

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saleh Bounider Constantine III

Faculté de médecine

Département de pharmacie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Docteur
en Pharmacie

Thème

**Etude de la fragilité des globules rouges par cytométrie
en flux acoustique**

Réalisé et présenté par :

YAHIAOUI Amina

KHELLOUF Maroua

KHENGUI Safoua

Encadré par :

Dr. ZOUITENE Raouf

Année universitaire : 2020/2021

Table des matières

Remerciements.....	ii
Dédicaces.....	iii
Table des matières.....	vi
Liste des figures.....	viii
Liste des tableaux.....	x
Liste des abréviations.....	xi
Introduction.....	1
I. La cytométrie en flux.....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Principes généraux de la CMF.....	3
I.2.1. Le système fluidique.....	4
I.2.2. Le système optique.....	5
I.2.2.1. Source lumineuse.....	6
I.2.2.2. Canaux optiques.....	6
I.2.2.3. Détecteurs.....	7
I.2.3. Le système électronique.....	7
I.2.4. Le système informatique.....	7
I.3. Applications de la cytométrie en flux.....	8
I.4. Avantages et limites de la cytométrie en flux.....	9
I.4.1. Les avantages.....	9
I.4.2. Les limites.....	9
II. Généralités sur les globules rouges.....	11
II.1. Structure et métabolisme.....	11
II.1.1. Généralités.....	11
II.1.2. L'hémoglobine.....	12
II.1.3. La membrane érythrocytaire.....	13
II.1.4. Métabolisme érythrocytaire.....	14
II.1.4.1. Le métabolisme énergétique.....	14
II.1.4.1.1. La voie de la glycolyse anaérobie (voie d'Embden-Meyerhof).....	15
II.1.4.1.2. La voie des pentoses phosphate (Dinkens-Horecker).....	15
II.1.4.2. Système d'oxydo-réduction.....	16
II.2. La formation des globules rouges.....	17
II.2.1. L'érythropoïèse.....	17
II.2.2. Régulation de l'érythropoïèse.....	18
II.3. Fonction des globules rouges.....	19
III. Préparation et conservation des poches du sang.....	20

III.1.	Le don du sang.....	20
III.1.1.	Définition et organisation.....	20
III.1.2.	Types de don.....	21
III.2.	Préparation des PSL.....	21
III.3.	Conservation et indication des CGR.....	22
IV.	Test de fragilité membranaire	23
IV.1.	Définition.....	23
IV.2.	Méthode appliquée.....	23
IV.3.	Applications.....	23
I.	Objectifs.....	26
I.1.	Objectif principal.....	26
I.2.	Objectif secondaire.....	26
II.	Matériels et méthodes.....	27
II.1.	Echantillons.....	27
II.2.	Matériels.....	28
II.3.	Réactifs.....	29
II.4.	Méthodes	30
II.4.1.	Recueil et préparation des échantillons.....	30
II.4.2.	Préparation du tampon HBSS.....	30
II.4.3.	Evaluation de l'aspect des globules rouge par cytométrie en flux.....	31
II.4.4.	Le test de la fragilité membranaire osmotique par la cytométrie en flux....	32
II.4.5.	Diminution du nombre des globules rouges après l'ajout d'une solution hypotonique.....	32
II.4.6.	Les méthodes statistiques.....	33
III.	Résultats.....	35
III.1.	Analyse globale.....	35
III.1.1.	Répartition de la population.....	35
III.1.2.	Evaluation de l'aspect des globules rouges.....	36
III.1.3.	Test de la fragilité osmotique membranaire	38
III.1.4.	Diminution du nombre des globules rouges après l'ajout d'une solution hypotonique.....	39
III.2.	Analyse des résultats.....	41
III.2.1.	Pourcentage d'hémolyse avant le test de la fragilité (R2).....	41
III.2.2.	Pourcentage d'hémolyse après le test de la fragilité (R7).....	42
III.2.3.	Evaluation de l'aspect (R5).....	44
III.2.4.	Diminution du nombre des GR après l'ajout d'une solution hypotonique...46	
IV.	Discussion.....	47
IV.1.	L'orientation acoustique des GR au moment du passage devant le laser....47	
IV.2.	Le test de la fragilité membranaire.....	50
	Conclusion.....	55
	Références bibliographiques	

Résumé :

Les concentrés globulaires préparés au niveau des CTS à partir du sang total sont conservés dans les poches CPD-SAG Mannitol pendant 42 jours. Le vieillissement des globules rouges apporte différentes modifications sur leur fonctionnement et leur structures y compris sur la membrane érythrocytaire. L'objectif de notre étude est la mise au point de la technique d'évaluation de la fragilité de la membrane érythrocytaire par cytométrie en flux. Des échantillons sont prélevés à partir de 99 poches de CGR pour réaliser 2 épreuves : évaluation de l'aspect et le test de fragilité osmotique par le CMF acoustique. Les résultats sont traités à l'aide de l'Excel et l'IBM SPSS. Les résultats confirment la corrélation entre la perte du profil en arc de la cytométrie acoustique et la fragilité osmotique dans une solution hypotonique. La combinaison de ces 2 tests peut nous fournir des renseignements sur l'état des GR au cours de leur conservation. Cette technique pourra donc être utilisée pour améliorer le rendement transfusionnel ainsi que pour le dépistage des anomalies de la membrane érythrocytaire.

Les mots clés : acoustique, cytométrie en flux, globules rouges, fragilité osmotique, membrane érythrocytaire.

Summary:

The Red cell concentrates (packed red cells) prepared in Blood Transfusion Centers (BTC) from whole blood are stored in CPD-SAG Mannitol bags for 42 days. The ageing of the red blood cells causes several changes in their functioning and structure including the membrane. The purpose of our study is to develop an evaluation technique of the fragility of red blood cells membrane using flow cytometry. Samples were taken from 99 red cells concentrates in order to perform 2 tests: Evaluation of the aspect of red blood cells and Osmotic fragility test using acoustic flow cytometry. The results obtained were compared and analyzed using Excel and IBM SPSS. The results confirm the correlation between the loss of the arch-shaped pattern on the acoustic cytometer and the osmotic fragility in a hypotonic solution. The combination of these two tests can provide us with information on the condition of red blood cells during their storage. This technique can therefore be used to improve the transfusion field and as a screening test for red cell membrane disorders.

Key terms : acoustic, flow cytometry, red blood cells, osmotic fragility, erythrocytic membrane.