, ce qui en limite l'usage en routine. Elle est dosée après lyse des globules rouges, et correspond donc à une moyenne des ferritines érythrocytaires. Elle est rarement utilisée en pratique courante. Les valeurs normales de la ferritine sérique sont variables dans la littérature en fonction de l'âge et du sexe. Une grande partie des publications et des recommandations sur ce thème s'appuient sur les résultats d'une méta-analyse publiée en 1992 par Guyatt *et al*<sup>63</sup> qui évaluent les résultats de 55 études portant sur des sujets anémiques explorés par l'analyse de moelle osseuse et les marqueurs du métabolisme du fer (ferritine sérique, CST), protoporphyrine, VGM et IDR. Par rapport à la quantification du fer établie par coloration de la moelle osseuse, le dosage de la ferritine (2 579 sujets) était le meilleur marqueur sérique de l'anémie ferriprive. Ce dosage avait une valeur diagnostique différente selon la population étudiée : les seuils étaient plus élevés dans les populations de patients présentant une maladie inflammatoire que pour les populations qui ne présentaient pas ces maladies.

### 1.3.3.3.3. Définir les valeurs normales de la ferritine sérique

De manière générale, il est admis que la présence d'une anémie ferriprive n'est pas vraisemblable pour des valeurs de ferritine sérique supérieures à 40 µg/L dans la population générale et supérieures à 70 µg/L pour les patients présentant des pathologies inflammatoires ou hépatiques<sup>5</sup>. D'autres sources indiquent qu'en dessous d'une valeur de ferritine à 30 µg/L, un épuisement des réserves, une « carence martiale débutante » peut être évoquée<sup>64</sup>. En 1993, Hallberg *et al* a analysé 38 échantillons de moelle osseuse et de sang. La concentration de ferritine sérique à 16 µg/L était le meilleur paramètre comparé aux paramètres hématologiques pour affirmer la carence martiale (sensibilité diagnostique à 98%, spécificité 75%). Les premiers signes d'une érythropoïèse manquant de fer étaient notés à partir d'une concentration en ferritine allant de 25 à 40 µg/L. Ils indiquent néanmoins qu'il serait nécessaire d'utiliser une combinaison de marqueurs pour établir le statut martial<sup>65</sup>. La HAS, dans son rapport de 2011 indique dans ses annexes un seuil à 15 µg/L dans la population générale pour « aider au diagnostic de carence en fer » ; et les recommandations de l'OMS de 2001 et 2004 définissent la valeur de ferritine chez les enfants de moins de 5 ans à 12 µg/L, et chez les plus de 5 ans à 15 µg/L :

#### Ampleur relative des réserves de fer d'après la concentration de ferritine dans le sérum

	Ferritine sérique (µg/l)			
	Moins de 5 ans		5 ans et plus	
	Homme	Femme	Homme	Femme
Épuisement des réserves en fer	<12	<12	<15	<15
Épuisement des réserves en fer en présence d'une infection	<30	<30	-	-
Risque sévère de surcharge en fer (adultes)	-	-	>200	>150

Tableau 8 : valeurs seuils de ferritine en dessous desquelles il est permis d'affirmer une carence martiale vraie (CMA) selon l'OMS<sup>34</sup>.

D'autre part, les seuils de ferritine sérique ne font pas consensus pour l'enfant et la femme enceinte. En effet, le statut martial varie pendant les premiers mois de vie : initialement, il existe une augmentation de la ferritine par hémolyse physiologique et remplacement de l'hémoglobine fœtale par l'hémoglobine adulte, puis une diminution de la ferritine, car le fer est largement utilisé du fait de la croissance rapide<sup>60</sup>. Chez la femme enceinte, l'expansion volémique observée aux 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> trimestres de grossesse contribue à la diminution de la ferritine sérique et à la variabilité de ses concentrations<sup>5</sup>.

Les courbes ROC (Receiver Operator Characteristics) permettent d'évaluer les performances d'un test diagnostique, en utilisant sa sensibilité et sa spécificité. Un test considéré comme parfait, c'est-à-dire avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 100% aura une aire sous la courbe (AUC) à 1. Un test sans utilité diagnostique présentera une AUC à 0,5. L'AUC du coefficient de saturation de la transferrine se situe autour de 0,7, alors que la ferritine, en l'absence d'inflammation, montre une AUC à 0,95 pour le diagnostic de carence martiale. En présence d'une ACD, l'AUC est nettement inférieure, et selon le seuil utilisé, elle se situe entre 0.57 et 0.89<sup>66</sup>. Ces notions soulignent l'importance de connaître le contexte (inflammation, hépatopathie, âge, sexe) pour interpréter les résultats de ferritine sérique.

Ainsi, le dosage de la ferritine dans l'interprétation d'une anémie doit tenir compte de deux éléments:

-le premier est que la ferritine ne reflète pas seulement les réserves de fer, mais est également dépendante de nombreux facteurs : protéine de la phase aiguë de l'inflammation, augmentation en cas de cytolyse, d'hémolyse, d'hyperthyroïdie ou encore d'intoxication éthylique,

-le second élément est que la ferritine, par définition, n'est pas le reflet la quantité de fer fonctionnelle pour l'érythropoïèse. Dans certaines situations, le stock de fer médullaire ne semble plus corrélé aux valeurs sériques de la ferritine, et, globalement, la ferritine ne reflète pas le fer réellement disponible pour l'érythropoïèse. La question est donc de définir des valeurs seuils de ferritine, si c'est possible, chez les femmes enceintes et chez l'enfant.

#### 1.3.3.3.4. Coefficient de saturation de la transferrine

Le CST correspond au rapport de la concentration en fer sérique sur la capacité totale de fixation de la transferrine (CTFT). La CTFT n'est plus dosée (recommandations de la SFBC), mais est appréciée par la formule suivante  $CTFT (\mu\text{mol/L}) = \text{transferrine (g/L)} \times 25$

Le calcul du CST est donc :

$$\text{CST (\%)} = \frac{\text{fer } (\mu\text{mol/l})}{\text{transferrine (g/L)} \times 25}$$

A l'état physiologique, environ 30% des sites de fixation de la transferrine sont occupés par du fer (soit un CST à 30%)<sup>31</sup>. Selon la HAS, les valeurs habituelles chez l'adulte vont de 20 à 40%<sup>5</sup>, ce qui correspond aux valeurs usuelles utilisées dans les laboratoires de biologie médicales<sup>58</sup>.

Lorsque le CST est fortement augmenté (70% et au-delà), c'est-à-dire que la transferrine a fixé la majeure partie du fer, le fer restant est présent dans le sang sous forme libre, et pourra diffuser passivement dans les cellules de l'organisme, et provoquer des dégâts cellulaires à travers la formation de radicaux libres, selon l'équation de Fenton<sup>4,12,13</sup>.

Mast *et al* indiquent que l'utilisation du CST devient informative dans les situations où la ferritine n'est plus interprétable. A l'état « basal », la ferritine possède de meilleures valeurs diagnostiques pour la carence martiale, cependant en présence d'une anémie inflammatoire, ou lorsque la ferritine ne semble plus corrélée au fer disponible, l'apport du CST devient intéressant<sup>67</sup>.

Dans les situations où le stock de fer médullaire ne semble plus corrélé aux valeurs sériques de ferritine, l'utilisation du coefficient de saturation de la transferrine, qui témoigne du fer circulant et donc accessible à l'érythroblaste, semble alors utile. Un coefficient de saturation diminué à moins de 20% chez des patients en insuffisance rénale chronique (IRC) sous EPO est un bon indicateur de carence fonctionnelle et du besoin en fer intraveineux (IV)<sup>68</sup>. Dans l'IRC, les patients anémiques avec hyperferritinémie à plus de 500  $\mu\text{g/L}$  mais avec diminution du CST ont une valeur d'hémoglobine qui répond au fer intraveineux<sup>69</sup>.

Dans ces pathologies chroniques, le dosage de la ferritine est donc un mauvais marqueur pour prédire les bénéfices d'un traitement par fer ou pour prédire la réponse à l'EPO en cas d'anémie observée au cours des cancers.

Les recommandations anglaises dans les IRC proposent de définir un seuil de ferritine à 100 µg/L chez les patients non dialysés et à 200 µg/L chez les patients dialysés pour évoquer la possibilité d'une carence fonctionnelle en fer pouvant bénéficier de perfusion de fer IV<sup>70</sup>.

Plus récemment, une proposition d'un groupe de travail international vient d'être publiée quant à la définition de la carence martiale chez des patients avec ACD. Les conclusions de ce groupe sont les suivantes : dans ces pathologies chroniques, le diagnostic de carence en fer, anémie sous-jacente ou pas, doit être évoqué quand la ferritine est inférieure à 100 µg/L ou le CST est < 20%. La présence d'un de ces deux facteurs est une indication à une supplémentation martiale<sup>71</sup>.

■ Recommandations des Sociétés Savantes : dépendent de la pathologie associée

<b>Seuils ?</b>			
Ferritine (µg/l) (ou CST)	CMA	CMF	CM mixte
Anesthésie	< 30	>100	30 ≤ Ft ≤ 100
Gastroentérologie	< 30 (<16%)	>100 (<16%)	30 < Ft < 100
Oncologie	<30 (<15-20%)	30 ≤ Ft ≤ 800 (≤20% ou 20-50%)	
Néphrologie	<100 (< 20%)	<200 ou <300 (dialysé)* (<25%)	
Cardiologie	<100		100 < Ft < 299 (<20%)

\*<100 non dialysés <200 dialysés (UK) Sources : ESA 2013; ECCO 2012; AFSO 2012; ERA-EDTA 2013; ESC 2012

Tableau 9 : propositions de seuils de ferritine et de CST pour définir la CMA et la CMF en fonction des situations pathologiques ?

#### 1.3.3.3.5. Fer sérique

Le dosage du fer sérique se fait sur prélèvement le matin, à jeun, du fait de l'influence de l'alimentation et de la forte variabilité intra-individuelle nyctémérale. Ce dosage doit se faire dans le cadre d'un bilan martial complet contenant ferritine, transferrine et coefficient de saturation de la transferrine. Il n'y a pas, selon le rapport d'évaluation de la HAS, d'intérêt à doser le fer sérique seul<sup>5</sup>.

Lors d'une carence en fer, le fer sérique est diminué, de même que lors d'une inflammation, le fer sérique sera alors séquestré, et donc diminué<sup>5</sup>.

#### 1.3.3.3.6. Récepteur soluble de la transferrine

Le rapport de la HAS souligne l'intérêt du dosage des récepteurs solubles de la transferrine (sTf-R) dans les situations inflammatoires, dont la quantité augmente par protéolyse de la forme membranaire en cas de carence martiale ou par l'EPO. Un ratio, défini par le rapport entre le sTf-R et le logarithme de la ferritine a montré son intérêt dans la carence martiale, hormis chez les patients thalassémiques<sup>5</sup>.

#### 1.3.3.3.7. Protoporphyrine liée au zinc

La protoporphyrine érythrocytaire, qui doit lier un atome de fer pour constituer l'hème de l'hémoglobine, s'accumule dans les globules rouges lorsque les érythroblastes manquent de fer pour la synthèse de l'hémoglobine<sup>12</sup>. En cas de carence martiale, le zinc peut prendre la place du fer au niveau de la protoporphyrine, un précurseur de l'hème. Ainsi, cette protoporphyrine liée au zinc peut donc être dosée afin de mettre en évidence une insuffisance des réserves en fer<sup>5</sup>.

Le tableau ci-dessous (OMS<sup>72</sup>) indique les valeurs de protoporphyrine érythrocytaire que l'on retrouve en fonction des différents stades de la carence martiale :

Iron status	Erythrocyte protoporphyrin	
	< 5 years of age	⊕ 5 years of age
Iron overload or excess	Normal	Normal
Normal	Normal	Normal
Mild iron deficiency without anaemia	Normal	Normal
Moderate iron deficiency without anaemia	>70 µg/dl red blood cell >2.6 µg/g haemoglobin >61 mmol/mol haem	>80 µg/dl red blood cell >3.0 µg/g haemoglobin >70 mmol/mol haem
Severe iron deficiency with anaemia	>70 µg/dl red blood cell >2.6 µg/g haemoglobin >61 mmol/mol haem	>80 µg/dl red blood cell >3.0 µg/g haemoglobin >70 mmol/mol haem

Tableau 10 : valeurs des protoporphyrines érythrocytaires selon l'état martial.

#### 1.3.3.3.8. Hpcidine

Depuis plusieurs années des publications montrent l'intérêt du dosage de l'hpcidine dans des situations particulières, afin d'affirmer la présence d'une carence martiale vraie ou d'une insuffisance fonctionnelle en fer<sup>73</sup>. Ce dosage reste malgré tout très rarement demandé, nécessite encore des mises au point, et seuls des laboratoires spécialisés réalisent cette analyse<sup>74,75</sup>.

## 1.4. Le fer pendant la grossesse

### 1.4.1. Des apports supplémentaires

Lors de la grossesse, environ 1000 mg de fer, en plus des apports classiques, seront nécessaires sur les neuf mois pour couvrir convenablement l'ensemble des besoins de la femme enceinte : 500 mg seront nécessaires à l'élévation de la masse érythrocytaire au deuxième trimestre, 300 mg à la croissance fœtale, 250 mg pour couvrir les pertes physiologiques, et enfin 90 mg pour le placenta<sup>35,29,76</sup>. Ainsi, les réserves en fer de la femme enceinte sont rapidement mobilisées. L'aménorrhée permet cependant de limiter les pertes sanguines, donc de fer, et l'augmentation de l'absorption intestinale du fer, qui se manifeste par une augmentation du coefficient d'absorption du fer, allant jusqu'à 40% en fin de grossesse, permet de couvrir ces besoins.

A la naissance, le nouveau-né a des réserves en fer de l'ordre de 75 mg/kg, ce qui correspond au fer apporté par la femme enceinte pendant toute la grossesse. Des récepteurs à la transferrine sur le placenta permettent au fœtus d'avoir un apport suffisant en fer tout au long de la grossesse<sup>29</sup>. Il est ainsi admis qu'une alimentation variée et équilibrée est suffisante pour une femme enceinte pour assurer l'ensemble des besoins en fer.

Bien que l'apport alimentaire moyen journalier en fer est de 10 à 15 mg/jour en France, les réserves en fer ainsi que l'augmentation de la capacité d'absorption du fer chez la femme enceinte doivent permettre de palier à la demande supplémentaire, qui sera de 3 à 6 mg/jour en fin de grossesse<sup>76</sup>.

### 1.4.2. Epidémiologie de l'anémie et de la carence martiale chez la femme enceinte

En 2016, dans le monde, près de 40% des femmes enceintes âgées de 15 à 49 ans souffrent d'anémie, et 50 à 60% d'entre elles ont une anémie par carence en fer<sup>77</sup>. Chez l'enfant, il s'agit du trouble nutritionnel le plus fréquent, devant l'obésité et la dénutrition protéino-énergétique<sup>21</sup>.

En Europe, 10 à 40% des femmes enceintes ont un statut martial qualifié de « bas ». En France, sur environ 700 000 grossesses annuelles, elles seraient donc environ 200 000 femmes enceintes avec un statut martial « bas », et moins de 3% des femmes enceintes ont une carence martiale avérée. Le CNGOF, en 2013, indique que 20 à 67% des femmes enceintes entre le début et la fin de la grossesse ont une ferritine inférieure à 12 µg/L, donc une carence martiale absolue<sup>78</sup>.

En France, le rapport de l'INVS Etude Nationale Nutrition Santé retrouve une carence patente en fer chez 5,6% de la population adulte entre 18 et 74 ans et une insuffisance des réserves chez plus de 10% des sujets, avec une incidence accrue chez les femmes en âge de procréer<sup>79</sup>. L'anémie concernerait 1,5% des femmes enceintes au 1<sup>er</sup> trimestre, mais 9% au dernier trimestre de grossesse<sup>78</sup>.



Ces différences s'expliquent par le fait que la prévalence de l'anémie ferriprive varie selon le niveau de développement socio-économique du pays étudié, l'alimentation, selon le trimestre de grossesse et la présence ou non d'une supplémentation en fer de la femme enceinte. Ainsi, plus rare en début qu'en fin de grossesse, la prévalence de la carence martiale passe de 5% chez les femmes enceintes supplémentées en fer dans les pays dits développés<sup>29</sup>, à près de 90% en Inde<sup>35</sup>.

**Tableau 1.** Prévalence du déficit en fer (évalué par un taux de ferritine anormal) et de l'anémie (évaluée par un taux d'hémoglobine bas) dans la population française d'après Hercberg *et al.*, 2001 (20).

Population		n études [n sujets]	Déficit en fer (%)	Anémie (%)
Femmes réglées		5 [7 753]	8,1-23	1,3-4,4
Femmes enceintes		3 [882]	54-77	9-30
Enfants	10 mois	1 [99]	48	NR
	2 ans	1 [16]	38	NR
	4 ans	1 [102]	17	NR
	6-24 mois	1 [38]	29,2	4,2
	2-6 ans	1 [44]	13,6	2
Adolescents	Filles 11-15 ans	1 [25]	3,1	NR
	Filles 14-15 ans	1 [25]	15,4	7,7
	Garçons 14-18 ans	1 [28]	0	0

NR : non renseigné.

Tableau 11 : prévalence du déficit en fer dans la population française, 2001<sup>5</sup>.

### 1.4.3. Retentissement chez le nouveau-né

Une anémie ferriprive, dès le début de la grossesse, augmente la morbi-mortalité materno-infantile à travers l'augmentation des hémorragies, du risque d'infection et de retard de développement, ainsi qu'un risque trois fois plus élevé d'accouchement prématuré, et de faible poids de naissance, même comparé aux autres causes d'anémie. De part une régulation des apports en fer du fœtus par le placenta<sup>80</sup>, une carence martiale maternelle ne semble pas avoir d'effet sur les réserves en fer du nouveau-né<sup>76,78,81</sup>.

La carence martiale affecte le développement *in utero* et à long terme<sup>28</sup>. Des déficits cognitifs pendant les premières années de vie<sup>45</sup>, avec des troubles neurologiques tels qu'une diminution des capacités de mémorisation et d'apprentissage, des troubles moteurs, de la thermorégulation et de l'humeur ainsi que des difficultés de concentration<sup>21</sup>, ce qui peut impacter le développement émotionnel et social de l'enfant<sup>51</sup>.

Une méta-analyse sur 23200 femmes a montré l'intérêt de la supplémentation par fer pour prévenir l'anémie et la carence martiale maternelle à la naissance<sup>78,82</sup>. D'autre part, l'intérêt d'un diagnostic précoce de la carence martiale, dès les premiers mois de grossesse, est renforcé par le fait qu'une anémie découverte après 28 semaines de grossesse (ce qui correspond donc à une carence martiale gravidique) n'a pas les conséquences d'une carence martiale non traitée présente dès le début de la grossesse<sup>76</sup>. C'est donc le traitement de la carence martiale préexistante ou qui s'installe dès les premières semaines de grossesse qui prévient les complications futures de la carence martiale absolue (CMA).

#### 1.4.4. Pratiques actuelles en terme de supplémentation chez la femme enceinte

##### 1.4.4.1. Recommandations anglaises

Ces recommandations insistent sur les conseils nutritionnels à apporter aux femmes enceintes, notamment sur une alimentation équilibrée et riche en fer.

Les recommandations anglaises<sup>51</sup> de la BCSH conseillent la réalisation d'une NFS à 28 semaines de grossesse. L'anémie est définie au premier trimestre par une hémoglobine inférieure à 11 g/dL, et aux 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> trimestre par une hémoglobine inférieure à 10,5 g/dL.

Une valeur d'hémoglobine inférieure à 11 g/dL avant 12 semaines ou inférieure à 10,5 g/dL après 12 semaines de grossesse doit conduire à une supplémentation en fer per os (PO), et le diagnostic repose sur l'amélioration clinique et biologique à 2 semaines (augmentation de la valeur de l'hémoglobine). Après normalisation de l'hémoglobine, les recommandations anglaises suggèrent une durée de traitement de trois mois au moins après normalisation de la NFS.

La supplémentation systématique de toutes les femmes enceintes n'est pas recommandée, de même que la prescription systématique d'un dosage de ferritine, hors hémoglobinopathies avérées ou suspectées, et chez les femmes a priori non anémiques mais présentant un risque de carence martiale : le seuil de ferritine donnant alors lieu à une supplémentation en fer est de 30 µg/L, et en deçà de 15 µg/L, la BCSH considère que la carence martiale est avérée.

Concernant les posologies en fer, les posologies de fer PO sont de 100 à 200 mg par jour chez les femmes anémiées, et seront diminuées en cas d'effets indésirables. Chez les femmes non anémiées (hémoglobinopathies ou considérées comme à risque de carence martiale), la posologie sera de 65 mg/jour, avec une NFS et un dosage de ferritine 8 semaines après le début du traitement.

La BCSH conseille une prise de fer 1 heure avant le repas, l'estomac vide, avec de la vitamine C, sans autre traitement ni complément alimentaire. Les posologies des recommandations anglaises sont exprimées en fer élémentaire, donc en fer disponible dans le comprimé.

#### 1.4.4.2. Recommandations OMS

L'OMS<sup>28,83</sup> recommande la supplémentation systématique des femmes enceintes, par 30 à 60 mg de fer élémentaire (« 60 mg de fer élémentaire sont équivalents à 300 mg de sulfate ferreux heptahydraté, à 180 mg de fumarate ferreux ou à 500 mg de gluconate ferreux »), 1 fois par jour pendant toute la durée de la grossesse, pour la prévention de « l'anémie maternelle, la septicémie puerpérale, le faible poids à la naissance et les naissances avant terme ». La posologie est de 60 mg par jour chez des populations où la prévalence de l'anémie est supérieure à 40%. Ces posologies sont doublées en cas d'anémie avérée, où la posologie est de 120 mg de fer/jour jusqu'à normalisation l'hémoglobine<sup>83</sup>, ou diminuées en cas d'effets indésirables et dans les populations où la prévalence de l'anémie chez les femmes enceintes est inférieure à 20%, par 120 mg de fer et 400 µg d'acide folique, mais une fois par semaine<sup>83</sup>.

L'OMS a des valeurs seuils d'hémoglobine en fonction du trimestre de grossesse différentes des recommandations anglaises : elles sont de 11 g/dL aux 1ers et 3è trimestre, et de 10,5 g/dL au 2è trimestre.

#### 1.4.4.3. Recommandations françaises

En France, le dépistage de l'anémie chez la femme enceinte est obligatoire au 6è mois de grossesse, ce qui correspond aux recommandations anglaises<sup>83</sup>. L'anémie pendant la grossesse est définie de la même manière que pour l'OMS. Le traitement systématique n'est pas recommandé<sup>5,76</sup>.

En 1997, dans ses recommandations, le CNGOF affirme qu'une supplémentation martiale tardive pendant la grossesse ne réduit pas les risques pour le fœtus et le nouveau-né, et recommande plutôt une NFS au 3è mois de grossesse.

En 2004, les recommandations pour la pratique clinique de la HAS rappellent la nécessité d'une alimentation saine, variée et équilibrée pendant la grossesse, et que dans le cas d'une telle alimentation, aucun complément alimentaire n'était nécessaire, et que donc il était inutile de proposer une supplémentation en fer en systématique aux femmes enceintes. Dès le début de la grossesse, le recueil d'information doit pouvoir donner lieu si besoin à une NFS pour repérer une éventuelle carence martiale.

#### 1.4.4.4. Intérêt du diagnostic de la carence martiale au début de grossesse

Pour le CNGOF et la HAS, la NFS obligatoire du 6è mois intervient trop tardivement, car elle ne permet pas de dépister et traiter les carences en fer présentes au début de la grossesse, et recommande de déplacer cet examen à la 1<sup>ère</sup> consultation de grossesse. En effet, c'est la carence martiale du début de la grossesse et non la carence gravidique qu'il est important de dépister. Le traitement sera initié lorsque l'hémoglobine sera inférieure à 11 g/dL, ou l'hématocrite inférieur à 32%, sans bilan martial associé. Comme pour la HAS (rapport 2011), la ferritine seule ne sera dosée qu'en seconde intention après échec d'un traitement martial, la valeur seuil retenue étant de 12 µg/L<sup>5,76</sup>.

En 2013, le CNGOF publie une mise à jour sur les recommandations nutritionnelles pendant la grossesse, et indique, non seulement que la valeur seuil de ferritine peut être sujette à controverse, sans apporter davantage de précision, mais qu'une supplémentation martiale même en l'absence d'anémie chez la femme enceinte pourrait être envisagée, donnant lieu à une discussion sur les recommandations actuelles pour traiter la carence martiale sans anémie.

Pour ce qui est de la supplémentation martiale systématique, selon le CNGOF, supplémenter en fer des femmes enceintes non carencées induirait une hypertension artérielle (HTA) maternelle, avec comme conséquences potentielles : pré-éclampsie et retard de croissance intra-utérin. D'autre part, il cite une méta-analyse de 2005, qui a montré que la supplémentation systématique diminuait bien l'anémie et la carence martiale, mais pas la morbi-mortalité maternelle et néonatale<sup>78</sup>, rejetant ainsi l'idée d'une supplémentation systématique.

L'intérêt d'un diagnostic précoce, au tout début de la grossesse, est donc capital pour prévenir les conséquences néfastes de la CMA.

#### 1.4.4.5. Supplémentation martiale de la femme enceinte

La supplémentation martiale en France est de 30 à 60 mg de fer absorbé par jour jusqu'à correction de l'anémie, avec la réalisation d'une NFS après 6 semaines de supplémentation<sup>76</sup>. La supplémentation devra provoquer une augmentation de la concentration en hémoglobine d'un peu plus de 1 g/dL, sans dépasser 2 g/dL, compte tenu du risque d'hémoconcentration et d'HTA gravidique.

La supplémentation en fer PO se fait sous forme de sulfate ou de fumarate de fer. Les principales spécialités en France contenant du fer (Vidal) sont : Ascofer en gélules 33 mg, Fer AP-HP en gélules pour nouveau-né 0,5 mg, Ferinject poudre pour solution injectable 50 mg/mL, Ferrostrane sirop à 0,68%, Fumafer comprimé pelliculé 66 mg, Inofer comprimé pelliculé 100 mg, Tardyferon comprimé enrobé 50 mg ou pelliculé 80 mg, Tardyferon B9 comprimé pelliculé 50 mg/0,35 mg, Timoferol comprimé enrobé à 50 mg ou en gélule, Venofer, solution injectable IV à 20 mg/mL.

Dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) du Tardyferon, (comprimé enrobé de 154,530 mg de sulfate ferreux desséché, soit 50 mg de fer), l'indication du médicament concerne le « traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte, lorsqu'un apport alimentaire suffisant en fer ne peut être assuré ». La posologie est de 50 mg/jour à partir du 4<sup>e</sup> mois de grossesse, avant ou après le repas.

Dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) du Fumafer (comprimés pelliculés de 200 mg de fumarate ferreux, soit 66 mg de fer par comprimé), dans le Vidal, la posologie indiquée dans le traitement préventif de la carence martiale chez la femme enceinte est de 1 comprimé/jour, soit 66 mg de fer/jour. Dans le cadre d'un traitement curatif d'une anémie par carence martiale, la posologie est de 2 à 3 comprimés de Fumarate/jour, soit 100 à 200 mg de fer/jour. La durée de traitement indiquée est de 3 à 6

mois pour obtenir la correction de l'anémie et la reconstitution des réserves en fer (d'environ 1000 mg). Il est indiqué que le contrôle de l'efficacité du traitement doit se faire après 3 mois, et s'effectuer sur la correction de l'hémoglobine, du VGM et du bilan martial. Le traitement martial corrigera toutes ces anomalies dans la séquence inverse de leur apparition.

Les associations déconseillées sont le fer injectable, les cyclines, les fluoroquinolones, les pénicillines, les diphosphonates et les sels, oxydes et hydroxydes de magnésium, aluminium et calcium, ainsi que la thyroxine.

Les effets indésirables notables sont les troubles gastro-intestinaux (nausées, constipation et diarrhées), avec une coloration des selles en gris/noir.

La bonne prise du traitement est donc essentielle pour corriger la carence martiale, compte tenu des interactions avec les autres médicaments et la variabilité possible de l'absorption du fer avec le reste de l'alimentation, ainsi que les effets indésirables digestifs, qui peuvent mener à une mauvaise compliance vis-à-vis du traitement ou donner lieu à l'utilisation du fer en IV.

L'utilisation du fer par voie parentérale est réservée à l'anémie de l'insuffisant rénal chronique, en situation pré-opératoire ou post-opératoire que nous ne détaillerons pas ici, et dans le traitement des ACD de l'intestin en alternative d'un traitement PO, et plus généralement lors de l'échec ou de l'impossibilité d'utiliser les traitements PO. Le fer IV peut également être utilisé dans une anémie ferriprive majeure.

Le tableau suivant est un exemple de conduite à tenir devant une anémie pendant la grossesse et le post-partum, en intégrant la ferritine et la CRP :

**Tableau 2** Possibilités thérapeutiques en cas d'anémie par carence martiale au cours de la grossesse et du post-partum en fonction des situations cliniques, des taux d'hémoglobine (Hb, en g/dl), de ferritine sérique et de la CRP.  
*Therapeutic options in case of iron deficiency anemia during pregnancy and post-partum depending on clinical history, hemoglobin, ferritin and CRP levels.*

Anémie ferriprive prénatale			
	Hb < 7	7 ≤ Hb < 9	9 ≤ Hb < 11
<i>Grossesse normale</i>			
À distance du terme	Fer p.o. ou fer i.v.	Fer p.o.	Fer p.o.
À proximité du terme	Transfusion	Fer i.v.	Fer p.o.
<i>Risque hémorragique</i>			
À distance du terme	Fer p.o. ou fer i.v.	Fer p.o. ou i.v.	Fer p.o.
À proximité du terme	Transfusion	Fer i.v.	Fer p.o. ou fer i.v.
<i>Intolérance digestive et/ou non observance du fer oral</i>			
	Transfusion	Fer i.v.	Fer i.v.
Anémie ferriprive du post-partum			
	Hb ≤ 5	5 ≤ Hb < 7	7 ≤ Hb < 9–10
Ferritine basse	Transfusion	(Selon la tolérance) Transfusion ou fer i.v. avec corrections des réserves	Fer p.o. ou fer i.v. avec corrections des réserves
Ferritine et CRP normales	Transfusion	(Selon la tolérance) Transfusion ou fer i.v. sans corrections des réserves	Fer p.o. ou fer i.v. sans corrections des réserves
Ferritine élevée	Transfusion	Transfusion	Fer p.o. sauf si CRP normale

Adapté de F. Bayoumeu (données non publiées).  
i.v. : intraveineux ; p.o. : per os.

Tableau 12 : traitement de l'anémie par carence martiale pendant la grossesse et en post-partum, 2011<sup>29</sup>.

### 1.4.5. Ferritine et grossesse

Chez la femme enceinte, le CNGOF propose une valeur de ferritine à 12 µg/L pour définir la CMA. La ferritine n'est dosée qu'en seconde intention<sup>76</sup>.

Le rapport d'expert de la HAS en 2011 souligne l'absence de consensus de l'interprétation de ce dosage chez la femme enceinte et chez l'enfant, et aucune mention n'est faite sur une éventuelle valeur seuil de ferritine, ou une recommandation de dosage chez la femme enceinte. Il indique seulement dans ses annexes que l'on peut retenir la valeur de 12 µg/L chez la femme enceinte pour établir le diagnostic de carence martiale. Ce dosage doit intervenir après échec d'1 mois de supplémentation par fer<sup>5,84</sup>.

Certaines études indiquent quant à elles une valeur fiable de ferritine chez la femme enceinte, permettant d'évoquer la carence martiale en dessous de 20 µg/L<sup>85</sup>.

Enfin, l'Organisation Mondiale de la Santé propose une valeur de 15 µg/L pour la population générale<sup>34</sup>, et indique que l'utilité de la ferritine est limitée pendant la grossesse, ses valeurs diminuant<sup>72</sup>. L'OMS met à disposition sur internet un document qui propose, pour la femme enceinte, une valeur de 20 µg/L aux 1ers et 2è trimestres de grossesse (<sup>44,page 54</sup>).

### 1.4.6. Synthèse

Les recommandations concernant la carence martiale de la femme enceinte ne font pas consensus. Deux constats sont cependant fait par l'OMS et la France : d'une part, malgré des campagnes de supplémentation (OMS), la prévalence de la carence martiale ne diminue pas, d'autre part, le traitement d'une carence martiale gravidique ne modifie pas la morbi-mortalité maternelle et néonatale : c'est la carence martiale présente dès le premier trimestre qu'il faut dépister et traiter. En France, le CNGOF ouvre la voie à une réflexion sur une supplémentation en fer en l'absence d'anémie, ce qui est déjà prévu dans les recommandations anglaises.

Le dépistage de la carence martiale, toujours fait via la NFS et surtout l'hémoglobine, sans bilan martial, doit donc être plus efficace et plus précoce : il convient d'identifier les patientes plus tôt, et si possible de manière plus spécifique.

## 1.5. Des indices étudiés mais peu utilisés : le %HYPO et la CHr

Certains marqueurs ont été validés comme étant plus sensibles et spécifiques que le taux d'hémoglobine pour évaluer la qualité de l'érythropoïèse devant une carence en fer, comme le pourcentage de globules rouges hypochromes (%HYPO) et le contenu en hémoglobine du réticulocyte (CHr). Ces deux paramètres sont évalués sur la plupart des automates d'hématologie, cependant avec des différences en termes de mesure ou de calcul. Ils ne sont donc pas interchangeables. Nous prenons ici l'exemple du %HYPO et de la CHr, tels qu'appelés et mesurés par les automates Advia® 2120 de la société Siemens®.

### 1.5.1. %HYPO

Le pourcentage des globules rouges hypochromes, c'est à dire ayant une concentration corpusculaire en hémoglobine  $< 28$  g/dL, permet d'évaluer si l'érythropoïèse est restreinte en fer lors des 120 derniers jours. Elle permet d'évaluer sa capacité à produire ou non des érythrocytes avec une teneur en hémoglobine suffisante<sup>46</sup>.

Le pourcentage de globules rouges hypochromes est un indicateur direct de l'insuffisance fonctionnelle en fer<sup>47</sup> : que les réserves en fer soient déficientes ou non, le %HYPO rend compte, lorsqu'il est augmenté, de l'insuffisante incorporation de l'hémoglobine dans les érythroblastes.

En 2002, une étude a montré que le %HYPO permettait de distinguer, dans une population d'étudiantes, les anémies par carence martiale des autres causes d'anémie, avec une AUC de 0,98, ce qui signifie que la valeur diagnostique du %HYPO pour distinguer l'anémie par carence martiale des autres anémies serait presque parfaite<sup>86</sup>.

Le %HYPO a également été étudié pour sa valeur diagnostique des thalassémies, qui sont des anomalies de production des chaînes de globines constitutives de la molécule d'hémoglobine. On pourra observer chez les patients thalassémiques, que leurs globules rouges seront davantage microcytaires, qu'hypochromes. Au contraire, lorsque l'érythropoïèse manque de fer, les globules rouges produits sont davantage hypochromes que microcytaires.

A partir de ces données, un ratio du pourcentage de globules rouges microcytaires (VGM  $< 60$  fL) sur le pourcentage de globules hypochromes a été étudié. Globalement, un ratio supérieur 1 est plutôt en faveur d'une thalassémie, alors qu'un ratio inférieur à 1 est plutôt en faveur d'une carence martiale, qu'elle soit fonctionnelle ou absolue. D'Onofrio *et al* proposent une valeur seuil du ratio à 0,9, avec une discrimination des populations thalassémiques des populations carencées en fer à 92.4%<sup>55,87</sup>.

Plusieurs publications (*tableau 13*) ont établi que la quantification de ces cellules hypochromes dans les carences martiales chez des jeunes femmes anémiques permet de distinguer avec précision les états anémiques liés à une carence en fer, par rapport aux autres causes d'anémies.

#### 1.5.1.1. %HYPO : principe de mesure des Advia® 2120

L'analyse des populations érythrocytaires est effectuée en mode optique, en cytométrie de flux par diffraction laser. Cette technologie permet des mesures indépendantes et individuelles du volume et de la concentration en hémoglobine de chaque hématie.

Tous les globules rouges dont le volume est compris entre 30 et 180 fl, et dont la concentration en hémoglobine est comprise entre 19 et 49 g/dl sont identifiés et inclus dans la population analysée.

Parmi les différents graphes (scattergrammes et histogrammes) proposées par ADVIA2120i, l'un d'eux est particulièrement utilisé : c'est un cytogramme où les cellules sont distribuées en fonction de leur volume en ordonnée, et selon leur concentration en hémoglobine en abscisse.

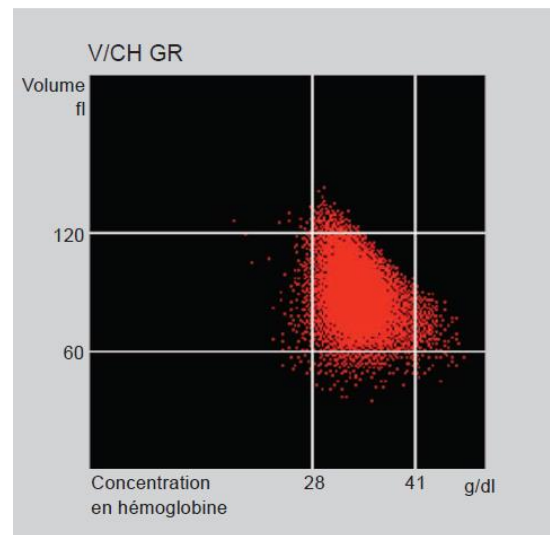


Figure 16 : scattergramme érythrocytaire (Advia 2120).

Les seuils fixés à 28 et 41 g/dl pour la concentration en hémoglobine et 60 et 120 fL pour le volume cellulaire, permettent de définir 9 zones au sein du cytogramme.

C'est à partir de ce scattergramme que l'automate déduit le %HYPO : il correspond aux trois cadrans de gauche (*figure 16*).

Les autres automates d'hématologie proposent eux aussi des paramètres similaires au %HYPO de chez Siemens, permettant d'affiner notre compréhension de l'érythropoïèse de nos patientes. Les automates XE5000 de la société Sysmex proposent le %HYPO-He, chez Beckmann-Coulter le LDH% est utilisé, et chez Abbott on parle du %HPO. Ces paramètres ne sont pas identiques entre eux, les techniques d'analyse n'étant pas les mêmes, et les comparaisons entre ces différents paramètres n'étant pas entièrement faites<sup>55</sup>.



### 1.5.1.2. Valeurs du %HYPO

L'intérêt du %HYPO étant établi, il reste à déterminer comment doit-on l'utiliser, et donc lui définir des bornes, des valeurs seuils.

Thomas *et al*, après analyse d'une population de 71 personnes présentant une NFS et un bilan inflammatoire normal, a défini la valeur de 5% de cellules hypochromes au-delà de laquelle on parle d'insuffisance fonctionnelle en fer (fonctionnel iron deficiency, ou FID)<sup>47</sup>.

Béguin, lors d'une revue datant de 2002, indique un %HYPO à 5 comme définissant « un état ferriprive fonctionnel, quel que soit l'état des réserves en fer »<sup>12</sup>.

Urrechaga *et al* a défini une valeur de %HYPO à 5%, en dessous de laquelle l'érythroïèse est considérée comme normale, et une valeur de 10%, au-delà de laquelle on peut affirmer une insuffisance fonctionnelle en fer, ou une carence martiale absolue<sup>88</sup>. En 2009, elle précise le seuil de normalité du %HYPO, à 0,9%<sup>89</sup>.

Dans une étude d'adolescentes athlètes, la population considérée comme normale avait une valeur de %HYPO inférieure à 1,23%<sup>90</sup>.

Pour simplifier ces données, on peut considérer que la carence martiale fonctionnelle ou absolue (en dehors des éventuelles hémoglobinopathies) est très peu probable lorsque le %HYPO est inférieur à 1%, et très probable lorsqu'il est supérieur à 5%, et certaine au-delà de 10%. Entre ces valeurs, d'éventuels seuils restent à déterminer<sup>91</sup>. Le tableau suivant récapitule les principaux cut-off de %HYPO décrit dans la littérature :

Auteurs/article	Seuils	Signification
Urrechaga, E. <i>et al</i> 2009 <sup>89</sup>	%HYPO entre 0 et 0.9%	Population normale
Brachmann, Université de Berlin, 2010 <sup>92</sup>	%HYPO entre 0 et 0,5% %HYPO à 0,5%	Valeurs de référence chez une population d'athlètes (endurance)  Cut-off diagnostic pour la CM
Malczewska-Lenczowska, J. <i>et al.</i> 2017 <sup>90</sup>	%HYPO < 1.23%	Population normale
Fehr <i>et al</i> , Rev Med Suisse, 2009 <sup>64</sup>	%HYPO > 2%	Marqueur sensible de la CM
Thomas, C. & Thomas, L. 2002 <sup>47</sup>	%HYPO > 5%	%HYPO > 5% correspond à une FID : insuffisance fonctionnelle en fer
Béguin, Y. 2002 <sup>12</sup>	%HYPO >5%	état ferriprive fonctionnel, quel que soit l'état des réserves en fer le %HYPO évolue lentement en suivant la FID
Urrechaga, E. <i>et al</i> 2013 <sup>88</sup>	%HYPO < 5% %HYPO >10%	Erythroïèse normale  FID, CMA
UK Renal Association <sup>5</sup>	%HYPO < 6% %HYPO < 10%	Défini la normalité chez les patients IRC  Stock suffisant en fer (avec ferritine > 100 µg/L)
National Collaborating Centre for Chronic Condition <sup>5</sup>	%HYPO > 6%	FID chez les patients IRC
Caring for Australasians with Renal Impairment (CARI) <sup>5</sup>	%HYPO < 10% %HYPO > 20%	Défini la normalité chez les patients IRC pour entamer l'EPO, avec ferritine > 100 µg/L Défini la carence martiale absolue, avec ferritine < 100 µg/L et CST < 20% Si le CST est < 20%, il s'agit d'une FID

Tableau 13 : cut-off de %HYPO et leur signification.

## 1.5.2. La chromie réticulocytaire : CHR

Au même titre que l'érythrocyte, il est possible de déterminer la teneur en hémoglobine du réticulocyte : c'est la CHR, ou chromie réticulocytaire.

La CHR permet d'évaluer à un instant t (sur les 3 à 4 jours précédant la mesure) la bonne hémoglobinisation des réticulocytes, et donc la disponibilité et l'utilisation correcte ou non du fer pour l'érythropoïèse.

En effet, les paramètres réticulocytaires évaluent la qualité de l'érythropoïèse de manière ponctuelle et presque en temps réel, la durée de vie d'un réticulocyte sanguin étant d'environ 2 jours, alors que les paramètres érythrocytaires évaluent les populations des rouges produites lors des 3 derniers mois, la durée de vie d'un érythrocyte étant de 120 jours environ<sup>66</sup>. Les indices mesurés sur les érythrocytes ne sont donc pas les indicateurs les plus sensibles pour détecter de façon précoce l'érythropoïèse déficiente en fer.

La CHR est mesurée par les automates d'hématologie ADVIA de la société Siemens. Ce paramètre est validé par la FDA depuis 1997<sup>66</sup>.

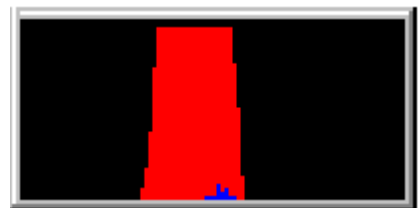
La CHR est donc un bon indice sur la capacité de l'érythropoïèse à produire des réticulocytes, et donc de futurs érythrocytes, correctement pourvus en hémoglobine<sup>46</sup>.

### 1.5.2.1. CHR : principe de mesure des Advia® 2120

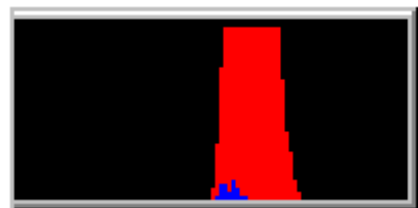
L'analyse des réticulocytes est la même que celle qui est appliquée aux globules rouges (volume et concentration en hémoglobine), après marquage de l'ARN par un colorant vital (oxazine-750) : la CHR est déterminée à partir des mesures de dispersion de la lumière à deux angles différents suivant la sphérisation isovolumétrique des réticulocytes. La CHR est le produit du volume cellulaire par la concentration en hémoglobine cellulaire.

Les histogrammes issus de l'analyse des réticulocytes permettent de visualiser systématiquement deux populations superposées (**les réticulocytes** en bleu, et **les globules rouges matures** en rouge) :

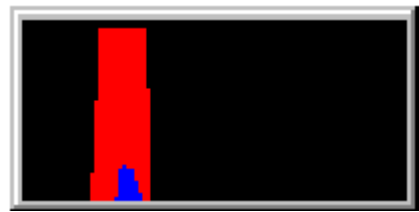
L'histogramme **Volume RETIC** montre la superposition des distributions des globules rouges matures et des réticulocytes en fonction de leur volume, indépendamment de leur concentration en hémoglobine :



L'histogramme **de la CCMH** montre la superposition des distributions des globules rouges matures et des réticulocytes en fonction de leur concentration en hémoglobine, indépendamment du Volume cellulaire :



L'histogramme **CHr RETIC** montre la superposition des distributions des globules rouges matures et des réticulocytes en fonction de leur teneur en hémoglobine (hémoglobine cellulaire) :



Au fur et à mesure de la maturation des réticulocytes en érythrocytes, leur volume cellulaire diminue, tandis que leur CCMH augmente : la teneur en hémoglobine est donc un paramètre relativement stable, comparé à la mesure d'une concentration en hémoglobine.

#### 1.5.2.2. La CHr, un paramètre déjà étudié

La chromie réticulocytaire fournit une mesure précoce de la réponse à la thérapie de fer en augmentant dans les 2 à 4 jours suivant l'initiation de la thérapie au fer par voie intraveineuse.

C'est aussi un indicateur précoce de la présence d'une érythropoïèse restreinte au fer chez les patients traités par EPO<sup>66</sup>.

La CHr a été étudiée en pédiatrie, et a montré son intérêt comme marqueur prédictif de la carence martiale<sup>93</sup>.

Concernant les différents automates, Beckmann-Coulter utilise le RSF, Sysmex le Ret-He et Abbott le MCHr pour évaluer la teneur en hémoglobine du réticulocyte<sup>55</sup>.

#### 1.5.2.3. Quelles valeurs de CHr?

Mast *et al* indique une valeur moyenne de CHr, chez l'adulte (homme ou femme) de 30.8 pg, en prenant comme référence la coloration au Bleu de Prusse dans la moelle de 78 patients, et détermine un cut-off à 28 pg, pour lequel la courbe ROC semble être la plus performante, comparée au bilan martial classique (ferritine, CST) : la CHr a alors une sensibilité de 74% et une spécificité de 73%<sup>94</sup> pour le diagnostic de CMA.

Deux études en pédiatrie donnent un cut-off optimal de CHr à 26 pg permettant de prédire la carence martiale, en définissant la population d'enfants carencés en fer par ceux ayant un CST < 20%, et ceux présentant une anémie par carence martiale comme ayant une hémoglobine inférieure à 11 g/dL et un CST < 20%<sup>93,95</sup>.

Ullrich compare quant à lui le seuil d'hémoglobine à 11 g/dl, à la CHr à un seuil de 27.5 pg : la CHr est un meilleur marqueur de carence martiale chez l'enfant (définie par un CST < 10%) que l'hémoglobine<sup>96</sup>.

Thomas *et al*, après analyse d'une population de 71 personnes présentant une NFS et un bilan inflammatoire normal, a défini la valeur de 28 pg en deçà de laquelle on parle de FID. En prenant comme référence la valeur de CHr à 28 pg, et 5% de cellules hypochromes, ils définissent une valeur de ferritine à 11,2 µg/L pour les femmes, en deçà de laquelle on parle de FID, et donc de carence martiale. En présence d'une inflammation (CRP > 5 mg/L), cette valeur de ferritine passe à 22,9 µg/L<sup>47</sup>.

Le tableau suivant récapitule les principaux cut-off de CHR décrit dans la littérature :

Auteurs/article	Seuils	Signification
Brugnara et al., Blood 1994 <sup>97</sup>	NA	mesure précoce de la réponse à la thérapie de fer en augmentant dans les 2 à 4 jours suivant l'initiation de la thérapie au fer par voie intraveineuse
Cités dans Mast <i>et al</i> , Am J Hematol. 2008 <sup>66</sup> (Fishbane et coll., Kidney Int 1997; 52: 217-222; Fishbane et coll., Kidney Int 2001; 60: 2406-2411; Mittman et coll., Am J Kidney Dis 1997; 30: 912-922; Tsuchiya <i>et al</i> , Clin Nephrol 2003; 59: 115-123; Chuang <i>et al.</i> , Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 370-377)	NA	indicateur précoce de la présence d'une érythropoïèse restreinte au fer chez les patients traitement à l'érythropoïétine
Brugnara C <i>et al</i> , 1999 <sup>93</sup>	26 pg	CHR permettant de prédire la carence martiale, à 26 pg en définissant la population d'enfants carencés en fer par ceux ayant un coefficient de saturation de la transferrine inférieur à 20%, et ceux présentant une anémie par carence martiale comme ayant une hémoglobine inférieure à 11 g/dL et un CST < 20%
Bakr <i>et al</i> , European Journal of Pediatrics, 2006 <sup>95</sup>	26 pg	
Ullrich C <i>et al</i> , JAMA, 2005 <sup>96</sup>	27.5 pg	Identifie les carences martiales (CST < 10%) sans anémie Comparaison CHR versus hémoglobine au cut-off de 11 g/dL pour la détection de la CM chez les enfants : Se/Sp/VPP/VPN : 83/72/28/97 pour CHR à 27,5 pg ; AUC : 0.85 26/95/43/91 pour l'hémoglobine à 11 g/dL ; AUC : 0.73 CHR est un meilleur marqueur de carence martiale chez l'enfant (définie par un CST < 10%) que l'hémoglobine à ce cut-off là (11g/dL)
Brugnara <i>et al</i> , JAMA, 1999 <sup>93</sup>	26 pg	Identification précoce de la carence martiale (CST < 20%) chez les enfants : Se/Sp : 70/78 pour CHR à 26 pg pour CM  Se/Sp : 83/75 pour CHR à 26 pg pour anémie par carence martiale A 27,5 pg : 86/38 CHR : seul facteur prédictif multivarié de l'anémie par carence martiale
Mast AE <i>et al.</i> , Blood , 2002 <sup>94</sup>	30.8 pg	Valeur moyenne de CHR chez l'homme et la femme, en comparaison avec ferritine, CST avec des échantillons de moelle osseuse colorés au Bleu de Prusse. CHR à la meilleure courbe ROC. : Se 74%, Sp 73%
Thomas and Thomas, Clin. Chem., 2002 <sup>47</sup>	CHR < 28 pg	FID. Associé au seuil de 5% de cellules hypochromes, ils définissent les valeurs normales de ferritine chez les femmes sans inflammation à 11.2 µg/L, et à 22,9 µg/L chez les femmes en présence d'une inflammation.
Urrechaga et al, BioMed Res. Int. 2013 <sup>88</sup>	CHR à 28 ou 29 pg	Indicateur sensible de l'érythropoïèse déficiente en fer
Fehr <i>et al</i> , Rev Med Suisse, 2009 <sup>64</sup>	30 pg	Marqueur sensible de CM
Brachmann, Université de Berlin, 2010 <sup>92</sup>	28,8-35,9 pg	Valeurs de références dans une population d'athlètes (endurance)
	31.4 pg	Cut-off diagnostic pour la CM, AUC à 0.89
Malczewska-Lenczowska, J. <i>et al.</i> Biology and Sports, 2017 <sup>90</sup>	29,3 pg	Population normale: 29,38 à 32,36 pg CMA : 29,3 pg +/- 1,86 (27,44 à 31,16)

Tableau 14: cut-off de CHR et leur signification.

Une nouvelle classification a été proposée par Thomas *et al*<sup>47</sup> dans l'évaluation de l'état martial des patients, censée s'affranchir de la fluctuation des différents paramètres en présence d'une inflammation, en utilisant d'une part le ratio du récepteur soluble de la transferrine par le logarithme de la ferritinémie, pour évaluer les stocks de fer, d'autre part la CHR pour évaluer l'hémoglobinisation des réticulocytes pendant l'érythropoïèse :

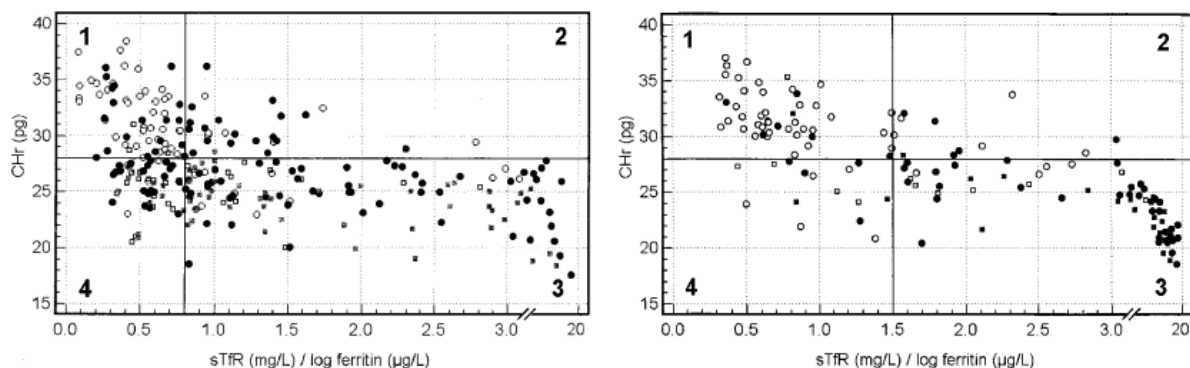


Fig. 5. Diagnostic plots for the identification of ID in anemic patients with (*left*) and without (*right*) APR.

Data for 288 patients with APR and 154 patients without APR are presented. Data from the Dade Behring sTfR assay are shown. The sTfR-F indices separating patients in the iron-repleted state from those in the iron-depleted state are 0.8 in patients with APR (*left*) and 1.5 in those without (*right*). ○, HYPO <5%; ●, HYPO >5%; □, inverted CHR/CH ratio; ■, combination of HYPO >5% and inverted CHR/CH ratio.

*Figure 17 : algorithme diagnostique pour identifier le mécanisme de la carence martiale chez des patients anémiés : absolue ou fonctionnelle (inflammatoire) : les cases 1 et 4 correspondent à une absence d'inflammation, les cases 2 et 3 à la présence d'une inflammation ; les cases 3 et 4 regroupent les patients présentant une carence en fer.*

En 2011, cet index a été repris par Celi *et al*<sup>20</sup> :

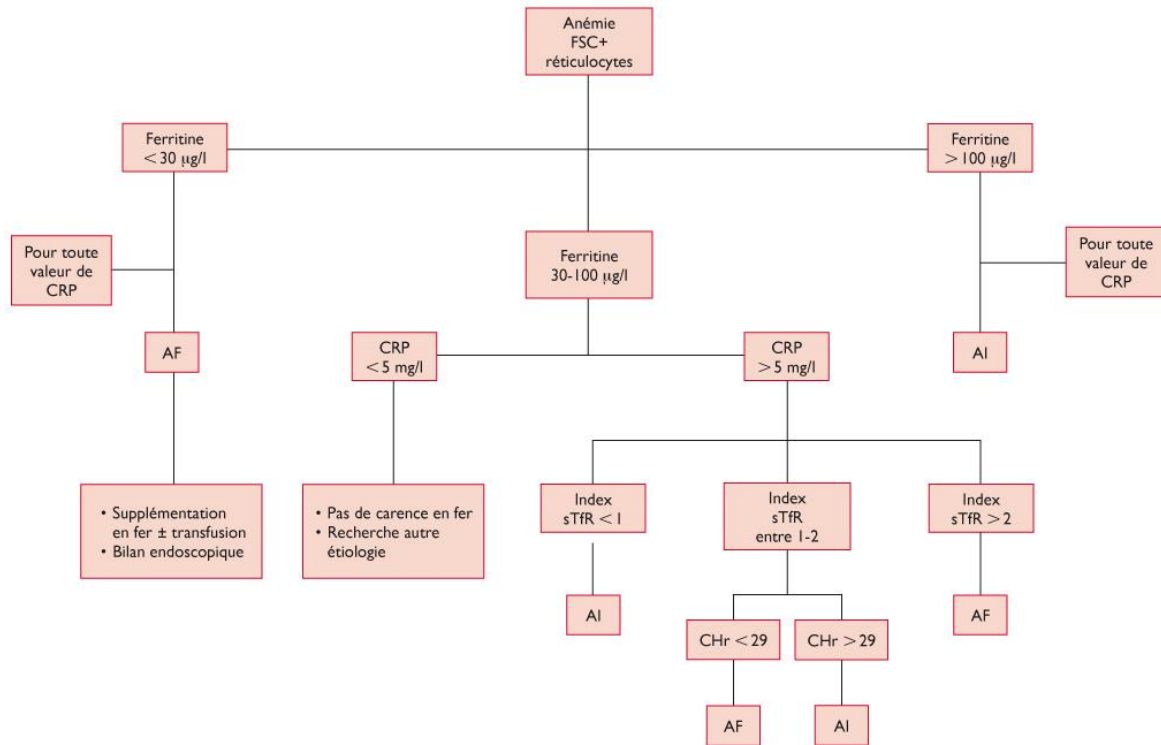


Figure 18 : proposition d’algorithme diagnostic devant une anémie, intégrant la CHr, au seuil de 29 pg.

### 1.5.3. Synthèse

Deux paramètres sont ainsi disponibles sur une simple NFS avec une numération associée des réticulocytes. Les cut-off diagnostiques sont à préciser, mais la signification du %HYPO et de la CHr est déjà bien établie : au-delà de 10% de cellules hypochromes, et en dessous de 26 pg de CHr, la carence martiale, absolue ou fonctionnelle est établie. La normalité de l’érythropoïèse est définie par un %HYPO inférieur à 1%, quant à la CHr, c’est au-dessus de 30 pg.

Il est étonnant de remarquer qu’ils n’ont jamais été vraiment étudiés chez la femme enceinte. En effet, il serait particulièrement intéressant de les étudier dans cette population, chez qui l’interprétation du bilan martial n’est pas évidente : ces marqueurs pourraient permettre d’identifier plus tôt la carence martiale présente dès le début de la grossesse.

Il convient de noter que ce sont des paramètres obtenus sur des automates de chez Siemens, ils ne sont donc pas transposables aux autres technologies en hématologie. Néanmoins, toutes les autres sociétés proposant des solutions en hématologie proposent maintenant des marqueurs similaires.

Très récemment, une équipe Sud-africaine a publié une étude sur 102 femmes enceintes du premier trimestre<sup>98</sup>, et a comparé les valeurs diagnostiques des équivalents des %HYPO et CHr chez les automates Sysmex : la Ret-He (équivalent de la CHr) est le meilleur marqueur diagnostique de la carence martiale (AUC 0,81) au seuil de 31,2 pg, mais le %Hypo-He (équivalent du %HYPO) n’a pas montré de bénéfice diagnostique supérieur à l’hémoglobine (AUC 0,78 pour les deux). Leur définition de la carence martiale est une ferritine < 30 µg/L, un fer sérique < 9 µmol/L et/ou un CST < 20%.

On note également, au même titre que la ferritine, que plusieurs seuils de CHr sont évoqués.

## 1.6. Objectif de l'étude

L'une des premières raisons invoquées par l'OMS pour expliquer la non réduction de la prévalence de l'anémie dans le monde est l'intérêt porté uniquement sur l'anémie ferriprive, et non sur la carence martiale dans un sens global, avec ou sans anémie. Les programmes de lutte et de traitement de l'anémie se focalisent sur des populations anémiées. Ainsi, en traitant uniquement l'anémie, personne n'empêche les populations dont les réserves en fer diminuent mais qui sont encore suffisantes pour permettre une bonne érythropoïèse, de développer ultérieurement une anémie ferriprive<sup>44</sup>.

Les différents rapports et recommandations du CNGOF, de la HAS, de l'OMS et de la BCSH ouvrent la voie à une évaluation plus fine du statut martial, et plus particulièrement à un diagnostic plus précoce : c'est le début de la grossesse qui apparaît comme étant le moment crucial pour prévenir les conséquences d'une carence martiale sur la grossesse, le post-partum et le nouveau-né. Les conséquences néfastes de la carence martiale seront prévenues si elle est traitée dès le début de la grossesse.

L'objet de l'étude est donc d'évaluer l'état martial des femmes enceintes en utilisant les paramètres érythrocytaires, véritables reflets d'un manque de fer pour l'érythropoïèse, ainsi qu'un bilan martial, si possible complet. Les paramètres érythrocytaires plus particulièrement étudiés seront le pourcentage de cellules hypochromes et la chromie réticulocytaire.

Notre objectif, après description de la population de femmes enceintes sélectionnées -c'est-à-dire pour lesquelles une NFS et un bilan martial contenant au moins une ferritine ont déjà été réalisés- est de comparer la performance diagnostique de l'hémoglobine, prise à une valeur seuil de 11 g/dL, pour la détection de la carence martiale, aux performances diagnostiques du %HYPO et de la CHr. Les courbes ROC, la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative de chacun de ces trois paramètres seront nos éléments de comparaison. A travers les courbes ROC, nous évaluerons les seuils diagnostique de %HYPO et de CHr déjà établis dans la littérature, et retiendront ceux qui nous sembleront les plus pertinents dans cette population d'étude.

## 2. Méthode

### 2.1. Automates : Advia® 2120 et 2400 Siemens

Le laboratoire de Biologie Médicale du CHU d'Amiens utilise trois automates d'hématologie Advia® 2120, de chez Siemens. Pour chaque tube passé sur un automate, tous les paramètres (487 au total) sont calculés et archivés dans des fichiers « .dat » sur l'automate. Des sauvegardes sont effectuées régulièrement par les biologistes du laboratoire.

Les dosages de ferritine ont été réalisés sur deux automates de chimie Advia® 2400 de chez Siemens, sur sérum à partir de tubes avec héparinate de lithium (Becton-Dickinson, Oxford, UK).

Les dosages des paramètres érythrocytaires et réticulocytaires ont été fait sur les trois Advia® 2120 de chez Siemens, à partir de sang total sur tube EDTA (Becton-Dickinson, Oxford, UK).

### 2.2. Population

Nous ciblons les femmes enceintes ayant eu une NFS et un bilan martial composé au minimum d'une ferritine, et si possible d'un dosage de réticulocytes, au CHU d'Amiens.

### 2.3. Ferritine

Compte tenu de l'incertitude concernant le seuil à partir duquel la carence martiale absolue est diagnostiquée, nous avons choisi une valeur de ferritine à 15 µg/L comme définissant la carence martiale absolue. Cette valeur correspond à la valeur prise par l'OMS et par la BSH. Au laboratoire du CHU d'Amiens, les valeurs normales rendues pour les femmes sur les comptes rendus vont de 8 à 252 µg/L pour la ferritine, et de 20 à 40% pour le coefficient de saturation de la transferrine.



## 2.4. Etudes rétrospectives : 2012-2017 et 2018

Il s'agit d'une étude non interventionnelle de catégorie 3, ne nécessitant pas l'avis du CPP. L'ensemble des données ont été anonymisées, et les fichiers cryptés.

Pour l'étude rétrospective réalisée entre le 28 août 2012 et le 28 août 2017, avec le système informatique du laboratoire (SIL) du CHU d'Amiens, nous avons sélectionné les femmes enceintes qui avaient une NFS et un bilan martial comportant au moins un dosage de la ferritine, avec, s'il était demandé, un dosage des réticulocytes afin d'obtenir une valeur de CHr. Le dosage de la ferritine pouvait avoir été réalisé 1 semaine avant ou après la NFS. Le dosage des réticulocytes était fait en même temps que la NFS (même tube EDTA).

Nous avons d'abord sélectionné les femmes entre 15 et 60 ans ayant eu les bilans cités ci-dessus, dans les unités fonctionnelles (UF) du CHU accueillant classiquement des femmes enceintes. Nous avons ensuite regardé chaque dossier patient pour s'assurer que chaque bilan sélectionné avait bien été prélevé au cours d'une grossesse. Le mois précis de grossesse n'a pas été récupéré, mais seulement la date d'accouchement et le nombre de semaines d'aménorrhées, il s'agit donc d'une population non standardisée.

Concernant la partie rétrospective réalisée sur l'année 2018, nous avons récupéré les bilans réalisés à la centrale de prélèvement du CHU d'Amiens suite à la consultation pré-anesthésique (CPA) du 8<sup>e</sup> mois de grossesse réalisée en prévision de l'accouchement au CHU d'Amiens via le SIL. L'objectif étant d'avoir une population la plus standardisée : même mois de grossesse, absence d'inflammation et de traitement martial (via le compte rendu de la CPA) et d'évènements particuliers.

## 2.5. Logiciels

Les graphiques et autres données statistiques ont été obtenus en utilisant le logiciel Prism v5.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, Etats-Unis), à partir de données brutes sur des fichiers du logiciel Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Etats-Unis). Les fichiers ont été cryptés avec le logiciel 7-Zip (logiciel libre, licence LGPL).

## 3. Résultats

### 3.1. Partie 1 : Etude rétrospective 2012-2017

#### 3.1.1. Description de la population d'étude

Entre le 28 août 2012 et le 28 août 2017, nous avons pu obtenir 248 bilans de femmes enceintes avec une NFS et un bilan martial partiel ou complet pendant leur grossesse. Parmi les 248 bilans, 40 contiennent un dosage de réticulocytes, nous permettant d'obtenir une CHR. Les bilans ont été effectués quel que soit le trimestre de grossesse et la situation clinique ayant motivé la prescription. Cette donnée est importante puisqu'il s'agit d'une population non homogène, le statut martial antérieur et la prise éventuelle de fer pour corriger une carence ne sont pas connus.

Le tableau suivant décrit les principales caractéristiques des paramètres reflétant l'érythropoïèse et l'état martial des patientes (*tableau 15*) :

	Minimum	Maximum	Moyenne	Médiane
<b>Hémoglobine (g/dL)</b>	4,8	14,6	10,8	11,1
<b>Ferritine (µg/L)</b>	2	868	70,9	17,6
<b>VGM (µm<sup>3</sup>)</b>	57,38	107,5	84,4	85,3
<b>CCMH (g/100mL)</b>	28,2	37,6	33,6	33,9
<b>%HYPO</b>	0	47,4	5,7	1,2
<b>CHr (pg)</b>	17,9	45,3	29,59	29,5

*Tableau 15 : principaux paramètres étudiés, étude rétrospective 2012-2017, n = 248.*

Nous avons, au vu de la littérature, défini la carence martiale absolue comme un taux de ferritine à moins de 15 µg/L. On observe que 46,4% (115 sur 248) des femmes ont une ferritine inférieure à 15 µg/L et 47,2% (117 sur 248) ont une hémoglobine inférieure à 11,1 g/dL montrant que dans cette population non sélectionnée, un pourcentage important de femmes se situe proche des valeurs considérées comme insuffisantes en termes de ferritine et d'hémoglobine. A noter que les paramètres « classiques » utilisés dans le diagnostic d'une carence martiale (VGM et CCMH) restent dans des valeurs normales en médiane et moyenne, soulignant le manque de sensibilité de ces paramètres, qui ne seront pas étudiés dans ce travail<sup>99</sup>.

### 3.1.2. Identification de la carence martiale absolue chez la femme enceinte

Le dosage de ferritine nécessite la prescription d'une analyse supplémentaire, ce qui représente un coût non négligeable : la ferritine est cotée B24 à la NABM, avec une lettre-clef à 27 centimes d'euro et pour 700 000 grossesses par an en France, cela représente un ordre de grandeur d'environ 4 530 000 euro par an. Nous avons donc, dans un premier temps, cherché des paramètres inclus dans la détermination de l'hémogramme qui soient plus sensibles que le taux d'hémoglobine pour identifier des patientes avec carence martiale absolue définie comme une ferritine inférieure à 15 µg/L. Nous avons choisi les paramètres érythrocytaires %HYPO et CHr qui, du fait de la physiopathologie de l'anémie ferriprive détaillée dans l'introduction, devraient être plus précocement altérés, avant la baisse d'hémoglobine pour identifier une érythropoïèse déficiente en fer. Si ces paramètres ont déjà été utilisés, (i) ils n'ont pas fait preuve de leur intérêt dans un contexte de la grossesse (ii) leur seuil diagnostique reste à déterminer dans cette population.

#### 3.1.2.1. L'hémoglobine pour identifier une carence martiale absolue

La figure suivante présente, dans la population rétrospective 2012-2017, la valeur d'hémoglobine en fonction de la ferritine :

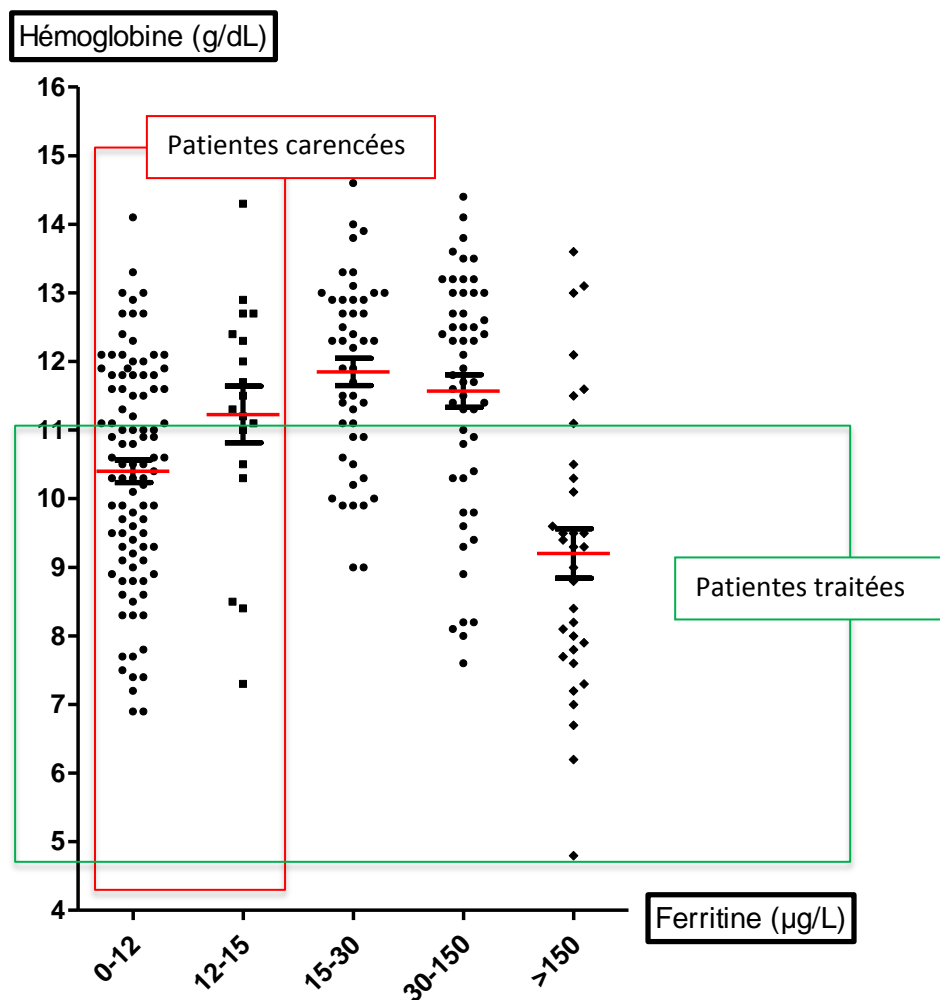


Figure 19: hémoglobine selon le niveau de ferritine. Données rétrospectives, n = 248.

La première remarque est que la corrélation est très imparfaite entre ces deux paramètres.

On constate que :

**-Toutes les patientes supplémentées n'ont pas nécessairement de carence martiale** telle que définie ici: parmi les 133 patientes avec ferritine au-delà de 15 µg/L, 41,4% (55 sur 133) ont un taux d'hémoglobine à moins de 11g/dL et recevront du fer oral. Soit ces patientes présentent une anémie d'une autre étiologie, soit la ferritine ne reflètent pas chez elles les réserves de fer, du fait d'une pathologie inflammatoire par exemple. C'est dans cette catégorie que les paramètres reflétant l'indisponibilité du fer pour l'érythropoïèse tels que %HYPO et CHr, ou d'autres paramètres du bilan martial (coefficient de saturation de la transferrine) pourraient présenter un intérêt diagnostique.

**-Toutes les patientes potentiellement carencées ne sont pas identifiées et ne seront pas traitées.**

En effet, Parmi les 115 patientes avec carence martiale absolue, 46,1% (53 sur 115) ne bénéficieront pas de supplémentation selon les recommandations actuelles puisque leur taux d'hémoglobine est supérieur ou égal à 11 g/dL. Il peut s'agir d'une situation de carence « préclinique » ou tout au moins un épuisement des réserves avant l'apparition de l'anémie, situation que les recommandations actuelles ne prennent pas en compte. Là encore, on pourrait théoriquement améliorer la performance diagnostique de l'héogramme en utilisant les paramètres %HYPO et CHr, plus précoces d'atteinte hématologique que le taux d'hémoglobine. Mais il peut s'agir aussi d'une carence en cours de traitement puisque la ferritine est le dernier paramètre à se corriger. La CHr, reflétant l'érythropoïèse au moment du prélèvement serait alors théoriquement le paramètre le plus fiable puisque représentant la disponibilité récente du fer pour l'érythropoïèse.

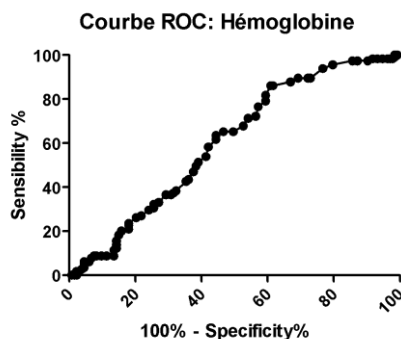


Figure 20 : courbe ROC de l'hémoglobine

$AUC = 0,6033, n = 248.$

La courbe ROC de l'hémoglobine comme marqueur de carence martiale dans cette population montre que la valeur diagnostique est médiocre, avec une AUC proche de 0,5. Au seuil de 11 g/dL, la sensibilité (Se) diagnostique est à 54%, la spécificité (Sp) à 59%, la valeur prédictive positive (VPP) à 53% et valeur prédictive négative (VPN) à 60%.

### 3.1.2.2. Le %HYPO pour identifier une carence martiale absolue

Nous avons dans un premier temps utilisé une courbe ROC afin de définir un seuil de %HYPO permettant d'identifier une CMA :

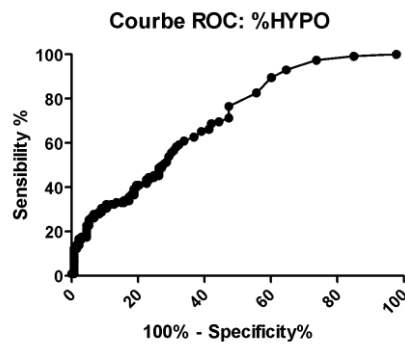


Figure 21 : courbe ROC du %HYPO,

AUC = 0,7055, n = 248.

Nous avons choisi le seuil à 1% de %HYPO qui nous paraît le plus pertinent : Se à 69%, Sp à 58%, VPP à 59% et VPN à 68%. Ensuite, nous avons représenté les valeurs de %HYPO en fonction de la ferritine :

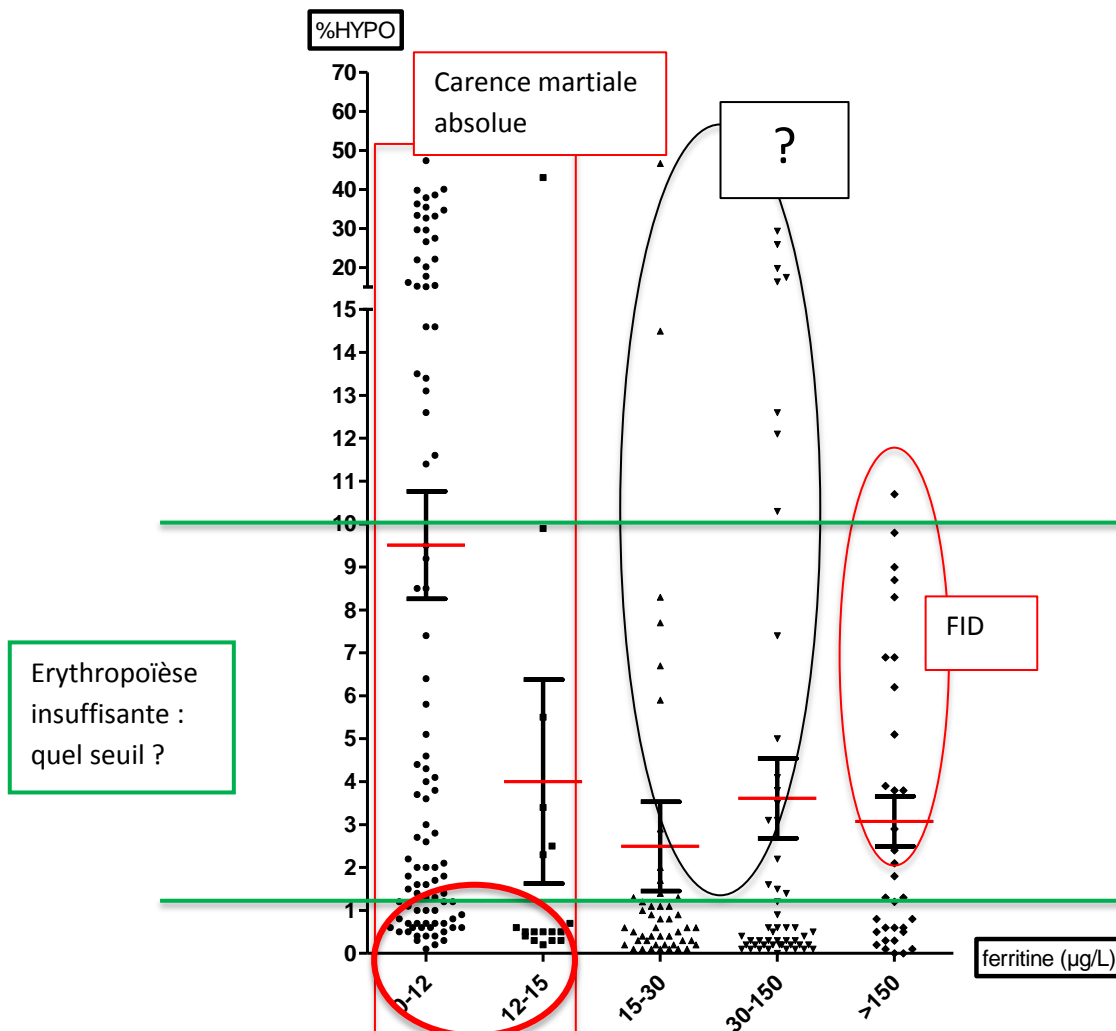


Figure 22 : répartition des valeurs du %HYPO selon le niveau de ferritine. Données rétrospectives

2012-2017, n = 248.

Nous pouvons constater que :

-La majorité (57,9%) des patientes avec ferritine au-delà de 15 µg/L ont un %HYPO strictement inférieur à 1%, ce qui signifie que leur érythropoïèse est normale. Néanmoins, 42,1% d'entre elles ont un %HYPO supérieur à ce seuil témoignant d'une carence martiale fonctionnelle. On ne peut pas exclure dans cette population que des patientes présentent un syndrome thalassémique chez qui l'hypochromie reflète le déficit de synthèse de globine et non le déficit en fer. Chez les autres patientes, probablement majoritaires, le %HYPO élevé pourrait permettre une supplémentation martiale car témoignerait d'une carence fonctionnelle. Le taux d'hémoglobine n'identifie pas toutes ces patientes puisque 15 patientes, soit 26,8% d'entre elles, ont un taux d'hémoglobine à plus de 11g/dL et ne seront pas traitées selon les recommandations actuelles. L'utilisation du %HYPO permettrait donc de traiter en théorie ces patientes bien qu'aucune donnée dans la littérature n'ait montré un avantage clinique à ce traitement quand le taux d'hémoglobine est encore normal.

-On remarque une population de 14,5% (36/248) patientes avec ferritine basse (cercle rouge sur la *figure 22*), mais avec un %HYPO inférieur au seuil défini et qui ont donc une érythropoïèse normale, malgré l'effondrement de leur ferritine : (i) il s'agit de patientes supplémentées qui ont reconstitué une érythropoïèse correcte mais pas encore reconstitué leur réserve (ii) les réserves ont été épuisées par la grossesse, sans effet encore sur l'érythropoïèse maternelle. A noter que le taux d'hémoglobine est supérieur à 11 g/dL chez 81% de ces patientes (29/36), celles-ci ne sont donc pas traitées selon les recommandations actuelles et ne le seraient pas non plus si on considérait le %HYPO. Les 7 autres patientes sont anémiques, ont une ferritine basse, seraient traitées selon les recommandations actuelles, mais ne le seraient pas en se basant uniquement sur le %HYPO.

Le graphique suivant (figure 23) présente les valeurs de %HYPO en fonction de 4 populations, définies par valeur de l'hémoglobine et celle de la ferritine :

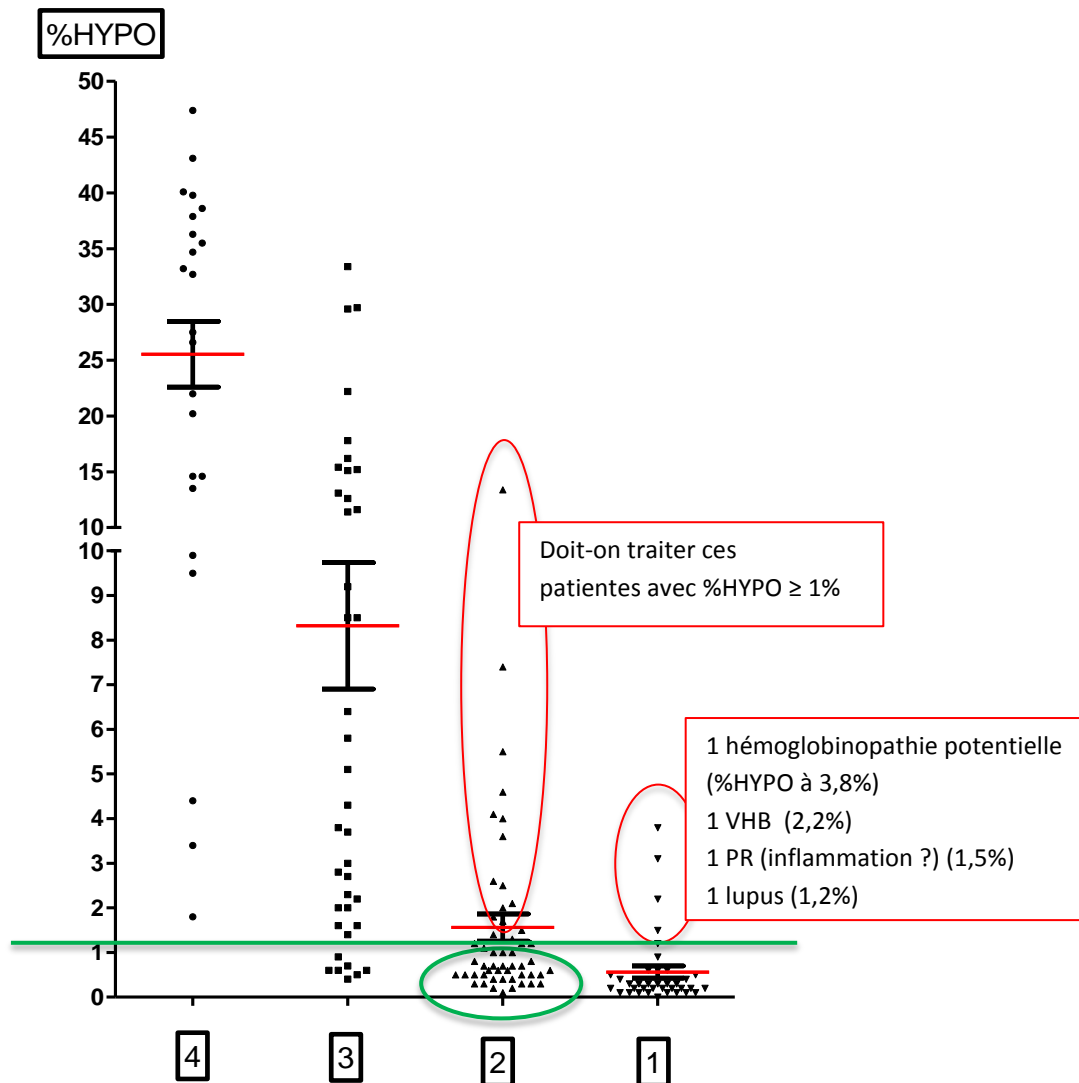


Figure 23 : %HYPO en fonction du statut martial et de la valeur de l'hémoglobine (N = 152) :

1-Erythropoïèse normale et réserves en fer normales : hémoglobine  $\geq 11$  g/dL, ferritine 30-150  $\mu\text{g/L}$  ;

2-Erythropoïèse normale et réserves en fer effondrées : hémoglobine  $\geq 11$  g/dL et ferritine  $< 15$   $\mu\text{g/L}$  ;

3-Erythropoïèse touchée et réserves martiales effondrées : hémoglobine 9 à 11 g/dL et ferritine  $< 15$   $\mu\text{g/L}$  ;

4-Anémie franche et réserves martiales effondrées : hémoglobine  $< 9$  g/dL et ferritine  $< 15$   $\mu\text{g/L}$ .

Sur ce graphique (figure 23), deux observations principales confirment les données précédentes:

-En l'absence de CMA (population 1), le %HYPO est inférieur 1% à chez la grande majorité des patientes, et inférieur à 5% chez toutes les patientes, ce qui est conforme à ce que l'on trouve dans la littérature.

-On identifie bien certaines patientes (29/53 soit 54,7%) avec ferritine basse mais qui n'ont aucun signe d'érythropoïèse altérée (cercle vert, figure 23) : taux d'hémoglobine encore supérieur à 11 g/dL (population 2), et %HYPO inférieur à 1.

En conclusion, l'utilisation du %HYPO permettrait de traiter 24 patientes carencées supplémentaires qui ne le seraient pas actuellement (cercle rouge parmi la population 2 : hémoglobine haute, ferritine basse), mais à l'inverse priverait de traitement 7 patientes avec anémie et ferritine basse. Ainsi, l'utilisation du %HYPO en complément de l'hémoglobine semble être une bonne option.

Cependant, 29 patientes avec une ferritine basse ne seraient pas traitées (cercle vert, *figure 23*).

### 3.1.2.3. La CHR pour identifier une carence martiale absolue

Nous avons dans un premier temps utilisé une courbe ROC afin de définir un seuil de CHR permettant d'identifier une CMA :

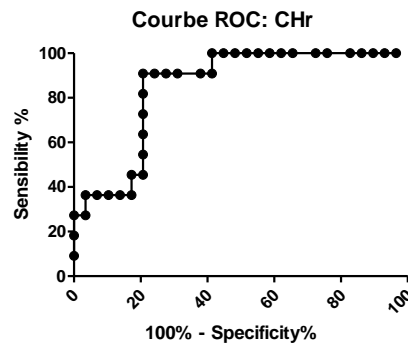


Figure 24 : courbe ROC de la CHR,

$AUC = 0,8495$   $n = 248$ .

Nous avons choisi le seuil à 27,5 pg de CHR qui nous paraît le plus pertinent : Se à 91%, Sp à 79%, VPP à 63% et VPN à 96%.



La figure suivante (figure 25) présente les valeurs de CHr en fonction de la ferritine dans la population rétrospective 2012-2017 :

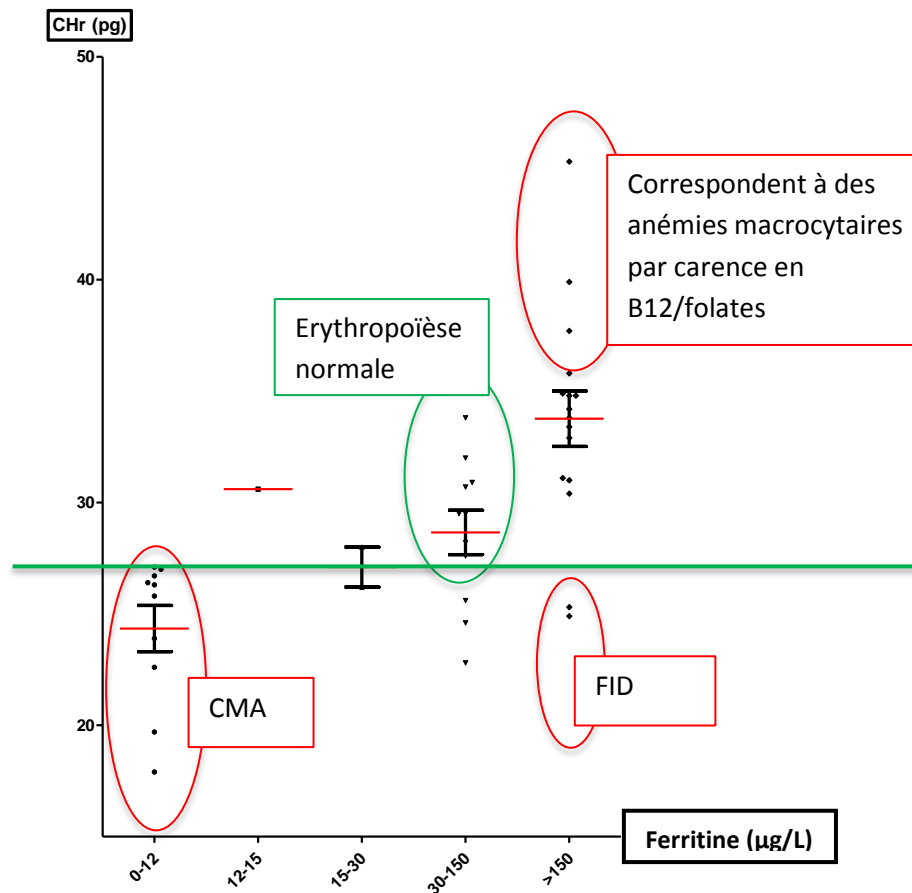


Figure 25 : répartition des valeurs de CHr selon le niveau de ferritine. Données rétrospectives 2012-2017  
n = 40.

A la vue du graphique, on constate que :

-Quasiment toutes les patientes avec ferritine à moins de 15 µg/L ont une CHr en dessous du seuil de 27,5 pg (10 sur 11), rendant ce paramètre très discriminant pour la détection d'une carence martiale chez la femme enceinte. Ce paramètre est beaucoup plus sensible que le %HYPO (91% pour la CHr sur les 40 patientes vs. 69% pour le %HYPO sur les 249 patientes). Une seule patiente a une CHr basse avec un taux d'hémoglobine normal, cette patiente, non traitée actuellement, possiblement en carence pré clinique, serait donc « rattrapée » par le CHr.

-Certaines patientes avec une ferritine normale ont une CHr diminuée (30,8%, soit 4 sur 13). Il est possible que ces patientes présentent une carence martiale fonctionnelle ou un trait thalassémique (ce qui est le cas d'au moins une d'entre elles, qui présente un taux d'hémoglobine à 13g/dL et un ratio micro/hypo à 7).

La figure suivante (*figure 26*) présente les mêmes données, mais en intégrant la valeur de l'hémoglobine et de la ferritine pour classer notre population en 4 sous-populations :

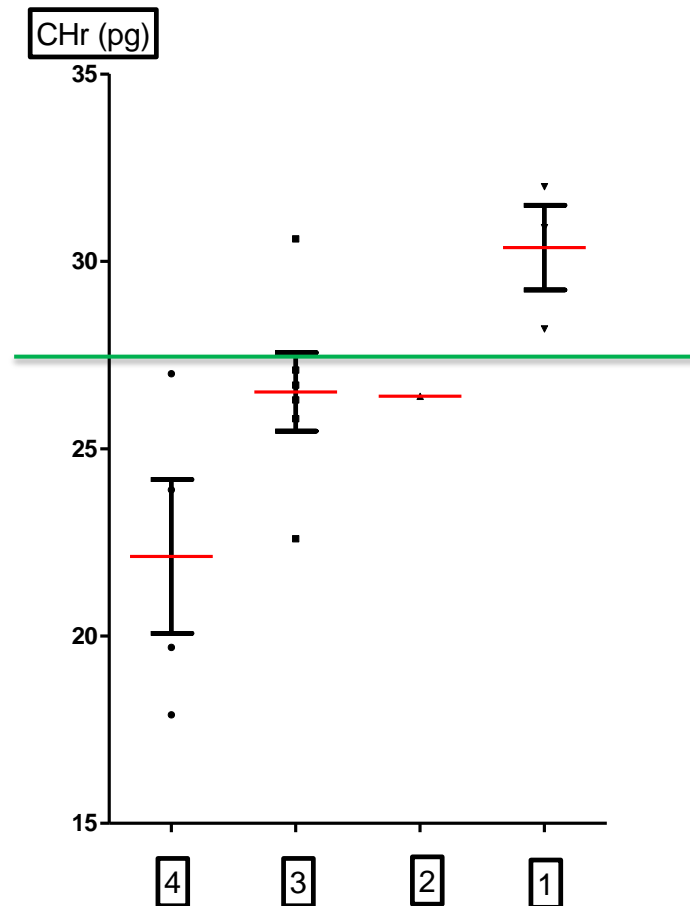


Figure 26 : CHr en fonction du statut martial et de la valeur de l'hémoglobine (N = 14) :

- 1-Erythropoïèse normale et réserves en fer normales : hémoglobine  $\geq 11$  g/dL avec ferritine 30-150  $\mu\text{g/L}$  ;
- 2-Erythropoïèse normale et réserves en fer effondrées : hémoglobine  $\geq 11$  g/dL avec ferritine  $< 15$   $\mu\text{g/L}$  ;
- 3-Erythropoïèse touchée et réserves martiales effondrées : hémoglobine 9 à 11 g/dL et ferritine  $< 15$   $\mu\text{g/L}$  ;
- 4- Anémie franche et réserves martiales effondrées : hémoglobine  $< 9$  g/dL et ferritine 0-15  $\mu\text{g/L}$ .

Cette figure montre que la CHr suit le statut martial, et qu'elle permet de séparer nettement les populations avec ferritine inférieure ou supérieure à 15  $\mu\text{g/L}$ .

### 3.1.3. Conclusion de la partie 1 : 2012-2017

En utilisant tour à tour les trois marqueurs que nous comparons ici pour guider la supplémentation, et en définissant une carence martiale absolue par une ferritine à moins de 15 µg/L, le tableau suivant récapitule ce que cela signifie en nombre de patientes traitées :

Marqueurs diagnostiques et seuils utilisés parmi la population totale :	Hémoglobine < 11 g/dL		%HYPO ≥ 1		CHr ≤ 27,5 pg	
	n	%	n	%	n	%
<b>Patientes carencées et traitées</b>	<b>62</b>	25	<b>79</b>	31,9	<b>10</b>	25
<b>Patientes carencées et non traitées</b>	<b>53</b>	21,4	<b>36</b>	14,5	<b>1</b>	2,5
<b>Patientes non traitées</b>	<b>131</b>	52,8	<b>113</b>	45,6	<b>24</b>	60
<b>Effectif total évalué</b>	248	100	248	100	40	100

*Tableau 16: comparaison de l'utilisation de l'hémoglobine du %HYPO et de la CHr pour guider la supplémentation en fer.*

Si l'effectif des patientes pour lesquelles la CHr est disponible n'est pas assez grand pour en tirer des conclusions significatives, on note que :

- L'utilisation du taux d'hémoglobine seul permet de traiter 54% des patientes avec ferritine basse
- L'utilisation %HYPO seul permet de traiter 69% des patientes avec ferritine basse
- L'utilisation de la CHr seule permet de traiter 91% des patientes avec ferritine basse
- **Reste 25,2% de patientes avec ferritine basse, sans aucun signe d'érythropoïèse déficiente, qui ne sont pas traitées aujourd'hui et que les indices érythrocytaires ne rattrapent pas.**

Nous pouvons émettre deux remarques :

- 1- Nous avons défini la carence martiale par le taux de ferritine, ce qui est une approximation puisque celle-ci n'identifie que les CMA. En effet, ce paramètre ne peut reconnaître les situations de carence fonctionnelle au cours desquelles le fer est présent dans l'organisme mais non disponible pour l'érythropoïèse. Les recommandations actuelles proposent un traitement par fer oral dans cette population de patientes à partir du moment où survient l'anémie avec un taux d'hémoglobine à moins de 11 g/dL. S'il n'est pas démontré qu'un traitement per os soit indiqué chez ces patientes (d'autant que dans les ACD, il a été montré une diminution de l'absorption digestive du fer du fait d'une élévation de l'hepcidine<sup>100</sup>), l'utilisation des paramètres %HYPO et Chr permettraient théoriquement de repérer cette population avant l'apparition de l'anémie. 15 patientes ont un %HYPO supérieur à 1% malgré une ferritine et hémoglobine normales (carence fonctionnelle ?). Aucune n'a un %HYPO supérieur à 5%. Le seuil de 1% est-il trop bas dans cette population ? L'absence de paramètres de l'inflammation et du statut d'hémoglobinopathie ne permet pas de conclure.
  
- 2- Nous avons été surpris par le nombre élevé de patientes (n=29 soit 11,7% de l'effectif total et 25,2% des CMA) avec ferritinémie inférieure à 15 µg/L, hémoglobine normale et pas de marqueur d'érythropoïèse déficiente en fer. Si on ne peut exclure des patientes traitées par fer, avec une érythropoïèse restaurée mais des réserves toujours basses, ou encore un épuisement des réserves avant apparition des signes érythrocytaires, la question se pose sur le seuil de ferritine à utiliser chez une patiente enceinte, seuil qui n'est pas clairement défini à ce jour et qui varie selon les études et les recommandations. De plus, les termes de grossesse sont hétérogènes dans cette population rétrospective 2012-2017, et il est possible la ferritine varie physiologiquement en lors de la grossesse.

## 3.2. Partie 2 : Etude rétrospective sur l'année 2018

Au vu des résultats de cette première partie, nous avons sélectionné une population homogène de femmes enceintes, toutes au même terme, et pour lesquelles nous disposions à la fois d'une NFS, mais aussi d'une quantification des réticulocytes et d'un bilan martial complet avec ferritine et coefficient de saturation de la transferrine.

### 3.2.1. Description de la population d'étude

De janvier à novembre 2018, nous avons pu obtenir 50 bilans réalisés après la consultation pré-anesthésique du 8<sup>ème</sup> mois de grossesse, afin d'avoir la population la plus homogène possible, sur la base du compte-rendu de la consultation pré-anesthésique: absence de traitement par fer en cours, absence de pathologie inflammatoire en cours. La *figure 27* et le *tableau 17* décrivent cette population (ferritine et hémoglobine) :

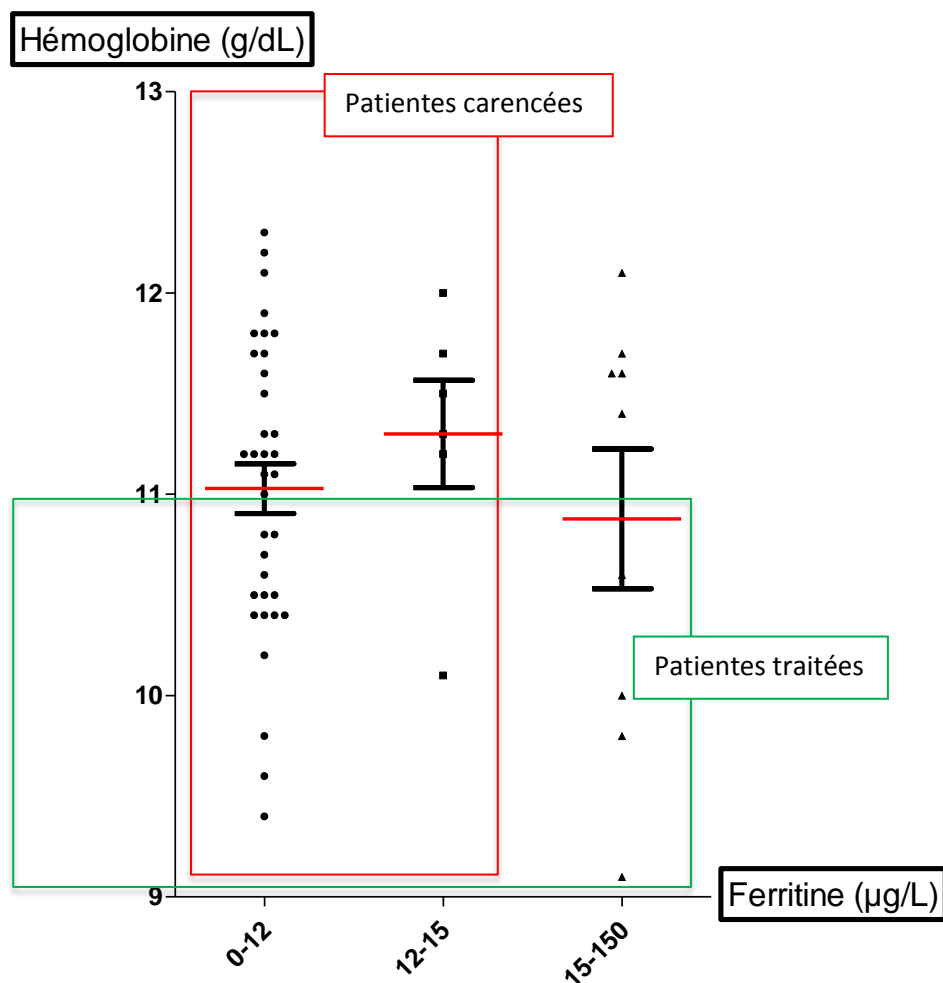


Figure 27 : hémoglobine en fonction du niveau de ferritine. Données rétrospectives 2018, n = 50.

Hémoglobine (g/dL)	< 11	≥ 11	total
Ferritine < 15 µg/L	16	25	41
ferritine 15-150 µg/L	4	5	9
ferritine > 150 µg/L	0	0	0
<b>total</b>	20	30	50

Tableau 17 : répartition des populations carencées/non carencées selon le cut-off de ferritine pris à 15 µg/L, selon la valeur de l'hémoglobine. Données rétrospectives 2018.

Le tableau suivant décrit les principales caractéristiques des paramètres reflétant l'érythropoïèse et l'état martial des patientes :

N = 50	Minimum	Maximum	Moyenne	Médiane
Hémoglobine (g/dL)	9.1	12.3	11,03	11.2
VGM (fL)	77.4	103.4	86,88	87.05
CCMH (pg)	30.7	34.9	32,98	32.9
Ferritine (µg/L)	3	66	10,72	8
CST (%)	3	26	10,61	9.25
%HYPO	0.1	36.1	4,288	1.9
CHr (pg)	24.7	35.5	29,92	30.35

Tableau 18 : principaux paramètres étudiés : rétrospectif 2018, n = 50.

Nous pouvons remarquer que la quasi-totalité de ces patientes au 3<sup>e</sup> trimestre sont considérées comme en situation de carence martiale absolue : 82% (41/50) ont une ferritine inférieure à 15 µg/L et 70% inférieures à 12 µg/L. Ce chiffre est élevé, mais se rapproche des données du CNGOF : 67% de femmes enceintes au 3<sup>e</sup> trimestre ayant une ferritine inférieure à 12 µg/L. D'autre part, 40% des femmes sont anémiées dans notre population 2018 (20/50), alors que le CNGOF avance un chiffre de 9% de femmes anémiées au dernier trimestre.

### 3.2.2. Performances diagnostiques des indices érythrocytaires

En prenant comme définition de la carence martiale un taux de ferritine à moins de 15 µg/L, tout comme dans la partie 1, on note que le seuil d'hémoglobine à 11g/dL ne permet de traiter que 39% des patientes carencées (vs. 54% en rétrospectif 2012-2017). A contrario, 83% des patientes non anémiées (et qui ne seront pas traitées) ont pourtant une ferritine basse à moins de 15 µg/L. Enfin, 25% des patientes anémiées ont une ferritine normale et peuvent présenter (en dehors d'une inflammation) une anémie d'une autre cause.

Nous avons comparé les performances des indices érythrocytaires %HYPO et CHR dans cette série homogène. Le *tableau 19* compare la sensibilité et spécificité de chaque indice dans le diagnostic d'une carence martiale définie comme une ferritine à moins de 15 µg/l :

	Avec un seuil de ferritine à 15 µg/L qui définit la CMA							
	Hémoglobine	%HYPO			CHR		Hémoglobine et/ou %HYPO et/ou CHR	
<b>AUC des courbes ROC Effectif</b>	0.5285 N = 50	0.6030 N = 50			0.7358 N = 50			
<b>Seuil diagnostic testé =</b>	11 g/dL	1%	2%	5%	27.5 pg	31,5 pg	11g/dL, 1%, 27.5 pg	11g/dL, 1%, 31,5 pg
<b>Se</b>	39	80	49	32	22	90	83	95
<b>Sp</b>	56	33	44	89	89	56	22	22
<b>VPP</b>	80	85	80	93	90	90	83	85
<b>VPN</b>	17	27	16	22	20	56	22	50

*Tableau 19 : performances diagnostiques des indices érythrocytaires, rétrospectif 2018, n = 50.*

Au seuil de 1%, le %HYPO présente une excellente sensibilité par rapport au taux d'hémoglobine mais cela est tempéré par sa faible spécificité. Son utilisation permettrait de traiter plus de femmes carencées, mais aussi des patientes sans carence.

A contrario, en passant à un seuil de 5%, toutes les patientes au-dessus sont en CMA, et la spécificité devient excellente.

La CHR avec le cut-off défini à 27,5 pg précédemment présente une forte spécificité et VPP: lorsque la CHR est en dessous de ce seuil, nous sommes certains d'être en présence d'une CMA, mais la sensibilité est par contre mauvaise, tout comme la VPN. On remarque que dans cette population, les valeurs de CHR sont plus élevées que dans la population 2012-2017, mais avec la même répartition. Le seuil de CHR reste donc à déterminer précisément.

Une troisième observation peut être tirée de cette série : les valeurs de %HYPO et de CHr mais aussi du taux d'hémoglobine sont hétérogènes quand la ferritine est inférieure à 15 µg/L. Si l'hémoglobine est un paramètre peu spécifique d'une CMA, la littérature a clairement montré la valeur des deux autres indices dans l'identification d'une érythropoïèse déficiente en fer. Il existe donc ici une certaine contradiction entre ferritine et indices: des valeurs de ferritine effondrées n'ont pas forcément de conséquence sur l'érythropoïèse: CHr haute, %HYPO normal, hémoglobine normale pour 8 patientes sur 50 soit 16%. Cette population avait déjà été identifiée dans la première partie (11,7%). Ces résultats peuvent témoigner d'un état carenciel avant retentissement sur l'érythropoïèse mais aussi d'une baisse physiologique de la ferritine pendant la grossesse. Le tableau ci-dessous présente les valeurs des différents paramètres étudiés dans cette population précise de patientes :

Hémoglobine (g/dL)	Ferritine (µg/L)	%HYPO	CHr (pg)
11,4	15	0,1	32,3
12	13	0,2	30,3
11,9	10	0,6	31,4
11,1	7	0,7	30,3
11,5	12	0,7	33,3
11,3	12	0,7	33,7
11,7	6	0,9	30,8
11,5	10	0,9	31,2

Tableau 20 : valeurs des %HYPO et CHr chez les patientes ayant une CM absolue sans anémie, population rétrospective 2018.

Devant cette difficulté d'interprétation de la ferritine, nous avons utilisé un autre paramètre du bilan martial, le coefficient de saturation de la transferrine (CST) qui a montré son intérêt dans les situations où la ferritine n'est plus pertinente, comme dans les anémies inflammatoires ou au cours de l'IRC par exemple.

Nous avons défini une situation de carence par un taux de CST < 15%.



Les figures ci-dessous représentent l'hémoglobine, la ferritine, le %HYPO et la CHr en fonction du CST:

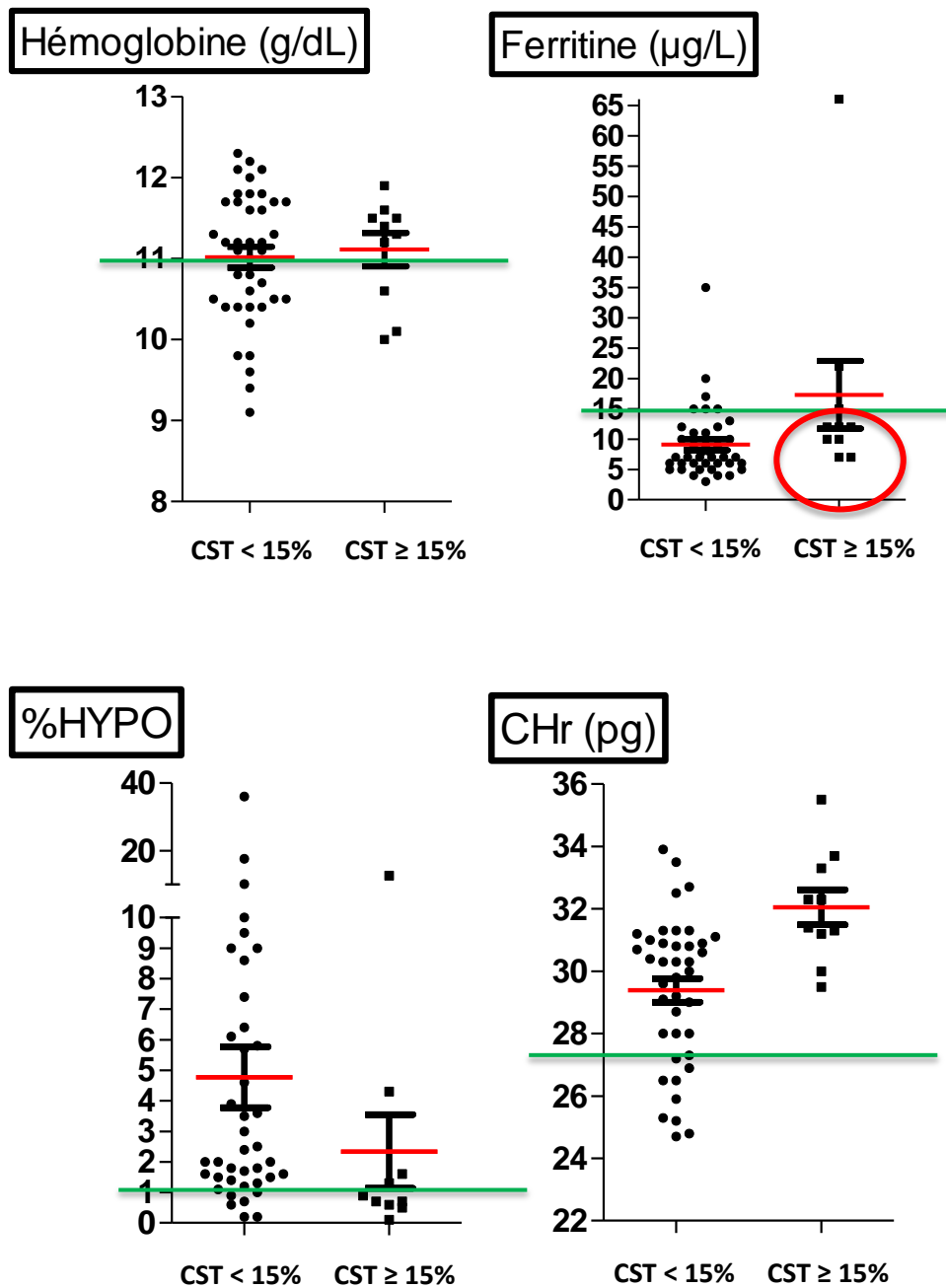


Figure 28 : état martial selon de CST. Les barres vertes représentent les différents seuils : hémoglobine à 11g/dL, ferritine à 15 µg/L, %HYPO à 1% et CHr à 27,5 pg. Données rétrospectives 2018, n = 50.

La première partie de la figure représente le taux d'hémoglobine en fonction du CST. On note qu'en traitant les femmes ayant moins de 11g/dL d'hémoglobine, un faible nombre (3) ont un CST normal : les femmes traitées ont bien en très grande majorité une carence martiale. Cependant, une partie non négligeable de femmes non traitées ont pourtant un CST inférieur à 15%, ce qui confirme ce que nous avons montré plus haut : le taux d'hémoglobine ne permet pas d'identifier toutes les patientes qui pourraient théoriquement bénéficier d'un traitement par fer.

La seconde partie de la figure représente la ferritine en fonction du CST : elle montre une population (cercle rouge) avec ferritine inférieure à 15 µg/L mais avec CST supérieur à 15%. Les valeurs de %HYPO et de Chr dans cette population sont les suivantes :

Hémoglobine (g/dL)	CST (%)	Ferritine (µg/L)	%HYPO	Chr (pg)
10,1	17,9	12	4,3	30
11,2	15,8	7	1,6	31,3
10,6	16,2	7	1,3	32,3
11,5	16,9	10	0,9	31,2
11,9	18	10	0,6	31,4
11,5	15,1	12	0,7	33,3
11,3	20,1	12	0,7	33,7

Tableau 21 : état de l'érythropoïèse chez les femmes enceintes au 3<sup>e</sup> trimestre ayant un CST ≥ 15% et une ferritine effondrée (< 15 µg/L).

Deux de ces patientes sont anémiques et seront supplémentées, elles ont toutes un %HYPO à plus de 1% et donc au moins deux paramètres de carence (hémoglobine et %HYPO). 4 ne sont pas anémiques et n'ont aucun paramètre d'érythropoïèse déficiente en fer (CST > 15 µg/L, %HYPO < 1% et Chr > 27,5 pg). 1 seule présente un CST supérieur à 15% et une hémoglobine basse, malgré un %HYPO > 1%.

**Ainsi, utiliser le taux d'hémoglobine à moins de 11g/dL d'hémoglobine et un CST inférieur à 15% permet de traiter l'ensemble des femmes enceintes ayant une érythropoïèse déficiente en fer quel que soit le niveau de ferritine.** Pour illustrer ce constat, nous avons regardé les valeurs de Chr et %HYPO en fonction du CST, chez les patientes non anémiques, présentant une CMA :

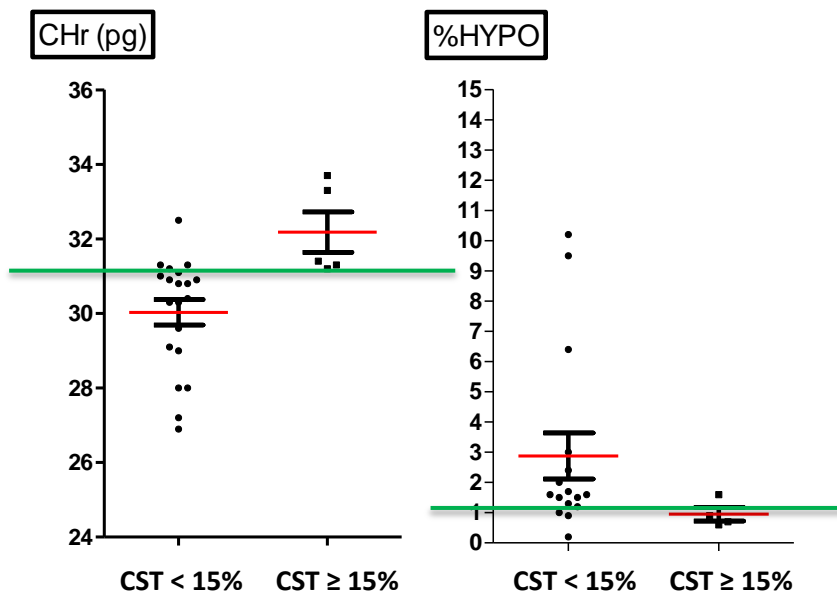


Figure 29 : Chr en fonction du CST chez les femmes enceintes ayant plus de 11g/dL d'hémoglobine et une ferritine effondrée, n = 25.

Figure 30 : %HYPO en fonction du CST chez les femmes enceintes ayant plus de 11g/dL d'hémoglobine et une ferritine effondrée, n = 25.

Lorsque que l'hémoglobine et le CST sont normaux, il n'y a pas d'érythropoïèse déficiente en fer chez 6 patientes sur 7. Ici, le CST semble évoluer parallèlement à la qualité de l'érythropoïèse (figures 29 et 30).

### 3.2.3. Performances diagnostiques avec le CST pour référence

%CM définie par un CST < 15%								
	Hémoglobine	%HYPO			CHr			Hémoglobine et/ou %HYPO et/ou CHr
<b>Courbe ROC : AUC Effectif</b>	0.5263 N = 50	0.7463 N = 50			0.8213 N = 50			
<b>Seuil diagnostic testé =</b>	11 g/dL	1%	2%	5%	27.5 pg	30 pg	31pg	11g/dL, 1%, 31 pg
<b>Se</b>	43	88	58	33	25	48	75	100
<b>Sp</b>	70	60	80	90	100	90	80	60
<b>VPP</b>	85	90	92	93	100	95	94	91
<b>VPN</b>	23	55	32	25	25	30	44	100

Tableau 22 : courbes ROC, valeurs diagnostiques, rétrospectif 2018, n = 50.

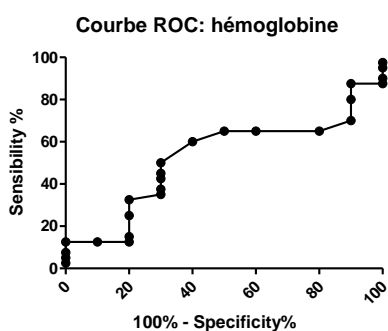


Figure 31 : courbe ROC de l'hémoglobine, seuil de CST à 15%  
**AUC = 0,5263, n = 50.**

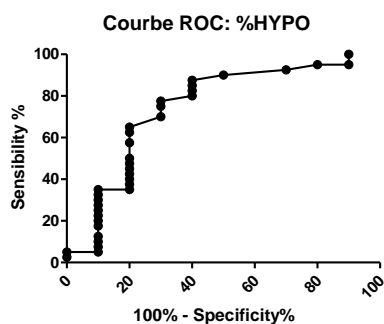


Figure 33 : courbe ROC du %HYPO, seuil de CST à 15%  
**AUC = 0,7463, n = 50.**

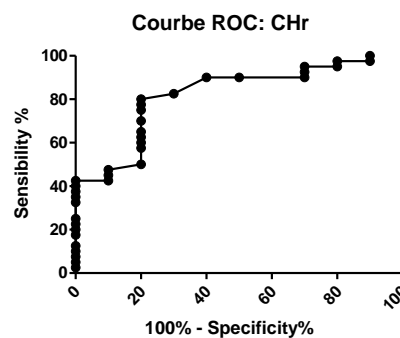


Figure 32 : courbe ROC de la CHr, seuil de CST à 15%  
**AUC = 0,8213, n = 50.**

Dans la population rétrospective 2018, avec un CST à 15% définissant la CM, le %HYPO à 1 semble un meilleur seuil diagnostique qu'à 2 ou 5. **La CHr quant à elle semble être le meilleur marqueur diagnostique de la CMA (AUC à 0,8213).** La question du seuil reste posée, mais la CHr possède néanmoins une excellente VPP (94 à 100%) et spécificité très élevée (80 à 100%).

## 4. Discussion

L'identification des patientes enceintes avec carence martiale se heurte à la définition même de cette carence et à une méconnaissance des seuils physiologiques du bilan martial en cours de grossesse. Ces seuils ne sont probablement pas statiques et se modifient en cours de grossesse au fur et à mesure que l'on se rapproche du terme. Les recommandations actuelles prennent en compte la seule valeur d'hémoglobine comme marqueur de carence pour instaurer une supplémentation orale. Cette attitude s'explique par la grande incidence des carences martiales dans les causes d'anémie en cours de grossesse. Deux limites à ces pratiques actuelles sont à soulever :

- Le taux d'hémoglobine utilisé pour décider d'une supplémentation est celui obtenu tard en cours de grossesse alors que les données de la littérature soulignent au contraire les bénéfices cliniques d'une supplémentation précoce ;
- L'utilisation du taux d'hémoglobine pour initier un traitement ne permet pas d'identifier les patientes avec réserve en fer diminuée mais sans retentissement sur le taux d'hémoglobine, donc ne permet pas de traiter des patientes précocement, après épuisement des réserves et avant apparition de l'anémie.

Nous avons donc voulu étudier l'apport de deux paramètres plus précoces d'érythropoïèse déficiente en fer, le %HYPO et la CHR, afin de voir s'ils étaient plus performants que le taux d'hémoglobine pour reconnaître une carence martiale. Nous avons, au vu de la littérature, défini la carence martiale absolue comme un taux de ferritine à moins de 15 µg/L. Il s'agit cependant d'une valeur qui ne repose pas sur un consensus fort puisque, comme évoqué dans l'introduction, il n'y a pas à ce jour de références clairement établies en cours de grossesse. Il est de plus possible que ces valeurs fluctuent en fonction du terme. De plus, la ferritine n'est pas toujours un reflet de la quantité de fer disponible pour l'érythropoïèse, et certaines patientes ayant des pathologies inflammatoires présentant des valeurs hautes de ferritine pourraient malgré tout bénéficier d'un apport de fer supplémentaire. Une des surprises de ce travail a été d'identifier un nombre significatif de patientes ne présentant aucun signe d'érythropoïèse déficiente en fer mais avec une ferritine basse, en dessous du seuil de 15 µg/L. 16% des patientes avec ferritine basse conservent en effet une érythropoïèse normale (%HYPO, CHR et hémoglobine): la ferritine basse ne semble pas avoir de conséquence directe sur l'érythropoïèse, et pourrait ne pas être corrélée aux stocks de fer nécessaires à la production des réticulocytes et des globules rouges. La femme enceinte devant faire face, tout au long de la grossesse, jusqu'à l'accouchement et dans les semaines qui suivent, à une demande en fer importante, il est attendu que les réserves en fer s'épuisent. Lorsque les apports en fer, sur une période limitée de quelques mois, sont suffisants, malgré l'épuisement des réserves, l'érythropoïèse pourrait être conservée. On peut estimer que le fer disponible pour l'érythropoïèse, qu'il soit d'origine alimentaire ou via la ferritine, est suffisant pour la durée de la grossesse et donc que le retentissement sur la grossesse et l'enfant est nul, ou que la durée de carence en fer n'est pas encore suffisante pour voir l'apparition de

globules rouges hypochromes. En d'autres termes, une femme enceinte peut avoir une ferritine basse, mais ne pas présenter de conséquence sur l'érythropoïèse tant que ses apports alimentaires sont suffisants, d'autant que la grossesse augmente la capacité d'absorption intestinale du fer. Cette hypothèse semble confirmée dans la population rétrospective homogène de 2018 chez les patientes avec plus de 11g/dL d'hémoglobine: aucune (6 patientes sur 7) ne présente d'érythropoïèse déficiente en fer dès lors que le CST est supérieure à 15%, quand bien même la ferritine est effondrée. Dans notre population de patientes 2018, un CST > 15% permet donc, contrairement à la ferritine, d'affirmer une érythropoïèse non déficiente, tout au moins au 3<sup>e</sup> trimestre de grossesse. Le CST semble évoluer parallèlement à la qualité de l'érythropoïèse, à l'inverse de la ferritine. Il manque cependant dans cette étude un aspect évolutif : quelle est l'évolution des paramètres hématologiques chez ces patientes avec érythropoïèse normale mais avec une ferritine effondrée ? Corrigent-elles la ferritine après la grossesse ? Ces femmes ont-elles plus fréquemment des carences martiales en post-partum dans les mois qui suivent la grossesse ? Une étude prospective des paramètres érythrocytaires et du bilan martial avec ferritine et CST aux différents trimestres de la grossesse serait donc nécessaire car les valeurs « seuils » manquent.

L'utilisation des indices érythrocytaires %HYPO et CHr permet d'identifier les conséquences d'une carence avant l'apparition de l'anémie et pourraient s'avérer plus performants que l'hémoglobine dans l'identification des patientes à traiter par fer oral en cours de grossesse. Avant d'aborder les résultats de ces indices, plusieurs limites :

- Une première série rétrospective sur la période 2012-2017 non homogène, qui n'a pu prendre en compte la situation de chaque femme enceinte vis à vis d'une supplémentation par fer. Ainsi, les données des femmes potentiellement supplémentées n'ont pas pu être distinguées des femmes non supplémentées. Cette population demeure donc non homogène : trimestre de grossesse, situation clinique (nous n'avons pas pu récupérer de manière précise ce qui a conduit à la prescription du bilan martial, et nous avons dû être large pour inclure suffisamment de patientes et de dosages de réticulocytes). De même, il n'y a pas de critère ou de paramètre biologique permettant de s'assurer de l'absence d'inflammation, ou d'autres événements reconnus comme influant sur la valeur de la ferritine, certains bilans étant réalisés lors d'hospitalisation
- Une seconde série homogène mais limitée au troisième trimestre de grossesse. Nous n'avons donc pas pu faire cette étude au premier trimestre, qui est pourtant le mois déterminant concernant le statut martial de la femme enceinte (cf. pages 41-43,<sup>76</sup>).
- Les indices érythrocytaires %HYPO et de la CHr sont « technologie-dépendants » : ces paramètres sont donnés par les automates Advia, de la société Siemens. Les autres automates d'hématologie donnent des paramètres non identiques : ils devront donc être comparés avec un Advia pour pouvoir être validés.

- Le %HYPO est rendu par les automates lorsqu'une numération est réalisée, le coût est donc nul, ou relativement faible en prenant en compte le coût de la gestion qualité si un tel paramètre était rendu. La CHr quant à elle est mesurée lorsque la quantification des réticulocytes est prescrite, analyse cotée B19 à la nomenclature des actes de biologie médicale, soit 5,13 euros actuellement (lettre-clef B à 0,27 centimes d'euros). En coût patient-réactif (coût réel au laboratoire de la phase analytique), l'ordre de grandeur est de 25 centimes (identique à celui d'une NFS). Ce coût patient-réactif pour une NFS ou un dosage des réticulocytes peut doubler voire tripler selon la société commercialisant une automate d'hématologie. Ce coût potentiel de prescriptions supplémentaires de réticulocytes devra être comparé au bénéfice clinique et à la prévention des complications d'une CM traitée précocement.

Avec ses limites, notre étude confirme, aussi bien dans la série 2012-2017 que dans la seconde série, plus homogène, que l'hémoglobine seule n'est pas un marqueur diagnostique satisfaisant de CM chez la femme enceinte. Il ressort que la CHr est le meilleur marqueur de CM, à 27,5 pg dans notre première partie d'étude, mais à un seuil plus élevé (entre 31 et 31,5 pg) dans la deuxième partie de l'étude, valeurs déjà retrouvées dans la littérature. La répartition des CHr étant identiques selon l'état martial, il peut s'agir de valeurs physiologiques plus hautes dans la population du 3<sup>e</sup> trimestre, mais aussi d'une dérive automate. En effet, la CHr est un paramètre non suivi par les contrôles qualité (internes ou externes). Le %HYPO, avec un seuil à 1%, n'est pas beaucoup plus performant que l'hémoglobine : ce seuil peut définir une érythropoïèse normale, mais la valeur de 5% est beaucoup plus spécifique d'une CM.

Selon les recommandations et pratiques actuelles, c'est bien une érythropoïèse insuffisante qui est traitée, à travers une hémoglobine basse. Or, on sait que lorsque cette hémoglobine est inférieure à 11 g/dL, la carence est installée depuis plusieurs semaines voire plusieurs mois. Donc traiter un %HYPO élevé ou une CHr basse reviendrait à corriger la carence avant l'anémie et présenterait de plus une spécificité meilleure que la seule valeur d'hémoglobine (hémoglobinopathie sous-jacente mise à part). Ce paramètre se heurte néanmoins à une limite : sa disponibilité, qui restreinte à une technologie d'analyseur, ne le rend pas utilisable à large échelle. L'étude de la série rétrospective 2018 a permis néanmoins de montrer qu'aucune patiente avec un CST supérieur à 15% n'avait d'érythropoïèse déficiente en fer : nous pouvons donc, conjointement au taux d'hémoglobine, utiliser ces paramètres disponibles dans tous les laboratoires afin d'identifier les patientes avec CM définie par une hémoglobine < 11g/dL et/ou un CST < 15%.

## 4.1. Perspectives

### 4.1.1. Proposition d'algorithme diagnostic

Comme soulevé par le CNGOF et la HAS, le bilan au 6<sup>e</sup> mois de grossesse intervient trop tardivement pour la détection de la carence martiale. C'est bien en début de la grossesse que celle-ci doit être dépistée et traitée pour éviter les conséquences délétères pour la suite. Si le taux d'hémoglobine est le paramètre de référence, nos données soulignent l'intérêt de paramètres plus sensibles et précoces. Il apparaît dans notre étude que pour traiter l'ensemble des carences martiales de la femme enceinte, l'utilisation conjointe de l'hémoglobine et du CST est très sensible. En effet, en traitant les femmes ayant moins de 11 g/dL d'hémoglobine, mais aussi les femmes ayant plus de 11g/dL d'hémoglobine et un CST < 15%, on traite toutes les CM. Sur la base de ces résultats, la supplémentation par fer des femmes enceintes pourrait se faire selon le schéma de dépistage suivant, au premier trimestre de grossesse:

-hémoglobine inférieure à 11g/dL, ces patientes continuent d'être supplémentées en fer conformément aux recommandations actuelles,

-les femmes ayant plus de 11 g/dL mais un CST < 15% seraient également traitées.

### 4.1.2. Étude prospective

Une véritable étude interventionnelle pourrait être envisagée, afin de confirmer ces résultats en prospectif, avec un bilan en début de grossesse, puis à M1, M3, M6 et M8 mois de grossesse, ainsi qu'un mois après l'accouchement. Afin d'éviter aux femmes incluses des prises de sang supplémentaires, cette étude prospective pourrait concerner les femmes suivies pour leur absence d'immunisation vis-à-vis de la toxoplasmose. Les bilans devront comprendre : une NFS avec dosage des réticulocytes et un bilan martial complet. L'objectif sera de comparer l'évolution de l'hémoglobine, de la ferritine, du CST, du %HYPO et de la CHr tout au long de la grossesse pour une même femme enceinte, afin de déterminer des valeurs plus précises de CHr dans le statut martial de la femme enceinte, mais aussi de comparer les bénéfices d'un traitement par fer selon deux schémas : un groupe témoin suivi dans le respect des recommandations et pratiques en vigueur, un autre groupe traité selon le CST.

## 5. Conclusion

Ce travail a permis de montrer la valeur diagnostique de la CHr pour dépister les CMA chez les femmes enceintes que l'hémoglobine n'aurait pas dépistées. La CHr est le meilleur marqueur diagnostique de la CMA. Le seuil doit cependant être déterminé plus précisément.

A travers l'utilisation du CST et des indices érythrocytaires faisant évoquer la diminution physiologique des valeurs de ferritine au cours de la grossesse, cette étude montre la relation entre une insuffisance fonctionnelle du transport du fer et une érythropoïèse insuffisante, chez une partie des femmes présentant une CM avant l'apparition d'une anémie.

Enfin, nous montrons qu'à des valeurs basses de ferritine peuvent correspondre une érythropoïèse normale, prouvant ainsi la difficulté d'interprétation de la ferritine chez la femme enceinte.



# Bibliographie

1. Abbaspour, N., Hurrell, R. & Kelishadi, R. Review on iron and its importance for human health. *J. Res. Med. Sci.* **19**, 164–174 (2014).
2. *Encyclopédie des plantes médicinales: [identification, préparations, soins.* (Larousse, 2002).
3. Andrews, N. C. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* **112**, 219–230 (2008).
4. Kerins, M. J. & Ooi, A. The Roles of NRF2 in Modulating Cellular Iron Homeostasis. *Antioxid. Redox Signal.* (2017). doi:10.1089/ars.2017.7176
5. Ciangura, C. *Choix des examens du métabolisme du fer en cas de suspicion de carence en fer.* (Service évaluation des actes professionnels, Haute Autorité de Santé (HAS), 2011).
6. Hémoglobine et myoglobine. Available at: <https://www.afc.asso.fr/accueil-aicr2014/1093-hemoglobine-et-myoglobine>. (Accessed: 16th December 2018)
7. Ordway, G. A. & Garry, D. J. Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle. *J. Exp. Biol.* **207**, 3441–3446 (2004).
8. Allen, L., de Benoist, B., Dary, O. & Hurrell, R. *Directives sur l'enrichissement des aliments en micronutriments; Partie II: Évaluation de l'importance de la malnutrition par carence en micronutriments sur le plan de la santé publique.* 379 (Organisation Mondiale de la Santé, 2011).
9. Rochette, J. & Brissot, P. *L'hémochromatose héréditaire.* (Orphanet, Association Française des Conseillers en Génétiques, Fédération Française des Associations de Malades de l'Hémochromatose, 2006).
10. Ems, T. & Huecker, M. R. Biochemistry, Iron Absorption. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, 2018).
11. Le fer | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Available at: <https://www.anses.fr/fr/content/le-fer>. (Accessed: 13th January 2019)
12. Béguin, Y. Le métabolisme du fer. **8**, 7–12 (2002).
13. Daher, R., Manceau, H. & Karim, Z. Iron metabolism and the role of the iron-regulating hormone hepcidin in health and disease. *Presse Medicale Paris Fr. 1983* **46**, e272–e278 (2017).
14. Baudin, B. Les hémoglobines normales et pathologiques. *Rev. Francoph. Lab.* **2016**, 27–34 (2016).
15. Perutz, M. F. *et al.* Structure of haemoglobin: a three-dimensional Fourier synthesis at 5.5-Å resolution, obtained by X-ray analysis. *Nature* **185**, 416–422 (1960).
16. Faivre-Fiorina, B., Caron, A., Labrude, P. & Vigneron, C. Les hémoglobines érythrocytaires, plasmatiques et substitutives face aux agents oxydants et réducteurs physiologiques. *Ann. Biol. Clin* **56**, (1998).
17. Barcroft, J. & Roberts, F. The dissociation curve of haemoglobin. *J. Physiol.* **39**, 143–148 (1909).
18. Seiyama, A. Virtual cooperativity in myoglobin oxygen saturation curve in skeletal muscle in vivo. *Dyn. Med.* **5**, 3 (2006).
19. Kafina, M. D. & Paw, B. H. Intracellular iron and heme trafficking and metabolism in developing erythroblasts. *Metallomics* **9**, 1193–1203 (2017).
20. Julien Celi, Reny, J.-L., Perrier, A. & Samii, K. Anémie ferriprive, inflammatoire ou mixte : comment

orienter le diagnostic ? *Rev Med Suisse* **7**, 2018–2023

21. Tounian, P. & Chouraqui, J.-P. [Iron in nutrition]. *Arch. Pediatr. Organe Off. Soc. Francaise Pediatr.* **24**, 5S23-25S31 (2017).
22. Zhang, A.-S. & Enns, C. A. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 207–214 (2009). doi:10.1182/asheducation-2009.1.207
23. Beaumont, C. & Karim, Z. [Iron metabolism: State of the art]. *Rev. Med. Interne* **34**, 17–25 (2013).
24. Omar, S., Feki, M. & Kaabachi, N. Le métabolisme du fer : revue générale et récents développements. *Ann. Biol. Clin* **64**, 523–534 (2006).
25. *Le fer: fonctions, sources alimentaires, et besoins nutritionnels*. (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2016).
26. Latunde-Dada, G. O., Yang, W. & Vera Aviles, M. In Vitro Iron Availability from Insects and Sirloin Beef. *J. Agric. Food Chem.* **64**, 8420–8424 (2016).
27. Delamaire, C. *La santé vient en mangeant: le guide alimentaire pour tous*. (INPES, 2012).
28. *Guideline: Daily Iron and Folic Acid Supplementation in Pregnant Women*. (World Health Organization, 2012).
29. G. Beucher, E. Grossetti, T. Simonet, M. Leporrier, M. Dreyfus. Anémie par carence martiale et grossesse. Prévention et traitement. *EM-Consulte* (2011). Available at: <http://www.em-consulte.com/article/287823/article/anemie-par-carence-martiale-et-grossesse-preventio>. (Accessed: 15th December 2017)
30. Savoye, G. Absorption intestinale et métabolisme du fer. *Lett. Hépatogastroentérologue* (2015).
31. Anderson, G. J. & Frazer, D. M. Current understanding of iron homeostasis. *Am. J. Clin. Nutr.* **106**, 1559S-1566S (2017).
32. Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U. & Andrews, N. C. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism Balancing Acts. *Cell* **117**, 285–297 (2004).
33. Seiser, C., Posch, M., Thompson, N. & C. Kü, hnLukas. Effect of Transcription Inhibitors on the Iron-dependent Degradation of Transferrin Receptor mRNA. *J. Biol. Chem.* **270**, 29400–29406 (1995).
34. *Concentrations sériques de ferritine permettant d'évaluer le statut et les carences en fer dans les populations*. 6 (Organisation Mondiale de la Santé, 2011).
35. Diallo, D., Blot, I. & Tchernia, G. Déficit en fer et grossesse: retentissement sur le nouveau-né. *Hématologie JLE* **5**, 216–22 (1999).
36. Zhang, D.-L. *et al.* Erythrocytic ferroportin reduces intracellular iron accumulation, hemolysis, and malaria risk. *Science* **359**, 1520–1523 (2018).
37. Vallet, N. Rôle de l'érythroferrone dans le métabolisme du fer : des résultats expérimentaux aux modèles physiopathologiques. *Rev. Médecine Interne* **39**, 178–184 (2018).
38. Daher, R. & Karim, Z. Iron metabolism: State of the art. *Transfus. Clin. Biol.* **24**, 115–119 (2017).
39. Nicolas, G. *et al.* Hpcidin, A New Iron Regulatory Peptide. *Blood Cells. Mol. Dis.* **29**, 327–335 (2002).

40. Ganz, T. Macrophages and Systemic Iron Homeostasis. *J. Innate Immun.* **4**, 446–453 (2012).
41. Camaschella, C., Pagani, A., Nai, A. & Silvestri, L. The mutual control of iron and erythropoiesis. *Int. J. Lab. Hematol.* **38**, 20–26 (2016).
42. Bessis, M. & Breton-Gorius, J. [Various aspects of iron in the organism. I. Ferritin and ferruginous micelles]. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **6**, 231–236 (1959).
43. Furuyama, K. & Kaneko, K. Iron metabolism in erythroid cells and patients with congenital sideroblastic anemia. *Int. J. Hematol.* **107**, 44–54 (2018).
44. WHO | Assessing the iron status of populations. *WHO* Available at: [http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia\\_iron\\_deficiency/9789241596107/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia_iron_deficiency/9789241596107/en/). (Accessed: 7th December 2017)
45. Mercuriali, F. *et al.* Use of erythropoietin to increase the volume of autologous blood donated by orthopedic patients. *Transfusion (Paris)* **33**, 55–60 (1993).
46. Goodnough, L. T., Nemeth, E. & Ganz, T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood* **116**, 4754–4761 (2010).
47. Thomas, C. & Thomas, L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin. Chem.* **48**, 1066–1076 (2002).
48. Thomas, D. W. *et al.* Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br. J. Haematol.* **161**, 639–648 (2013).
49. Breyman, C. Iron Deficiency Anemia in Pregnancy. *Semin. Hematol.* **52**, 339–347 (2015).
50. *Lecture critique de l'hémogramme: valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques.* (Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES), 1997).
51. UK guidelines on the management of iron deficiency in pregnancy. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22512001>. (Accessed: 15th December 2017)
52. Wuillemin, T. & Samii, K. Anémie. *Hôp. Univ. Genève Dép. Médecine Communaut. Prem. Recours Urgences* (2017).
53. Lienhart, A. *Transfusion de globules rouges homologues: produits, indications, indications alternatives.* (Haute Autorité de Santé; Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé, 2014).
54. *Biologie Médicale: nomenclature des actes.* (Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés, 2019).
55. Brugnara, C. & Mohandas, N. Red cell indices in classification and treatment of anemias: from M.M. Wintrobés's original 1934 classification to the third millennium. *Curr. Opin. Hematol.* **20**, 222–230 (2013).
56. Sarma, P. R. Red Cell Indices. in *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations* (eds. Walker, H. K., Hall, W. D. & Hurst, J. W.) (Butterworths, 1990).
57. d'Onofrio, G. *et al.* Simultaneous measurement of reticulocyte and red blood cell indices in healthy subjects and patients with microcytic and macrocytic anemia. *Blood* **85**, 818–823 (1995).

58. Valeurs biologiques usuelles - Concours de l'internat en Pharmacie. (Conseil Scientifique des Concours de l'Internat en Pharmacie, Centre National des Concours d'Internat, 2009).
59. Zandecki, M. Site internet du Laboratoire d'Hématologie Cellulaire d'Angers - Faculté de Médecine - Université d'Angers: les cellules du sang et de la moelle osseuse / Morphologie érythrocytaire (partie 3) : anomalies de couleur, de contenu; inclusions.
60. Zandecki, M. Site internet du laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers - métabolisme du fer chez l'homme.
61. Cook, J. D. & Skikne, B. S. Serum ferritin: a possible model for the assessment of nutrient stores. *Am. J. Clin. Nutr.* **35**, 1180–1185 (1982).
62. Worwood, M. The laboratory assessment of iron status--an update. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* **259**, 3–23 (1997).
63. Guyatt, G. H. *et al.* Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. *J. Gen. Intern. Med.* **7**, 145–153 (1992).
64. Fehr, J., Fevrat, B., Schleiffenbaum, B., Krayenbühl, P. A. & von Orelli, F. Diagnostic et traitement de la carence en fer sans anémie. *Rev Med Suisse* **5**, (2009).
65. Hallberg, L. *et al.* Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. *Br. J. Haematol.* **85**, 787–798 (1993).
66. Mast, A. E., Blinder, M. A. & Dietzen, D. J. Reticulocyte hemoglobin content. *Am. J. Hematol.* **83**, 307–310 (2008).
67. Mast, A. E., Blinder, M. A., Gronowski, A. M., Chumley, C. & Scott, M. G. Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clin. Chem.* **44**, 45–51 (1998).
68. Macdougall, I. C. *et al.* Intravenous Iron in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis. *N. Engl. J. Med.* (2018). doi:10.1056/NEJMoa1810742
69. Singh, A. K., Coyne, D. W., Shapiro, W., Rizkala, A. R. & the DRIVE Study Group. Predictors of the response to treatment in anemic hemodialysis patients with high serum ferritin and low transferrin saturation. *Kidney Int.* **71**, 1163–1171 (2007).
70. Mikhail, A. *Clinical Practice Guide: Anaemia of Chronic Kidney Disease.* (The Renal Association, 2017).
71. Cappellini, M. D. *et al.* Iron deficiency across chronic inflammatory conditions: International expert opinion on definition, diagnosis, and management: CAPPELLINI *et al.* *Am. J. Hematol.* **92**, 1068–1078 (2017).
72. *Iron Deficiency Anemia: Assessment, Prevention, and Control; A Guide for programme managers.* (Organisation Mondiale de la Santé, 2001).
73. Lefebvre, T. *et al.* Added value of hepcidin quantification for the diagnosis and follow-up of anemia-related diseases. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 9–18 (20171-2). doi:10.1684/abc.2016.1208
74. Delaby, C. & Beaumont, C. Serum hepcidin assay in 2011: where do we stand? *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 377–386 (20127-8). doi:10.1684/abc.2012.0725

75. Wolff, F. *et al.* Hepcidin: immunoanalytic characteristics. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 705–715 (201811-12). doi:10.1684/abc.2018.1382
76. *Supplémentation au cours de la grossesse, Recommandations pour la pratique clinique.* (CNGOF: Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français, 1997).
77. World Health Organization & Nutrition for Health and Development. *WHO. Guideline: Use of multiple micronutrient powders for point-of-use fortification of foods consumed by pregnant women.* Geneva: World Health Organization; 2016. (2016).
78. Winer, N., Parnet, P. & Darmaun, D. *CNGOF 2013: mise à jour en gynécologie et obstétrique: quelle nutrition et quelles suppléments pour les femmes enceintes.* (2013).
79. ENNS : étude nationale nutrition santé / Enquêtes et études / Nutrition et santé / Maladies chroniques et traumatismes / Dossiers thématiques / Accueil. (2006). Available at: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-chroniques-et-traumatismes/Nutrition-et-sante/Enquetes-et-etudes/ENNS-etude-nationale-nutrition-sante>. (Accessed: 14th December 2017)
80. Gambling, L. *et al.* Effect of iron deficiency on placental transfer of iron and expression of iron transport proteins in vivo and in vitro. *Biochem. J.* **356**, 883–889 (2001).
81. La santé des femmes. *Organisation Mondiale de la Santé, site internet* (2018).
82. Peña-Rosas, J. P. & Viteri, F. E. Effects and safety of preventive oral iron or iron+folic acid supplementation for women during pregnancy. in *Cochrane Database of Systematic Reviews* (ed. The Cochrane Collaboration) (John Wiley & Sons, Ltd, 2009). doi:10.1002/14651858.CD004736.pub3
83. *Recommandations de l'OMS concernant les soins prénatals pour que la grossesse soit une expérience positive.* (Organisation Mondiale de la Santé, 2017).
84. British Columbia Guidelines and Protocols Advisory Committee. Investigation and management of iron deficiency. (2010).
85. McMahon, L. P. Iron deficiency in pregnancy. *Obstet. Med.* **3**, 17–24 (2010).
86. Kotisaari, S., Romppanen, J., Penttilä, I. & Punnonen, K. The Advia 120 red blood cells and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron-deficiency anemia. *Eur. J. Haematol.* **68**, 150–156 (2002).
87. d'Onofrio, G., Zini, G., Ricerca, B. M., Mancini, S. & Mango, G. Automated measurement of red blood cell microcytosis and hypochromia in iron deficiency and beta-thalassemia trait. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **116**, 84–89 (1992).
88. Urrechaga, E., Borque, L. & Escanero, J. F. Biomarkers of Hypochromia: The Contemporary Assessment of Iron Status and Erythropoiesis. *BioMed Res. Int.* **2013**, 1–8 (2013).
89. Urrechaga, E. Red blood cell microcytosis and hypochromia in the differential diagnosis of iron deficiency and  $\beta$ -thalassaemia trait. *Int. J. Lab. Hematol.* **31**, 528–534 (2009).
90. Malczewska-Lenczowska, J. *et al.* Reticulocyte and erythrocyte hypochromia markers in detection of iron deficiency in adolescent female athletes. *Biol. Sport* **2**, 111–118 (2017).
91. Torino, A. B. B., Gilberti, M. de F. P., da Costa, E., de Lima, G. A. F. & Grotto, H. Z. W. Evaluation of erythrocyte and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic

disease. *Rev. Bras. Hematol. E Hemoter.* **37**, 77–81 (2015).

92. Brachmann, S. Wertigkeit ausgewählter Eisenstoffwechselfparameter im Ausdauersport - 'Apports des paramètres du métabolisme du fer dans les sports d'endurance'. (2010).

93. Brugnara, C., Zurakowski, D., DiCanzio, J., Boyd, T. & Platt, O. Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA* **281**, 2225–2230 (1999).

94. Mast, A. E. Clinical utility of the reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* **99**, 1489–1491 (2002).

95. Bakr, A. F. & Sarette, G. Measurement of reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in Saudi children. *Eur. J. Pediatr.* **165**, 442–445 (2006).

96. Ullrich, C. Screening Healthy Infants for Iron Deficiency Using Reticulocyte Hemoglobin Content. *JAMA* **294**, 924 (2005).

97. Brugnara, C. *et al.* Effects of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects: development of decreased reticulocyte hemoglobin content and iron-deficient erythropoiesis. *J. Lab. Clin. Med.* **123**, 660–667 (1994).

98. Levy, S. & Schapkaitz, E. The clinical utility of new reticulocyte and erythrocyte parameters on the Sysmex XN 9000 for iron deficiency in pregnant patients. *Int. J. Lab. Hematol.* **40**, 683–690 (2018).

99. Baby, M., N'Djinga, V. P. N. & Diallo, D. A. [Usefulness of MCV and MCHC in the diagnosis of iron deficiency anaemia in adult and teenager]. *Mali Med.* **23**, 69–70 (2008).

100. D'Angelo, G. Role of hepcidin in the pathophysiology and diagnosis of anemia. *Blood Res.* **48**, 10 (2013).

RAYMOND Arnaud

## **Place des indices érythrocytaires (%HYPO et CHr) dans l'évaluation du statut martial de la femme enceinte**

Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie  
faisant office de mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Études Spécialisées de Biologie Médicale

Université de Picardie Jules Verne

Année 2019

Mots clés : hémoglobine, ferritine, %HYPO, CHr, réticulocytes, carence martiale absolue, carence martiale fonctionnelle, coefficient de saturation de la transferrine, grossesse, statut martial, érythropoïèse

---

### RÉSUMÉ

Actuellement, seule l'hémoglobine est utilisée pour détecter une potentielle carence martiale pendant la grossesse, puisque la carence martiale est la principale cause d'anémie chez la femme enceinte. Des indices érythrocytaires, le %HYPO et la CHr permettent d'évaluer si l'érythropoïèse est déficiente en fer. De plus, la valeur de ferritine, indicateur des réserves en fer de l'organisme permettant d'affirmer la carence martiale, a toujours été controversée chez la femme enceinte. Ce travail a pour but d'évaluer la pertinence de ces marqueurs (%HYPO et CHr) pour détecter les carences martiales comparés à l'hémoglobine, et plus largement, comment permettent-ils de mieux évaluer le statut martial de la femme enceinte.

Jury:

PRESIDENT :

Professeur Saïd Kamel

MEMBRES

Professeur Loïc Garçon

Professeur Jean Gondry

Docteur Pierre Morel

Docteur Volker Thiel