

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**UNIVERSITE BLIDA 1**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**



**Mémoire de Fin d'Etudes**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biologie**

**Option : Génétique - Physiologie**

**Dont le thème :**

**Dépistage de la pathologie héréditaire de l'hémoglobine par électrophorèse à pH alcalin**

**Soutenue par : SELMI Asma**

**Devant les jurys composés :**

<b>MOHAMED SAID R</b>	<b>Maitre-assistant, A</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Président</b>
<b>BEN YAHYA</b>	<b>Maitre-assistant, A</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Examineur</b>
<b>ZATRA Y</b>	<b>Maitre-assistante, A</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>HERKAT S</b>	<b>Maitre-assistante, A</b>	<b>USDB 1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Dr HADDAD N</b>	<b>Maitre-assistante, A</b>	<b>CHU Hassiba ben bouali</b>	<b>Co-Promotrice</b>

**Année universitaire : 2013-2014**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## *Remerciements*

*Je remercie d'abord tout Puissant **ALLAH** Gloire à Toi de nous avoir assistés de la lumière, Au Prophète **MOUHAMAD** Que la bénédiction et la paix d'**ALLAH** soient sur toi. Nous te témoignons nos respects et notre gratitude.*

*Je remercie mes très chers parents qui m'ont accordés le courage, la volonté et le soutien pour bien réaliser ce travail.*

*Je remercie ma promotrice Mme **HERKAT. S** pour m'encadrer, aider, et de m'encourager.*

*Mes sincères remerciements à ma copromotrice Docteur **HADDAD. N** maitre assistante du CHU Ben bouali, laboratoire Mère / Enfants – Unité d'Hémobiologie pour l'encadrement, l'aide, l'encouragement et la sympathie qu'il m'a donné et Grâce à ses conseils j'ai pu terminer et compléter ma thèse, et pour m'avoir accueilli dans son équipe et m'avoir fait confiance à l'issue de mon master et m'avoir permis de réaliser ce travail.*

*J'exprime toute ma reconnaissance aux **membres des jurys** :*

*A notre maitre et président de jury : **Mr MOHAMED SAID. R** chef d'option  
Génétique-physiologie*

*C'est un grand honneur pour nous de vous avoir comme président de jury de ce travail. Nous avons été particulièrement impressionné par la sympathie avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail.*

*Veuillez accepter ici Monsieur l'expression de notre profonde gratitude.*

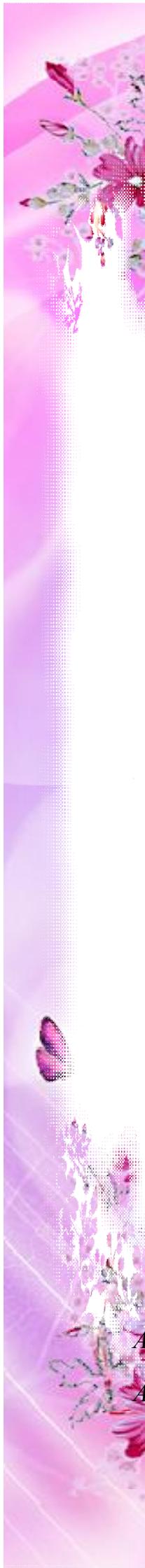
*Je remercie également mes examinateurs **Mr BEN YAHYA** et **Mme ZATRA.Y** pour avoir accepté d'évaluer le travail que j'ai effectué au cours de mon mémoire.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Docteur **BRADAY** professeur du laboratoire d'hématologie au CHU Fabor-Blida et Docteur **beneamane laila** médecin de psychiatrie d'hôpital Frans Fanon-Blida de m'orienter et aider pour la réalisation de ce travail*

*Je remercie également **Mr ELBACHIR** chef service de laboratoire d'Hémobiologie du CHU Ben bouali de m'avoir accepté au sein de laboratoire qu'elle dirige.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à l'équipe de département. Merci à tous pour votre gentillesse, votre disponibilité*





## *Dédicace*

### *Je dédie ce travail :*

#### *A mon père*

*Tu as consenti d'énormes sacrifices pour faire de tes descendants des  
Hommes et des Femme.*

*Tu nous as appris le sens de l'honneur, de la dignité, de la justice, de la  
discipline et le respect de soi.*

*Que notre Seigneur t'accorde une longue vie et une excellente santé.*

#### *A ma mère*

*Votre courage, votre sympathie, votre tendresse, et votre générosité sont  
quelques souvenirs que nous retenons de vous. Quand je vois une  
femme juste et bonne. Puisse Allah le Tout Puissant te donner longue vie et  
bonne santé.*

#### *A ma sœur et mes frères jumeaux*

*Vous avez été pour moi plus que des frères et sœur mais des Amis et des  
confidents.*

*A vous tous mes sentiments les plus sincères et fraternels*

*A **MAHFOUD**, vous êtes modeste et gentil. Le respect et le profond  
remerciement pour l'encouragement, Qu'Allah le tout puissant et  
miséricordieux t'accorde une bonne Santé.*

*A **mes grands-parents de Miliana et de Médea**, Merci pour vos prières.*

*Puisse Allah le Tout Puissant te donner longue vie et bonne santé.*

*A toute **ma famille**, Votre sympathie et votre solidarité ne m'ont pas fait défaut.*

*A toute **mes amis surtout : Abd errahim, Nora, Souhila, Siham, Chemseddine.***

## Résumé :

Affections héréditaires, les hémoglobinopathies sont les maladies monogéniques les plus répandues dans le monde. Elles regroupent l'ensemble des pathologies liées à une anomalie de l'hémoglobine. L'anomalie peut être quantitative : c'est le cas des thalassémies ou qualitative : représentée par la drépanocytose avec la présence d'une hémoglobine S. Mais il existe d'autres hémoglobines anormales comme l'Hémoglobine C, D ou encore E.

L'intérêt de l'étude de ces pathologies est le dépistage des porteurs et la prévention d'hémoglobinopathies.

Dans notre présente étude, nous avons effectué un diagnostic biologique des hémoglobinopathies dans une population de la région de Blida. L'étude a été réalisée sur 850 patients suspects d'hémoglobinopathies. Ces sujets ont bénéficié d'un examen hématologiques tels que l'hémogramme (numération des hématies, calculs des indices érythrocytaire, VGM et TCMH, mesure du taux de l'hémoglobine), un examen biochimique par électrophorèse à pH alcalin et un test de falciformation des hématies.

Les résultats obtenus ont révélé 327 cas d'hémoglobinopathies sur les 850 cas suspects.

Le syndrome  $\beta$  thalassémique est l'anomalie la plus fréquente dans notre population (161  $\beta$  thalassémique avec 97,51% de la forme hétérozygote et 2,49% de  $\beta$  thalassémie homozygote). Le syndrome drépanocytaire était présent chez 110 malades (74,54% hétérozygote et 25,46% homozygote). Les  $\alpha$  thalassémies ont occupé la troisième position dans notre série (26 cas) suivies des doubles hétérozygotes drépano-béta thalassémique (S/ $\beta$  thalassémie) rencontrés chez 16 patients. D'autres variantes d'hémoglobinopathies ont été retrouvées dans notre population ; il s'agissait de l'hémoglobinosose C et la drépano-hémoglobinosose C (S/C) avec respectivement 3,66% et 0,61%.

## Mots clés :

Hémoglobine, hémoglobinopathies, hémogramme, électrophorèse à pH alcalin, test de falciformation, syndromes  $\beta$ -thalassémiques, syndromes drépanocytaires,  $\alpha$  thalassémie.

**Abstract:**

Inherited disorders, hemoglobinopathies are the most common monogenic diseases worldwide. They include all the diseases related to abnormal hemoglobin. The anomaly can be quantitative: the case of thalassemia or qualitative: represented by the sickle-cell disease with the presence of hemoglobin S. But there are other anomalies as Hemoglobin C, D or E. The interest in the study of these diseases is carrier screening and prevention of hemoglobinopathies.

In our present study, we conducted a laboratory diagnosis of hemoglobinopathies in a population in the region of Blida. The study was performed on 850 patients suspected of hemoglobinopathies. These subjects underwent a hematological examination such as complete blood count (erythrocyte count, calculated from erythrocyte indices MCV and MCH, measuring the level of hemoglobin), biochemical examination by electrophoresis at alkaline pH and a sickling test RBCs.

The results obtained revealed 327 cases of hemoglobinopathies on 850 suspected cases. B thalassemia syndrome is the most common abnormality in our population (161  $\beta$  thalassemia with 97.51% of the heterozygous and 2.49% of  $\beta$  thalassemia homozygote). Sickle cell syndrome was present in 110 patients (74.54% heterozygous and 25.46% homozygote). The  $\alpha$  thalassemia occupied the third position in our series (26 cases), followed by double heterozygous sickle-beta thalassemia (S /  $\beta$  thalassemia) encountered in 16 patients. Other variants of hemoglobin disorders were found in our population; it was the hemoglobin C and sickle-hemoglobin C (S / C) with 3.66% and 0.61% respectively.

**Keywords:**

Hemoglobin, hemoglobinopathies, complete blood count, electrophoresis at alkaline pH, sickling test RBCs,  $\beta$ -thalassemia syndromes, sickle cell syndromes,  $\alpha$  thalassemia.

## الملخص:

من بين الاضطرابات الوراثية، امراض خضاب الدم هي الأمراض أحادية الجين الأكثر شيوعا في جميع أنحاء العالم. وهي تشمل جميع الأمراض المتعلقة بالهيموغلوبين الشاذ. الشذوذ يمكن أن يكون كمي: حالة الثلاسيميا أو نوعي: يمثله مرض SCD مع وجود الهيموغلوبين S. ولكن هناك انواع أخرى من هذا المرض مثل الهيموجلوبين C، D أو E.

ان الهدف من هذه الدراسة هو عرض كيفية تشخيص امراض خضاب الدم واثبات اهمية التشخيص المبكر للافراد الحاملين للمرض بالإضافة الى ابراز مختلف انواع امراض خضاب الدم المتواجدة على مستوى ولاية البليدة.

في الدراسة الحالية قمنا بإجراء التشخيص المخبري لمرض خضاب الدم لدى عدد من سكان منطقة البليدة. وقد أجريت الدراسة على 850 شخص. خضع هؤلاء الأشخاص لفحص الدم مثل تعداد الدم الكامل (عدد كرات الدم الحمراء، وتحسب من مؤشرات كرات الدم الحمراء و التأكد من نسبة الهيموجلوبين)، والفحص الكيميائي الحيوي من قبل الهجرة الكهربائية في درجة حموضة قليلة واختبار تمنجل من خلايا الدم الحمراء.

وكشفت النتائج التي حصل عليها 327 حالات امراض الدم من 850 حالة مشتبه بها.

متلازمة الثلاسيميا B هي شذوذ الأكثر شيوعا في عدد السكان لدينا (161  $\beta$  الثلاسيميا مع 97.51% من متخالف و 2.49% من  $\beta$  الثلاسيميا زيغوت متماثلة الألائل).

كانت متلازمة فقر الدم المنجلي موجودة في 110 مريضا (74.54% و 25.46% زيغوت متماثلة الألائل متخالف). احتل الثلاسيميا  $\alpha$  المركز الثالث في السلسلة لدينا (26 حالة)، تليها مزدوج الثلاسيميا متخالف المنجل بيتا ( $\beta$  / S الثلاسيميا) 16 مريضا. تم العثور على متغيرات أخرى من اضطرابات الهيموغلوبين في عدد السكان لدينا؛ كان الهيموغلوبين C والمنجل الهيموغلوبين C (S / C) مع 3.66% و 0.61% على التوالي.

## الكلمات المفتاحية:

الهيموغلوبين، امراض خضاب الدم، تعداد الدم الكامل، الاختبار الكهربائي في درجة حموضة قليلة،  $\beta$  الثلاسيميا، مرض فقر الدم المنجلي، الثلاسيميا  $\alpha$ .

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma de la molécule d'hémoglobine.....	24
<b>Figure 2</b> : Schéma de la globine $\beta$ .....	25
<b>Figure 3</b> : Structure des chaînes $\alpha$ et $\beta$ .....	25
<b>Figure 4</b> : Structure de l'hème.....	26
<b>Figure 5</b> : structure et organisation schématique des deux familles de gènes de globine.....	27
<b>Figure 6</b> : les gènes des globines $\alpha$ et $\beta$ .....	28
<b>Figure 7</b> : les tétramères d'hémoglobine au cours du développement embryonnaire, fœtale, et adulte.....	29
<b>Figure 8</b> : Synthèse des différentes hémoglobines au cours de la vie.....	29
<b>Figure 9</b> : Schéma physiopathologique des troubles observés au cours d'une b-thalassémie sévère.....	32
<b>Figure 10</b> : $\beta$ -thalassémies et de PHHF délétionnelles.....	33
<b>Figure 11</b> : Persistances héréditaires d'hémoglobine fœtale (PHHF) non délétionnelles.....	34
<b>Figure 12</b> : Classification des $\alpha$ -thalassémies.....	35
<b>Figure 13</b> : transmission de l'hémoglobine S.....	38
<b>Figure 14</b> : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose.....	39
<b>Figure 15</b> : Préparation de la plaque d'acétate.....	50
<b>Figure 16</b> : Préparation de l'hémolysât.....	51
<b>Figure 17</b> : Dépôt des hémolysât sur la plaque d'acétate de cellulose.....	52
<b>Figure 18</b> : Préparation de la chambre de migration.....	53
<b>Figure 19</b> : Migration des différentes fractions de l'Hb.....	53
<b>Figure 20</b> : Coloration de la plaque d'acétate de cellulose.....	54

<b>Figure 21</b> : Résultats après migration de l'hémoglobine sur acétate de cellulose à PH alcalin.....	55
<b>Figure 22</b> : Dosage des différentes fractions d'hémoglobine par le densitomètre.....	56
<b>Figure 23</b> : Aspect des GR drépanocytaires sur le frottis sanguin.....	57
<b>Figure 24</b> : Répartition des sujets étudiés.....	59
<b>Figure 25</b> : la répartition des différentes hémoglobinopathies.....	60
<b>Figure 26</b> : Répartition des patients d'hémoglobinopathie selon le sexe.....	61
<b>Figure 27</b> : Répartition des patients présentant une Béta thalassémie selon le génotype.....	62
<b>Figure 28</b> : le profil densitométrique de $\beta$ thalassémie hétérozygotes et son aspect sur la plaque d'acétate.....	64
<b>Figure 29</b> : le profil densitomètre de $\beta$ thalassémie homozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.....	65
<b>Figure 30</b> : Répartition des patients présentant une drépanocytose selon le génotype.....	66
<b>Figure 31</b> : le profil densitomètre de drépanocytose hétérozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.....	68
<b>Figure 32</b> : le profil densitomètre de drépanocytose homozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.....	70
<b>Figure 33</b> : le profil densitomètre de drépano- $\beta$ thalassémie (S/ $\beta$ thal) et son aspect sur la plaque d'acétate.....	71
<b>Figure 34</b> : le profil densitomètre de drépao-hémoglobinosé C (S/C) et son aspect sur la plaque d'acétate.....	72
<b>Figure 35</b> : Répartition des patients présentant une hémoglobinosé C selon le génotype.....	73
<b>Figure 36</b> : le profil densitomètre d'hémoglobinosé C hétérozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.....	75

<b>Figure 37</b> : le profil densitomètre d'hémoglobinoses C homozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.....	77
<b>Figure 38</b> : Répartition des différents patients présentant un alpha thalassémie.....	78
<b>Figure 39</b> : le profil densitométrique d'alpha thalassémie à un gène délété et son aspect sur la plaque d'acétate.....	79
<b>Figure 40</b> : le profil densitométrique d'alpha thalassémie à deux gènes délétés et son aspect sur la plaque d'acétate.....	81
<b>Figure 41</b> : le profil densitométrique d'hémoglobinoses H et son aspect sur la plaque d'acétate.....	82
<b>Figure 42</b> : Arbre généalogique d'une famille atteinte de $\beta$ thalassémie hétérozygote.....	83
<b>Figure 43</b> : Arbre généalogique d'une famille atteinte de drépanocytose.....	85

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : les valeurs normales de l'hémogramme.....	49
<b>Tableau II</b> : la répartition hémoglobiniques des individus analysés.....	60
<b>Tableau III</b> : répartition des sujets atteints de $\beta$ thalassémie hétérozygote selon la tranche d'âge.....	63
<b>Tableau IV</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme d'un sujet $\beta$ thalassémie hétérozygote.....	63
<b>Tableau V</b> : répartition des sujets atteints de $\beta$ thalassémie homozygote selon la tranche d'âge.....	65
<b>Tableau VI</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme d'un sujet $\beta$ thalassémie homozygote.....	65
<b>Tableau VII</b> : répartition des sujets atteints de drépanocytose hétérozygote selon la tranche d'âge.....	67
<b>Tableau VIII</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints de drépanocytose hétérozygote.....	68
<b>Tableau IX</b> : répartition des sujets atteints de drépanocytose homozygote selon la tranche d'âge.....	69
<b>Tableau X</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints de drépanocytose homozygote.....	69
<b>Tableau XI</b> : répartition des sujets atteints de syndrome thalasso-drépanocytaire (S/ $\beta$ thal) selon la tranche d'âge.....	70
<b>Tableau XII</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints du syndrome thalasso-drépanocytaire (S/ $\beta$ thal).....	71
<b>Tableau XIII</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints du syndrome hétérozygote composite (S/C).....	72
<b>Tableau XIV</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'hémoglobinoses C hétérozygotes.....	74

<b>Tableau XV</b> : répartition des sujets atteints de syndrome d'hémoglobino- se C homozygotes selon la tranche d'âge.....	76
<b>Tableau XVI</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'hémoglobino- se C homozygotes.....	76
<b>Tableau XVII</b> : répartition des sujets atteints de d'alpha thalassémie à un gène délété selon la tranche d'âge.....	78
<b>Tableau XVIII</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'alpha thalassémie à un gène délété.....	79
<b>Tableau XIX</b> : répartition des sujets atteints de d'alpha thalassémie à deux gènes délété selon la tranche d'âge.....	80
<b>Tableau XX</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'alpha thalassémie à deux gènes délétés.....	80
<b>Tableau XXI</b> : les valeurs moyennes de l'hémogramme d'un sujet atteint d'hémoglobino- se H.....	82

## Liste des abréviations :

**ADN** : Acide-Désoxyribo-Nucléique.

**ARNm** : Acide-Ribo-Nucléique messenger.

**B thal** :  $\beta$  thalassémie.

**CCMH** : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

**CG** : Culot Globulaire.

**EBT** : Tris acide Borique EDTA.

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra Acétique.

**GR** : Globule Rouge.

**HLA** : Antigènes des Leucocytes Humains.

**Hb A** : Hémoglobine Adulte.

**Hb F** : Hémoglobine Fœtale.

**Hb S** : Hémoglobine drépanocytaire.

**Hb** : Hémoglobine.

**HT** : Hématocrite.

**LCR** : *Région* de Contrôle du *Locus*.

**N** : Nombre.

**PHHF** : Persistance Hériditaire d'Hémoglobine Fœtale.

**TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

**VGM** : Volume Globulaire Moyen.

## **Glossaire :**

**Anémie :** Diminution du taux d'hémoglobine sanguin (< 13 g/dl chez l'homme, < 12 g/dl chez la femme). Elle peut ou non s'accompagner d'une diminution du nombre des globules rouges.

**Anémie hémolytique :** Anémie due à une destruction excessive des globules rouges.

**Anisocytose :** Hétérogénéité dans la taille des hématies.

**Autosomique récessive :** Décrit un caractère ou d'un trouble qui requiert la présence de deux copies d'un gène de mutation en un site particulier dans le but d'exprimer le phénotype observable ; se réfère spécifiquement à des gènes sur l'une des 22 paires d'autosomes (chromosomes non sexuels).

**Chélateur :** Substance qui se lie à une autre substance présente dans une solution, et qui la rend insoluble.

**Corps de Heinz :** Précipité d'hémoglobine visible soit à l'état frais, soit après coloration dite vitale. Ils ont observés lors des hémolyses congénitales, notamment dans les enzymopathies.

**Crossing Over :** Répartition nouvelle du matériel génétique d'un individu survenant spontanément après un échange de gènes entre différents éléments d'une même molécule d'ADN, ou entre deux molécules d'ADN.

**Dépistage néonatal :** Dépistage effectué en période néonatale visant à identifier les nouveau-nés à risque de développer une maladie pour laquelle une prévention ou un traitement précoce peuvent être instaurés afin de changer le cours de la maladie.

**Globules rouges ou érythrocytes :** permettent le transport de l'oxygène dans les capillaires sanguins. Il y en a 4 à 5 millions par millimètre cube de sang, soit 25 milliards dans un organisme normal. Les érythrocytes contiennent un pigment : l'hémoglobine.

**Falciformation :** Déformation transitoire ou permanente des globules rouges en forme de faucille.

**La ferritinémie :** Taux sanguin de ferritine (protéine assurant le stockage du fer dans le foie, la rate et la moelle osseuse).

**Gène :** Unité physique et fonctionnelle de l'hérédité constituée d'une séquence de nucléotides située à un locus spécifique sur un chromosome donné et codant généralement pour une protéine ayant une fonction spécifique.

**Génotype :** Constitution génétique d'un individu, par opposition au phénotype. Par extension, constitution génétique au niveau de un ou plusieurs locus spécifiques.

**Hémichrome :** Les protéines qui contiennent un fer-porphyrine ou l'hème, groupement prosthétique qui ressemble à celle de l'hémoglobine.

**Hématocrite :** Volume relatif des globules rouges dans un volume donné de sang.

**Hématopoïèse :** est une différenciation des cellules sanguines à partir de cellules souches multipotentes ou hémocytoblastes.

**L'hémoglobine Barts :** Se compose de quatre chaînes gamma. Il est modérément insoluble. Il a une très forte affinité pour l'oxygène, Dans cette situation, un fœtus se développera anasarque et normalement mourir avant ou peu après la naissance, sauf intra-utérine transfusion de sang est effectuée.

**Hétérozygote :** Génotype ou, par extension, individu ayant deux allèles différents au même locus, soit deux allèles mutés dans le cas d'hétérozygotes composites, soit un allèle muté et un allèle non muté.

**Hétérozygote composite :** Génotype ou, par extension, individu ayant deux allèles mutés différents au même locus.

**Homozygote :** Génotype ou, par extension, individu ayant deux allèles mutés identiques au même locus.

**Hybride :** C'est un être vivant provenant du croisement entre individus génétiquement différents. Ce mot est employé pour désigner un croisement entre espèces, les descendants sont stériles dans les conditions naturelles.

**Hypersplénisme :** Un syndrome qui est caractérisé par une nette diminution, dans le sang circulant, du nombre : des globules rouges (anémie), des globules blancs (granulopénie) avec son risque infectieux, des plaquettes (thrombopénie) avec son risque hémorragique.

**Hypochromie** : Hématies peu colorées. L'hypochromie est caractérisé par une diminution de la TGM ( $< 28 \mu\mu\text{g}$  chez l'homme,  $< 27 \mu\mu\text{g}$  chez la femme). Elle s'accompagne habituellement d'une microcytose.

**Ischémie** : Diminution ou arrêt de l'apport sanguin artériel dans un tissu ou un organe.

**Macrocytose** : Augmentation du VGM ( $>104 \mu\text{3}$  chez l'homme,  $>103 \mu\text{3}$  chez la femme).

**Microcytose** : Diminution du VGM ( $<86\%$  chez l'homme,  $<84\%$  chez la femme).

**Mutation faux-sens** : Mutation qui remplace un codon spécifiant un acide aminé par un codon qui en spécifie un autre.

**Mutation ponctuelle** : Mutation portant sur une seule base : substitution, addition ou délétion.

**Poikilocytose** : Inégalité de formes des hématies sur un même frottis.

**Polychromasie** : Coloration plus ou moins gris bleutée de certaines hématies.

**Polyglobulies** : Augmentation du nombre de globules rouges sanguins, au-dessus de  $5.300.000/\mu\text{l}$  chez la femme, de  $5.700.000/\mu\text{l}$  chez l'homme. Les polyglobulies peuvent être primitives (maladie de Vaquez) ou secondaires à différents états pathologiques.

**Porphyrine** : Désigne un pigment de couleur intense, associé à la couleur rouge, est un constituant basique de l'hémoglobine (avec les globules rouges) et des myoglobines pour les cellules musculaires.

**Prévalence** : Mesure du nombre de personnes affectées par une maladie ou un problème de santé à un moment donné dans une population donnée.

**Priapisme** : Syndrome caractérisé par une érection prolongée et douloureuse.

**Réticulocyte** : Hématie jeune, venant de sortir de la moelle osseuse et gardant pendant 24 à 48 heures des restes d'ADN nucléaire repérables par coloration vitale au bleu de crésyl brillant.

## **SOMMAIRE**

**Résumé**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Glossaire**

**Introduction.....22**

**Partie théorique**

**Chapitre I : Rappel bibliographique.....24**

**I. Généralité sur l'hémoglobine .....24**

**I.1. Définition de l'hémoglobine.....24**

**I.2. Structure de l'hémoglobine.....24**

**I.2.1. La globine.....25**

**I.2.2. L'hème.....26**

**I.3. Fonction.....26**

**I.4. Génétique des hémoglobines.....26**

**I.5. Ontogenèse.....28**

**II. Les hémoglobinopathies.....30**

**II.1. Les thalassémies.....30**

**II.1.1. Les  $\beta$ -thalassémies.....31**

**II.1.1.1. La  $\beta$ -thalassémie majeure.....31**

**II.1.1.2. La  $\beta$ -thalassémie intermédiaire.....31**

**II.1.1.3. La  $\beta$ -thalassémie mineure.....31**

II.1.1.4. Physiopathologie.....	32
II.1.1.5. Les apparentés aux $\beta$ thalassémie.....	32
II.1.1.5.1. Hémoglobine Lepore.....	32
II.1.1.5.2. $\delta\beta$ -thalassémies et persistance héréditaires d'hémoglobine fœtale.....	33
II.1.1.6. Les Traitements de la Bêta-Thalassémie.....	34
II.1.2. $\alpha$ -thalassémies.....	35
II.1.2.1. Physiologie des principaux signes hématologiques.....	36
II.1.2.2. Prise en charge thérapeutique et suivi d'alpha thalassémie.....	37
II.2. La drépanocytose.....	38
II .2.1. Physiopathologie de drépanocytose.....	39
II.2.2. Autres troubles drépanocytaires.....	40
II.2.3. Les Traitements de la drépanocytose.....	40
II.3. Autre hémoglobinopathies.....	41
II.3.1. Hémoglobinoïse C.....	41
II.3.2. Hémoglobinoïse D .....	41
II.3.3. Hémoglobinoïse E.....	41
II.3.4. Hémoglobinoïse O Arab.....	42
II.3.5. Hémoglobinoïse M .....	42
II.4. Diagnostic des hémoglobinopathies .....	42
II.5. Diagnostic prénatal des hémoglobinopathies.....	42
II.6. Techniques électrophorétiques d'étude de l'hémoglobine.....	43
<b>Partie pratique</b>	
Chapitre II : Matériel et Méthodes.....	48

<b>II.1. Matériel .....</b>	<b>48</b>
<b>II.2. Méthodes.....</b>	<b>49</b>
<b>II.2.1. Hémogramme.....</b>	<b>49</b>
<b>II.2.2. Electrophorèse de l'Hb à pH alcalin sur acétate de cellulose.....</b>	<b>50</b>
<b>II.2.2.1. Principe.....</b>	<b>50</b>
<b>II.2.2.2. Mode opératoire.....</b>	<b>50</b>
<b>II.2.2.3. Interprétation des résultats.....</b>	<b>55</b>
<b>Chapitre III : Résultats et discussions.....</b>	<b>59</b>
<b>III.1. Répartition des sujets étudiés.....</b>	<b>59</b>
<b>III.2. La répartition hémoglobinopathiques des individus analysés.....</b>	<b>60</b>
<b>III.3. Répartition des patients hémoglobinopathiques selon le sexe.....</b>	<b>61</b>
<b>III.4. Les patients présentant une Béta thalassémie.....</b>	<b>62</b>
<b>III.5. Les patients présentant une drépanocytose.....</b>	<b>66</b>
<b>III.6. Les patients présentant une hémoglobinoase C.....</b>	<b>73</b>
<b>III.7. Les patients atteints d'alpha thalassémie.....</b>	<b>78</b>
<b>III.8. Exemples d'arbres généalogiques de deux familles atteintes d'hémoglobinopathie .....</b>	<b>83</b>
<b>III.9. Conseils génétiques.....</b>	<b>86</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>88</b>

# Partie théorique

## **Introduction :**

Les hémoglobinopathies représentent la catégorie la plus fréquente des troubles héréditaires cliniquement significatives, provoquant un énorme fardeau sur la santé publique. Leur transmission se fait selon le mode autosomique récessif, mais elles représentent une variation significative de la sévérité clinique. (Djamaa, 2012)

Parmi les hémoglobinopathies, deux types de pathologie sont à distinguer : Les anomalies de structure de l'Hb, une hémoglobine anormale est présente, entraînant ou non des signes fonctionnels, l'Hb S responsable de la drépanocytose, y a une place prépondérante, et les anomalies de synthèse de l'Hb s'exprimant par le groupe très hétérogène des thalassémies. (Djamaa, 2012)

A l'heure actuelle, près de 5 % de la population mondiale sont porteurs d'un gène de l'hémoglobine potentiellement pathologique (il s'agit de gens en bonne santé qui n'ont hérité que d'un seul gène mutant de l'un de leurs parents). (OMS, 2006)

Chaque année, près de 300 000 nourrissons naissent dans le monde avec des syndromes thalassémiques (30 %) ou une anémie drépanocytaire (70 %). A l'échelle mondiale, le pourcentage de porteurs des gènes de la thalassémie est plus important que celui des porteurs des gènes de la drépanocytose, mais, du fait de la fréquence plus élevée de ce dernier gène dans certaines régions, le nombre de naissances d'enfants atteints est plus important que pour la thalassémie. (OMS, 2006)

La technique d'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin sur acétate de cellulose permet de détecter les différentes fractions des hémoglobines anormales.

Les objectifs de notre travail consistent à :

- 1-Dépister des différentes hémoglobinopathies dans la population de la région de Blida.
- 2-Estimer la fréquence de chaque hémoglobinopathie dans cette population.
- 3-Etablir des conseils génétiques pour les formes hétérozygotes, et traitements pour les formes homozygotes.

# **Chapitre I : rappel bibliographique**

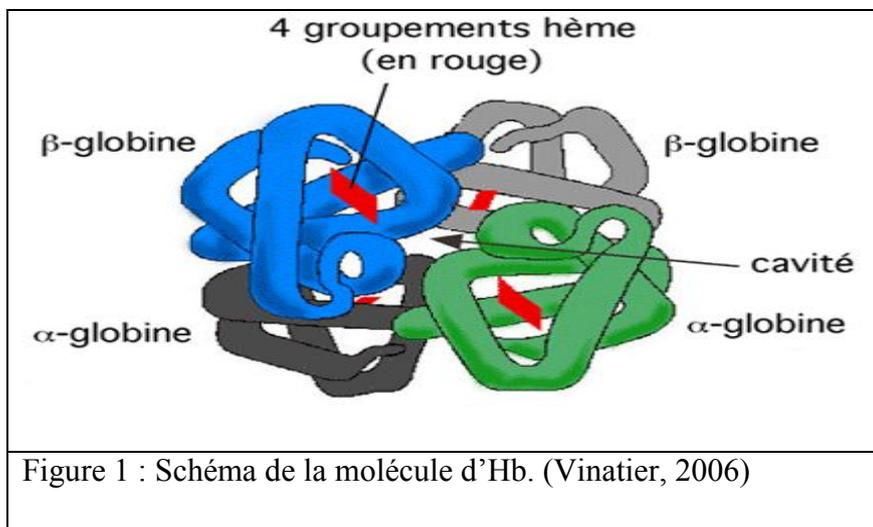
## I. Généralité sur l'hémoglobine :

### I.1. Définition de l'hémoglobine :

L'hémoglobine (Hb) est une molécule abondante dans l'organisme humain ; il y a 14 g/dl de sang, soit 735 g au total chez un adulte de 70 Kg. Les valeurs normales du taux d'hémoglobine dépendent du sexe et de l'âge du sujet. Un taux d'hémoglobine inférieur à la norme définit une anémie (Bernard *et al.*, 1998).

### I.2. Structure de l'hémoglobine :

L'hémoglobine est le constituant majeur du globule rouge. Chez l'homme au cours de la vie, plusieurs hémoglobines se succèdent et à tout moment il en existe plusieurs simultanément (Weatherall *et al.*, 1995). Les hémoglobines sont des tétramères de poids moléculaire environ 65,000 daltons constitués de deux chaînes polypeptidiques de type  $\alpha$  de 141 acides aminés et deux chaînes non  $\alpha$  de 146 acides aminés (voir figure 3), chaque chaîne globine associant avec une molécule d'hème. (Voir figure 1). (Hussein, 1997)

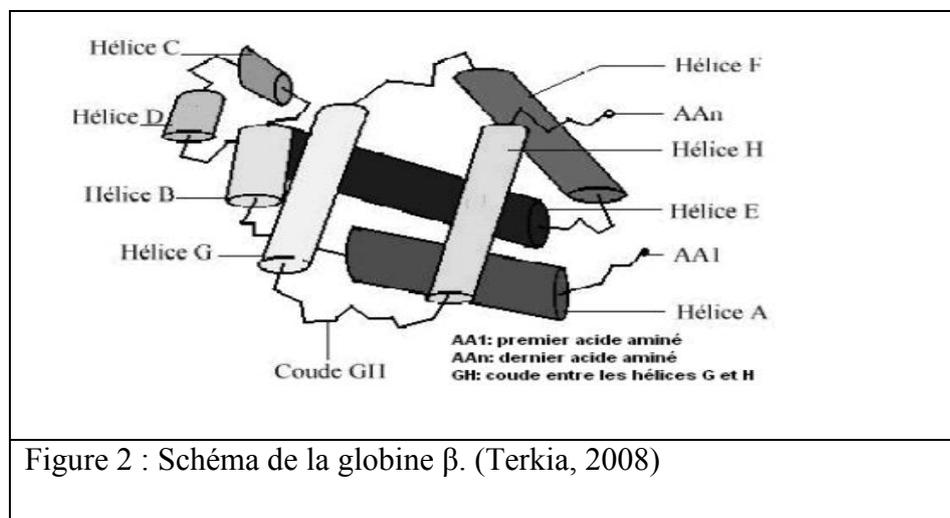


### I.2.1. La globine :

C'est un polypeptide formé de 18 acides aminés différents ; elle peut présenter des variations héréditaires qui sont à l'origine des types d'hémoglobinoses révélées chez l'homme (Bernard et Ruffie, 1996).

Une chaîne polypeptidique  $\alpha$  ou  $\beta$  présente sept ou huit segment en forme d'hélice droite reliés par des segments comportant parfois des coudes (Voir figure 2).

Bien que les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  aient des séquences différentes, elles présentent des structures tertiaires très similaires. (Terkia, 2008)

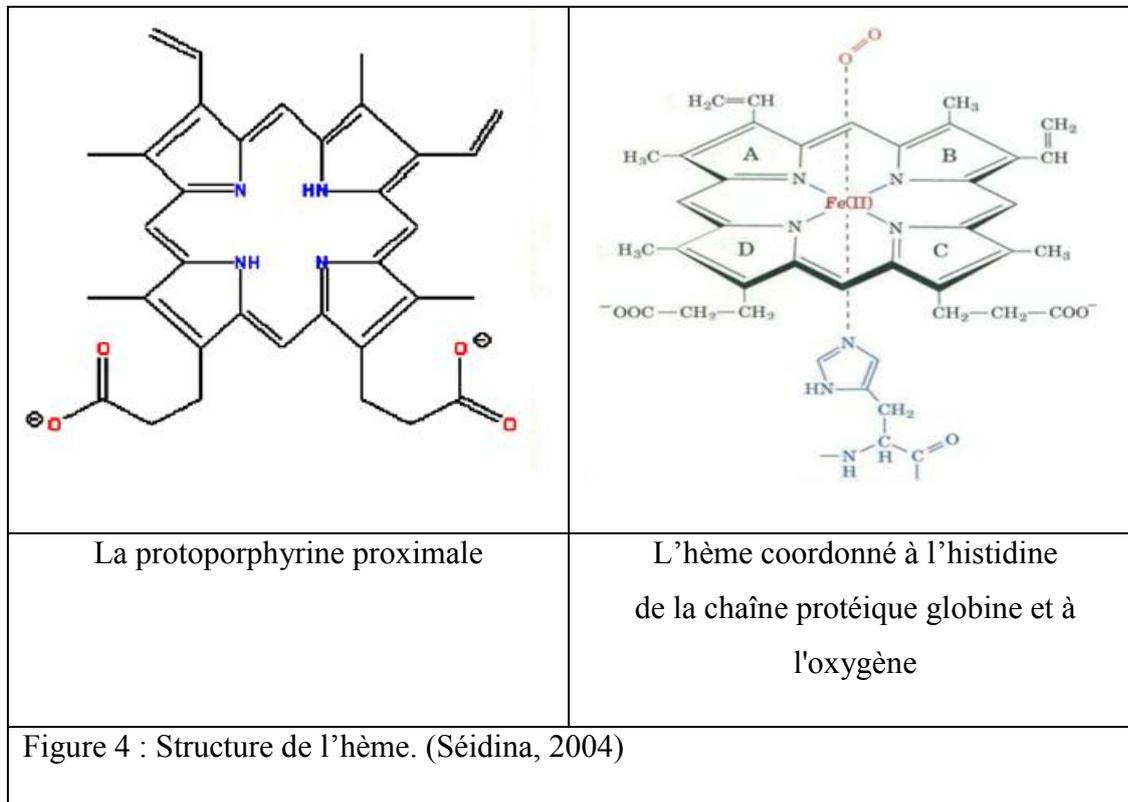


Chaîne alpha : 141 acides aminés								
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>	
1	3/18	20/35	36/42	52/71	80/88	94/112	118/138	141
Chaîne bêta : 146 acides aminés								
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
1	4/18	19/34	35/41	50/56	57/76	85/93	99/117	123/143
	<b>Hélice</b>							
	4	18	numéros d'ordre des acides aminés					

Figure 3 : Structure des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$ . (Terkia, 2008)

### I.2.2. L'hème :

L'ensemble "fer incorporé à une porphyrine" constitue un hème. Dans le cas de l'hémoglobine, la porphyrine abritant l'atome de fer est la protoporphyrine IX, molécule hautement conjuguée, plane et donneuse d'électrons. (Voir figure 4). (Séidina, 2004)



### I.3. Fonction :

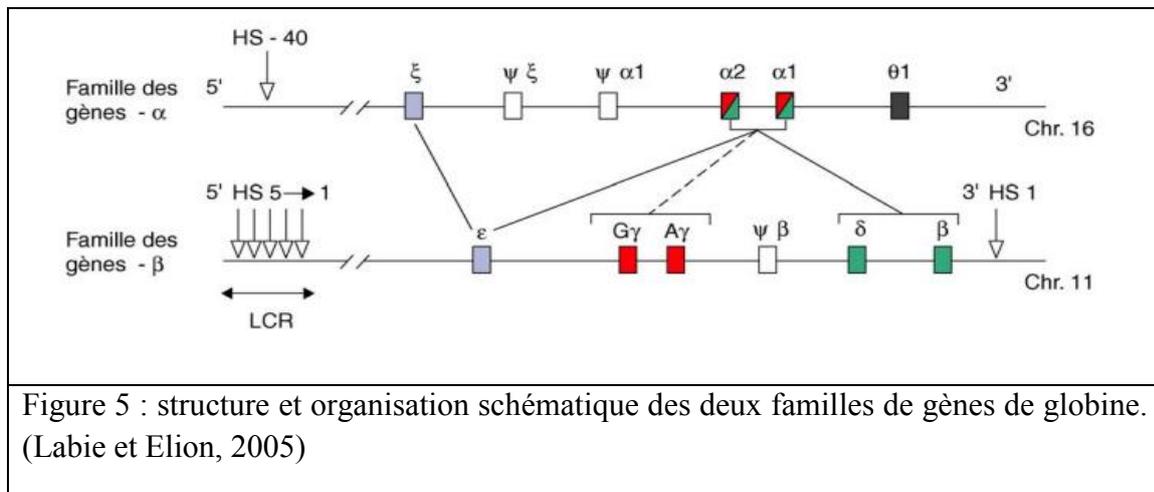
Les hémoglobines, pigments respiratoires présents dans les hématies, ont pour rôle principal le transport de l'oxygène ( $O_2$ ) des poumons vers les tissus, ainsi que l'élimination du dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) des tissus vers les poumons. Elles participent ainsi au maintien du pH intraérythrocytaire. (Marie, 2012)

### I.4. Génétique des hémoglobines

Les chaînes de type  $\alpha$  correspondent à des chaînes polypeptidiques de 141 résidus dont la synthèse est sous le contrôle de gènes situés sur le chromosome 16.

Les chaînes de type  $\beta$  (auxquelles se rattachent les chaînes  $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\epsilon$ ) comportent 146 résidus et dépendent de gènes situés sur le chromosome 11. (Vinatier, 2006)

La famille  $\alpha$  comporte trois gènes fonctionnels ( $\zeta$ ,  $\alpha 2$  et  $\alpha 1$ ) et la famille  $\beta$  ( $\epsilon$ ,  $G\gamma$ ,  $A\gamma$ ,  $\beta$  et  $\delta$ ). (Voir figure 5). (Terkia, 2008)



Les gènes sont organisés de 5' en 3' selon leur ordre d'expression au cours du développement.

Les gènes de globine comportent trois zones codantes (ou exon) séparés par deux zones non codantes (introns), ces introns débutent classiquement par une séquence GT et se terminent par une séquence AG (loi de Chambon).

Les gènes  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\zeta$  diffèrent considérablement par la taille des introns. Un promoteur est situé en 5' de la région transcrite du gène, cette zone impliquée dans la fixation de l'ARN polymérase comporte la séquence ATA qui se situe à une trentaine de nucléotides du site codant pour la coiffe, la séquence "CCAAT...", localisée entre les nucléotides -70 à -80, et une séquence plus variable "CACC...", située entre les nucléotides -80 et -100. Le gène  $\gamma$  possède entre les séquences -170 et -190 une région de séquence GATA fixant des facteurs de régulation érythroïde spécifique. (Voir figure 6). (Terkia, 2008)

Il existe également des séquences activatrices (enhancers) et inhibitrices (silencers) régulant le niveau d'expression des gènes au cours de l'évolution. La séquence AATAA, en 3' serait le signal de terminaison pour la polymérase ou un site de reconnaissance pour la polyadénylation. Des séquences de spécificité tissulaire, appelées LCR, sont situées en 5' à distance du complexe  $\alpha$  et  $\beta$ . Elles permettent une expression efficace et coordonnée des gènes qu'elles contrôlent. (Frenette et atweh, 2007).

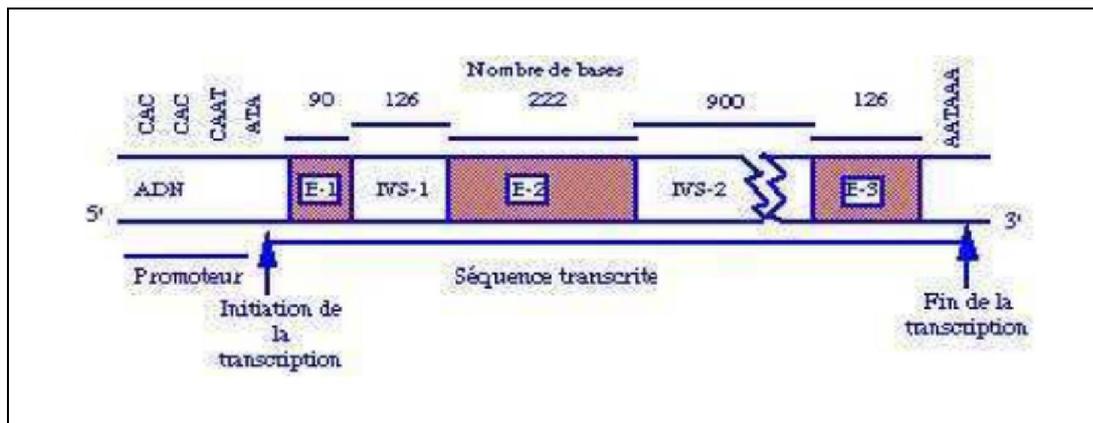


Figure 6 : les gènes des globines  $\alpha$  et  $\beta$ . (Terkia, 2008)

### I.5. Ontogenèse :

Au cours du développement ontogénique, les hémoglobines synthétisées et leur lieu d'expression varient, la structure de la protéine restant cependant toujours du même type : deux chaînes de type  $\alpha$  associées à deux chaînes de type  $\beta$ .

Trois grandes étapes peuvent être distinguées. (Voir figure 7, 8). (Weatherall et *al.*, 1995).

- Durant la période embryonnaire, trois types d'hémoglobine se succèdent : l'hémoglobine Gower 1 ( $\zeta 2\varepsilon 2$ ), la plus précoce, puis les hémoglobines Gower 2 ( $\alpha 2\varepsilon 2$ ) et Portland ( $\zeta 2\gamma 2$ ).
- A ces formes transitoires succèdent l'hémoglobine fœtale (HbF) ( $\alpha 2\gamma 2$ ). La chaîne  $\gamma$  représente alors 90% des chaînes non  $\alpha$ . Ce taux va ensuite décroître lentement et peu avant la naissance, les chaînes  $\delta$  et  $\beta$  remplacent progressivement les chaînes  $\gamma$ .
- A la naissance, le rapport  $\beta/\gamma$  est généralement proche de 1. A l'âge d'un an environ, la composition définitive en hémoglobine est atteinte. L'hémoglobine adulte (HbA) ( $\alpha 2\beta 2$ ) représente alors 97% du total, l'hémoglobine (HbA2) ( $\alpha 2\delta 2$ ) environ 2 à 3% alors que l'hémoglobine (HbF) ne persiste qu'à l'état de trace (<0,6%).

Parallèlement à l'expression séquentielle des différentes hémoglobines, le lieu de l'érythropoïèse change : elle a lieu d'abord dans le sac vitellin puis dans le foie et la rate (vie fœtale) puis, au stade adulte, dans la moelle osseuse. (Hussein, 1997)

Au cours du développement, on observe donc deux transitions :

- ❖ la première commutation se situe lors du passage de la vie embryonnaire à la vie fœtale et concerne les deux familles de chaînes  $\alpha$  et  $\beta$ .
- ❖ la seconde survient lors du passage de la vie fœtal à la vie adulte et ne concerne que les chaînes de la famille  $\beta$ .

Si les commutations précoces ont été peu étudiées, la commutation «Hb fœtale vers Hb adulte» a fait l'objet de nombreux travaux, en raison de ses implications thérapeutiques. Obtenir un taux élevé d'hémoglobine fœtale par l'activation des gènes  $\gamma$  ou le blocage du passage  $\gamma$  vers  $\beta$  serait une avancée majeure dans l'établissement d'une thérapeutique pour le traitement des hémoglobinopathies telles que les thalassémies ou la drépanocytose. (Hussein, 1997)

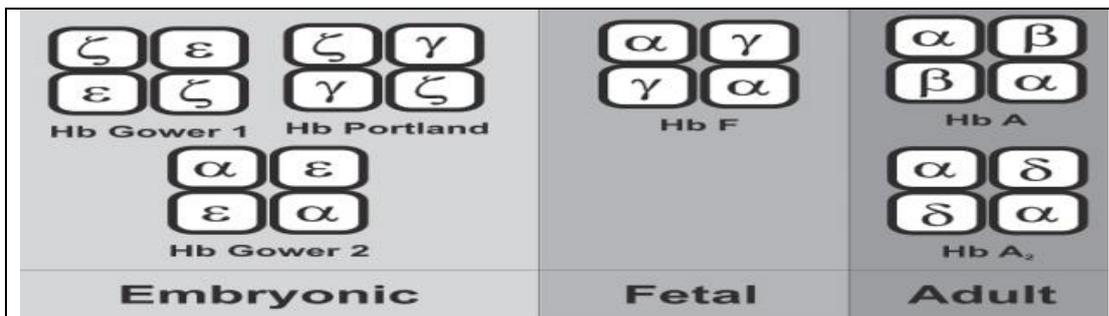


Figure 7 : les tétramères d'hémoglobine au cours du développement embryonnaire, fœtale, et adulte. (Djamaa, 2012)

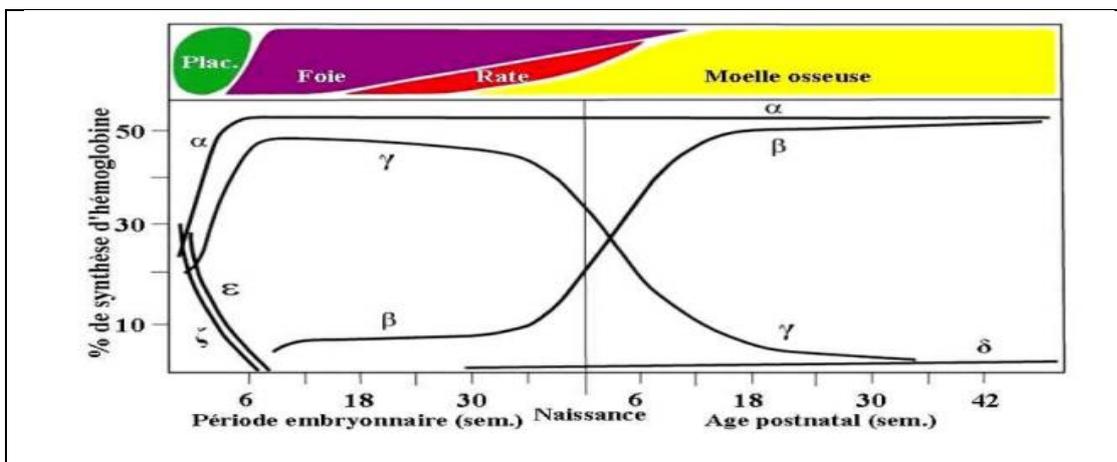


Figure 8 : Synthèse des différentes hémoglobines au cours de la vie. (Khadijetou, 2013)

## II. Les hémoglobinopathies :

Les hémoglobinopathies correspondent aux anomalies génétiques qui touchent la partie protéique de l'Hb. Ce sont les affections héréditaires les plus répandues dans le monde. (Vinatier, 2006)

Les hémoglobinopathies se subdivisent en deux grands groupes :

- ❖ Les anomalies de structure sont la conséquence d'une modification de la séquence des acides aminés de la globine. Elles conduisent à une hémoglobine anormale appelée variant. Les anomalies les plus fréquentes affectent les chaînes  $\beta$ , plus rarement les chaînes  $\alpha$ , exceptionnellement les chaînes gamma ou delta. (Georges, 1996)
- ❖ Les anomalies de synthèse ou thalassémies correspondent à une diminution ou absence de production des chaînes de globine ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  et  $\zeta$ ). (Georges, 1996)

Ces pathologies sont surtout répandues dans les régions tropicales ; elles se sont toutefois étendues à la majorité des pays du fait des migrations de population.

C'est en Asie, dans le bassin méditerranéen et au Moyen-Orient que les thalassémies sont les plus fréquentes. La drépanocytose touche principalement l'Afrique. (OMS, 2011)

### II.1. Les thalassémies :

Les thalassémies sont un groupe hétérogène d'affections génétiques touchant la synthèse de l'hémoglobine et provoquant une diminution de la production de l'une ou plusieurs chaînes de globines, elles se distinguent en thalassémie  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta\beta$  ou  $\gamma\delta\beta$ , selon le type de chaînes produites en quantité insuffisante.

Lorsque la synthèse des chaînes de globines est nulle, les thalassémies seront appelées  $\alpha^0$  ou  $\beta^0$  tandis que celle où persiste un certain degré de synthèse de globine sont appelées  $\alpha^+$ ,  $\beta^+$ , les thalassémies  $\delta\beta$ , ou  $\gamma\delta\beta$  sont ainsi codées en fonction de l'absence caractéristique de synthèse des chaînes de ces types. (Georges, 1996)

### **II.1.1. Les $\beta$ -thalassémies :**

Fréquentes dans le bassin méditerranéen, rencontrées aussi en Asie ; et se caractérisent par un certain nombre d'anémies héréditaires chroniques très sévères chez l'enfant (Whipple et Bradford, 1933).

Les bêta- thalassémies sont héritées selon un mode autosomique récessif. Les parents d'un enfant atteint sont obligatoirement hétérozygotes et porteurs d'une seule copie d'une mutation bêta -globine. (Djamaa, 2012)

#### **II.1.1.1. La $\beta$ -thalassémie majeure :**

Elle est la forme habituelle à l'état homozygote, il existe une suppression totale (forme  $\beta^0$ ) ou une diminution considérable (forme  $\beta^+$ ) de la synthèse des chaînes  $\beta$  de l'hémoglobine.

L'organisme réagit en augmentant la synthèse des chaînes  $\gamma$ , ce qui aboutit à un très fort pourcentage d'hémoglobine fœtale. Ce mécanisme compensateur est très imparfait et la quantité d'hémoglobine ainsi produite reste insuffisante. (Djamaa, 2012)

Dans la forme  $\beta^0$ , la quasi-totalité de l'hémoglobine du sang est de type fœtal, et le reste étant constitué par l'hémoglobine A2. Dans la forme  $\beta^+$ , il persiste une synthèse  $\beta$  résiduelle rendant compte de la présence d'un pourcentage variable d'hémoglobine A. (Djamaa, 2012)

#### **II.1.1.2. La $\beta$ -thalassémie intermédiaire :**

La  $\beta$ -thalassémie intermédiaire s'applique généralement à certaines formes homozygotes atténuées de l'anémie Cooley. Elle représente 5 à 10% de l'ensemble des  $\beta$ -thalassémie homozygotes. Sur le plan génotypique, la  $\beta$ -thalassémie intermédiaire est habituellement  $\beta^+/\beta^+$  ou peut être  $\beta^+/\beta^0$ . (Djamaa, 2012)

#### **II.1.1.3. La $\beta$ -thalassémie mineure :**

La  $\beta$ -thalassémie mineure appelée aussi le trait  $\beta$ -thalassémique est due à la mutation d'un seul des deux gènes de la bêta globine et l'autre gène est capable de compenser l'anomalie et produire un taux d'hémoglobine normale ou proche de la normale. Les sujets porteurs d'une  $\beta$ -thalassémie hétérozygotes sont exceptionnellement anémiques, une splénomégalie de petite taille peut être palpée. (Djamaa, 2012)

#### II.1.1.4. Physiopathologie :

Les chaînes  $\alpha$ -globine en excès, non associées en tétramères, précipitent dès le stade des précurseurs érythropoïétiques, entraînant la destruction intramédullaire des cellules et une érythropoïèse inefficace. (Labie et Elion, 2005)

Les lésions cellulaires se présentent comme une conséquence directe de cet excès de chaînes  $\alpha$  qui coprécipitent sur la membrane avec les protéines du squelette, formant des hémichromes et libérant des espèces réactives de l'oxygène. (Voir figure 9). (Labie et Elion, 2005)

L'anémie a donc plusieurs composantes : une destruction intramédullaire précoce, l'hémolyse intravasculaire des globules rouges (GR) qui sont parvenus à maturité, enfin le pouvoir oxyphorique réduit de GR hypochromes et microcytaires. (Labie et Elion, 2005)

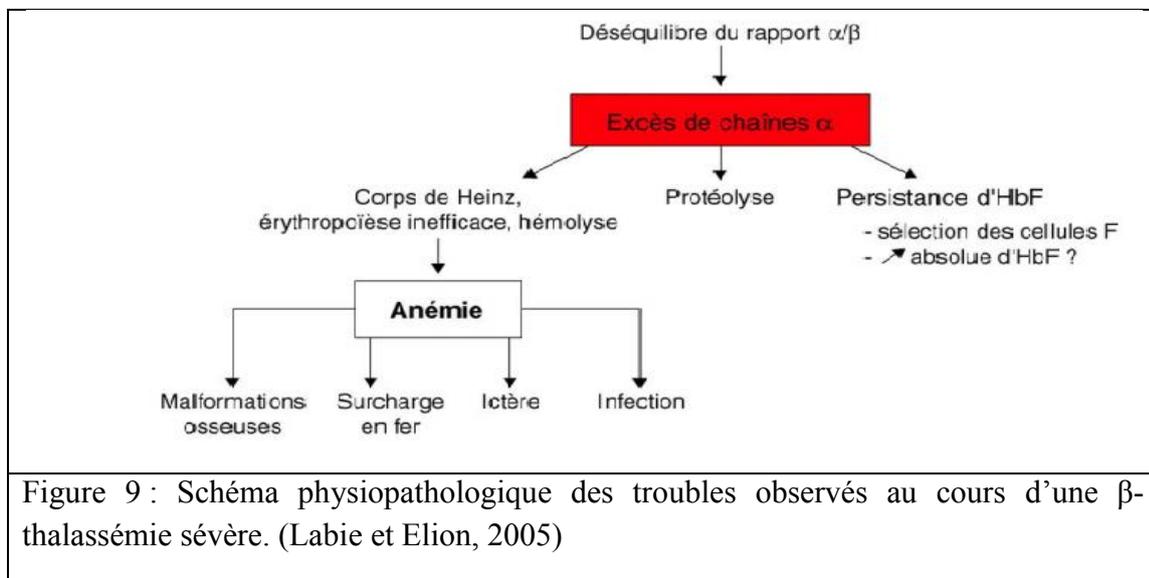


Figure 9 : Schéma physiopathologique des troubles observés au cours d'une  $\beta$ -thalassémie sévère. (Labie et Elion, 2005)

#### II.1.1.5. Les apparentés aux $\beta$ thalassémie :

##### II.1.1.5.1. Hémoglobine Lepore :

L'Hb lepre est une classe d'hémoglobines anormales, ce dernier étant protéines hybrides contenant la séquence N-terminale d'une chaîne  $\delta$  et la séquence C-terminal d'une chaîne  $\beta$ .

Ce gène de fusion  $\beta\delta$  est issu d'un crossing-over non homologue entre les loci  $\delta$  et  $\beta$ .

L'Hb Lepore a environ la même mobilité que Hb S, il est dans certains cas associé à  $\beta$  thalassémie, ou avec d'autres variants d'hémoglobine tels que l'Hb S et l'Hb E. (Maurizio et al., 1992)

### II.1.1.5.2. $\delta\beta$ -thalassémies et persistance héréditaire d'hémoglobine fœtale (PHHF) :

Caractérisées par un défaut d'expression touchant simultanément l'HbA et l'HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) associé à une expression accrue de l'HbF.

La classification initiale se base sur la sévérité clinique et hématologique, faisant parler de thalassémie ou de PHHF selon que l'expression de l'HbF est ou non suffisante pour compenser le défaut de production d'HbA. (Labie et Elion, 2005)

#### ❖ PHHF délétionnelles :

Deux hypothèses ont été formulées qui expliqueraient la différence de sévérité de l'expression clinique entre  $\delta\beta$ -thalassémies et de PHHF délétionnelles (Voir figure 10) :

1) la délétion peut, ou non, englober une zone régulatrice située entre les gènes  $\gamma$  et  $\delta$  et impliquée dans la commutation fœtale→adulte,

2) la délétion rapproche des gènes  $\gamma$  un enhancer situé en 3'. Elles peuvent être valables dans certains cas, pas dans d'autres. Quelques formes exceptionnelles correspondent à des délétions du LCR, alors que tous les gènes de structure sont épargnés. (Labie et Elion, 2005)

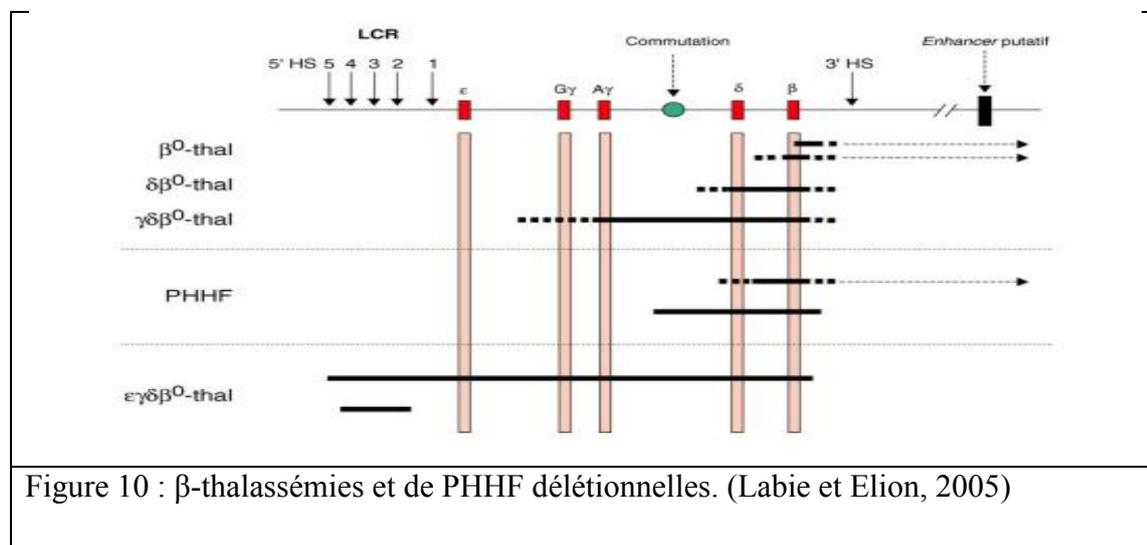


Figure 10 :  $\beta$ -thalassémies et de PHHF délétionnelles. (Labie et Elion, 2005)

#### ❖ (PHHF) non délétionnelles :

À côté des formes délétionnelles, des investigations ultérieures ont mis en évidence des PHHF non délétionnelles au cours desquelles le gène  $\beta$  est exprimé normalement.

Les mutations responsables sont situées dans la région promotrice des gènes  $\gamma$ -globine. (Voir figure 11).

Il s'agit essentiellement de mutations ponctuelles groupées dans certaines zones. Rarement, elles correspondent à de petites délétions. Les boîtes colorées représentent les sites de fixation de facteurs de transcription. (Labie et Elion, 2005)

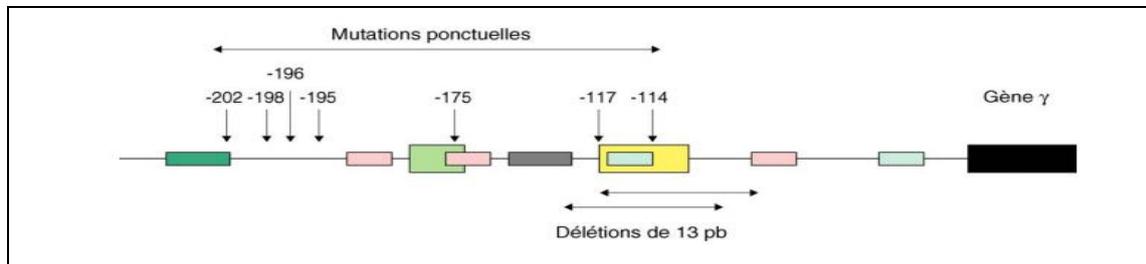


Figure 11 : Persistances héréditaires d'hémoglobine foétale (PHHF) non délétionnelles. (Labie et Elion, 2005)

### II.1.1.6. Les Traitements de la Bêta-Thalassémie :

- **Chélation du fer :**

Transfusions concentrés de globules rouges de façon régulières pour maintenir l'hémoglobine au-dessus de 9-10g/dl, appauvrie en leucocytes afin de réduire le risque de sensibilisation HLA et de transmission d'une maladie, par exemple le cytomégalovirus. Ce traitement pour éviter les complications de la surcharge en fer.

- **La splénectomie :** est nécessaire si les besoins de sang sont excessifs.

- **La transplantation de moelle osseuse :**

Le seul traitement qui puisse guérir définitivement la maladie est la transplantation de la moelle osseuse, appelée également « transplantation de cellules souches hématopoïétiques ».

La transplantation de moelle osseuse provenant d'un frère ou d'une sœur HLA compatible permet d'obtenir une survie à long terme sans maladie chez 90% des patients. (Djamaa, 2012)

- **La thérapie génique :**

Les hémoglobinopathies ont été considérées comme les premières maladies à étudier par la thérapie génique depuis le transfert d'un seul gène pourrait théoriquement susciter un effet thérapeutique (Peter et *al.*, 2003).

- La stratégie de thérapie génique pour les hémoglobinopathies a quatre objectifs :
  - (1) le transfert d'un gène unique dans la lignée particulière de cellules souches hématopoïétiques.
  - (2) expression endogène du transgène à des niveaux élevés.
  - (3) l'entretien permanent de l'expression du gène transféré.
  - (4) l'utilisation d'un vecteur non pathogène sûr. (Djamaa, 2012)

### II.1.2. $\alpha$ -thalassémies :

Il existe deux gènes alpha sur chaque chromosome 16, soit quatre gènes au total chez un sujet normal. L' $\alpha$  thalassémie correspondant au déficit de synthèse de ces chaînes de globines est causé par une délétion ou une inactivation d'un ou plusieurs gènes.

Dans les formes les plus graves, les tétramères anormaux d'hémoglobine sont formés de sous unités de type non alpha qui comportent en période néonatale quatre chaînes  $\gamma$  appelées **hémoglobine Bart**, et chez l'adulte quatre chaînes  $\beta$  appelées **hémoglobine H**.

Il existe principalement deux types d'anomalies génétiques. (Voir figure 12). (Galacteros, 2000) :

- l' $\alpha$  thalassémie-1 (Classe1) : causée par l'absence de deux gènes  $\alpha$  sur le chromosome 16, est observé dans le Sud-est asiatique.
- l' $\alpha$  thalassémie-2 (Classe2) : causée par la délétion d'un seul gène  $\alpha$  sur le chromosome 16, est présent dans le Sud-est asiatique et en Afrique subsaharienne surtout.

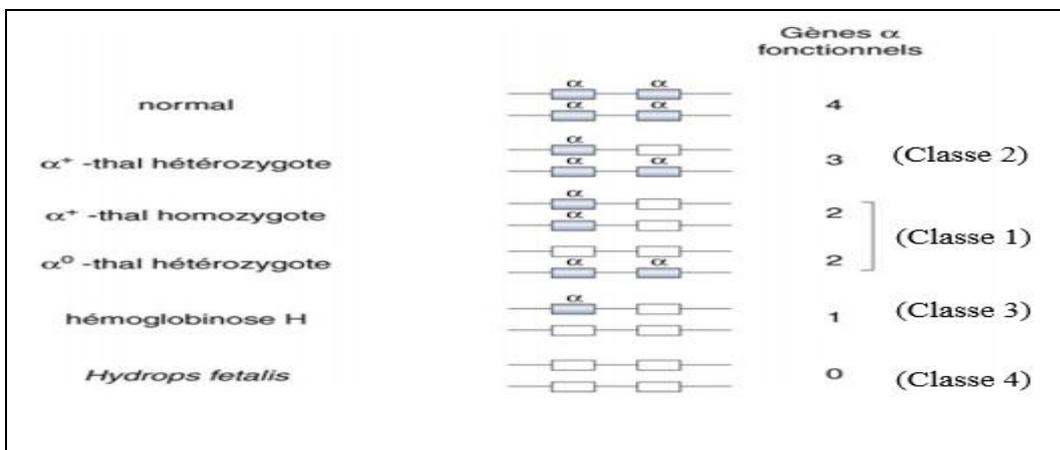


Figure 12 : Classification des  $\alpha$ -thalassémies. (Labie et Elion, 2005)

- ❖ L'altération d'un seul gène alpha n'a généralement aucune conséquence clinique ou biologique en dehors d'une microcytose inconstante.
- ❖ Les patients porteurs d'alpha-thalassémies mineures (le plus souvent délétion de deux gènes alpha-globine) sont en règle asymptomatiques.

Leur taux d'Hb est normal ou très légèrement abaissé. Le diagnostic est suspecté devant une microcytose et une hypochromie, lorsque l'électrophorèse de l'Hb est normale et que l'origine géographique est évocatrice (Asie du Sud-Est, Afrique, bassin méditerranéen).

- L'hémoglobine H (Classe 3) : l'anémie est le plus souvent symptomatique mais bien tolérée, les indices érythrocytaires étant très évocateurs de thalassémie. Elle résulte le plus souvent de la délétion de trois gènes alpha-globine (forme « délétionnelle »). (Voir figure 12).

- L'hydrops fœtal de Bart (Classe 4) : aucun gène alpha-globine n'étant fonctionnel, une anémie sévère débute pendant la période fœtale et conduit en règle générale au décès in utero ou en période périnatale. (HAS, 2008)

### **II.1.2.1. Physiologie des principaux signes hématologiques :**

Le mécanisme physiopathologique de l' $\alpha$  thal associe plusieurs facteurs on a :

➤ Dans toutes les classes (Voir figure 12) :

La diminution quantitative de la synthèse des chaînes alpha a pour conséquence une diminution de l'élaboration de l'hémoglobine, d'où la microcytose (Galacteros, 2000).

➤ Dans les classes 3 et 4 (Voir figure 12) :

- Les chaînes libres dues au déséquilibre entre les chaînes alpha et les chaînes non alpha, précipitent dans les hématies. On a alors une hémolyse qui raccourcit la durée de vie des érythrocytes.

- Par ailleurs, le fer non utilisé du fait de la diminution de la synthèse globinique tend à s'accumuler dans la zone mitochondriale. Ceci entraîne une altération des mitochondries

contribuant à écourter la vie des hématies.

- Cette précipitation des chaînes libres et du fer inutilisé ne se fait pas seulement dans les globules rouges circulants mais aussi dans les érythroblastes médullaires. Il en résulte un processus d'hémolyse intramédullaire par avortement d'un certain nombre d'érythroblastes. (Orsini et *al.*, 1985)

#### **II.1.2.2. Prise en charge thérapeutique et suivi :**

- Dans la très grande majorité des cas, l'hémoglobinoase H ne nécessite ni régime transfusionnel au long cours ni chélation du fer précoce et systématique. Les objectifs et les moyens de prise en charge sont proches de ceux des bêta-thalassémies intermédiaires. Comme ces dernières, les alpha-thalassémies sont de gravité variable, cela étant en partie lié à l'hétérogénéité des défauts moléculaires des gènes alpha-globine.
- La splénectomie n'est indiquée qu'en cas d'hypersplénisme avéré, car si elle réduit l'anémie elle majore le risque de complications thromboemboliques et infectieuses.
- Une surcharge martiale peut survenir chez l'adulte même en l'absence de transfusions par un mécanisme d'hyperabsorption intestinale du fer. (HAS, 2008)

Le risque dans une famille d'avoir un enfant atteint d'Hydrops fetalis de Bart conduira à une consultation de conseil génétique pour le couple à risque et, après caractérisation des mutations, à la proposition d'un diagnostic prénatal et d'une interruption thérapeutique de grossesse du fait des risques fœtaux et de la fréquence des complications maternelles (toxémie gravidique et hémorragies en post-partum). Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est applicable à l'alpha-thalassémie. (HAS, 2008)

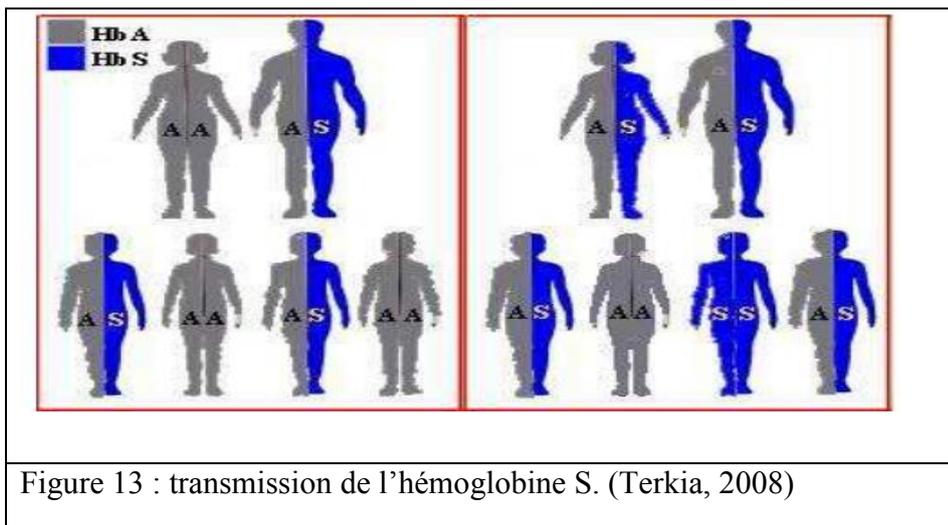
## II.2. La drépanocytose :

Première maladie génétique décrite en 1949, son étude a été entreprise par des abords multiples. (Lapie et Elion., 2005)

La drépanocytose, ou anémie falciforme (sickle cell disease), est une maladie systémique dont la cause est une mutation unique, ponctuelle au niveau du gène  $\beta$  globine situé sur le chromosome 11 (locus 11p 11-5). Il s'agit d'une maladie génétique autosomique dont le gène anormal est porté par un chromosome non-sexuel. Elle est dite récessive car la présence des deux gènes anormaux est requise pour que la maladie s'exprime. (Terkia, 2008)

La mutation du 6<sup>ème</sup> codon de l'exon I (GAG  $\rightarrow$  GTG) entraîne le remplacement de l'acide glutamique N6 présent dans l'hémoglobine A par une valine. (Terkia, 2008)

L'hémoglobine qui en résulte est dite hémoglobine S. la mutation qui produit l'hémoglobine S, comme les autres anomalies de l'hémoglobine portées par le gène  $\beta$ , est transmise selon le mode mendélien codominant. Lorsque l'un des parents est normal et l'autre hétérozygote pour l'hémoglobine S, la moitié des enfants seront hétérozygotes. Lorsque les deux parents sont hétérozygotes, 50% des enfants seront hétérozygotes, 25% seront homozygotes et 25% normaux. (Voir figure 13). (Terkia, 2008)



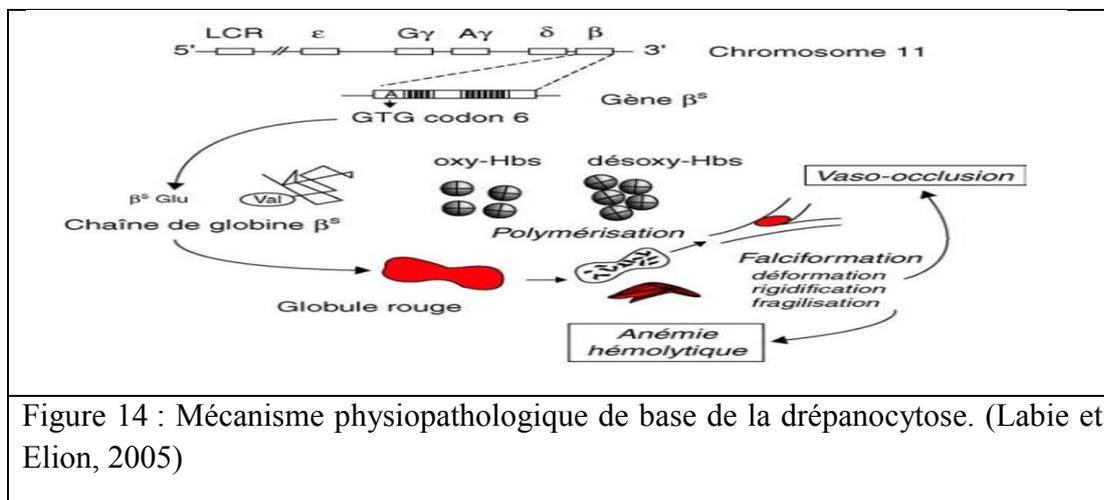
Ses principales manifestations cliniques aiguës sont des épisodes vasocclusifs, douloureux et récurrents, priapisme et <<syndrome thoracique aigu>>, ainsi que des accidents vasculaires, cérébraux ou cardiaque.

Les conséquences chroniques sont une anémie de type hémolytique, des dommages aux organes, dont une insuffisance rénale, et une réduction de l'espérance de vie. (Terkia, 2008)

Les sujets peuvent être homozygotes SS ou hétérozygotes (AS) le plus souvent asymptomatiques (Mac Donald *et al.*, 1999)

## II .2.1. Physiopathologie de drépanocytose :

Son mécanisme physiopathologique de base a été très précisément décrit, centré sur la polymérisation de l'HbS désoxygénée et les déformations cellulaires subséquentes observées chez les homozygotes SS. (Voir figure 14). (Khadijetou, 2013)



La modification structurale favorise une polymérisation de l'hémoglobine lorsque la pression partielle en oxygène diminue. Cette polymérisation provoque l'apparition de cellules falciformes ou globules rouges en faucille, les drépanocytes, et entraîne des lésions de la membrane des globules rouges qui rigidifiés, circulent mal.

Il apparaît alors une stase vasculaire avec acidose et hypoxie qui accroissent le phénomène de polymérisation et provoquent éventuellement une vaso-occlusion. L'anomalie de structure de l'hémoglobine entraîne une hémolyse prématurée des globules rouges en faucille dans les vaisseaux et dans le secteur extra-vasculaire.

Le trait S se transmet selon le mode mendélien autosomique récessif. Les porteurs du trait drépanocytaires (hétérozygotes AS) sont asymptomatiques. (HAS, 2010)

## **II.2.2. Autres troubles drépanocytaires :**

### **❖ Double hétérozygote drépano-hémoglobinoase C (S/C) :**

Elle est l'hémoglobinoase la plus répandue après la drépanocytose SS et se caractérise par la présence de deux hémoglobinoases S et C sous leur forme hétérozygote. Elle est surtout répandue dans la race noire de l'Afrique de l'Ouest.

L'électrophorèse de l'Hb ne montre pas d'Hb A, l'Hb S et l'Hb C sont à égalité (45 à 55 %), l'Hb F varie de 2-10% donc un peu plus basse que dans les formes SS, l'Hb A2 est normale 1-3%. (Mody, 2009)

### **❖ Les thalasso-drépanocytaires (S/ $\beta$ thalassémie) :**

Elles sont fréquentes et doivent être subdivisées selon le type  $\beta^+$  ou  $\beta^0$  de la thalassémie. Il y a deux modes d'expression des S/ $\beta^+$  thalassémies, l'une sévère où l'Hb A n'excède pas 15% et l'autre assez bénigne où l'Hb A avoisine 25 %. Le mode d'expression clinique est assez variable dans sa sévérité qui en règle générale est comparable à celle de l'homozygote S/ $\beta^0$  thalassémie. (Mody, 2009)

## **II.2.3. Les Traitements de la drépanocytose :**

Le traitement préventif des complications de la drépanocytose associe une prévention des infections par la pénicilline quotidienne et la vaccination antipneumococcique, une supplémentation en acide folique. (HAS, 2010)

### **• Les antalgiques :**

La lutte contre la douleur procède par étapes des antalgiques de palier I aux morphiniques en se basant sur une évaluation très rapprochée de l'intensité de la douleur à l'aide d'échelles d'évaluations adaptées selon l'âge. (Mody, 2009)

### **• La transfusion sanguine :**

Elle tient une place considérable dans l'arsenal thérapeutique puisqu'elle permet aussi bien de corriger le déficit quantitatif en transporteur d'oxygène que d'apporter des hématies déformables, capables de se rendre dans des sites ischémiés par les occlusions vasculaires.

L'objectif principal est de diminuer la proportion d'hémoglobine drépanocytaire afin d'éviter ou d'enrayer la falciformation. (Françoise, 2004)

- **La chélation du fer :**

Quoique la ferritinémie soit un marqueur assez peu spécifique de la surcharge en fer chez les patients drépanocytaires, car sa valeur est augmentée en cas de cytolyse, d'inflammation et (ou) d'infection, c'est néanmoins l'indicateur de surcharge martiale le plus utilisé.

Le chélateur du fer le plus efficace reste la déféroxamine. On l'administre le plus souvent par voie sous-cutanée pendant 8 à 10 h, à la dose de 40 mg/kg/j. (Françoise, 2004)

### **II.3. Autre hémoglobinopathies :**

#### **II.3.1. Hémoglobinose C :**

En Afrique et en Maghreb. L'hémoglobine C résulte d'une mutation ponctuelle au niveau du codon 6 (six) GAG  $\longrightarrow$  AAG. Cette mutation concerne le premier nucléotide de ce codon : Il s'agit de la substitution de la guanine par l'adénine. Cela a pour conséquence le remplacement de l'acide glutamique par la lysine en position 6 de la séquence d'acides aminés de la chaîne  $\beta$ . (Séidina, 2004)

Les GR CC ont une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine plus élevée que les GR normaux ce qui entraîne une cristallisation de l'HbC. (Séidina, 2004)

#### **II.3.2. Hémoglobinose D :**

En Inde. L'HbD-Punjab est un mutant de la chaîne  $\beta$  où l'acide glutamique en position 121 est remplacé par une glutamine. (Belhadi, 2010)

#### **II.3.3. Hémoglobinose E :**

L'Hb E est un mutant de la chaîne  $\beta$  où l'acide glutamique en position 26 est remplacé par une lysine. L'Hb E n'est fréquente qu'en Asie : Asie du Sud-Est, sud de la Chine et nord du sous-continent indien. (Lapie et Elion, 2005). Elle est considérée par (Weatherall, 2005) comme l'hémoglobine anormale la plus fréquente au monde.

### **II.3.4. Hémoglobinoase O Arab :**

Résulte d'une mutation ponctuelle au niveau du codon 121, cela a pour conséquence le remplacement de l'acide glutamique de la chaîne  $\beta$  par une lysine. (Belhadi, 2010)

### **II.3.5. Hémoglobinoase M :**

C'est une maladie génétique. Elle est la conséquence d'une mutation dans le gène  $\beta$ -globine, qui code pour la chaîne de globine  $\beta$ . Les personnes sont hétérozygotes pour la maladie (un seul gène est atteint).

Cette hémoglobine anormale est instable et la durée de vie des globules rouges est réduite ; La majorité des personnes qui ont une hémoglobine M sont cyanosés (couleur bleue des lèvres et du lit des ongles). C'est une maladie rare. On la rencontre dans de nombreuses régions du monde. (Beatrice et Patricia, 2008).

### **II.4. Diagnostic des hémoglobinopathies :**

Une anomalie de l'hémoglobine peut être recherchée devant des signes clinico-biologiques, le plus souvent une anémie (par extension devant une pâleur, un ictère, une hépato-splénomégalie, une asthénie, un essoufflement), plus rarement une cyanose ou une polyglobulie (par extension devant des céphalées, des acouphènes, des vertiges). Elle peut aussi être recherchée en raison de la constatation d'éléments purement biologiques comme une hémolyse ou une microcytose. Elle peut enfin être demandée lors d'une enquête familiale ou du dépistage systématique chez une personne appartenant à une ethnie dite « à risque » (Afrique sub-saharienne, Afrique du Nord, Bassin méditerranéen, Antilles, Asie, Moyen-Orient et Proche-Orient), ou encore dans un contexte anesthésique, anténatal, pré-greffe... Enfin, il peut s'agir d'un test de confirmation d'un dépistage néonatal. (Couque et De montalembert, 2013)

### **II.5. Diagnostic prénatal des hémoglobinopathies :**

Le diagnostic prénatal est effectué à partir des prélèvements issus de :

-biopsie trophoblastique, d'amniocentèse, de sang fœtal à partir de la dix-huitième semaine.

## **1. chez les drépanocytaires :**

Si les parents désirent une interruption de grossesse en cas d' l'homozygotie, l'indication va donc concerner les couples hétérozygotes et les couples dont l'un est homozygote et l'autre hétérozygote.

## **2. chez les thalassémiques :**

-chez les  $\alpha$  thalassémiques : l'induction est réservée au fœtus à risque d' $\alpha$  thalassémie majeure. Le dépistage des sujets porteurs de deux gènes mutés est effectué par analyse moléculaire également.

-chez les  $\beta$  thalassémiques : l'indication s'adresse aux couples hétérozygotes ayant décidé une interruption si le fœtus est homozygote. (Ulukutlu et *al.*, 1989)

## **II.6. Techniques électrophorétiques d'étude de l'hémoglobine.**

### **❖ Focalisation isoélectrique sur gel d'agarose en couche mince :**

La focalisation isoélectrique est une technique hautement résolutive de séparation des hémoglobines en fonction de leur point isoélectrique dans un gradient de pH. Cette méthode permet, d'une part, la séparation rapide de la plupart des hémoglobines, notamment les Hb C et E, ou S et D, et d'autre part, elle permet la mise en évidence d'hémoglobines instables non identifiables par les techniques classiques d'électrophorèse à pH alcalin. De plus, grâce à la bonne séparation de l'Hb F et de l'Hb A, la focalisation isoélectrique constitue la méthode de choix dans le dépistage des hémoglobinopathies chez le nouveau-né. (Wajcman et *al.*, 2002).

### **❖ Electrophorèse Capillaires d'hémoglobine :**

Le kit CAPILLARYS HEMOGLOBINE permet la séparation en milieu basique (pH 9, 4) des hémoglobines normales du sang humain (A, F et A2) et à la détection des principales hémoglobines anormales (notamment S, C, E et D) par électrophorèse capillaire dans le système automatique CAPILLARYS. Les hémoglobines, séparées dans des capillaires en silice fondue, sont détectées directement au niveau d'une cellule sur le capillaire par spectrophotométrie d'absorbance à 415 nm, longueur d'onde d'absorption spécifique des hémoglobines. (Belhadi, 2010)

### ❖ **Electrophorèse à pH alcalin :**

L'électrophorèse à pH alcalin est réalisée soit sur gel d'acétate de cellulose, soit sur gel d'agar, ces deux types de support étant disponibles dans le commerce. Après migration, plusieurs bandes sont visualisées chez un adulte normal après coloration : 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 2 à 3 % de l'hémoglobine totale.

Il est possible d'évaluer par densitométrie optique les différentes fractions de l'hémoglobine mais cette méthode de dosage manque de précision, notamment pour les bandes de faible intensité (Clarke et Higgins, 2000).

### ❖ **La chromatographie liquide haute performance (CLHP) :**

Sépare les différentes fractions d'hémoglobines en fonction de la force de leurs interactions ioniques sur une colonne échangeuse de cations. Les molécules d'hémoglobine chargées positivement dans le tampon utilisé interagissent avec la colonne chargée négativement (résidu carboxyl greffé sur une résine).

Suite à l'injection d'un gradient de tampon de haute force ionique, les différentes fractions d'hémoglobines sont éluées au fur et à mesure que la force ionique du tampon devient supérieure à leur interaction avec la colonne. Les différentes fractions d'hémoglobines sont éluées à un temps donné qui est caractéristique : c'est le temps de rétention. La détection est spectrophotométrique et s'effectue à 415 nm. Les différents pics obtenus sont donc reconnus en fonction du temps de rétention: les hémoglobines normalement présentes (HbA, HbA2, HbF), ainsi que les variants d'hémoglobine les plus fréquents, sont reconnus de façon présomptive, avec séparation des HbS, HbC, HbE, HbO-Arab, HbD-Punjab et G-Philadelphia ; les variants dont le temps de rétention n'est pas répertorié par le fournisseur sont dits « unknown ». (Joutovsky et *al.*, 2004) et (Riou et *al.*, 2005)

### ❖ **La spectrophotométrie de masse :**

Cette technique permet la séparation de différents fragments protéiques de masses différentes. La révélation d'une chaîne de globine avec une masse « anormale » et le calcul de la différence de masse permet d'en déduire l'acide aminé impliqué. Cette

technique peut être couplée à des digestions enzymatiques préalables, qui permettent une précision plus importante. (Zanella-Cleon et *al.*, 2009)

# Partie pratique

# **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

## **II.1. Matériel :**

Notre travail s'agit d'une étude rétrospective sur une période s'étalant du mois d'Octobre 2012 au mois de Mai 2014, portant sur 850 sujets dont l'âge varie de 45 jours à 85 ans.

Ces sujets ont été recrutés au niveau du laboratoire mère/enfant unité d'hémobiologie unité BEN BOUALI du CHU de Blida.

### **Les critères d'inclusion :**

- Recherche d'Hémoglobine instable.
- Recherche d'un trait thalassémique.
- Dépistage d'Hémoglobinopathies dans le cadre d'une enquête familiale.

### **🚩 Matériel biologique :**

L'échantillon biologique est représenté par 5 ml de sang total prélevé stérilement par ponction au niveau de la veine du pli du coude et recueilli dans un tube stérile contenant de l'EDTA.

Ce prélèvement servira :

- 1) À la réalisation d'une Numération Formule Sanguine (FNS) avec un frottis sanguin.
- 2) À l'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin (8,5) sur acétate de cellulose. (Sur du sang frais ou conservé à +4°C dans un délai maximal de 7 jours).
- 3) À la réalisation du test de falciformation pour la caractérisation de l'Hb S.

### **🚩 Matériel non biologique : (Voir annexe)**

## II.2. Méthodes :

Les patients étudiés ont bénéficié d'un hémogramme et d'une électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin sur acétate de cellulose.

### II.2.1. Hémogramme :

Est le principal examen en hématologie, est une étude quantitative et qualitative des différents éléments cellulaires du sang. Il est comporte deux parties :

#### \*La Numération Formule Sanguine (FNS) :

Est effectuée sur un compteur automatique de type SYSMEX. La NFS indique le nombre et le type de globules rouges, de globules blancs et de plaquettes contenus dans un échantillon de sang, Afin de rechercher une anémie, une microcytose, ou une pseudopolyglobulie.

#### \*Frottis sanguin :

Une fine goutte de sang sur une lame de verre au microscope après coloration avec « May Grunewald Giemsa », pour étudier la morphologie des hématies. Et toute modification traduit un état pathologique.

**Tableau I : les valeurs normales de l'hémogramme.**

sujet	GR (m/μl)	Hb(g/dl)	Ht(%)	VGM(fl)	TCMH(pg)	CCMH(g/dl)
homme	4.5-6.2	13-17	40-54	≥80	27-32	32-36
femme	4-5.4	11-15	35-47			
enfant	3.6-5	11-14	36-44			

## II.2.2. Electrophorèse de l'Hb à pH alcalin (8,5) sur acétate de cellulose :

### II.2.2.1. Principe :

Sur support solide (acétate de cellulose) est encore une technique largement utilisée. À pH alcalin, les hémoglobines sont chargées négativement et migrent vers l'anode (+). Si le variant de l'hémoglobine présente un acide aminé de surface ayant un résidu qui modifie sa charge, soumis au champ électrique, il va être séparé de l'HbA.

On parle de mutant « rapide » s'il est plus chargé négativement que l'HbA et donc migre plus près de l'anode que l'HbA, ou de mutant « lent » s'il est moins chargé négativement et donc migre moins près de l'anode que l'HbA.

La coloration avec un colorant protéique rouge Ponceau permet une meilleure visualisation des bandes. (Couque et De montalembert, 2013)

### II.2.2.2. Mode opératoire :

#### 1). Préparation du tampon :

- Diluer un sachet du tampon EBT dans un litre d'eau distillé dans une éprouvette.

#### 2). Préparation de la plaque d'acétate :

- Placer la plaque d'acétate dans un portoir.
- Tremper la plaque d'acétate très lentement dans le tampon pour éviter la formation des stries et on la laisse pendant 20 min.

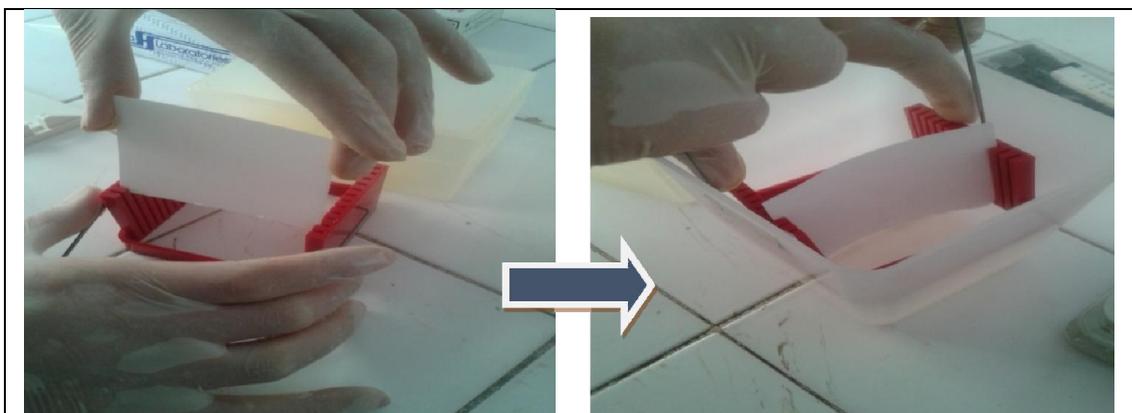


Figure 15 : Préparation de la plaque d'acétate

### 3). Préparation de l'hémolysât :

- Après centrifugation (1200 tours pendant 5 min), récupérer et laver le culot globulaire.
- Préparer l'hémolysât en ajoutant la solution hémolysante au culot globulaire dans une proportion de 1 V du CG pour 6 V de l'hémolysant dans un tube sec en verre de 5 ml

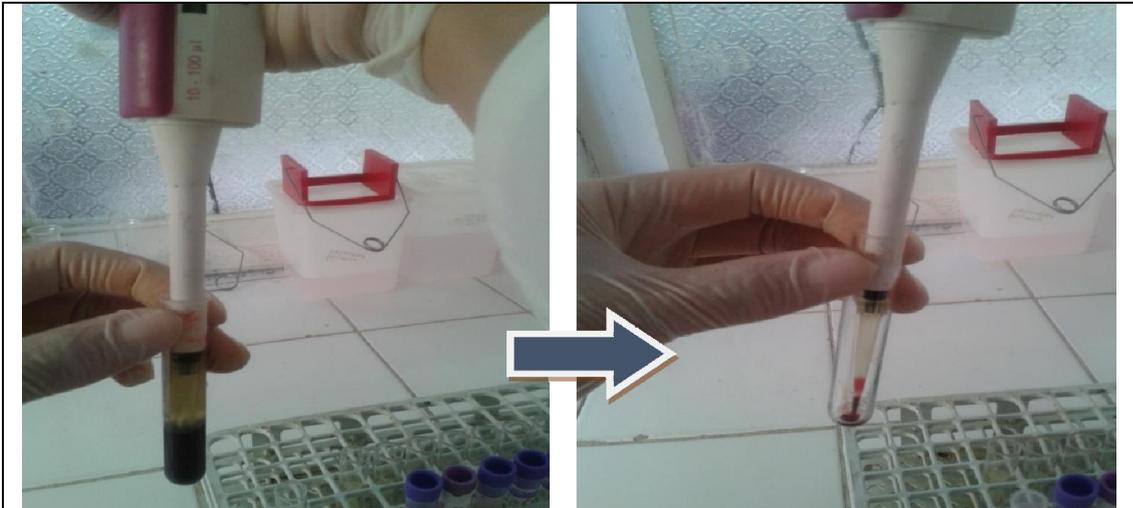
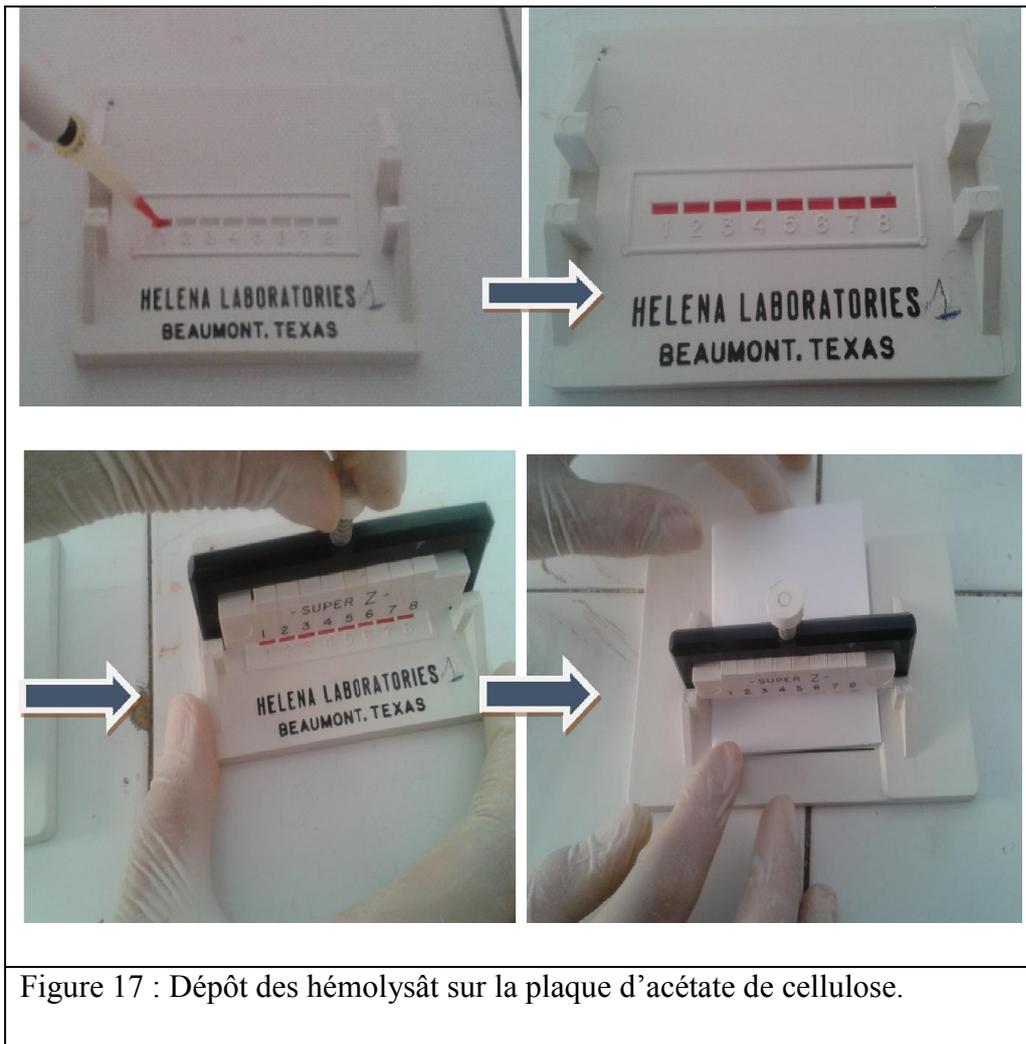


Figure 16 : Préparation de l'hémolysât

### 4). Dépôt :

- Déposer 5 ml d'hémolysât dans les alvéoles ; bien répartir les hémolysât.
- Sortir la plaque du tampon et bien essorer avec du papier absorbant.
- Mettre la plaque sur le porte-plaque.
- Déposer les hémolysât sur la plaque d'acétate de cellulose à l'aide d'un applicateur multiple (8 cavaliers), vérifié que tous les cavaliers sont bien remplis. (Voir figure 17)



### 5). Préparation de la chambre de migration :

- Verser 50 ml du tampon dans chacun des deux compartiments extérieur de la chambre.
- Appliquer les bandes du papier buvard sur les bords internes des compartiments contenant le tampon pour former un pont sur les bords des compartiments vides en évitant de former les bulles d'air entre la paroi et la bande humide. (Voir figure 18)



Figure 18 : Préparation de la chambre de migration

#### 6). Migration :

- La plaque est déposée à plat dans la cuve (face brillante en haut).
- Migration de la cathode (-) vers l'anode (+) 20 min à 400V.
- Le changement de pôle des électrodes.

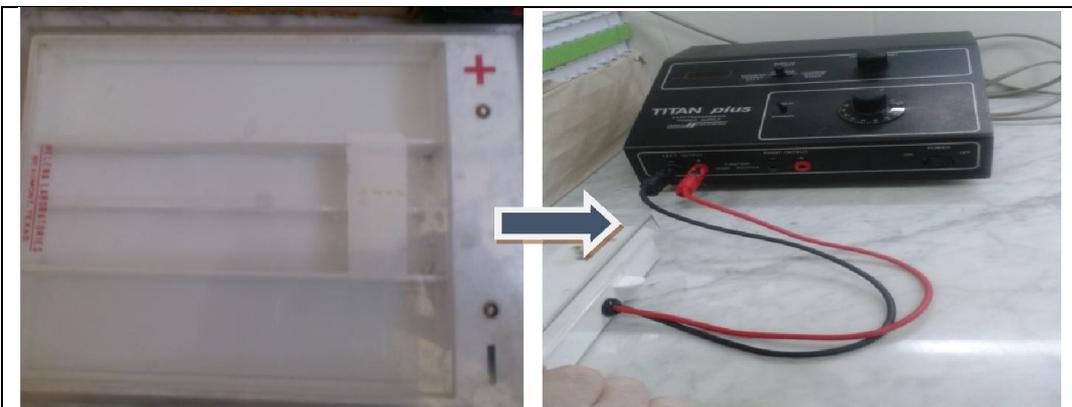


Figure 19 : Migration des différentes fractions de l'Hb

## 7). Coloration :

- Après migration, Coloration de la plaque au rouge ponceau pendant 3 min. (Voir figure 20)
- Décoloration : 3 bains successifs de 3 min chacun d'acide acétique à 5 %
- Déshydratation : 2 bains successifs de 2 min de méthanol pur.
- Transparisation : entre 5 et 10 min dans un mélange composé de :
  - 67% méthanol pur
  - 29% acide acétique pur
  - 4% solution clarifiante
- Bien égoutter la bande (placer verticalement sur coin) pendant 1 min.
- Mettre à l'étuve pendant 10 min entre 50°C et 60°C.
- Laisser sécher.



Figure 20 : coloration de la plaque d'acétate de cellulose

### II.2.2.3. Interprétation des résultats :

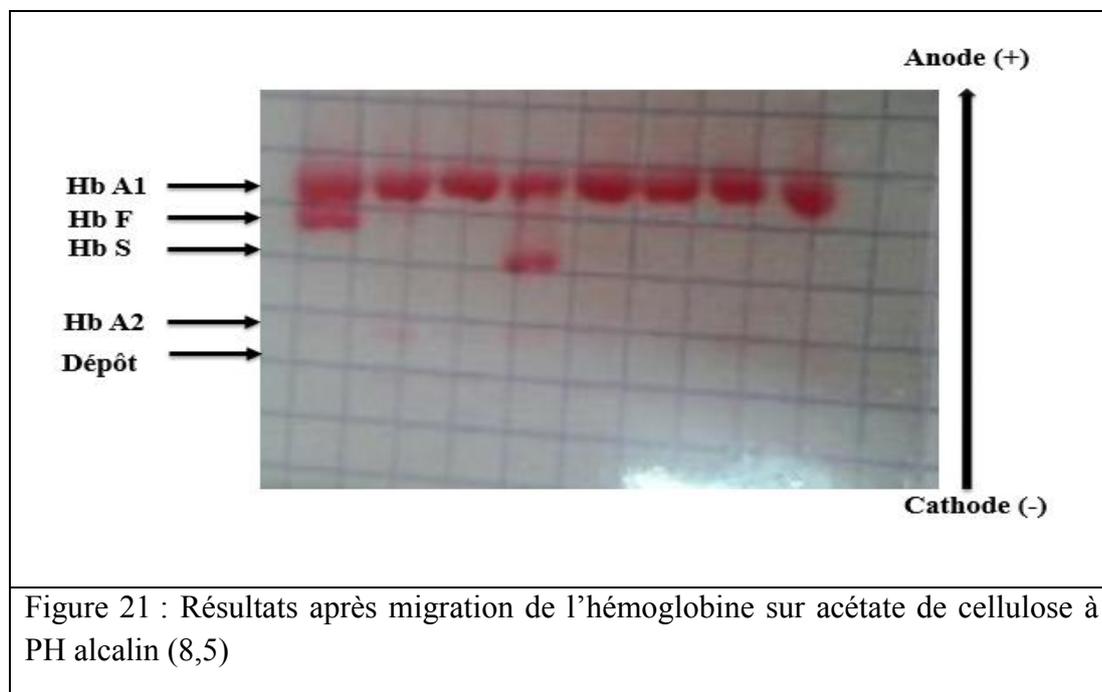
L'évaluation qualitative est visuelle, la plaque de migration est inspecté et on détermine la présence ou non d'une pathologie dans l'Hb :

\*L'hémoglobine S migre a mis distance entre l'hémoglobine A1 et A2.

\*L'hémoglobine C et E migre comme l'hémoglobine A2.

\*L'hémoglobine F migre a mis distance entre l'hémoglobine A1 et S.

L'Hb C est l'hémoglobine la plus lente, et l'Hb H est l'Hb la plus rapide.



L'évaluation quantitative est faite par le densitomètre à 525 nm et le calculateur qui donne le pourcentage des différentes fractions d'hémoglobine.



Figure 22 : Dosage des différentes fractions d'hémoglobine par le densitomètre.

- ❖ Si une fraction hémoglobinique migrant a mis distance entre A1 et A2 sur la plaque d'acétate ont bénéficié d'un test de falciformation pour la caractérisation de l'Hb S.

### **Test de falciformation :**

Ce test est réalisé pour le dépistage de l'Hb S (trait drépanocytaire).

### **Principe :**

A l'état désoxygéné, l'hémoglobine S se polymérise sous forme de cristaux insolubles allongés qui déforment les hématies, donc changent de forme et deviennent incurvés, on dit qu'ils sont falciformés (forme de faucille). (Pouiré, 2009).

### **Technique :**

Déposer sur une lame bien propre :

-une goutte de sang frais sur EDTA.

-recouvrir avec une lamelle, et observer après à 12 heures à l'objectif sec (fois 40).

Le test est positif si les hématies sont falciformes.

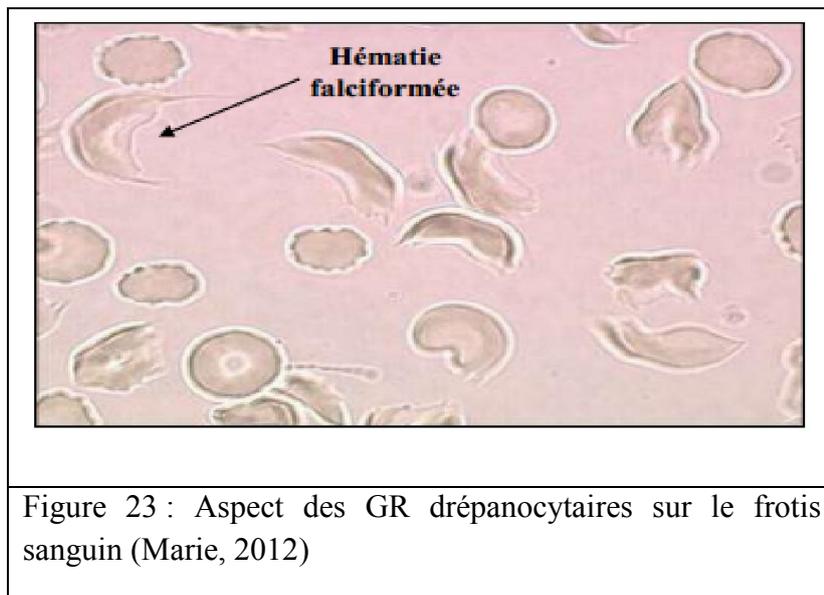


Figure 23 : Aspect des GR drépanocytaires sur le frotis sanguin (Marie, 2012)

**Remarque :** quelques erreurs d'interprétation doivent être évitées :

\*le taux d'Hb F inhibe la falciformation donc ce test n'est indiqué jusqu'à l'âge de 6 mois.

\*un échantillon non frais ou du sang desséché sur la lame lors de la préparation peuvent entraîner l'observation d'anomalies morphologique des hématies pouvant être confondues avec des GR falciformes par un technicien non expérimenté.

\*l'utilisation de GR lavés au lieu de sang total peut négativer le test.

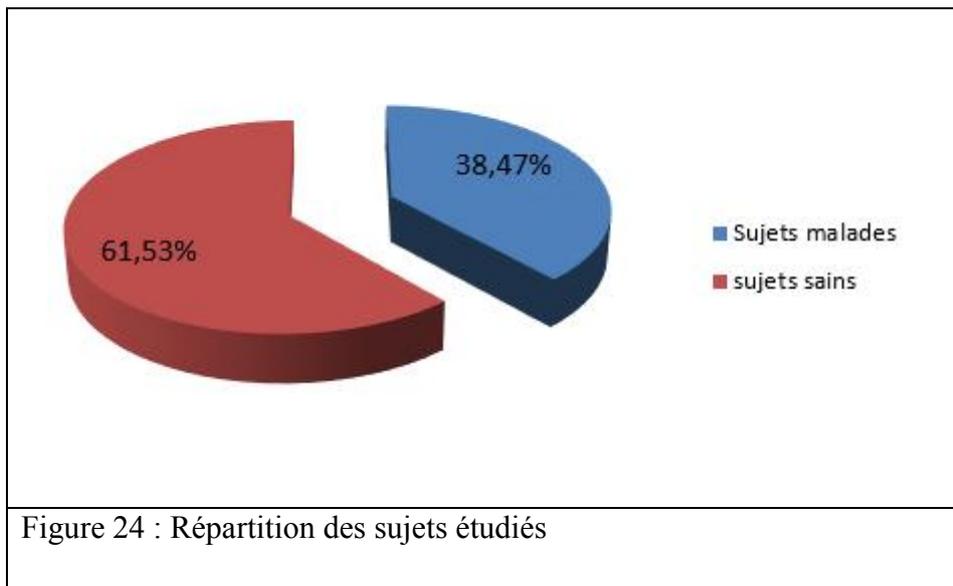
\*une transfusion sanguine récente.

**Enquête génétique :**

En cas d'anomalie au niveau de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez un patient, une enquête familiale a été réalisé afin de confirmer l'origine génétique et de dépister les autres cas dans la famille.

# **Chapitre III : Résultats et discussion**

### III.1. Répartition des sujets étudiés :



- ❖ Les données hématologiques et les résultats électrophorétique ont révélé l'existence de 327 sujets hémoglobinopathiques avec une prévalence de 38.47% parmi les 850 sujets étudiés, ce qui témoigne une fréquence élevée de cette pathologie dans la région de Blida.
- ❖ Les sujets non hémoglobinopathiques, plus fréquemment observé avec une fréquence de 61.53 %, et l'anémie observée, est le résultat d'une malnutrition ou d'un manque en fer.
- ❖ Les hémoglobinopathies, les maladies parasitaires, (paludisme, ankylostomiase, schistosomiasis etc...) la carence en fer et en d'autres micros nutriments (vitamine A, B12 etc...) sont parmi les causes principales des anémies. (Sadio, 2006)
- ❖ Les polymorphismes de globules rouges ont été associés à une protection contre les formes graves de paludismes. (Sadio, 2006)
- ❖ Nos résultats concordent avec l'étude de Belhadi Kamilia à Batna en 2010 sur 115 sujets dont 65 personnes sains avec une prévalance de 56.53%, et 50 personnes (43.47%) atteints d'hémoglobinopathies. (Belhadi, 2010)
- ❖ Une autre étude faite par André César Ernest à Dakar (SENEGAL) en 1999 sur 637sujets répartis en 319 sujets porteurs de l'hémoglobinopathies, et 318 sujets témoins. (André, 1999)

- ❖ Nos résultats concordent aussi avec l'étude de Sadio Keita, au Mali, une étude sur 246 enfants, 184 (75%) avaient une hémoglobine normale et 62 (25%) avaient une hémoglobine anormale. (Sadio, 2006)

### III.2. La répartition hémoglobinopathiques des individus analysés :

Tableau II : la répartition hémoglobinopathiques des individus analysés.

Phénotype hémoglobinique	Effectifs	Fréquence (%)
<b>β- thalassémies</b>	<b>161</b>	<b>49.24</b>
<b>Drépanocytoses</b>	<b>110</b>	<b>33.64</b>
<b>Hémoglobinoase C</b>	<b>12</b>	<b>3.66</b>
<b>Double hétérozygote (S/C)</b>	<b>2</b>	<b>0.61</b>
<b>Double hétérozygote (S/β thalassémie)</b>	<b>16</b>	<b>4.90</b>
<b>α- thalassémies</b>	<b>26</b>	<b>7.95</b>
<b>Totale</b>	<b>327</b>	<b>100%</b>

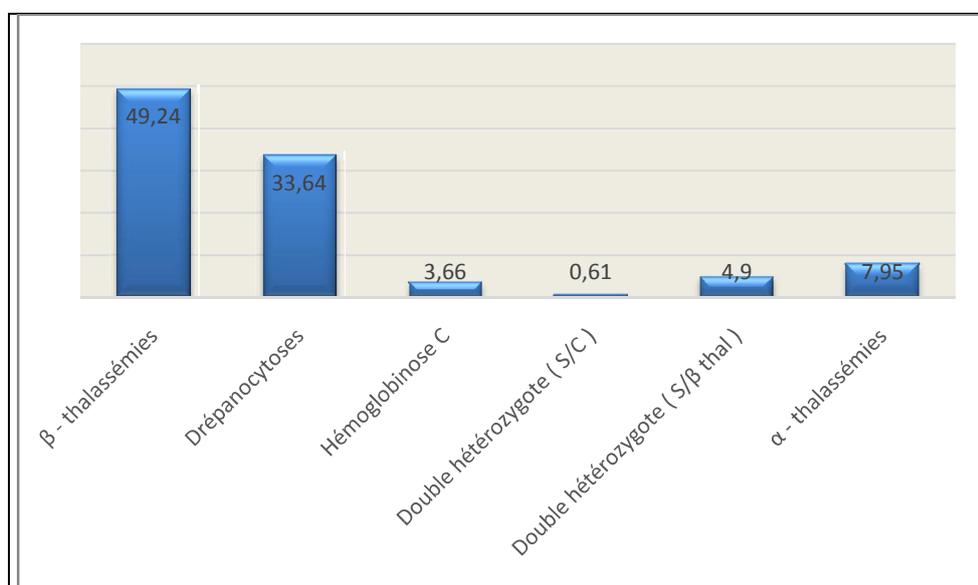
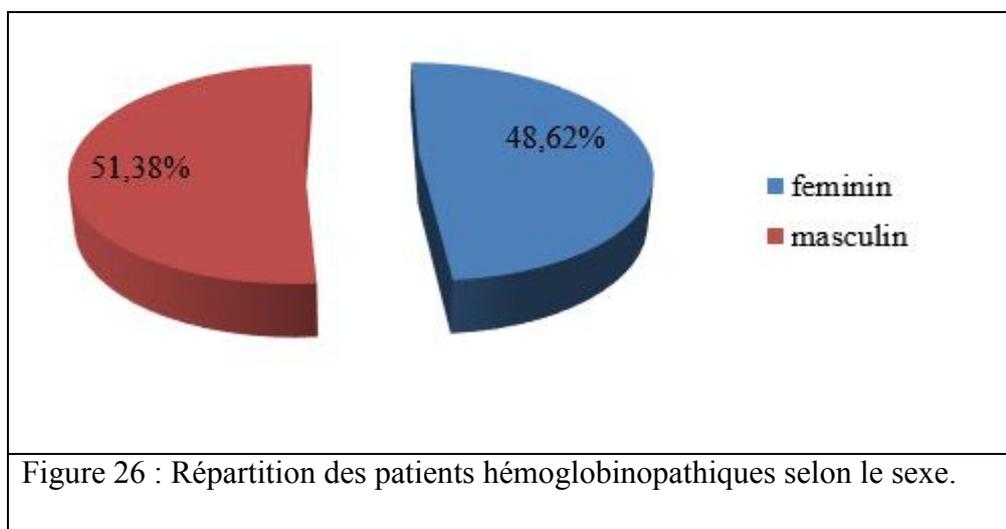


Figure 25 : la répartition des différentes hémoglobinopathies.

Nos résultats du tableau II confirment :

- ❖ L'existence de différents types d'hémoglobinopathies dans la population de la région de Blida.
- ❖ Les  $\beta$ -thalassémies est l'anomalie d'hémoglobine la plus fréquemment observée avec une prévalence de 49.24%.
- ❖ La drépanocytose occupe la deuxième place avec une prévalence de 33.64%.
- ❖ Le syndrome  $\alpha$  thalassémique avec une prévalence de 7.95% et la double hétérozygote (S/ $\beta$  thal) de 4.90%, et les hémoglobinoses C avec une prévalence de 3.66%.
- ❖ La doubles hétérozygotes (S/C), est beaucoup plus rares (0.61%).
- ❖ La drépanocytose était le plus fréquemment observée dans la région de Batna avec l'étude de Belhadi Kamilia en 2010 sur 115 sujets suspects d'hémoglobinopathie avec une prévalence de 52%, tandis que la prévalence de  $\beta$  thalassémie avec de 44%. (Belhadi, 2010)
- ❖ Selon l'OMS en l'an 2000, confirment que la drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue en France à 1 pour 3000 naissances, et à 1 pour 500 pour Paris. (Giboyau et *al.*, 2000)
- ❖ Le dépistage des hémoglobinopathies est généralement envisagé chez deux populations cibles : les nouveau-nés et les adultes en âge de se reproduire. (Richard et *al.*, 1979)
- ❖ Dans leur forme sévère ces maladies génétiques sont généralement mortelles dans l'enfance ou chez les adultes en l'absence de traitement, donc les hémoglobinopathies touchent tous les âges.

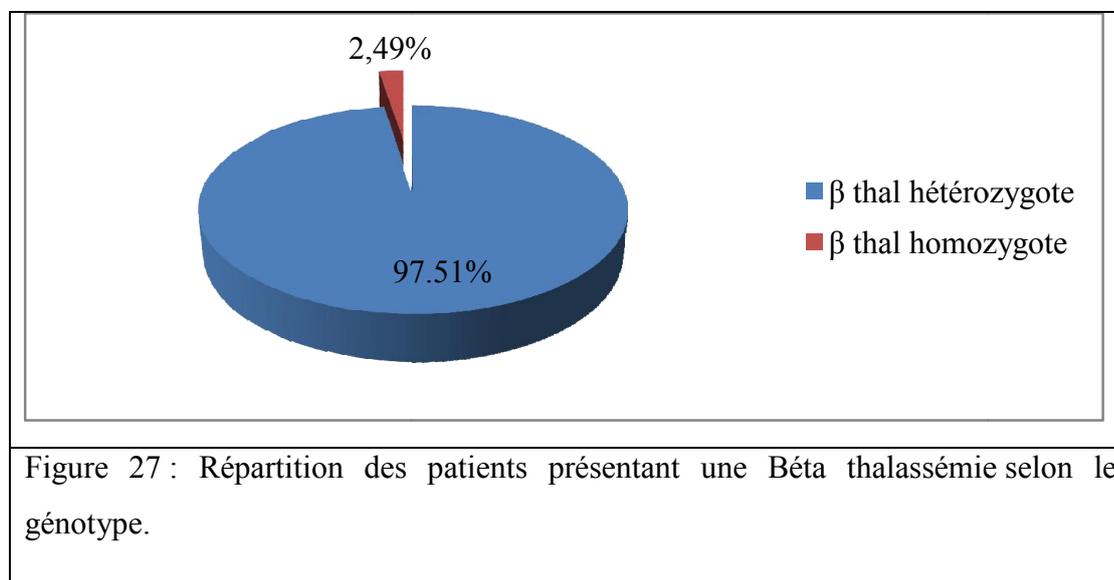
### III.3. Répartition des patients hémoglobinopathiques selon le sexe :



- ❖ Nos malades se répartissent sur 159 sujets avec une prévalence de 48.62 % pour le sexe féminin et 168 sujets avec une prévalence de 51.38 % pour le sexe masculin, avec un sexe ratio de 1.05 ce qui confirme que cette pathologie peut toucher approximativement les deux sexes avec même fréquence.
- ❖ Le sexe ne modifie en rien la répartition des hémoglobinopathies car ces anomalies hémoglobiniques sont liées aux autosomes, et sont par conséquent indépendant du sexe.
- ❖ Même résultats avec l'étude de Djamaa Inès effectué au sein de l'université de Tlemcen en 2012 sur 64 malades venant des différentes régions de l'Est Algérien, qui a révélé un pourcentage de 53% pour le sexe masculin et de 47 % pour le sexe féminin avec un sexe ratio de 1,12. (Djamaa, 2012)
- ❖ Nos résultats concordent aussi avec l'étude de Mody Coulibaly en 2009 sur 233 enfants drépanocytaires que le sexe masculin prédominait avec 60% soit un sexe- ratio de 1,5 en faveur des garçons. (Mody, 2009)

#### III.4. Les patients présentant une Béta thalassémie :

- Répartition des patients présentant une Béta thalassémie selon le génotype :



- ❖ Sur les 327 sujets d'hémoglobinopathies, on a 161 patients atteints de β-thalassémie.
- ❖ Les β-thalassémies est l'anomalie d'hémoglobine la plus fréquemment observée dans notre étude. Presque la totalité des sujets sont atteints de β-thal hétérozygotes (157

patients), avec 4 patients de  $\beta$ -thal homozygote présentés par une prévalence de 97.51%, et 2.49% respectivement.

- ❖ Sont fréquemment identifiées chez des sujets originaires du pourtour méditerranéen (Italie, Sardaigne, Sicile, Grèce, Afrique du Nord), mais elles sont également rencontrées chez des sujets originaires d'Afrique noire et d'Asie (Iran, Inde, Viêt-nam, Thaïlande) (Rosa et al, 1993).
- ❖ La prévalence trouvée dans l'étude de Belhadi Kamilia à Batna en 2010 est de 36.36%  $\beta$  thal hétérozygote, et de 63.64%  $\beta$  thal homozygote. (Belhadi, 2010)

- **Les patients béta thalassémiques hétérozygotes :**

**Tableau III : répartition des sujets atteints de  $\beta$  thalassémie hétérozygote selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	45	112	157
Fréquence (%)	28.66	71.34	100%

- ❖ On constate que 28,66% sujets ont été diagnostiqués avant l'âge de 10 ans, et 71,34% diagnostiqués après l'âge de 10 ans.

**Tableau IV : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets  $\beta$  thalassémiques hétérozygotes.**

Effectifs (N=157)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>45 Enfants</b> ( $\leq 10$ ans)	5	10	67.37	33
<b>48 Adultes</b> (♂)	5.68	11.87	62.30	38.28
<b>64 Adultes</b> (♀)	5.15	10.07	67.34	33.98

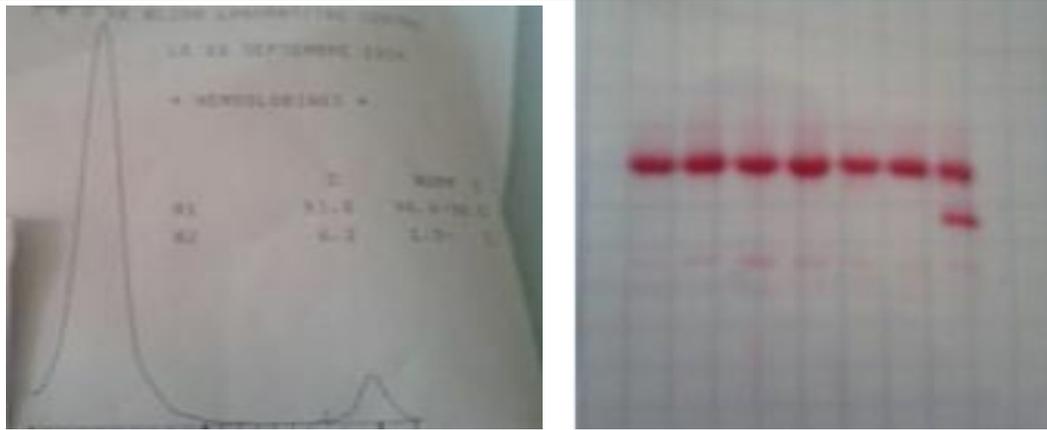


Figure 28 : le profil densitométrique de  $\beta$  thalassémie hétérozygotes et son aspect sur la plaque d'acétate.

- ❖ Les  $\beta$ -thalassémies sont essentiellement dues à un grand nombre de mutations ponctuelles du gène de la  $\beta$ -globine. Le trait thalassémique (thalassémie hétérozygote) peut être asymptomatique. (Perrimond, 2000)
- ❖ Le diagnostic est affirmé par la mise en évidence d'une augmentation du pourcentage de l'Hb A2 (entre 4 et 7 % en règle). (Perrimond, 2000)
- ❖ le trait thalassémique est évoqué sur des anomalies modérées à l'hémogramme : microcytose avec un VGM inférieur à 70 fl sans anémie franche (Hb entre 10 et 13 g/dl). D'une manière habituelle mais non constante, cette microcytose est partiellement compensée par une pseudoglobulie (le volume globulaire circulant n'est pas augmenté). (Perrimond, 2000)
- ❖ Selon la publication de HAS sur les syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires, indique que le diagnostic des formes  $\beta$  thal hétérozygote est souvent tardif, en règle après l'âge de 4 ans. (HAS, 2008)
- ❖ Le taux moyen d'Hb A2 observé chez nos patients  $\beta$  thal hétérozygote est de 5.7% (constitue le signe caractéristique).
- ❖ Nos résultats concordent avec ceux de l'étude faite par Belhadi Kamilia à Batna en 2010 par un taux d'Hb A2 de 5.5%. (Belhadi, 2010)
- ❖ Dans la grande majorité des maladies récessives, un porteur n'est identifié qu'après avoir donné naissance à un enfant malade.

- Les patients béta thalassémiques homozygotes :

**Tableau V : répartition des sujets atteints de  $\beta$  thalassémie homozygote selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	2	2	4
Fréquence (%)	50	50	100%

- ❖ On constate qu'une même fréquence de 50% des sujets  $\beta$  thal homozygotes, ont été diagnostiqués avant et après l'âge de 10 ans.

**Tableau VI : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets  $\beta$  thalassémiques homozygotes.**

Effectifs (N=4)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>2 Enfants (<math>\leq 10</math> ans)</b>	2.6	5.8	70.7	19.15
<b>1 Adulte (<math>\sigma</math>)</b>	3.44	8.3	75	25.8
<b>1 Adulte (<math>\rho</math>)</b>	4.84	10.2	70.7	34.2

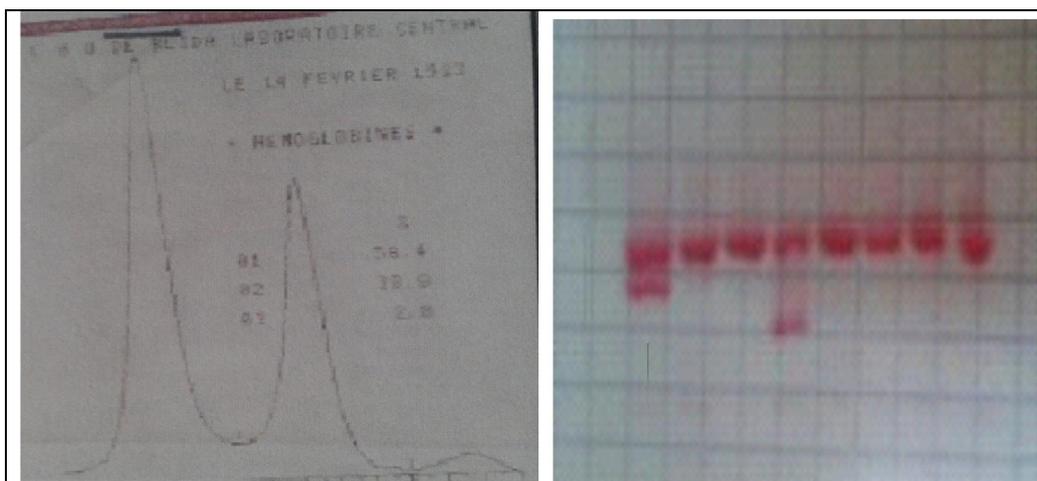
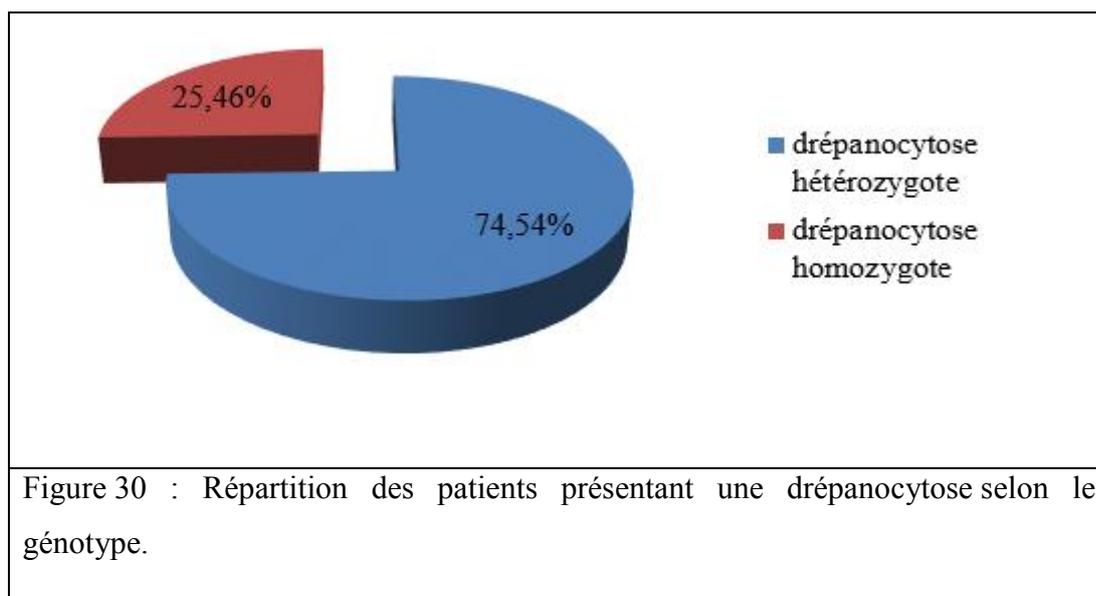


Figure 29 : le profil densitométrique de  $\beta$  thalassémie homozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.

- ❖ les mariages consanguins conduisent à une diffusion de plus en plus large de ces anomalies.
- ❖ Nos résultats révèlent la coexistence d'un taux d'Hb F avec un moyen de 76.42 % et une persistance de l'Hb A avec un moyen de 20.3%, le taux d'hémoglobine A2 est normal ou augmenté.
- ❖ Malgré la gravité de la forme homozygote, aucune manifestation néonatale n'est observée et ce n'est qu'à partir du second trimestre, voire du second semestre. (Perrimond, 2000)
  
- ❖ L'anémie est intense au-dessous de 10 g /dl d'Hb avec une microcytose et une hypochromie très importantes, L'électrophorèse des hémoglobines montre habituellement l'absence totale d'Hb A ; la quasi-totalité de l'hémoglobine est constituée de l'hémoglobine F. (Perrimond, 2000)
- ❖ Selon HAS (2008), Une enquête nationale récente a répertorié sur le territoire français plus de 350 patients atteints de formes de gravité majeure ou intermédiaire de bêta-thalassémies principalement originaires d'Italie et d'Afrique du Nord. (HAS, 2008)

### III.5. Les patients présentant une drépanocytose :

- Répartition des patients présentant une drépanocytose selon le génotype :



- ❖ On constate que la forme drépanocytaire hétérozygote avec une prévalence de 74.54% est majoritaire par rapport à la forme homozygote qui a la fréquence de 25.46%.
- ❖ L'hémoglobine S ou drépanocytose est fréquente en Afrique, dans toutes les régions où les natifs d'Afrique sont retrouvés (Antilles, continent nord-américain) (Girot, 1999; Mac Donald et al, 1999 ; Whitehead et al, 1998), et sur l'ensemble du pourtour méditerranéen (Maghreb, Sicile, Grèce, Moyen Orient) (Giabmonaa et al, 1995).
- ❖ La diminution des formes homozygotes est justifiée par l'efficacité du conseil génétique et diminution du mariage consanguin.
- ❖ La prévalence trouvée dans l'étude de Mme Belhadi Kamilia à Batna en 2010 est de 61.54% sujets atteints de drépanocytose hétérozygote, et de 38.46% sujets atteints de drépanocytose homozygote. (Belhadi, 2010)
- ❖ La drépanocytose est très répandue dans la Région africaine de l'OMS (Weatherall et al., 2006) où l'on enregistre, dans 40 pays au moins, des taux de prévalence du gène  $\beta$ S variant entre 2 % et 30 %, ce qui explique le niveau élevé de la mortalité et de la morbidité dues à la drépanocytose.
- ❖ Les décès dus aux complications de la drépanocytose sont enregistrés essentiellement chez les enfants de moins de cinq ans, les adolescents et les femmes enceintes. (Weatherall et al., 2006) (Dennis et al., 2008)
- ❖ Les symptômes biologiques ou cliniques apparaissent lorsque le profil de l'hémoglobine devient celui de l'adulte, soit vers l'âge de 6 mois à un an (diminution de l'hémoglobine F, hémoglobine adulte avec chaînes  $\beta$  mutées). (Didier, 2001)

- **Les patients drépanocytaires hétérozygotes :**

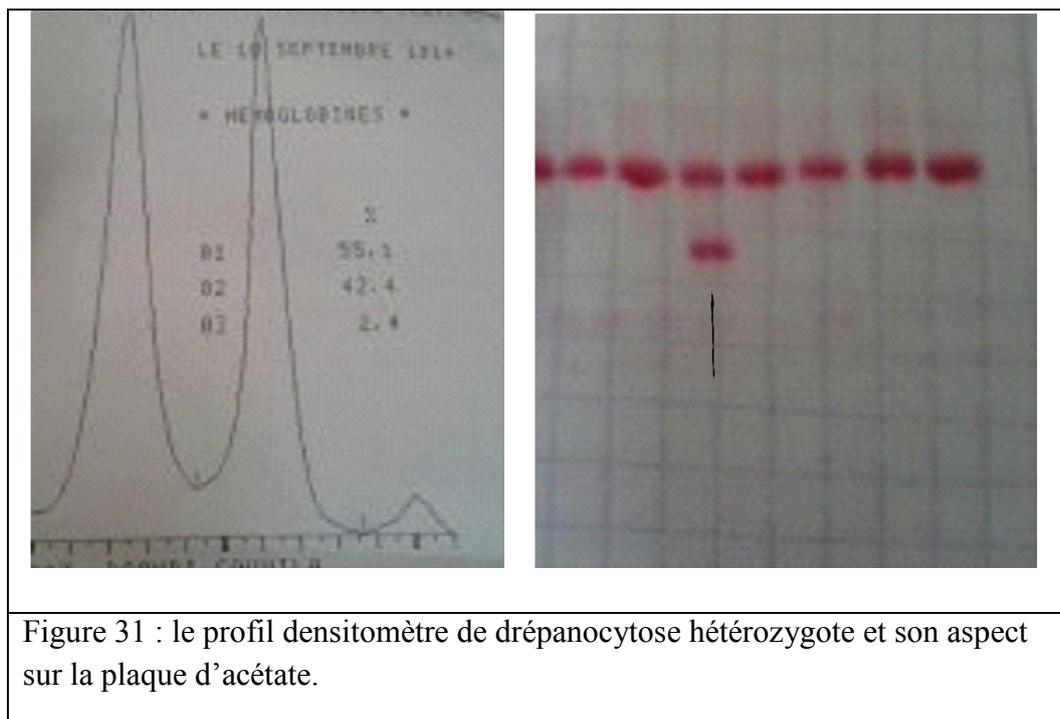
**Tableau VII : répartition des sujets atteints de drépanocytose hétérozygote selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	23	59	82
Fréquence (%)	28.05	71.95	100%

- ❖ On ne constate que 28,05% sujets diagnostiqués avant l'âge de 10ans, tandis que 71.95% sujets ont été diagnostiqués après l'âge de 10 ans.

**Tableau VIII : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints de drépanocytose hétérozygote.**

Effectifs (N=82)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>23 Enfants</b> (≤10 ans)	3.9	10.3	76.2	29.6
<b>32 Adultes</b> (♂)	4.43	13.45	84.4	39.63
<b>27 Adultes</b> (♀)	4.26	11.62	80.3	33.5



- ❖ La drépanocytose hétérozygote est caractérisée par la présence d'Hb A (Cao, 1995 ; Steinberg, 1999). Il est alors important de quantifier les différentes fractions A, A2 et S. (Joutovsky et al., 2004)
- ❖ Les sujets AS ont un hémogramme normal et sont cliniquement asymptomatiques. (Galactéros, 1995)

- ❖ Nos résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine montre une fraction d'hémoglobine A avec un moyen de 56.09 %, une fraction importante d'Hb S de 41.28% et enfin un constituant mineur d'hémoglobine A2 de 2.4%.
- ❖ Selon l'étude de Belhadi Kamilia à Batna en 2010, l'Hb S représente une fraction de l'ordre de 33, 6 % de l'hémoglobine totale. (Belhadi, 2010)
- ❖ Selon les estimations de la « Sickle Cell Association of Ontario », la population noire du Canada s'élève à environ 700 000 personnes porteuses du trait drépanocytaire, et continue d'augmenter. (Richard et *al.*, 1979)
- ❖ Aux Etats-Unis, une famille noire sur 150 est à risque de donner naissance à un enfant souffrant de drépanocytose (environ 3 000 grossesses par année). (Richard et *al.*, 1979)

- **Les patients drépanocytaires homozygotes :**

**Tableau IX : répartition des sujets atteints de drépanocytose homozygote selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	21	7	28
Fréquence (%)	75	25	100%

On constate que 75% des sujets ont été diagnostiqués avant l'âge de 10 ans, et 25% sujets ont été diagnostiqués après l'âge.

**Tableau X : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints de drépanocytose homozygote.**

Effectifs (N=28)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>21 Enfants</b> (≤10 ans)	3.9	8.2	79.4	30.7
<b>3 Adultes</b> (♂)	2.73	6.9	96.3	25.7
<b>4 Adultes</b> (♀)	4.5	7.7	77.7	35.1



Figure 32 : le profil densitométrique de drépanocytose homozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.

- ❖ La drépanocytose est une maladie chronique qui se caractérise par une anémie, des crises vaso-occlusives et des complications infectieuses. Ces manifestations sont la conséquence de la présence d'hémoglobine anormale dans les globules rouges. (Giboyau et *al.*, 2000)
- ❖ Nos résultats indiquent que la drépanocytose homozygote est caractérisée par un taux d'hémoglobine qui se situe entre 6.9 et 8.2 g/dl.
- ❖ L'électrophorèse de l'hémoglobine met en évidence la présence d'hémoglobines S avec un taux moyen de 92.3%.
- ❖ Un taux moyen d'Hb S est de 87.5 % des sujets traités par Belhadi Kamilia à Batna en 2010. (Belhadi, 2010)
- ❖ La découverte d'un sujet homozygote est lors d'une enquête familiale.

- **Les patients atteints du syndrome thalasso-drépanocytaire (S/β thalassémie) :**

**Tableau XI : répartition des sujets atteints de Syndrome thalasso-drépanocytaire (S/β thal) selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	12	4	16
Fréquence (%)	75	25	100%

- ❖ On constate que 25% des sujets ont été diagnostiqués après l'âge de 10 ans.

**Tableau XII : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints du syndrome thalasso-drépanocytaire (S/ $\beta$  thal).**

Effectifs (N=16)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>12 Enfants</b> ( $\leq 10$ ans)	3.79	9.13	77.67	28.34
<b>3 Adultes</b> (♂)	4.76	11.6	70.3	33.53
<b>1 Adultes</b> (♀)	2.65	7.7	87.2	23.1

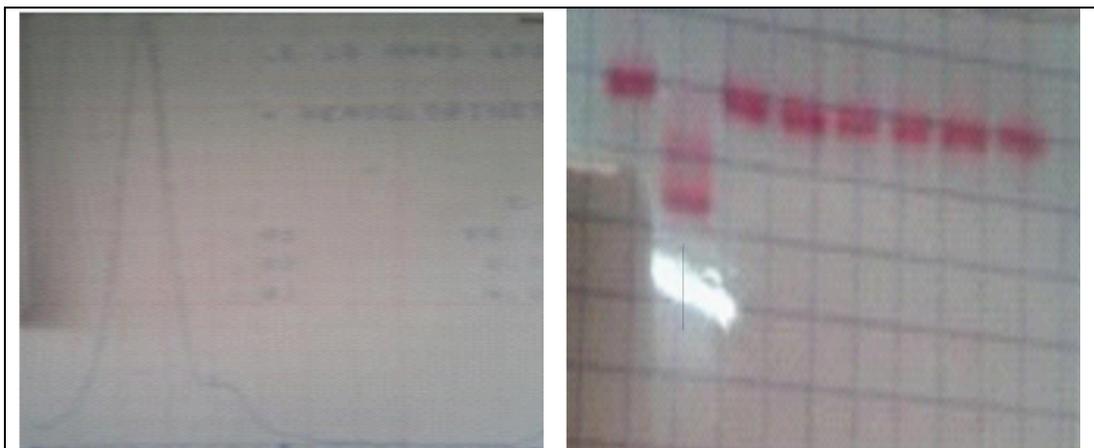


Figure 33 : le profil densitométrique de drépano- $\beta$  thalassémie (S/ $\beta$  thal) et son aspect sur la plaque d'acétate.

- ❖ Le diagnostic est souvent tardif. Une anémie est en fait, d'intensité très variable selon les sujets, cette variabilité étant en partie expliquée par l'existence de  $\beta_0$  thalasso-drépanocytoses et  $\beta^+$  thalasso-drépanocytoses mieux tolérées. (Perrimond, 2000)
- ❖ Le diagnostic repose sur l'exploration des hémoglobines : absence d'Hb A dans la  $\beta_0$  thalasso-drépanocytose, l'hémoglobine S est majoritaire, le taux d'Hb F est variable, l'Hb A2 est modérément augmentée. (Perrimond, 2000)
- ❖ Une anémie sévère observée chez nos patients, révélés par l'hémogramme avec un taux moyen de 9.5 g/dl.

- ❖ L'électrophorèse montre une Hb S avec un taux moyen de 71.19%, 15.95% pour l'Hb F, avec une Hb A2 estimée à 3.68%.
- ❖ L'exploration des parents retrouve un trait thalassémique chez l'un, le trait drépanocytaire chez l'autre.
- ❖ L'existence du syndrome S/β thal avec une fréquence de 7.3% au Bamako à partir d'étude réalisé par Mody Coulibaly en 2009 sur 233 enfants drépanocytaires. (Mody, 2009)

- **Les patients atteints du syndrome hétérozygote composite (S/C) :**

On a eu deux cas de syndrome hétérozygote composite (S/C), il s'agit de deux enfants, l'un âgé à 10 ans, et l'autre à 3 ans.

**Tableau XIII : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints du syndrome hétérozygote composite (S/C).**

Effectifs (N=2)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>Le patient âgé à 3 ans</b>	3.05	8	80.3	24.5
<b>Le patient âgé à 10 ans</b>	3.95	10.4	79	31.2

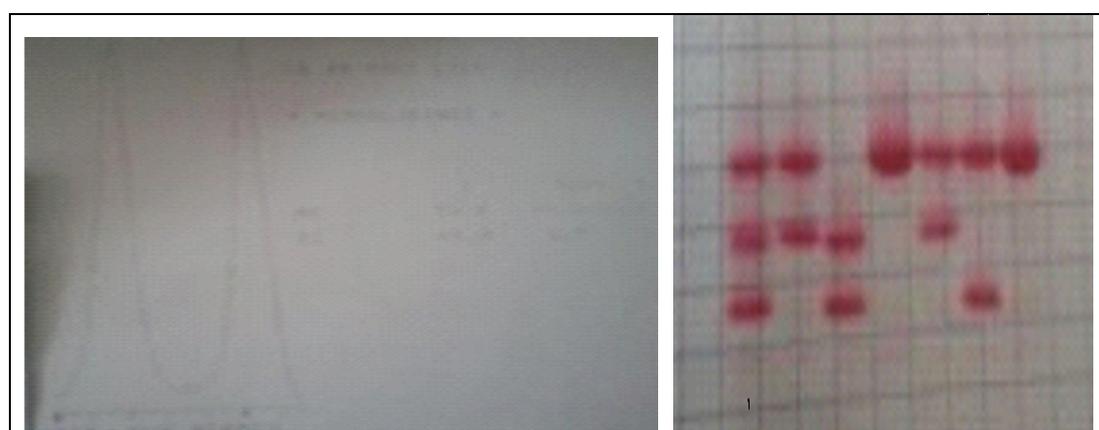


Figure 34 : le profil densitométrique de drépano-hémoglobinoses C (S/C) et son aspect sur la plaque d'acétate

- ❖ L'hémogramme de ces deux sujets révèle une anémie à un taux d'Hb de 8 g/dl pour le premier patient, et de 10.4 pour le deuxième patient.
- ❖ Parmi 327 sujets hémoglobinopathiques, on a deux cas de syndrome S/C soit une fréquence de 2%.
- ❖ L'électrophorèse montre une Hb S avec un taux moyen de 49.2%, 45.3% pour l'Hb C.
- ❖ La forme double hétérozygote S/C représenté dans l'étude de Mody Coulibaly en 2009 sur 233 enfants drépanocytaires avec une fréquence de 27,5%. (Mody, 2009)
- ❖ une autre étude faite par Ouédraogo à Burkina Faso en 2009 sur 1451 patients, dont Cent quarante-deux (51,30 %) avaient une hémoglobinopathie dont 7,60 % une forme hétérozygote composite SC. (Ouédraogo et *al.*, 2009)

### III.6. Les patients présentant une hémoglobinose C :

- Répartition des patients présentant une hémoglobinose C selon le génotype :

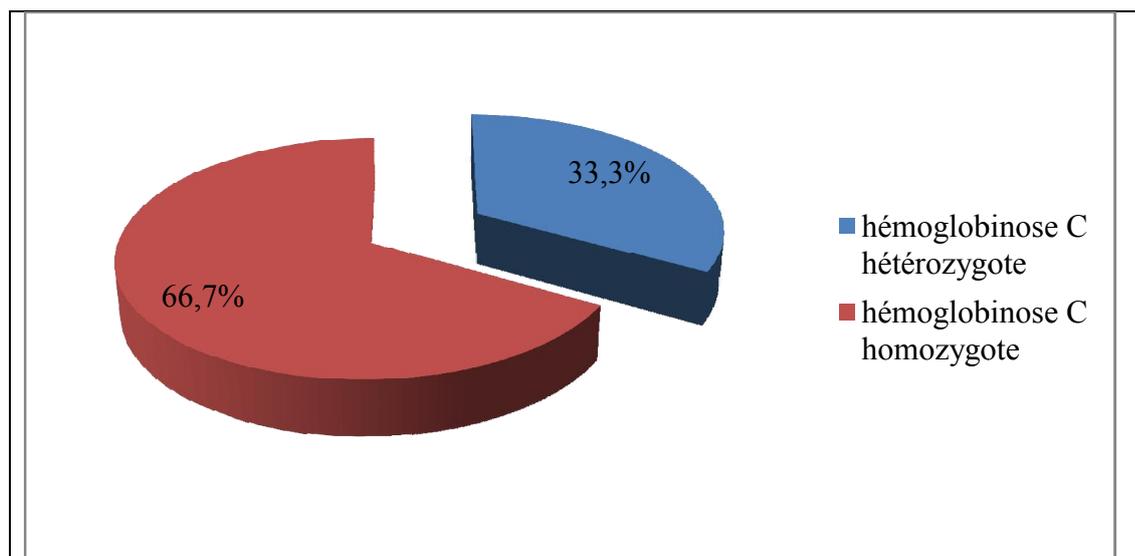


Figure 35 : Répartition des patients présentant une hémoglobinose C selon le génotype

- ❖ Parmi 327 malades, on constate 12 sujets atteints d'hémoglobinose C, dont 33.3% patients hétérozygotes et 66.7 patients homozygotes.
- ❖ L'hémoglobinose C, est représentée chez les Africains mais aussi chez les Noirs américains et les Maghrébins (Rosa et *al.*, 1993).

- ❖ L'étude de Belhadi Kamilia à Batna en 2010, révèle une prévalence de 1% d'hémoglobinoses C hétérozygotes. (Belhadi, 2010), tandis que l'étude de Séidina Aboubacar à BAMAKO en 2004 sur 54 échantillons traités d'hémoglobine dont le phénotype (AA-AC-CC) avec une prévalence de 71.43% d'hémoglobinoses C hétérozygotes, et 28.57% d'hémoglobinoses C homozygotes. (Séidina, 2004)
- ❖ Le variant Hb C (sous forme hétérozygote et homozygote) vient en deuxième position avec une prévalence de 4,4%, selon l'étude de Dr Khadijetou BA à Nouakchott ; 2013. (Khadijetou, 2013)
- **Les patients atteints d'hémoglobinoses C hétérozygotes :**
  - ❖ On a eu quatre cas de syndrome d'hémoglobinoses C hétérozygotes qui sont âgés plus de dix ans.
  - ❖ On constate que 100% de ces sujets ont été diagnostiqués après l'âge de 10 ans.

**Tableau XIV : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'hémoglobinoses C hétérozygotes.**

Effectifs (N=4)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>3 Adultes</b> (♂)	5,1	12,6	72,7	36.6
<b>1 Adulte</b> (♀)	4,47	11,4	66	32,6

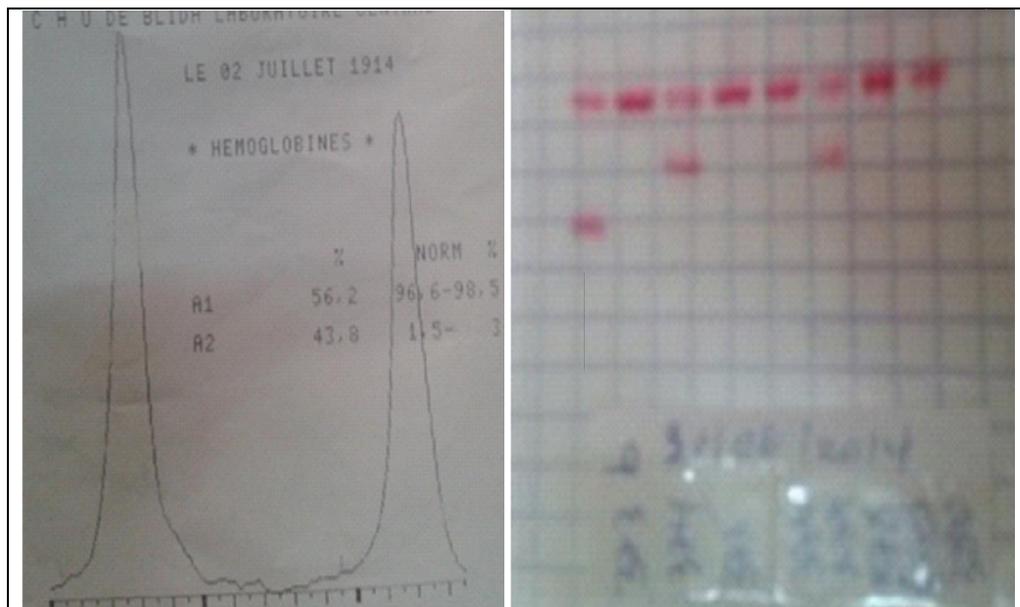


Figure 36 : le profil densitométrique d'hémoglobine C hétérozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.

- ❖ Les personnes atteintes d'hémoglobine C hétérozygotes en général ont une espérance de vie comparable à celle de la population générale. (Beatrice et Patricia, 2008)
- ❖ Ils ne manifestent aucun symptôme de la maladie, à l'exception du risque génétique de transmettre le gène anormal à chaque procréation (Oda et *al.*, 1997)
- ❖ On constate une anémie modérée chez nos patients avec un taux moyen d'hémoglobine de 12 g/dl.
- ❖ L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin révèle une bande qui migre au même niveau que la fraction A2 avec un taux moyen de 40.8%, ce taux reflète la somme des deux fractions Hb A2+Hb C.
- ❖ Selon l'étude de Belhadi Kamilia à Batna en 2010, la prévalence de l'hémoglobine C hétérozygote est de 2%. (Belhadi, 2010)
- ❖ selon l'étude de Sadio Keita, en 2005, au Mali, 30 sujets (12%) avaient une hémoglobine AC. (Sadio, 2006)

- **Les patients atteints d'hémoglobinoses C homozygotes :**

**Tableau XV : répartition des sujets atteints de syndrome d'hémoglobinoses C homozygotes selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	2	6	8
Fréquence (%)	25	75	100%

❖ On constate 75% des sujets ont été diagnostiqués après l'âge de 10 ans.

**Tableau XVI : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'hémoglobinoses C homozygotes.**

Effectifs (N=8)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>2 Enfants (≤10 ans)</b>	3.54	9.65	81.85	29
<b>3 Adultes (♂)</b>	4.61	13.03	81.73	37.66
<b>3 Adultes (♀)</b>	3.98	10.43	83.43	32.26

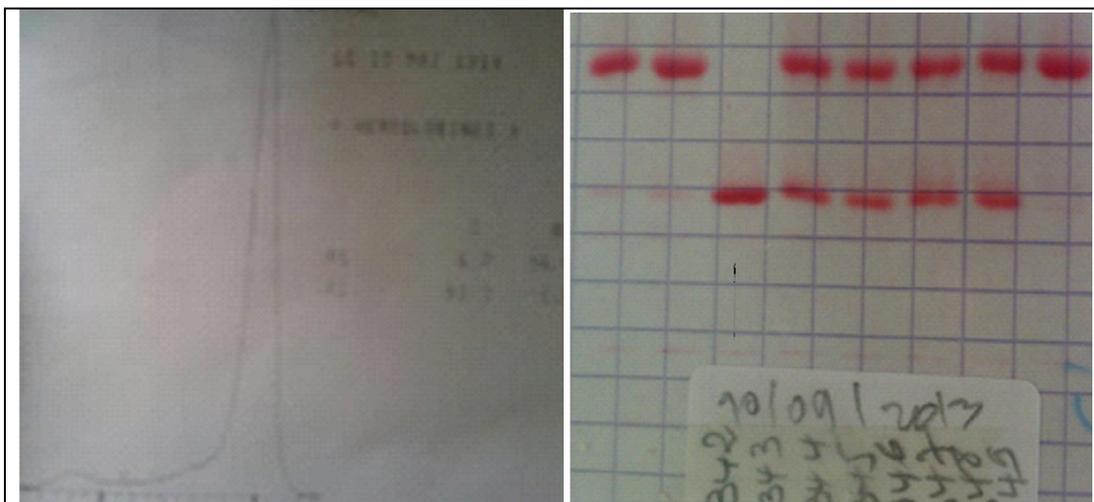
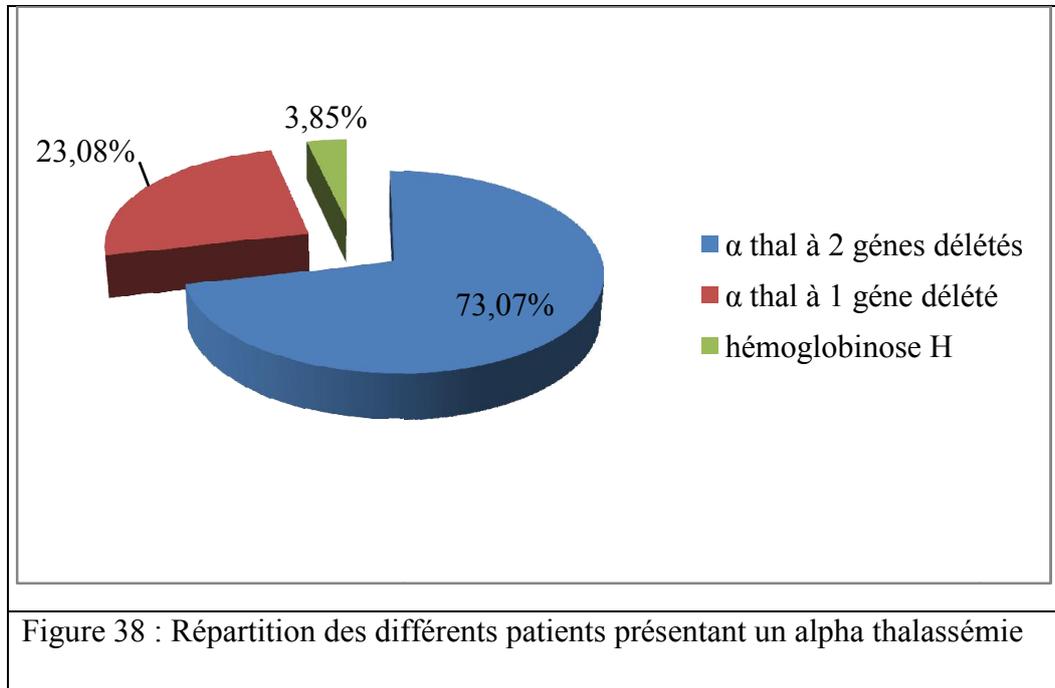


Figure 37 : le profil densitométrique d'hémoglobine C homozygote et son aspect sur la plaque d'acétate.

- ❖ La majorité des personnes qui ont une hémoglobine C homozygote présentent une anémie hémolytique modérée et une espérance de vie comparable à celle de la population générale. (Beatrice et Patricia, 2008)
- ❖ L'hémogramme révèle une anémie modérée avec un taux d'hémoglobine moyen de 11.2g/dl, et l'électrophorèse de l'Hb révèle un taux majoritaire de 84.5% qui reflète la somme entre l'Hb C et l'Hb A2.
- ❖ une étude faite par Ouédraogo à Burkina Faso en 2009 sur 1451 patients, révèle la prévalence de 5 sujets homozygotes CC (1,80%). (Ouédraogo, 2009)

### III.7. Les patients atteints d'alpha thalassémie

- Répartition des patients atteints d'alpha thalassémie



- ❖ On constate que 23,08% des sujets sont atteints d'un alpha thalassémie à un gène délété, et 73,07% à deux gènes délétés, 3,85 % malades d'hémoglobinoase H.
- ❖ Selon l'étude de Pouiré Yameogo en 2009 sur des femmes enceintes atteintes d'un alpha thalassémie au centre médical SAINT CAMILLE de OUAGADOUGOU révèle la présence de 8 individus soit 16 % des sujets sont susceptibles d'avoir une anomalie de synthèse de l'hémoglobine alpha thalassémie, et 84 % seraient des sujets non alpha thalassémiques. (Pouiré, 2009)

- Les patients atteints d'alpha thalassémie par un gène délété :

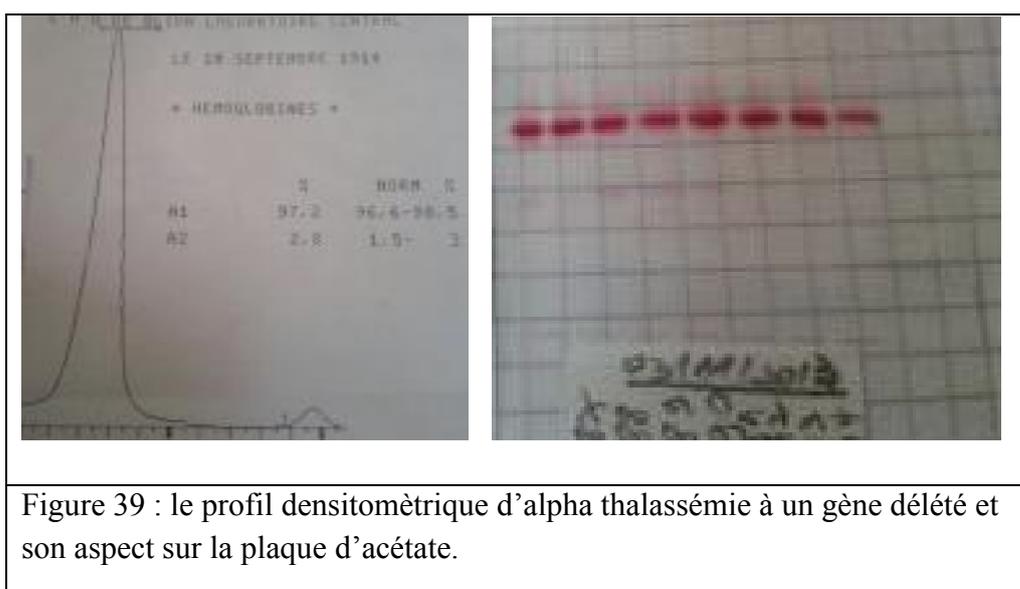
**Tableau XVII : répartition des sujets atteints d'alpha thalassémie par un gène délété selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	3	3	6
Fréquence (%)	50	50	100%

- ❖ On constate que même fréquence de 50% des sujets ont été diagnostiqués avant et après l'âge de 10 ans.

**Tableau XVIII : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'alpha thalassémie par un gène délété.**

Effectifs (N=6)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>3 Enfants (≤10 ans)</b>	3.27	9.1	72.43	27.2
<b>1 Adulte (♂)</b>	5.24	9.2	62.2	32.8
<b>2 Adultes (♀)</b>	4.45	9.35	71.05	31.7



- ❖ Le trait  $\alpha$  thalassémie (hétérozygote) est sans manifestations clinicobiologiques.
- ❖ L'électrophorèse de l'Hb de nos patients montre un taux d'Hb A2 inférieur avec une moyenne de 1,9%.
- ❖ Selon l'étude de Pourié Yameogo en 2009 chez des femmes enceintes atteintes d'un alpha thalassémie révèle la présence de 7 sujets atteints d'alpha thalassémie à un gène délété avec une prévalence de 14 %. (Pourié, 2009)
- ❖ Une microcytose apparaît dans 50% des cas environ selon l'étude de (Galacteros, 2000).

- Les patients atteints d'alpha thalassémie par deux gènes délétés :

**Tableau XIX : répartition des sujets atteints d'alpha thalassémie par deux gènes délétés selon la tranche d'âge.**

Effectifs	[0-10] ans	[10 et plus]	total
nombre	12	7	19
Fréquence (%)	63.16	36.84	100%

- ❖ On constate que 36.84% sujets ont été diagnostiqués après l'âge de 10 ans, et 63,16% sujets ont été diagnostiqué avant l'âge de 10 ans.

**Tableau XX : les valeurs moyennes de l'hémogramme des sujets atteints d'alpha thalassémie par deux gènes délétés.**

Effectifs (N=19)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>12 Enfants (≤10 ans)</b>	5.13	10.86	69.18	35.43
<b>4 Adultes (♂)</b>	6.55	12.55	66.97	43.92
<b>3 Adultes (♀)</b>	5.39	10.4	69.53	37.4

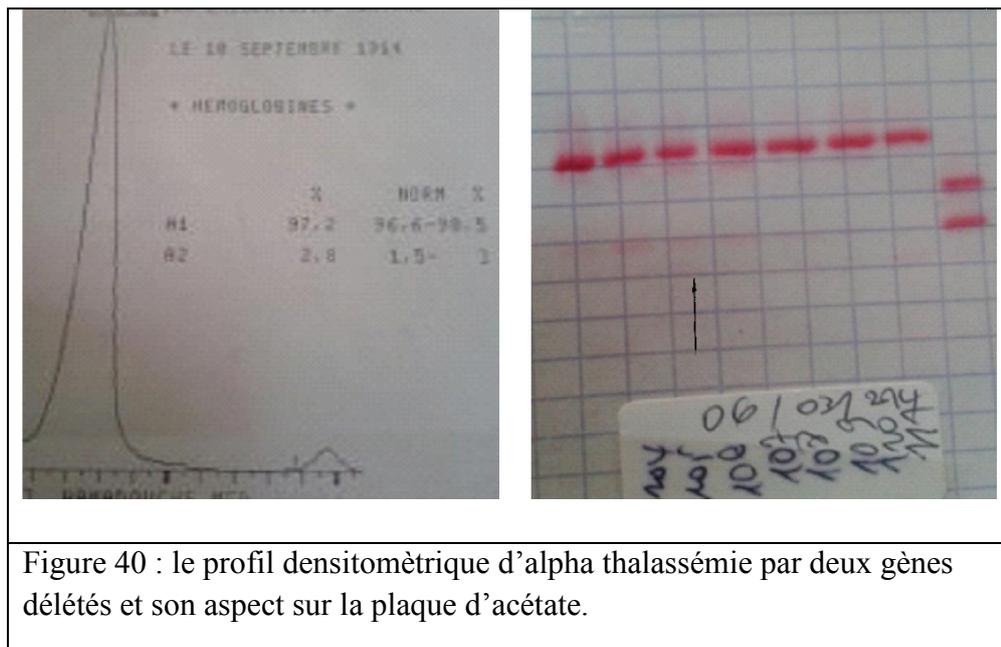


Figure 40 : le profil densitométrique d’alpha thalassémie par deux gènes délétés et son aspect sur la plaque d’acétate.

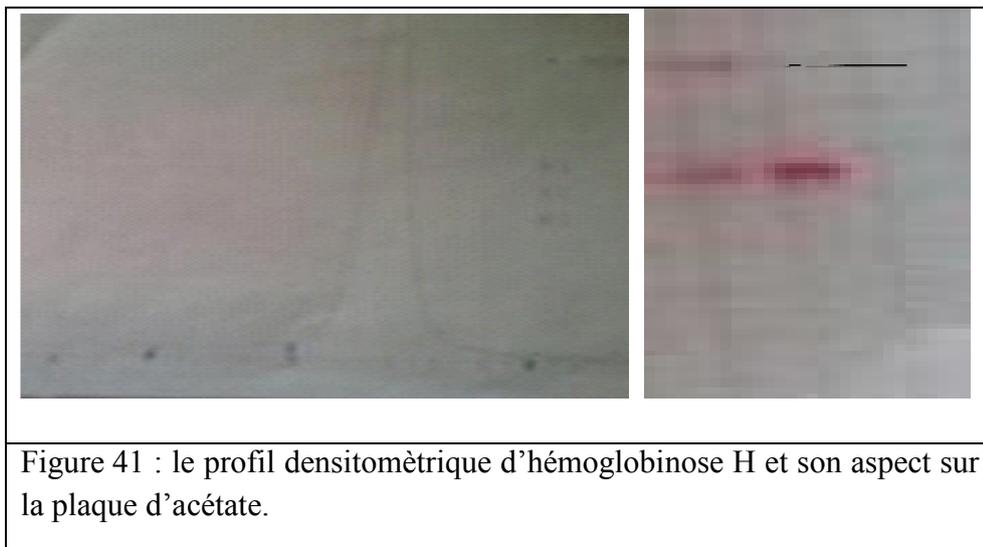
- ❖ l’examen du frottis sanguin révèle, outre la microcytose, une hypochromie et l’existence de cellules cible. Il peut apparaître une légère anémie chronique dans la moitié des cas (Galacteros, 2000).
- ❖ Dans la plus part des cas, il est détecté une diminution de l’Hb A2, la présence d’une petite quantité d’hémoglobine Bart’s à la naissance, associée à une pseudopolyglobulie microcytaire hypochrome. (Michel, 2007)
- ❖ L’électrophorèse de l’Hb de nos sujets montre un taux d’Hb A2 à une limite inférieure avec une moyenne de 2,2%.
- ❖ Selon l’étude de Pourié Yameogo en 2009 sur des femmes enceintes atteintes d’un alpha thalassémie révèle la présence d’un seul sujet atteint avec prévalence de 2 %. (Pourié, 2009)

- **Les patients atteints d'hémoglobinoses H :**

Parmi 327 malades, on a un seul sujet atteint d'hémoglobinoses H ( $\alpha$  thalassémie à 3 gènes délétés), détecté chez une patiente âgée de 24 ans, présentant une anémie chronique.

**Tableau XXI : les valeurs moyennes de l'hémogramme d'un sujet atteint d'hémoglobinoses H.**

Effectifs (N=1)	Taux de GR moyen (m/ul)	Taux d'Hb moyen (g/dl)	VGM moyen (fl)	Ht (%)
<b>Sujet atteint d'hémoglobinoses H</b>	4.88	10.1	70.5	34.4

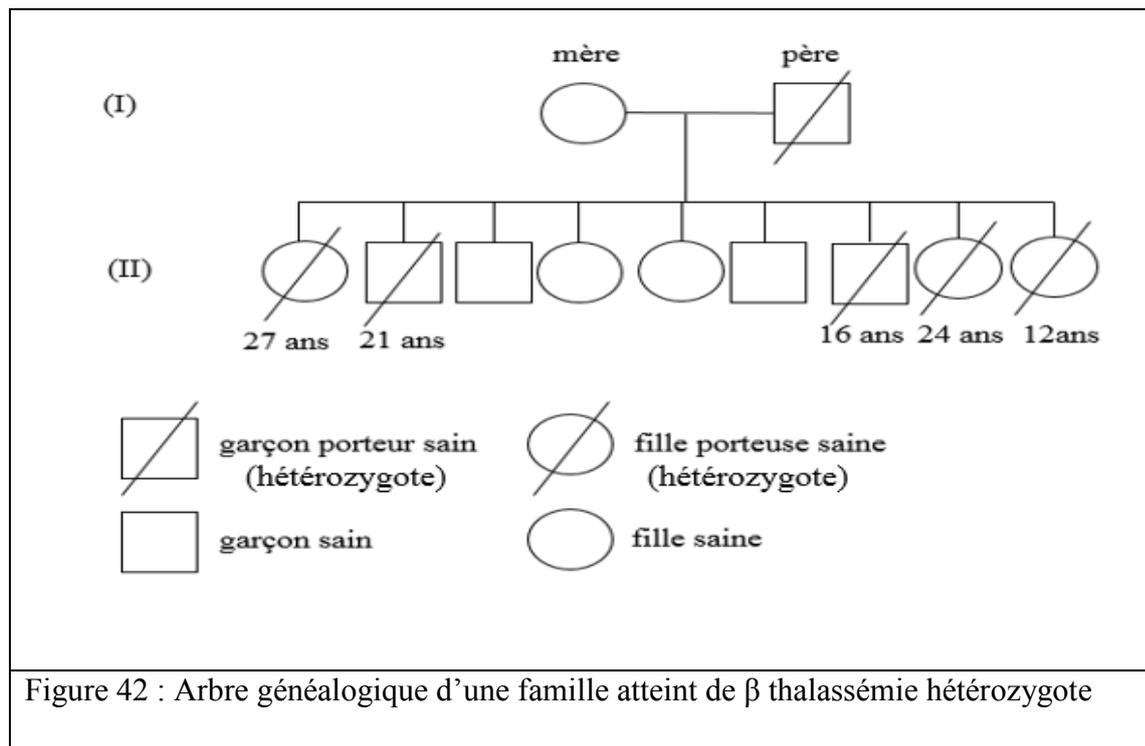


- ❖ L'hémoglobine est produite à un taux faible. C'est une affection relativement bénigne. Dans de rares cas, une anémie sévère peut exister. (Beatrice et Patricia, 2008)
- ❖ Une anémie hémolytique avec microcytose et hypochromie (Hb = 3 à 10 g/dl). (Vinatier, 2006)
- ❖ Des altérations de la morphologie érythrocytaire sur le frottis sanguin (anisocytose, hypochromie). (Wajeman et al., 1992).
- ❖ L'électrophorèse de l'Hb de notre patiente montre un taux d'Hb A2 à limite inférieure révélé par 1.3%, et un taux d'Hb H de 9.8%.

- ❖ En France, l'hémoglobine H est un syndrome thalassémique rare dont la prévalence est difficile à estimer. (Vinatier, 2006), et il est extrêmement rare en Afrique noire, tandis qu'elle est fréquente en Asie avec une prévalence de 35% et dans les populations méditerranéennes (10%). (Galacteros, 2000).

### III.8. Exemples d'arbres généalogiques de deux familles atteintes d'hémoglobinopathie parmi les sujets étudiés :

- 1er cas : Une famille présentant une  $\beta$  thalassémie hétérozygote :



Comme indiqué sur l'arbre généalogique familial (figure 42), cinq personnes souffrent de la maladie de  $\beta$  thalassémie hétérozygote (trois jeunes filles, et deux garçons.) la plus jeune à 12 ans et la plus âgée à 27 ans, et quatre personnes saines.

### **Les sujets béta thalassémiques hétérozygotes :**

- **-1<sup>ère</sup> jeune fille : 12ans ;**  
**Hb : 9.8g/dl- GR : 5.29- VGM : 63.3- HCT : 33.5**  
**A : 93.7 -F : 2 -A2 : 6.3**
  
- **- 2<sup>ème</sup> jeune fille : 24 ans ;**  
**Hb : 10.1g/dl- GR : 5.11- VGM : 64.6- HCT : 33**  
**A : 92.4 -F : 2.3 -A2 : 6.5**
  
- **-3<sup>ème</sup> jeune fille : 27 ans ;**  
**Hb : 10.7g/dl- GR : 5.54- VGM : 64.8- HCT : 35.9**  
**A : 93.7 -F : 1.3 -A2 : 6.2**
  
- **-1<sup>er</sup> garçon : 16 ans ;**  
**Hb : 11.7g/dl- GR : 6.14- VGM : 64- HCT : 39.3**  
**A : 93.8 -F : 1.3 A2 : 6.2**
  
- **-2<sup>ème</sup> garçon : 21 ans ; fille porteuse saine**  
**Hb : 11.9g/dl- GR : 6.45- VGM : 63.3- HCT : 40.8-**  
**A : 94 -F : 1.9 -A2 : 6**

**L'hémoglobine : A - F et A2 :** sont en faveur les éléments du diagnostic de beta -thalassémie hétérozygote.

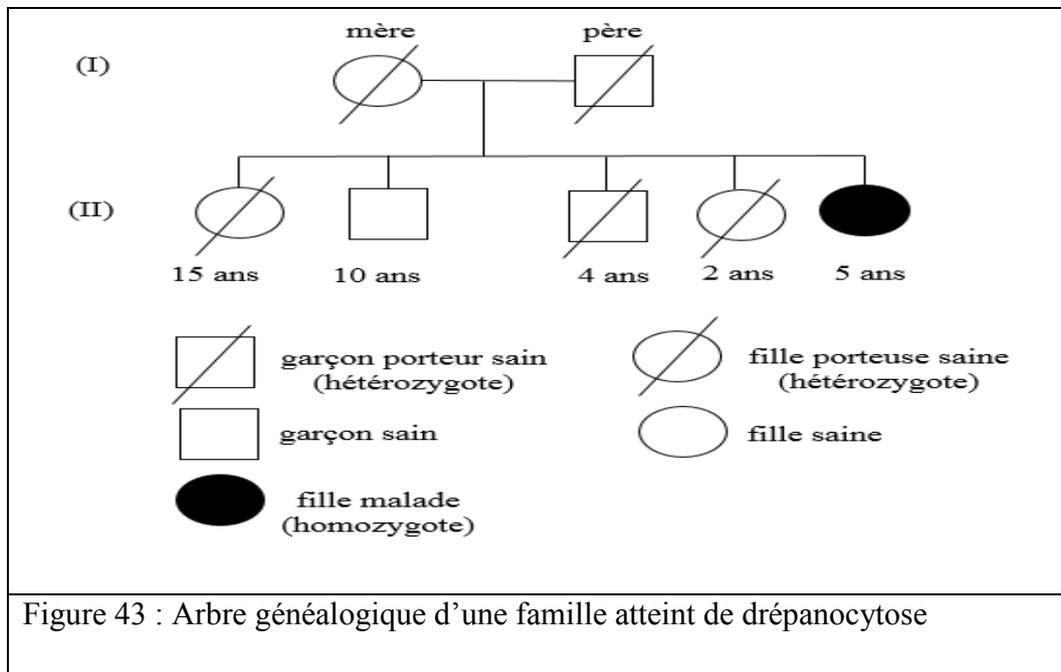
L'élévation de l'Hb A2 de 6 à 6,5 %, mimant une  $\beta$  thalassémie hétérozygote.

L'enquête familiale révèle que le père est également porteur de la même anomalie. La mère est indemne de toute anomalie de la numération sanguine et l'étude de l'hémoglobine est normale chez elle.

L'intérêt de ce diagnostic est qu'il permet d'éviter au sujet des traitements intempestifs par du fer.

Lorsque le diagnostic est porté chez l'un des membres d'un couple, il est indispensable de contrôler la numération sanguine et l'étude de l'hémoglobine du conjoint à la recherche d'une thalassémie ou d'une autre hémoglobinopathie dont l'association pourrait être responsable d'une pathologie sévère. Si le conjoint est aussi porteur d'une pathologie de l'hémoglobine, le conseil génétique devra déterminer le risque pour la descendance et proposer, si la famille le souhaite, une étude moléculaire en vue d'un diagnostic prénatal lors d'une future grossesse.

➤ **2<sup>ème</sup> cas : Une famille présentant une drépanocytose.**



Comme indiqué sur l'arbre généalogique familial (figure 43), quatre personnes souffrent de la maladie de drépanocytose (trois filles, et un garçon.) la plus jeune à 2 ans et le plus âgés à 15 ans, et une personne saine à 10 ans.

➤ **1<sup>ère</sup> fille : 2 ans ; cas hétérozygote**

**Hb : 7g/dl- GR : 2.62- VGM : 82.4- HCT : 21.6**

**A1 :57.4- S : 39.4- A2 : 3.1**

- **2<sup>ème</sup> fille** : 5 ans ; cas homozygote  
**Hb** : 6.8g/dl- **GR** : 2.56- **VGM** : 83.6- **HCT** : 21.4  
**F** : 9.6- **S** : 86.9- **A2** : 3.4
  
- **3<sup>ème</sup> fille** : 15 ans ; cas hétérozygote  
**Hb** : 9.9g/dl- **GR** : 4.32- **VGM** : 71.3- **HCT** : 30.8  
**A1** :56.5- **S** : 41.5- **A2** : 2
  
- **1<sup>er</sup> garçon** : 4 ans ; cas hétérozygote  
**Hb** : 13.4g/dl- **GR** : 5.41- **VGM** : 78- **HCT** : 42.2  
**A1** : 55.8- **S** : 41.9- **A2** : 2.2
  
- **2<sup>ème</sup> garçon** : 10 ans ; cas normal  
**Hb** : 12.5g/dl- **GR** : 4.56- **VGM** : 82- **HCT** : 37.4  
**A1** :97.4-**F** : 0.1 - **A2** : 2.6

La transmission du gène  $\beta S$  muté, obéit aux lois de Mendel et se transmet sous le mode récessif et autosomique. La transmission du gène  $\beta S$  par les deux géniteurs détermine le génotype SS chez l'enfant.

Les transmetteurs possèdent deux gènes  $\beta$  globine codominants, le normal  $\beta A$ , l'autre muté  $\beta S$ . Chacun des gènes codera pour la synthèse d'hémoglobine en quantité équivalente, une normale, une mutée. Donc les parents sont hétérozygotes pour l'hémoglobine S.

Une éducation thérapeutique est à proposer à l'enfant. Elle a pour but de lui permettre de se familiariser avec la prise en charge de sa maladie. Elle est à adapter à l'âge de l'enfant et aux caractéristiques cliniques du syndrome drépanocytaire majeur.

### **III.9. Conseils génétiques :**

La stratégie la plus efficace par rapport à son coût pour réduire la fréquence des hémoglobinopathies consiste à :

- ❖ compléter la prise en charge par des programmes de prévention.
  
- ❖ Des tests sanguins fiables et peu coûteux permettent de déterminer si un couple risque de donner naissance à des enfants malades.

- ❖ Le dépistage génétique est particulièrement opportun avant le mariage ou la grossesse car les couples peuvent ainsi débattre de la santé de leurs futurs enfants.
  
- ❖ Les services de conseil informent les porteurs du trait génétique des risques pour leurs enfants, du traitement dont ceux-ci auront besoin s'ils sont atteints d'une hémoglobinopathie et des solutions qui s'offrent au couple.
  
- ❖ Le dépistage prénatal des maladies génétiques pose des problèmes éthiques, juridiques et sociaux qui doivent être dûment pris en considération.

## **Conclusion :**

Les hémoglobinopathies correspondent aux anomalies génétiques qui touchent la partie protéique de l'Hb, Les sujets hétérozygotes sont généralement asymptomatiques mais les sujets homozygotes ou hétérozygotes composites sont exposés à des complications sévères voire mortelles.

Le diagnostic précoce des hémoglobinopathies est très important dans le but d'optimiser la prise en charge de personnes atteintes de formes majeures et la prévention de la survenue de la forme homozygote grave dans le cadre du conseil génétique.

Notre travail nous a permis de conclure que :

- ❖ La fréquence des hémoglobinopathies dans région de Blida est de 38,47% par rapport 850 sujets étudiés.
- ❖ Les différents types d'hémoglobinopathies retrouvés dans cette région sont :  

Les syndromes thalassémiques alpha et bêta, la drépanocytose, et les associations composites (S/ $\beta$  thalassémie)-(S/C), et l'hémoglobinoase C.
- ❖ La bêta thalassémie est le syndrome le plus fréquent avec une fréquence de 49,24%.
- ❖ Les formes homozygotes et les hétérozygotes composites (S/C) sont rares.
- ❖ L'électrophorèse à pH alcalin reste une technique de dépistage, la nature exacte d'une hémoglobine anormale ne peut être affirmée par cette seule technique ; et il est nécessaire de l'interpréter en confrontant les résultats au tableau clinique et aux signes biologiques.
- ❖ Dans le cadre d'un conseil génétique, lorsqu'est détectée une anomalie de l'hémoglobine chez un parent, il est important que l'autre parent soit examiné.



## Référence :

- 1-André, C.E.S. (1999).** Déficit en G-6-PD chez les drépanocytaires : Prévalence et influence sur le profil évolutif. Thèse de doctorat. Université de Dakar (SENEGAL)
- 2-Beatrice, G et Patricia, A.M. (2008).** *Enerca is a project in the Health Programme 2008 of the European Commission.*
- 3-Belhadi, K. (2011).** Etude des hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna. Mémoire de MAGISTER. Université de Batna.
- 4-Bernard J., Levy J.P., Varet B., Claurel J.P., Rain J.D., Sultant Y., (1998).** Abrégés d'hématologie.- 9 è édition.- Paris : Manson.
- 5-Bernard J., Ruffie J. (1966).** Hématologie géographique. Editions MASSON et Cie, Paris VI, p.56-57
- 6-Cao A., Galanello R., Rosatelli MC. (1995).** Pathologie moléculaire et diagnostic de la bêta-thalassémie intermédiaire. *Hématologie* ; 4 : 289-94.
- 7-Clarke GM et Higgins T. ( 2000).** Laboratory Investigation of hemoglobinopathies and thalassemas: review and update. *ClinChem*; 46 : 1284-90.
- 8-Couque, N et DE Montalembert, M. (2013).** *Diagnostic d'une hémoglobinopathie. HÉMATOLOGIE Hémoglobinopathies:31.*
- 9- Dennis-Antwi JA et al. (2008).** Healthcare provision for sickle cell disease: challenges for the African context. *Diversity in Health and Social Care* -5 :241–54.5.
- 10-Didier, G. (2001).** Hémoglobinopathies en pratique médicale courante. *Boulevard de Waterloo, 100-103 - 1000 Bruxelles-* 3543/4.
- 11-Djamaa, I. (2012).** Mise au point de la DGGE en vue du diagnostic des bêta thalassémies et drépanocytose. Thèse de Magister. Université de Tlemcen.
- 12-Françoise B. (2004).** Options thérapeutiques dans la drépanocytose. *Rev Prat* 2004 ; 54 : 1557-67
- 13-Frenette, P.S. et atweh, G.F (2007).** Sickle cell disease : old discoveries, new concepts, and future promise. *J Clin Invest* 117 (4) : 850-8.

**14-Galactéros F. (2000).** alpha thalassémie. Orphanet net, <http://www.orpha.net/data/patho/FR/fr-alphathala.pdf>.

**15-Galactéros F. (1995).** Drépanocytose. Physiopathologie et diagnostic. Rev Prat ; 45: 351.

**16-Georges, H. (1996).** *Biochimie humaine : introduction biochimique à la médecine interne.* De Boek & Larcier s.a. Université de Liège.

**17-Giambonaa Lo., Gioco P., Marino M et al. (1995).** The great heterogeneity of thalassemia molecular defects in Sicily. Hum Genet ; 95:526-30.

**18-Giboyau J., Merle S et Rosine J. (2000).** drépanocytose en Martinique. *OMS Flach n 24 et 25.*

**19-Girot R. (1999).** Thalassémie, drépanocytose. Physiopathologie et diagnostic.Rev Prat ; 49 : 667-674.

**20- HAS (Haute Autorisation de Santé). (2010).** Syndromes drépanocytaires majeurs de l'enfant et de l'adolescent. *Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare.*

**21- HAS (Haute Autorisation de Santé). (2008).** Syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires. *Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare.*

**22-Hussein Mohammed, H. (1997).** Génétique moléculaire des hémoglobinopathies à Oman. Diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, laboratoire de Biologie Moléculaire EPHE (Science de la vie et de la terre), pharmacogénétique et Abords Thérapeutiques des Maladies Héritaires INSERM U 458.

[http://www.academia.edu/4799970/Genetique\\_Moleculaire\\_des\\_Hemoglobinopathies\\_a\\_Oman](http://www.academia.edu/4799970/Genetique_Moleculaire_des_Hemoglobinopathies_a_Oman)

**23-Vinatier I. (2006).** Recommandations pour la mise en œuvre et l'interprétation de l'étude de l'hémoglobine. *Haemoglobinopathy diagnosis, 2, 3-28.*

**24-Joutovsky A., Hadzi-Nesic J et Nardi MA. (2004).** HPLC retention time as a diagnostic tool for hemoglobin variants and hemoglobinopathies : a study of 60 000 samples in a clinical diagnostic laboratories. Cli. Chem; 50, 10, 1736-1747.

- 25-Khadijetou, B. (2013).** Etude épidémiologique des hémoglobinopathies chez les femmes enceintes en consultation prénatale dans les centres de santé de Sebkha et Teyarett à Nouakchott. Master de santé publique. Université de Nouakchott.
- 26-Labie D, et Elion J. (2005).** Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC-Hématologie 2* 220–239.
- 27-Mac Donald CB., Bauer PW., Cox LC., Mac., Mahon L. (1999).** Otologic findings in a pediatric cohort with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngology*; 47 : 23-28.
- 28-Marie, S. (2012).** Complémentarité des techniques d'électrophorèse capillaire et de CLHP dans le diagnostic des hémoglobinopathies. Thèse de doctorat. Université de Lille.
- 29-Maurizio De Caterina, Pasquale Esposito, Ernesto Grunaldi, Giosu {233} Di Maro, Franco Scopacasa, Pasquale, Ferranti, 1 Anna Parlaplano, Antonio Malorni. (1992).** Characterization of Hemoglobin Lepore Variants by Advanced Mass-Spectrometric Procedure. , "3 and Gennaro Marlno"2- *CLIN.CHEM.*38/8, 1444-1448.
- 30-Michel, V. (2007).** *Biochimie, Hématologie.* Wolters Kluwer SA, Paris.
- 31-Mody, C. (2009).** Les caractéristiques cliniques de la forme SC chez l'enfant drépanocytaire dans les services de pédiatrie du CHU GT et CHME de 2004 à 2007.
- 32-Oda RP et al. (1997).** Capillary electrophoresis as a clinical tool for the analysis of protein in serum and other body fluids. *Electrophoresis*, 18,1715-1723.
- 33-OMS. (2011). **Drépanocytose et autres hémoglobinopathies.**
- 34-OMS, (2006).** Thalassémie et autres hémoglobinopathies, CONSEIL EXECUTIF Cent dix-huitième sessions 5.2 de l'ordre du jour provisoire.
- 35-Ouédraogo D.D., Nacoulma E.W.C., Kafando E., Ouédraogo A., Tiéno H., Koulidiaty J., 33-36-Drabo J.Y. (2009).** Pathologies rhumatologiques et hémoglobinopathies à Ouagadougou (Burkina Faso). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* DOI 10.1007/s13149-010-0052-1
- 37-Perrimond, H. (2000).**  $\beta$ -thalassémie – manifestations cliniques. *Drépanocytose et  $\beta$ -thalassémie- n°2292/drépano.* Paris.

**38-Pouiré, Y. (2009).** Contribution à l'étude des paramètres hématologiques chez les femmes enceintes atteintes d'un alpha thalassémies au centre médicale SAINT CAMILLE DE OUAGADOUGOU. Mémoire d'Etudes Approfondies en Biotechnologies. Université d'OUAGADOUGOU.

**39-Richard B., Goldbloom O.C., MD et FRCPC. (1979).** Dépistage des hémoglobinopathies au Canada.

**40-Riou J., Godart C., Mathis M., Hurtrel D., Wajcman H., Préhu C et Bardakdjian J. (2005).** Evaluation of the Bio-Rad VARIANT II HbA2/HbA1C Dual Program for measurement of hemoglobin concentrations and detection of variants. Clin Chem Lab Med ; 43 (2) : 237-43.

**41-Rosa J., Wajcman H et Blouquit Y. (1993).** Hémoglobine. EncyclMédChir, Hématologie ; 13000-S-10, 14 p.

**42-Sadio, K. (2006).** Implication de la supplémentation martiale chez des enfants d'âge scolaire anémiques et porteurs d'hémoglobinopathies S & C au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako.

**43-Séidina, A.S. (2004).** Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves de paludismes A P.Falciparum : Résultats d'études préliminaires in vitro. Thèse de doctorat. Université de Bamako.

**44-Steinberg MH. ( 1999).** Management of sickle cell disease. N Engl J Med ; 340: 1021-30.

**45-Terkia, m. (2008).** Modélisation mathématique et simulation numérique de la polymérisation de l'hémoglobine drépanocytaire. Thèse de doctorat. Université de Paris XII.

**46-Ulukutlu L., Ozsahin H., Wilson J.B., Webber B.B., Hu H., Kutlar F., Huisman T.H.J et Brockton H.B. – ( $\alpha 2 \beta 2138$  (H16) ALA.PRO) observed in a turkish girl. Hemoglobin, 13(5) : 509-513.**

**47-Wajcman H., Riou J., Tapo AP. (2002).** Globin chain analysis by reversed phase high performance liquid chromatography: recent developments. *Hemoglobin* ; 26 : 271-84.

**48-Wajcman H., Lantz B et Giort, R. (1992).** *Les maladies du globule rouge*. INSERM. Paris.

**49-Weatherall DJ et al. (2006).** Inherited disorders of hemoglobin. In : Disease Control Priorities in Developing Countries. Jamison D et al. New York, Oxford University Press and the World Bank, pages 663-680.

**50-Weatherall DJ., Clegg JB., Higgs DR et Wood WG. (1995).** The Hemoglobinopathies. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et Valle D. (eds) : *the Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. McGraw-Hill Co, New York.

**51-Whipple GH et Bradford WL. (1933).** Mediterranean disease-thalassemia (erythroblastic anemia of Cooley) ; *associated pigment abnormalities simulating hemochromatosis. J Pediatr*, 9:279–311.

**52-Whitehead RE., Mac Donald CB., Melhem ER et Mac Mahon L. (1998).** Spontaneous labyrinthine hemorrhage in sickle cell disease. *Am J Neuroradiol* ; 19, september : 1437-1440.

**53-Zanella-Cleon I., Préhu C., Joly P., Riou J., Becchi M., Wajcman H et Francina A. (2009).** Strategy for identification by mass spectrometry of a new human hemoglobin. *variant with two mutations in Cis in the beta-globin chain: Hb S-Clichy [ $\beta 6(A3)Glu \rightarrow Val$ ;  $\beta 8(A5) Lys \rightarrow Thr$ ]. *Hemoglobin* ; 33(3) : 177-87*

## **Annexe :**

### **I - matériel non biologique :**

#### **I.1 - Appareillage :**

- Centrifugeuse
- L'automate sysmex KX21
- Microscope optique
- Chambre de migration TITAN PLUS
- Etuve
- Densitomètre HELENA PROCESS 24

#### **I.2- consommables :**

- Types à essais en verre de 5 ml
- Les gants stériles
- Lames et lamelles
- Plaque d'acétate
- Kit applicateur.
- Embouts jaunes.
- Bacs de coloration.
- Portoirs en plastique.
- Porte plaque
- Papier absorbant.
- Micropipette fixe et réglable.
- Eau distillée.
- Feuille de résultats pure le densitomètre.

#### **I.3- réactifs :**

- Tampon super hème (1 sachet dilué dans 1000 ml d'eau distillée)
- Rouge ponceau (1 sachet dilué dans 1000 ml d'eau distillée)
- Solution clarifiant clair.
- Acide acétique pur.
- Méthanol pur.

CRNTRE HOSPITALO – UNIVERSITAIRE DE BLIDA

UNITE HASSIBA BEN BUALI

Laboratoire Mère / Enfants – Unité d'Hémobiologie

Numéro de téléphone : 025 41 18 95 (poste : 233)

FICHE DE RESULTAS

< ELECTROPHORESE DE L'HEMGLOBINE >

N° : .....

DATE : .../.../.....

NOM : .....

PRENOM...

AGE.....

HOPITAL : .....

SERVICE : .....

**NOM DU MEDCIN :**

**RESULTATS**

**Donnée Hématologiques :**

GR ...../mm<sup>3</sup>  
.....%

HB ..... g / 100 ml

HT

VGM .....M<sup>3</sup>  
CCMH.....%

TGMH .....<sup>p</sup>pg

Réticulocytes.....mm<sup>3</sup>

**Electrophorèse de l'Hb :**

Dépistage : .....

Dosage : Fraction Hb A2 : .....% (V.N. : .....) )

RDA : .....% (V.N. : .....) )

**Conclusion :**

.....  
.....  
.....

**Signature :**

CRNTRE HOSPITALO – UNIVERSITAIRE DE BLIDA

UNITE HASSIBA BEN BUALI

Laboratoire Mère / Enfants – Unité d'Hémobiologie

Numéro de téléphone : 025 41 18 95 (poste : 233)

FICHE DE DEMANDE D'EXAMEN

< ELECTROPHORESE DE L'HEMGLOBINE >

N° : ..... DATE : ...../...../.....

NOM : ..... PRENOM : .....

NE LE ...../...../..... A : .....

HOPITAL : ..... SERVICE : ..... NOM DU MEDECIN : .....

**Renseignements médicaux à remplir**

**Clinique :** Accidents d'hémolyse : Oui  Non   
Ictère : Oui  Non   
Cyanose : Oui  Non   
Splénomégalie : Oui  Non   
Prise médicamenteuse : Oui  Non  Si oui lesquels :  
Fèves : Oui  Non   
Transfusion : Oui  Non  Si oui, nombre : Date dernière T.S :

**Biologique :**

GR Hb Ht Réticulocytes Bilirubine Combos

**Renseignement familiaux ethniques :**

Des membres de la famille nt-ils eu les mêmes accidents

Si oui lesquels :

**Autres renseignements :**

**RESULTATS**

**Donnée Hématologiques :**

GR ...../mm<sup>3</sup> HB ..... g / 100 ml HT .....%  
VGM .....M<sup>3</sup> TGMH .....<sup>p</sup>pg CCMH.....%  
Réticulocytes.....mm<sup>3</sup>

**Donnée biologiques:**

Bilirubine .....mg / l Fer ..... TIBC .....  
Coeff de sat : .....

**Electrophorèse de l'Hb :**

Sur acétate de cellulose : ..... RDA : .....%

**Conclusion :**.....

**Signature du médecin:**

## **VALEURS LIMITES DE LA NORMALITÉ DE LA NUMÉRATION GLOBULAIRE :**

- **Numération des globules rouges :**

**Femme adulte :** 4 000 000 à 5 400 000 / $\mu$ l

**Homme adulte :** 4 500 000 à 6 000 000 / $\mu$ l

**Nouveau-né :** 5 000 000 à 6 200 000 / $\mu$ l

**Enfant moins de 10 ans :** 3 200 000 à 4 000 000 / $\mu$ l

- **Numération des globules blancs :**

**Femme adulte :** 4 000 à 10 000 / $\mu$ l

**Homme adulte :** 4 000 à 10 000 / $\mu$ l selon l'âge

**Nouveau-né :** 12 000 à 25 000 / $\mu$ l

**Enfant moins de 10 ans :** 5 000 à 11 000 / $\mu$ l

- **Numération des plaquettes**

**Femme adulte :** 150 000 à 400 000 / $\mu$ l

**Homme adulte :** 150 000 à 400 000 / $\mu$ l

**Nouveau-né :** 150 000 à 400 000 / $\mu$ l

**Enfant moins de 10 ans :** 150 000 à 400 000 / $\mu$ l

- **Taux d'hémoglobine :** c'est la quantité d'hémoglobine contenu dans un volume de sang total

**Femme adulte :** 12 à 14 g/dl

**Homme adulte :** 14 à 16 g/dl

**Nouveau-né :** 16 à 18 g/dl

**Enfant moins de 10 ans :** 10 à 13 g/dl

## **INDICES ERYTHROCYTAIRES**

- **Hématocrite (Ht) :** C'est le volume occupé par les hématies dans un volume donné de sang total

**Femme adulte :** 37 à 45 %

**Homme adulte :** 40 à 54 %

**Nouveau-né :** 50 à 64 %

**Enfant moins de 10 ans : 32 à 40 %**

- **Volume globulaire moyen (VGM) :** C'est le volume moyen d'une hématie

$$\text{VGM} = (\text{Ht} / \text{GR}) \times 10$$

**Valeurs normales du VGM : 85 à 100 femtolitres (Fl)**

85 < VGM < 100 Fl = normocytose

< 85 Fl = microcytose

> 100 Fl = macrocytose

- **Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) :** C'est le taux d'Hb par unité de volume de GR

$$\text{CCMH} = (\text{Hb} / \text{Ht}) \times 100.$$

**Valeurs normales : 32 à 36 %**

32 < CCMH < 36 : normochrome

< 32 % hypochromie : hypochrome

- **Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) :** C'est le poids moyen d'Hb contenu par hématie

$$\text{TCMH} = \text{Hb} / \text{GR} \text{ (en million)}$$

**Valeurs normales : 27 à 32 picogramme (pg)**

27 < TCMH < 32 = normochrome

< 27 pg = hypochrome

- **Taux des réticulocytes :** Il apprécie l'activité médullaire.

**Valeur absolue normale : 25 000 à 100 000/ mm<sup>3</sup>**

**Valeur relative : 0,5 à 2 %**

## La Drépanocytose :

Hétérozygote A+S	Homozygote S+S	Thalasso-drépanocytose		S+C
		$\beta$ 0S	$\beta$ +S	
<p>A=55 à 60% S =35 à 45% A2=normale F=normale Si test de solubilité négatif, évoquer HbD ou HbG</p>	<p>-A= 0 -S= 75 à 95% -A2= normale ou un peu augmentée</p>	<p>-A= 0 -S= 50 à 85% -A2= &gt; 4% F= 2 à 30%</p>	<p>A=10 à 30% S=60 à 80% A2&gt; 4%</p>	<p>A = 0 S=C=45 à 58% A2= 2 à 10% Tableau VGM=80fl Hématies cibles</p>
<p>Si HbS &lt; 35% évoquer des associations -S+<math>\alpha</math> thalassémie -A+S avec carence en fer -A+S transfusée</p>	<p>-F= 1 à 20%</p>	<p>Tableau clinique sévère +++ Hb= 7 à 10g/dl + microcytose</p>	<p>Tableau clinique modérément sévère Hb= 11g/dl + microcytose</p>	
<p>A+S non conforme à la clinique---&gt; Hb anormale à typer</p>				

**Matériels utilisés :**



**Micropipette fixe et réglable**



**Embouts jaunes**



**Automatede type SYSMEX**



**Etuve**



**Densitomètre HELENA PROCESS 24**



**Porte plaque**

