

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche
Scientifique



Université Saad Dahlab Blida 1
Faculté De Sciences De La Nature Et De La Vie
Département De Biologie Et Physiologie Cellulaire



Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et santé

MÉMOIRE DE FIN D'ETUDE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

Option : Biochimie

Thème:

**Intérêt de l'électrophorèse d'hémoglobine et de frottis
sanguin dans le diagnostic des hémoglobinopathies**

Présenté par :

**Boukoftane Rafika
Bouklouch Chafika
Boukhedimi Meriem**

Soutenue le : 15/07/2019

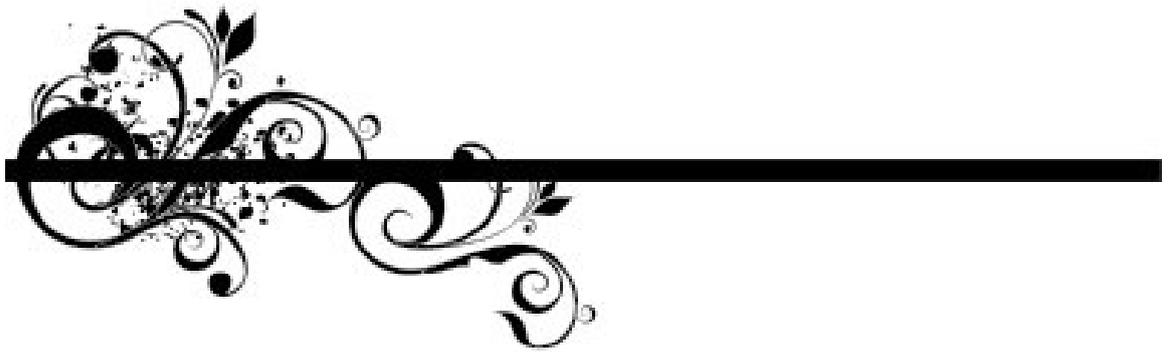
Devant le jury :

∂	M ^{me} Toubal S	MAA	USDB1	Présidente
∂	M ^{me} Abdul hussain A	MCB	USDB1	Examinatrice
∂	M ^{me} Touaibia M	MCB	USDB1	Promotrice
∂	M ^{me} Boucharef A	Pharmacien spécialiste	CAC	Co-promotrice

Promotion : 2018- 2019



REMERCIEMENT



Avant toute chose, Je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force, la volonté et la patience durant toutes mes années d'études.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Madame Touaibia M., Maître de conférences à l'université de Blida qui nous a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail.

Dr Boucharef, Nous vous remercions vivement de nous avoir fait l'honneur de diriger ce travail, Vous nous avez aidé jusqu'au dernier moment avec un grand savoir et des orientations éclairantes accompagnées d'une grande gentillesse.

Nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à Mme Abdul Hussein professeur à la faculté de biologie, Université de Blida d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Tobal S., Le professeur à la faculté de biologie, université de Blida d'avoir accepté de présider à jury.

Nous tenons à remercier infiniment Pr Bradai M., responsable du laboratoire d'hématologie CAC-Blida, qui nous a accueilli au sein du son laboratoire, et qui a mis à notre disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail qu'il trouve ici notre respect et reconnaissance, et à tout les laborantins du laboratoire central d'hématologie, j'adresse aussi mes plus vifs remerciements à Dr Boucherit , Dr Belounes et à tout les laborantins du laboratoire de EPH de Kolea.



DÉDICACES



*A mon père Boukoftane Hafid qui a toujours été
d'un grand support mental. Il restera toujours mon
modèle à suivre.*

*A ma mère, Boumokohla Lalia qui m'ont transmis la
sagesse de la modestie et l'amour d'autrui, et qui
partage mes joies et mes chagrins.*

*A mes chers frères et sœurs : Complicité fraternelle
et amour inconditionnel nous réunissent.*

A mes chers beaux-frères et chères belles-sœurs

Mes chères nièces et chers neveux

A mes chères Samia et Abir

*A mes chères copines, Soumia, Loubna, Lydia, Sarra,
Bahia et Meriem.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

*A tous ceux qui m'ont transmis leur savoir depuis la
maternelle jusqu'à ce jour.*

*A tous ceux connus ou inconnus qui vont feuilleter
un jour ce travail.*

*A tous ceux qui ont pour mission cette pénible tâche
de soulager l'être humain, d'essayer de lui procurer
le bien être physique, psychique et social.*

*A tous les malades...que dieu nous aide à apaiser vos
souffrances...*

*A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du
cœur.*

*A mes très chers parents,
Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde
gratitude et ma sincère reconnaissance envers
les deux personnes les plus chères à mon coeur !
Si mes expressions pourraient avoir quelque
pouvoir, j'en serais profondément heureuse. Je
vous dois ce que je suis. Vos prières et vos
sacrifices m'ont comblé tout au long de mon
existence. Puisse Dieu tout puissant vous
procurer santé, bonheur et prospérité.
A mes chers frères Mohamed et Khaled et ma
chère sœur Amina.*

*Vous m'avez soutenu et comblé tout au long de
mon parcours. Que ce travail soit témoignage
de mes sentiments les plus sincères et les plus
affectueux. Puisse Dieu vous procurer bonheur
et prospérité.*

*A toute la famille MANA
Vous m'avez soutenu et comblé tout au long de mon
parcours. Que ce travail soit témoignage mes
sentiments les plus sincères et les plus affectueux.
Puisse dieu vous procurer bonheur et prospérité.*

*A mes parents dont le rêve était toujours de
ma voir réussir.*

*Qu'ils sachent que leur place dans mon coeur et
ma*

pensée, reste et demeure immense.

A mes chères sœurs « Fatiha et Sabiha »

A mon cher frère « Kamel »

A mes chers beaux frères

A mes chères nièces « Kaouthar et Tasnim »

*A mes chers neveux « Mohamed, Ismail, Imad,
Djalilo et Rassim ».*

*A toute ma famille, grands et petits : Que ces
modestes lignes leur servent de témoignage de
mon attachement indéfectible au lien sacré de
ma famille.*

*A mes chers amis « Islam, Soumia, Meriem,
Kika, Loubna, Nounou, Lydia » en
reconnaissance pour leur solidarité*

*A tous les étudiant(e)s de la Promotion du
Master Biochimie*

Et à tous ceux qui me sont chers.



LISTE DES FIGURES



Figure1 : La structure de l'hémoglobine.....	03
Figure2 : Organisation des deux familles de gènes de la globine.....	04
Figure3 : Synthèse des chaînes de globine chez le fœtus et le nourrisson	05
Figure4 : Transport des gaz par l'hémoglobine.....	06
Figure5 : Mode de transmission des hémoglobinopathies.....	12
Figure6 : Tests d'orientation utilisés pour le diagnostic des hémoglobinopathies.....	14
Figure 07 : Electrophorèse sur gel d'agarose à pH alcalin.....	27
Figure 08 : Les bandes d'Hb chez une personne normale	29
Figure 09 : Schéma d'un instrument d'électrophorèse capillaire.....	31
Figure10 : Profil électrophorétique visualisé sur le logiciel PHORESIS®, avec identification automatique des pics d'Hb A, Hb A2, Hb F, Hb S et Hb C et découpage en 15 zones de migration.....	33
Figure 11 : Répartition des patients selon le type d'hémoglobinopathie.....	34
Figure 12 : Répartition des patients selon l'origine géographique de la population étudiée	35
Figure 13 : Répartition selon les antécédents de consanguinité dans la population étudiée.....	36
Figure 14 : Répartition des patients selon le sexe.....	39
Figure 15 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.	41
Figure 16 : Répartition des hémoglobinopathies selon les moyennes d'âge et le type d'hémoglobinopathie.	42
Figure 17 : Répartition des manifestations cliniques selon les groupes étiologiques.	43
Figure 18 : Frottis d'un sang normal.	45
Figure 19 : Frottis sanguin d'un β -thal hétérozygote.....	53

Figure 20 : Frottis sanguin d'un patient drépanocytaire.56

Figure 21 : Les résultats de l'électrophorèse « capillaire et à Ph alcalin » chez 3 cas.....73

ANNEXES

Figure 1 : la vaso-occlusion chez les drépanocytaires.**Annexe 01**

Figure 02 : Profil électrophorétique (capillaire) de Hb chez un cas normal.....**Annexe08**

Figure 03: Profil électrophorétique de l'Hb chez un sujet β -thalassémique hétérozygote.....
...**Annexe 08**

Figure04 : Profil électrophorétique d'un cas drépanocytaire S/S.....**Annexe 08**

Figure 05: Profileélectrophorétique (capillaire) d'un cas atteint de la drépanocytose hétérozygote.....**Annexe08**

Figure06 : profil électrophorétiques d'un cas atteint d'une Hémoglobinoses C hétérozygote..... **Annexe 08**

Figure07 : profil électrophorétique d'un patient atteint d'une Hémoglobinoses H **Annexe 08**

Figure08 : Profile électrophorétique d'une double hétérozygotie S/C.....**Annexe 08**



LISTE DES
TABLEAUX



Tableau I : Différentes hémoglobines exprimées au cours du développement ontogénique	05
Tableau II : Principales formes de β -thalassémies selon le phénotype, le génotype ainsi que leurs tableaux cliniques et biologiques.....	09
Tableau III : Composants du Kit Capillarys HEMOGLOBINE®	20
Tableau IV: Contrôles indispensables non-fournis par le Kit Capillarys HEMOGLOBINE®	21
Tableau V : Réparation des hémoglobinopathies selon l'étiologie et selon le génotype.....	37
Tableau VI : Les valeurs normales des paramètres hématologiques.....	45
Tableau VII : valeurs de référence des différents Hb normales.....	46
Tableau VIII : Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des beta-thalassémiques homozygotes.	47
Tableau IX : Les résultats de l'électrophorèse chez les sujets atteints de la β -thalassémie homozygote.....	49
Tableau X : les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des malades atteints d'une beta-thalassémie hétérozygotes	51
Tableau XI : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de β thalassémie hétérozygote	54
Tableau XII : valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés atteints d'une drépanocytose homozygote.....	55
Tableau XIII : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose homozygote	57

Tableau XIV : valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés chez les patients atteints d'une drépanocytose hétérozygote.....	58
Tableau XV : Résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose hétérozygote.....	60
Tableau XVI : Les résultats de paramètres hématologiques chez un patient atteint d'Hémoglobinoses C homozygote	61
Tableau XVII : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez le cas atteint de la Hémoglobinoses C homozygote	62
Tableau XVIII : Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des patients atteints d'une Hémoglobinoses C hétérozygote.....	63
Tableau XIX : Résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez patients atteints de la Hémoglobinoses C hétérozygote.....	65
Tableau XX : Les résultats de paramètres hématologiques chez une patiente atteinte d'Hémoglobinoses H.....	66
Tableau XXI : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez une patiente atteinte de la Hémoglobinoses H.....	76
Tableau XXII: Valeurs moyennes des paramètres hématologiques d'une patiente atteinte d'une Hémoglobinoses S/C.	68
Tableau XXIII: Résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez un patient atteint de l'association S/C.....	69

Annexes :

Tableau I: Différentes classes de α -thalassémie et leurs tableaux cliniques et biologiques.....	Annexe 01
Tableau II: Classification des Hémoglobinoses qualitatives selon le phénotype, le tableau clinique et biologique	Annexe 01
Tableau III: différents traitements des hémoglobinopathies.....	Annexe 01
Tableau IV : Le matériel de l'électrophorèse à pH alcalin.....	Annexe 03

Tableau V : Différents accessoires fournis dans le kit Capillarys HEMOGLOBINE®**Annexe 03**

Tableau VI : Les Coulters de la réalisation de la FNS.....**Annexe 05**



LISTE DES ABRÉVIATIONS



A/C : hémoglobinosse C hétérozygote

A/S : drépanocytose hétérozygote

ADN : acide Désoxyribonucléique

C/C : hémoglobinosse C homozygote.

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en

CHLP ou HPLC : la Chromatographie en phase Liquide à Haute performance

CHU : Centre hôpitalo universitaire. **CO** : Monoxyde de carbone

CO₂ : Dioxyde du carbone

CVO : crise vaso-occlusive

EDTA : acide éthylène diamine tétracétique

F : femme.

fl : Femtolitre .

FNS : formule numération sanguine.

GB : globule blanc

GR : globule rouge

H : homme

Hb : Hémoglobine

HbA : Hémoglobine Adulte **HbA₂** : Hémoglobine Adulte 2

HbC : Hémoglobine C

HbE : Hémoglobine E

HbF : Hémoglobine fœtale

HbP : hémoglobinopathie

HbS : Hémoglobine S

Hte: Hématocrite .

NO : monoxyde d'azote

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé

pH : Potentiel d'hydrogène.

PNN : poly nucléaire neutrophile

Rét : Réticulocyte

S/C : La double hétérozygotie SC

TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

VGM : Volume globulaire moyen.

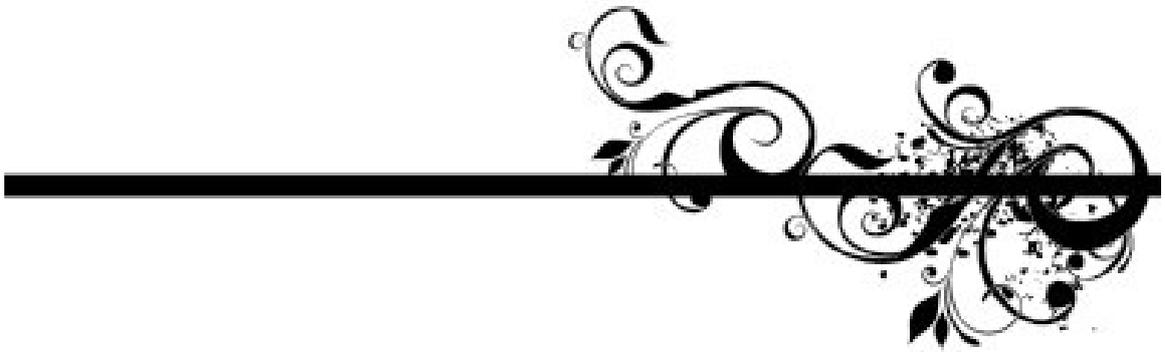
α -Thal : alpha-thalassémie.

β -Thal : bêta-thalassémie

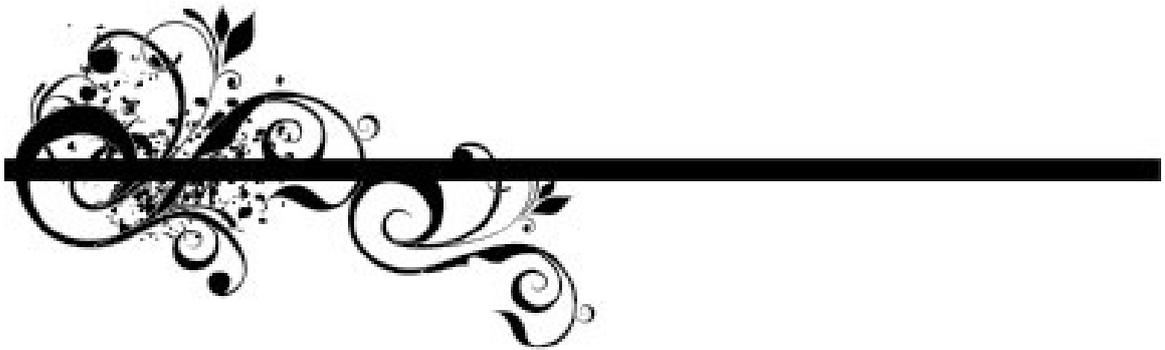
δ : Delta.

ε : Epsilon.

$-\zeta$: Zêta.



GLOSSAIRE



- **Anisocytose** : Inégalité anormale des diamètres des différentes hématies.
- **Anisopoikilocytose** : Variation de diamètre et de forme des hématies
- **Autosome** : Chromosome dont les informations génétiques n'interviennent pas dans la détermination du sexe.
- **Cellule cible** : Globule rouge dans lequel l'hémoglobine n'est pas répartie de façon homogène, mais forme des anneaux concentriques
- **Chromoprotéine** : Protéine associée à un groupement prosthétique coloré, souvent de type métallifère.
- **Cluster** : Ensemble de gènes appartenant à la même famille, groupés les uns derrière les autres au niveau d'une même région chromosomique et codant pour une protéine identique ou similaire
- **Codon** : Séquence de trois bases nucléotidiques dans la molécule d'un acide nucléique (ADN ou ARN)
- **Corps de Heinz** : précipitation de Hb dénaturé
- **Corps de Jolly** : sont des restes de noyau qui, l'on retrouve chez les patients qui n'ont pas de rate
- **Crise vaso occlusive**: complication douloureuse causée par l'obstruction des capillaires par les cellules en " faucille" et survenue brutalement
- **Délétion** : Mutation génétique caractérisée par la perte d'un fragment d'ADN sur un chromosome.
- **Drépanocyte** : Hématie de forme allongée, classiquement en forme de faucille ou de croissant (hématie falciforme) érythrocytes (ovocyte, schizocyte....)
- **Hémolysat** : est l'ensemble des érythrocytes détruits dans le tube.
- **Hétérozygote** : composite Individu possédant deux allèles mutés au même locus.
- **Hétérozygote** :Se dit d'un individu dont les deux copies d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire) sont différentes.
- **Homozygote** : Individu possédant deux copies identiques d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire...
- **Hyperhémolyse** : c'est une augmentation de la destruction des érythrocytes avec une forte libération de l'hémoglobine dans le plasma
- **Hypochrome** : c'est la diminution du contenu en hémoglobine des érythrocytes.
- **L'érythropoïèse** : désigne l'ensemble des mécanismes assurant la production des globules rouges, à raison de 200 milliards par jour, à partir des Cellules Souches Hématopoïétiques
- **Microcytose** : Diminution de la taille des globules rouge

- **Mutation ponctuelle** : Mutation de structure portant sur une seule base (substitution d'une base par une autre). On distingue deux classes de mutations ponctuelles celles ne modifiant qu'un seul codon et celles qui modifient le cadre de lecture
- **Mutation** : Modification survenant dans la séquence de l'ADN d'une cellule et pouvant entraîner la disparition d'un caractère préexistant ou l'apparition d'un caractère nouveau.
- **Ontogénie** : Développement de l'individu, depuis l'œuf fécondé jusqu'à l'état adulte.
- **Poikilocytose** : elle indique une variabilité de la forme des
- **Splénomégalie** : Augmentation du volume de la rate.
- **Substitution** : Mutation résultant du remplacement d'un (ou plusieurs) nucléotides par un autre (ou plusieurs autres) nucléotide comportant une base azotée différente.
- **Variante** : Hémoglobine structurellement anormale/ pathologique

Résumé

Les hémoglobinopathies sont des affections héréditaires autosomales récessives consécutives à des anomalies des hémoglobines, elles sont représentées principalement par les thalassémies et la drépanocytose. Ce travail a pour objectif de faire une étude épidémiologique, et discuter des pratiques de l'analyse de l'hémoglobine en routine, pour aboutir à des recommandations de la bonne prise en charge de ces analyses.

Il s'agit d'une étude prospective et rétrospective, qui a duré quatre mois dans le centre anti cancer de Blida, sur 70 patients des deux sexes, et de différents âges, provenant de la région de Blida et ses alentours. L'étude de l'hémoglobine a inclus des examens biochimiques (électrophorèse sur gel, électrophorèse capillaire de l'Hb, bilan martial et bilan d'hémolyse) ainsi que des examens hématologiques (numération de la formule sanguine et frottis sanguins).

les cas d'hémoglobinopathies étudiés sont réparties selon les groupes suivants: 50 % thalassémie (48.57% : β -thal, 1.43% : α -Thal), 41.43% drépanocytose, 7,1%, Hémoglobinoses C, et 1,43% associations S/C. L'âge moyen de cette population est égale à $15,72 \pm 17$ ans et avec une sex-ratio de 1.12. les cas étudiés étaient issus de mariages consanguins (22.86%) et originaires de régions situées au nord de l'Algérie. avec une prévalence dans la région de Tipaza (27.14%).

L'étude de l'hémoglobine nécessite l'association de plusieurs techniques performantes pour une interprétation correcte des résultats et une bonne prise en charge des patients ; le biologiste doit disposer des données clinico-biologiques des patients, afin d'établir une étude épidémiologique fiable.

Mots clés : hémoglobinopathies, examens biochimiques, hématologiques, électrophorèse, prévalence.

SUMMARY

Hemoglobinopathies are hereditary autosomal recessive disorders resulting from hemoglobin abnormalities, they are mainly represented by thalassemias and sickle cell disease. The purpose of the work is to conduct an epidemiological study and discuss the routine hemoglobin analysis practices to come up with recommendations for the proper management of these analyses.

This is a prospective and retrospective study that lasted 4 months in Blida cancer centre, involving 70 patients of both sexes and different ages, from Blida region and its surroundings. The hemoglobin study included biochemical tests (gel electrophoresis, capillary electrophoresis, martial and hemolysis tests), as well as hematological tests (blood count and blood smear).

Hemoglobinopathies studied cases are divided into the following groups: 50% Thalassemia (48.57% β -thal, 1.43% α -thal), 41.43% sickle cell disease, 7.1% hemoglobinosis C and 1.43% sickle cell disease. The average age of this population is 15.72 ± 17 years with sex ratio (1.12). Of examined cases were from a consanguineous marriage (22.86%) and originated from located in northern Algeria with a prevalence in Tipaza region (27.14%).

The study of hemoglobins requires the combination of several high-performance techniques for a proper interpretation of the results and good patient care, the biologist must have at his disposal the clinical –biologist data of the patients in order to establish a reliable epidemiological study.

Keywords : hemoglobinopathies, biochemical tests, hematology, electrophoresis, prevalence.

ملخص

اعتلالات الهيموغلوبين (امراض خضاب الدم) هي أمراض وراثية جسمية متنحية تنجم عن تشوهات خضاب الدم (الهيموغلوبين) وتمثلها أساساً الثلاثيميا وأمراض فقر الدم المنجلي يهدف هذا العمل إلى إجراء دراسة وبائية، ومناقشة تحليل الهيموغلوبين في الروتين ، لتحقيق توصيات الإدارة السليمة لهذه التحليلات.

هذه الدراسة استطلاعية رجعية، والتي استمرت أربعة أشهر في مركز البلدية لمكافحة السرطان، على 70 مريضاً من كلا الجنسين، ومن مختلف الأعمار، من منطقة البلدية ومن المناطق المجاورة لها

اشتملت دراسة خضاب الدم على فحوصات كيميائية حيوية (الرحلان الكهربائي الهلامي. الهجرة الكهربائية الشعرية . تقييم نسبة الحديد في الدم وتقييم انحلال الدم) و كذلك الفحوصات الدموية (تعداد الدم و مسحات الدم)

- تنقسم حالات اعتلال الهيموغلوبين التي تم دراستها إلى المجموعات التالية: 50% ثلاثيميا

(α -Thal : 1.43% , β -thal : 48.57%);

41.43 % من أمراض فقر الدم المنجلي ،

الجمعيات C / S (1.43 %). الهيموغلوبين C : (7.1%).

متوسط عمر هؤلاء السكان يساوي (15.72 سنة و بمعدل جنس قدره 1.12). الحالات التي تمت دراستها من زواج الأقارب (22.86 %) ينحدرون من مناطق تقع في شمال الجزائر . مع انتشار امراض خضاب الدم في منطقة تيبازة (27.14%).

تتطلب دراسة الهيموغلوبين الجمع بين العديد من التقنيات القوية للتفسير الصحيح للنتائج والإدارة الجيدة للمرضى ، ويجب أن يكون لدى عالم الأحياء البيئات السريرية و البيولوجية للمرضى ، من أجل إنشاء دراسة وبائية موثوقة.

كلمات مفتاحية

امراض خضاب الدم . فحوصات كيميائية حيوية ، أمراض الدم ، الكهربائي ، انتشار

Liste des tableaux :

Tableau I : Différentes hémoglobines exprimées au cours du développement ontogénique	05
Tableau II : Principales formes de β -thalassémies selon le phénotype, le génotype ainsi que leurs tableaux cliniques et biologiques.....	09
Tableau III : Composants du Kit Capillarys HEMOGLOBINE®	20
Tableau IV: Contrôles indispensables non-fournis par le Kit Capillarys HEMOGLOBINE®	21
Tableau V : Réparation des hémoglobinopathies selon l'étiologie et selon le génotype.....	40
Tableau VI : Les valeurs normales des paramètres hématologiques.....	43
Tableau VII : valeurs de référence des différents Hb normales.....	44
Tableau VIII : Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des beta-thalassémiques homozygotes.	45
Tableau IX : Les résultats de l'électrophorèse chez les sujets atteints de la β -thalassémie homozygote.....	47
Tableau X : les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des malades atteints d'une beta-thalassémie hétérozygotes	49
Tableau XI : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de β thalassémie hétérozygote	51
Tableau XII : valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés atteints d'une drépanocytose homozygote.....	52
Tableau XIII : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose homozygote	54
Tableau XIV : valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés chez les patients atteints d'une drépanocytose hétérozygote.....	55

Tableau XV : Résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose hétérozygote.....	57
Tableau XVI : Les résultats de paramètres hématologiques chez un patient atteint d'HémoglobinoseC homozygote	58
Tableau XVII : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez le cas atteint de la Hémoglobinose C homozygote	59
Tableau XVIII : Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des patients atteints d'une Hémoglobinose C hétérozygote.....	60
Tableau XIX : Résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez patients atteints de la Hémoglobinose C hétérozygote.....	61
Tableau XX : Les résultats de paramètres hématologiques chez une patiente atteinte d'Hémoglobinose H.....	62
Tableau XXI : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez une patiente atteinte de la Hémoglobinose H.....	64
Tableau XXII: Valeurs moyennes des paramètres hématologiques d'une patiente atteinte d'une Hémoglobinose S/C hétérozygote.	65
Tableau XXIII: Résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez un patient atteint de l'association S/C.....	66

Annexes :

Tableau I: Différentes classes de α -thalassémie et leurs tableaux cliniques et biologiques.....	Annexe 01
Tableau II: Classification des Hémoglobinoses qualitatives selon le phénotype, le tableau clinique et biologique	Annexe 01
Tableau III: différents traitements des hémoglobinopathies.....	Annexe 01
Tableau IV : Le matériel de l'électrophorèse à pH alcalin.....	Annexe 03
Tableau V : Différents accessoires fournis dans le kit Capillarys HEMOGLOBINE®	Annexe 03
Tableau VI : Les Coulters de la réalisation de la FNS.....	Annexe 05
Tableau VII : les valeurs physiologiques de l'FNS selon l'âge.....	Annexe 09
Tableau VIII : les valeurs physiologiques de l'FNS selon le sexe.....	Annexe 09

La liste des figures:

Figure1 : La structure de l'hémoglobine.....	03
Figure2 : Organisation des deux familles de gènes de la globine.....	04
Figure3 : Synthèse des chaînes de globine chez le fœtus et le nourrisson	05
Figure4 : Transport des gaz par l'hémoglobine.....	06
Figure5 : Mode de transmission des hémoglobinopathies.....	12
Figure6 : Tests d'orientation utilisés pour le diagnostic des hémoglobinopathies.....	14
Figure 07 : Electrophorèse sur gel d'agarose à pH alcalin.....	27
Figure 08 :Les bandes d'Hb chez une personne normale	29
Figure 09 : Schéma d'un instrument d'électrophorèse capillaire.....	31
Figure10 : Profil électrophorétique visualisé sur le logiciel PHORESIS®, avec identification automatique des pics d'Hb A, Hb A2, Hb F, Hb S et Hb C et découpage en 15 zones de migration.....	33
Figure 11 : Répartition des patients selon le sexe.....	34
Figure 12 : Répartition des patients selon les tranches d'âge	35
Figure 13 : Répartition des hémoglobinopathies selon les moyennes d'âge et le type d'hémoglobinopathie.	36
Figure 14 : Répartition des patients selon le type d'hémoglobinopathie	37
Figure 15 : Répartition des patients selon l'origine géographique de la population étudiée	38
Figure 16 : Répartition selon les antécédents de consanguinité dans la population étudiée	39
Figure 17 : Répartition des manifestations cliniques selon les groupes étiologiques.	

Figure 18 : frottis d'un sang normal.	44
Figure 19 : frottis sanguin d'un β -thal hétérozygote.....	50
Figure 20 : frottis sanguin d'un patient drépanocytaire.	53
Figure 21 : les résultats de l'électrophorèse « capillaire et à Ph alcalin » chez 3 cas.....	69

ANNEXES

Figure 1 : la vaso-occlusion chez les drépanocytaires.	Annexe 01
Figure 02 : Profil électrophorétique (capillaire) de Hb chez un cas normal.....	Annexe08
Figure 03 : Profil électrophorétique de l'Hb chez un sujet β -thalassémique hétérozygote.....	Annexe 08
Figure04 : Profil électrophorétique d'un cas drépanocytaire S/S.....	Annexe 08
Figure 05 : Profil électrophorétique (capillaire) d'un cas atteint de la drépanocytose hétérozygote.....	Annexe08
Figure06 : profil électrophorétiques d'un cas atteint d'une Hémoglobinoses C hétérozygote.....	Annexe 08
Figure07 : profil électrophorétique d'un patient atteint d'une Hémoglobinoses H	Annexe 08
Figure08 : Profile électrophorétique d'une double hétérozygotie S/C.....	Annexe 08

Liste des abréviations

A/C : hémoglobinose C hétérozygote
A/S : drépanocytose hétérozygote
ADN : acide Désoxyribonucléique
C/C : hémoglobinose C homozygote.
CCMH : concentration corpusculaire moyenne en
CHLP ou HPLC : la Chromatographie en phase Liquide à Haute performance
CHU : Centre hôpitalo universitaire. **CO** : Monoxyde de carbone
CO₂ : Dioxyde du carbone
CVO : crise vaso-occlusive
EDTA : acide éthylène diamine tétracétique
fl : Femtolitre .
FNS : formule numération sanguine.
GB : globule blanc
GR : globule rouge
Hb : Hémoglobine
HbA : Hémoglobine Adulte **HbA₂** : Hémoglobine Adulte 2
HbC : Hémoglobine C
HbE : Hémoglobine E
HbF : Hémoglobine foetale
HbP : hémoglobinopathie
HbS : Hémoglobine S
Hte: Hématocrite .
NO : monoxyde d'azote
O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé
Pg : picto gramme
pH : Potentiel d'hydrogène.
PNN : poly nucléaire neutrophile
Rét : Réticulocyte
S/C : La double hétérozygotie SC
TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
VGM : Volume globulaire moyen.
α-Thal : alpha-thalassémie
β-Thal : bêta-thalassémie
δ : Delta.
ε : Epsilon.
-ζ : Zêta.

Glossaire

Anisocytose : Inégalité anormale des diamètres des différentes hématies.

- **Anisopoikilocytose** : Variation de diamètre et de forme des hématies

- **Autosome** : Chromosome dont les informations génétiques n'interviennent pas dans la détermination du sexe.

- **Cellule cible** : Globule rouge dans lequel l'hémoglobine n'est pas répartie de façon homogène, mais forme des anneaux concentriques

- **Chromoprotéine** : Protéine associée à un groupement prosthétique coloré, souvent de type métallifère.

- **Cluster** : Ensemble de gènes appartenant à la même famille, groupés les uns derrière les autres au niveau d'une même région chromosomique et codant pour une protéine identique ou similaire

- **Codon** : Séquence de trois bases nucléotidiques dans la molécule d'un acide nucléique (ADN ou ARN)

- **Corps de Heinz** : précipitation de Hb dénaturé

- **Corps de Jolly** : sont des restes de noyau qui, l'on retrouve chez les patients qui n'ont pas de rate

- **Crise vaso occlusive**: complication douloureuse causée par l'obstruction des capillaires par les cellules en " faucille" et survenue brutalement

- **Délétion** : Mutation génétique caractérisée par la perte d'un fragment d'ADN sur un chromosome.

- **Drépanocyte** : Hématie de forme allongée, classiquement en forme de faucille ou de croissant (hématie falciforme) érythrocytes (ovocyte, schizocyte....)

- **Hémolysat** : est l'ensemble des érythrocytes détruits dans le tube.

- **Hétérozygote** : composite Individu possédant deux allèles mutés au même locus.

- **Hétérozygote** :Se dit d'un individu dont les deux copies d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire) sont différentes.

- **Homozygote** : Individu possédant deux copies identiques d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire...)

- **Hyperhémolyse** : c'est une augmentation de la destruction des érythrocytes avec une forte libération de l'hémoglobine dans le plasma

- **Hypochrome** : c'est la diminution du contenu en hémoglobine des érythrocytes.

- **L'érythropoïèse** : désigne l'ensemble des mécanismes assurant la production des globules rouges, à raison de 200 milliards par jour, à partir des Cellules Souches Hématopoïétiques

- **Microcytose** : Diminution de la taille des globules rouge

- **Mutation ponctuelle** : Mutation de structure portant sur une seule base (substitution d'une base par une autre). On distingue deux classes de mutations ponctuelles celles ne modifiant qu'un seul codon et celles qui modifient le cadre de lecture
- **Mutation** : Modification survenant dans la séquence de l'ADN d'une cellule et pouvant entraîner la disparition d'un caractère préexistant ou l'apparition d'un caractère nouveau.
- **Ontogénie** : Développement de l'individu, depuis l'oeuf fécondé jusqu'à l'état adulte.
- **Poikilocytose** : elle indique une variabilité de la forme des
- **Splénomégalie** : Augmentation du volume de la rate.
- **Substitution** : Mutation résultant du remplacement d'un (ou plusieurs) nucléotides par un autre (ou plusieurs autres) nucléotide comportant une base azotée différente.
- **Variante de l'Hb** : Hémoglobine structurellement anormale/ pathologique

Anisocytose : Inégalité anormale des diamètres des différentes hématies.

- **Anisopoikilocytose** : Variation de diamètre et de forme des hématies

- **Autosome** : Chromosome dont les informations génétiques n'interviennent pas dans la détermination du sexe.

- **Cellule cible** : Globule rouge dans lequel l'hémoglobine n'est pas répartie de façon homogène, mais forme des anneaux concentriques

- **Chromoprotéine** : Protéine associée à un groupement prosthétique coloré, souvent de type métallifère.

- **Cluster** : Ensemble de gènes appartenant à la même famille, groupés les uns derrière les autres au niveau d'une même région chromosomique et codant pour une protéine identique ou similaire

- **Codon** : Séquence de trois bases nucléotidiques dans la molécule d'un acide nucléique (ADN ou ARN)

- **Corps de Heinz** : précipitation de Hb dénaturé

- **Corps de Jolly** : sont des restes de noyau qui, l'on retrouve chez les patients qui n'ont pas de rate

- **Crise vaso occlusive**: complication douloureuse causée par l'obstruction des capillaires par les cellules en " faucille" et survenue brutalement

- **Délétion** : Mutation génétique caractérisée par la perte d'un fragment d'ADN sur un chromosome.

- **Drépanocyte** : Hématie de forme allongée, classiquement en forme de faucille ou de croissant (hématie falciforme) érythrocytes (ovocyte, schizocyte....)

- **Hémolysat** : est l'ensemble des érythrocytes détruits dans le tube.

- **Hétérozygote** : composite Individu possédant deux allèles mutés au même locus.

- **Hétérozygote** :Se dit d'un individu dont les deux copies d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire) sont différentes.

- **Homozygote** : Individu possédant deux copies identiques d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire...)

- **Hyperhémolyse** : c'est une augmentation de la destruction des érythrocytes avec une forte libération de l'hémoglobine dans le plasma

- **Hypochrome** : c'est la diminution du contenu en hémoglobine des érythrocytes.

- **L'érythropoïèse** : désigne l'ensemble des mécanismes assurant la production des globules rouges, à raison de 200 milliards par jour, à partir des Cellules Souches Hématopoïétiques

- **Microcytose** : Diminution de la taille des globules rouge

- **Mutation ponctuelle** : Mutation de structure portant sur une seule base (substitution d'une base par une autre). On distingue deux classes de mutations ponctuelles celles ne modifiant qu'un seul codon et celles qui modifient le cadre de lecture
- **Mutation** : Modification survenant dans la séquence de l'ADN d'une cellule et pouvant entraîner la disparition d'un caractère préexistant ou l'apparition d'un caractère nouveau.
- **Ontogénie** : Développement de l'individu, depuis l'oeuf fécondé jusqu'à l'état adulte.
- **Poikilocytose** : elle indique une variabilité de la forme des
- **Splénomégalie** : Augmentation du volume de la rate.
- **Substitution** : Mutation résultant du remplacement d'un (ou plusieurs) nucléotides par un autre (ou plusieurs autres) nucléotide comportant une base azotée différente.
- **Variante de l'Hb** : Hémoglobine structurellement anormale/ pathologique

Introduction

L'hémoglobine(Hb) est une hétéroprotéine qui représente le constituant majeur des érythrocytes des vertébrés. Son rôle essentiel est le transport de l'oxygène (O₂) des poumons aux tissus (**Joly et al., 2014**) ;

Au sein de l'Hb, l'oxygène est lié aux atomes de fer des quatre groupements hémiques (partie non protéique de l'Hb) associé aux chaînes de globine qui constitue la partie protéique. Des mutations touchant cette partie protéique ; se traduisent par des anomalies dites les hémoglobinopathies (**Baudin, 2016**).

Selon **El Wahabi (2010)**, les hémoglobinopathies sont des maladies héréditaires à transmission autosomique récessive, qui regroupent les anomalies quantitatives ou "Thalassémies", caractérisées par un défaut de synthèse de chaîne de globine de l'Hb ; et les anomalies qualitatives ou « hémoglobinoses » qui sont liées à un défaut structural de la molécule d'Hb comme la drépanocytose et l'hémoglobinoase C.

Les hémoglobinopathies sont reconnues comme étant un problème de santé publique dans le monde entier ; Selon les données de l'organisation mondiale de la santé OMS (2008), 7 % de la population mondiale est porteuse d'un gène anormal de globine et dans certaines régions du monde jusqu'à 1 % des nouveau-nés sont atteints d'une pathologie de l'hémoglobine.

A l'origine, ces anomalies étaient plus répandues dans les régions allant de l'Afrique, particulièrement le bassin Méditerranéen, au Proche et Moyen-Orient, le sud-est asiatique et le sous-continent indien (**Kohne, 2011**).

L'Algérie est l'un des pays méditerranéens, malheureusement touché par les hémoglobinopathies avec une proportion de 3% (**Bourkeb et Kahlat, 2017**), ceci nous a poussé à mener une étude descriptive et rétrospective, en remettant en question leurs caractéristiques épidémiologiques, physiopathologiques, cliniques et surtout biologiques, ainsi que en appréciant l'intérêt des différents tests biologiques disponibles actuellement pour le diagnostic et la prise en charge de ces maladies.

L'identification précise des hémoglobines anormales fait appel à un ensemble de techniques, qui sert à la fois l'identification des différents variants de l'hémoglobine ainsi que la quantification des hémoglobines (normales et anormales). Ces deux études qualitative et quantitative sont une base indispensable pour un diagnostic fiable des hémoglobinopathies, qui permettront non seulement une prise en charge thérapeutique la plus optimale possible des patients atteints, mais aussi l'évaluation du risque de transmission de ces pathologies aux descendants de parents porteurs d'une anomalie de l'Hb (**Mario et Sala, 2016**).

L'utilisation actuelle « en routine » de l'électrophorèse capillaire a révolutionné la façon d'appréhender ce diagnostic, et d'autres techniques comme l'électrophorèse à pH alcalin se sont vues devenir désuètes. Néanmoins, la Chromatographie Liquide à Haute performance ou CLHP, méthode de référence pour une bonne quantification surtout des hémoglobines F et A₂, tient toujours une place de grande importance (**Schmidt, 2012**).

Le diagnostic moléculaire occupe actuellement une place importante dans le cadre du diagnostic, du conseil génétique et du diagnostic prénatal, mais il nécessite toujours au préalable une analyse phénotypique précise (**Couque *et al.* 2016**).

Les objectifs de ce travail consistent à :

- Rappeler les caractéristiques épidémiologiques et clinico-biologiques des hémoglobinopathies les plus couramment rencontrées.
- Définir les techniques disponibles à notre disposition pour le diagnostic de ces maladies, et élucider leur intérêt.
- Comparer deux techniques « modernes », qui sont l'électrophorèse capillaire et l'électrophorèse à PH alcalin, tout en illustrant leurs performances.
- Déterminer l'intérêt des frottis sanguins dans l'orientation du diagnostic des hémoglobinopathies.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale.....	01
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I.1. Physiologie de l'hémoglobine:	
I.1.1. Structure et caractéristiques de l'hémoglobine	03
I.1.2. Les gènes de l'hémoglobine.....	04
I.1.3 Ontogénie de l'hémoglobine.....	05
I.1.4. Fonctionnement de l'hémoglobine.....	05
I.1.5. Biosynthèse de l'hémoglobine.....	06
I.1.5.1. Production des chaînes de globines.....	06
I.1.5.2. Synthèse de l'hème.....	06
I.1.6. Catabolisme de l'hémoglobine.....	07
I.2. Les hémoglobinopathies.....	07
I.2.1. Les hémoglobinopathies quantitatives.....	07
I.2.1.1. Thalassémie	07
I.2.2. Les hémoglobinopathies qualitatives	10
I.2.2.1. La drépanocytose.....	10
I.2.3. Mode de transmission des hémoglobinopathies.....	11
I.2.4. Le traitement des hémoglobinopathies	12
I.2.5. Diagnostic biologique des hémoglobinopathies	12
I.2.5.1. Les circonstances du diagnostic.....	13
I.2.5.2. Les différentes méthodes utilisées pour le diagnostic d'une hémoglobinopathie.....	13
A- Tests d'orientation.....	14

B- La mise en évidence des anomalies de l'Hb : méthodes utilisées et leur évolution	14
a- Méthodes électrophorétiques	14
b- Chromatographie liquide à haute performance HPLC.....	16
c- Isoélectrofocalisation	16
d- L'électrophorèse capillaire	17
e- Etude génétique.....	17

II. Matériel et méthodes

II.1. Le cadre d'étude.....	19
II.2. Objectif de l'étude.....	19
II.3. Matériel.....	19
II.3.1. Population d'étude (Patients).....	19
II.3.2. Matériel biologique	20
II.3.3. Matériel et appareillages.....	20
II.4. Méthodes.....	21
II.4.1. Etape pré-analytique.....	21
• Fiche de renseignements.....	21
• Prélèvement	22
II.4.2. Etape analytique	22
II.4.2.1. Formule de numérotation sanguine (FNS).....	22
II.4.2.2. Frottis sanguin.....	24
II.4.2.3. Electrophorèse de l'hémoglobine.....	25
➤ Électrophorèse sur gel à pH alcalin.....	26
➤ Electrophorèse capillaire.....	29
II.4.2.4. Le bilan marial et le bilan d'hémolyse.....	33

Chapitre III : Résultats et discussion.....34

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

I.1. Physiologie de l'hémoglobine

I.1.1. Structure et caractéristiques de l'hémoglobine

L'hémoglobine (Hb) est une chromoprotéine de couleur rougeâtre, qui représente le constituant majeur des globules rouges (33% de sa masse), dont le rôle principal est le transport de l'oxygène (Joly *et al.*, 2014).

Elle a une structure globuleuse hétérotétramérique, d'un poids moléculaire de 64500 Da, faite de 4 sous-unités (S/U), identiques 2 à 2 qui se distinguent en S/U de type α et S/U de type non α (bêta, gamma et delta) qui correspondent à des chaînes polypeptidiques. (Figure 1), chaque S/U comporte :

- ❖ Une partie protéique : la globine est constituée par deux chaînes α qui ont chacune 141 acides aminés, et deux chaînes non α (β chez l'Hb adulte) qui ont chacune 146 acides aminés.
- ❖ Une partie non protéique : l'hème (ou groupement prosthétique), qui est une ferro-protoporphyrine de type IX dont le centre est occupé par un atome de fer ferreux (Fe^{2+}) qui fixe l' O_2 .

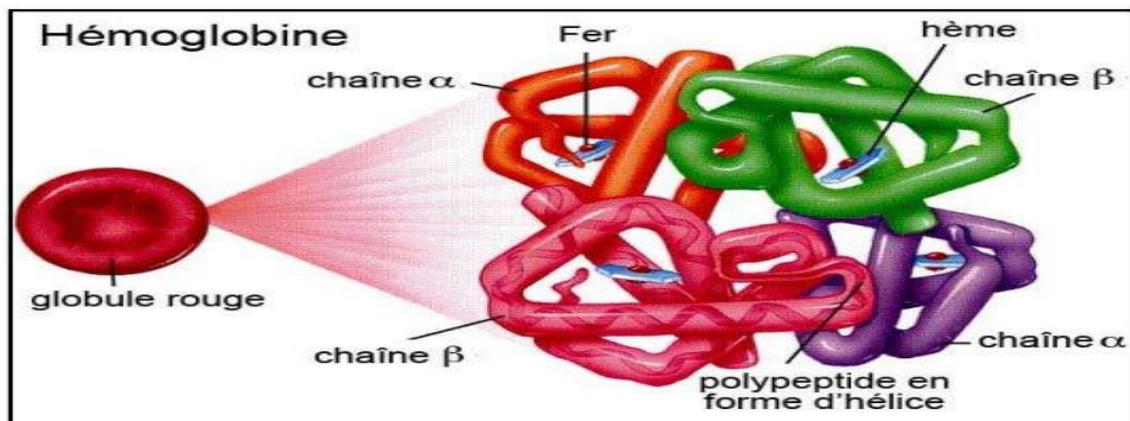


Figure 1: Structure de l'hémoglobine (El kamah *et al.*, 2015).

Selon Couque et De Montalembert (2013), l'hémoglobine présente une architecture basée sur :

- Une structure primaire définie par la séquence en acides aminés des chaînes de globine,
- Une structure secondaire (alternance d'hélices alpha et non-alpha),
- Une structure tertiaire définie par l'arrangement tridimensionnel du monomère de globine qui permet de délimiter une poche à hème,

- Une structure quaternaire définie par les interactions entre les monomères au sein du tétramère.

Les chaînes α et β sont assemblées entre elles par des liaisons fortes (liaisons $\alpha_1\beta_1$ et $\alpha_2\beta_2$) qui jouent un rôle essentiel dans la stabilité de la molécule et par des liaisons fixes faibles (liaisons $\alpha_1\beta_2$ et $\alpha_2\beta_1$) (Couque et De Montalembert., 2013).

I.1.2. Les gènes de l'hémoglobine

Selon Bradai(2014), les différentes chaînes de l'hémoglobine sont codées par deux groupes de gènes (figure 2) :

-Le groupe de gènes de type α situés sur le chromosome 16, il comporte :

- Le gène ζ (zêta) spécifique de la vie embryonnaire, de structure très proche de la chaîne α .
- Les gènes α (α_1 et α_2) s'expriment à partir de la fin de la vie embryonnaire.

-Le groupe des gènes de type β (non- α) situés sur le chromosome 11, il comporte cinq gènes :

- Le gène ϵ spécifiques de la vie embryonnaire, il code pour la chaîne ϵ ;
- Les gènes $G\gamma$ et $A\gamma$ s'expriment à partir de la vie embryonnaire ;
- Le gène δ code pour la chaîne δ , qui s'exprime à partir de la naissance ;
- Le gène β s'exprime à partir de la vie foetale.

L'expression des différents gènes et la synthèse des chaînes protéiques de la globine évoluent et sont continuellement contrôlés au cours de la vie (Rosa et al., 1993 ; Bain., 2008 et Aguilar-Martinez., 2010).

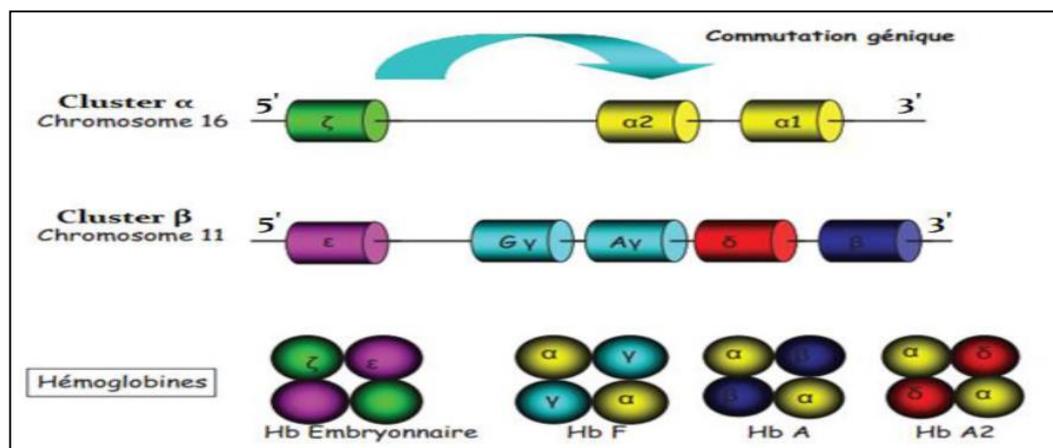


Figure 2 : Organisation des deux familles de gènes de la globine (Bonello-Palot., 2010).

I.1.3. Ontogénie de l'hémoglobine

Rosa et al (1993) ainsi que Wajcman (2005) ont rapporté qu'au cours du développement humain, les différentes chaînes de globines (et donc hémoglobines) sont successivement synthétisées et leurs proportions relatives évoluent selon l'âge (figure 3 et Tableau I).

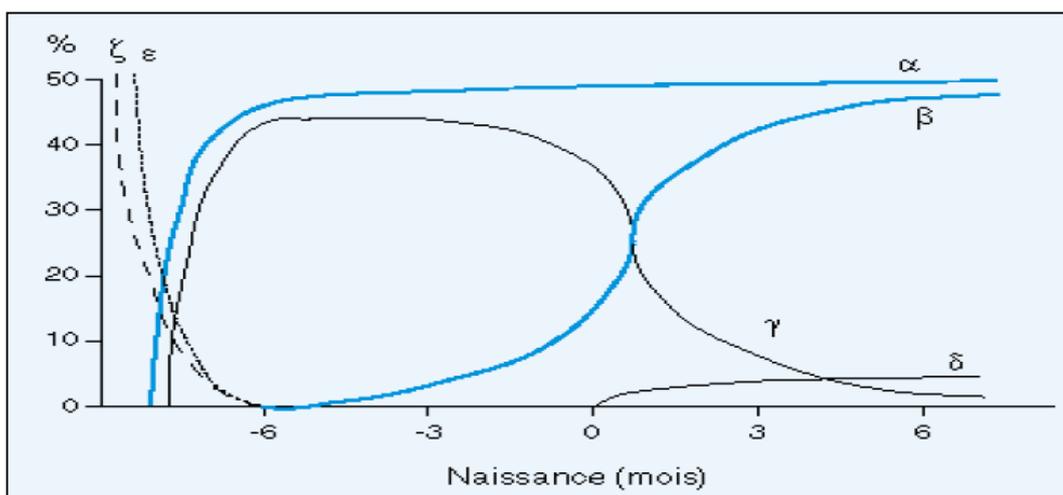


Figure 3: Synthèse des chaînes de globines chez le fœtus et le nourrisson (Rosa et al., 1993).

Tableau I : Différentes hémoglobines exprimées au cours du développement ontogénique :

Age	Types d'hémoglobines rencontrées	Proportion des différentes hémoglobines	Chaînes de globine	Lieu de synthèse
Embryon	Hb Gower 1	-	$\xi_2\varepsilon_2$	Le sac vitellin
	Hb Gower 2		$\alpha_2\varepsilon_2$	
	Hb Portland		$\xi_2\gamma_2$	
Fœtus	Hb F	80 –95 %	$\alpha_2\gamma_2$	Le foie et la rate
	Hb A	5 –20 %	$\alpha_2\beta_2$	
Adulte	Hb A	97 %	$\alpha_2\beta_2$	La moelle osseuse.
	Hb A2	2,2 –3,2 %	$\alpha_2\delta_2$	
	Hb F	< 1 %	$\alpha_2\gamma_2$	

(Couque et De Montalembert., 2013)

I.1.4. Fonctionnement de l'hémoglobine

Selon Gulbis et al. (2004) ; Wajcman (2013) et Chabi et al (2014), l'hémoglobine a un rôle physiologique vital dont la fonction principale est de transporter l'oxygène des poumons vers

les tissus, le transport du gaz carbonique (CO_2) des tissus aux poumons (figure 4) et le maintien de l'équilibre acido-basique (pH sanguin à 7,4 grâce à son pouvoir tampon).

En plus, de ces fonctions physiologiques de transporteur d' O_2 et de CO_2 , **Henry et Laurent (2002)** ont rapporté que l'hémoglobine pourrait également jouer un rôle dans le stockage et le transport du NO (vasodilatateur) au cours de la réaction inflammatoire.

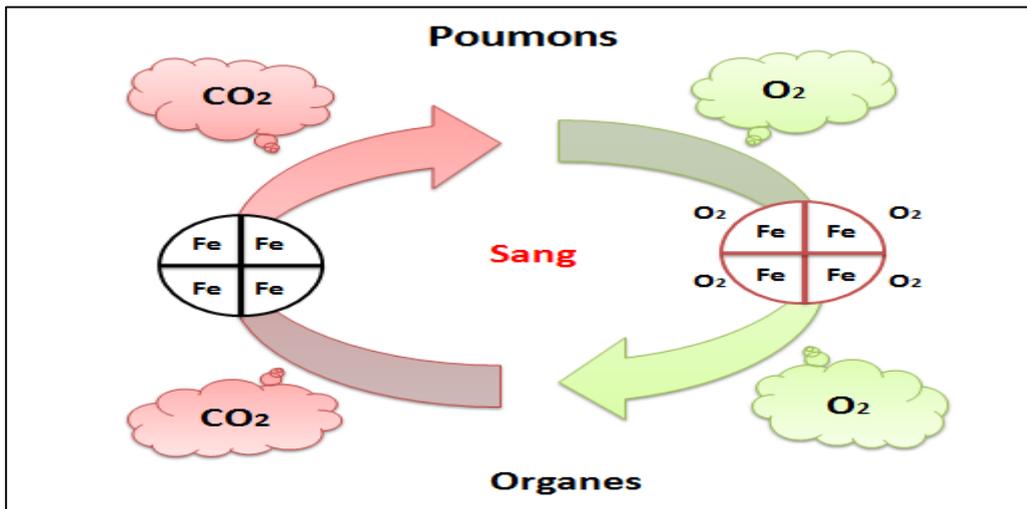


Figure 4 : Transport des gaz par l'hémoglobine

(Gulbis *et al.* (2004)., Wajcman(2013) et Chabi *et al.* (2014))

I.1.5. Biosynthèse de l'hémoglobine

I.1.5.1. Production des chaînes de globines :

L'hémoglobine est une molécule dont la production est dépendante de deux gènes autosomiques. En effet, comme chez tous les eucaryotes, la synthèse des chaînes protéiques débute par celle des transcrits primaires d'ARN, leur maturation nucléaire et leur transport vers le cytoplasme où se fera la traduction de l'ARNm en peptide (**Chabi et Tatiana., 2014**).

I.1.5.2. Synthèse de l'hème

La synthèse de l'hème commence dans les mitochondries, continue dans le cytoplasme de l'érythroblaste, et se termine dans les mitochondries. C'est à ce niveau que le fer va se fixer sur l'hème. L'hème sort des mitochondries, s'associe à la globine et forme une sous-unité. L'association de quatre sous-unités constitue le tétramère d'Hb (**Eleuch., 2004**).

I.1.6. Catabolisme de l'hémoglobine

Selon **Brooker (2000)**, les globules rouges ont une durée de vie de 100 à 120 jours dans le sang. Dépourvus de noyau, ils sont incapables de fabriquer des protéines ou de se diviser, les érythrocytes vieux ou endommagés sont détruits par les macrophages, les cellules phagocytaires de la rate et du foie.

Le fer et les protéines libérées sont recyclés, tandis que l'hème a un métabolisme particulier, la dégradation de l'hème produit des pigments : la bilirubine et la biliverdine qui sont liés ou conjugués à l'acide glycuronique dans le foie, puis passent dans l'intestin par l'intermédiaire de la bile. A ce niveau, une partie s'élimine avec les selles et l'autre est réabsorbée dans le sang pour qu'une partie soit éliminée dans les urines sous forme d'urobiline et une partie subit le cycle entéro-hépatique.

I.2. Les hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont des anomalies hémoglobiniques héréditaires liées à une modification structurale des chaînes polypeptidiques de la globine. Elles sont constitutionnelles et dues à des gènes anormaux. Elles sont très nombreuses et relèvent des mécanismes variés (**Aubry., 2007**).

Selon **Couque et De Montalembert (2013)**, les hémoglobinopathies sont classiquement séparées en deux grandes catégories :

- les anomalies quantitatives : défaut quantitatif de production d'une hémoglobine normale, ce qui correspond à une thalassémie.
- les anomalies qualitatives avec variant de l'Hb : synthèse en quantité normale d'une hémoglobine « anormale ».

I.2.1. Les hémoglobinopathies quantitatives

I.2.1.1. Thalassémie

Le terme thalassémie provient du grec (Thalassa : mer et hémia : sang). Elle est plus fréquente dans le bassin méditerranéen, et se caractérise par la réduction ou l'absence de synthèse d'une

ou de plusieurs chaînes de globines constituant l'hémoglobine, En fonction du type de chaîne mutée (chaîne α ou β), on distingue l'alpha thalassémie et la bêta thalassémie (**Littee., 2016**). Le types de thalassémie le plus fréquent et le plus grave est la bêta-thalassémie (**Jeff., 2018**).

A. β -thalassémie

La β -thalassémie (β -thal) a été initialement décrite dans les populations du bassin méditerranéen, Moyen-Orient, Asie centrale, Inde, Sud de la Chine et l'Extrême-Orient, ainsi que le long des pays de la côte nord de l'Afrique et en Amérique du Sud (**Lahlou., 2016**).

Les β -thal se caractérisent par une réduction ou absence de la synthèse de la chaîne β de l'hémoglobine. Donc dans ce cas, les chaînes bêta sont produites en quantité insuffisante (Beta^+) ou nulle (Beta^0), par conséquent, les chaînes alpha se retrouvent en excès, libres, incapables de s'associer entre elles et deviennent extrêmement instables. Elles sont responsables de la destruction des globules rouges et donc d'une érythropoïèse inefficace, ce qui provoque une production insuffisante d'hémoglobine globale (**Bardakdjian-Michau et al., 2006 ; Higgs et al., 2012; Couque et De Mantalembert., 2013 ; Godeau et Galactéros., 2013**).

❖ Classification des β -thalassémie

En fonction du nombre des gènes touchés et selon le phénotype de l'Hb, plusieurs formes de β -thal (en l'occurrence la profondeur de l'anémie et les besoins transfusionnels) peuvent être distinguées. Cette distinction ne peut pas être réalisée qu'après quelques mois de vie. Lorsque la synthèse de l'HbF n'est plus capable de masquer l'anomalie de la synthèse de HbA.

Selon **Jeff (2018)**, la β -thal peut être mineure, intermédiaire ou majeure (Tableau II) :

- La forme majeure : c'est la forme la plus sévère, également appelée anémie de Cooley ; elle se traduit par une anémie marquée et commence le plus souvent à se manifester entre l'âge de 6 et 24 mois.
- La forme intermédiaire : elle est moins sévère et se manifeste plus tardivement.
- La forme mineure, ou maladie de **Riitti-Greppi-Micheli** : cette forme n'entraîne, en général, quasiment aucun symptôme. Elle est le plus souvent découverte fortuitement.

NB : il existe des formes silencieuses de β -thalassémies, de génotype β^{+}/β , qui sont asymptomatiques cliniquement et hématologiquement.

Tableau II : Principales formes de β -thalassémies selon le phénotype, le génotype ainsi que leurs tableaux cliniques et biologiques :

Phénotype	Génotype	Tableau clinique	Tableau biologique	Traitement
β -thalassémie majeur	Homozygote β^0 / β^0	A partir de 6 -24 mois - Anémie - Pâleur - Fatigue - Ictère - A long terme : <ul style="list-style-type: none"> • hépatosplénomégalie • déformation osseuse - Evolution défavorable en l'absence de transfusion sanguine	<u>FNS :</u> Hb : 4 à 7g/dl (anémie sévère et constante) VGM : 60-65fl (anémie microcytaire) <u>Etude de l'Hb :</u> Hb A : absent ou \searrow HbF: 50-98 % (\nearrow) HbA2 : 2.5- 3.5% (normal ou \nearrow) Bilirubine et fer \nearrow	-Transfusion sanguine régulière -Chélateur de fer. -Greffe de moelle osseuse. -Splénectomie
β -thalassémie intermédiaire	Homozygote β^+ / β^+ Hétérozygote composite β^+ / β^0	Après l'âge de 2 ans Expression plus sévère que celle de la thalassémie mineure sans toutefois atteindre celle de la thalassémie majeure.	\checkmark <u>FNS :</u> Hb : 5 et 9 g/dl (anémie de gravité modérée) VGM : 50-80 fl (anémie microcytaire) \checkmark <u>Etude de l'Hb :</u> Hb A : absent ou \searrow HbA2 : variable (normale ou \nearrow) HbF : \nearrow	-Transfusion sanguine exceptionnelle. -Chélateur de fer si nécessaire. -Conseil génétique
β -thalassémie mineur	Hétérozygotes β^0 / β β^+ / β ou	Asymptomatique (parfois discrète microcytose)	\checkmark <u>FNS :</u> Hb : >10 g/dl VGM : 65-75fl (anémie microcytaire hypochrome Ou microcytose isolée) \checkmark <u>Etude de l'Hb :</u> Hb A : 87-96% HbA2 : 4à5%(normale ou \nearrow) HbF : 2à7% (normale ou \nearrow)	Ne nécessite pas de traitement. -Conseil génétique

Montalembert (2002) et HAS(2008) .

Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_680242/fr/ald-n-10 (Consulté le 12/04/2019 à 17 :34).

B. α -thalassémie:

Selon **Wajcman (2005)**, Les syndromes d' α -thalassémie (α -thal) sont habituellement provoqués par l'absence ou la diminution de synthèse de la chaîne d' α -globine et sont sous-classés selon le nombre des gènes d' α -globine qui sont supprimés (ou mutés). (Voir tableau 01 en **annexe1**).

- Les (α^+ -thalassémie) : un seul gène supprimé ;
- Les (α^0 -thalassémie) : deux gènes supprimés, sur le même chromosome (Trans), ou un gène par chromosome (en Cis) ;
- **L'Hémoglobine H** : représente la forme la plus fréquente des α thalassémies, causée par l'inactivation de trois gènes alpha ($--/\alpha$), conduisant à la sous-production des chaînes alpha de l'hémoglobine, avec formation au début, de tétramères γ -4 (Hb Bart's) qui seront par la suite substituées dès la naissance par les chaînes β donnant un tétramère β 4 ou l'hémoglobine H (Hb H). (**Siala H et al., 2008**).

Selon **Corinne (2012)**, cette Hb H a une forte affinité pour l'oxygène et est très instable, précipite sous forme de corps de Heinz toxiques conduisant à la lyse des hématies. La formation de ces corps de Heinz est prédominante dans les globules rouges matures, ce qui induit une hémolyse prématurée plutôt qu'une érythropoïèse inefficace.

- Les hydrops fœtales avec Hb Bart : quatre gènes supprimés.

I.2.2. Les hémoglobinopathies qualitatives :

Les anomalies qualitatives regroupent les hémoglobinoses dues à des mutations ponctuelles touchant, pour la plupart, la solubilité de l'hémoglobine, avec parfois diminution de sa stabilité. Plus de 500 mutations de la chaîne β ont été répertoriées, comme : les hémoglobines S, C, D-Punjab, E, O-Arab et Lepore (Voir tableau 2 en **annexe1**) mais la plus fréquente et la plus grave est la drépanocytose (**Baudin., 2016**).

I.2.2.1. La drépanocytose :

La drépanocytose (du grec *Drepanos* qui veut dire faucille), également appelée Hémoglobine S, sicklémie, ou anémie à cellules falciformes, est une hémoglobinopathie très répandue en Afrique (dans la race noire) et dans le bassin méditerranéen, elle est responsable d'une anomalie de l'hémoglobine (**Credos., 2005**).

Cette maladie résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène β globine (substitution de l'acide glutamique par la valine en sixième position) qui provoque la synthèse d'une hémoglobine anormale Hb S (**Girot et al., 2006**).

Selon **Santin et Renaud (2013)**, La substitution de l'acide glutamique par la valine aboutit à une polymérisation des molécules d'Hb à l'état désoxygéné. Après plusieurs cycles d'oxygénation et de désoxygénation, il se forme de longues chaînes d'Hb rigides et insolubles, conduisant à des altérations structurales de la membrane des globules rouges (GR) (rigidification et falciformation des GR) et des altérations de sa capacité d'écoulement dans les vaisseaux sanguins provoquant une vaso-occlusion (figure 1 en **annexe 1**), qui sont responsables de complications à court, à moyen et à long terme.

Ces globules rouges tendent à s'agglutiner et bloquer les vaisseaux les plus étroits (rate, œil, os) entraînant des micro-thromboses avec micro infarctus répétées. La falciformation est favorisée par l'hypoxie, le froid et l'acidose. Les hémoglobines A et F inhibent la falciformation alors que l'Hb C la favorise.

- D'un point de vue clinique, il existe un deuxième syndrome drépanocytaire majeur (SDM), qui correspond aux formes dites « hétérozygotes composite », qui sont la résultante de la coexistence d'une ou de deux mutations caractéristiques comme : Hb C/Hb S, Hb E/Hb S, Hb O-arab/Hb S, Hb D-punjab/Hb S, β -thal/HbS. (**Labie et al., 2003**).

L'association S/C: C'est la forme la plus fréquente, les patients drépanocytaires S/C souffrent de symptômes comparables à ceux de la drépanocytose, mais de pronostic plus favorable; des rétinopathies fréquentes semblent la seule complication réellement spécifique. (**Biaz et al., 2017**).

I.2.3. Mode de transmission des hémoglobinopathies:

Comme la β thalassémie et la drépanocytose sont des maladies génétiques à transmission autosomique récessive, l'apparition de la forme homozygote (majeur) chez l'enfant nécessite l'héritage des deux copies de gènes mutés des parents (figure 5). Dans la forme mineure, une seule copie mutée est héritée alors que l'autre est normale. Lorsque les deux parents sont hétérozygotes (forme mineure), le risque de transmission de la maladie à la descendance est

comme suit : **25%** de forme homozygote, **50%** hétérozygote et **25%** de cas sains (Roussey, 2011).

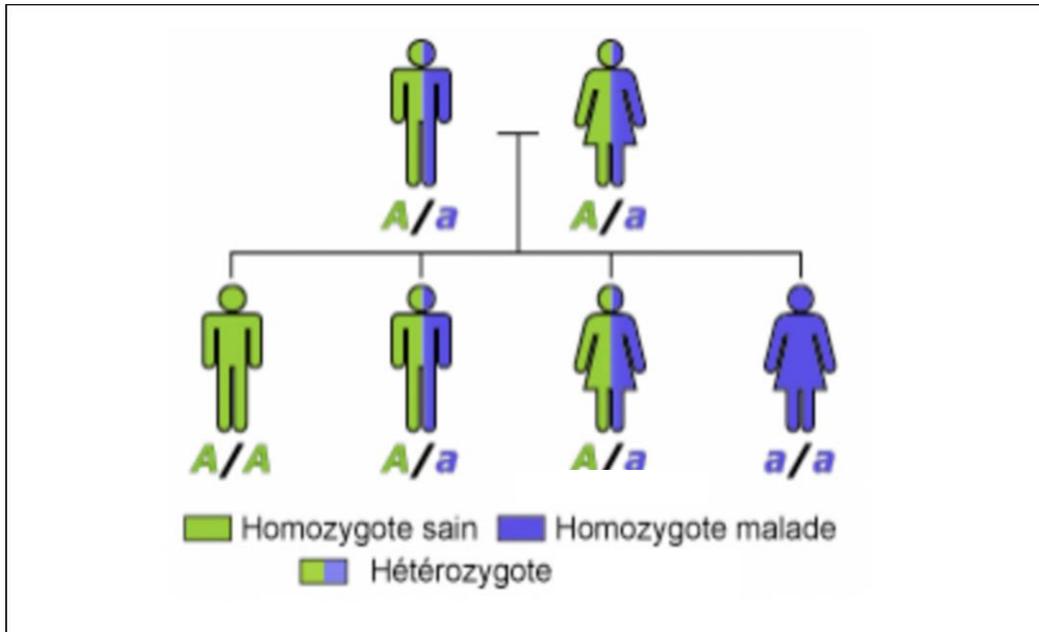


Figure 5 : Mode de transmission des hémoglobinopathies

<https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/BetaThalassemie-FRfrPub51.pdf>

(consulté le 09-04-2019 à 00 :25)

1.2.4. Le traitement des hémoglobinopathies

Bien que les hémoglobinopathies sont considérées comme étant des maladies génétiques à transmission autosomique. Plusieurs traitements peuvent être appliqués afin d'améliorer l'espérance et la qualité de vie .Ces traitements sont ajustés en fonction de l'âge, la sévérité de la maladie et la réaction aux traitements ancestraux et l'état physiopathologique de patient (voir tableau III en **annexe 01**)

1.2.5. Diagnostic biologique des hémoglobinopathies

Le diagnostic biologique d'une hémoglobinopathie repose sur la mise en évidence d'un variant anormal d'Hb (anomalie qualitative) et/ou une perturbation des proportions physiologiques de l'Hb (anomalie quantitative). Selon la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM), la recherche d'une anomalie de l'Hb (acte1120, B120) doit être faite par au moins une technique d'électrophorèse et de deux autres tests adaptés selon les besoins pour un résultat diagnostique (Couque et De Montalembert., 2013).

I.2.5.1. Les circonstances du diagnostic :

Selon **Bain (2011)** ; **Bardakdjian-Michau (2003)** et **Jeanne (2010)**, les situations conduisant à la recherche d'une anomalie de l'Hb sont :

- ✓ Le diagnostic étiologique des manifestations cliniques et/ou biologiques par :
 - Des signes d'anémie : pâleur, essoufflement, plus rarement une cyanose avec anomalie de l'hémogramme (anémie, microcytose, pseudopolyglobulie) et/ou du frottis sanguin (hématies cibles, drépanocytes, poikilocytose, corps de Jolly).
 - Des signes d'hémolyse (ictère, hépto-splénomégalie) avec des anomalies du bilan d'hémolyse (bilirubine libre augmentée, haptoglobine effondrée).
- ✓ Découverte fortuite d'un variant de l'hémoglobine lors du dosage de l'hémoglobine glyquée.
- ✓ L'enquête familiale suite à la découverte d'une hémoglobinopathie.
- ✓ Le dépistage maternel au cours de la grossesse chez les femmes originaires de pays à risque (Afrique du Nord, Afrique noire, Extrême-Orient, bassin méditerranéen, Antilles...).

I.2.5.2. Les différentes méthodes utilisées pour le diagnostic d'une hémoglobinopathie:

Selon **Guerard (2014)** ; Le diagnostic repose sur des tests d'orientation (l'hémogramme et frottis sanguin, bilan martial, et bilan d'hémolyse) et des tests de certitude qui mettent en évidence une anomalie de l'Hb (l'électrophorèse de l'hémoglobine, chromatographie) ; ainsi que des tests supplémentaires parfois réalisés, comme: la recherche de corps de Heinz, tests de stabilité de l'Hb et, mesure de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène et, le test de solubilité de HbS : le test Itano et d'Emmel...etc.

Et en fin, afin de mettre en évidence exactement l'anomalie de l'Hb à l'échelle moléculaire, on a recours aux tests génétiques.

A. Tests d'orientation :

L'ensemble des tests d'orientation sur lesquels repose le diagnostic des hémoglobinopathies sont récapitulés dans la figure 6.

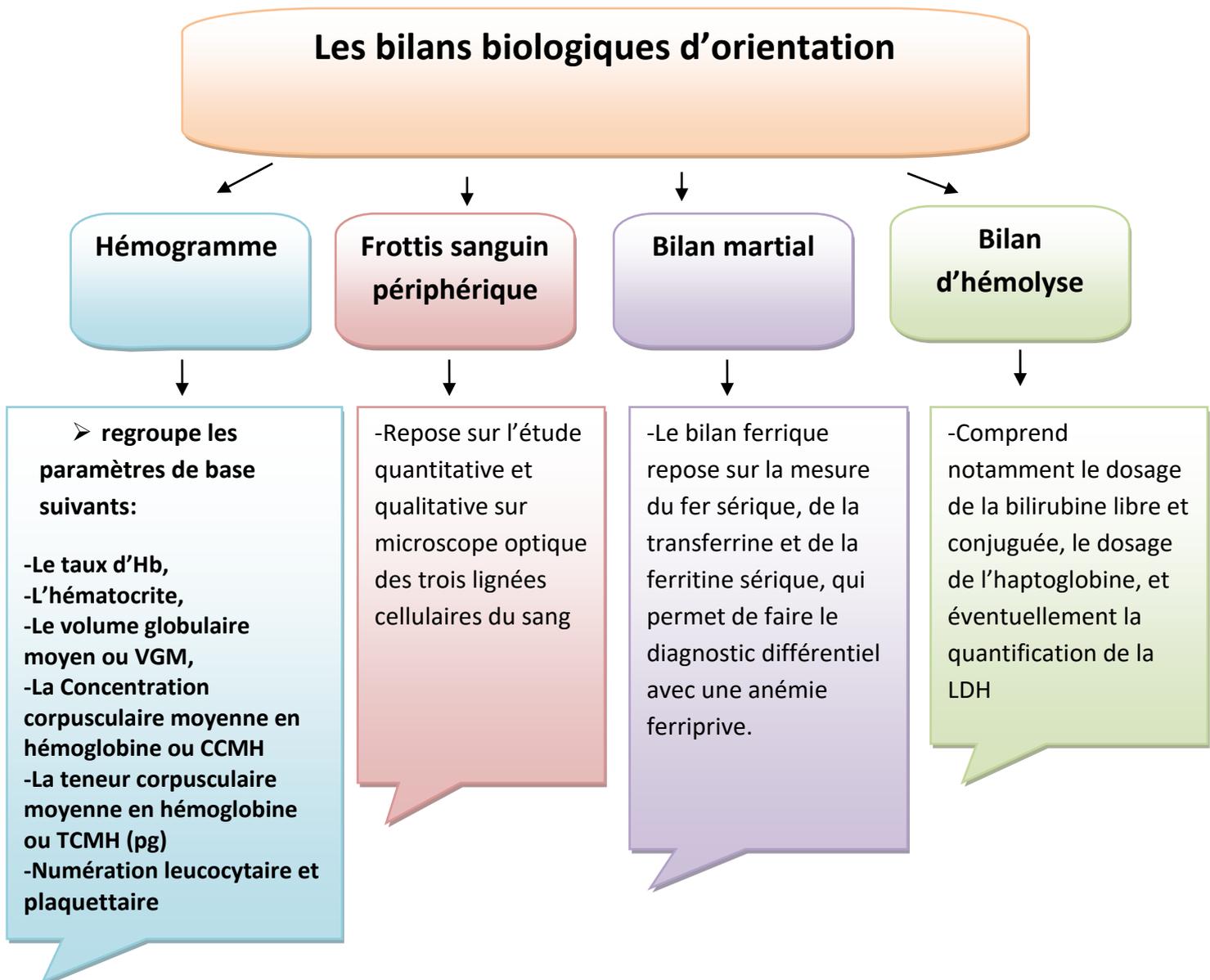


Figure 6: Les tests d'orientation utilisés pour le diagnostic des hémoglobinopathies (Barro et Casini., 2013 ; Couque et De Montalembert., 2013 ; Djeddi et Benameur.,2017)

B. La mise en évidence des anomalies de l'Hb : méthodes utilisées et leur évolution

a- Méthodes électrophorétiques

Selon Bourkeb et Kahlat (2017), L'électrophorèse s'impose d'un point de vue historique comme la méthode de choix pour l'identification et la quantification des différentes fractions de l'hémoglobine, en se basant sur la séparation des différentes fractions d'Hb selon leurs charges et leurs poids moléculaire.

Initialement développée par *Tiselius* dans les années 1930, l'électrophorèse en veine liquide, réalisée dans un tube en U, a par la suite été supplantée par l'électrophorèse de zone, pratiquée dans une trame solide imprégnée d'une solution tampon (**Clarke et Higgins., 2000; Trivin et Le Bricon., 2003; Le Carrer et Bach-Ngohou., 2005**).

Différents tampons ont été utilisés :

❖ **Électrophorèse à pH alcalin**

L'électrophorèse à pH alcalin (classiquement pH 8,6), est réalisée soit sur gel d'acétate de cellulose, soit sur gel d'agar. L'inconvénient de cette technique est que les hémoglobines A2, C, E et O migrent dans la même zone, de même que les hémoglobines S, D et G migrent selon la même vitesse. Dans le cas de suspicions de telles anomalies de l'hémoglobine, une technique complémentaire doit donc être envisagée (**Clarke et Higgins., 2000; Ou et Rognerud., 2001**).

❖ **L'électrophorèse à pH acide (pH 6,0)**

Elle est réalisée sur support solide (citrate agar ou agarose), c'est une technique de seconde intention. Son principal avantage est qu'en complément de l'électrophorèse à pH alcalin, elle peut séparer l'Hb C de l'Hb E et de l'Hb O, ainsi que l'Hb S de l'Hb D et de l'Hb G, aussi, elle sépare l'Hb S des mutants « S-like » (**Couque et De Montalembert., 2013**).

Ces deux méthodes électrophorétiques alcalin et acide présentent des inconvénients : les Hb E et Hb O ainsi que les Hb D et Hb G ne peuvent toujours pas être différenciées. De plus, c'est des techniques consommatrices de temps et de main d'œuvre et manquent de précision pour la quantification des hémoglobines en concentrations faibles, comme l'Hb A2, et pour la détection des variants à migration rapide, comme l'Hb H ou l'Hb Bart's, car la quantification par densitométrie manque de précision, elles doivent être utilisées à visée qualitative seulement (**Clarke et Higgins., 2000; Altinier et al., 2013**).

Aujourd'hui, les techniques électrophorétiques sur gel sont le plus souvent utilisées combinées à une autre méthode, principalement la chromatographie liquide de haute performance (CLHP).

Actuellement, seule la chromatographie liquide à haute performance d'échange cationique (CLHP) et l'électrophorèse capillaire (EC), sont acceptables pour la quantification et la séparation de nombreux mutants de l'Hb (**Bardakdjian-Michau et al., 2003**).

b- Chromatographie liquide à haute performance HPLC

Est une technique qualitative très résolutive, quantitative et automatisable. Elle est basée sur la séparation des différentes fractions d'hémoglobine selon leur affinité vis-à-vis d'une colonne échangeuse d'ions (de cations ou d'anions). Leur vitesse de migration est inversement proportionnelle à l'affinité (**Bourkeb et Kahlat., 2017**).

Selon **Djeddi et Benameur (2017)**, l'HPLC permet également le dosage des fractions d'hémoglobines mineures (Hb A2 et Hb F) et les principales hémoglobines anormales.

Ainsi, la combinaison des techniques d'électrophorèse sur gel avec la CLHP permet l'identification et la quantification des hémoglobines.

c- Isoélectrofocalisation

La focalisation isoélectrique est une technique hautement résolutive de séparation, réalisée sur gel d'agarose ou sur gel de polyacrylamide, elle sépare les hémoglobines dans un gradient de pH en fonction de leur point isoélectrique. Pour cela, des ampholytes sont introduits dans le gel de manière à créer un gradient de pH continu sous l'effet d'un champ électrique (**Cotton et al., 2006**).

Selon **Otter (2003)** et **Cotton et al.(2006)**, cette technique, qui permet de séparer des variants de l'hémoglobine dont les points isoélectriques diffèrent de 0,01 unités de pH, présente une excellente résolution et s'avère très utile pour :

- La séparation rapide de la plupart des hémoglobines, notamment les Hb C et E et/ou S et D.
- La mise en évidence d'hémoglobines instables non identifiables par les techniques classiques d'électrophorèse à pH alcalin.
- La détection des hémoglobines anormales chez le nouveau-né, alors que l'hémoglobine F constitue la fraction hémoglobinique majeure pendant les premiers mois de la vie. De plus, l'isofocalisation électrique est parfaitement adaptée à l'analyse de grandes séries.

En revanche, les principales limites de cette méthode sont une mise en œuvre longue et complexe. De ce fait, son utilisation est quasiment réservée au dépistage néonatal des hémoglobinopathies.

Cependant, ces techniques électrophorétiques manuelles laissent de plus en plus place à l'électrophorèse capillaire, qui est en plein essor (**Cotton et al., 2006 ; Bain., 2008**).

d- L'électrophorèse capillaire

C'est une technique d'électrophorèse liquide développée au début des années 2000 pour l'étude de l'hémoglobine ; les différentes fractions d'hémoglobines se séparent en fonction de leur mobilité électrophorétique (donc de leur charge) mais aussi en fonction du courant d'électro-osmose (donc de leur rapport charge/masse) (**Cotton et al., 1999**).

Selon **Cotton et al. (2006)**, cette technique permet une quantification précise des différentes fractions de l'hémoglobine, semblable à celle de la CLHP, et présente l'avantage d'être automatisée, rapide, reproductible et quantitative, avec des tracés simples à interpréter. Cette technique fait l'objet de développements commerciaux importants. Ainsi, Sebia a commercialisé le système Minicap® et le système Capillarys®, dont nous étudierons les performances de ce dernier dans la partie pratique.

e- Etude génétique

Selon **Clarke et Higgins (2000) ; Bardakdjian-Michau et al.(2003) et Krause et al.(2013) ;** plusieurs techniques de biologie moléculaires sont actuellement disponibles, elles utilisent de l'ADN < pour la recherche des mutations touchants les différents gènes de l'Hb, dont l'intérêt est réservé pour la recherche scientifique, mais des fois selon la disponibilité, on peut les utiliser pour :

- Dépister les couples à risque de donner naissance à un enfant malade.
- Réaliser un diagnostic prénatal d'une hémoglobinopathie.

La recherche de mutations ponctuelles (délétions et insertions), qui sont couramment associées au Beta et alpha-thalassémies ; et aussi la recherche de nouvelles mutations non

encore identifiées, peut être réalisée selon la recherche systématique de mutations (surtout les mutations non encore identifiées) en utilisant les techniques de séquençage (**Aguilar-Martinez et al., 2010**).

La recherche de mutations déjà connues, comme les substitutions ponctuelles, qui sont couramment associées au hémoglobinoses qualitatives « principalement la drépanocytose », peut être réalisée selon la recherche spécifique de mutations, par les techniques de PCR ; la plus utilisée est la PCR en temps réel. (**Labie., 1995 ; Harano et al.,2013**).

III.1. Etude épidémiologique :

III.1.1. Répartition des patients selon le sexe :

La série étudiée comprend 33 sujets, de sexe masculin, et 37 sujets de sexe féminin, soit respectivement 47.14 % et 56.86 % de l'ensemble des cas (figure 11).

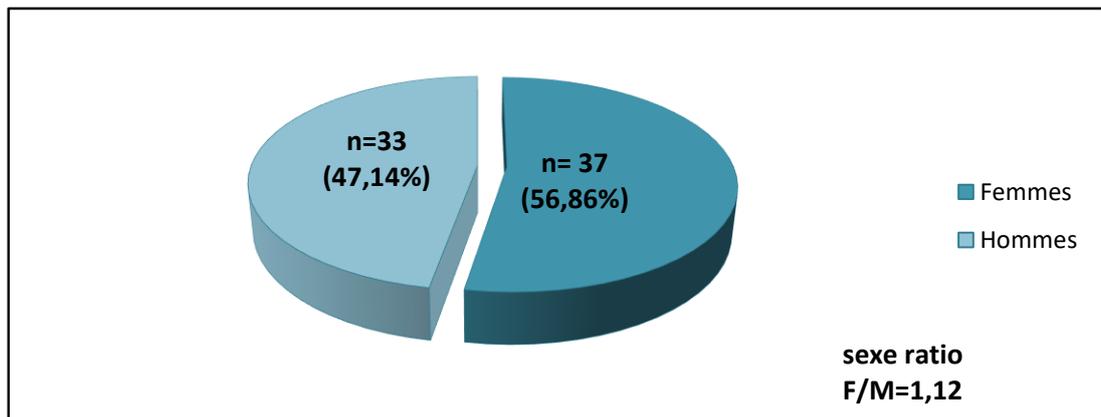


Figure11 : Répartition des patients selon le sexe.

Nous avons trouvé dans la population étudiée, une légère prédominance féminine (37 cas) avec une sex-ratio de 1.12 (proche de 1), ce même résultat a été trouvé dans une étude faite au Maroc par **Dahmani et al. (2017)** (sex-ratio 1.11), par contre l'étude réalisée par **Belhadi(2011)** montre une prédominance masculine (sexe ratio M/F 1.08) à l'est algérien, dans ce même contexte, un ratio M/F égale à 2 a été rapporté par les travaux de **Laanait (2018)** au Maroc.

La prédominance féminine retrouvé dans notre étude ne peut pas être expliquée par l'existence d'une relation entre le sexe et la maladie puisque la transmission de cette maladie est autosomique récessive non liée au sexe (**Roussey., 2011**).

Cette différence pourrait se justifier par le mode de recrutement et par l'effectif, qui diffèrent d'une étude à l'autre.

III.1.2.Répartition selon l'âge

a. Répartition des patients selon les tranches d'âge

Nos patients sont subdivisés en trois tranches d'âge : inférieure à 2 ans ; entre 2 et 10 ans ; et supérieure à 10 ans.

Les résultats sont rapportés dans la figure12.

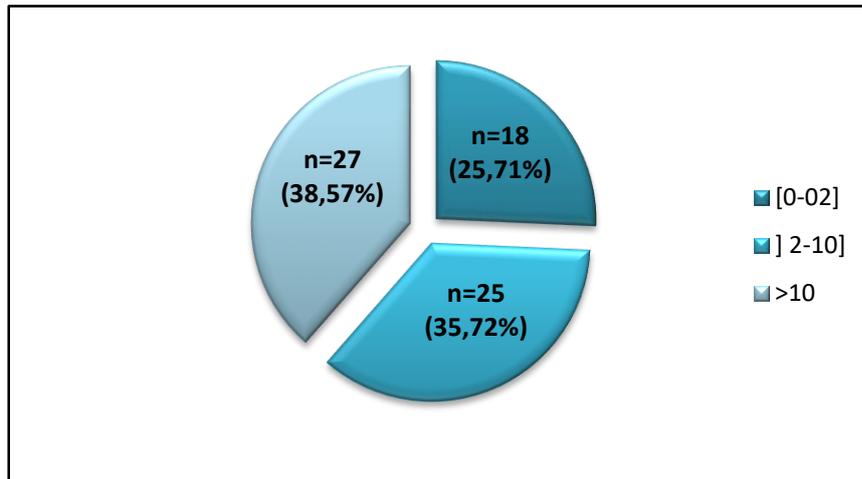


Figure 12 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Nos résultats concernant l'âge, ont montrés que, la plupart des patients sont âgés de plus de 2 ans, avec une proportion de 35.72% pour la tranche] 2-10] et 38.57 % pour la tranche (>10) alors que les patients âgés de moins de 2 ans représentent une proportion de 25,71%.

Ces résultats se rapprochent de celles d'une étude réalisée à Blida en 2016 par **Haddad et Bradai(2016)**,

b- Répartition des patients selon l'âge par type d'hémoglobinopathie :

L'étude de l'âge dans chaque maladie, permet de calculer l'âge moyen de diagnostic de chaque type d'hémoglobinopathie.

La répartition des patients selon l'âge par type d'hémoglobinopathie est illustrée dans la Figure13:

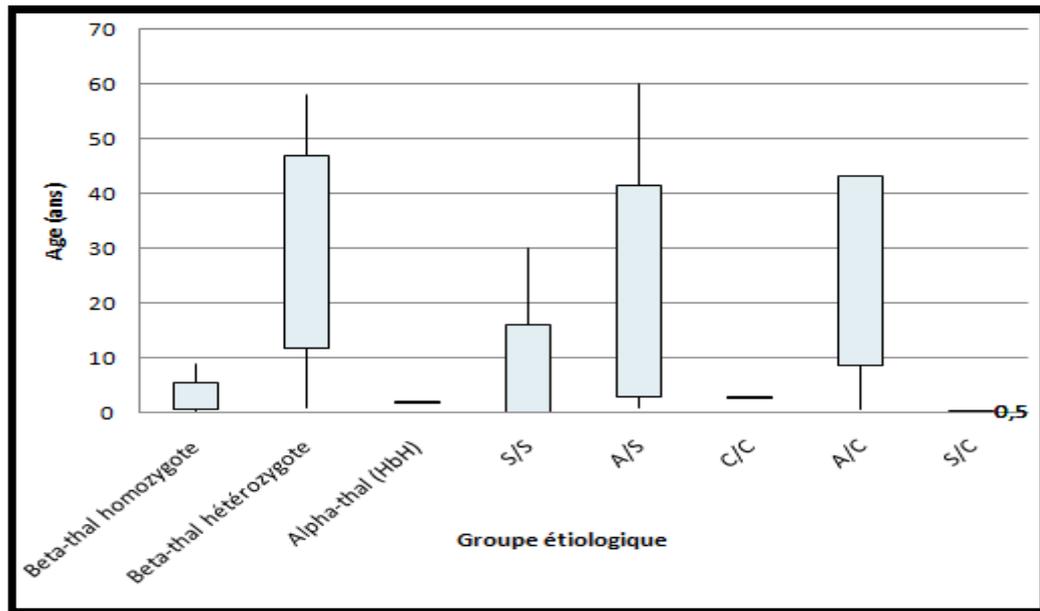


Figure 13: Répartition des hémoglobinopathies selon les moyennes d'âge et le type d'hémoglobinopathie.

La répartition de la population étudiée selon les tranches d'âge montre que :

les hémoglobinopathies homozygotes : β -thal (F/F), la drépanocytose (S/S) et hémoglobinosé C (C/C) sont détectées majoritairement dans la tranche d'âge]02-10] avec une moyenne d'âge de 3 ans pour les β -thal ,et hémoglobinosé C et 7.8 ans pour la drépanocytose. Ce qui est rapproché avec les résultats de **Belhadi (2011)**.

Ces formes homozygotes sont diagnostiquées à bas âge parce qu'elles sont symptomatiques dès la première enfance, ce qui implique une prise en charge plus précoce ;

L'âge de diagnostic des formes homozygotes de β -thal est plus bas que celui des anomalies qualitatives, car leurs manifestations cliniques sont plus sévères et plus précoces (anémie non supportée); en revanche, dans la drépanocytose, les crises vaso-occlusives n'apparaissent que tardivement, lorsque les globules rouges prennent la forme en faucilles avec une membrane rigide de manière irréversible.

Les hémoglobinopathies hétérozygotes : la drépanocytose (A/S), l'hémoglobinosé C (A/C) et la β -thal (A/F) sont révélés à l'âge adulte (> 10 ans) avec une moyenne de 22,3 ans, 26 ans et 29.44 ans respectivement.

On remarque que l'âge de diagnostic de la drépanocytose hétérozygote est plus bas que celui de la β -thal hétérozygote ; ceci peut être expliqué par des symptômes liés à chaque anomalie ;

Ainsi la β -thal hétérozygote se traduit par une légère anémie généralement supportée et tolérée et des fois même asymptomatique (formes mineures), et révélée fortuitement ou lors d'une enquête familiale, ce qui retarde le diagnostic, par contre les anomalies qualitatives peuvent s'exprimer par des crises vaso-occlusives douloureuses non négligeables et impose une consultation médicale.

Le cas de l'Hémoglobinoase H (α -thal) et le cas de double hétérozygotie S/C ont été diagnostiqués à l'âge de 2 ans et $\frac{1}{2}$ ans respectivement, ceci est dû au fait qu'elles sont des formes majeures, ainsi que les formes double hétérozygotie S/C ont des complications plus en moins sévères

III.1.3.Répartition des patients selon le type d'hémoglobinopathie

Dans la population que nous étudié, la répartition des patients en fonction du diagnostic étiologique montre une égalité entre les anomalies quantitatives et qualitatives de l'hémoglobine (35 patients, soit **50%** pour chacune), a titre de rappel, l'ensemble des patients impliqués dans cette étude souffrent d'une hémoglobinopathie.

La figure 14 montre l'existence des deux types d'hémoglobinopathies (qualitatives et quantitatives) dans la population recueillie dans la région de Blida.

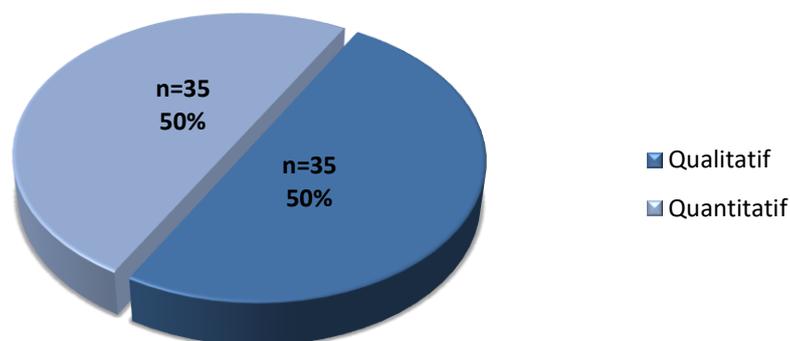


Figure 14 : Répartition des patients selon le type d'hémoglobinopathie.

Plusieurs auteurs ont rapporté que les hémoglobinopathies sont fréquentes chez les sujets originaires du pourtour méditerranéen (Maghreb, Sicile, Grèce, Moyen-Orient) (**Giabmonaa et al., 1997 ; Rosa et al., 1993**).

Les résultats que nous avons obtenus, confirment la prévalence des hémoglobinopathies dans le bassin méditerranéen précisément l'Algérie. Aujourd'hui, les mouvements de populations, les mélanges et surtout les mariages consanguins conduisent à une diffusion de plus en plus large de ces anomalies, qui posent des problèmes de santé publique (**Belhadi., 2011**).

Des études nationales réalisées par **Belhadi(2011)**, à Batna ont révélé une prédominance des anomalies qualitatives, ces mêmes constatations ont été rapportées par les travaux de **Dahmani et al (2017)** à (Kenitra) au Maroc ; par contre, **Benkirane et Sebar (2003)** au Rabat, avaient rapporté que les hémoglobinopathies quantitatives sont plus fréquentes.

III.1.4.Répartition des cas selon l'origine géographique

Dans notre population 16 cas (22,86 %) ont un origine géographique inconnue ou non renseignée. Les 54 cas restants (77.14%) sont originaires de la willaya de Blida et ses alentours (figure15).

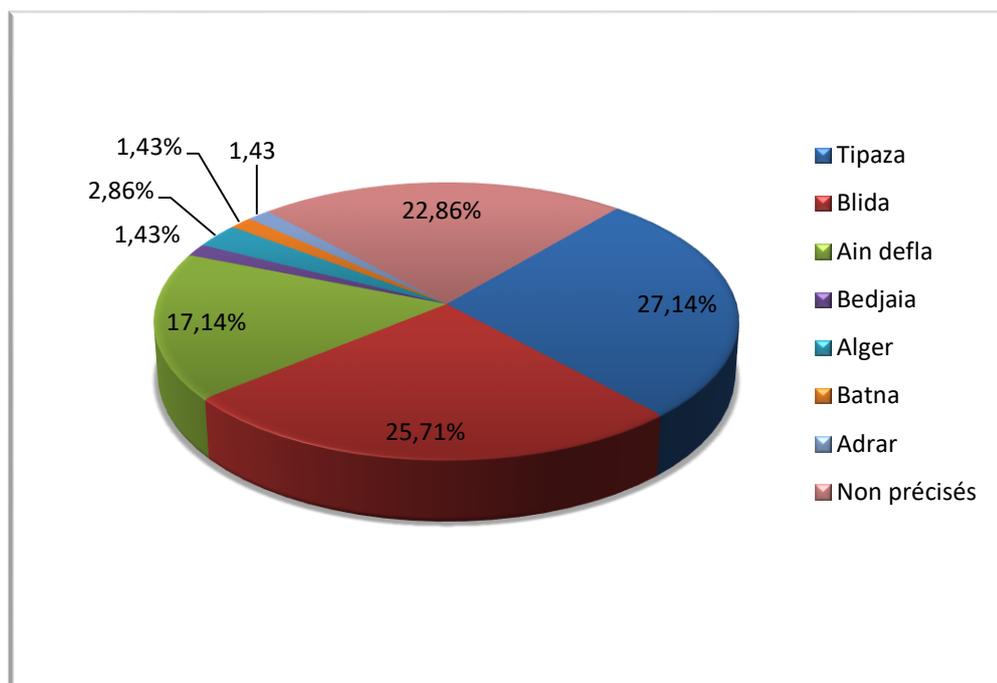


Figure15 : Répartition des patients selon l'origine géographique de la population étudiée.

Nous avons enregistré une prédominance des cas provenant de la région de Tipaza, Blida et Ain defla avec pourcentage de 27.14% ; 25.71% et 17,14% respectivement;. Cependant, de très faible pourcentages ont été recensé pour les régions, (Bejaia ; Batna ; Adrar (1,43%) et Alger (2,86%).

Cette répartition semble tout à fait normale, vu que la plupart des patients se dirigent souvent vers les structures sanitaires appartenant à leur région, ou vers l'établissement hospitalier le plus proche offrant un service de soin correspondant à leurs besoins.

Le pourcentage élevé des hémoglobinopathies dans les régions de Tipaza, Blida et Ain defla permet de signaler la présence d'une zone critique en Algérie, ce foyer est très probablement la résultante de la fréquence élevée des mariages consanguins contribuant à l'éclosion des formes homozygotes et hétérozygotes dont les conséquences pathologiques sont redoutables.

III.1.5.Répartition selon les antécédents consanguins

La répartition de notre population selon les antécédents consanguins est représentée dans la figure 16.

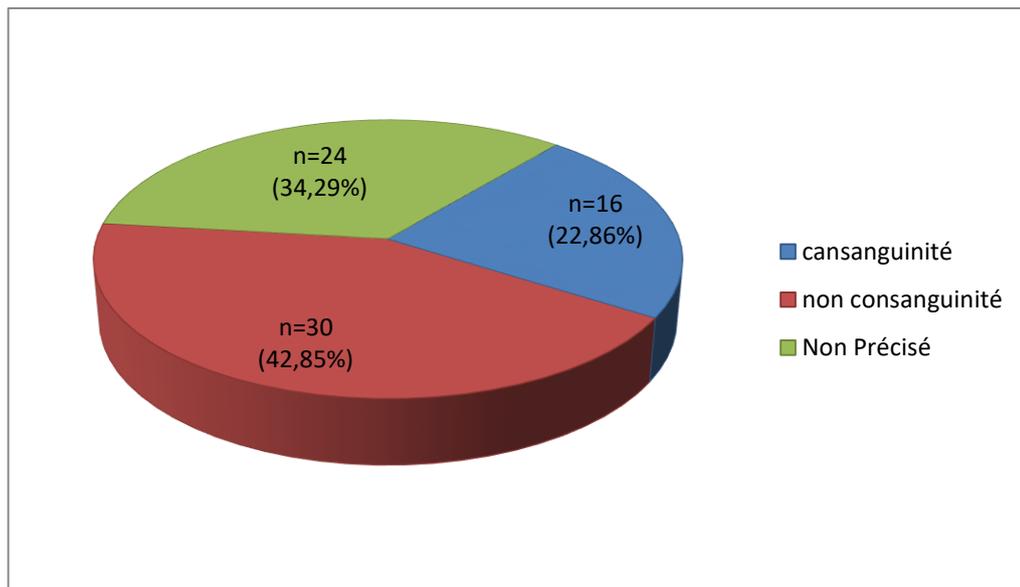


Figure 16: Répartition selon les antécédents de consanguinité dans la population étudiée.

Dans cette étude, la consanguinité est absente dans 30 cas (42,85%), nous l'avons retrouvé dans 16 cas seulement (22,86%). Cependant, pour les 24 cas restants (34,29%), les dossiers de ces patients n'indiquent pas l'absence ou l'existence de consanguinité ;

Les 30 cas initialement présentés ne sont pas issus d'un mariage consanguin, mais sont plutôt de la même région ou des différentes régions voisines ; ce qui est un signe de consanguinité indirecte. Une étude réalisée dans le CHU de Annaba en par **Djennouni et al (2002)** a montré que 23% des patients ont un antécédent de consanguinité, ce qui concorde avec nos résultats (22,86%).

La consanguinité seule, ne semble pas être la cause principale des hémoglobinopathies mais elle augmente la probabilité de l'apparition de la maladie ;

Sa fréquence élevée, dans les pays du Maghreb, est expliquée par l'augmentation des mariages consanguins dans ces régions (Lahlou, 2016).

III.1.6.Répartition des hémoglobinopathies selon l'étiologie et selon le génotype :

La répartition des hémoglobinopathies selon le type et selon le génotype est rapportée dans le tableau V.

Tableau V : répartition des hémoglobinopathies selon l'étiologie et selon le génotype :

Type		Génotype	Patients n (%)	
Quantitatives	α -thal	Hémoglobinosose H ($\alpha^0\alpha^0/\alpha^0\alpha$)	1	1(1,43)
	β -thal	Homozygote F/F	16	34(48.57)
		Hétérozygote A/F	18	
Qualitatives	Drépanocytose	S/S	16	29(41.43)
		A/S	13	
	Hémoglobinosose C	C/C	1	5(7.14)
		A/C	4	
	Double hétérozygotie	S/C	1	1(1,43)
Totale			70	70 100%

➤ Anomalies quantitatives ou les thalassémiques (35 cas) :

Parmi les 70 patients étudiés, nous avons constaté que 34 d'entre eux avaient présenté une β -thalassémie, ces derniers représentent un taux de 48,57%, parmi lesquels le diagnostic étiologique avait confirmé la présence de 16 cas de β -thalassémiques homozygotes et 18 cas β -thalassémiques hétérozygotes (Tableau V).

Ainsi mathématiquement, on peut affirmer que la forme β -thal hétérozygote est plus fréquente que la forme homozygote. Cela peut être justifié par le fait que la fréquence d'avoir des descendants homozygotes à partir de parents hétérozygotes est 25% par rapports à 50% de descendants hétérozygotes, selon le mode de transmission autosomique récessive. Ces résultats semblent être superposables aux données fournies par l'enquête épidémiologique établis à Alger par BenMaamer (2009).

1 seul cas α -thalassémique a été recensé dans la population étudié, ce dernier représente 1,43 %.(Tableau V), pour lequel le diagnostic clinique a confirmé la présence d'une

hémoglobinoses H. ce résultat est pleinement justifiable puisque les α -thalassémies sont très rares dans la région du bassin méditerranéen (Nsangou et *al.*, 2012).

Ferrier (1980) avait rapporté qu'il existe quatre formes de α -thalassémie : une très grave (avec 4 gènes supprimés) qui cause une mort fœtale, deux formes mineures (avec 2 gènes supprimés) qui sont asymptomatiques cliniquement, ce qui diminue mathématiquement leurs fréquences, par contre, la 4^{ème} forme (avec 3 gènes supprimés « HbH ») est la seule diagnostiquée, cette dernière est nommée Hémoglobinoses H.

➤ Anomalies qualitatives (35 cas) :

29 cas drépanocytaires ont été recensés dans la population étudiée, représentant un taux de 41,43% ; Parmi lesquels le diagnostic des cliniciens avait confirmé la présence de 16 cas homozygotes S/S et 13 cas hétérozygotes A/S (tableau V), ainsi, on peut noter une prédominance de la forme homozygote S/S (55.17%).

- Mathématiquement, la drépanocytose hétérozygote est plus fréquente que la drépanocytose homozygote, mais, dans la population que nous avons étudiée, nous avons trouvé que le génotype homozygote S/S est plus fréquent, ceci peut être expliqué par le fait que la forme hétérozygote A/S échappe souvent au diagnostic car elle est asymptomatique.

Cinq cas d'hémoglobinoses C ont été enregistrés, ces derniers représentent un taux égale à 7,14 %, parmi lesquels un seul cas homozygote C/C et quatre cas A/C , ainsi on peut admettre qu'il y a une nette prédominance d'hétérozygotie (80%) ;

- Des études effectuées dans le CHU Mustapha Bacha par **BenMaamar (2009)** ont confirmés cette prédominance.

Un seul cas d'une association drépanocytose avec hémoglobinoses C a été recensé dans la population étudiée, on parle ici de double hétérozygotie ; S/C, ce dernier représente un taux estimé à 1,43 %.

- A l'instar des autres résultats, nos résultats montrent que la bêta-thalassémie est l'anomalie la plus prédominante (48.57%), suivie par la drépanocytose (41,43%), puis l'Hémoglobinoses C (7,14%) et enfin, l'hémoglobinoses H et la double hétérozygotie avec le même pourcentage (1.43%).

- Une étude a été réalisée à Tlemcen par **Djeddi et Benameur** en **2017**, a révélé que la bêta-thalassémie occupe la première place parmi les hémoglobinopathies avec un pourcentage de 76.19 %.

Par contre l'étude réalisé par **Belhadi** à Batna (**2011**), a montré qu'à l'est algérien, les hémoglobinopathies sont classées par fréquence décroissante comme suit : Les drépanocytoses (homozygotes et hétérozygotes) puis les β -thalassémies (homozygotes et hétérozygotes) et enfin l'hémoglobinoses C et l'hétérozygote composite S/C, ces deux dernières ont la même incidence.

III.2.Etude clinique:

III.2.1Manifestations cliniques :

Chez seulement 40 patients de la population étudiée, les données cliniques ont pu être recensées (**figure17**).

Les signes cliniques révélateurs étaient dominés par une pâleur cutanéomuqueuse (syndrome anémique) présente chez 32 patients (80%), les autres manifestations cliniques ont été réparties comme suit:

- 08 patients présentaient un ictère, (20 %) ;
- 07 patients présentaient une splénomégalie, (17,5 %) ;
- 01 seul cas présente une déformation osseuse (2.5%).

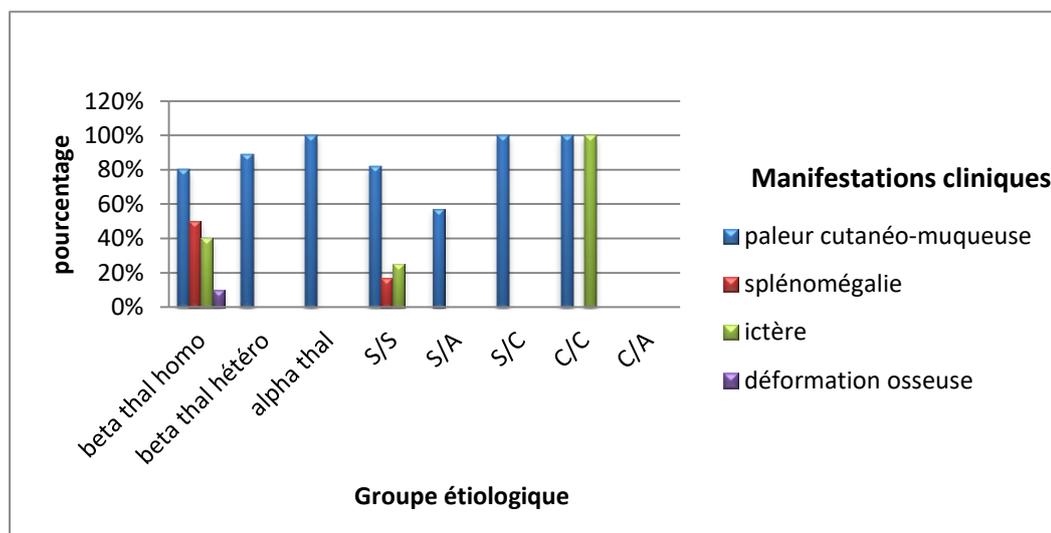


Figure17 : Répartition des manifestations cliniques selon les groupes étiologiques.

Le mode de présentation clinique varie en fonction de la précocité du diagnostic, le type de l'hémoglobinopathie et aussi de la forme hétérozygote ou homozygote de l'HbP l'hémoglobinopathie;

Concernant notre étude, la pâleur cutanéomuqueuse a été retrouvée chez 80% des cas, rejoignant ainsi la majorité des études, l'ictère a été retrouvé chez 20% des patients, suivi de la splénomégalie chez 17,5%.

Néanmoins, l'anémie semble occuper la première place dans la plupart des études citées dans la littérature : (Park *et al.*, 2011 ;Ou-kheda., 2013 et Karthika., 2015).

III.3.Aspects biologiques :

L'étude de l'aspect biologique comporte principalement l'étude du paramètre de deux bilans :

- Paramètre de bilan hématologique (FNS + Frottis sanguin).
- Paramètre de bilan biochimique (bilan d'hémolyse, bilan martiale et l'électrophorèse).

III.3.1.Cas normal :

a. Paramètres hématologiques :

Les taux normaux des paramètres hématologiques obtenus sont présentés dans le tableau VI, le frottis sanguin est illustré dans la figure 18.

Tableau VI: Les valeurs normales des paramètres hématologiques :

Taux moyen des paramètres Hématologiques	Personne normale	
	GR($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	76 à 96
	TCMH (pg)	27,0 à 32,0
	Hte(%)	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	-----
Frottis sanguins Nombre de Patients(%)	Aspect normal	

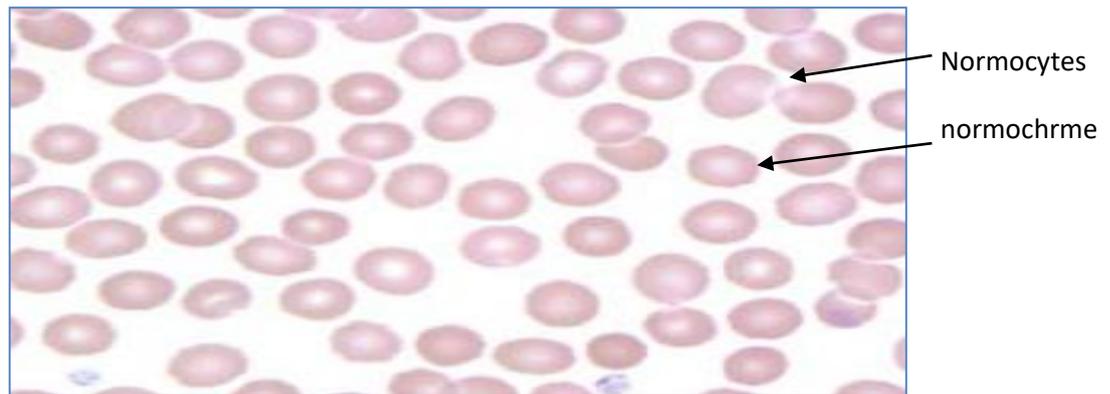


Figure 18 : frottis d'un sang normal.

b. Paramètres biochimiques :

b.1. bilan martial :

- ferritinémie : 13 à 400 ng/ml.

b.2. bilan d'hémolyse :

- Bilirubine libre : 2 à 8,5 mg/l.

b.3. profil électrophorétique :

Le profil électrophorétique et les valeurs de référence pour un individu normal sont représentés en Tableau VII et figure 02 en **annexe 08**.

Tableau VII : valeurs de référence des différents Hb normales :

Adulte	Hb A	97 %
	Hb A2	2,2 – 3,2 %
	Hb F	< 1 %
Fœtus	Hb F	80 – 95 %
	Hb A	5 – 20 %

III.3.2. β -thalassémie :

A. β -thal homozygotes :

a. Paramètres hématologiques :

Les taux moyens des paramètres hématologiques obtenus après l'analyse des prélèvements de la population atteinte d'une β -thalassémie (n= 16), sont récapitulés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des beta-thalassémiques homozygotes :

	Groupe étiologique		
	β-thal homo (n=16)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	3.45 \pm 0.95	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	7.50 \pm 2.22	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	67.22 \pm 11.98	76 à 96
	TCMH (pg)	21 \pm 3.37	27,0 à 32,0
	Hte(%)	23,53 \pm 6,25	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	12,52 \pm 8,17	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	294.31 \pm 86.39	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=16)	73,30% anisopoikilocytose 73,30 % hypochromie 20% microcytose 20% cellule cible 46,67% érythroblastes 6,66% anisocytose	

L'analyse des résultats de l'hémogramme obtenus, nous a permis de constater une intense diminution du nombre de globules rouges ($3.45 \pm 0.95 \times 10^6 / \mu\text{l}$) accompagnée d'une anémie sévère (moyenne de Hb=7,50 \pm 2,22g/dl), à caractère régénératif (Rét=294.31 \pm 86.39 $\times 10^3 / \mu\text{l}$) et une microcytose (VGM=67,22 \pm 11,98 fl), avec hypochromie (TCMH=21 \pm 3.37pg).

L'étude des frottis sanguin a révélé, la présence de l'aniso-poikilocytose chez 73,30% des patients, des cellules cibles chez 20%, et une proportion importante d'érythroblastes chez 46,67% des patients ;

Ces résultats se rapprochent de ceux publiés par **Belhadi (2011)**, qui ont trouvé un taux moyen de globules rouges de ($3.899 \times 10^6 / \mu\text{l}$), associé à des taux bas de VGM, CCMH et d'Hb.

Selon **Bonello-Palot et al. (2016)**, la β-thalassémie homozygote est caractérisée par une anémie plus ou moins profonde liée directement au déficit quantitatif de la chaîne β, qui limite ou empêche la formation du tétramère, la chaîne α privée de son partenaire précipite

dans l'érythroblaste, ce qui induit leur destruction, et dans le globule rouge, ce qui entraîne leur hémolyse, parfois même avant de sortir de la moelle osseuse, donnant suite à une érythropoïèse inefficace ;

Tous cela se traduit par une diminution importante du nombre des globules rouges dans le sang périphérique, et aussi une diminution de la concentration de l'Hb et de l'hématocrite ; la microcytose résulte d'une asynchronisation entre la synthèse de l'Hb et la mitose (synthèse de l'ADN) dans les précurseurs érythroïdes, ainsi la progression dans la division cellulaire est inversement liée à la synthèse de l'Hb dans la cellule, et lorsque cette dernière est défaillante, la mitose se poursuit, se qui donne des GR de petite taille ayant subi un nombre de cycles subnormaux de mitose; cette quantité défaillante en Hb dans la cellule se traduit par une hypochromie.

Bien que l'érythropoïèse est inefficace, l'anémie sévère et constante continue toujours à stimuler la synthèse de l'érythropoïétine, qui provoque la génération des GR immatures , sous forme d'érythroblastes et réticulocytes par la moelle osseuse ; ce qui explique la présence de proportion importante de réticulocytes chez tous les cas étudiés, avec une moyenne de $294.31 \pm 86.39 \times 10^6 / \mu\text{l}$ et des érythroblastes (chez 46% des cas), même les GR qui arrivent à accomplir leur maturation dans la moelle osseuse et atteindre la circulation sanguine, sont exposées à l'hémolyse périphérique prématurée a cause de la précipitation de l'Hb anormale sous forme de corps de Heinz ;

Les érythroblastes peuvent être comptés par les Coulters ordinaires comme des GB, ce qui explique l'hyperleucocytose constatée dans les résultats présentés dans tableau (GB= $12,52 \pm 8,18 \times 10^6 / \mu\text{l}$).

- Il faut noter qu'il existe également des Coulters (comme le Coulter XN-1000 SA) munis d'un système fluorimétrique, ils sont capables de mettre en évidence des cellules dites NRBC parmi les GB qui sont en vraisemblance des érythroblastes.

b. Bilan biochimique :

b.1. Bilan d'hémolyse :

Cette analyse n'a pas été exploitée chez aucun patient de ce groupe étiologique.

b.2 .bilan martial :

16 patients thalassémiques homozygotes ont bénéficié de ce test.

On a remarqué une augmentation de taux de ferritine chez les 16 patients (100%) avec une moyenne égale à 448.5 ± 21.9 ng/ml.

L'augmentation de taux de la ferritine est expliquée par :

L'hyper hémolyse des globules rouge dans le secteur vasculaire et aussi par l'administration du fer pour corriger une anémie ferriprive déjà constaté ou une transfusion sanguin antérieure.

Normalement un résultat normal ou augmenté c'est-à-dire non diminué de la ferritine (pas de carence en fer) permet d'éliminer une anémie ferriprive et donc de s'orienter vers une étude électrophorétique pour le diagnostic étiologique.

b.3.étude électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse capillaire de l'hémoglobine chez les patients atteints de la β thalassémie homozygote sont rapportés dans le tableau IX.

Tableau IX : Les résultats de l'électrophorèse chez les sujets atteints de la β -thalassémie homozygote :

	m \pm SD des taux d'Hb	
β -thalassémie homozygote	HbA(%)	17.70 \pm 25.30
	HbA ₂ (%)	2.47 \pm 0.94
	HbF(%)	79.83 \pm 25,88

L'analyse des résultats de la population étudiée, montrent ce qui suit :

- Le taux de l'HbA est totalement absent chez 50% de la population des β -Thal homozygotes, tandis qu'il est faible chez la 50% de la population restante ($39,46 \pm 24,74\%$) ;
- Une augmentation de taux de l'HbF est observée chez tous les patients avec une moyenne de ($79.83 \pm 25\%$).

-Une augmentation de HbA₂ a été constatée chez seulement 03 patients (18.75%) ;

Chez l'Homme, au cours de l'évolution ontogénique, le profil des hémoglobines change deux fois, la première de ces commutations, ou « Switch », coïncide, avec le passage de la vie embryonnaire à la vie fœtale, la seconde avec celui de la vie fœtale à la vie adulte.

L'Hb F existait dès la vie fœtale, après la naissance, son taux commence à diminuer pour atteindre la norme de l'adulte vers l'âge de 02 ans, qui est inférieur à 0,5 %, mais il faut noter qu'il existe des variations génétiques liées à l'âge qui font que l'Hb F persiste avec des pourcentage allant de 10% et plus (**Maier-Redelsperger et Girot, 1996**).

Lors d'une β -thal, le passage de l'expression du gène de la vie fœtale vers la vie adulte, est abolie, c'est-à-dire, la commutation de la chaîne γ en chaîne β n'est pas effectuée, à cause d'une mutation touchant le gène β , aboutissant à une suppression totale ou partielle de l'expression de ce gène et ainsi l'expression du gène gamma est continue (les cellules érythroïétiques médullaires ne subissent pas la répression du gène gamma).

Une diminution de d'hémoglobine A ($\alpha_2\beta_2$), intra érythrocytaire est donc observée, en réponse au manque de globine β , une augmentation de l'HbF ($\alpha_2\gamma_2$), et une augmentation de l'Hb A₂ pour compenser. Les GR des patients β -thalassémiques contiennent de HbF à un taux supérieur à la normale. Cette hémoglobine a une affinité supérieure à celle de l'HbA pour O₂, cela provoque une hypersécrétion qui elle-même stimule l'érythropoïèse (jusqu'à 30 fois la normale chez un sujet homozygote). On observe une augmentation progressive du volume occupé par l'érythropoïèse au niveau des os, qui se traduit par des déformations osseuses squelettique (**Ashby et al., 2010 ; Thuret, 2014**).

B. β -thal hétérozygotes :

a. Paramètres hématologiques :

Les taux moyens des paramètres hématologiques obtenus après l'analyse des prélèvements de la population atteinte d'une beta-thalassémie hétérozygote (n= 18), sont récapitulés dans le tableau X.

Tableau X : les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des malades atteints d'une beta-thalassémie hétérozygotes :

	Groupe étiologique		
	β Thal hétéro (n=18)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	5.46 \pm 0.55	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	10.7 \pm 0.98	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	63.18 \pm 4.44	76 à 96
	TCMH (pg)	19.72 \pm 1.27	27,0 à 32,0
	Hte(%)	34,15 \pm 3,24	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	8,17 \pm 2,62	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	147.75 \pm 14.31	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=18)	10% anisocytose 20% anisopoikilocytose 100% hypochromie 70% microcytose 20% érythroblaste	

Selon la littérature, la β -thalassémie hétérozygote est caractérisée par une microcytose, une hypochromie, fréquemment une pseudopolyglobulie, le taux d'hémoglobine est normal ou peu diminué (10 à 13 g/dl),

Le frottis sanguin montre une hypochromie, une anisocytose et une poikilocytose (**Mario et Sala, 2016 ; Girot et al., 2001**)

Dans notre étude, les données de l'hémogramme des patients atteints de bêta-thalassémie hétérozygote, ont montré une pseudopolyglobulie microcytaire (figure 18) (GR=5,46 \pm 0,55 $\times 10^6 / \mu\text{l}$ et VGM=63,18fl) et une hypochromie (TCMH=19,72 \pm 1,27%), associées dans la plupart des cas (61.11%) à une anémie légère (Moyenne d'Hb=10,07 \pm 0,98 g/dl), à caractère régénératif (Rét=147.75 \pm 14.31 $\times 10^6 / \mu\text{l}$) chez 11 cas (61.11%).

L'étude du frottis sanguin a révélé, en plus de l'aniso-poïkilocytose, la présence des érythroblastes (chez 20% des cas).

au cours de la β -thal hétérozygote, l'anémie est modérée car un seul gène est supprimé (on sait que chaque gène est dupliqué sur les deux chromosomes paternel et maternel), l'autre garde toujours son intégrité et est exprimé en ARNm, qui donne après traduction, les chaînes β de la globine, donc dans le GR, l'Hb normal est présent mais avec un taux divisé au moitié, ce qui explique aussi la microcytose et l'hypochromie légère (même mécanisme que la forme homozygote mais atténué : asynchronisation entre la synthèse de l'Hb et l'ADN)

La présence des érythroblastes explique le taux légèrement élevé des GB ($8,17 \pm 2,62 \times 10^3 / \mu\text{l}$) ; les réticulocytes sont rarement retrouvés dans le sang périphérique des β -thal hétérozygotes pour deux raisons : d'une part l'anémie est légère et stimule l'érythropoïèse légèrement par rapport à la forme homozygote, d'autre part, cette érythropoïèse est toujours efficace et aboutit à des GR matures, ce qui explique la pseudopolyglobulie ($\text{GR} = 5,46 \pm 0,55 \times 10^6 / \mu\text{l}$).

Les études menées par **Bradai et Haddad (2016)**, **Chalmane (2016)** et **Langois (2008)**, concordent avec les résultats que nous avons obtenu.

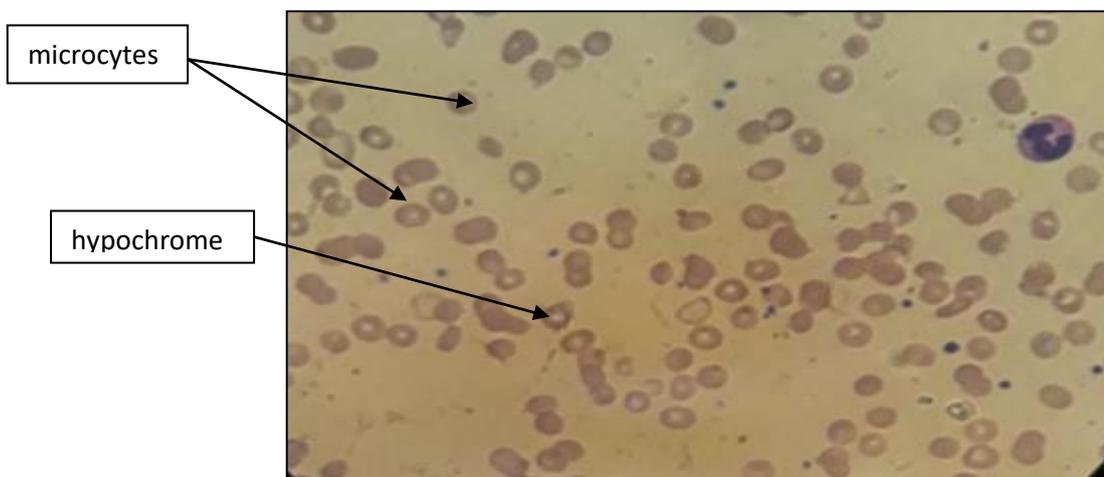


Figure 19: frottis sanguin d'un β -thal hétérozygote.

b. Bilan biochimique :

b.1. Bilan d'hémolyse :

Parmi les cas étudiés de β -thalassémie hétérozygote ($n=18$), 3 patients ont bénéficié d'un dosage de la bilirubine libre (soit 18,75%). avec une moyenne de $22,62 \pm 9,45 \text{ mg/l}$.

b.2. Bilan martial :

L'étude de la ferritinémie réalisée pour 10 cas β -thalassémiques hétérozygotes parmi 18 patients, a montré, une concentration en ferritine normale, avec une moyenne de $195.20 \pm 20.44 \text{ ng/l}$. Les valeurs normales de la ferritine permettent d'écarter l'hypothèse de présence d'une anémie ferriprive.

b.3. Etude électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la β -thalassémie hétérozygotes sont rapportés dans le tableau XI et le profil électrophorétique est illustré dans la figure 03 en **annexe 08**.

Tableau XI : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de β thalassémie hétérozygote :

	m \pm SD de taux de l'Hb	
B-thalassémie hétérozygote	HbA(%)	94.00 \pm 0.99
	HbA ₂ (%)	5.21 \pm 0.49
	HbF(%)	0.75 \pm 1.08

Les résultats de la présente étude, montrent chez les β -thalassémiques hétérozygotes : des taux diminués d'HbA (94.00%) alors que celui de l'HbA₂ élevé (5,21% \pm 0,49) par rapport aux valeurs normales. Une augmentation de l'Hb F généralement (0.75 \pm 1.08), a été associée dans le but de compenser le manque d'HbA et ainsi diminuer le tableau clinique de la maladie (Sankaran *et al.*, 2011).

Ces résultats se rapprochent à des travaux réalisés par Haddad et Bradai (2016), Dahmani *et al* (2017). et Oukheda *et al* (2013) au Maroc, ainsi que Hadj Khalil (2001) en Tunisie, aussi ils ont été confirmés par les données de littératures qui montrent que les β -thal hétérozygotes ont un taux d'HbA₂, deux fois plus élevé que la normale (entre 4 et 8 % au lieu de 2 à 3,3 %), une augmentation de l'HbF comprise entre 2 et 7 % (Coque et De Montalembert, 2013 ; Mario et Sala, 2016).

III.3.3. drépanocytose

A. Drépanocytose homozygote

a. Paramètres hématologiques

Les taux moyens des paramètres hématologiques obtenus après l'analyse des prélèvements de la population atteinte d'une drépanocytose homozygote (n= 16), sont récapitulés dans le tableau XII.

Tableau XII : valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés atteints d'une drépanocytose homozygote.

	Groupe étiologique		
	S/S (n=16)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	3.28 \pm 1.1	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	8.48 \pm 1.5	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	80.54 \pm 11.44	76 à 96
	TCMH (pg)	25.43 \pm 4.46	27,0 à 32,0
	Hte(%)	25,76 \pm 4,73	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	12,19 \pm 3,28	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	280.68 \pm 80.52	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=16)	71,43% Anisopoikilocytose 28,57% anisocytose 25,42% hypochrome 42,86% normochrome 42,86% drépanocytes 25,42% érythroblastes 7,54 % thrombose	

Les résultats de la FNS montrent une anémie (GR=3.28 \pm 1.1 $\times 10^6 / \mu\text{l}$) hypochrome (TCMH =25.43 \pm 4.46pg), normocytaire (VGM=80.45 \pm 11.44fl) d'intensité modérée (Hb=8,48 \pm 1,1 (g/dl) et à caractère régénératif (Rét=280,68 \pm 80,52 .10⁶ / μl).

Le frottis sanguin révèle de nombreuses anomalies morphologiques, principalement la présence de drépanocytes (42,86%), une anisochromie, aniso-poïkilocytose, une anisocytose et une proportion importante des érythroblastes(figure 19).

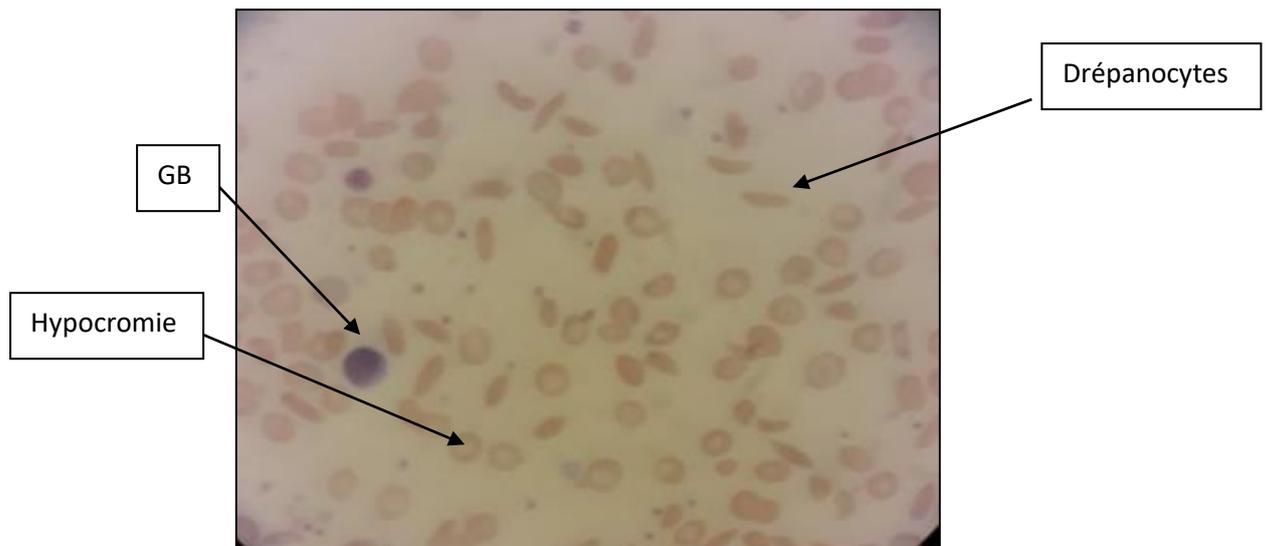


Figure 20: frottis sanguin d'un patient drépanocytaire (original)

Nos résultats rejoignent les assertions de **Couque et De Montalembert (2013)** ; **Mattionia et al. (2016)** ; **Oukheda et al. (2013)** et **Doupa et al.(2017)**, qui ont tous trouvé un profil anémique normochrome normocytaire majoritaire.

Par contre, dans la série Pakistanaise de **Shabbir et al (2016)**, les patients S/S ont présenté des paramètres hématimétriques en faveur d'une anémie hypochrome microcytaire.

La forme homozygote de la maladie l'Hb S est caractérisée par une tendance élevée à la polymérisation à l'état désoxygéné, qui conduit à un changement direct de la forme des GR en faucilles, avec perte de l'élasticité de la membrane plasmique qui devient rigide, obstruent les capillaires fins des organes , provoquant une micro-thrombie qui se manifeste par des douleurs vaso- occlusives et ou et finissent par s'éclater, induisant une hémolyse intra-vasculaire précoce qui se traduit par une anémie hémolytique chronique.

b.Bilan biochimique :

b.1.Bilan d'hémolyse :

Parmi les cas drépanocytaires étudiés (n=16), 3 patients ont bénéficié d'un dosage de la bilirubine libre (18,75%) avec une moyenne de (37,01±31,87mg).

b.2.Bilan martial :

Dans ce groupe on a constatés que la ferritine est très élevée avec une moyenne égale à 432.25±25.44 ng/ml.

b.3. Etude électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose homozygote sont rapportés dans le tableau XIII et le profil est illustré dans figure 04 en annexe 08.

Tableau XIII : Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose homozygote :

	m±SD de de taux d'Hb	
Drépanocytose homozygote	HbA(%)	0
	HbA2(%)	2,80±0,96
	HbF(%)	17,13±9,25
	HbS(%)	76,20±8,31

Dans cette série le taux moyen d'hémoglobine S était de 76,20%±8,31%, concordant ainsi avec les données de la littérature et des autres études antérieures (**Dahmani et al., 2017 ; Oukheda, 2013; Doupa 2017**). Le taux moyen de l'HbF est très élevé (17,13%±9,25%) , cela peut faire suspecter une hétérozygotie composite S/PHHF relationnelle. L'Hb A était absent chez tous les patients.

Couque et De Montalembert (2013) ainsi que **Oukheda et al. (2013)** ont également rapporté une augmentation de d'Hb F avec une moyenne de 14,2 ± 0,5%.

Selon la littérature, l'électrophorèse de l'Hb révèle la présence d'une « Hb S » anormale à des taux allant de 60 à 95%, remplaçant l'HbA absente. L'HbF est toujours élevée et son taux dépend des facteurs génétiques présents sur le cluster β (2-10 %). Ce dernier est important à mesurer chez les drépanocytaires homozygotes, dès qu'il dépasse 10 %, il inhibe partiellement la polymérisation et retarde la falciformation (**Mario et Sala, 2016**).

Une corrélation relative et inconstante a été constatée entre le taux observé d'HbF et la gravité de la maladie : un taux élevé laisse espérer une évolution moins sévère. Selon **Powards et al(2005)** un taux d'hémoglobine F supérieur à 10 % réduisait la fréquence des complications ;

également **Yan (2013)** a constaté dans sa série qu'un taux d'hémoglobine F supérieur à 10% était associé à un début tardif des symptômes et une présentation clinique peu sévère de la maladie.

Dahmani et al (2017) et **Doupa et al(2017)** par contre, ont trouvés dans leurs séries une expression moins forte de l'Hb F, ils ont rapporté, respectivement des moyennes de $9,1\% \pm 2,3$ et $9,5\% \pm 8,3$. L'Hb A était absent chez la tous des patients.

B-Cas Drépanocytoses hétérozygotes :

a. Paramètres hématologiques :

Les taux moyens des paramètres hématologiques obtenus après l'analyse des prélèvements de la population atteinte d'une drépanocytose hétérozygote (n= 18), sont récapitulés dans le tableau XIV.

Tableau XIV: valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés chez les patients atteints d'une drépanocytose hétérozygote

	Groupe étiologique		
	A/S (n=18)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	4.51 ± 0.78	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	10.77 ± 2.53	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	73.94 ± 8.53	76 à 96
	TCMH (pg)	23.55 ± 2.61	27,0 à 32,0
	Hte(%)	$33,65 \pm 6,78$	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	$9,42 \pm 2,48$	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	134 ± 6.51	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=18)	54,55% normocyte, normochrome 27,27% hypochrome, microcyte 9,09% Anisochrome, anisocytose	

Dans la forme hétérozygote (A/S), l'hémogramme montre généralement des caractéristiques hématologiques identiques à celles du sujet normal (concernant le taux de l'Hb, de VGM et de la TCMH). Ceci explique l'absence de symptomatologie chez ce groupe étiologique et justifie ainsi l'appellation de porteurs sains (**Mattionia et al., 2016**).

L'étude des frottis sanguins est le plus souvent sans anomalies, les drépanocytes n'apparaissent pas souvent de façon systématique. Parfois on peut noter la présence d'une aniso-poïkilocytose, d'une microcytose qui doit faire penser à une carence martiale, une macrocytose, au contraire, on doit suggérer une carence vitaminique, notamment en acide folique ou en vitamine B12 (**Lionnet et al., 2009**).

Les résultats de notre étude montrent une légère anémie (Hb= **10,77±2,53g/dl**), régénérative avec une légère augmentation des réticulocytes ($134\pm 6,5\times 10^6/\mu\text{l}$); microcytaire avec une VGM ($73,94\pm 8,53$ fl) et TCMH légèrement diminué ($23,55\pm 2,61$ pg) ;

L'étude des frottis sanguins a révélé que 54.55% des cas ont des normocytes ;normochromes tandis que la microcytose et l'hypochromie ont été marqués chez seulement 27.27% des cas.

b. Bilan biochimique :

b.1. Bilan d'hémolyse :

Parmi les 13 cas drépanocytaires hétérozygotes (A/S) enregistrés, seulement un seul cas (7,69%) a bénéficié du dosage de bilirubine avec un taux (20,13mg).

b.2. Bilan martial :

Dans notre étude, la concentration plasmatique en ferritine a été normale chez les 13 cas drépanocytaires hétérozygotes, avec une moyenne de ($200 \pm 31,9$ ng/ml).

Ceci permet d'éliminer l'origine ferriprive de l'anémie.

b.3. Profil électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de drépanocytose hétérozygote (n=13) sont rapportés dans le tableau XV et le profil électrophorétique est illustré dans la figure 05 en annexe 08.

Tableau XV : résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints de la drépanocytose hétérozygote :

		m±SD	
		de taux de Hb	
drépanocytose hétérozygote	HbA(%)	59.26±2.58	
	HbA2(%)	3.04±0.48	
	HbF(%)	0.59±0.91	
	HbS(%)	37.11±2.44	

Dans cette étude, les patients drépanocytaires hétérozygotes ont présentés un taux moyen d'expression de l'Hb S égale à 37,11±2,44% avec présence de l'HbA (59,26%±2,58%), ces résultats concordent avec les données de la littérature.

Ce qui ne concorde pas avec la littérature : c'est le taux de l'HbF qui est présent dans notre série (0,59%±0,91%), alors qu'il est absent dans les données de la bibliographie.

Shabbir et al. (2016) ont rapportés un taux d'HbS de 33,7 ±8,9 % dans une étude menée au Pakistan.

Selon les travaux de **Coque et De Montalembert (2013)**, **Mario et Sala (2016)**, laprésence d'HbS à un taux d'expression d'environ 35-40 % en présence de l'HbA à un taux de 55- 60%, et l'HbA2 qui avoisine les 2- 3%, est caractéristique du sujet drépanocytaire hétérozygote. Cette interprétation de l'hétérozygotie β^A/β^S n'est valable qu'en absence de transfusion récente (< 3 mois). Un taux d'Hb S diminué doit inciter à la recherche d'une éventuelle carence martiale (généralement associée à une anémie microcytaire).

III.3.4 Hémoglobinoses C

A- Hémoglobinoses C homozygotes

a. Paramètres hématologiques

Dans cette étude un seul cas est constaté, et leurs taux des paramètres hématologiques (seulement FNS car il n'a pas bénéficié de frottis) sont récapitulés dans le tableau XVI.

Tableau XVI: les résultats de paramètres hématologiques chez un patient atteint d'Hémoglobinose C.

	Groupe étiologique		
	C/C (n=1)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	3,79	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	10,90	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	74,9	76 à 96
	TCMH (pg)	20	27,0 à 32,0
	Hte(%)	29,60	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	64,5	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	220	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=1)	-----	

Dans notre série, une seule patiente C/C (Homozygote) diagnostiquée a présenté une anémie modérée (**Hb=10,90 g/dl**), une discrète microcytose est marquée (VGM=74,9 fl), avec hypochromie (TCMH=20 pg) régénérative (Rét= $220 \times 10^6 / \mu\text{l}$), le taux des réticulocytes est élevé ($> 150 \times 10^6 / \mu\text{l}$), il traduit le caractère régénératif de l'anémie. Le frottis sanguin n'a pas été réalisé.

Ces résultats se rapprochent des ceux rapportés par **Oukheda et al. (2013)**.

Selon la littérature, chez les formes homozygotes, on constate une discrète anémie hémolytique, causée par l'Hb C qui se cristallise dans la cellule ; et une discrète microcytose. Le frottis peut montrer des globules rouges déformés par la présence de cristaux d'Hb C, des cellules cibles et des microsphérocytes (**Mario et Sala, 2016**).

b. bilan biochimique :

b.1. Bilan d'hémolyse :

La bilirubine n'a pas été réalisée pour cette patiente.

b.2. Bilan martial :

Dans notre série, la patiente C/C a présenté une concentration plasmatique en ferritine normale de (189,8 ng/ml), ce qui élimine l'éventuelle présence d'une carence martiale.

b.3. Profil électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez le seul cas atteint de Hémoglobinose C homozygote (n=1) sont rapportés dans le tableau XVII.

Tableau XVII: Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez le cas atteint de la Hémoglobinose C :

	m±SD taux de Hb	
Hémoglobinose C	HbA(%)	0
	HbA ₂ (%)	6,4
	HbF(%)	6,1
	HbC(%)	87,5

Selon la littérature₂, chez les patients homozygotes, l'Hb C représente plus de 90%, l'HbA est absente, tandis que les taux d'Hb A₂ et F sont inférieurs à 3%(**Coque et De Montalembert, 2013**).

Notre patiente présente un taux d'Hb C (87,5%) un peu faible par rapport à celui rapporté par la littérature, le taux d'Hb A₂ et d' Hb F plus élevé (6 ,4% et 6,1%), alors que l'Hb A est absente.

Les résultats que nous avons obtenus ne concordent pas avec ceux de **Nagara et al.(2009)** en France et **Oukheda et al. (2013)** à Rabat. Ces auteurs ont trouvé des taux d'Hb C plus élevés (92,6 et 95,6±4,6 respectivement), et l'Hb A₂ était présente avec un taux normal et une Hb F moins exprimée (1,6 et 1,9 % respectivement).

Cette discordance peut être expliquée par le fait que nous nous sommes limité à un seul cas clinique atteint d'Hémoglobinose C, bien que cela soit pleinement justifié par la fréquence extrêmement faible de cette maladie dans le bassin méditerranéen.

B- Cas Hémoglobinoses C hétérozygote (A/C):

a. Paramètres hématologiques :

Les taux moyens des paramètres hématologiques obtenus après l'analyse des prélèvements de la population atteinte d'une Hémoglobinoses C hétérozygote (n= 4), sont récapitulés dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII : les valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés des patients atteints d'une Hémoglobinoses C hétérozygote.

	Groupe étiologique		
	A/C (n=4)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	4,56 \pm 0,48	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	10,65 \pm 2,06	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	71,70 \pm 8.35	76 à 96
	TCMH (pg)	23,30 \pm 3,39	27,0 à 32,0
	Hte(%)	32,63 \pm 4,67	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	8,75 \pm 0,45	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	128 \pm 4,24	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=4)	100% Anisochrome, 100% Anisocytose	

Selon la littérature, chez les patients hétérozygotes A/C, l'hémogramme ne révèle le plus souvent pas d'anomalies particulières (taux d'Hb, VGM, TCMH normaux), parfois il peut révéler une microcytose modérée (VGM = 75 à 85 fl) en rapport avec le phénomène de déshydratation.

L'examen du frottis sanguins révèle une proportion importante d'hématies cibles (Redelsperger et al. 2003)

Dans notre étude, les paramètres hématimétriques des sujets hétérozygotes pour l'Hb C, ont révélé une microcytose (VGM= $71,70 \pm 8,35$ fl) et une hypochromie associées à une légère anémie (TCMH= $23,30 \pm 3,39$ pg et Hb= $10,65 \pm 2,06$ g/dl). Les cellules cibles n'ont pas été remarquées mais les anisochromes et anisocytes ont été mis en évidence dans le frottis sanguin.

Nos résultats concordent globalement avec ceux des travaux de **Dahmani et al. (2017)**, qui ont rapporté un profil d'anémie hypochrome microcytaire plus marquée.

b. Bilan biochimique :

b.1. Bilan d'hémolyse :

La bilirubine n'a pas été réalisée pour ce groupe.

b.2. bilan martial :

Chez nos quatre patientes homozygotes A/C, le dosage de la ferritinémie n'a révélé aucune anomalie, ainsi la moyenne a été de $87 \pm 9,5$ ng/ml.

Oukheda et al(2013) ont trouvés des valeurs légèrement augmentées par rapport aux nôtres, mais qui restent dans la norme ($116,3 \pm 11,5$ ng/ml).

b.3. profil électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les 4 patients atteints d'Hémoglobinose C hétérozygote sont rapportés dans le tableau XIX, le profil électrophorétique est illustré dans la figure 06 en **annexe 08**.

Tableau XIX: résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients atteints d'une Hémoglobinose C hétérozygote :

	m±SD	
	Taux d'Hb	
Hémoglobinose C hétérozygote	HbA (%)	62,06±2,09
	HbA ₂ (%)	1,8±1,57
	HbF(%)	0
	HbC(%)	36,58±1,22

Le taux moyen de l'Hb C chez les patients de notre série était de (36,58±1,22%), ce qui rejoint les données de la littérature.

Oukheda et al (2013) ainsi que **Dahmani et al(2017)** ont également trouvé des taux d'Hb C de (37,4 ± 2,4 %) et (36,6 ± 2,3%) respectivement.

Nos résultats montrent également un faible taux de HbA (62,06±2,09%) et un taux faible de Hb A₂ (1,8±1,57%).

Comme pour l'Hb S, le taux d'expression de l'Hb C à l'état hétérozygote est de l'ordre de 35 à 45 %. Cette interprétation n'est valable qu'en absence de transfusion récente (< 3 mois).

Comme pour l'Hb S également, le taux d'expression de l'Hb C est diminué en cas de carence martiale et/ou d'alpha-thalassémie mineure (**Coque et De Montalembert, 2013 ; Mario et**

Sala, 2016).III.3.5.Hémoglobinoase H :

a. Paramètres hématologiques :

Dans cette étude un seul cas est constaté, et leurs taux des paramètres hématologiques (sont récapitulés dans le tableau XX).

Tableau XX: les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez le patient atteint d'une Hémoglobinoase H.

	Groupe étiologique		
	Hémoglobinoase H		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR(x10 ⁶ /μl)	5,30	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	7,50	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	53,30	76 à 96
	TCMH (pg)	15	27,0 à 32,0
	Hte(%)	26,7	36,00 à 48,00
	GB (×10 ³ /μl)	9,54	4,00 à 10,00
	Rét (×10 ⁶ /μl)	140	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%)	Anisopoikilocytose, Hypochrome Erythroblastes	

On a reçu un seul cas atteint d'Hémoglobinoase H qui présente les paramètres hématologiques suivants :

- Les données de l'hémogramme ont montré une pseudopolyglobulie microcytaire (GR= $5,30 \times 10^6 / \mu\text{l}$ et VGM=53,3fl), hypochromie (TCMH=15pg), une anémie (Hb=7.5g/dl) à caractère régénératif (Rét= $140 \times 10^6 / \mu\text{l}$).
- L'étude de frottis sanguin a révèlè la présence des anisopoïkilocytose, hypochrome et des érythroblastes.

Selon la littérature, l'Hémoglobinoase H résulte de la non-expression de trois gènes α , Dans ce cas, l'anémie microcytaire hypochrome devient patente. Les chaînes β (ou Υ chez le nouveau-né) sont en excès et s'associent en tétramères nommés HbH (4 chaînes β) ou Hb Bart's (4 chaînes Υ). Ces Hb sont solubles et il n'y a donc pas de destruction intra-médullaire ni d'érythropoïèse inefficace. Cependant, elles sont inaptes à la transition allostérique et donc incapables d'assurer l'oxygénation des tissus, ce sont des Hb non fonctionnelles. De plus, elles sont instables et précipitent en corps de Heinz dès qu'elles sont soumises à un stress oxydatif, ce qui est à l'origine d'une anémie hémolytique chronique et les individus présentent une splénomégalie. L'anémie est aggravée par les infections, la grossesse et l'exposition aux agents oxydants (Siala *et al.*, 2006).

b. bilan biochimique :

b.1. Bilan d'hémolyse :

La bilirubine n'a pas été réalisée pour ce patient.

b.2. Bilan martial :

La ferritine est normale (155ng/l) ce qui permet d'éliminer une carence martial.

b.3. Profil électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez une patiente atteinte de Hémoglobinoase H sont rapportés dans le tableau XXI, le profil électrophorétique est illustré dans la figure 07 en **annexe 08**.

Tableau XXI : résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez une patiente atteinte de l'Hémoglobinosose H.

		m±SD(%) de taux d'Hb
l'Hémoglobinosose H	HbA(%)	94,8
	HbA2(%)	1,2
	l'HbF(%)	0,9
	l'HbH(%)	3,1

Chez cette patiente le taux d'Hb A est de (94,8%) d'Hb A₂ (1,2%) est faible alors que HbF est normal avec la présence d'un variant supplémentaire Hb H (3,1%).

Cette maladie s'exprime dès la période néonatale, où on peut détecter 20 à 40% d'Hb Bart's, Chez l'adulte α -thalassémique, on retrouve 1 à 40 % d'Hb H et jusqu'à 5 % d'Hb Bart's. L'Hb A₂ est généralement diminuée (1 à 2 %), et parfois, le taux d'HbF est légèrement augmenté (1 à 3%). Le taux d'Hb H est diminué en cas d'association avec un autre variant tel que Hb S, Hb C et Hb E et le taux n'est pas toujours détectable quand il s'agit d' α -thalassémie non délétionnelle.

III.3.6.Association S/C :

a. Paramètres hématologiques :

Les taux moyens des paramètres hématologiques obtenus après l'analyse des prélèvements d'une patiente atteinte d'une hémoglobinosose S/C hétérozygote (n= 1), sont récapitulés dans le tableau XXII.

Tableau XXII: valeurs moyennes des paramètres hématologiques analysés d'une patiente atteinte d'une Hémoglobinose S/C.

	Groupe étiologique		
	(n=1)		
Taux moyen des paramètres Hématologiques	GR($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	4,38	4.00 à 5.00
	Hb (g/dl)	9,8	12.0 à 16.0
	VGM (fl)	71,20	76 à 96
	TCMH (pg)	19	27,0 à 32,0
	Hte(%)	31,2	36,00 à 48,00
	GB ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	74,6	4,00 à 10,00
	Rét ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	-----	-----
	Frottis sanguins Nombre de Patients(%) (n=1)	-----	Normocyte Normochrome

La drépanocytose hétérozygote composite S/C est une entité autonome, très différente de la drépanocytose homozygote avec une maladie systémique moins sévère et moins invalidante. L'atténuation des symptômes cliniques et la discrétion des anomalies hématologiques font retarder le diagnostic à l'âge adulte (**Biaz et al., 2017**).

Cette patiente, présente une anémie modérée (GR $4,38 \times 10^6 / \mu\text{l}$, Hb=9,8g/dl), hypochrome (TCMH=19pg) microcytaire (VGM=71,20fl) expliquant ainsi la symptomatologie clinique qu'elle présentait.

Le frottis sanguin, par contre n'a pas été réalisé.

Ce profil concorde avec les résultats de l'étude de **Nacoulma et al. (2006)** au Burkina-Faso, ils ont rapporté que le taux d'Hb varie entre 6,6 g/ dl et 12,7 g/dl avec une moyenne de 9,8 g/dl, la VGM et la TCMH étaient normales chez 75% des patients S/C.

b.bilan biochimique :

b.1.Bilan d'hémolyse :

La bilirubine n'a pas été réalisée pour cette patiente.

b.2 .bilan martial :

La ferritine n'a pas été réalisée pour cette patiente.

b.3. Profil électrophorétique :

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez un patient atteint de hémoglobinose S/C sont rapportés dans le tableau XXIII. , le profil électrophorétique est illustré dans la figure 08 en **annexe 08**.

Tableau XXIII : résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez un patient atteint de l'association S/C.

	m±SD(%) de taux d'Hb	
Double hétérozygotie S/C	HbA(%)	0
	HbA ₂ (%)	0
	HbF(%)	0
	HbS(%)	51,1
	HbC(%)	48,9

Une électrophorèse réalisée chez ce malade a révélé la présence d'Hb S à 51,1 % et d'Hb C à 48,9%. L'HbA, l'HbA₂ et l' Hb F ont été tous absents.

Ce profil ne concorde pas avec ceux des travaux réalisés au Maroc qui ont mis en évidence la présence, en plus de l'hémoglobine S et C, de l'Hb A₂ (2,7 à 3,9 %) et l'Hb F (1,2 à 3,6 %) (**Dahmani et al., 2017 ; Oukheda, 2013 ; Biaz et al., 2017**)

III.4. Discussion des différents tests dans le diagnostic des hémoglobinopathies :

- ❖ Le premier test réalisé devant une suspicion d'une hémoglobinopathie est la Formule Numération Sanguine (FNS ou l'hémogramme) qui est un examen essentiel, mettant en évidence les anomalies quantitatives et qualitatives de la lignée rouge particulièrement, traduisant un éventuel dysfonctionnement de la moelle osseuse ou des perturbations dites "périphériques". La NFS est le seul examen donnant des renseignements utiles permettant de suspecter s'il y'a une anémie (anomalie du nombre de GR, de l'hématocrite et de l'Hb), de déterminer sa nature (hypochrome/normochrome, microcytaire/normocytaire/macrocyaire) et son caractère régénératif ou arégénératif. (**Belhadi, 2011**).

Au cours du diagnostic des hémoglobinopathies, on note souvent la présence des signes suivants:

- Anémie :
 - Sévère : taux de Hb < 7 g/dl et/ou GR < $3.10^6/\mu\text{l}$
 - Modérée : $7 < \text{Hb} < 10$ g/dl (de 7 à 10) et/ou $310^6/\mu\text{l} < \text{GR} < 4 10^6/\mu\text{l}$
- Microcytose :
 - VGM < 65 fl
- Hypochromie :
 - TCMH < 25pg
- Pseudopolyglobulie : GR > $5.10^6/\mu\text{l}$
- Taux de réticulocytes :
 - > 120 régénérative
 - < 120 arégénérative
- ❖ Le frottis sanguin est un outil de diagnostic cytologique qui permis de déceler les anomalies morphologique de GR (taille, forme, coloration, inclusions), (**Belhadi,2011**), mais il ne peut pas orienter le diagnostic d'une manière précise, car les anomalies morphologiques rencontrées sur les globules rouges sont multiples, non spécifiques et s'intègrent le plus souvent dans des tableaux non caractéristiques (Sauf le cas de présence des drépanocytes).

Les avancées des connaissances et la complexité croissante des moyens diagnostiques ont carrément pris la place du frottis sanguin, qui est un examen de réalisation assez lente, astreignant, d'interprétation subjective et non spécifique. Actuellement le frottis est rarement indiqué au cours de l'exploration des hémoglobinopathies et trouve tous son intérêt dans la recherche d'hémoopathie malignes et autres pathologies hématologiques.

- ❖ Le bilan martial (ferritinémie) est requis pour exclure une carence en fer responsable de la l'anémie microcytaire et/ou de l'hypochromie, dans un but d'éliminer le diagnostic d'une anémie ferriprive et renforcer la suspicion (ou l'orientation) vers une éventuelle hémoglobinopathie.

Il faut noter que lors d'une carence martiale, la fraction A2 de l'Hb est la première touchée ; cette carence peut donc masquer une β -thal hétérozygote ou conduire à évoquer l'éventuelle présence d'une α -thal mineure.

- ❖ Le bilan d'hémolyse (haptoglobine, bilirubine, LDH) permet de confirmer le caractère hémolytique de l'anémie. malheureusement, nous n'avons pas pu le réaliser pour l'ensemble des patients de cette étude, à cause de la non disponibilité des prélèvements en quantités suffisantes.
- ❖ L'électrophorèse de l'Hb reste le test ultime pour la mise en évidence d'une hémoglobinopathie ;
 - L'électrophorèse sur gel a pH alcalin, assure la séparation et la mise en évidence des fractions normales et anormales de l'Hb, facile à mettre en œuvre et peu coûteuse, semi automatisé ,elle est disponible dans les laboratoires de routine
 - L'électrophorèse capillaire est une méthode automatisée à 100% offrant un temps d'analyse plus court, un risque d'erreur très faible et une meilleure reproductibilité. Elle offre également une meilleure résolution avec identification en temps réel de chaque fraction (base de données intégrée dans le logiciel d'interprétation), même celles qui sont rares, et si on est devant une nouvelle fraction anormale, elle est détectée de façon séparée et ne se superpose pas sur les autres fractions comme dans le cas de l'électrophorèse sur gel

CAPILLARYS 2 Flex Piercing est une technique quantitative, qui vient remplacer une technique manuelle qualitative, et non quantitative d'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin (plaques Helena).

L'étude de corrélation entre ces deux méthodes a donc simplement visé à s'assurer de l'identification équivalente des différentes fractions d'hémoglobine par les deux techniques, sans tenir compte de la quantification. Nous avons donc comparé 3 profils électrophorétique obtenus sur plaque d'acétate de cellulose Helena avec des profils électrophorétiques obtenues par CAPILLARYS 2 Flex Piercing.

2 échantillons comportaient de l'hémoglobine S, 1 échantillon normal. Aucune différence n'a été observée entre les deux types de profils pour l'ensemble des échantillons, les bandes obtenues sur la plaque d'acétate de cellulose étant toutes retrouvées sous formes de pics sur le tracé de l'électrophorèse capillaire. La détection des variants de l'hémoglobine était identique entre les deux méthodes, avec de façon attendue une meilleure résolution de l'électrophorèse capillaire (CAPILLARYS 2 Flex Piercing) pour la détection de l'hémoglobine F. Pour un échantillon, la plaque d'acétate de cellulose semblait même présenter une légère bande en hémoglobine F(**Figure 21**).

La figure 21 représente 3 patients :

Cas n° 01 : patient atteint de drépanocytose hétérozygote A/S ;

Cas n° 02 : profil sans anomalies (cas normal) ;

Cas n° 03 : patient atteint de drépanocytose homozygote S/S.

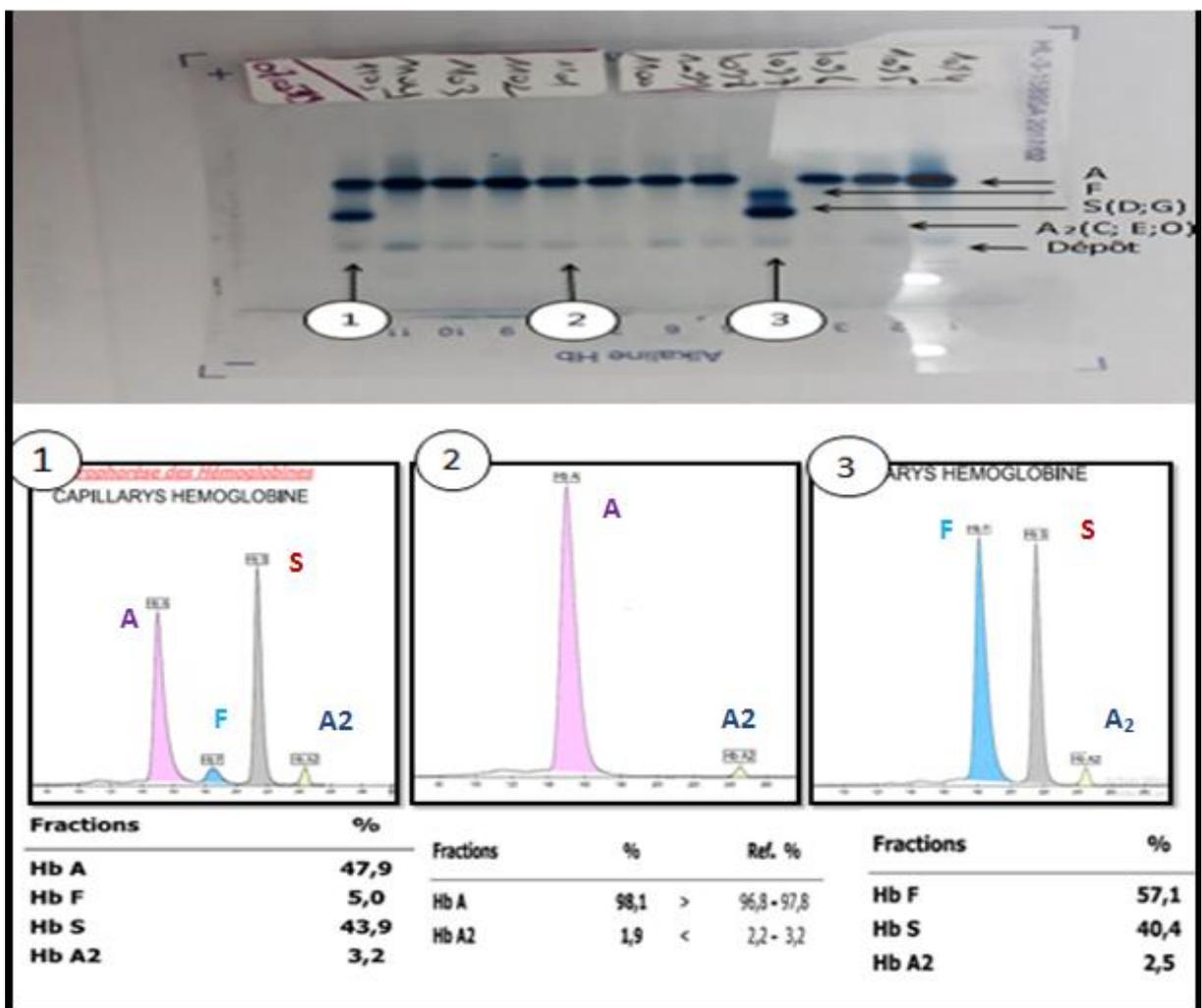


Figure 21 : les résultats de l'électrophorèse « capillaire et à Ph alcalin » chez 3 cas

La plaqué'acétate de cellulose présente en effet l'inconvénient d'une détection visuelle opérateur-dépendant, s'accompagnant nécessairement de problèmes de sensibilité, spécificité et reproductibilité.

En outre cette technique nécessite toujours la réalisation associée d'une électrophorèse d'un contrôle AFSC, afin de positionner les différentes bandes de l'Hb.

L'électrophorèse CAPILLARYS 2 Flex Piercing trouve actuellement tous son intérêt car elle apporte plusieurs avantages par rapport à celle sur gel et tant à la remplacer, elle assure une quantification des différentes fractions de l'hémoglobine séparées, ce qui est intéressant pour le diagnostic surtout des hémoglobinopathies

En outre, il est important de signaler que cette nouvelle stratégie de diagnostic continue de satisfaire à la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale, qui précise que la recherche d'une anomalie de l'hémoglobine nécessite le recours à au moins une technique d'électrophorèse, et deux autres tests adaptés selon les besoins pour un résultat fiable du diagnostic d'orientation et une meilleure prise en charge du patient. (Ou C-N., 2001) .

Conclusion

Les hémoglobinopathies comptent parmi les anomalies génétiques les plus fréquentes dans le monde entier et l'Algérie est parmi les pays les plus touchés par ces désordres.

Le plus grand problème rencontré pour ces pathologies est d'établir un diagnostic précoce de la maladie et le dépistage des porteurs, pour une meilleure prise en charge des familles touchées, en leur proposant une thérapie adéquate le plus précocement possible et /ou un conseil génétique, en vue d'améliorer leurs qualité de vie et aussi de limiter la propagation de la maladie en évitant les mariages consanguins entre les porteurs hétérozygotes.

Notre étude était une occasion d'exploiter les données épidémiologiques et clinico-biologiques des cas d'hémoglobinopathies colligés sur une période de 4 mois, au laboratoire d'hématologie au CAC de Blida.

Nos résultats obtenus montrent la présence des différents types d'hémoglobinopathies dont la fréquence diffère selon l'âge et l'origine géographique d'après les résultats obtenus, nous avons constaté que la β -thalassémie était la maladie la plus fréquente avec 48.57%, et la wilaya de Tipaza était la région pour laquelle nous avons recensé le plus grand nombre de patients atteints des hémoglobinopathies.

Le diagnostic des hémoglobinopathies repose sur plusieurs techniques :

- Les paramètres d'héogramme ou FNS ont été une aide précieuse dans l'orientation du diagnostic ;
- Les avancées majeures des techniques dans le diagnostic de diverses hémoglobinopathies, permet d'abandonner l'examen morphologique des GR ;
- Les techniques électrophorétiques, constituent la base de l'exploration biologique des hémoglobinopathies dans un but de diagnostic étiologique. Les caractéristiques de l'électrophorèse capillaire ; la résolution, la performance, la simplicité, l'automatisation et la complémentarité (étude qualitative et quantitative) permet de la placer à haut niveau par rapport à l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin qui semble d'être moins résolutive.

Actuellement les études génétiques incluant les techniques de biologie moléculaire trouvent tout leur intérêt pour une meilleure maîtrise de l'anomalie à l'échelle moléculaire afin de poser un diagnostic de certitude, ce qui permet une prise en charge appropriée à chaque situation, et par conséquence, un bon contrôle de leurs complications et de leur traitement.

De ce fait, les hémoglobinopathies doivent bénéficier de plus de recherches scientifiques accomplies surtout dans certaines régions où la concentration de la maladie est importante.

Enfin, des travaux prospectifs incluant un effectif plus important de personnes atteintes et faisant appel à une combinaison de plusieurs techniques complémentaires pour le diagnostic phénotypique ainsi que la caractérisation moléculaire de ces pathologies héréditaires sont attendus. Cela permettra une meilleure connaissance des caractéristiques épidémiologiques et moléculaires des hémoglobinopathies dans notre contexte algérien, la compréhension de leur mécanisme d'expression et des corrélations génotype/phénotype, tout cela aidera à orienter efficacement la planification des actions de contrôle et de prévention de ces maladies.

II.1. Le cadre d'étude

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire du service d'hématologie du centre anti-cancer (CAC) du (Blida), durant la période allant du 20 Février au 20 juin 2019. Ce laboratoire comporte plusieurs sections qui assurent l'analyse de différents paramètres hémobiotiques et biochimiques:

- Effectuer l'électrophorèse de l'hémoglobine.
- Réaliser des hémogrammes.
- Confectionner, colorer et analyser les frottis sanguins au microscope photonique

Cette étude prospective a été complétée par une enquête rétrospective, sur l'archive des patients drépanocytaires et thalassémiques du service d'hématologie.

II.2. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est d'explorer les différentes hémoglobinopathies humaines à travers la détermination de quelques paramètres biochimiques et hématologiques particulièrement l'électrophorèse de l'Hb.

II.3. Matériel

II.3.1. Population d'étude (Patients)

Notre étude a porté sur une population de soixante-dix patients (n=70), des deux sexes, avec une moyenne d'âge de $15,72 \pm 17$ ans (de 04 mois à 76 ans), provenons de différentes régions du pays. Parmi l'ensemble des patients adressés au service d'hématologie, la sélection de notre population d'étude a été faite en se basant sur les critères suivants :

➤ Critères d'inclusion

- Patients adressés au service d'hématologie pour l'exploration d'une anémie chronique non étiquetée ou dans le cadre d'une enquête familiale (pour les patients ayant des antécédents familiaux d'hémoglobinopathie).

➤ Critères d'exclusion

- Patients ayant fait l'objet d'une transfusion récente (<3 mois).

II.3.2. Matériel biologique

Pour les paramètres hématologiques, les techniques d'exploration ont été réalisées sur du sang total recueilli sur EDTA (on exige des tubes *Vacutainer* pour l'électrophorèse capillaire), Cependant, il convient de signaler qu'avant le prélèvement des patients, les précautions suivantes doivent être respectées :

– L'étude du profil électrophorétique de l'Hb doit se faire à distance de toute transfusion sanguine (> 3mois) qui peut fausser l'interprétation des résultats.

II.3.3. Matériel et appareillages

L'ensemble des appareillages utilisés pour la réalisation de ce travail sont listés en **annexe 2** Nous avons également utilisé plusieurs instruments et matériel à usage unique, qui sont listés ci-après :

- Micropipettes (10µl) ;
- Tubes à essai en plastique (25 ml) ;
- Embouts jaunes et bleus;
- Lames pour frottis sanguins.

Le matériel utilisé dans l'électrophorèse à pH alcalin (PH=8.6) est présenté dans le tableau IV **en annexe 2.**

Pour l'analyse électrophorétique, nous avons utilisé le kit Capillarys HEMOGLOBINE® (Sebia, France) qui comporte les réactifs cités dans le tableau III.

Tableau III : Composants du Kit Capillarys HEMOGLOBINE® :

Réactifs	Préparation	Utilisation
– Tampon basique	Ph+9.4	maintient le pH alcalin
– Solution hémolysante	Prête à l'emploi	Hémolyse des hématies
– Solution de lavage	Concentrée 10 fois	Lavage périodique

Cependant, des standards (contrôles) sont nécessaires pour l'analyse mais non fournis dans le kit, ces derniers sont listés dans le tableau IV.

Toute nouvelle série d'analyses. Le contrôle Hb A₂ Normal sert aussi de contrôle de qualité pour le dosage de l'hémoglobine humaine.

Tableau IV: Contrôles indispensables non-fournis par le Kit Capillarys HEMOGLOBINE® :

Contrôles	Préparation	Utilisation
un contrôle HbA ₂ Normal	Il est obtenu à partir d'un pool de sangs humains normaux et conservé sous forme lyophilisée	utilisé comme contrôle de migration avant A ₂ .
le contrôle Hb A ₂ Pathologique	Contenant de l'hémoglobine A ₂ à un taux supérieur aux valeurs de référence	utilisé comme contrôle de migration d'Hb A ₂ Pathologique
le contrôle Hb AFSC	contient des hémoglobines A, F, S et C	destiné au contrôle de qualité des séparations électrophorétiques des hémoglobines humaines réalisées Il doit être utilisé comme un sang humain normal. Pour chaque série d'analyses, il est recommandé d'inclure le Contrôle Hb AFSC

Les différents consommables fournis dans le kit Capillarys HEMOGLOBINE® pour l'analyse électrophorétique sont dans **tableau V en annexe 2**.

II.4. Méthodes

II.4.1. Etape pré-analytique :

Cette étape est nécessaire pour un bon déroulement de la phase analytique. Elle consiste en premier lieu à recueillir les renseignements cliniques des patients et en deuxième lieu, à assurer un bon déroulement du prélèvement sanguin.

- **Fiche de renseignements :**

Le recueil des données est réalisé à partir d'une fiche de renseignement (**annexe 3**), remplies par le médecin traitant ou par consultation des dossiers des patients, les éléments à préciser sont :

- Nom, prénom, âge, service d'origine, médecin traitant.

- Antécédents personnels : accidents ou signes d'hémolyse (Ictère, splénomégalie),
 - Consanguinité.
 - Origine ethnique.
 - Antécédents familiaux : anémie, transfusions répétées.
 - Biologie antérieure : GR, réticulocytes, Fer sérique, Hb, Bilirubine, VGM.
 - Motif d'hospitalisation.
- **Prélèvement :**

A la réception des échantillons, on vérifie le respect des modalités de prélèvement, c'est à dire:

- L'étiquetage du tube : nom, prénom et numéro d'identification du patient.
- Le volume de sang prélevé.
- L'absence de caillot ou micro caillot.

II.4.2. Etape analytique :

II.4.2.1. Formule de numérotation sanguine (FNS):

C'est le principal examen en hématologie, pratiqué sur un sang veineux prélevé sur tube EDTA, le prélèvement doit être analysé le jour même (conservation ne dépassant pas 24h), en utilisant:

- **Le Coulter Sysmex KX-21N :**

Cet appareil permet la réalisation d'un hémogramme selon la méthode de focalisation hydrodynamique (mesure d'impédance) qui est la méthode de référence. Une suspension de sang dans un diluant conducteur est aspirée et passe entre deux électrodes, chaque cellule sanguine n'étant pas conducteur, entraîne une baisse de la conductivité électrique, la chute de tension est proportionnelle à la taille de la cellule et ces impulsions sont comptées.

Les critères de détection des différents éléments figurés du sang avec cet automate sont les suivants :

- Globules rouges : toute particule supérieure à $36 \mu^3$;
- Plaquettes : toute particule comprise entre 2 et $20 \mu^3$;
- Globules blancs : toute particule supérieure à $35 \mu^3$. (Les globules rouges étant préalablement lysés).

La mesure de l'hémoglobine est réalisée dans cette dernière suspension, l'agent de lyse forme un complexe coloré avec l'hémoglobine puis la lecture est faite par faisceau optique à 525 nm.

Cet automate fournit la numération des éléments figurés du sang (Globules rouges et blancs, plaquettes), l'hématocrite, le taux de l'hémoglobine et les constantes érythrocytaires, donnant 3 populations de leucocytes, classiquement : les polynucléaires, les lymphocytes et les monocytes. Le résultat final dépend de la taille du noyau, de sa lobularité et des granulations. Avec cette méthode, il est indispensable de faire un frottis sanguin et de lire la formule au microscope.

Disponible sur : <https://drive.wps.com/docs/2Ti575RBp> (consulté le 02/06/2019 à 11 :32)

Il existe deux autres Coulters de la réalisation de la FNS qui sont plus résolutive (présentés dans le tableau VI en **annexe 4**)

Quelle que soit la méthode utilisée, on peut calculer l'hématocrite en connaissant le nombre et la taille des globules rouges (VGM ou Volume Globulaire Moyen). Avec ces données et l'hémoglobine on peut calculer la Concentration Corpusculaire Hémoglobinique Moyenne (CCHM) et la Teneur Corpusculaire Hémoglobinique Moyenne (TCHM). VGM, CCHM et TCHM sont appelés Constantes Erythrocytaires.

Les paramètres généralement étudiés sont:

- La numérotation globulaire : il s'agit du nombre de GR présents dans le sang par unité de volume. Cette valeur usuelle est exprimée en $10^6/\text{mm}^3$.
- L'Hb contenue dans le GR (exprimée en g/dl).
- L'hématocrite(Hte) : le volume occupé par la population érythrocytaire dans le sang (exprimé en pourcentage).
- Le volume globulaire moyen(VGM) exprimé en fentolitre ($\text{fl} = 10^{-15}\text{l}$).

$$\text{VGM} = \frac{\text{Hte}(\%) \times 10}{\text{Nombre deGR}(10^6/\text{mm}^3)}$$

- ✓ La teneur globulaire moyenne en Hb(TGMH) : la quantité en Hb présente en moyenne dans un GR (s'exprime en picogramme ($1\text{pg} = 10^{-12}\text{g}$)).

$$\text{TGMH} = \frac{\text{Hb}(\text{g/dl}) \times 10}{\text{Nombre deGR}(10^6/\text{mm}^3)}$$

- ✓ La concentration corpusculaire moyenne en Hb (CCMH) : la concentration moyenne de l'Hb à l'intérieur des GR (exprimée en g/dl).

$$\text{CCMH} = \frac{\text{Hb(g/dl)} \times 100}{\text{Hte(\%)}}$$

- ✓ Le taux de réticulocytes : leur numérotation est indiquée afin de différencier le type de l'anémie (régénérative ou arégénérative) et donc de déterminer le mécanisme (central ou périphérique). A l'état physiologique, la valeur absolue des réticulocytes est inférieure à $120.10^9/l$

$$\text{valeur absolue de réticulocytes} = \frac{\text{Nombre d'érythrocytes} \times \% \text{ de réticulocytes}}{100}$$

II.4.2.2. Frottis sanguin :

Pour la réalisation d'un frottis sanguin, on a besoin d'un sang veineux prélevé sur tube EDTA (conservation pour 24h seulement).

Lorsque les résultats de la numérotation des cellules sanguines (hémogramme) indiquent la présence d'anomalies, et des fois même devant une formule normale, on réalise un frottis sanguin coloré au MGG (May-Grunwald-Giemsa) avec lecture au microscope optique à la recherche d'éventuelles anomalies de taille, de couleur, et de forme des GR (exemple : hématies en faucilles en cas de drépanocytose).

- **Principe :**

La coloration MGG repose sur l'action combinée de deux colorants de pH neutre qui colorent différemment les organites intra-cellulaires selon leur affinité tinctoriale :

Le May-Grünwald comporte un colorant acide « l'éosine » et un colorant neutre « le bleu de méthylène », il colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles qui apparaissent en couleur rose.

Le Giemsa dilué au 1/10 (contenant lui aussi de l'éosine, et un colorant basique, l'azur de méthylène) qui colore les granulations basophiles, le cytoplasme des monocytes et des lymphocytes et la chromatine des noyaux, qui apparaissent en bleu (**Piaton et al, 2015**).

➤ **Protocole opératoire** :(voir **annexe 5**) :

- A. L'étalement : En premier lieu on dépose une goutte de sang sur l'extrémité d'une lame en verre, on l'étale à l'aide d'une autre lame avec un mouvement rapide et uniforme;
- B. Séchage à l'aire libre ;
- C. Coloration/décoloration :

La coloration peut se faire soit automatiquement à l'aide d'un appareil Hematek® (6 à 10 min), ou manuellement en suivant les étapes ci-après :

- Couvrir le frottis avec 1 ml de **May-Grünwald** pur pendant 3 minutes ;
- Eliminer l'excès du colorant par égouttage ou rinçage rapide ;
- Couvrir le frottis avec la solution de **Giemsa** dilué au **1/10** avec l'eau physiologique ;
- Laver rapidement à l'eau courante ;
- Laisser la lame sécher à l'air ;
- D. Lecture et interprétation :

La lecture est faite à l'aide d'un microscope optique (en utilisant une gouttelette de l'huile à immersion) au fort grossissement (**Gr ×100**).

L'état physiologique normal des éléments figurés du sang observés au microscope optique au grossissement x100 est décrit dans le tableau VII en **annexe 6**.

L'analyse de frottis sanguin ne permet pas d'établir un diagnostic mais montre souvent la présence d'éléments d'orientation et indique la pratique de tests complémentaires.

II.4.2.3. Electrophorèse de l'hémoglobine :

- **Prélèvement :**

Le prélèvement est pratiqué sur un sang veineux prélevé sur tube **EDTA**, le prélèvement peut être conservé au maximum sept jours au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C), mais l'idéal est de travailler sur du sang frais (moins de 24h), afin de minimiser les difficultés d'interprétation

liées à l'apparition de fractions hémoglobiniques dénaturées ou à l'augmentation possible de la méthémoglobine dans les vieux prélèvements.

- **Principe :**

Le principe de l'électrophorèse de l'Hb repose sur la séparation des protéines chargées sous l'influence d'un champ électrique, selon leur rapport charge/masse. Cette technique est particulièrement bien adaptée à l'étude de l'hémoglobine, dont les principaux variants peuvent être distingués par des rapports charge/masse différents.

- ❖ **Techniques utilisées :**

Pour l'analyse des échantillons sanguins prélevés, nous avons utilisé deux méthodes électrophorétiques de l'hémoglobine :

- A. électrophorèse sur gel à pH alcalin :**

L'électrophorèse sur gel a été réalisée à pH alcalin à l'aide d'un automate SAS 1 (*HELENA*), muni d'un densitomètre (EPSON) capable de scanner la plaque de gel d'acétate de cellulose à 525nm.

Le principe est basé sur le dépôt de très petite quantité d'hémolysât préparé à partir du sang total, sur une plaque de Titan recouverte par une couche très fine de gel d'acétate de cellulose ; les différents variants de l'Hb contenus dans l'échantillon sont séparés selon leur mobilité électrophorétique à pH alcalin (pH 8.2-8.6), par la suite, les différentes fractions ainsi séparées sont colorées à l'aide du rouge ponceau. Après la coloration, un scanner nous permet de déterminer le pourcentage de chaque fraction (bande) à l'aide d'un densitomètre.

Cette méthode se base sur une interaction complexe de l'Hb avec un tampon de migration alcalin et le support. La procédure d'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin est une technique simple demandant de petites quantités d'Hb pour mettre en évidence la présence d'Hb S, Hb C et d'Hb F ainsi de d'autres Hb anormales (figure 7). (**Cotton,1999**).

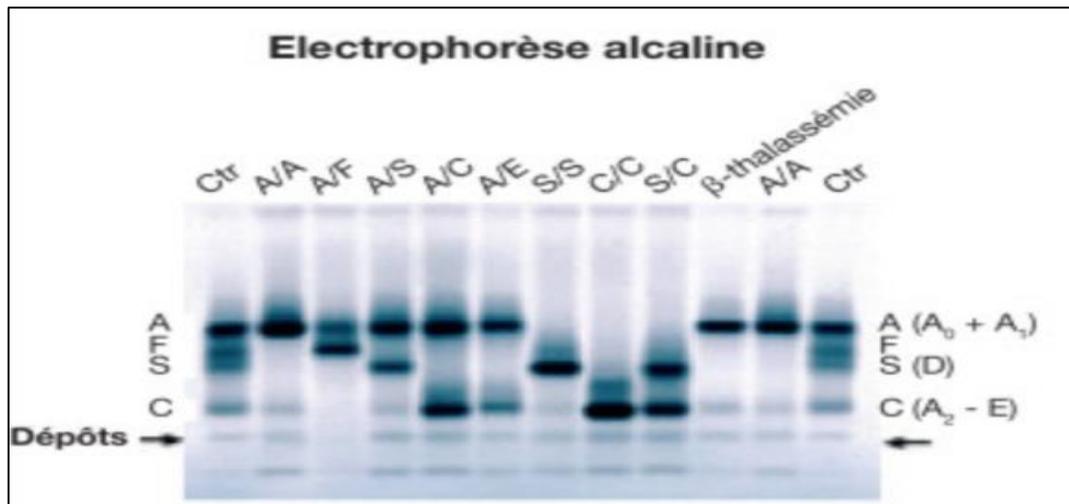


Figure 07 : Electrophorèses en gel d'agarose. (Baudin., 2016).

Protocole opératoire :

Le prélèvement doit être préparé auparavant à partir du sang total à l'aide de la solution hémolysante pour obtenir l'hémolysat qui va être ensuite déposé directement sur la plaque de migration.

L'utilisation de sang total prélevé sur EDTA ou héparine est fortement recommandée (Les échantillons peuvent être conservés une semaine entre 2-6°C), Pour un résultat optimal. Les GR doivent être lavés avec de l'eau physiologique avant la préparation de l'hémolysat, cette étape évite les interactions des protéines plasmatiques.

❖ Préparation de l'hémolysat :

Les étapes suivantes doivent être respectées :

- a) Mélanger 200µl de sang total avec 1000µl d'eau physiologique ;
- b) Centrifuger jusqu'à sédimentation des hématies ;
- c) Retirer le surnageant ;
- d) Ajouter à nouveau 1000µl d'eau physiologique et mélanger ;
- e) Répéter les étapes b et d deux fois ;
- f) Après la dernière centrifugation, retirer 1000µl de surnageant et traiter l'échantillon comme un sang total ou bien retirer tout le surnageant et traiter des hématies lavées.

Pour les échantillons des patients ayant une concentration totale en Hb de 12-15 g/dl, il convient de réaliser une dilution 1:4 (v:v) avec l'hémolysant. Pour les contrôles et les

échantillons ayant un taux supérieur à cette marge, on doit les diluer pour obtenir une concentration de 2.0-3.0 g/dl.

Remarque :

Pour la quantification de Hb A₂, les échantillons doivent être dilués juste avant l'électrophorèse et ne doivent pas dépasser les 24h.

❖ Préparation de la plaque de migration : (voir annexe 7)

1. Pipeter 35µl d'échantillon dans les puits correspondants du porte-échantillon (12 puits) (Utiliser le porte échantillon SAS-1) ;
2. Placer avec précautions le porte-échantillon sur le chariot applicateur .S'assurer qu'il est solidement mis en place ;
3. Placer l'applicateur en position supérieure dans l'instrument ;
4. Sortir le gel de son emballage puis sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C puis le jeter ;
5. Déposer 400µl de REP-prep dans le dissipateur thermique ;
6. Placer le gel sur le dissipateur thermique, agarose vers le haut, en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel ;
7. fixer les électrodes sur la partie supérieure des plots de sorte qu'elles soient en contact avec les ponts d'agarose ;
8. mettre le couvercle sur le gel et exercer une pression pendant 5 secondes pour assurer un bon contact ;
9. Réaliser l'électrophorèse d'Hb Alcaline à 200 volts, pendant 30min, à une température de 25°C pour chaque dépôt ;

Une fois la migration est terminée, enlever le couvercle, les électrodes et les ponts d'agarose à l'aide de la raclette.

❖ Coloration/décoloration : (voir annexe 7)

- Sécher le gel dans l'étuve à 65 C° ;
- Fixer le gel sur le support de la chambre de coloration. Sélectionner le programme Hémoglobine Alcaline du module de coloration puis, en suivant les messages, colorer, décolorer et sécher le gel ;

NB : la coloration peut se faire manuellement (de préférence) pour ne pas tomber dans des situations où le colorant est trop dilué ou trop concentré, ce qui peut générer des faux négatifs ou des faux positifs :

- Une fois le cycle de coloration est terminé, enlever le gel de la chambre de coloration, laisser sécher à l'air libre, il est alors prêt pour être examiner.

❖ Lecture et interprétation

La lecture optique des résultats est réalisée par un scanner muni d'un densitomètre avec un logiciel pour traiter les données.

L'interprétation implique une :

1/ Evaluation qualitative : c'est une observation visuelle du gel coloré, elle permet d'identifier les différentes bandes d'hémoglobine des échantillons, les contrôles utilisés servent de marqueurs de position pour l'identification. (Orsini., 1982).

2/ Evaluation quantitative (à 595nm):

Ainsi, après migration, plusieurs bandes sont visualisées chez un adulte normal:

Une bande correspondant à l'Hb A très majoritaire (environ 97%), une bande correspondant à l'Hb A₂ située plus près du dépôt et représentant 02 à 03 % de l'Hb totale, une ou deux bandes très discrètes proches du dépôt et correspondant aux anhydres carboniques érythrocytaires.

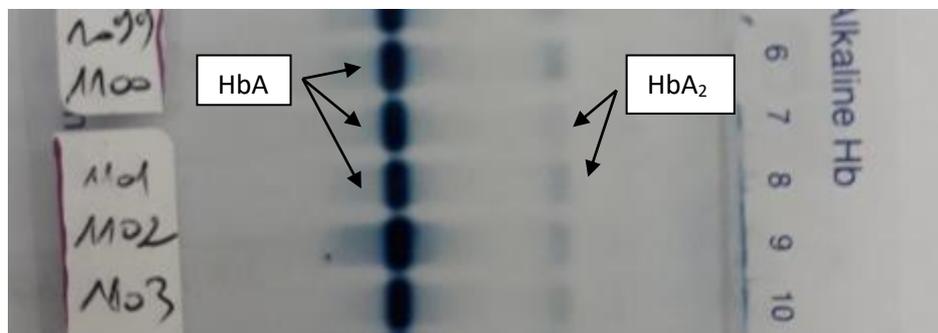


Figure 8 : les bandes d'Hb chez une personne normale

A pH alcalin (pH=8.6), les Hb sont chargées négativement et migrent vers l'anode(+).

-Si le variant de l'Hb présente un aa de surface ayant un résidu qui modifie sa charge, il va donc être séparé de l'Hb A :

-S'il est plus chargé négativement que l'Hb A, et donc il migre plus près de l'anode que l'HbA.

-S'il est moins chargé négativement, donc il migre moins près de l'anode que l'Hb A.

L'Hb F migre entre l'Hb A et A₂, il est très proche du HbA.

L'Hb S migre à mi-chemin entre l'Hb A et A₂.

D'autres Hb migrent au même niveau que Hb S : Hb D Hb G et Hb Lepore.

Les Hb C, E et O migrent au même niveau que HbA₂.

B. Electrophorèse capillaire

L'instrument CAPILLARYS 2 Flex Piercing est un automate d'électrophorèse capillaire automatisé multi-tâches, muni de 8 capillaires, permettant d'effectuer plusieurs séparations électrophorétiques simultanées, sans manipulation et à une cadence élevée. Il permet de réaliser automatiquement toutes les séquences de l'électrophorèse depuis le tube de prélèvement avec bouchon pour l'analyse des hémoglobines et sans bouchon pour les autres techniques d'analyse, jusqu'à l'obtention du profil électrophorétique :

L'identification des échantillons, la dilution des échantillons, le lavage des capillaires, l'injection des échantillons dans les capillaires, la migration, la détection, le traitement des résultats et la transmission informatique des résultats (obtenus se font à l'aide du logiciel PHORESIS).

La migration se fait à travers des capillaires en silice fondue, de diamètre interne inférieur à 100 µm, recouverts d'une couche de polyimide de 20 à 200 µm de diamètre interne et de 20 à 200 cm de longueur. Le capillaire, placé dans un système de thermostatisation, est rempli d'une solution tampon et plongé dans deux réservoirs contenant cette même solution.

Chaque réservoir est connecté à une électrode reliée à un générateur de courant. Une forte différence de potentiel (plusieurs milliers de volts) est appliquée aux bornes de chaque capillaire pour séparer les molécules sur la base de leur rapport charge/masse.

L'appareillage comporte également un système de détection, le plus souvent un spectrophotomètre UV-visible, en lien avec la longueur d'onde d'absorption spécifique des hémoglobines à 415 nm côté cathode. (**Blessum et al 1999 et Clark et Higgins., 2000**)

Principe :

Le système Capilarys utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre (figure 9), qui présente la forme la plus courante de l'électrophorèse capillaire. Il permet la séparation de molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétique propre dans un tampon de pH donné, et selon le pH d'électrolyte, d'un flux électro-osmotique plus ou moins important.

Sur ce système, l'injection dans les capillaires de l'échantillon dilué dans la solution hémolysante est effectuée à l'anode par aspiration. La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de milliers de volts aux bornes de chaque capillaire. Cette technique, basée sur une séparation électrocinétique des protéines, est caractérisée par l'interface solide-liquide entre la paroi du capillaire en silice et l'électrolyte qui le remplit. En fonction du pH du tampon, les groupements silanols de la silice s'ionisent, conférant à la paroi des charges négatives à l'origine du flux électro-osmotique, plus ou moins important, orienté vers la cathode. D'autre part, chaque molécule chargée est caractérisée (Blessum et al.(1999) ; Clarke et Higgins(2000) et Cotton et al.(2006).

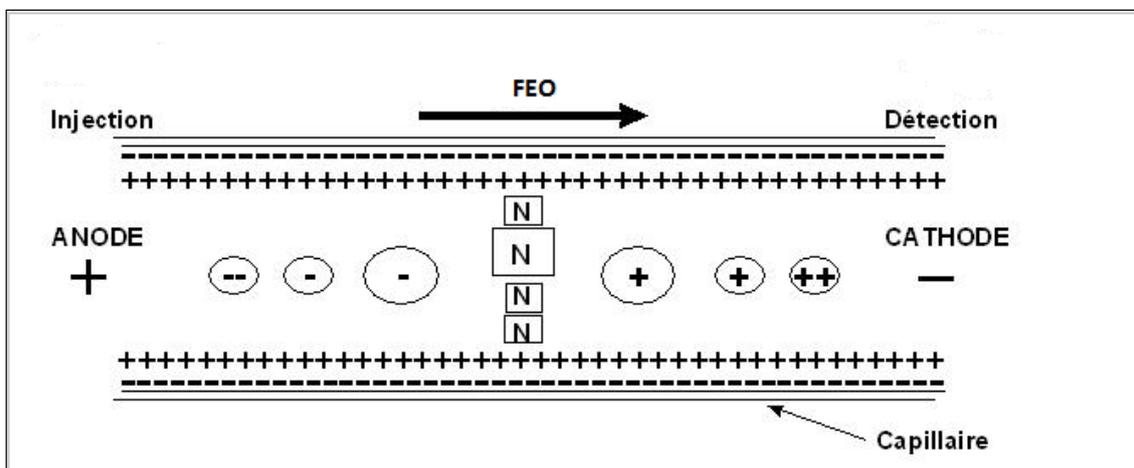


Figure 09 : Schéma d'un instrument d'électrophorèse capillaire

Disponible sur : http://www.doping.chuv.ch/lad_home/lad-prestations-laboratoire/lad-prestationslaboratoire-appareils/lad-prestations-laboratoire-appareils-ec.htm (Consulté le 02/06/2019 à 14 :12)

La détection directe des Hb est effectuée à 415 nm côté cathode. Avec le tampon utilisé à pH basique, l'ordre de migration des principales Hb normales et anormales est le suivant, de la cathode vers l'anode : **Hb δ** , **Hb A2 (variant d'A2)**, **HbC**, **HbA2/O-Arab**, **HbE**, **HbS**, **HbG-Philadelphia**, **HbF**, **HbA**, **HbHope**, **HbBart**, **HbJ**, **HbN-Baltimore** et **HbH**.

Protocole opératoire

a) Préparation des échantillons :

L'électrophorèse capillaire de l'hémoglobine par CAPILLARYS 2 Flex Piercing se fait automatiquement à l'intérieur de l'appareil, les tubes EDTA contenant le sang total sont placés dans les racks avec leurs bouchons (tubes Vacutainer), le système est muni d'une aiguille qui assure l'aspiration d'un volume précis du sang total et par la suite le mélanger avec la solution hémolysante dans les micro-cupules.

b) Migration :

Le nombre d'échantillons à analyser doit être égal à 8, du fait de la présence des 8 capillaires, Si le nombre d'échantillons à analyser est inférieur à 8, des tubes contenant de l'eau distillée ou déminéralisée bouchés doivent être utilisés pour remplir le rack.

Avant chaque manipulation, on utilise un contrôle de migration Hb A2 Normal, ce dernier est utilisé aussi comme étalon. Le contrôle HbA2 Normal est utilisé comme contrôle afin de valider la technique :

Il convient de vérifier que tous les capillaires fonctionnent bien (ne sont pas bouchés, ne contiennent pas des impuretés qui altèrent la migration et que le positionnement des différentes fractions est correctement établi)

Le contrôle HbA2 Normal est utilisé comme étalon afin d'ajuster les paramètres internes de l'appareil, pour le dosage des deux fractions de l'Hb humaine (fixer le coefficient d'absorption du Hb A et HbA2).

Les contrôles internes pathologiques (contrôle Hb AFSC et Hb A2 pathologiques) sont traités comme des échantillons de patients ; pour le contrôle Hb AFSC, le profil obtenu est enregistré comme courbe de référence afin de l'utiliser ultérieurement en cas de difficulté d'interprétation (un pic positionné entre deux fractions).

Après la mise en place des racks contenant les tubes dans le système Capillarys, l'automate procède d'abord à la dilution des échantillons par la solution hémolysante dans les cupules réactif, avec rinçage de l'aiguille du prélèvement après chaque dilution. Un lavage des capillaires a lieu avant injection des échantillons hémolysés dans ces capillaires, l'injection s'effectue à l'anode par aspiration (**Guis et al., 2013**)

Les différentes fractions d'hémoglobine migrent alors dans les capillaires en milieu basique (pH 9,4), permettant leur séparation et leur détection directe à la cathode. La migration, qui

dure environ 8 minutes, se fait à voltage constant élevé (**10000V/8min**) et à température régulée par effet Peltier (à 34°C).

La lecture des différents pics d'hémoglobine est réalisée à 415 nm, correspondant à la longueur d'onde d'absorption maximale de l'hémoglobine.

Toutes ces étapes aboutissent à l'obtention de tracés ou profils électrophorétiques qui seront ensuite interprétés par le biologiste .

c) Lecture et interprétation :

A la fin de l'analyse, les profils électrophorétiques s'affichent sur le logiciel *PHORESIS*[®] fourni par la société *Sebia*, où ils font l'objet d'une interprétation visuelle à la recherche d'éventuelles anomalies. Une quantification relative des différentes fractions de l'hémoglobine est automatiquement réalisée. Afin de faciliter l'interprétation des profils électrophorétiques, le pic d'HbA est positionné au centre de la fenêtre de reprise.

Les pics d'Hb A, Hb A2, Hb F, Hb S et Hb C sont identifiés de façon automatique.

Les positions des autres variants de l'hémoglobine sont repérées à l'écran au sein des zones allant de Z1 à Z15 (Figure10). Une liste des variants connus potentiellement, présents dans chaque zone, apparaît lorsque l'on place le curseur sur cette zone en haut de l'écran.

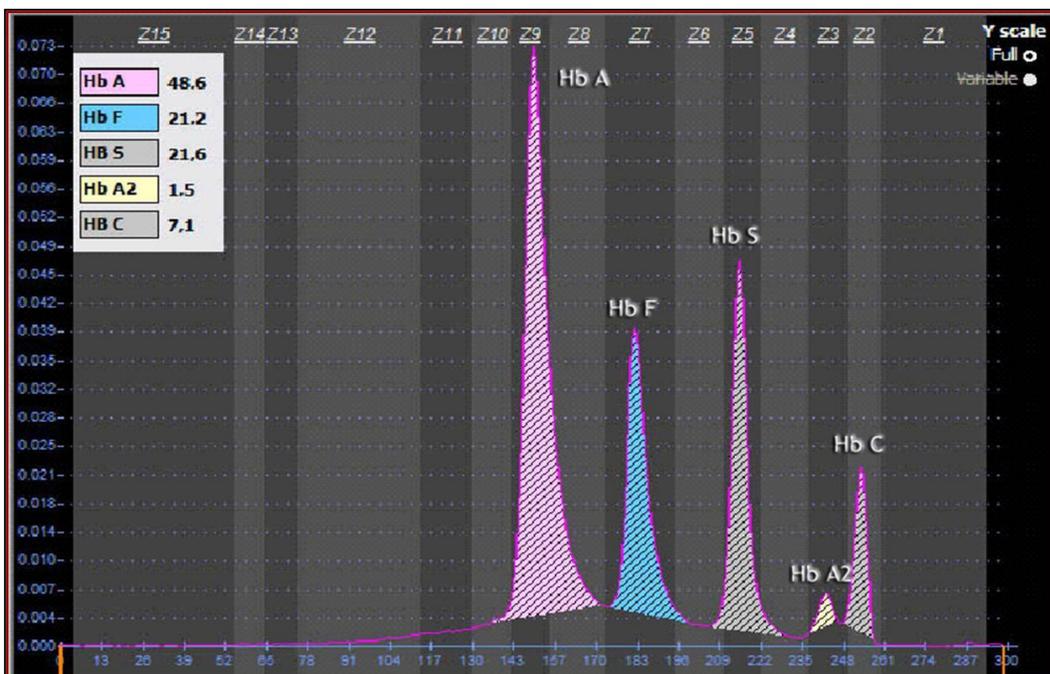


Figure 10 : Profil électrophorétique visualisé sur le logiciel PHORESIS[®], avec identification automatique des pics d'Hb A, Hb A2, Hb F, Hb S et Hb C et découpage en 15 zones de migration (Guerard., 2014)

II.4.2.4. Le bilan marial et le bilan d'hémolyse

Le bilan martial et le bilan d'hémolyse ont un rôle important dans l'orientation du diagnostic malheureusement nous n'avons pas pu les réaliser à cause de manque de réactif dans notre service durant la période d'étude. Les données sont obtenues à partir des dossiers traités.

II.4.3 : Analyse et traitement des données

Les données ont été saisies et traitées par le logiciel Excel 2007. Les résultats ont été exprimés par la moyenne \pm écarttype pour les variables quantitatives et par pourcentage pour les variables qualitatives. Ils sont reportés dans des tableaux, ou représentés sous forme d'histogrammes, de secteurs ou de boursiers.

Matériel et méthodes

Référence bibliographique

- 1- Aguilar-Martinez P., Badens C., Bonello-Palot N., Cadet E., Couque N., Ducrocq R., Elion J., Francina A., Joly P., Pissard S et Rochette J (2010). Réseau DHOS Pathologie héréditaire de l'érythrocyte. Arbres décisionnels pour le diagnostic et la caractérisation moléculaire des hémoglobinopathies. *Ann Biol Clin* 68: 455–464.
- 2- Al-Ryami A.Z., Al-Mahrooqi S et Al-Hinai S. (2014). Transfusion therapy and alloimmunization in thalassemia intermedia : A 10 year experience at a tertiary care university hospital. *Transfusion and apheresis science*, 51 (11): 42-46.
- 3- Altinier S., Varagnolo M., Zaninotto M et Plebani M. (2013). Identification and quantification of hemoglobins in whole blood: the analytical and organizational aspects of Capillarys 2 Flex Piercing compared with agarose electrophoresis and HPLC methods. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC* 51: 791–797.
- 4- Ashby D., Gale D et Busbridge M. (2010). Erythropoietin Administration In Humans Causes A Marked And Prolonged Reduction In Circulating Hcpidin. *Haematologica*. 95(13): 505-508.
- 5- Aubry P .(2007). Hémoglobinoses. étude des thalassémies. génétique et physiopathologie. *Medcinetropical. Inde* :p27.
- 6- Mario N et Sala N (2016). Diagnostic biologique des hémoglobinopathies. *Revue Francophone des Laboratoires*. 481: 35-47.
- 7- Bain BJ. (2008). *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 2ème Edition. Blackwell Publishing Ed. Oxford. 328 p.
- 8- Bain BJ.(2011). Haemoglobinopathy diagnosis: algorithms, lessons and pitfalls. *Blood Rev*. 25: 205–213.
- 9- Bardakdjian-Michau J ., Dhonth JL ., Ducrocq R ., Galactéros F., Guyard A., Huchet F (2006). Haemoglobinopathy diagnosis .*Ann BiolClin* . 61 : 401-409.
- 10- Bardakdjian-Michau J., Dhondt JL., Ducrocq R., Galactéros F., Guyard A., Huchet FX., Lahary A., Lena-Russo D., Maboudou P., North ML., Prehu C., Soummer AM ., Verschelde M et Wajcman H. (2003). Groupe de travail SFBC Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. *Ann Biol*. 61 (4) : 401-409.
- 11- Barro J et Casini A. (2013). Anémie. Hôpitaux universitaires de Genève. Genève. 98p.
- 12- Baudin B (2016). les hémoglobines normales et pathologiques .*Revue Francophone Des Laboratoires*. 481 :27-37.
- 13- Baudin B.(2016). Les hémoglobines normales et pathologiques. *Revue Francophone des Laboratoires*. 481 : pp 27-34.
- 14- Belhadi K(2011). Etude des hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna. Mémoire de Magister en Biologie. Université- EL HADJ LAKHDER. 89p

Référence bibliographique

- 15- Ben Maamar.(2009). Etude des hémoglobinopathies à CHU Mustapha Bacha d'Alger.in :Djeddi et Benameur.(2017).DEPISTAGE DES HEMOGLOBINOPATHIES AU CHU TLEMCEM. These de Doctorat en Pharmacie.UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD.96p.
- 16- Benkirane S et Sebar A.(2003). Les hémoglobinopathies au Maroc. Arch Pediatr .1 :648-657
- 17- Biaz A., Neji M., Ajhoun Y., Idrissi S., Dami A., Reda K et al(2017). Découverte fortuite d'une drépanocytose hétérozygote composite S/C. Pan AfricanMedical Journal. 27:93p.
- 18- Blessum C., Jeppsson JO., Aguzzi F., Bernon H et Bienvenu J.(1999) L'électrophorèse capillaire :principe et applications au laboratoire de biologie clinique. Ann Biol Clin .57: 643–57.
- 19- Bonello-palot Net Badens C (2010). Bases moléculaires des syndromes thalassémiques et facteurs génétiques modulateurs de sévérité de beta-thalassémie. Revue méditerranéenne de génétique humaine. 1(11) : 1-10.
- 20- Bonello-Palota N., Cerinoa M., Joly P et Badensa C. (2016).Les thalasseemies en 2016. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES . 481 :67-75.
- 21- Bounid D et Haouach K.(2018).Estimation des valeurs normales de l'hémogramme à Marrakech :étude préliminaire au CHU Med VI de Marrakech.The Pan African medical Journal .30 :p249.
- 22- BourkeB Yetat H. (2017). Etude de la prévalence de la beta thalassémie dans la région de Bejaia. Master en biologie. Université A. MIRA .Bejaia. algerie.33p.
- 23- Bradai M (2014).les syndromes thalassémiques et autres syndromes apparentés. Les hémoglobinopathies. OPU. ALGER algerie.280p.
- 24- Brooker C .(2000). Le corps humain: Étude., structure et fonction. De Boeck Supérieur.France.pp 184-187.
- 25- Buch A., Iqbal B., Bordawekar R., Jain A., Jariwala P etRathod H. (2016).Patterns of hemoglobinopathies diagnosed by high-performance liquid chromatography in and around Pune (Western Maharashtra, India): A pilot study. Journal of Medical Society.2:111-115.
- 26- CHABI I et Tatiana O. T.(2014).HémoglobinoC : Étude de Cohorte réalisée au Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V .Thèse Doctorat Médecine. 83p.
- 27- Chalmane M.(2016).role de laboratoire dans le diagnostic des hemoglobinopathie. These du doctorat en pharmacie.Université Mohamed V-RABAT .121p.
- 28- clarke GM et Higgins T.(2000). Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and ThalasseMIas: Review and Update. ClinChem 46: 1284–1290

- 29-** Codeau B et Galactéros F.(2013) Principales protein crystallization from 1840 to the present day. The FEBS journal. 280: 6456-6497.
- 30-** Corrine. P (2012). Hémoglobinose H. Le portail des maladies rares et des médicaments orphelins disponible sur :https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=93616 (consulté le 05-05-2019 à 00.20).
- 31-** Cotton F., Lin C., Fontaine B., Gulbis B., Janssens J et Vertongen F. (1999). Evaluation of a capillary electrophoresis method for routine determination of hemoglobins A2 and F. Clin Chem. 45 (2) : 237-243.
- 32-** Cotton F., Vertongen F et Gulbis B.(2006). Électrophorèse capillaire et hémoglobinopathies.Immuno-Anal BiolSpéc 21: 45–50.
- 33-** Couaue N et De Montalembert M. (2013). Hémoglobinopathies : Diagnostic des hémoglobinopathies, Hématologie.72(16) : 639-668.
- 34-** CREDOS : Module de formation à la prise en charge de la drépanocytose au Mali. Mars.2005. In : Laouali S.(2016).Etude épidémiologique de la drépanocytose dans la région de Constantine.master en biologie.Université des Frères Mentouri Constantine.39p.
- 35-** Dahmani F., Benkirane S., Kouzih J., Woumki A., Mamad H et Masrar A.(2017). Profil épidémiologique des hémoglobinopathies: étude transversale descriptive autour du cas index. Pan AfricanMedical Journal 27:150p.
- 36-** Djeddi Z et Benameur Z. K. (2017). Depistage des hemoglobinopathies au chu Tlemcen. Doctorat en pharmacie. Universite ABOU BEKR BELKAÏD. Tlemcen.algerie.98p.
- 37-** DJENOUNI A., GRIFI F et BAHLOULI M. (2002) . Prise en charge des thalassémies majeures au CHUAnnaba allant de 1995 à 2002. Thèse de doctorat en médecine .86p.
- 38-** DOUPA D., DJITE M., GUEYE P.M., SECK M., FAYE B.F., SECK M et al. (2017). Profil biochimique et hématologique des patients drépanocytaires homozygotes en phase stationnaire au centre National de Transfusion Sanguine de Dakar. Int. J. Biol. Chem. Sci. 11(4): 1706-1715.
- 39-** El Kamah G et Amr K (2015). Thalassemia-From Genotype to Phenotype. InheritedHemoglobinDisorders. Anjana Munshi. Inde. pp 13-33.
- 40-** El Wahabi H. (2010). Contribution à l'étude des α -thalassémies chez les nouveaux-nés de la région Nord du Maroc. Master Sciences et Techniques Université Sidi Mohammed Ben Abdellah .Tanger.maroc.46p.
- 41-** ElleuchH .(2004). Physiologie du globule rouge et physiopathologie des anémies. Concours de Résidanat. Centre Régional du Transfusion sanguine. 1(5/6) : 74-77.
- 42-** FERRIER P. (1980).Précis de pédiatrie. Deuxième édition. Paris. 298-301

- 43-** Ferry T (2014). prévention des infections après splénectomie. Journée en traumatologie- Université de Lyon .
- 44-** Giambonaa L., Gioco P ;MarinoM et Coll (1995). The great heterogeneity of thalassemia molecular defects in Sicily. Hum Genet 95: 526-30.
- 45-** Girot R et Montalembert M. (2006). Drépanocytose chez l'enfant ., Elsevier SAS., pédiatrie. paris. France. p6.
- 46-** Girot R., Maier-Redelsperger M et Grazia NeonatoM .(2001). Le diagnostique biologique des maladies génétiques de l'hémoglobine. Revue Francophone des Laboratoires. 329:11-15.
- 47-** Guerard V(2014). Mise en place de l'électrophorèse capillaire MINICAP® (Sebia) pour le diagnostic des hémoglobinopathies au CHU de Nancy. These de Doctorat en Pharmacie.Universite de Lorraine.132p.
- 48-** Guis L A.C ., Le Gall V et Havrez S.(2013). Intégration du Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia) dans un laboratoire de biologie médicale spécialisée. Revue Francophone des Laboratoires. 449:56-47.
- 49-** Gulbis B; Cotton F et Vertongen F.(2004). Hémoglobines anormales rares. Encyclopédie Médico-chirurgicale .paris .24-36.
- 50-** Haddad N et Bradai M. (2016). Epidémiologie de la bêta thalassémie hétérozygote, dans le CHU de Blida: Implications, pour le dépistage de la population. Santé-Mag. 53 : 10-13.
- 51-** HadjKhelil A., Laradi S., Nabli N., Ould Salem ML., Abroug S., F Amri et al. (2001).Paramètres biochimiques chez les β –thalassémiques. Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique. Immunoannalboil. 16:315-320.
- 52-** Harano K et Harano T(2013). Simple and rapid analysis of beta-thalassemia mutation by sequence-specific amplification. RinshoByori. 61: 217–223.
- 53-** HAS (Haute Autorité de Santé) (2008). Syndromes drépanocytaires majeurs et intermédiaires. Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare Disponible sur : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_680242/fr/ald-n-10. (Consulté le 21/05/2019).
- 54-** Henry W et Laurent Kiger. (2002) . L'hémoglobine des micro-organismes à l'homme: un motif structural unique des fonctions multiples. Bio clin 325(12): 1159-1174
- 55-** Higgs DR., Engel JD et Stamatoyannopoulos G (2012). « Thalassaemia ». Lancet; 379:373-383.
- 56-** JagannathV.A ., Fedorowicz Z ., Al Hajeri A et Sharma A (2014). Hématopoïéticstem cell transplantation for people with β thalassaemia major. Cochrane database systrev, 15(10) :14-19.

- 57-** Jeanne L (2010). Place de l'électrophorèse capillaire dans le diagnostic et le suivi des hémoglobinopathies. *Biol clin* 21: 17–20.
- 58-** Jeff.(2018). Thalassémie - Symptômes et traitement. *Le Journal des Femmes Santé*. avec un diagnostic néonatal .in : La prévalence da la bêta thalassémie au niveau de l'EPH Ain Tadless.master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.61p.
- 59-** Joly P., Pondarre C et Badens C. (2014). Les beta-thalassémies : aspects moléculaires, épidémiologiques, diagnostiques et cliniques. *Annale de biologie clinique*. 72(16) : 639-68.
- 60-** Karthika M. Devi K., Rymbui D., Bhardwaj ., AoS et Kumar S. (2015). Prevalence of Hemoglobinopathies in Manipur. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 14(8):17-20
- 61-** Klein B (2012). Cellules souches hématopoïétique : biologie et application cliniques. Montpellier : inserm.
- 62-** KohneE .(2011). Hemoglobinopathies:Clinical Manifestations, Diagnosis, and Treatment. *DeutschesÄrzteblattInternational*.108(31–32): 532–40.
- 63-** Krause A., Wainstein T., Essop FB et Goodyear Q(2013). Testing for haemoglobinopathies in Johannesburg, South Africa: A 30-year review. *S Afr Med J* 103: 989–993.
- 64-** Laanait R.(2018). Profil des hémoglobinopathies au service de biochimie de l'hôpital Avicenne.These de Doctorat en Médecine .Université CADI AYYAD.Maroc .139p.
- 65-** Labie D(1995). Analyse génotypique au cours des hémoglobinopathies. *Rev Fr Lab* 3:117–120.
- 66-** Labie D., Elion J. (2003).Génétique et physiopathologie de la drépanocytose in : La Drépanocytose (dir. Girot R., Bégué P., Galacteros F.)John LibbeyEurotext.1 : 1-12.
- 67-** Lahlou S (2016). Profil épidémio-clinique, biologique, thérapeutique et évolutif de la thalassémie chez l'enfant thèse du doctorat en medecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. maroc .80-82
- 68-** Langois S., jason C et chitayat D. (2008) dépistage des porteurs de thalassémie et d'hémoglobinopathie au canada. Directive clinique commune SOGC-CCGM.218 :960-971p.
- 69-** Le Carrer D., Bach-Ngohou K.(2005). L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. *SpectraBiol* 24: 47–52.
- 70-** Lionnet F., Stankovic K et Girot R.(2009). Drépanocytose de l'adulte. EMC-Hématologie.Paris.p1-17.

- 71-** Littee K. (2016). Analyse descriptive de quatre patients beta-thalassémiques majeurs avec un diagnostic néonatal .in : Etude de la prévalence de la beta thalassémie dans la région de Bejaia.(2017).master en biologie. Université A. MIRA – Bejaia.65p.
- 72-** Mattionia S., Stankovic Stojanovica K., Girota R et Lionneta F.(2016).La drépanocytose en France. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES.481: 61-66.
- 73-** Montalembert M De (2002). Syndromes thalassémiques. EMC –Hématologie.13 :1-8
- 74-** Nacoulma E.W.C., Sakande J., Kafando E., E. D .Kpowbié I., Guissou P. (2006). Profil Hematologique et Biochimique des Drepanocytaires SS et SC en Phase Stationnaire au Centre Hospitalier National YalgadoOuedraogo de Ouagadougou. Mali Médical.1: 8-11.
- 75-** Nagara M., Alba-Sauviat C., Simeona D., Gaudeau-Toussainta M-F., Fontvielle F et Faucher G(2009). L'hémoglobinoase C homozygote : à propos d'un cas de découverte fortuite. Immuno-Anal BiolSpéc. 24 :210-216.
- 76-** Nsangou I., Kasia J. M., Kemfang J. D., Womga A. T., Mbacham W., Tang J. M., Sosso S. M., Asonganyi T., et KaptueNoche L.(2012). Les β -thalassémies de l'enfant camerounais : étude de la symptomatologie en fonction des différentes formes biologiques, Clinics in Mother and Child Health.9.14-22.
- 77-** Organisation mondiale de la santé : WorldHealthOrganization. (2008).Management of haemoglobindisorders . disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs308/fr> consulté le (25-06-2019).
- 78-** Orsini A., Perrimond H., Vovan L et Mattei M (1982).Hématologie pédiatrique. ED. Flammarion, Paris. France . 442p.
- 79-** Otter D (2003).Protein Determination and Characterization, in Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition).pp4824-4883.
- 80-** Ou C-NetRognerud CL.(2001). Diagnosis of hemoglobinopathies: electrophoresis vs. HPLC.313: 187–194.
- 81-** Ou-Kheda N. (2013). Les hémoglobinopathies : contribution du laboratoire de biochimie et de toxicologie de l'HMIMV à l'étude épidémiologique, clinique et biologique des cas répertoriés sur une période de 12 années. Thèse Doctorat Médecine, Rabat.13:113 p.
- 82-** Park E.S., Jung H.L., Kim H.J., Park S.S., Bae S.H., Shin H.Y et al. (2013).Hereditary hemolytic anemia in Korea from 2007 to 2011: A study by the Korean Hereditary HemolyticAnemia Working Party of the Korean Society of Hematology. Blood Res .48:211-216.
- 83-** Piaton E., Fabre M., Goubin-Versini I., Bretz-Grenier MF., Courtade-Saïdi M., Vincent S et al.(2015). Recommandations techniques et règles de bonne pratique pour la

- coloration de May-Grünwald-Giemsa: revue de la littérature et apport de l'assurance qualité. *Annales de Pathologie*. 1:294-305.
- 84-** Powards DR., Chan LS et Hiti A. (2005). Outcome of sickle cell anemia: a 4-decade observational study 1056 patients. *Medicine (Baltimore)* .84(3):363-376.
- 85-** Redelsperger M., Bardakdjian Michau J., Neonato MG et Girot R. (2003) Diagnostic biologique des syndromes drépanocytaires. In : Girot R. Bégué P, Galactéros F, editors. (2003). *La drépanocytose*. Paris : John Libbey:13-29.
- 86-** Rosa J., Wajcman H et Blouquit Y.(1993). Variants of the AlphaChain. *international journal for haemoglobin research*.17(2). 89-177.
- 87-** Roussey M. (2011). Association française pour le dépistage et la prévention des handicapés de l'enfant. rapport d'orientation. dépistage néonatal de la drépanocytose en France pertinence d'une généralisation du dépistage à l'ensemble des nouveau-nés. HAS.paris.130p.
- 88-** Sankaran V.G., Xu J., Byron R., Greisman H.A., Fischer C., Weatherall D.J et al .(2011). A functional element necessary for fetal hemoglobin silencing. *N Engl J Med*. 365 :807-14.
- 89-** Santin A., Renaud B. (2013). Drépanocytose et complications aiguës. *Maladies rares en médecine d'urgence*. Paris, Springer-Verlag. pp 279-301.
- 90-** SCHMIDT M (2012). Complémentarité des techniques d'électrophorèse capillaire et de CLHP dans le diagnostic des hémoglobinopathies. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille 2 .France.
- 91-** Shabbir S., Nadeem M., Sattar A., Ara I., Ansari S., Farzana T et al (2016). Type and frequency of hemoglobinopathies diagnosed in the area of Karachi in Pakistan. *Cogent Medicine*. 3: 1188875p.
- 92-** Siala H., Ouali F., Messaoud T., Bibi A et Fattoum S(2008). α -Thalassaemia In Tunisia: some epidemiological and molecular data. *Journal of Genetics*. 87:229–234.
- 93-** Thuret I (2014). Prise en charge actuelle des thalassémies intermédiaire. *Transfusion clinique et biologique*. 21(14-15) : 143-149.
- 94-** Thuret I. (2014). Prise en charge actuelle des thalassémies intermédiaires. *Transfusion clinique et biologique*. 21(14) :143-149.
- 95-** Trivin F et Le Bricon T .(2003). Nouvelles techniques d'électrophorèse : applications aux protéines et à l'ADN. *Immuno-Anal Biol Spéc* 18: 11–22.
- 96-** Wajcman H .(2005), Hémoglobines : structure et fonction., *Hématologie EMC* . 2 :145-157.

97- WajcmanH .(2013). Hémoglobines : structure et fonction, Hôpital Henri-Mondor, 51, avenue du Maréchal-De-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil cedex, France.in mémoire de master : La prévalence da la bêta thalassémie au niveau de l'EPH Ain Tadless (2018). Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.algerie.

98- Yan CME.(2013).Persistance de l'hémoglobine foetale chez les enfants drépanocytaires homozygotes age de 2 à 18 ans suivis au CME/FCB. Journal of Medecine and Health Sciences. 12(2): 88-93.

Sites web :

<https://fr.dreamstime.com/images-libres-droits-drépanocytose-image23933699> (consulté le 30-05-2019 à 16:32)

<https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/BetaThalassemie-FRfrPub51.pdf>(consulté le 09-04-2019 à 00 :25)

<https://drive.wps.com/docs/2Ti575RBp>(Consulté le 02-06-2019 à 11 :32)

http://www.doping.chuv.ch/lad_home/lad-prestations-laboratoire/lad-prestationslaboratoire-appareils/lad-prestations-laboratoire-appareils-ec.htm (Consulté le 02/06/2019 à 14 :12).

http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_680242/fr/ald-n-10(Consulté le 12/04/2019 à 17 :34)

Les act : (acte1120, B120) : http://www.codage.ext.cnamts.fr/f_mediam/fo/nabm/DOC.pdf
(consulté le :15-06-2019 à 11 :12)

<http://lesitedemonprofdesvt.wifeo.com/3-docs-exos-log-piii-cii.php>

(Consulté le 18-07-2019)

Glossaire

Anisocytose : Inégalité anormale des diamètres des différentes hématies.

- **Anisopoikilocytose** : Variation de diamètre et de forme des hématies

- **Autosome** : Chromosome dont les informations génétiques n'interviennent pas dans la détermination du sexe.

- **Cellule cible** : Globule rouge dans lequel l'hémoglobine n'est pas répartie de façon homogène, mais forme des anneaux concentriques

- **Chromoprotéine** : Protéine associée à un groupement prosthétique coloré, souvent de type métallifère.

- **Cluster** : Ensemble de gènes appartenant à la même famille, groupés les uns derrière les autres au niveau d'une même région chromosomique et codant pour une protéine identique ou similaire

- **Corps de Heinz** : précipitation de Hb dénaturé

- **Corps de Jolly** : sont des restes de noyau qui, l'on retrouve chez les patients qui n'ont pas de rate

- **Crise vaso occlusive**: complication douloureuse causée par l'obstruction des capillaires par les cellules en " faucille" et survenue brutalement

- **Délétion** : Mutation génétique caractérisée par la perte d'un fragment d'ADN sur un chromosome.

- **Drépanocyte** : Hématie de forme allongée, classiquement en forme de faucille ou de croissant (hématie falciforme) érythrocytes (ovocyte, schizocyte....)

- **Hémolysat** : est l'ensemble des érythrocytes détruits dans le tube.

- **Hétérozygote** : composite Individu possédant deux allèles mutés au même locus.

- **Hétérozygote** :Se dit d'un individu dont les deux copies d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire) sont différentes.

- **Homozygote** : Individu possédant deux copies identiques d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire...

- **Hyperhémolyse** : c'est une augmentation de la destruction des érythrocytes avec une forte libération de l'hémoglobine dans le plasma

- **Hypochrome** : c'est la diminution du contenu en hémoglobine des érythrocytes.

- **L'érythropoïèse** : désigne l'ensemble des mécanismes assurant la production des globules rouges, à raison de 200 milliards par jour, à partir des Cellules Souches Hématopoïétiques

- **Microcytose** : Diminution de la taille des globules rouge

- **Mutation ponctuelle** : Mutation de structure portant sur une seule base (substitution d'une base par une autre). On distingue deux classes de mutations ponctuelles celles ne modifiant qu'un seul codon et celles qui modifient le cadre de lecture

- **Mutation** : Modification survenant dans la séquence de l'ADN d'une cellule et pouvant entraîner la disparition d'un caractère préexistant ou l'apparition d'un caractère nouveau.

- **Ontogénie** : Développement de l'individu, depuis l'oeuf fécondé jusqu'à l'état adulte.
- **Poikilocytose** : elle indique une variabilité de la forme des
- **Splénomégalie** : Augmentation du volume de la rate.
- **Substitution** : Mutation résultant du remplacement d'un (ou plusieurs) nucléotides par un autre (ou plusieurs autres) nucléotide comportant une base azotée différente.
- **Variant d'Hb** : Hémoglobine structurellement anormale/ pathologique .

Larousse

disponible sur : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais>.