

ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



**ANEMIES MEGALOBLASTIQUES:
ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES
EXPERIENCE DU LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE
DU CHU HASSAN II DE FES**

MEMOIRE PRESENTE PAR :
Docteur TLAMÇANI IMANE
née le 15 Février 1979 à Fès

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE
OPTION : BIOLOGIE MEDICALE**

Sous la direction de :
Professeur AMRANI HASSANI MONCEF

Session Mai 2014

SOMMAIRE

Introduction.....	3
Patients et méthodes.....	5
Résultats.....	9
Discussion	21
Conclusion.....	44
Résumé	47
Références bibliographiques.....	50

INTRODUCTION

L'apport de vitamines, de protéines et d'oligo-éléments est indispensable à la physiologie de l'hématopoïèse. Certains de ces facteurs ont une action limitée à une lignée cellulaire : c'est le cas par exemple du fer pour l'érythropoïèse. D'autres sont nécessaires pour l'ensemble de l'hématopoïèse: c'est le cas de la vitamine B12 (cobalamine) et de la vitamine B9 (folates).

La carence en vitamine B12 et/ou folates est une pathologie fréquente, particulièrement chez les sujets âgés. En l'absence de diagnostic précoce, elle peut être responsable de complications hématologiques et neurologiques potentiellement graves.

Au cours des dernières décennies, le développement des techniques de dosage standardisées et automatisées a facilité son diagnostic.

Dans notre contexte, les patients consultent à un stade avancé de la maladie et parfois le diagnostic peut être ignoré. En l'absence de données concernant cette pathologie au Maroc, nous nous sommes proposés d'étudier le profil épidémiologique, clinique et biologique de l'anémie mégaloblastique au sein du laboratoire d'hématologie du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès.

PATIENTS ET METHODES

1) Cadre d'étude et durée :

Notre étude s'est déroulée au laboratoire d'hématologie, elle est rétrospective

allant de Janvier 2009 à Décembre 2013.

2) Critère d'inclusion :

Ce travail inclut des individus qui ont une anémie par carence en vitamine B12 et/ou en acide folique. L'anémie est définie par une hémoglobine inférieure à 12g/dL (quel que soit le sexe du sujet). La carence en vitamine B12 est déterminée par une vitamine B12 sérique inférieure à 160 pg/mL, tandis que la carence en acide folique est déterminée par des folates sériques inférieurs à 3.56ng/mL.

On a exclu les anémies par carence en fer, les anémies inflammatoires, l'anémie de l'insuffisance rénale chronique, les anémies hémolytiques (thalassémies, drépanocytose, hémoglobinurie paroxystique nocturne...) et les myélodysplasies de façon à ne garder que les anémies par carence en vitamine B12 ou en acide folique.

3) Méthodologie :

Les renseignements sont répertoriés sur une fiche d'exploitation comportant des données épidémiologiques (âge, sexe, provenance.), cliniques (motif d'hospitalisation, antécédents, signes cliniques,

pathologies associées), biologiques (hémogramme, frottis sanguin, myélogramme, dosage sériques des vitamines B12 et B9, recherche des Ac anti -FI et Ac anti-CPG, recherche de l'*Helicobacter pylori*), fibroscopie gastro-duodénale, étude anatomo-pathologique des biopsies, traitement et évolution.

Nom :

Age :

Sexe :

Antécédents :

Prise médicamenteuse au long cours : (anti-H2, IPP, biguanides...)

Date diagnostic :

Adresse :

Signes cliniques :

Syndrome Anémique :

Syndrome neuro-anémique :

Pathologies associées :

Données biologiques :

Hémogramme : Hb: VGM: CCMH:

GB: PN: PL

GR:

PL:

RET

Myélogramme:

Dosage vitaminique vit B12/vit B9:

Autres examens:

Bilan étiologique :

Carence d'apport:

Malabsorption:

Fibrose gastro-duodénale:

Etude anatomopathologique de la biopsie :

Recherche bactériologique d'*Helicobacter pylori* :

Autres données :

Traitement :

Evolution :

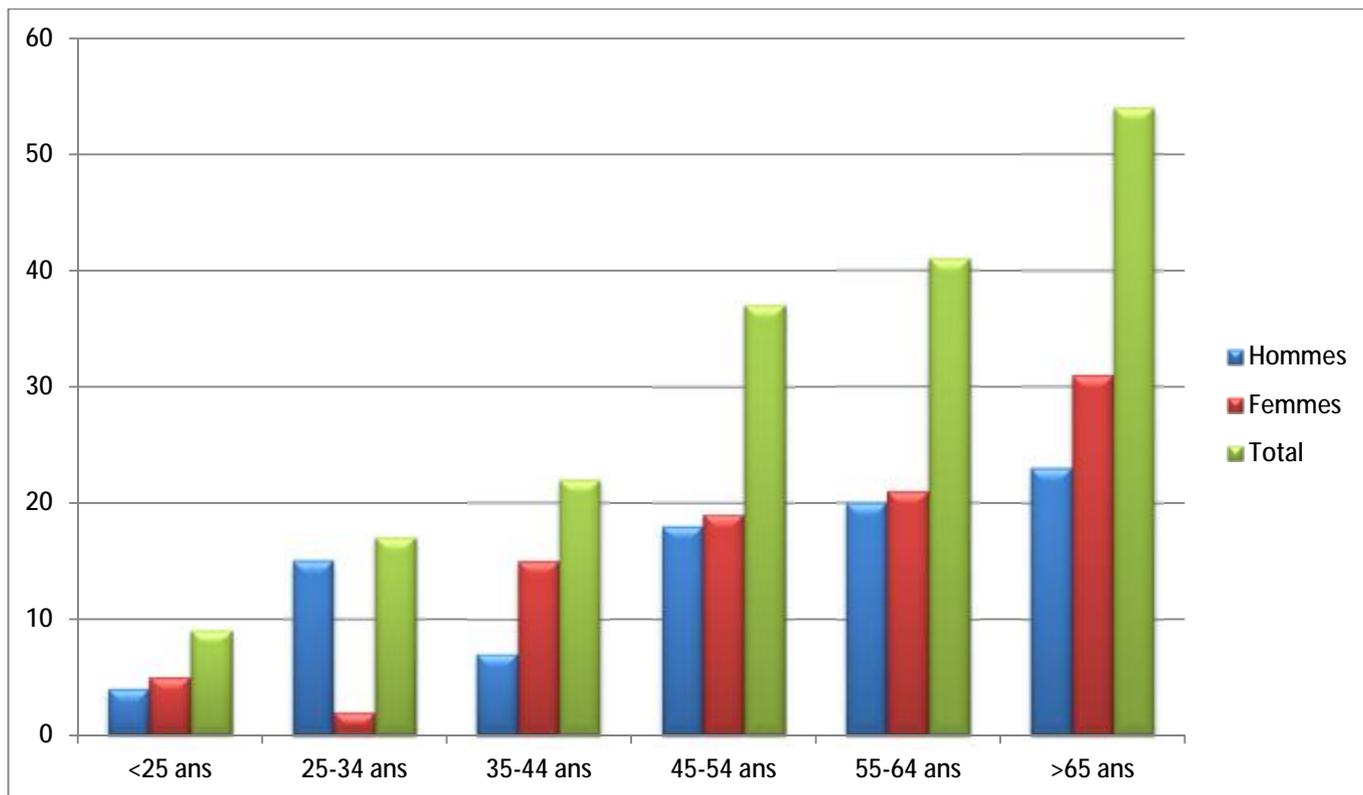
RESULTATS

Ø Données épidémiologiques :

Durant la période d'étude de cinq ans, 180 cas d'anémie par carence en vitamine B12 et/ou vitamine B9 ont été colligés avec une moyenne de 36 cas par an. Il s'agit de 93 femmes (52%) et 87 hommes (48%) (sex-ratio F/H : 1,06). L'âge moyen était de 51 ans (avec des extrêmes d'âge de 23mois et de 86 ans). Les patients provenaient de zones rurales dans 43 % des cas.

Répartition des patients selon l'âge et le sexe

Classe d'âge (ans)	Hommes	Femmes	Total	Pourcentage
< 25	4	5	9	5%
25-34	15	2	17	9,4%
35-44	7	15	22	12,2%
45-54	18	19	37	20,5%
55-64	20	21	41	22,9%
65 <	23	31	54	30



Répartition des patients selon l'âge et le sexe

Ø Données cliniques :

- Parmi les antécédents à l'origine d'une carence en vitamine B12 ou en acide folique, on notait : la prise d'anti-acides au long cours (oméprazole) chez douze sujets, la prise de phénobarbital (gardéнал) chez huit patients suivis pour épilepsie, la prise de biguanides (metformine) chez dix patients diabétiques de type 2 et la prise de méthotrexate chez trois patients.

Aucun individu n'avait d'antécédents de chirurgie digestive, en particulier de l'estomac ou de l'iléon terminal. Les apports en vitamine B12 ou en acide folique ont été difficilement appréciés.

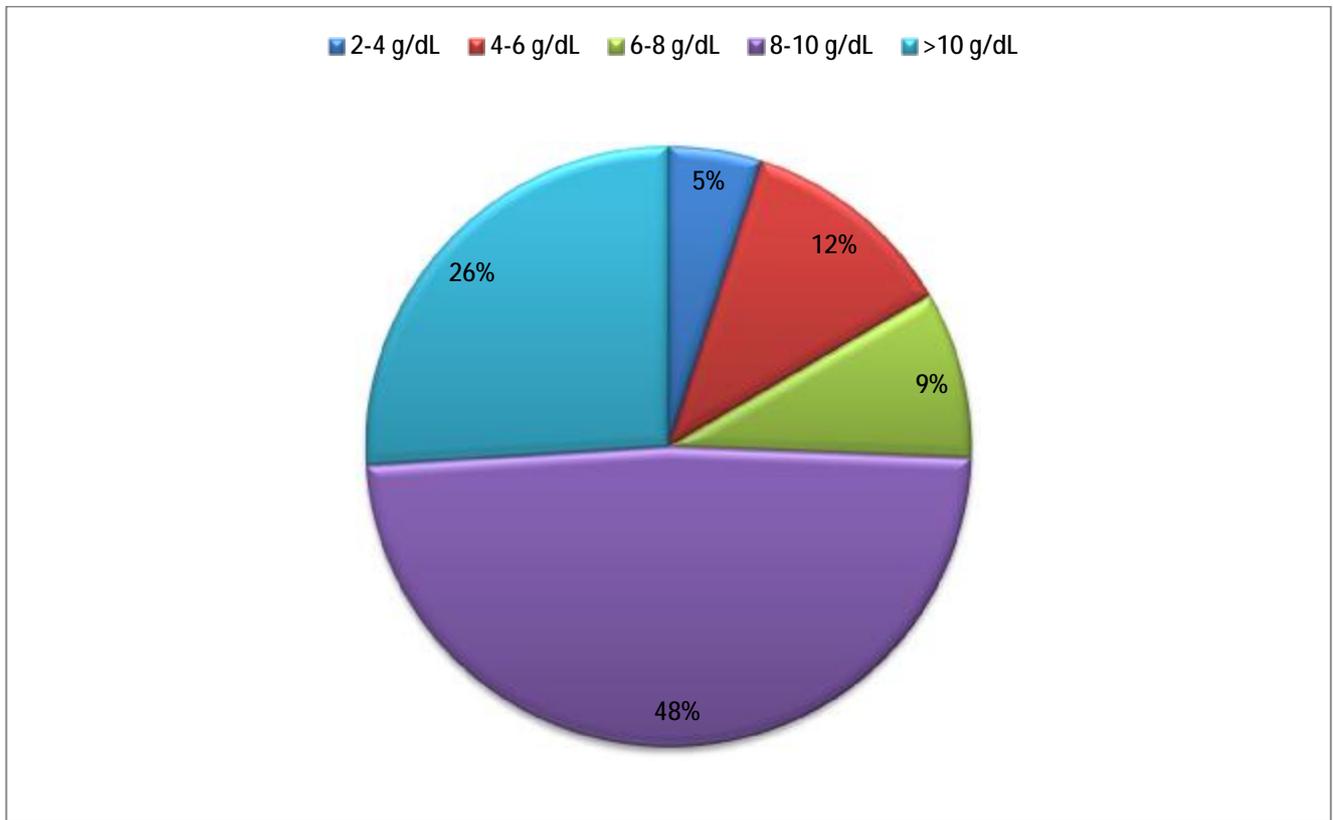
Antécédents de prise médicamenteuse chez les patients de notre série

Prise médicamenteuse	Effectif	Pourcentage
Anti-acides	12	6,6%
Biguanides	10	5,5%
Phénobarbital	8	4,4%
Méthotrexate	3	1,6%

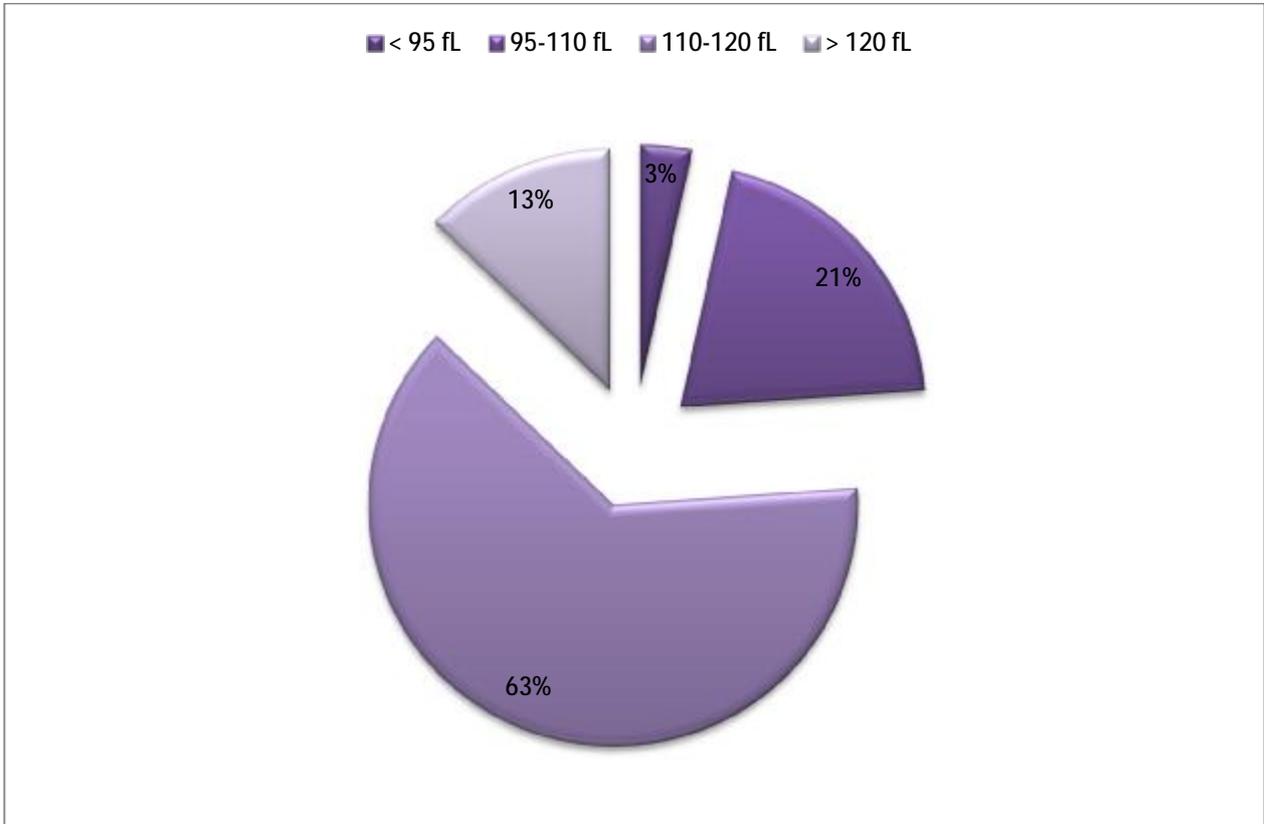
- Des signes cliniques rattachés à l'anémie à type d'asthénie, vertiges ou dyspnée étaient présents chez la majorité de nos patients (87%). Les manifestations digestives ont été retrouvées chez 39% des patients. Les manifestations neurologiques liées à la carence en vitamine B12 à type de paresthésies ou d'abolition des réflexes ostéo-tendineux ont été notées chez dix patients (5,3%). Un tableau compatible avec une sclérose combinée de la moelle était rapporté dans cinq observations (2,7%).

Ø Données biologiques :

- L'hémogramme de nos 180 patients révélait une anémie (définie par une hémoglobine inférieure à 12 g/dL) chez tous les sujets, avec une hémoglobine moyenne à 7,2 g/dL (extrêmes de 3,5 à 11,2 g/dL), un volume globulaire moyen (VGM) à 108,5 fL (extrêmes de 85 à 145 fL) et un nombre moyen de réticulocytes à 27000/mm³.

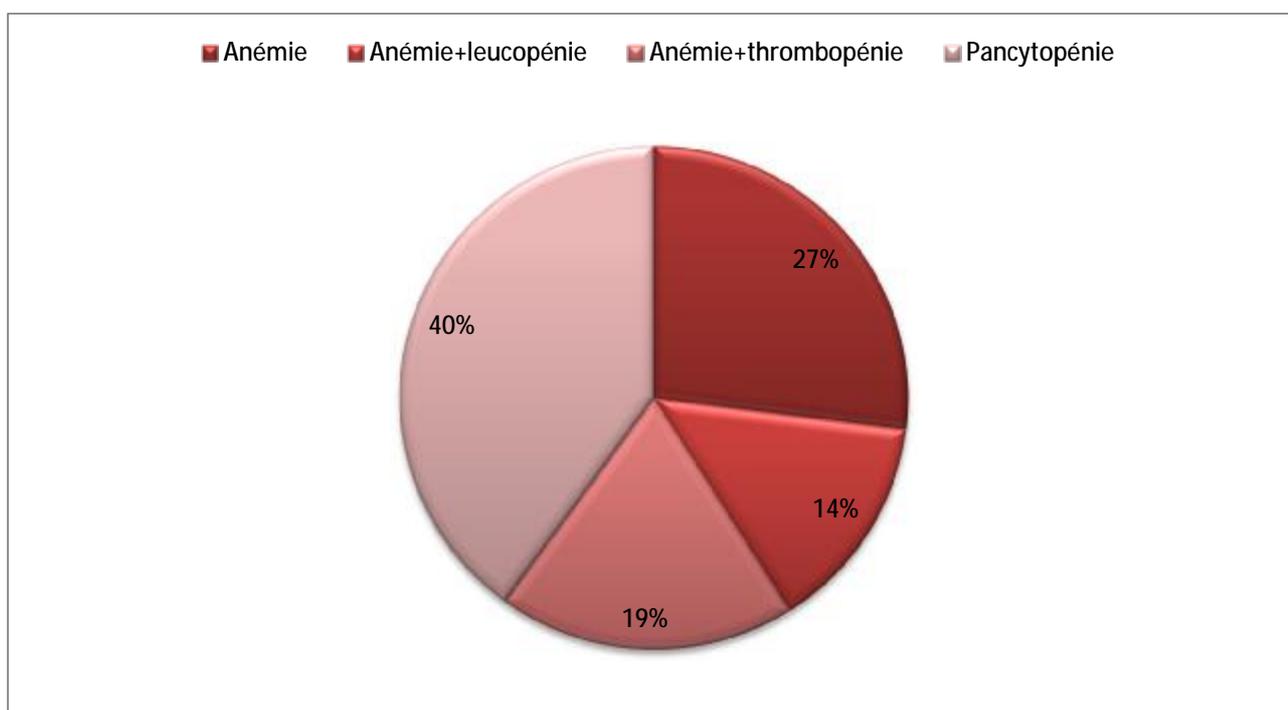


Répartition des patients selon les valeurs d'hémoglobine



Répartition des patients selon le VGM

- Une anémie isolée a été retrouvée dans 27% des cas. Une bicytopénie : une anémie associée à une leucopénie et une anémie associée à une thrombopénie ont été décrites dans 14% et 19% des cas respectivement. Une pancytopénie était présente chez 72 patients (40%).



Répartition des patients selon des anomalies de l'hémogramme

- L'examen du frottis sanguin a permis de montrer une hypersegmentation des polynucléaires neutrophiles dans 73% des cas. Les autres anomalies du frottis à type de : anisopoïkilocytose, macrocytes, ovalocytes, corps de Howell-Jolly étaient notées dans 71% des cas.

- Le myélogramme effectué chez tous les sujets mettait en évidence une mégaloblastose médullaire dans 135 cas (75%) avec une hyperplasie de la lignée érythroblastique, représentant en moyenne 51% du comptage cellulaire. Tous les stades de maturation érythroblastique sont représentés avec une prédominance des formes les plus jeunes (proérythroblastes et érythroblastes basophiles). Les anomalies les plus fréquemment retrouvées étaient : asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique, corps de Howell-Jolly, hypersegmentation des polynucléaires neutrophiles. Quant aux aspects de chromatine perlée ou de chromosome fragmenté des érythroblastes, de métamyélocytes de grande taille et de mégacaryocytes hypersegmentés, ils étaient un peu moins identifiés.

Donc l'analyse du frottis médullaire a montré dans tous les cas une moelle riche et bleue du fait de l'hyperbasophilie cytoplasmique. L'érythroblastose médullaire est accrue et les érythroblastes sont mégaloblastiques compatibles avec une anémie mégaloblastique, probablement décapitée par un traitement vitaminique dans quarante cinq cas.

- La vitamine B12 plasmatique moyenne était de 51,3 pg/mL avec des extrêmes de 0,3 à 122 pg/mL. La valeur moyenne du dosage des folates sériques était de 2,97 ng/mL avec des extrêmes de 1,1 à 3,6 ng/mL.

- La recherche d'anticorps anti-facteur intrinsèque (anti-FI) et d'anticorps anti-cellules pariétales gastriques (anti-CPG) a été réalisée chez 23 patients, et était positive chez quinze d'entre eux (positivité dans tous les cas de maladie de Biermer).

- La fibroscopie et les biopsies gastriques avaient été effectuées chez 31 sujets. Elles étaient en faveur d'une gastrite atrophique chez neuf individus (29%), normales dans quatre cas et compatibles avec une maladie de Biermer chez dix-huit patients (58%). Aucun cas d'infection à *Helicobacter pylori* (HP) n'a été retrouvé.

- Dans notre série, une carence en vitamine B12 a été retrouvée chez 142 patients (79%), tandis qu'une carence en acide folique était présente chez 21 sujets (12%). On note que tous les cas carencés en vitamine B9 étaient associés également à une carence en cobalamine.

En ce qui concerne la vitamine B12, le diagnostic retenu est celui de : carence d'apport en vitamine B12 chez 85 patients, de la maladie de Biermer chez dix-huit sujets et de la non-dissociation de la vitamine B12 de sa protéine porteuse chez 39 patients.

Les non-dissociations de la vitamine B12 de sa protéine porteuse (n=39) étaient rattachées à : une gastrite atrophique (n=9), la prise de

phénobarbital (gardéнал) (n=8), la prise d'anti-acides (oméprazole) (n=12) et un traitement par biguanides (metformine) (n=10).

Quant à la carence en acide folique, elle était liée à une prise médicamenteuse dans dix cas : prise de phénobarbital (gardéнал) chez sept patients et de méthotrexate chez trois patients, et à un apport alimentaire insuffisant chez les onze autres patients.

Etiologies des carences vitaminiques retrouvées dans notre série

Etiologies de la carence vitaminique	Vitamine B12	Vitamine B9
Carence d'apport	47,2%	6,1%
Maladie de Biermer	10%	
Non dissociation de la vitamine B12 sa protéine porteuse	21,6%	
Prise médicamenteuse	16,6%	5,5%

Ø Traitement et suivi :

Soixante et un patients ont été transfusés par des culots globulaires devant des chiffres bas de l'hémoglobine.

Cent trente sept patients ont reçu une supplémentation par vitamine B12 par voie intramusculaire selon le schéma usuel 1000 µg/j pendant une semaine, puis 1000µg chaque mois.

Une supplémentation en acide folique a été instaurée chez 21 patients par voie orale à la dose de 5 à 15 mg par jour.

On a noté une normalisation de l'hémogramme dans tous les cas traités (patients revus dans un délai de trois à six mois).

DISCUSSION

Les vitamines B12 (cobalamine) et B9 (folates) sont des cofacteurs essentiels et étroitement liés de plusieurs séquences métaboliques chez l'homme. Par leur rôle dans la synthèse des acides nucléiques, leur carence aura des répercussions sur l'ensemble des tissus à renouvellement rapide, et en particulier le tissu hématopoïétique [1].

Après un rappel sur le métabolisme de la vitamine B12 et de l'acide folique, nous évoquerons les effets de la carence de ces deux vitamines sur la synthèse de l'ADN et discuterons par la suite les résultats de notre étude à la lumière des données de la littérature.

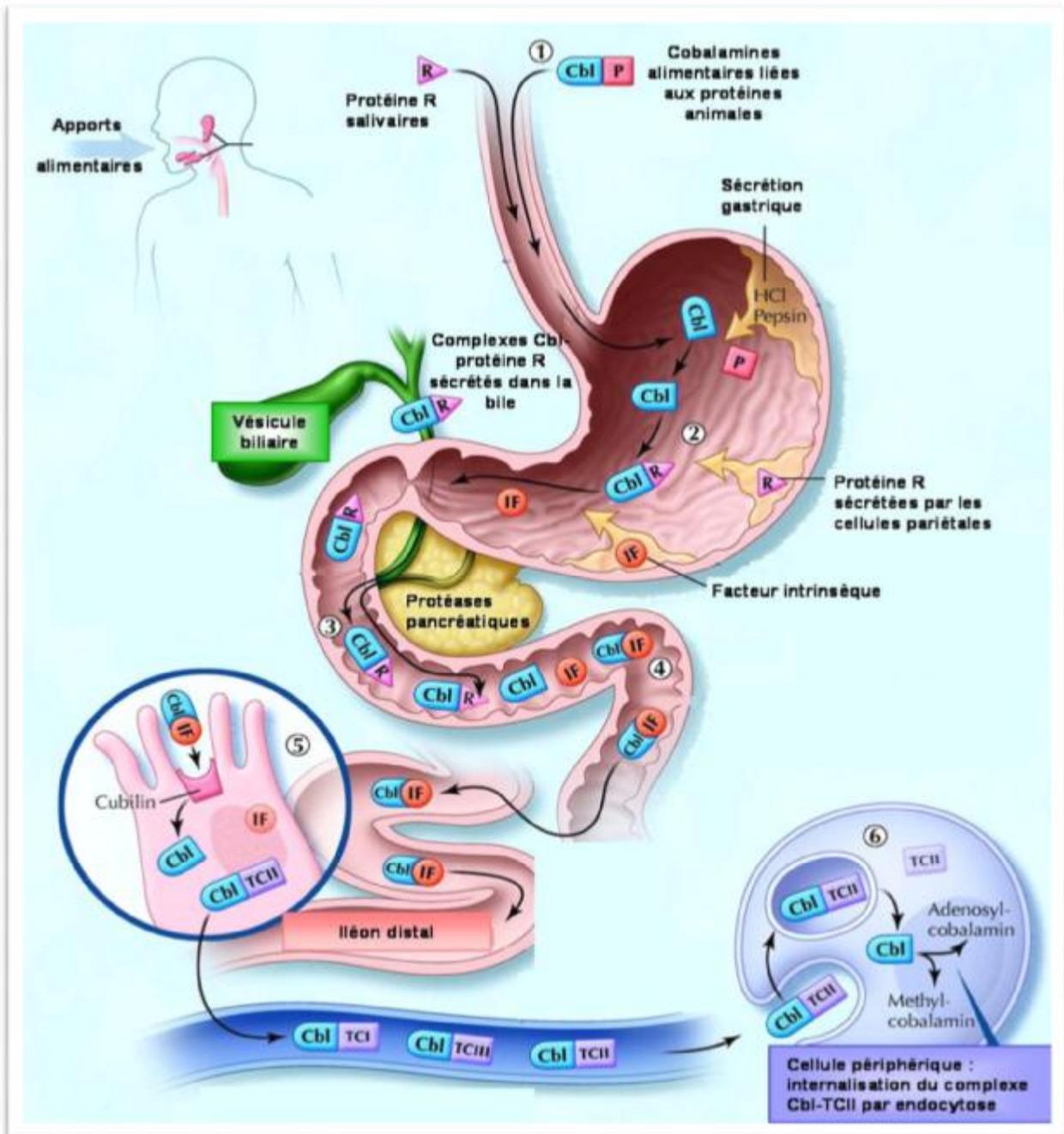
Ø Métabolisme de la vitamine B12 [1,2] :

La vitamine B12 est apportée exclusivement par l'alimentation. Les besoins journaliers sont estimés entre 2 et 5 µg. La vitamine B12 est initialement liée à des protéines alimentaires. Elle en est dissociée sous l'influence de l'acidité gastrique puis liée aux haptocorrines («cobalophilines» ou «R-protéines»), glycoprotéines porteuses présentes dans les sécrétions salivaires et gastriques. Dans le duodénum, ces protéines sont progressivement digérées et la vitamine B12 est alors liée au facteur intrinsèque (FI), sous l'effet des sécrétions biliaires et pancréatiques. Le complexe ainsi formé se lie au niveau de l'iléon terminal à son récepteur, la cubuline et après endocytose, la vitamine B12 est dissociée du facteur intrinsèque et se lie principalement à la transcobalamine de type II [3]. Le complexe ainsi formé, nommé holotranscobalamine II, passe dans la circulation sanguine et assure le

transport de la vitamine B12 aux cellules tissulaires. Les réserves hépatiques (> 1,5 mg) et l'existence d'un cycle entérohépatique expliquent le délai de 5 à 10 ans entre l'installation d'un déficit en vitamine B12 et l'apparition de manifestations cliniques. En pratique, plus de 1 % de la vitamine B12 est absorbé selon les individus par un mécanisme de diffusion passive, mécanisme qui est à la base du traitement par voie orale des carences en cobalamine [4,5]. Au niveau cellulaire, la vitamine B12 est un cofacteur et une coenzyme de nombreuses réactions biochimiques incluant la synthèse de l'ADN et la synthèse de méthionine à partir de l'homocystéine [6]. Les cobalamines interviennent dans deux réactions, à savoir comme cofacteur vitaminique de la méthyl-malonylCoA mutase d'une part, et de la méthionine synthétase de l'autre. Dans cette dernière activité, la cobalamine intervient comme cofacteur du transfert du radical méthyle (méthyltransférase), dépendant de la disponibilité en N5 méthyl tétrahydrofolate (THF). La carence en vitamine B12 ne ralentit la synthèse des bases puriques qu'en «piégeant» le N5 méthyl THF à cette étape de son métabolisme. L'augmentation de l'homocystéine plasmatique est le reflet direct de ce «piège métabolique».

La carence en vitamine B12, via l'altération de la synthèse de l'ADN, affecte principalement les tissus à renouvellement rapide [4,5,6]. Au niveau médullaire, elle est responsable d'une mort cellulaire

prématurée particulièrement des précurseurs érythroïdes et donc d'une érythropoïèse inefficace par « avortement intra-médullaire » [6,7].



Mécanisme d'absorption de la vitamine B12.

- (1) Les cobalamines (Cbl) alimentaires issus de l'alimentation d'origine animale se dirigent vers l'estomac sous forme liées aux protéines animales (P).
- (2) Sous l'action de la pepsine et de l'acide chlorhydrique (HCl) dans l'estomac, les Cbl sont libérées de leur support protéique et se lient aux protéines R (R).
- (3) Dans le duodénum, les Cbl alimentaires liées aux protéines R et les complexes Cbl-protéine R sécrétés dans la bile sont soumis à l'action des enzymes pancréatiques qui dégradent les protéines R et permettent la libération des Cbl.
- (4) Les Cbl se lient au facteur intrinsèque (FI).
- (5) Dans l'iléon distal, les complexes Cbl-FI se fixent à la cubiline et la cobalamine libérée se lie à la transcobalamine II (TCII) nécessaire au transport via le système porte.
- (6) Dans les cellules périphériques, les complexes Cbl-TCII sont internalisés par endocytose et la Cbl libérée dans le compartiment lysosomal est transformée en méthylcobalamine (méthyl-Cbl) et adénosylcobalamine (Ado-Cbl), deux formes coenzymes actives.

Ø Métabolisme des folates :

Les folates ou vitamine B9 sont des vitamines hydrosolubles.

L'acide folique est formé par la liaison d'une molécule d'acide ptéroïque à une molécule d'acide glutamique : l'acide ptéroylmonoglutamique, de poids moléculaire égal à 441 (monoglutamate). Les précurseurs apportés par l'alimentation sont sous forme de polyglutamates. Les monoglutamates sont les formes biologiquement actives, elles agissent in vivo sous forme non oxydée, réduite avec 2 atomes d'hydrogène (DHF : acide dihydrofolique) ou 4 atomes d'hydrogène (THF : acide tétrahydrofolique). L'ajout de radicaux monocarbonés donne différentes formes dont N5 formyl THF (acide folique), N5 méthyl THF, N5 N10 méthylène THF (les folates sont des « transporteurs d'unités monocarbonées ») [8].

Les apports sont exclusivement d'origine alimentaire. Les aliments les plus riches sont les légumes à feuilles vertes (folate : folium = feuille en latin) et les salades, puis le foie, les fruits, les graines, les fromages et les oeufs.

Les folates étant très labiles, il faut tenir compte de la décroissance de la teneur des aliments avec le stockage et surtout la cuisson.

L'absorption digestive a lieu au niveau du grêle proximal. Après déconjugaison des polyglutamates, les monoglutamates sont réduits en tétrahydrofolates (THF) puis convertis en N5-méthyl-THF qui est la forme unique d'absorption [7,8].

Des conjugases, dont une présente au niveau de la bordure en brosse des entérocytes de l'intestin grêle, permettent son absorption sous forme de monoglutamate. Il existe un système de transport intestinal spécifique, cotransport activé par les gradients d'ion H⁺. Comme il existe un cycle entéro-hépatique, les quantités qui sont absorbées chaque jour sont supérieures aux quantités ingérées. Ainsi même si l'apport quotidien n'est que de 50 mg, c'est un minimum de 150 mg qui devra être réabsorbé. Le fait qu'il existe plusieurs étapes mettant en jeu l'entérocyte et l'existence de ce cycle explique qu'une maladie digestive avec lésion du grêle comme la maladie cœliaque entraînera plus rapidement une déficience qu'une simple carence d'apport.

En début de grossesse, au moment de l'organogenèse, une carence maternelle en acide folique augmente le risque de certaines anomalies du système nerveux central telles les spina bifida [8,9].

Dans le sang, la forme circulante principale est le N⁵ méthyl THF, les folates sont à un taux 20 fois plus élevés dans les hématies que dans le plasma.

Le bilan des folates est en équilibre fragile [9,10,11] :

- les apports quotidiens sont largement suffisants pour satisfaire aux besoins.

- les besoins quotidiens sont de 100 à 400 µg.

- les pertes sont très faibles,

- les réserves totales sont peu importantes.

Les besoins augmentés (grossesse, croissance, hyperérythroïèse) nécessiteront donc souvent une thérapeutique de supplémentation.

Les réserves étant faibles, les carences sont multiples (malnutris, éthyliques, vieillards, cancéreux, grossesses multiples, anémies hémolytiques chroniques) [8,10].

Le rôle physiologique général des folates est celui de transporteurs d'unités monocarbonés nécessaires à un grand nombre de réactions métaboliques [4,5,6].

Ils ont une action dans :

1 - La conversion de l'homocystéine en méthionine

Une augmentation de l'homocystéinémie est considérée actuellement comme un facteur de risque cardiovasculaire. Plusieurs études ont mis en évidence une forte corrélation inverse entre le niveau de folates circulants (ou même des folates ingérés) et l'homocystéinémie.

Cette action permet également la transformation du méthyl THF qui vient d'être absorbé en THF, permettant ainsi les autres actions des folates. La vitamine B12 est nécessaire à cette réaction [12].

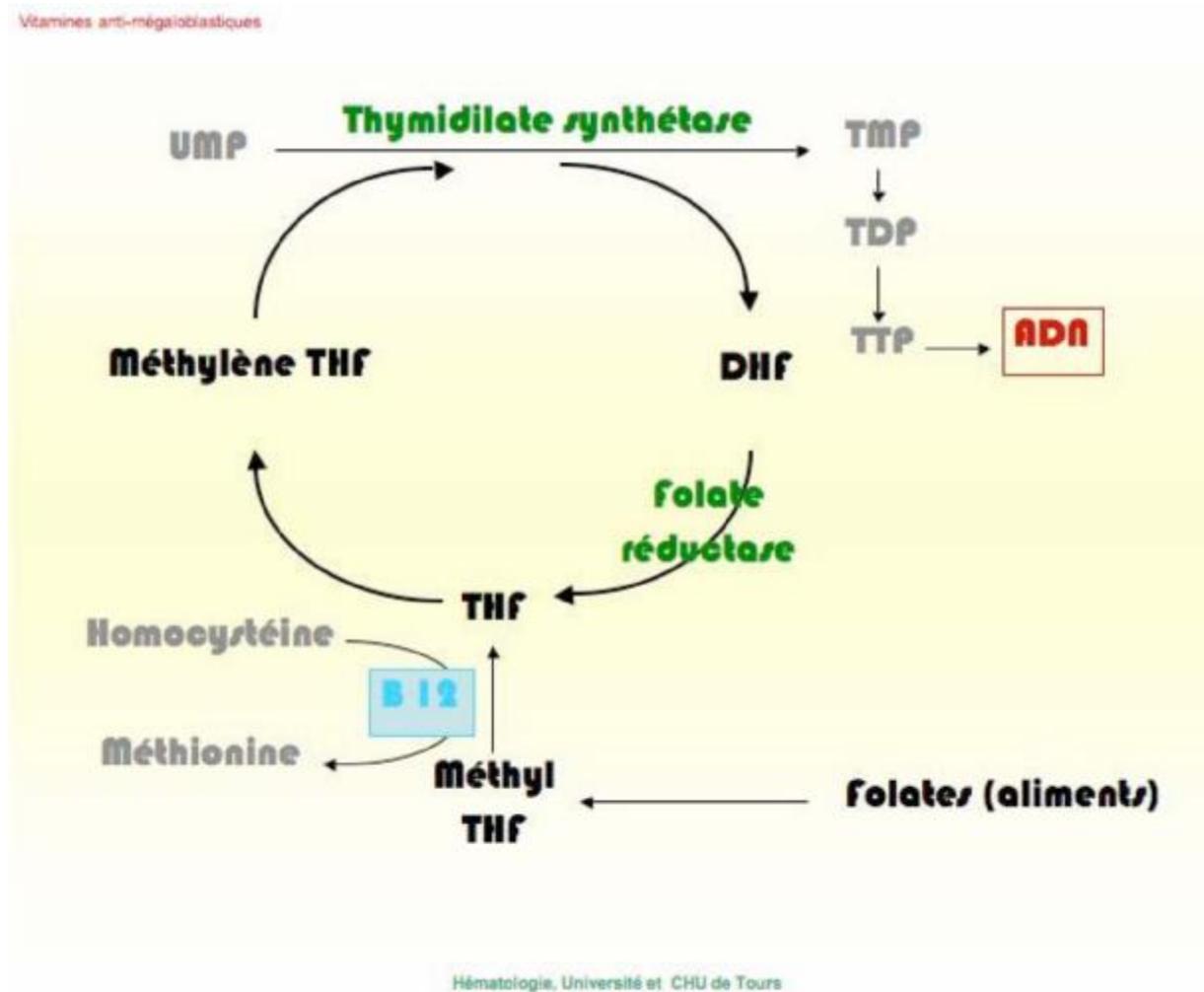
2 - La synthèse de l'ADN :

La synthèse de l'acide thymidilique (thymidine monophosphate TMP) à partir de l'uridine monophosphate (UMP) se fait grâce à l'action de la thymidilate synthétase qui est sous la dépendance des folates [8,12].

La valeur érythrocytaire serait un meilleur reflet d'une carence que le dosage plasmatique:

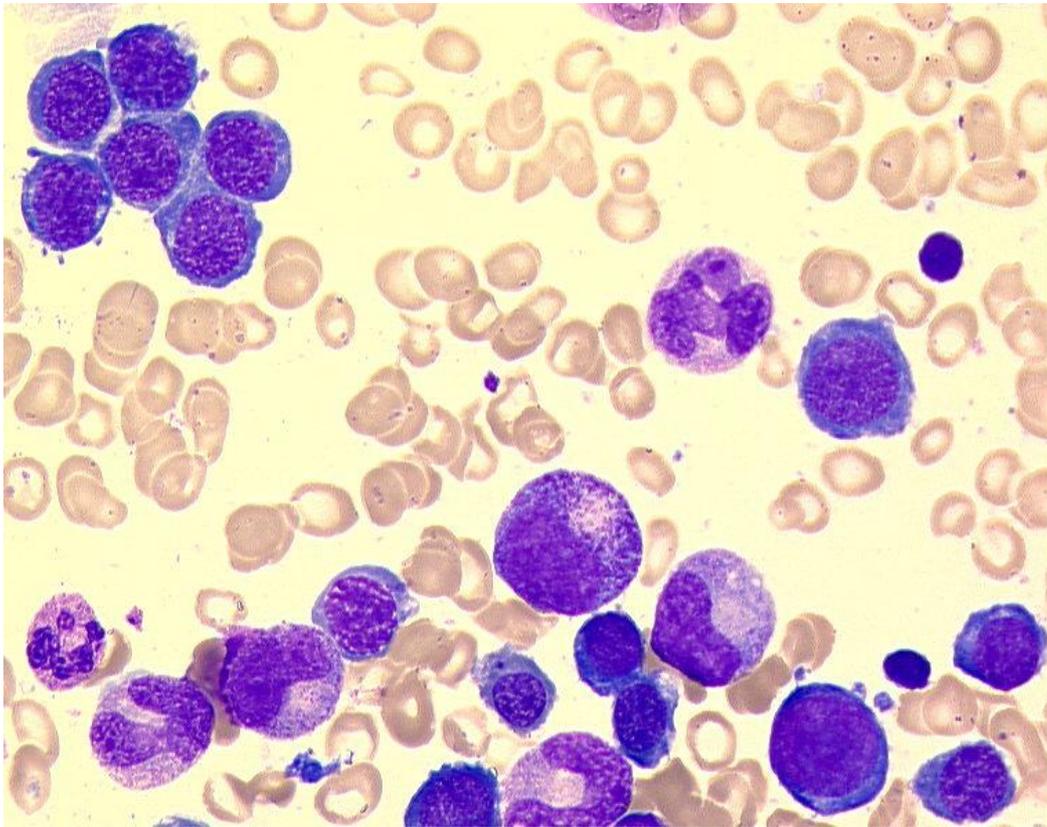
Folates érythrocytaires : 160 à 640 ng/ml

Folates sériques : 5 à 20 ng/ml



Rôle physiologique des vitamines B12 et B9

La conséquence commune des modes d'action de la vitamine B12 et des folates est d'intervenir au niveau cellulaire dans la synthèse de l'ADN sans intervenir dans celle de l'ARN. Une carence se traduira par un trouble cellulaire très particulier dans lequel le noyau et la division cellulaire (ADN) seront affectés alors que le cytoplasme et la maturation cellulaire (synthèse protéique, ARN) seront peu touchés. Il s'agit d'un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique qui définit le terme de mégalo blastose avec à l'hémogramme : VGM élevé, TCHM élevé, CCHM normal. La connaissance des métabolismes de la vitamine B12 et des folates permet de comprendre les causes et les thérapeutiques possibles des anémies mégalo blastiques [12,13,14].



Frottis médullaire montrant des mégalo blasts avec un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique touchant toutes les lignées prédominant sur les érythroblastes et un polynucléaire neutrophile hypersegmenté

Ces dernières renferment deux grands groupes étiologiques : les anémies mégalo-blastiques d'origine carencielle (B12 et/ou folates) et les autres étiologies dominées par les états myélodysplasiques primitifs (état pré-leucémique). Les étiologies des anémies mégalo-blastiques sont différentes en fonction du type de carence. Pour la vitamine B12, la maladie de Biermer domine très largement. Elle comporte une symptomatologie digestive et neurologique, et elle se caractérise par des marques d'auto-immunité à l'origine d'une gastrite atrophique. Celle-ci est responsable d'une achlorhydrie et de l'absence de facteur intrinsèque gastrique ce qui aboutit à une malabsorption complète au niveau de l'iléon terminal [14,15].

La carence en folates est la deuxième cause d'anémie nutritionnelle dans le monde. Elle est fréquemment associée à une carence en fer. Elles sont beaucoup plus diversifiées: carence alimentaire, défaut d'absorption du grêle proximal, utilisation excessive (hémolyse, grossesse), toxicité médicamenteuse [8].

Le diagnostic de carence vitaminique n'est pas toujours aisé sur les symptômes cliniques et les critères biologiques représentent donc un élément précieux [16].

Les traitements substitutifs sont bien codifiés : par voie parentérale le plus souvent et à vie pour la B12, le plus souvent per os avec une durée variable en fonction de l'étiologie pour les folates [4,11].

Sur le plan biologique, l'anémie macrocytaire est le signe le plus évocateur de la carence : elle est le plus souvent arégénérative, sauf dans les carences en B12 et en folates en cours de traitement. Un VGM normal se voit dans 10% des anémies mégaloblastiques. Chez l'enfant entre 6 mois et 10ans, la microcytose est la règle et un VGM à 90 fL est suspect. La macrocytose manque également lorsqu'il y a une carence martiale associée. Avant l'anémie, il y a souvent une leucopénie et une thrombopénie [17,18].

Un autre signe d'appel est sur le frottis sanguin, une hypersegmentation des polynucléaires neutrophiles, très spécifique de ces anémies carencielles [19,20].

Mais, toutes les macrocytoses ne sont pas dues à une carence vitaminique : elles peuvent être liées à une anomalie de synthèse de l'ADN congénitale, toxique ou néoplasique, comme dans les myélodysplasies ou les leucémies aiguës [18].

Les anémies macrocytaires : carences en vitamine B12 et carences en acide folique

	Vitamine B12	Acide folique
Source alimentaire	Foie Fruits de mer Poissons Laitages	Foie Légumes verts crus Levure de bière Chocolat Fruits secs
Besoins quotidiens	2 à 12 µg	200 µg
Apports quotidiens	3 à 30 µg	500 µg
Réserves	5 mg dans le foie (+++), les reins, le pancréas	7 à 15 mg
Pertes quotidiennes	0,1 % des réserves éliminées dans les selles ou les urines	10 µg éliminées dans les urines
Carences	Longues à s'installer (de 2 à 4 ans)	Rapides à s'installer (environ 4 mois)

Les dosages sanguins de la vitamine B12 et des folates constituent le principal moyen d'établir le diagnostic de carence. Il vaut mieux doser les deux vitamines, en raison des interactions entre elles et des possibilités de double carence [21,22]. On doit doser également les folates érythrocytaires, de concentration 20 à 30 fois supérieure à celles des folates sériques. Ils sont le reflet des réserves tissulaires, alors que les folates sériques sont un reflet instantané des folates circulants [5,18].

Dans notre étude, l'anémie par carence en vitamine B12 et/ou folates est légèrement prédominante chez le sexe féminin (sex-ratio F/H : 1,06) avec un âge moyen de 51 ans. Une étude similaire a été menée dans la région de Marrakech concernant l'anémie par carence en cobalamine a retrouvé également une prédominance féminine avec un sexe-ratio F/H de 1,3 et un âge moyen de 62 ans [23].

- Nous notons une sévérité des manifestations hématologiques : en effet, l'anémie était présente chez tous nos patients (taux d'hémoglobine moyen à 7,2 g/dL). Ce taux est plus bas que celui retrouvé dans la série de Fédérici et al (Hb à 10,3 g/dL), contrairement aux valeurs de VGM qui étaient plus élevées dans notre série avec une moyenne de 108,5 fL (98,9 fL dans la série de Fédérici L). La pancytopénie était retrouvée chez 40% des sujets, ce taux est plus important que celui de Nafil et al, d'Andrès et al. et Fédérici et al. (17,3% 5% et 5% respectivement) [23,24,25].

En revanche, nos résultats rejoignent ceux rapportés par Braham-Jmili et al, où le taux d'hémoglobine était inférieur à 4 g/dL chez 19,5 % des patients et la pancytopénie était retrouvée chez 39,5 % des patients [26].

- Sur les frottis sanguins, on a noté l'hypersegmentation des polynucléaires neutrophiles dans 73% des cas, et les autres anomalies type (corps de Jolly, ovalocytoses...) dans 71% des cas, alors que dans

la série de Fédérici et al ils étaient présents dans moins de 10 % des cas [24].

- Enfin, il est à signaler qu'une mégaloblastose médullaire était observée dans 75 % des cas, ce pourcentage rejoint celui de Fédérici et al avec un taux de 60% [24].

Ces résultats peuvent être expliqués par le retard de consultation des malades, car l'anémie est d'installation lente et est souvent bien tolérée. Un autre facteur est le problème d'accès de la population marocaine aux structures de soins spécialisées (43% de nos patients étaient d'origine rurale).

- En dehors des troubles hématologiques, les signes neurologiques sont classiques au cours des carences en vitamine B12 et leur fréquence est diversement appréciée. Dans les séries de Heaton et al. [27] et d'Andrès et al. [28], les troubles neurologiques sont rapportés chez deux malades sur trois.

Dans la série de Braham-Jmili et al. [26], leur fréquence est de 23 % et elle est de 17,3 % et de 25% dans la série de Nafil et al. Et Maamar et al respectivement [23,29]. Dans notre étude, les troubles neurologiques retrouvés sont nettement inférieurs avec un taux de 8,4 %.

- Le développement de techniques de dosage automatisées de la cobalamine a permis d'établir une définition standardisée de la carence (niveau de cobalamine inférieur à 200 pg/mL, confirmé à deux reprises).

Cependant, il a été démontré que le dosage sérique de la vitamine B12 a une sensibilité limitée pour détecter les carences débutantes.

Le diagnostic de carence infra-clinique en vitamine B12 doit se baser sur le dosage l'acide méthylmalonique ou de l'homocystéine [10,30].

Cependant, le diagnostic de carence en vitamine B12 repose essentiellement sur le dosage de la vitamine B12 sérique. On admet comme anormalement bas et traduisant une carence, avec une sensibilité de 97 %, les chiffres inférieurs à 160 pg/ml. Au-dessus de 300 pg/ml la carence est peu vraisemblable, entre 200 et 300 pg/mL, la carence est possible [30,31].

Dans notre série, la vitamine B12 sérique moyenne était de 51,3 pg/mL alors qu'elle était de 72 pg/mL et inférieure à 83 ± 24 pg/mL dans les cohortes de Nafil H et al, et d'Andrès E et al respectivement [23,17]. La confirmation du déficit vitaminique en B12 doit conduire alors à la recherche d'anticorps anti-FI et d'anticorps anti-CPG signant le conflit auto-immun responsable de la carence et permettant ainsi d'affirmer le diagnostic de la maladie de Biermer [32,33,34]. - Les anticorps antif-FI et d'anticorps anti-CPG étaient présents chez quinze de nos patients (65% de l'échantillon étudié), alors qu'ils furent retrouvés chez 52 cas (43%) de la série de Nafil H et al et cinq sujets (25%) de la série d'Andrès E et al [23,34].

- L'endoscopie gastroduodénale avec biopsies gastriques, fundiques et antrales sont réalisées chez 31 patients à la recherche d'une atrophie, de son étendue, de la présence d'*Helicobacter pylori* (HP) et biopsies duodénales à la recherche d'une atrophie villositaire. L'endoscopie a permis de mettre en évidence une gastrite atrophique chez neuf individus (29%) et un aspect compatible avec une maladie de Biermer dans dix huit cas (58%). Aucun cas d'infection à HP n'a été retrouvé. Le diagnostic est basé sur les spécificités endoscopiques et anatomopathologiques de la maladie et sur la recherche des anticorps anti-FI et anti-CPG.

Dans la littérature, la maladie de Biermer représente 20 à 50 % des étiologies des carences en vitamine B12 chez l'adulte. Il s'agit d'une affection auto-immune caractérisée par la présence d'une gastrite atrophique auto-immune, de divers anticorps, et qui s'accompagne d'une malabsorption de la vitamine B12 réversible en présence de FI [32,33]. Elle peut être associée à plusieurs désordres auto-immuns (vitiligo, dysthyroïdies, insuffisance surrénalienne auto-immune, syndrome de Sjögren). L'évolution de cette maladie est marquée au long cours par l'apparition de néoplasmes gastriques [33,34]. Le taux de la maladie de Biermer retrouvé dans l'échantillon étudié (58%) s'approche de celui des études de Nafil et al (43%) et de Maamar et al (42,5%), et est concordant avec celui de la littérature [33].

Le syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses représente 21,6% des causes retenues dans notre série. Nos résultats sont inférieurs par rapport aux données de l'étude de Nafil et al et aux données de la littérature occidentale, puisque ce syndrome représente entre 50 et 60 % des causes de carence en vitamine B12 [23,35]. Le syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 occupe actuellement la première place parmi les étiologies des carences en cobalamine chez la personne âgée. Sa principale cause est l'atrophie gastrique, en rapport ou non avec une infection à HP [36,37], suivie par la prise médicamenteuse.

L'association de l'infection à HP et de la maladie de Biermer n'est pas parfaitement élucidée, néanmoins certaines hypothèses physiopathologiques sont évoquées. Il est possible que l'HP intervienne à un stade précoce de la gastrite auto-immune, suivi d'une éradication spontanée du fait de l'achlorhydrie [38,39]. On a aussi évoqué un mimétisme antigénique entre des épitopes de l'HP et des épitopes de la pompe H⁺/K⁺ avec un déclenchement de la gastrite auto-immune par l'infection à HP chez des sujets génétiquement prédisposés [40].

Carmel et al. [41], a montré que l'infection à HP était retrouvée chez 78,4 % des patients avec malabsorption sévère de la vitamine B12. L'HP induit une gastrite atrophique entraînant la destruction des cellules pariétales qui produisent le FI. Celui-ci est indispensable pour l'absorption de la vitamine B12 [42]. Par ailleurs, l'infection à HP est plus

élevée dans les pays en voie de développement (71 % au Maroc, 78% en Algérie, 69 % en Côte d'Ivoire) [43], ce qui peut expliquer que la carence en vitamine B12 et ses conséquences soient plus importantes.

Chez les patients infectés par l'HP, un dosage de la vitamine B12 s'impose et des précautions semblent nécessaires pour éviter les conséquences graves de la carence vitaminique. Cela rejoint les mesures préventives telles que l'amélioration des conditions d'hygiène et l'éducation de la population [44].

En raison des limites de notre étude sur le plan épidémiologique (rétrospective, recrutement uniquement hospitalier et la recherche non systématique de l'HP devant la carence en vitamine B12), des études prospectives portant sur un plus grand nombre de patients s'avèrent nécessaires.

- La carence en folates est le mécanisme le plus fréquent des anémies mégaloblastiques par carence vitaminique.

Ses étiologies sont multiples. Les carences d'apport (malnutrition, cuisson excessive des aliments détruisant les folates) affectent 10 % de la population mondiale [45]. Les malabsorptions sont retrouvées dans la maladie coeliaque, les résections jéjunales, la sprue tropicale, la maladie de Crohn. Les carences en folates sont également retrouvées lors d'augmentation des besoins dans certains états physiologiques (grossesse, allaitement, prématurité) ou pathologique (hyperactivité médullaire lors d'anémies hémolytiques ou de proliférations cellulaires

malignes, maladies inflammatoires) [46,47,48]. Les carences d'utilisation sont rencontrées au cours de l'éthylisme chronique par trouble du métabolisme hépatique et au cours de la sénescence. Des carences aiguës sont retrouvées chez les malades de réanimation. Certains médicaments, notamment la phénytoïne, le phénobarbital, les contraceptifs oraux, les sulfamides, le méthotrexate et les antimétabolites perturbent le métabolisme des folates [49]. Enfin, des anomalies congénitales de type déficit enzymatique ou malabsorption congénitale peuvent être retrouvées [50].

La carence en folates a des manifestations hématologiques mais aussi cliniques. On peut observer une atrophie des épithéliums responsable de glossite [47] et de diarrhées, des signes neurologiques [50] comme un syndrome de sclérose combinée de la moelle, des neuropathies périphériques qui peuvent être le seul signe de carence, des manifestations psychiatriques (dépression) et cardio-vasculaires à type de thromboses et d'athérosclérose [51]. Mais l'essentiel du tableau clinique est souvent représenté par le syndrome anémique qui se développe progressivement.

A la différence du diagnostic de déficit en cobalamine, le diagnostic de carence en acide folique repose sur le dosage des folates érythrocytaires qui est plus contributif que les valeurs plasmatiques. Dans notre étude, nous nous sommes basés sur les valeurs sériques en raison de contraintes techniques. En pratique, une diminution des

folates sériques au-dessous de 2 ng/mL signe l'existence d'une carence, un chiffre supérieur à 4 ng/mL permet de l'éliminer, mais un chiffre intermédiaire ne permet pas de conclure [4,5,8]. Dans notre série, la valeur moyenne du dosage des folates sériques était de 2,97 ng/mL.

Sur les vingt et un cas de carence en folates de notre série (11,6%), dix étaient dus à une prise médicamenteuse et onze à un défaut d'apport. Ce taux est inférieur à celui de l'étude de Boles JM et al qui est de 43,5% [48].

- La prise en charge passe prioritairement par l'évaluation du degré d'urgence et du risque vital en rapport avec la manifestation la plus classique du déficit en cobalamine et/ou en acide folique qu'est l'anémie. En effet, et notamment chez le sujet âgé, une baisse modérée du taux d'hémoglobine peut être d'une gravité particulière si elle s'accompagne d'une décompensation d'une fonction vitale cardiovasculaire, neurologique ou respiratoire. Une hospitalisation et une transfusion sanguine sans délai deviennent alors nécessaires.

La supplémentation en vitamine B12 peut être faite aussi bien par voie orale que parentérale [52]. La voie orale est, en effet, de plus en plus utilisée depuis la description du syndrome de malabsorption et la compréhension des mécanismes physiopathologiques des principales étiologies, y compris dans le cadre de la maladie de Biermer [53]. La dose préconisée per os est de 1000 à 2000 µg/jour comme dose

d'attaque suivie d'un relais à la posologie de 125 à 1000 µg/jour [53,54]. Quand la vitamine B12 est administrée par voie intramusculaire, la dose d'attaque est de 1 000 µg/jour et celle d'entretien de 1 000 µg/mois. La durée de la supplémentation dépend de l'étiologie. Elle est à vie dans la maladie de Biermer.

En ce qui concerne l'acide folique, une dose de 1 à 5 mg/jour pour une durée de 3 à 6 mois est généralement suffisante [54,55,56].

Un régime alimentaire quantitativement et qualitativement équilibré reste le meilleur moyen de prévenir la survenue de carences vitaminiques. Chez la personne âgée, une supplémentation préventive est parfois nécessaire pour les vitamines B12 et B9 [6,7]. La surconsommation d'alcool doit être également évitée dans le cadre de la prévention des carences en acide folique et en vitamines du groupe B [57].

CONCLUSION

La carence en vitamine B12 (cobalamine) et/ou folates est fréquente chez l'adulte, notamment chez les sujets âgés, mais reste souvent méconnue voire inexplorée, essentiellement en raison de manifestations cliniques frustes. Néanmoins, la gravité potentielle de ses complications, en particulier hématologiques (pancytopénie), mais également neurologiques (sclérose combinée médullaire) invite à la rechercher systématiquement, particulièrement dans toute situation faisant évoquer une carence vitaminique ou nutritionnelle.

Au moindre doute, il ne faut donc pas hésiter à authentifier et documenter une carence en vitamine B12 et/ou B9.

Aux débuts des dosages immunochimiques, les dosages vitaminiques étaient à la fois longs et fastidieux dans leur réalisation et manquaient aussi de fiabilité. Le myélogramme permettait d'avoir un résultat plus rapidement voire plus sûr. Actuellement, les dosages de vitamines sont sensibles et spécifiques et les résultats sont obtenus en quelques heures. Par ailleurs, il s'agit d'un examen non invasif. C'est pourquoi nous proposons d'effectuer en première intention les dosages vitaminiques adéquats puis, en l'absence d'argument pour une hémopathie ou un envahissement médullaire, d'instaurer une supplémentation vitaminique et de vérifier son efficacité par une numération des réticulocytes à J10, le myélogramme devenant dans ce cas un examen de deuxième intention.

La supplémentation de la vitamine B12 par voie orale nous semble particulièrement intéressante car elle permet un amendement rapide (dans le mois) des anomalies biologiques. Il est à noter que l'efficacité à long terme de l'administration orale de vitamine B12 n'est pas encore démontrée. Sur le plan pratique, remarquons également que l'efficacité de la voie orale dans les formes hématologiques mettant potentiellement en jeu le pronostic vital demande à être confirmée. De ce fait, des études sont actuellement en cours pour déterminer les modalités et l'efficacité au long cours de la vitamine B12 administrée par voie orale.

RESUME

INTRODUCTION :

Nous avons mené une étude rétrospective au laboratoire d'hématologie afin de décrire le profil épidémiologique, clinique et biologique des anémies mégaloblastiques au CHU Hassan II de Fès. Cette étude est étalée sur une période de cinq ans, allant de Janvier 2009 à Décembre 2013.

PATIENTS ET METHODES :

Nous avons recensé cent quatre vingts patients au CHU Hassan II de Fès dans les différents services. Le profil de ces patients répondait aux critères suivants :

Hémoglobine < 12 g/dl, absence de transfusion sanguine récente dans les antécédents. Les concentrations sanguines en folates et en vitamine B12 ont été déterminées dans la plupart des cas.

RESULTATS :

Cent quatre vingts observations ont été analysées. L'âge moyen des patients est de 51 ans et le sex-ratio est de 1,06 F/H. Les symptômes sont hématologiques liés essentiellement à une pancytopenie (n=72) et/ou neurologiques (n=15). Le taux d'hémoglobine moyen est à 7,2 g/dl et le volume globulaire moyen (VGM) est à 108,5 fL. Le myélogramme effectué chez tous les sujets a mis en évidence une mégaloblastose médullaire dans 135 cas. Le taux de la vitamine B12 plasmatique moyen est de 51,3 pg/mL et celui de l'acide folique est de 2,97 ng/mL. Une carence en vitamine B12 a été

retrouvée chez 142 patients (79%), tandis qu'une carence en acide folique était présente chez 21 sujets (12%).

La carence en vitamine B12 était liée à un défaut d'apport (n= 85), à la maladie de Biermer (n=18) et à la non-dissociation de la vitamine B12 de sa protéine porteuse (n=39). La carence en acide folique était liée à une prise médicamenteuse (n=10) et à un défaut d'apport (n=11).

CONCLUSION :

La carence en vitamine B12 (cobalamine) et/ou vitamine B9 (folates) est fréquente chez l'adulte, notamment chez les sujets âgés, mais reste souvent méconnue voire inexplorée, essentiellement en raison de manifestations cliniques frustes. Néanmoins, la gravité potentielle de ses complications, en particulier hématologiques (pancytopénie), mais également neurologiques (sclérose combinée médullaire) invite à la rechercher systématiquement, particulièrement dans toute situation faisant évoquer une carence vitaminique ou nutritionnelle.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Rain JD. Intérêt en hématologie du dosages des cobalamines et des folates. *Immuno-analyses et biologie spécialisée* 1992; 32:17-24.

- [2] Zittoun J. Métabolisme des folates et des cobalamines: méthodes d'exploration. *Immuno-analyses et biologie spécialisée* 1992; 32:9-15.

- [3] Wickramasinghe SN. The wide spectrum and unresolved issues of megaloblastic anemia. *Semin Hematol* 1999; 36 : 3-18.

- [4] Snow C. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. A guide for the primary care physician. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1289-98.

- [5] Koury MJ, Ponka P. New insights into erythropoiesis : the roles of folate, vitamin B12, and iron. *Annu Rev Nutr* 2004; 24:105-31.

- [6] Serraj K, Federici L, Kaltenbach G, Andrès E. Anémies carentielles du sujet âgé. *Presse Med* 2008; 37: 1319-1326.

- [7] Bugugnani MJ. Apport des dosages de vitamine B12, folates et de ferritine pour le bilan de l'anémie. *Revue française des laboratoires* 1995; 275: 166-174.
- [8] Guillard JC, Aimone-Gastin I. Vitamin B9. *Rev Prat.* 2013;63(8):1079, 1081-4.
- [9] M.M J. Carence biologique en folates et risque de malformation foétale : relance. *Revue Française des Laboratoires* 2004; 368: 11.
- [10] Andrès E, Perrin AE, Kraemer JP, Goichot B, Demengeat C, et al. Anémies par carence en vitamine B12 chez le sujet âgé de plus de 75 ans : nouveaux concepts. À propos de 20 observations. *Rev Méd Interne* 2000; 21: 946-5
- [11] Matthews JH. Cobalamin and folate deficiency in the elderly. *Clin Haematol* 1995 ; 54 : 245-53.
- [12] Sally P. Stabler, M.D. Vitamin B12 Deficiency. *N Engl J Med* 2013;368:149-60.

- [13] Pautas E, Chérin P, De Jaeger C, Godeau P. Carence en vitamine B12 chez le sujet âgé. *Presse Méd* 1999 ; 28 : 1767-70.
- [14] Federici L, Loukili NH, Zimmer J, Affenberger S, Maloysel F, Andrès E. Update of clinical findings in cobalamin deficiency: personal data and review of the literature. *Rev Med Interne* 2007;28: 225-31.
- [15] Serraj K, Mecili M, Andrès E. Signes et symptômes de la carence en vitamine B12 : revue critique de la littérature. *Médecine thérapeutique* 2010 ; 16(1) : 13-20.
- [16] Andrès E, Affenberger S, Zimmer J, Vinzio S, Grosu D, Pistol G, et al. Current hematological findings in cobalamin deficiency. A study of 201 consecutive patients with documented cobalamin deficiency. *Clin Lab Haematol* 2006; 28 : 50-6.
- [17] Sidibé EH, Diop AN, Thiam A, Diop S. Pernicious anemia: the African experience (3 cases reports). *Santé*. 1999; 9(5):301-4
- [18] Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and vitamin B12 status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85(1):193-200.

- [19] Vogel T, Federici L, Kaltenbach G, Berthel M, Andres E. Carence en vitamine B12 par mal digestion ou non dissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses : évaluation comparative des caractéristiques cliniques et paracliniques en fonction de l'âge. Rev Med 3371 S53-54. Doi:10.1016/j.revmed.2008.03.126
- [20] Andrès E, Federicic L, Kaltenbach G, Maloysel F. Carence en vitamine B12 : données d'intérêt pour l'hématologue. Hématologie 2007; 13 (3) : 186-92.
- [21] Ghannouchi N, Atig C, Khalifa M, Alaoua A, Ben Jazia E, Braham A, et al. Profil épidémiologique, clinique et évolutif des anémies par carence en vitamine B12 en médecine interne. Rev Med Interne 2009; 30(4): S478
- [22] Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. Annu Rev Med 2000; 51:357-75.
- [23] Nafil H, Tazi I, Sifessalam M, Bouchtia M, Mahmal L. L'anémie par carence en vitamine B12 dans la région de Marrakech (Maroc). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique 2013 ; 61: 78-81.

- [24] L. Federici et al. / Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12: données personnelles et revue de la littérature. *La Revue de médecine interne* 2007 ; 28 : 225–231.
- [25] Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CAMJ* 2004;171:251–9
- [26] Braham-Jmili N, Ltaief A, Ghorbel H, Omri H, Mahjoub T, Braham Y, et al. Concordance between serum levels of vitamin B12 and clinicobiological signs of deficiency. *Ann Biol Clin* 2003; 61: 615–7.
- [27] Healton EB, Savage DG, Brust JC, Garret TJ, Lindenbaum J. Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Medicine* 1991;70:229–45.
- [28] Andrès E, Perrin AE, Demangeat C, Kurtz JE, Vinzio S, Grunenberger F, et al. The syndrome of food-cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients. *Eur J Intern Med* 2003;14:221–6.

- [29] Maamar M, Tazi-Mezalek Z, Harmouche H, Ammouri W, Zahlane M, Adnaoui M, et al. Neurological manifestations of vitamin B12 deficiency: a retrospective study of 26 cases. *Rev Med Interne* 2006; 27:442-7.
- [30] Médaouda S, Hakema D, Ouadahi N, Boudjelida A, Hamadanea A, Bellatar K, et al. Profils clinicobiologiques et étiologies des anémies mégaloblastiques. doi:10.1016/j.revmed.2009.03.225
- [31] Khanduri U, Sharma A. Megaloblastic anaemia : prevalence and causative factors. *Natl Med J India* 2007 ; 20 : 172-5.
- [32] Nedellec G, Brocq FX, Doghmi K, Fagot T, Samson T, Souleau B, De Revel T. La maladie de Biermer en 2003 : propositions pour une démarche diagnostique économiquement raisonnée. *Rev Med Interne* 2003; 24(4) 414s.
- [33] Loukili NH, Noel E, Blaison G, Goichot B, Kaltenbach G, Rondeau M, et al. Données actuelles sur la maladie de Biermer. À propos d'une étude rétrospective de 49 patients. *Rev Med Interne* 2004;25:556-61.

- [34] Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Noel E, Kaltenbach G, Schlienger JL. Carences en vitamine B12 chez l'adulte : étiologies, manifestations cliniques et traitement. Rev Méd Interne 2005; 26: 938–946.
- [35] Serraj K, Vogel T, Federici L, Ciobanu E, Mecili M, Kaltenbach G, et al. Food-cobalamin syndrome. Presse Med 2009;38:55–62.
- [36] Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Kurtz JE, Noel E, Kaltenbach G, et al. Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. Am J Med 2005; 118:1154–9.
- [37] Carmel R. Malabsorption of food cobalamin. Clin Haematol 1995 ; 8 : 639-55.
- [38] Annibale B, Lahner E, Bordi C, Martino G, Caruana P, Grossi C, et al. Role of Helicobacter pylori infection in pernicious anaemia. Dig Liver Dis 2000; 32:756–62.

- [39] Pesotto F, Sabini B, Cechetto A, Plebani M, De Lazzari F, Pedini B, et al. Helicobacter pylori infection and gastric autoimmune disease: is there a link? *Helicobacter* 2003;8:578–84.
- [40] Amedei A, Bergman MP, Appelmelk BJ, Benagiano M, Tamburini C, van der Zee R, et al. Molecular mimicry between Helicobacter pylori antigens and H⁺, K⁺-adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity. *J Exp Med* 2003;198: 1147–56.
- [41] Carmel R, Aurangzeb I, Qian D. Associations of food-cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, Helicobacter pylori infection, and serum markers of gastritis. *Am J Gastroenterol* 2001;96: 63–70.
- [42] Kaptan K, Beyan C, Ural AU, Cetin T, Aycu F, Gulsen M, et al. Helicobacter pylori: is it a novel causative agent in Vitamin B12 deficiency? *Arch Intern Med* 2000; 160:1349–53.
- [43] Joutei HA, Hilali A, Fechtali T, Rhallabi N, Benomar H. Helicobacter pylori infection in 755 patients with digestive complaints: Pasteur Institute, Morocco, 1998–2007. *East Mediterr Health J* 2010;16: 778–82.

- [44] Haruma K, Komoto K, Kawaguchi H, Okamoto S, Yoshihara M, Sumii K, et al. Pernicious anemia and Helicobacter pylori infection in Japan: evaluation in a country with a high prevalence of infection. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1107-10.
- [45] Green R. Indicators for assessing folate and vitamin B12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Food Nutr Bull.* 2008 Jun;29(2 Suppl):S52-63; discussion S64-6.
- [46] Rosenberg IH. A history of the isolation and identification of folic acid (folate). *Ann Nutr Metab.* 2012;61(3):231-5.
- [47] Roche C, Roche NC, Thefenne H, Saidi R, De Pina JJ, Molinier S, Oliver M. Pancytopénie et carence en folates : à propos d'un cas. *Ann Biol Clin* 2011 ; 63(3) : 331-5.
- [48] Boles JM et al. Carence en acide folique : fréquence chez 480 malades. Conséquences sur la phagocytose des polynucléaires neutrophiles. *Rev Med interne* 1982 ; 3(1) : 51-6.

- [49] Mintzer DM, Billet SN, Chmielewski L. Drug-induced hematologic syndromes. *Adv Hematol* 2009 : 495863.
- [50] Kronenberg G, Endres M. Neuronal injury : folate to the rescue ? *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 1383-6.
- [51] Serraj K, Federici L, Ciobanu E, Andrès E. Les carences vitaminiques : du symptôme au traitement. *Médecine Thérapeutique* 2007 ; 13 (6): 411-20.
- [52] Ozawa K. Pathophysiology, diagnosis and treatment of anemia. *Nippon Rinsho* 2008 ; 66 : 423-8.
- [53] Kuzminski AM, Del Giacco EJ, Allen RH, Stabler SP, Lindenbaum J. Effective treatment of cobalamin deficiency with oral cobalamin. *Blood* 1998; 92: 1191-8.
- [54] Ghosh K, Ghosh K. India's contribution to folic acid research after Lucy Willis and Subbarow. *Natl Med J India*. 2013; 26(3):185-6.

- [55] Lane LA, Rojas-Fernandez C. Treatment of vitamin B12 deficiency anemia: oral versus parenteral therapy. *Ann Pharmacother* 2002; 36: 1268-72.
- [56] Dubost E, Dupuis A. La prise en charge des anémies par carence. *Actualités Pharmaceutiques Hospitalières* 2011; 7(26) : 10-17.
- [57] Jha A, Sayami G, Adhikari RC, Panta AD, Jha R. Bone marrow examination in cases of pancytopenia. *JNMA J Nepal Med Assoc* 2008 ; 47 : 12-7.