

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique Et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

Et de la recherche scientifique

Université Constantine III

Faculté de médecine

Département de pharmacie

وزارة التعليم العالي

و البحث العلمي

جامعة قسنطينة 3

كلية الطب

قسم الصيدلة



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme

De Docteur en Pharmacie

Thème

Exploration de l'immunité antiplaquettaire par cytométrie en flux

Réalisé et présenté par :

- LAYADI Safa
- SATOUR Anfel
- CHEROUANA Samiha

Encadré par :

Dr.Zouitene

Session : Juin 2019

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Tables des matières

Liste des annexes

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction :	1
I- Généralité sur le purpura thrombopénique immun	4
I.1 Rappel physiologique	4
I.1.1 Structure des plaquettes sanguines	4
I.1.1.1 Membrane plaquettaire	4
I.1.1.2 Le cytoplasme plaquettaire	6
I.1.2 La formation des plaquettes sanguines	7
I.1.2.1 La mégacaryopoïèse	7
I.1.2.2 La thrombopoïèse	7
I.1.2.3 Régulation de la mégacaryocytopoïèse et de la thrombocytopoïèse	8
I.1.3 Fonctions des plaquettes	9
I.1.3.1 Fonctions dans l'hémostase primaire	9
I.1.3.2 Fonctions dans la coagulation	9
I.1.3.3 Autres rôles	9
I.2 Les mécanismes physiopathologiques des thrombopénies	9
I.2.1 Les thrombopénies périphériques	9
I.2.1.1 Thrombopénie par hyper-destruction	9
I.2.1.2 Thrombopénie par consommation	10
I.2.1.3 Thrombopénie par séquestration	10
I.2.2 Les thrombopénies centrales	10
I.2.2.1 Les thrombopénies centrales acquises	10
I.2.2.2 Thrombopénies centrales constitutionnelles	10
I.3 Purpura thrombopénique immunologique	11
I.3.1 La physiopathologie	11
I.3.2 Types et formes du PTI	11
I.3.3 Diagnostic	12

I.3.4	La prise en charge thérapeutique	12
I.3.5	Pronostic	13
II-	Cytométrie en flux	14
II.1	Définition	14
II.2	Principes généraux de la cytométrie en flux	14
II.2.1	Composition d'un cytomètre	14
II.2.1.1	Le système fluide	15
II.2.1.2	Le système optique	15
II.2.1.2.1	Sources d'énergie	16
II.2.1.2.2	Canaux ou paramètres optiques	16
II.2.1.2.3	Détecteurs	16
II.2.1.3	Le système électronique	17
II.2.1.4	Le système informatique	17
II.3	Les applications de la CMF	18
II.4	Avantage de la CMF	18
II.5	Les limites et difficultés de CMF	19
III-	Recherche des anticorps antiplaquettaires	21
III.1	Recherche des anticorps antiplaquettaires par cytométrie en flux	23
III.1.1	Dépistage des auto-anticorps plaquettaires PAIG :	23
III.1.2	Quantification des PAIG par cytométrie en flux direct	26
III.1.3	Identification des auto-anticorps anti-GP plaquettaires par cytométrie en flux (FCIA)	26
I-	Objectifs	30
I.1	Objectif principal :	30
I.2	Objectifs secondaires	30
II-	Matériels et méthodes	31
II.1	Matériels à étudier	31
II.2	Population témoin	32
II.3	Matériels	32
II.4	Réactifs	35
II.5	Méthodes	35
II.5.1	Recueil et préparation d'échantillons	35
II.5.2	Recherche des PAIG : (dépistage)	36
II.5.3	Identification des auto-Ac antiplaquettaires (FCIA)	37
II.5.4	Quantification des PAIG	38

II.5.5 Les Méthodes statistique	38
III- Résultats	39
III.1 Répartition de la population selon l'âge et le sexe	39
III.1.1 Les patients	39
III.1.2 Les témoins thrombopéniques	39
III.1.3 Les témoins sains	40
III.2 Résultats de l'hémogramme	41
III.3 Résultats du médullogramme pour les patients	41
III.4 Préparation du concentré plaquettaire lavé	41
III.5 Dépistage.....	41
III.5.1 Acquisition des données	41
III.5.2 Mesure de la fluorescence anti IgG/anti IgM	42
III.5.3 Résultats du dépistage	44
III.5.4 La comparaison des séries patient témoin	46
III.6 La quantification.....	46
III.6.1 Résultats.....	46
III.7 Identification	48
III.7.1 Acquisition des billes et compensation	48
III.7.2 Exemple d'identification direct.....	49
III.7.3 Résultats d'identification	51
III.7.4 Les pourcentages de positivités selon l'identification.....	52
IV- DISCUSSION.....	54
V- Conclusion.....	64
Références bibliographiques.....	66
Annexes	69

Résumé

Le Purpura Thrombopénique Immunologique ou PTI est l'hémopathie bénigne la plus fréquente ; il s'agit d'une thrombopénie isolée d'origine périphérique ; c'est un diagnostic d'élimination retenu une fois toute autre origine de thrombopénie écartée. Notre objectif est le développement de la technique de mise en évidence des auto-anticorps antiplaquetaires, d'isotype IgG et/ou IgM, par cytométrie en flux. 12 patients PTI présentant un PTI confirmé, sur lesquelles nous avons réalisé des tests de dépistage, de quantification et d'identification des GP ciblées. Les résultats obtenus ont été comparés et analysés à l'aide de L'Excel 13 et SPSS20. Les résultats du dépistage exprimés par la MFI ont montré 6 patients IgG positifs ; 2 patients IgM positifs ; 3 patients IgG/IgM positifs et un seul patient double négatif, Les résultats de l'identification ont montré un seul patient présentant un anticorps anti-CD41, un autre patient présentant un anticorps antiCD42b, tandis que 4 patients étaient négatifs pour les trois anticorps recherchés. La cytométrie en flux peut être utilisée en pratique courante dans le cadre du dépistage du PTI.

Mots clé : PTI, thrombopénie, Immunologique, destructive périphérique, diagnostic d'élimination ; MFI.

Summary

Immune Thrombocytopenic Purpura or ITP is the most common benign hematological disorder; it is an isolated thrombocytopenia of peripheral origin; it is a diagnosis of elimination retained once all other origins of thrombocytopenia are removed Our objective is the development of the highlighting technique of anti-platelet autoantibodies, of IgG and / or IgM isotope, by flow cytometry. 12 ITP patients present a confirmed ITP, on whom we have realised screening, quantification and identification tests of targeted GPs. The results obtained were compared and analyzed using Excel 13 and SPSS20. The screening results expressed by the MFI showed 6 IgG positive patients; 2 IgM positive patients; 3 IgG / IgM positive patients and 1 single double negative patient, the identification results showed only one patient with anti-CD41 antibody, another patient with antiCD42b antibody, while 4 patients were negative for all three sought antibodies. Flow cytometry can be used in circadian practice as part of ITP screening.

Key words : ITP, thrombocytopenia, immunological, peripheral destructive, elimination diagnosis; MFI.