

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA –1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master
En science de nature et de la vie
Filière : Science Biologique
Option : Génétique

THEME

Approche descriptive de la drépanocytose chez les enfants

Soutenu le : 18 /09/2021

Présenté par :

M^{elle} AICHOUNE IBTISSAM

M^{elle} SEDDIKI NAOUAL

Composition du jury:

M^r MOHAMED SAID R.	MCA	USDB1	President
M^{me} ZEROUTI.K	MAA	USDB1	Examinatrice
M^r BOUAMRA A.	Prof	USDB1	Promoteur
M^r. GUETARNI D.	Prof	USDB1	Co-promoteur

Année universitaire: 2020 – 2021

Remerciements

*Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH
miséricordieux le tout puissant qui nous a donné la force afin de
l'accomplir*

*A toute personne qui, en connaissant la valeur de la science, a connu
la puissance et la grandeur de celui qui nous l'a apprise et à toute
personne qui utilise la science pour le bien de l'humanité.*

*Nos remerciements s'adressent en premier lieu à notre, Co-promoteur
professeur à l'université Saad Dahleb, Blida, pour nous avoir donné
de son temps et pour l'intérêt qu'il a accordé à notre travail*

Son soutien a été précieux.

*Nous tenons également à remercier Mr Ramadan Mohamed Said
notre chef d'option professeur à l'université Saad Dahleb, Blida,
d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire. Un grand merci à
M^{me} Zerrouti A, qui nous a donné l'honneur d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements également toutes les personnes qui ont
contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Dédicaces

A ma très chère mère

Tu représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher père

Tu es pour moi l'homme idéal, l'exemple que j'admire, pour toutes les peines et les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Ce travail ne saurait exprimer mon amour filial, mon respect et ma profonde reconnaissance. Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourrait exprimer ce que tu représentes dans ma vie, mais j'espère que tu trouveras ici dans ce modeste travail le fruit de tant de sacrifices. Que Dieu te protège et t'accorde santé, longue vie et bonheur.

A mes chères sœurs et frères

A mes très chères sœurs Celina et Melissa

Merci pour vos soutiens et vos écoutes.

Merci d'avoir toujours été là pour moi.

Merci de supporter mes caprices et mes sauts d'humeur

Et mes frères AMAR et AMINE Qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout le long de mes études, que Dieux les

Protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mes amis

SARAH, KAWTHAR, NAOUAL, ROUFAIDA et Mes camards de promo CHAIMA et AMAL

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

A tous les enseignants Qui nous ont aidées pendant notre cursus universitaire.

Ibtissam

Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir que je tiens à dédier ce modeste travail :

A co-promoteur Mr Guetarni pour son orientation et ses conseils pertinents et à tous mes enseignants.

A ma famille, elle qui m'a toujours encouragé, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Et Particulièrement à l'être le plus cher à mon cœur, ma mère Kheira pour son amour et tous ses sacrifices

A mon épaule solide dans la vie, mon père Ali pour son soutien interminable

A mon cher frère Omar, Youssef, Khalid et Djloule et à mes chères sœurs : Ouissal, Djihad et Nassira.

A les personnes les plus sympa et unique : Soad, Ibtissam, Sarah et Iman.

A mes cousines Wissam et Amira pour leurs aide et bienveillance

Et à toutes les personnes qui ont contribué à ma réussite.

Naoual

Liste des abréviations :

ARN : Acide Ribo Nucléique.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ASO : Allèle Spécifique Oligosonde.

Hb : hémoglobine.

HbS : Hémoglobine S

HPLC : High Pression Liquide Chromatographie.

IEF : Iso Electro Focalisation.

OMS : Organisation Mondiale de santé.

O₂ : Oxygène.

ONU : Organisation National Unite

PCR : Polymerisation chain reaction.

RFLP : Restriction Fragments Leingh Polymorphism.

SA : Semaine Aménorrhée.

SDM : Syndrome Drépanocytaire Majeur.

Liste des figures :

Figure 1: Anémie falciformes.....	03
Figure 02 : Distribution des nouveau-nés avec un syndrome drépanocytaire dans chaque pays en 2015.....	04
Figure 03 : Structure de l'hémoglobine.....	05
Figure 04: Structure de l'hème	06
Figure 05: Les gènes de globine.....	07
Figure 06: Evolution de synthèse des différentes chaînes de l'hémoglobine au cours de la vie.....	08
Figure 07: Les principaux syndromes drépanocytaires majeurs	12
Figure 08: Drépanocytose, allèle et protéine début de la séquence.....	13
Figure 09: Mécanisme physiopathologique de base de drépanocytose.....	14
Figure 10 : La polymérisation de l'hémoglobine S.....	14
Figure 11: Test Emmel détection de l'hémoglobine S (par falciformation des érythrocytes).	19
Figure 12 : Test de solubilité ITANO.....	20
Figure 13 : Chromatographie liquide à haute pression.....	20
Figure 14 : L'isoélectrofocalisation.....	20
Figure 15: Technique de DOTBLOT.....	21
Figure 16: Oligosondes spécifiques d'allèle ASO.....	22
Figure 17: Principe de détection par enzyme de restriction.....	23
Figure 18: Détection de la mutation HbS par l'enzyme de restriction BsuI.....	23
Figure 19 : Migration sur gel d'agarose des fragments résultants de la restriction par enzyme.....	24

Liste des tableaux :

Tableau I: Formules moléculaires des hémoglobines humaines	08
Tableau II : Les différents syndromes drépanocytaires	11
Tableau III: Répartition de la population selon les données épidémiologiques et sociodémographiques	25
Tableau IV : Répartition des enfants selon les circonstances du test, les antécédents et les signes cliniques.....	26
Tableau V : Répartition des enfants selon les résultats de la PCR et de l'iso électrofocalisation (IEF).....	26
Tableau VI : Performance comparée de la PCR et de l'iso électrofocalisation selon le profil.....	27

Résumé :

La drépanocytose est la maladie génétique , la plus répandue dans le monde qui constitue un des problèmes majeurs de santé publique à l'échelle mondiale, elle concerne environ 300 000 naissances par an dans le monde. la drépanocytose est maladie génétique autosomique récessif par mutation de gène β globine. Cette mutation induit la synthèse d'une hémoglobine anormal HbS, principalement responsable de l'ensemble des manifestations clinique vasco-occlusive et d'une hémolyse chronique avec anémie de degré variable.

Les syndromes drépanocytaires majeurs regroupent trois formes génétiques principales: homozygoties S/S, hétérozygoties composites S/C et S/ β^0 ou S/ β^+ thalassémies. Les formes les plus sévères sont les homozygoties S/S ainsi que les S/ β^0 thalassémies. Ces syndromes affectent principalement les populations d'Afrique sub-saharienne, des Antilles et d'Afrique du Nord

La confirmation du diagnostic de la drépanocytose repose sur l'étude d'hémoglobine par les différents techniques de biologie moléculaire.

Mots clés : drépanocytose, hémoglobine anormal, mutation, diagnostic biologique.

Abstract:

Sickle cell disease is one of the world's most prevalent genetic diseases and is one of the world's major public health problems. Sickle cell disease is an autosomal recessive genetic disease caused by the mutation of the β globin gene. This mutation induces the synthesis of abnormal hemoglobin HbS, mainly responsible for all the clinical vaso-occlusive manifestations and chronic hemolysis with anemia of varying degree.

Major sickle cell syndromes consist of three main genetic forms: S/S homozygous, S/C and S/ β^0 or S/ β +thalassemia composite heterozygous. The most severe forms are S/S homozygous and S/ β thalassemia. These syndromes mainly affect populations in sub-Saharan Africa, the Caribbean and North Africa.

Confirmation of the diagnosis of sickle cell disease is based on the study of hemoglobin by differential molecular biology techniques.

Keywords: sickle cell disease, abnormal hemoglobin, mutation, biological diagnosis.

الملخص:

مرض الخلايا المنجلية هو أكثر الأمراض الوراثية شيوعاً في العالم وهو أحد مشاكل الصحة العامة الرئيسية على نطاق عالمي ، ويؤثر على حوالي 300000 ولادة سنوياً في جميع أنحاء العالم. تحدث هذه الطفرة على تخليق هيموجلوبين HbS غير طبيعي ، وهو المسؤول بشكل أساسي عن جميع مظاهر انسداد الأوعية السريرية وانحلال الدم المزمن مع فقر الدم بدرجات متفاوتة.

تتكون متلازمات الخلايا المنجلية الرئيسية من ثلاثة أشكال وراثية رئيسية: S/S متماثلة اللواقح ، S/C و S/S^o أو S/S β + الثلاسيما المركب متغاير الزيجوت. أشد أشكالها هي S/S متماثلة اللواقح و S/β الثلاسيما. تؤثر هذه المتلازمات بشكل رئيسي على السكان في إفريقيا جنوب الصحراء الكبرى ومنطقة البحر الكاريبي وشمال إفريقيا.

يعتمد تأكيد تشخيص فقر الدم المنجلي على دراسة الهيموجلوبين بواسطة تقنيات البيولوجيا الجزيئية القياسية.

الكلمات المفتاحية: فقر الدم المنجلي ، الهيموجلوبين غير الطبيعي ، الطفرة ، التشخيص المخبري.

Table des matières :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction :1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique:2

2. Définition:.....2

3. Epidémiologie:.....3

3.1. Dans le monde :.....3

3.2. En Afrique :.....4

3.3. En Algérie :.....4

Chapitre I: L'hémoglobine

1. Définition :.....5

2. Structure :5

2.1. Structure de l'hème :.....6

2.2. Les gènes de globine :.....6

2.3. Les différentes hémoglobines humaines :7

3. Fonction de l'hémoglobine :9

Chapitre II : Les hémoglobinopathies

1. Les hémoglobinopathies :10

1.1. Hémoglobinopathies quantitatives ou thalassémies :.....10

1.2. Hémoglobinopathies qualitatives ou structurales:10

2. Les syndromes drépanocytaires :10

2.1. Génétique et physiopathologie de la drépanocytose :.....12

2.2. Transmission génétique :15

2.3. Diagnostic :19

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Matériel et méthodes :25

2. Résultats :26

3. Conclusion :28

Bibliographie

Introduction :

La drépanocytose est une maladie génétique de l'hémoglobine. Cette maladie est causée par la mutation d'un seul nucléotide et a été décrite pour la première fois dans la littérature scientifique il y a plus d'un siècle (**Piel, 2013**).c'est la maladie génétique la plus répandue dans le monde par sa fréquence et sa gravité constitue un des problèmes majeurs de santé publique à l'échelle mondiale (**Abdala et al, 2019**).

On estime que 50 millions d'individus en sont atteints dans le monde. Elle touche 276 000 naissances par an et concerne principalement l'Afrique avec 233 000 nouveaux cas par an soit 10,68/1 000 nouveau-nés et à un plus faible niveau le Proche et Moyen-Orient (0,84/1 000) et , l'Asie équatoriale (0,68/1 000) , L'Amérique (0,49/1000) , L'Europe (0,07 /1000) , Asie pacifique et Océanie (0.00/1000) (**Bizot, 2018**).

Dans les pays développés, les progrès réalisés au cours des dernières années dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques ont conduit à une meilleure prise en charge des patients, avec comme corollaire une baisse du taux de mortalité et un allongement de l'espérance de vie (**Koko, 2009**).

En Afrique par contre ces excellentes résultats sont loin d'être observés, pour plusieurs raisons : ignorance et pauvreté des populations, diagnostic tardif, insuffisance des moyens matériels et des personnels de santé qualifiés, mauvaise organisations de système de soins, absence de couverture sociale (**Koko, 2009**).

En Algérie, la drépanocytose est un réel problème de santé publique. Elle touche cependant 2 à 3% de la population avec une incidence de (5 /100000) habitants, très répandue notamment au l'est du pays (Annaba, Skikda et El Tarf) qui concentre 75% des cas connus de patients atteints de drépanocytose en Algérie, ainsi que Cherchell au centre , où dénombre le plus grand nombre des malades et dans plusieurs autres wilayas (**zouikri, 2017**).

Comme pour toutes les maladies génétiques a transmission récessive ,en raison de la fréquence des mariages consanguins ,encore élevé dans notre pays ,qu'est un facteur de risque supplémentaire pour l'émergence de la maladie qui se comptent par milliers et quand on sait la lourdeur de la prise en charge de cette maladie chronique (**Ait, 2013**).

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude portant sur les connaissances des différents aspects épidémiologiques, cliniques et diagnostiques afin de combler les lacunes de cette maladie dans notre pays.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique:

La drépanocytose est une maladie complexe sur les plans historique et médical, au niveau collectif comme au niveau individuel. En effet, jusqu'à la fin du XX^{ème} siècle, elle entraînait une mortalité infantile foudroyante quasi-constante (**Bizot, 2018**).

La drépanocytose a été décrite pour la première fois en 1904 par le professeur James HERRICK après consultation d'un étudiant antillais de 20 ans hospitalisé pour un rhume.

En 1917, le Dr EMMEL découvre que les hématies des patients atteints de drépanocytose ont une forme normale en présence d'oxygène.

En 1949, James NEEL découvre que la drépanocytose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive.

En 1956, Vernon INGRAM décrivent deux types d'hémoglobines qui n'ont qu'un acide aminé de différence.

En 1981, un premier programme de dépistage fut mis en place aux Antilles. En 1995, la prise en charge des patients prend un tournant avec la mise sur le marché du premier médicament pour le traitement de la drépanocytose: l'hydroxycarbamide (ou hydroxyurée).

À partir du milieu des années 1980, les médecins ont traité les patients à l'aide d'allogreffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) de moelle osseuse. Alors que les protocoles de greffes de CSH de moelle osseuse commencent à être maîtrisés en 1998(**Bizot, 2018**).

En 2008, l'Assemblée Générale de l'ONU reconnaît officiellement la maladie dans une résolution appelée « la drépanocytose, priorité de santé publique ». Le 19 Juin est dorénavant la journée internationale dédiée à la drépanocytose (ONU, 2008).

2. Définition:

La drépanocytose (du grec drepanon, faucille et kutos, cellule), également appelée anémie drépanocytaire, anémie à hématies falciformes, hémoglobinose S (**Marroun, 2018**), la drépanocytose est une maladie génétique des globules rouges qui se manifeste par une anémie (se traduisant par une asthénie, des vertiges, des essoufflements...), une sensibilité aux infections, et des crises douloureuses dues par une mauvaise circulation sanguine (figure01) et par le manque d'oxygénation des tissus (surtout les os) (inserm, 2017). Cette hémoglobinopathie, autosomique récessive, fréquente et grave se caractérise par la présence d'une hémoglobine anormale (l'hémoglobine S), due à une mutation unique du gène β -globine située sur le chromosome 11 en 11p15.5 (**Ayéroué et al, 2009**) (transversion A→T qui se traduit par la substitution glu-val).

En effet, l'hémoglobine S anormale produite, exclusivement (homozygotie SS ou hétérozygotie composite S β^0), très majoritairement (hétérozygotie composite S β^+), ou en association avec d'autres hémoglobines anormales (hétérozygotie composite SC ou SO Arab ou SD Pundjab), polymérise en situation désoxygénée. Les polymères d'hémoglobinose S vont rigidifier, déformer et fragiliser les hématies. Cette propriété est responsable des trois manifestations cliniques de la maladie: l'anémie hémolytique chronique, les complications

vaso-occlusives de la microcirculation et des gros troncs artériels cérébraux, ainsi que de l'asplénie fonctionnelle. L'ensemble de ces anomalies biologiques avec leurs conséquences cliniques constitue les syndromes drépanocytaires majeurs (SDM). Les génotypes les plus graves sont l'homozygotie SS, l'hétérozygotie composite S β^0 , SO Arab ou SD Pundjab (Chéron, 2018).

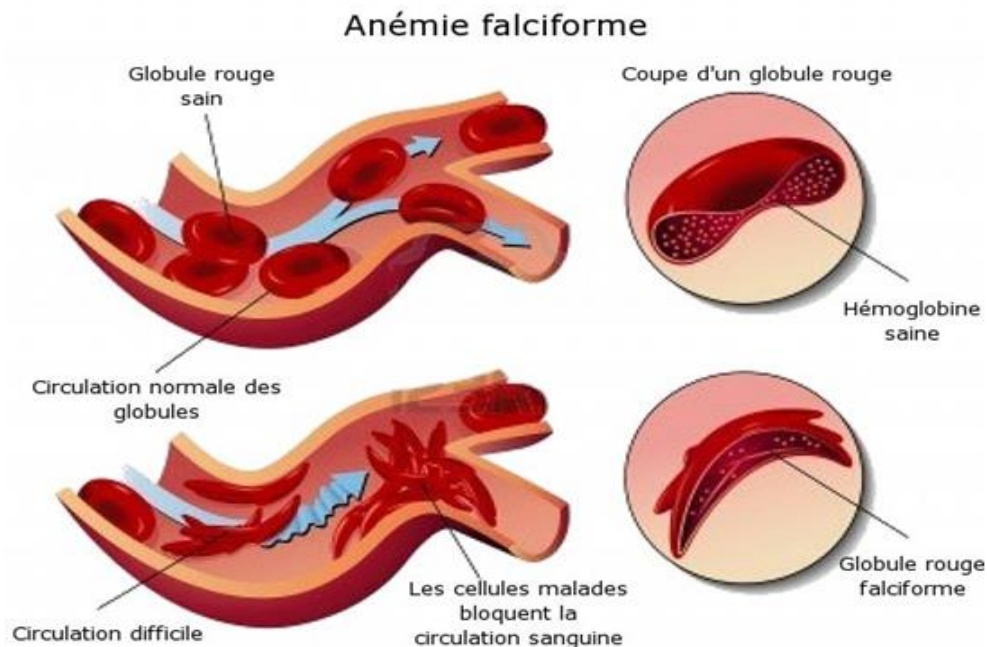


Figure 1: Anémie falciformes (bouachiba et al, 2015).

3. Epidémiologie:

3.1. Dans le monde :

La drépanocytose est une maladie génétique monogénique (liée à un seul gène) la plus répandue dans le monde. Selon l'OMS, 300000 enfants naissent dans le monde chaque année avec une anomalie majeure de l'hémoglobine dont la plus fréquente est celle de la drépanocytose. En 2015, la grande majorité de ces naissances ont lieu dans trois pays: Nigéria, République Démocratique du Congo, Inde (figure02) (WHO, 2013).

L'allèle « S », responsable de l'anomalie, est surtout répandu dans le continent africain (avec une fréquence de 30% chez certaines populations); on le trouve également en Inde, en Arabie saoudite et dans d'autres régions du bord de la Méditerranée, en Italie (surtout en Sicile), en Grèce et en Anatolie. Les migrations ont accru la fréquence de cette maladie sur le continent américain (El amani, 2019).

Par le commerce des esclaves ou les migrations, elle est présente aux Amériques (surtout États-Unis et Brésil) et en Europe occidentale. En France, c'est aussi la première maladie génétique, par les territoires d'Outre-Mer (Antilles françaises), les flux migratoires (principalement africains) et par la qualité des soins (meilleure espérance de vie des patients) (El amani, 2019).

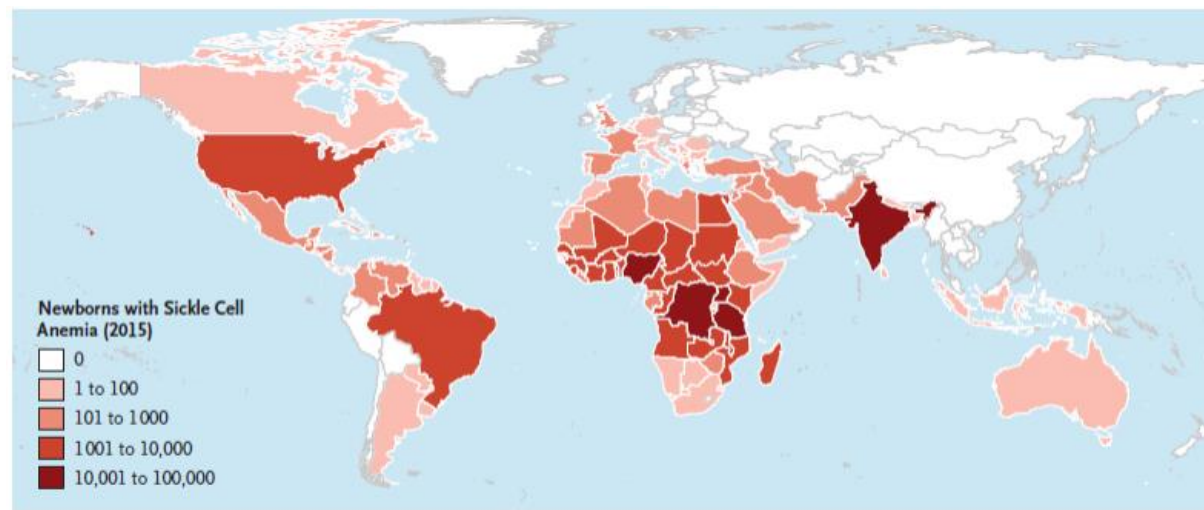


Figure 02 : Distribution des nouveau-nés avec un syndrome drépanocytaire dans chaque pays en 2015 (Piel et al, 2017).

3.2. En Afrique :

Dans certaines parties de l'Afrique subsaharienne, la drépanocytose touche jusqu'à 2% des nouveau-nés. La fréquence du trait drépanocytaire, c'est-à-dire le pourcentage de porteurs sains qui n'ont hérité du gène mutant que d'un seul des parents, atteint 10 à 40% en Afrique équatoriale, 1 à 2% sur la côte de l'Afrique du Nord et moins de 1% en Afrique du Sud. Dans les pays d'Afrique de l'Ouest (Ghana et Nigeria), la fréquence du trait drépanocytaire atteint 15 à 30%. En Ouganda, cette fréquence atteint 45% chez les Baambas. Dans ces pays africains, la mortalité des enfants de moins de 5 ans atteints de drépanocytose peut atteindre les 90% (malnutrition et pauvreté, manque de dépistage et de vaccinations), alors que dans l'ensemble des pays mondiaux à bas-revenus, la mortalité infantile a été réduite depuis les années 1990-2015 (OMS, 2006).

3.3. En Algérie :

Les approches épidémiologiques faites en Algérie témoignent que l'incidence par région varie de 11,8 / 100 000 ha (région Est) à 0,19 (région Ouest), l'incidence globale est de 5/ 100 000 habitants (BELHANI, 2009).

Chapitre I: L'hémoglobine

En 1862, le physiologiste allemand Hoppe-Seyler a créé le terme « hémoglobine » pour désigner le pigment respiratoire, transportant l'oxygène, contenu dans les globules rouges. Les hémoglobines humaines appartiennent à une très ancienne famille de molécules, apparue bien avant la vie aérobie dans l'évolution des espèces (**Wajcman, 2005**).

L'hémoglobine, spécialisée dans le transport d'oxygène de la périphérie vers les tissus remonte à 750 millions d'années et la séparation entre chaînes α et β à 500 millions d'années. Les duplications qui ont conduit aux diverses chaînes de type α et β sont bien plus récentes, remontant à environ 50 millions d'années. L'hémoglobine est donc sous forme de tétramère hétérologue (**Wajcman, 2005**).

1. Définition :

L'hémoglobine est le constituant principal du globule rouge et assure le transport d'oxygène dans le sang pour le distribuer à tous les organes, et le transport de CO_2 des organes vers les poumons elle est constituée de quatre chaînes assemblées entre elles.

2. Structure :

L'hémoglobine est une protéine complexe (hétéroprotéine) car elle ne contient pas que des acides aminés. Elle possède, en plus des acides aminés(4 chaînes protéiques (les globines), identiques 2 à 2), 4 groupes prosthétiques ou hèmes (avec un atome de Fer), chacun étant lié à une globine (par deux Histidine) et situé dans une poche hydrophobe (**Raisonnier, 2002**).

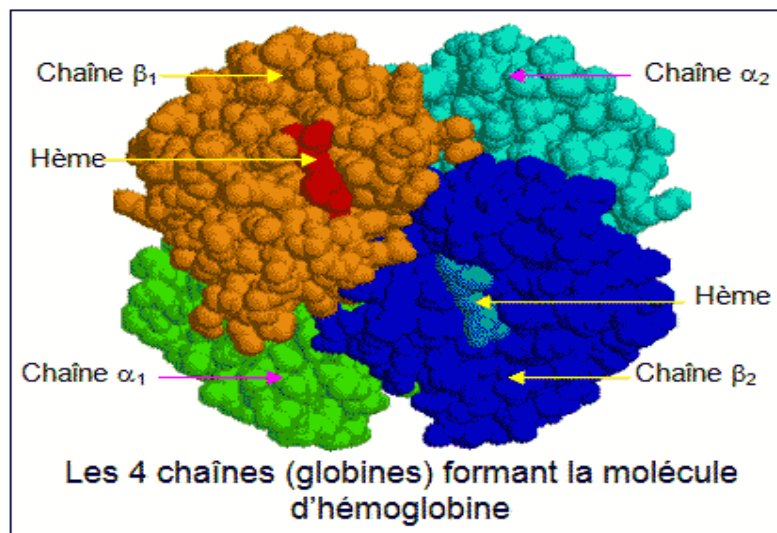


Figure 03 : structure de l'hémoglobine (**Labie, 2005**).

Le terme hémoglobine désigne la protéine complète avec ses 4 chaînes de globine et ses 4 hèmes.

2.1. Structure de l'hème :

L'hème est formé d'une structure aromatique et d'un atome de fer. Cette structure aromatique ou porphyrine est constituée de quatre noyaux pyrrol, comprenant chacun un atome d'azote et 4 de carbone. Les carbones périphériques de ces noyaux sont substitués par des chaînes latérales courtes qui lient la porphyrine aux radicaux des acides aminés de la protéine. Au centre de la porphyrine, l'atome de fer est lié par six valences (on dit hexacoordiné). Quatre de ces directions fixent le fer sur les 4 atomes d'azote de la porphyrine. Une valence du fer est liée à un des azotes d'une histidine de l'hélice F (Histidine proximale), et la dernière à une histidine de l'hélice E (Histidine distale). Cette structure peut recevoir une molécule d'oxygène (O₂). Lors de la fixation de l'oxygène, l'atome de fer se rapproche de l'histidine proximale. L'oxygène transporté s'interpose entre l'atome de fer et l'Histidine distale (**Raisonnier, 2002**).

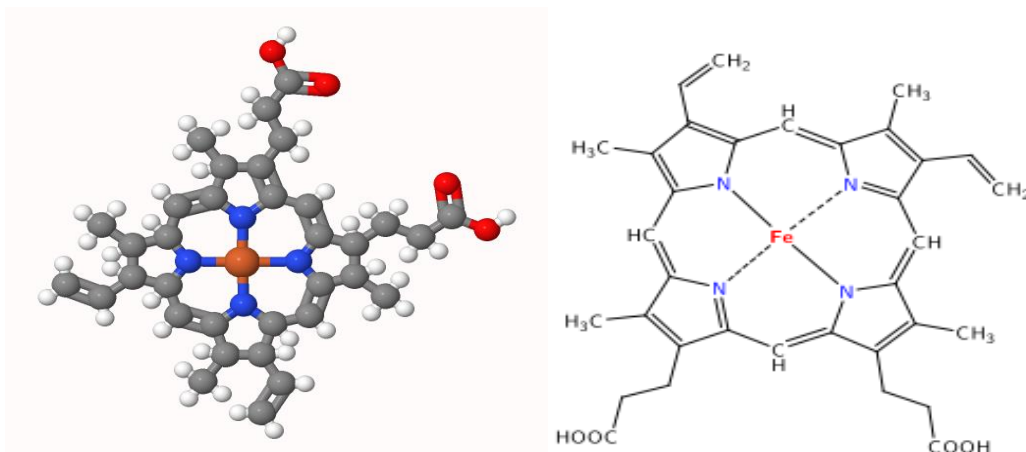


Figure 04: Structure de l'hème (**Boyvin, 2014**).

2.2. Les gènes de globine :

La structure de tous les gènes de globine est similaire, trois exons et deux introns (avec des régions répétées en 3' et en 5'(flanking regions), la principale différence étant que le deuxième intron est beaucoup plus long que le premier dans la famille β (intron 1 = 120-140pb, intron 2 = 900 Pb) alors qu'ils sont du même ordre de grandeur, moins de 150 Pb (paires de bases), dans la famille α . Du fait de la présence de ce long exon les gènes de type β sont donc deux fois plus longs que les gènes du groupe α (figure 05) (**Huret & Troussard, 2008**)

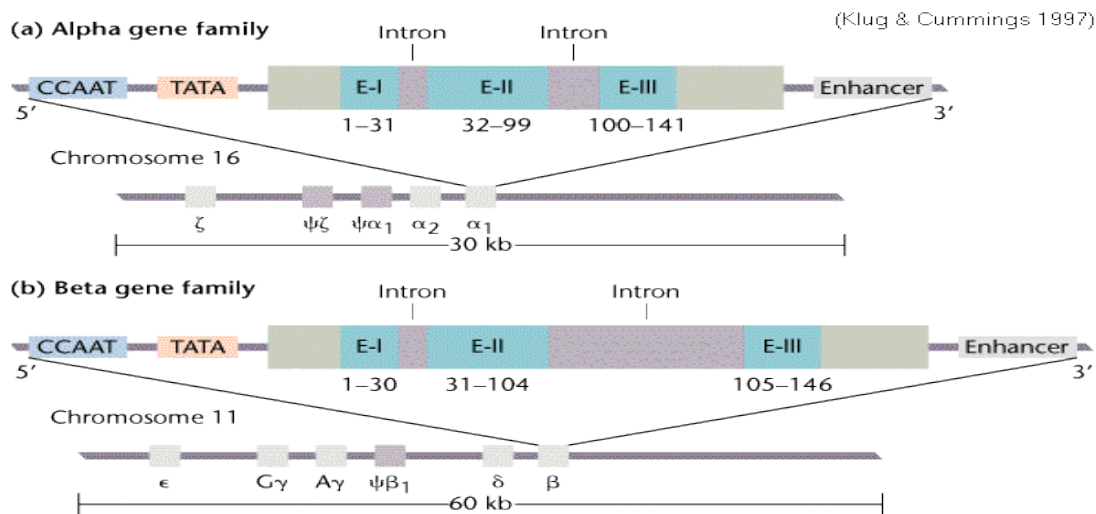


Figure 05: les gènes de globine (Klung & Cummings, 1997)

2.3. Les différentes hémoglobines humaines :

Il existe une très grande variabilité individuelle et populationnelle des différentes chaînes de l'hémoglobine.

Chez l'embryon, l'hémoglobine est formée de deux fois deux chaînes associées : Gower 1 ($\zeta_2\varepsilon_2$), Portland ($\zeta_2\gamma_2$) ou Gower 2 ($\alpha_2\varepsilon_2$) (tableau I).

Durant la vie fœtale, l'hémoglobine F est formée de deux chaînes α avec deux chaînes γ (γ Alanine ou γ Glycine). Selon les individus, le gène γ Glycine est exprimé avec une Isoleucine ou une Thionine en position 75 (allèles) (**Raisonnier, 2002**).

Chez l'adulte, plus de 95% de l'hémoglobine est de type A ($\alpha_2\beta_2$). L'hémoglobine A2 ($\alpha_2\delta_2$) ne dépasse pas 3%. Chez un adulte on trouve habituellement :

- 97% de molécules d'HbA- $\alpha\alpha\beta\beta$ notées $\alpha_2\beta_2$ (2 chaînes α et 2 chaînes β),
- 3% de molécules d'HbA2- $\alpha\alpha\delta\delta$ notées $\alpha_2\delta_2$ ($\alpha_2\delta_2$ = 2 chaînes α avec 2 chaînes δ) et plus rarement d'HbF (<1%) $\alpha\alpha\gamma\gamma$ notées $\alpha_2\gamma_2$ ($\alpha_2\gamma_2$ = HbF, hémoglobine fœtale = 2 chaînes α et 2 chaînes γ) (tableau I) (Aubry & Gaüzère, 2020). Il n'y a pas de différence d'efficacité entre ces 3 molécules d'hémoglobine (HbA, HbA2 et HbF) (tableau I).

Si les chaînes α et β diffèrent par plusieurs dizaines d'acides aminés, les chaînes γ diffèrent entre elles par un unique acide aminé en position 136, alanine pour γ_1 et glycine pour γ_2 .

Tableau I: Formules moléculaires des hémoglobines humaines (**CHABI ILOUGBADE O. T, 2014**).

Hémoglobines		Formules	Proportions
Hb embryonnaires	Hb Gower 1	$\zeta 2 \epsilon 2$	--
	Hb Gower 2	$\alpha 2 \epsilon 2$	--
	Hb Portland	$\zeta 2 \gamma 2$	--
Hb foétales	Hb F	$\alpha 2 \gamma 2$	80 - 95%
	Hb A	$\alpha 2 \beta 2$	5 - 20%
	Hb F	$\alpha 2 \gamma 2$	75 - 85%
	Hb A	$\alpha 2 \beta 2$	20 - 25%
	Hb A2	$\alpha 2 \delta 2$	Traces
Hb à la naissance (sang de cordon)	Hb A	$\alpha 2 \beta 2$	97%
	Hb A2	$\alpha 2 \delta 2$	2 - 3%
	Hb F	$\alpha 2 \gamma 2$	< 1%

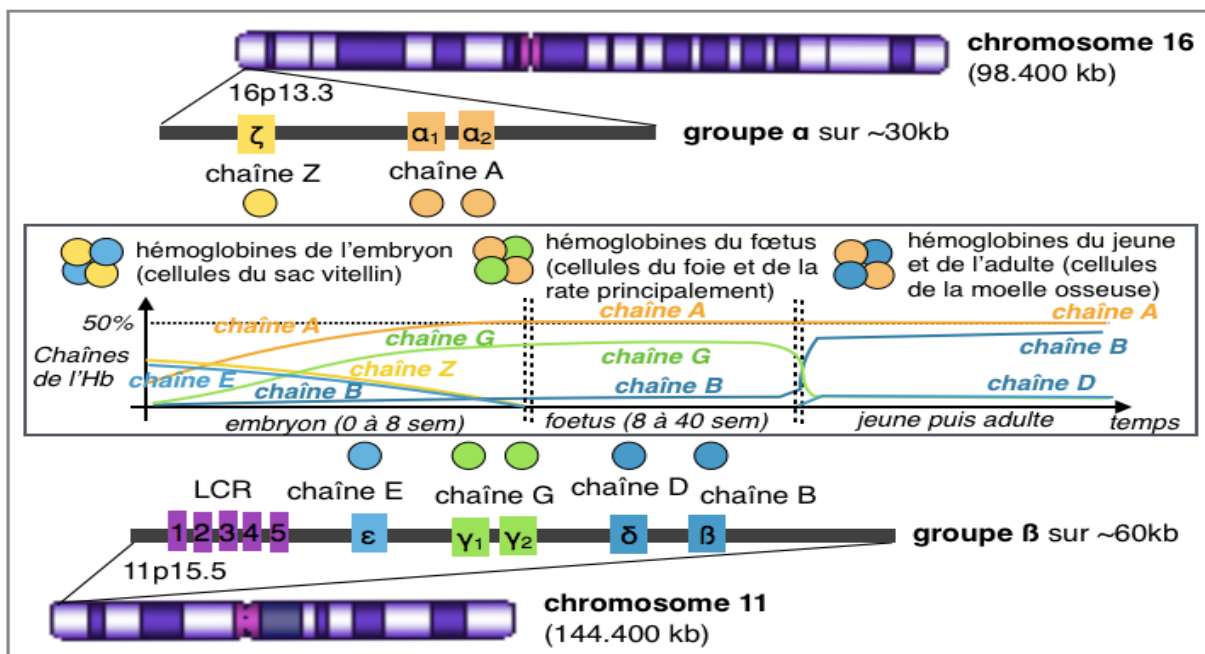


Figure 06: évolution de synthèse des différentes chaînes de l'hémoglobine au cours de la vie. (<http://pst.chez-alice.fr/protstfo.htm>)

Le groupe LCR dans le groupe β désigne des gènes régulateurs (locus control region).

Au cours de la vie embryonnaire ce sont les chaînes A et Z viennent du groupe α alors que les chaînes E, G et B sont synthétisées à partir du groupe β . Les gènes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ sont identiques et donc les chaînes A1 et A2 ont la même séquence.

Chez le fœtus les chaînes A sont dominantes pour le groupe α et les chaînes G pour le groupe β .

À la naissance, alors que les chaînes A restent presque exclusives pour les gènes du groupe α , on observe un basculement pour les chaînes issues des gènes du groupe β : les chaînes G diminuent alors que la chaîne B devient majoritaire (avec un peu de chaîne D).

3. Fonction de l'hémoglobine :

L'hémoglobine contenue dans les globules rouges est la forme principale de transport du dioxygène (qui s'ajoute au dioxygène dissous dans le plasma). Un gramme d'hémoglobine fixe entre 1,34 et 1,39 ml d'O₂ selon les conditions de température, de pH et de pression partielle de dioxygène dans le sang (donc de l'O₂ disponible). Une molécule d'hémoglobine peut transporter jusqu'à 4 molécules de dioxygène.

Lors de la fixation du dioxygène au Fer de l'hème la molécule change de forme. Ce changement de forme réversible ou même instable facilite la fixation du dioxygène sur la forme désoxygénée et la libération du dioxygène à partir de la forme oxygénée. Pour que ce changement de forme soit efficace, il est nécessaire qu'il ait lieu à l'endroit précis où chaque phénomène est nécessaire: prise en charge du dioxygène au niveau des capillaires pulmonaires et rejet du dioxygène au voisinage des cellules qui en demandent (**Raisonnier, 2002**).

Chapitre II : Les hémoglobinopathies

1. Les hémoglobinopathies :

Les hémoglobinopathies sont des maladies héréditaires de l'hémoglobine transmises de façon autosomique. Elles se répartissent en deux grands groupes:

- les anomalies de synthèse ou thalassémies.
- les anomalies de structure ou hémoglobinose.

Il existe dans certains cas une association d'anomalies quantitatives et qualitatives de l'hémoglobine (**Aubry & Gaüzère, 2020**).

1.1.Hémoglobinopathies quantitatives ou thalassémies :

Cette maladie est due à l'absence ou à l'insuffisance de la synthèse d'un des types de chaînes de l'hémoglobine.

On parle de β -thalassémie quand la synthèse de la chaîne β est affectée, d' α -thalassémie, quand celle de la chaîne α est affectée. Ces troubles ont été étudiés grâce aux méthodes de la génétique moléculaire, révélant l'absence de synthèse d'ARN normal: arrêt prématuré (codon stop intempestif) de la synthèse de la chaîne, délétions totales ou partielles du gène, anomalies dans l'excision-épissage, etc... (**Cappellini et al, 2014**).

1.2.Hémoglobinopathies qualitatives ou structurales:

On parle d'hémoglobinose lorsqu'il y a synthèse d'une hémoglobine pathologique ou anormale (encore appelée variant) qui se distingue des hémoglobines normales par une modification structurale affectant certaines chaînes polypeptidiques de l'hémoglobine. La plupart des anomalies de structure sont dues au remplacement d'un acide aminé par un autre sur une chaîne de globine.

La majorité de variantes structurales est latente. Mais il y a certains qui ont un retentissement clinique et biologique, provoquant ainsi des phénomènes pathologiques plus ou moins graves (**CHABI ILOUGBADE O. T, 2014**)

Les anomalies structurales les plus fréquentes affectent les chaînes polypeptidiques β , plus rarement les chaînes α , et exceptionnellement les chaînes γ ou δ .

Il existe plusieurs types d'hémoglobinose différentes les unes des autres par la qualité et la position de l'acide aminé substitué dans la chaîne de la globine. L'hémoglobinose S est de loin l'hémoglobinose la plus fréquente et la plus étudiée. Ensuite vient l'hémoglobinose C (**Aubry & Gaüzère, 2020**).

2. Les syndromes drépanocytaires :

L'état homozygote est la forme la plus fréquente de cette affection mais d'autres allèles des gènes β de l'hémoglobine peuvent s'associer à l'hémoglobinose S et induire un Syndrome Drépanocytaire Majeure (**OMS, 2010**).

Les Syndrome Drépanocytaire Majeure comportent les formes suivantes (tableau II):

- S/C hétérozygotie composite la plus fréquente. Elle résulte d'une mutation ponctuelle du codon 6 se traduisant par le remplacement d'un acide glutamique par une lysine au niveau du gène β -globine C.
- -S/ β^0 -thalassémie: le gène β -thalassémique n'est pas exprimé et les symptômes sont similaires à ceux d'un homozygote SS.
- -S/ β^+ -thalassémie: le gène β thalassémique est partiellement exprimé et la sévérité des symptômes dépend en partie du taux d'Hb A résiduel.

Plus rarement, nous retrouvons les hétérozygoties composites ci-dessous:

- SD Punjab: symptomatique, l'hémoglobine D Punjab résulte d'une mutation sur le codon 121. Un acide glutamique est remplacé par une glutamine.
- On peut également citer les cas d'hétérozygotes composites SE ou S Lepore qui correspondent respectivement à une hémoglobine anormale associée à un phénotype δ thalassémique et à une globine résultant d'un crossing-over anormal entre les gènes δ et β globine.

Enfin, d'autres variantes plus rares associent une deuxième mutation en cis de la mutation β^S :

- S Oman : présente une deuxième mutation ponctuelle sur le codon 121 entraînant le remplacement d'un acide glutamique par une lysine.
- S Antilles: résulte d'une deuxième mutation ponctuelle sur le codon 23. Une valine est remplacée par une isoleucine.

Les sujets hétérozygotes dits AS sont porteurs et transmetteurs du gène drépanocytaire mais sont asymptomatiques, ils ne présentent pas les complications de la maladie (**Hierso, 2015**).

Tableau II :Les différents syndromes drépanocytaires (Hierso, 2015).

<u>GENOTYPES</u>	<u>CARACTERISTIQUES</u>
SS	Homozygote SS
SC SD Punjab SO Arab	Gène β^S associé à un variant qualitatif du gène β -globine
S β^0 thalassémie S β^+ thalassémie S $\delta\beta$ thalassémie SE S Lepore	Gène β^S associé à un variant quantitatif du gène β -globine
AS Oman AS Antilles	Syndrômes drépanocytaires dominants
SC Antilles SC Harlem	Autres

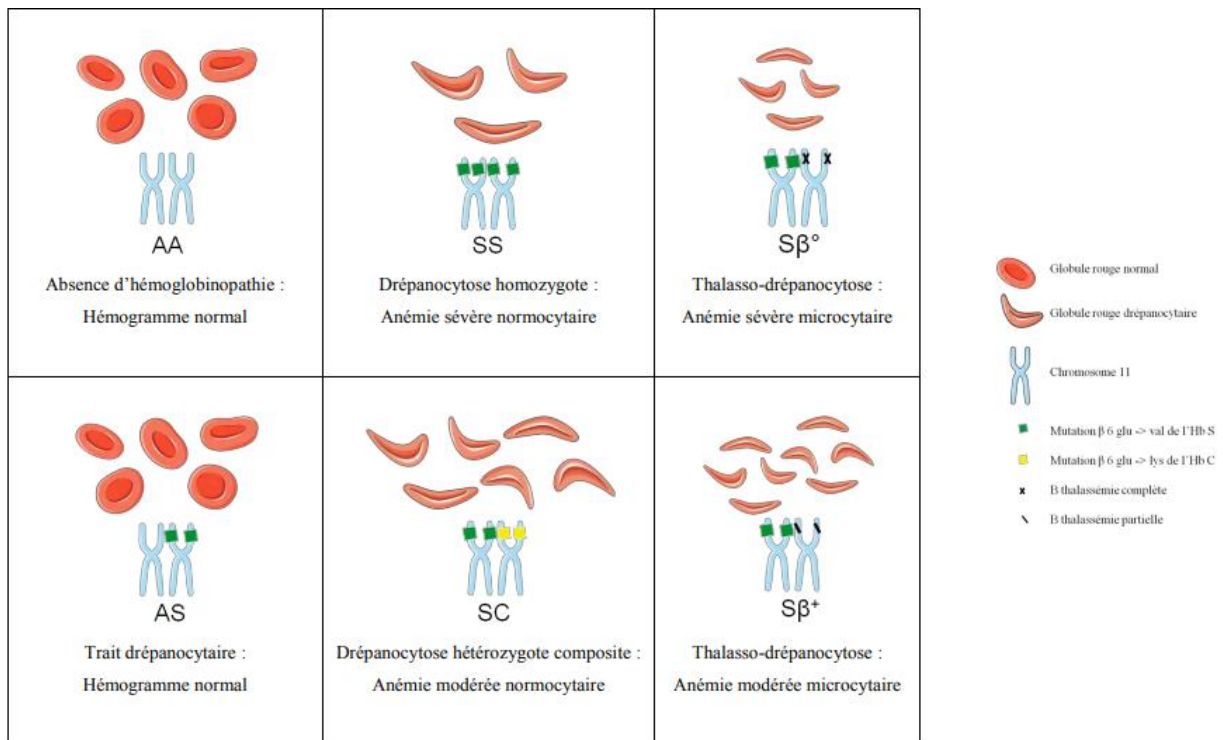


Figure 07: Les principaux syndromes drépanocytaires majeurs (GAUDRÉ, 2015).

2.1. Génétique et physiopathologie de la drépanocytose :

2.1.1. Génétique :

La drépanocytose est due à la mutation du gène qui code pour la chaîne β de l'hémoglobine et porté sur le chromosome 11p15.5; la version mutée de ce gène est appelée l'allèle "S". La mutation de cet allèle correspond à la substitution du nucléotide en dix-septième position.

Sur l'allèle β A d'un individu sain, il s'agit d'une adénine, tandis que sur l'allèle β S d'un individu drépanocytaire, ce dix-septième nucléotide est une thymine. Cette mutation provoque un remplacement d'un nucléotide A par un nucléotide T qui implique un changement de codon au niveau de l'ARN messager, servant à produire la protéine: le codon GAG devient GUG. Ainsi, la mutation indique un changement de l'acide aminé en sixième position sur la protéine de l'hémoglobine: l'acide glutamique est substitué par une valine. L'hémoglobine qui résulte de cette substitution, appelée hémoglobine S (figure08), se condense sous forme de fibres puis, l'insolubilité de cette forme désoxygénée induit une cristallisation simple (Kehaili & Mahmoudi, 2020).

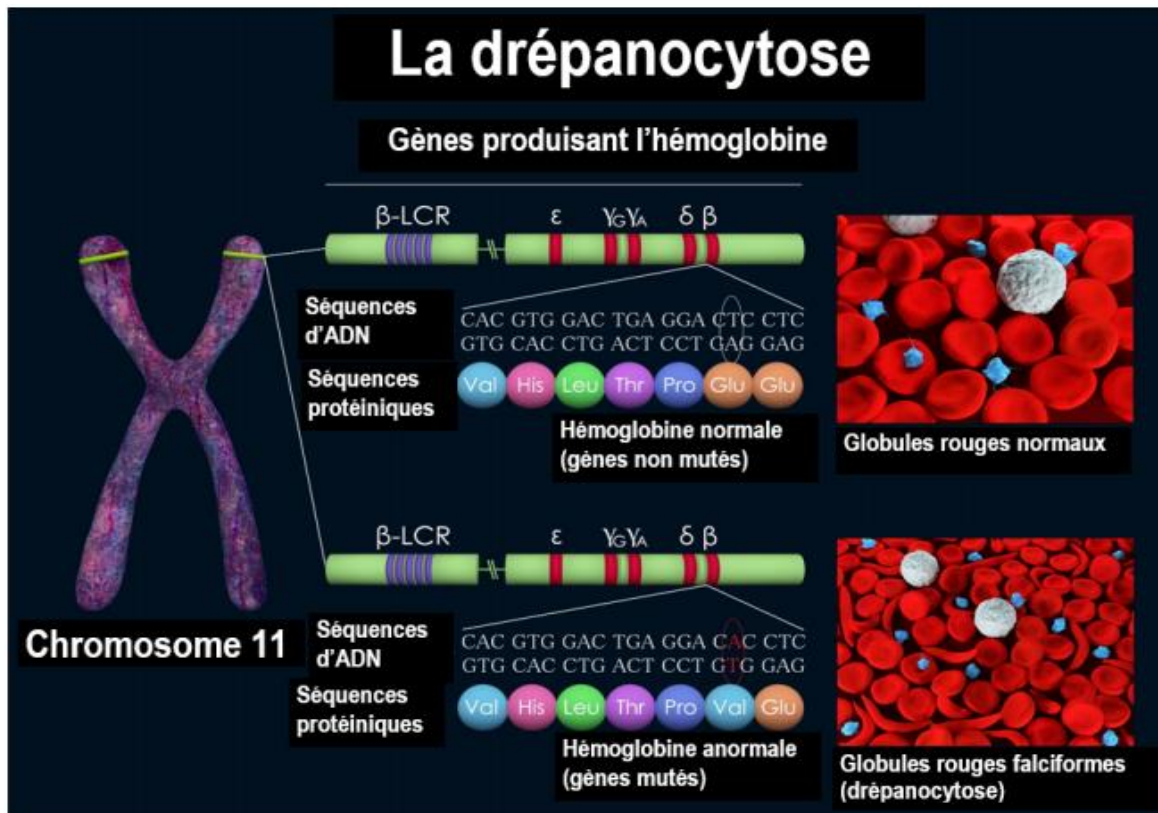


Figure 08: drépanocytose, allèle et protéine début de la séquence (Rénatou & Sabatier, 2019).

2.1.2. Physiopathologie :

Les globules rouges d'un individu drépanocytaire contiennent de l'hémoglobine S, qui a la capacité de se polymériser lorsqu'elle est désoxygénée. Lorsque la pression partielle d'oxygène diminue, l'hémoglobine anormale se gélifie et donne lieu à des fibres qui déforment le globule rouge en l'allongeant et en lui donnant un aspect de faucille. La polymérisation de l'hémoglobine S dans sa forme désoxygénée est initiée par l'établissement d'interactions non covalentes entre la chaîne latérale hydrophobe de la valine mutée en position 6 avec des résidus partenaires (Phénylalanine en position 85 et Leucine en position 88) sur la chaîne β d'une autre molécule d'hémoglobine S (figure 09) (Item & Noui, 2017).

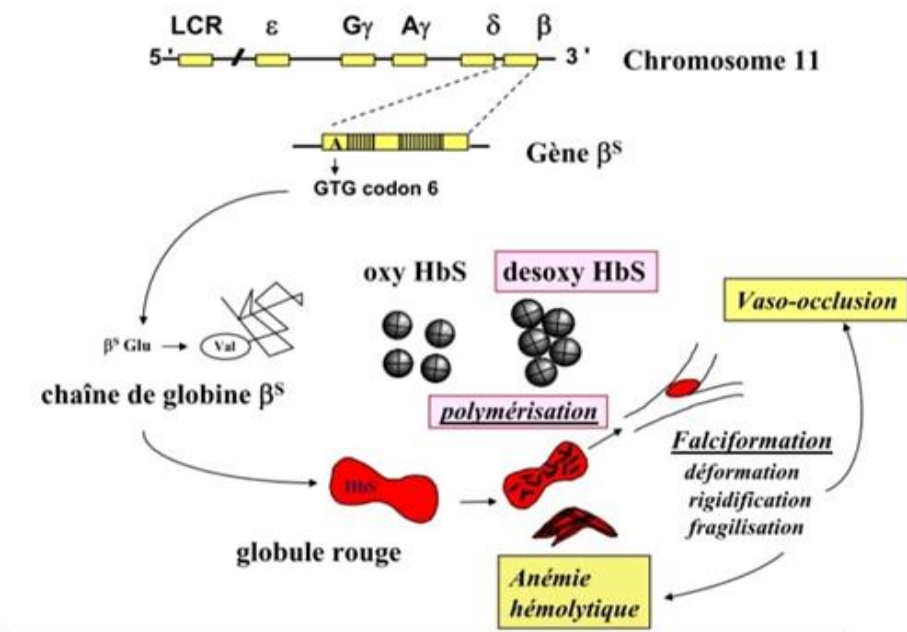


Figure 09: mécanisme physiopathologique de base de drépanocytose (Labie et Elion, 2005).

Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose. La mutation au 6e codon du gène b-globine conduit à la substitution d'un acide glutamique par une valine et à une hémoglobine anormale : l'HbS. À basse pression en oxygène, la désoxy-HbS polymérise et entraîne une déformation, une rigidification et une fragilisation cellulaires, responsables de l'anémie hémolytique et de la vaso-occlusion.

La formation des polymères d'hémoglobine S (figure 10) qui dépend de différentes variables à savoir : La concentration hémoglobinosique S, La pression d'oxygène (pO₂), La proportion des hémoglobines qui peuvent inhiber la polymérisation (HbF et HbA₂), La température et le pH, l'équilibre ionique en 2-3-di-diphosphoglycérate (Kehaili & Mahmoudi, 2020).

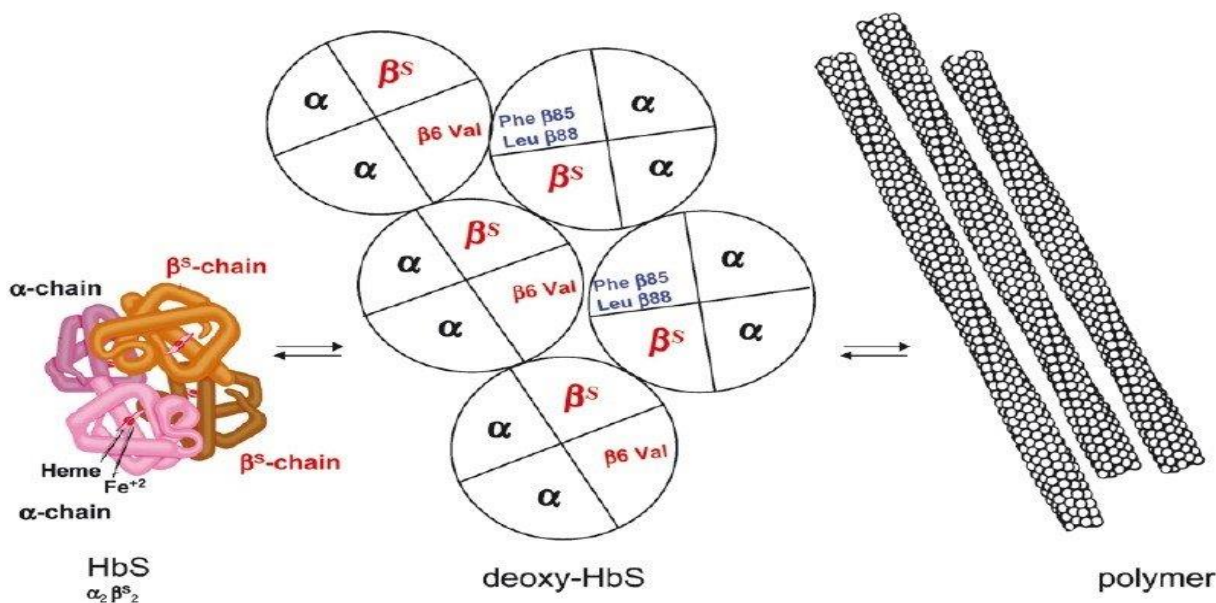


Figure 10 : la polymérisation de l'hémoglobine S (Odièvre et al, 2011).

2.2. Transmission génétique :

La transmission de la maladie est autosomale récessive, c'est-à-dire indépendante du sexe et s'exprimant lorsque les deux chromosomes transmis par les parents sont porteurs du gène de la maladie. Deux gènes bêta hémoglobiniques s'expriment à égalité, l'un de provenance paternelle, l'autre d'origine maternelle.

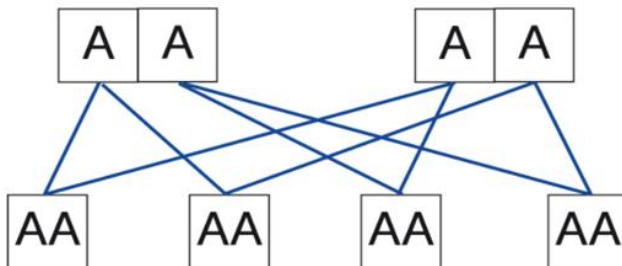
Lorsqu'un seul chromosome est porteur du gène de l'hémoglobinoïse S (transmis par la mère ou par le père), la maladie est dite hétérozygote, le porteur est sain. Lorsque les deux chromosomes sont porteurs du gène (transmis par la mère et par le père), la maladie est dite homozygote, le porteur est malade (**Baléden et Girot, 2016**).

On distingue ainsi 3 génotypes majeurs:

- AA homozygote normal,
- AS hétérozygote asymptomatique,
- SS homozygote drépanocytaire malade.

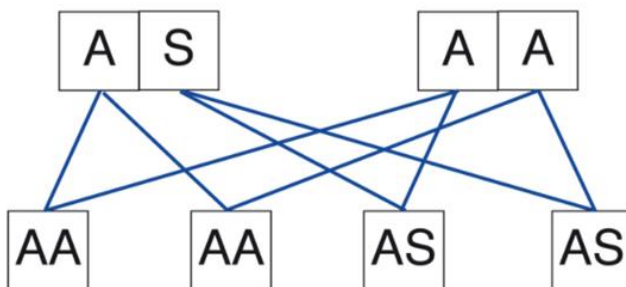
Il est donc possible de prévoir le risque d'atteinte des enfants en fonction du génotype des parents: Pour qu'un enfant soit malade, il faut que les deux parents soient transmetteurs, c'est-à-dire porteurs du gène de la drépanocytose.

- Si les deux parents ne sont porteurs d'aucun gène (AA/AA), le risque est nul, les enfants seront AA.



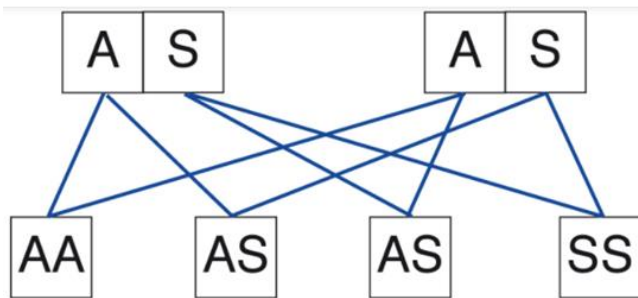
- Tous les enfants sont sains

- Si l'un des parents est hétérozygote AS et l'autre parent normal (AS/AA), le risque de transmission du gène est de 50 %, les enfants porteurs étant alors tous hétérozygotes AS.



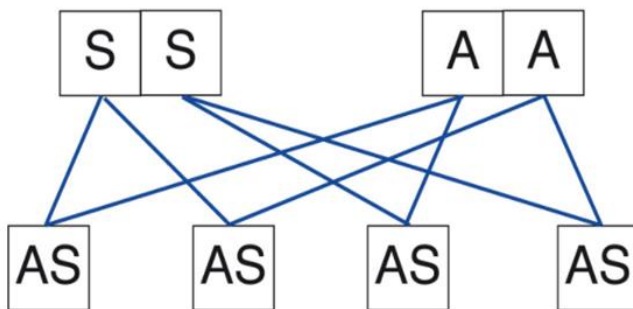
- Deux enfants sur quatre sont sains
- Deux enfants sur quatre sont porteurs sains AS

- Si les deux parents sont hétérozygotes (AS/AS), le risque de transmission du gène est de 75% (risque AS = 50% et risque SS = 25%)



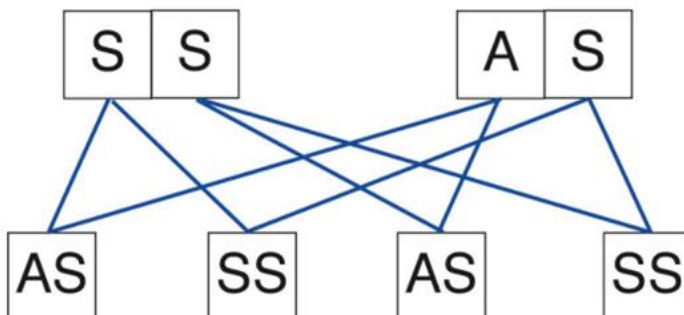
- Un enfant sur quatre est sain
- Deux enfants sur quatre sont porteurs sains AS
- Un enfant sur quatre est SS donc malade

- Si l'un des parents est normal AA et l'autre homozygote SS (AA/SS), le risque de transmission est de 100 %, tous les enfants seront AS.



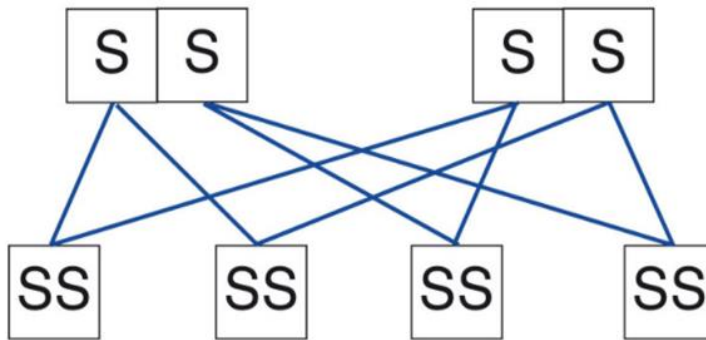
- Tous les enfants sont porteurs sains AS

- Si l'un des parents est hétérozygote et l'autre parent homozygote (AS/SS), le risque de transmission du gène est de 100 % (risque SS = 50% et risque AS = 50%).



- Deux enfants sur quatre sont porteurs sains AS
- Deux enfants sur quatre sont SS donc malade

- Si les deux parents sont homozygotes (SS/SS), le risque de transmission est de 100 %, tous les enfants seront homozygotes SS.

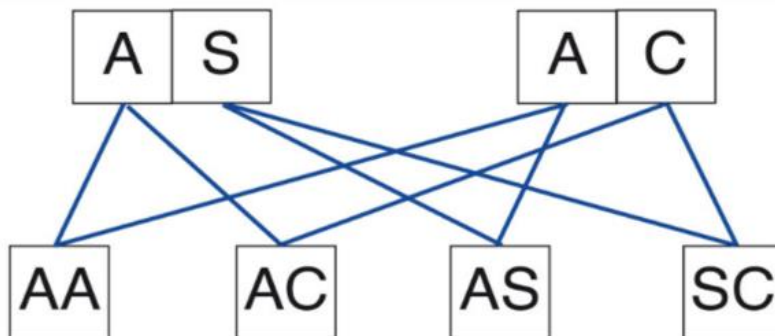


- Tous les enfants sont SS donc malades

Important: pour tous les enfants issus de mêmes parents, le risque sera toujours le même. Par exemple, si l'un des parents est hétérozygote et l'autre parent homozygote (AS/SS) et si le premier enfant est SS, le deuxième enfant a toujours le même risque de 50 % d'être aussi SS.

- **La maladie drépanocytaire SC et S β -thalassémique :**

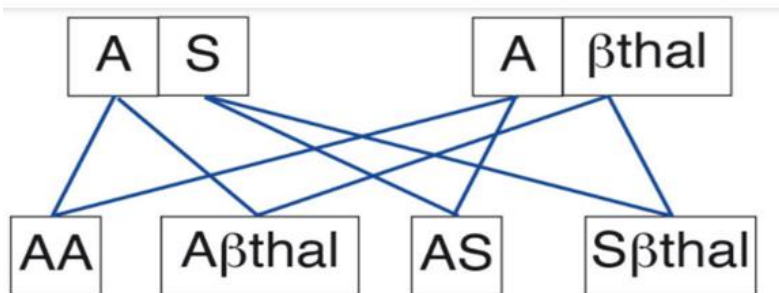
- A- L'hémoglobine C résulte d'une mutation du gène β -globine. Ainsi, les sujets porteurs sains AC sont susceptibles de transmettre le gène C à leur descendance. Si le conjoint d'un porteur sain AC a des enfants avec un porteur sain AS, il existe un risque, une fois sur 4 à chaque grossesse de donner naissance à un enfant SC:



- Un enfant sur quatre est sain
- Un enfant sur quatre est porteur sain AC
- Un enfant sur quatre est porteur sain AS
- Un enfant sur quatre est SC donc malade

Les sujets SC sont atteints d'un syndrome drépanocytaire majeur dont l'expression clinique est atténuée par rapport aux malades SS.

B- La β -thalassémie résulte de l'absence d'expression d'un gène β -globine (β^0 thalassémie) ou d'une expression diminuée par rapport à celle d'un gène β -globine normal (β^+ thalassémie). Lorsqu'un sujet porteur sain de la thalassémie (A β -thalassémie) a des enfants avec un porteur sain AS, il existe un risque, une fois sur quatre à chaque grossesse, de donner naissance à un enfant S β -thalassémique:



- Un enfant sur quatre est sain
- Un enfant sur quatre est porteur sain AS
- Un enfant sur quatre est porteur sain Aβthal
- Un enfant sur quatre est Sβthal, donc malade

La forme S β⁰thalassémique a une expression clinique aussi grave que la forme SS, l'expression clinique des formes S β⁺thalassémiques est atténuée par rapport à celle des malades drépanocytaires SS(**Baléden and Girot, 2016**).

2.3.Diagnostic :

Le diagnostic de la drépanocytose doit être organisé de façon à pouvoir prendre en charge l'enfant drépanocytaire avant que se manifestent les premières complications de la maladie (Wajcman, 2004).

2.3.1. Diagnostic néonatal :

Le dépistage néonatal vise à détecter les nouveau-nés atteints de la maladie qui a été recommandé comme méthode de réduction de la mortalité des patients. Pour l'objectif de mettre en place une prise en charge spécialisée et des mesures préventives (antibioprophylaxie quotidienne et vaccinations) des complications infectieuses pour l'enfant et des mesures d'accompagnement auprès des parents avant que les premiers symptômes apparaissent la prise en charge ultérieure concerne de multiples complications aiguës et chroniques ; mais il peut également être à l'origine de la découverte d'une hétérozygotie AS (Ingeborg & Rousseau, 2003).

Les données indiquent que le dépistage chez les nouveau-nés, combiné à un suivi et à une éducation approfondis, réduira considérablement la mortalité chez les patients.

2.3.2. Techniques phénotypiques :

- le test d'Emmel ou test de falciformation avec ses limites car il ne distingue pas les hétérozygotes des homozygotes (Kitenge et al ; 2018).

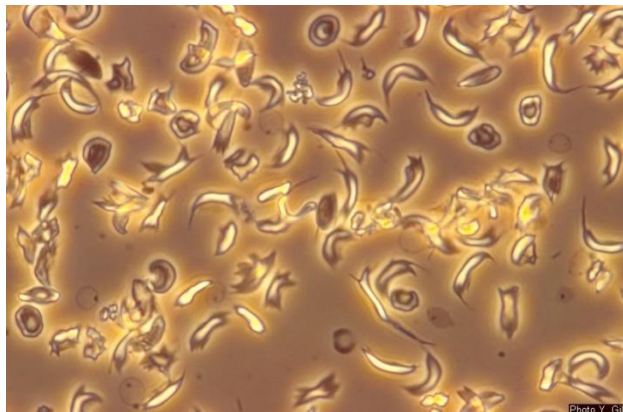


Figure 11:test Emmel détection de l'hémoglobine S (par falciformation des érythrocytes) (GILLE et al, 2015).

- Le test d'Itano ou de solubilité : c'est un teste de précipitation de l'hémoglobine S d'un hémolysat en présence d'hydrosulfite de sodium (figure12), qui permet de distinguer les hétérozygotes et les homozygotes. Ce test est encore de nos jours utilisé comme test de diagnostic dans différents régions de l'Afrique et sert au dépistage de masse en Inde.



Figure 12 : test de solubilité ITANO (Kaddari & Moradkhani, 2015)

- L'électrophorèse de l'hémoglobine avec ses différentes variantes et l'HPLC (chromatographie liquide à haute pression) sont des outils utilisés dans plusieurs pays pour le dépistage néonatal.

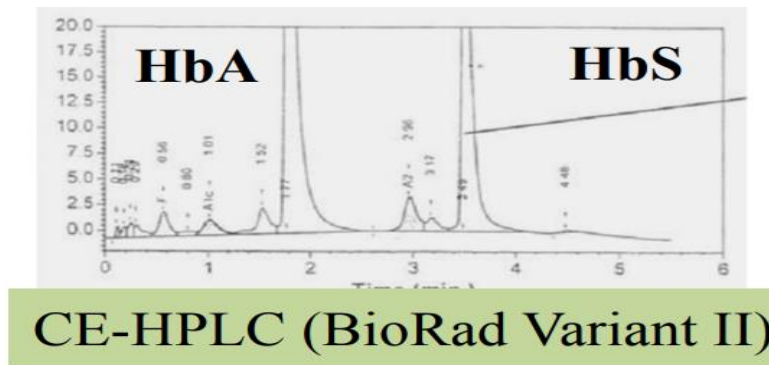


Figure 13 : chromatographie liquide à haute pression (Kaddari & Moradkhani, 2015).

- L'isoelectrofocalisation (IEF) qui a un grand pouvoir de résolution, entre autre, et un faible coût qui fait de lui un outil intéressant pour le dépistage de masse (Kitenge et al ; 2018).

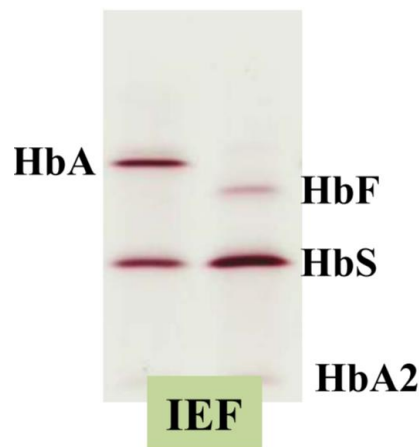


Figure 14 : l'isoelectrofocalisation (Kaddari & Moradkhani, 2015).

La chromatographie liquide à haute pression (CLHP) avec des temps de rétention différents selon les objectifs définis par le biologiste. Ces données phénotypiques sont jointes aux données anamnestiques et à celles de l'hémogramme pour établir un diagnostic (**Balédent; 2006**).

- La spectrométrie de masse qui a l'avantage d'être utilisée sans réactifs et qui peut servir à la fois pour le diagnostic en bactériologie et pour le dépistage de la drépanocytose
- Les nouveaux outils de diagnostic le test rapide Sickle scan qui détecte l'hémoglobine S dans le sang entier, qui peut être utilisé pour le dépistage systématique de la drépanocytose dans les coins reculés et qui offre l'avantage de ne pas exiger un quelconque équipement, ni le courant électrique. (**kitenge et al ; 2018**).

2.3.3. Techniques génotypiques :

Les techniques génotypiques sont celles de l'étude des gènes et de l'ADN au laboratoire et permet l'analyse directe de la lésion moléculaire sur les chaînes de globines. De plus, les gènes de globine sont de petite taille et ils peuvent être rapidement testés en totalité par séquençage ou par des méthodes de dépistage des mutations (**kitenge et al ; 2018**).

Il s'agit de méthodes d'amplification moléculaire suivies d'analyse indirecte (RFLP) ou directe (DOTBLOT) (figure 15) - oligosondes spécifiques (figure 16) - PCR en temps réel) ou de séquençage au locus d'intérêt (**Balédent; 2006**).

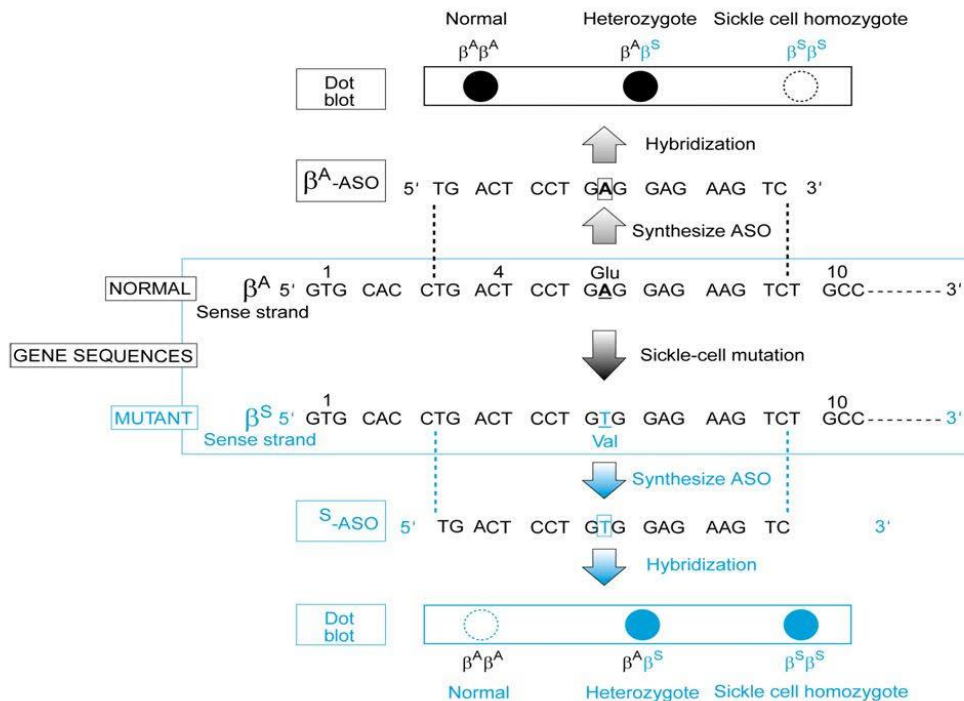


Figure 15: technique de DOTBLOT (Ledoux).

https://slideplayer.fr/slide/7308833/#.YMn048_qz1c.gmail

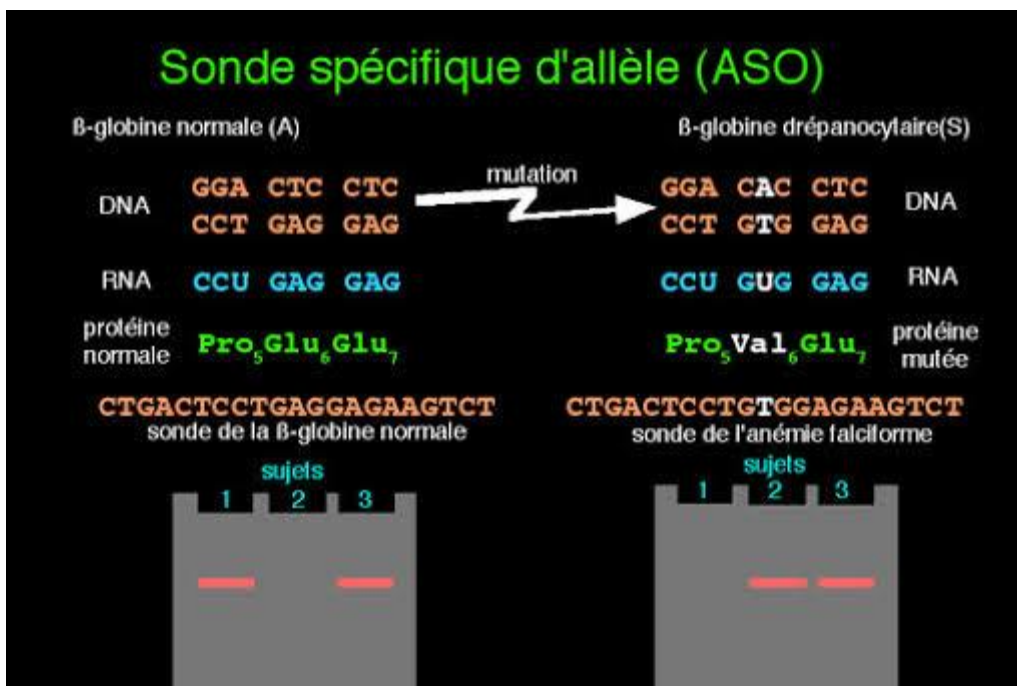


Figure 16: oligosondes spécifiques d'allèle ASO

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/BMbioch/POLY.Chp.14.12.html>.

Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) :

La mutation responsable de la maladie est localisée dans la séquence reconnue par l'enzyme de restriction BsuI. L'ADN mutant ne peut plus être coupé par l'enzyme à ce stade (El Barjraji et al, 2004).

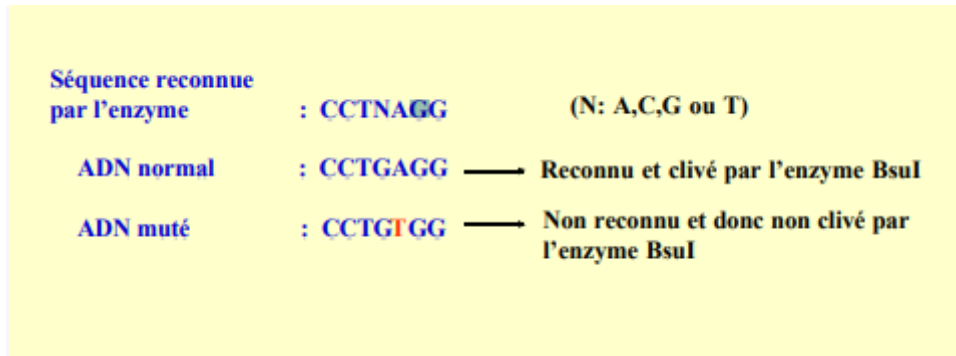


Figure 17: principe de détection par enzyme de restriction (El Barjraji, et al. 2004).

Après extraction de l'ADN génomique des lymphocytes du sang, un fragment d'ADN contenant une région pouvant être muté est amplifié par PCR à l'aide d'amorces spécifiques. Le fragment amplifié de 442 pb contient 2 sites de restriction pour l'enzyme BsuI s'il correspond au gène normal; il n'en contient qu'un seul s'il correspond au gène mutant. La digestion du fragment amplifié donne ainsi trois fragments de 201, 143 et 98 pb pour le gène normal. En présence de la mutation, un site disparaît, la digestion donne deux fragments de 344 et 98 pb (El Barjraji et al, 2004).

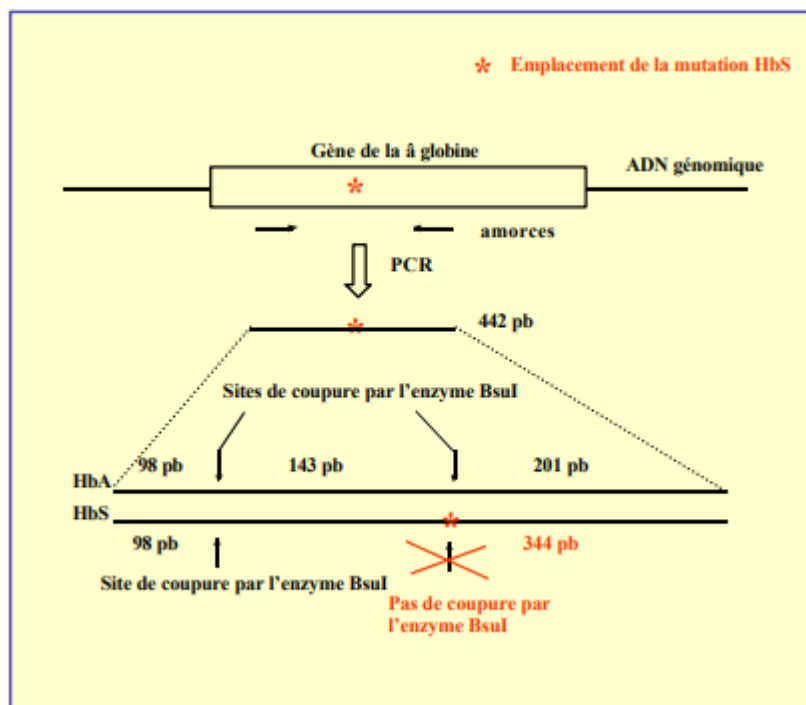


Figure 18: Détection de la mutation HbS par l'enzyme de restriction BsuI (El Barjraji et al, 2004).

La taille des fragments d'ADN formés est mesurée par électrophorèse sur gel d'agarose. Chaque individu possède deux copies du gène de la globine α , une héritée de son père et une de sa mère. Il y a donc 3 cas possibles (figure 18):

- soit deux copies sont normales HbA ou "AA".
- soit une seule des deux copies est mutée HbA et HbS ou "AS".
- soit les deux copies sont mutées HbS ou "SS" (El Barjraji et al, 2004).

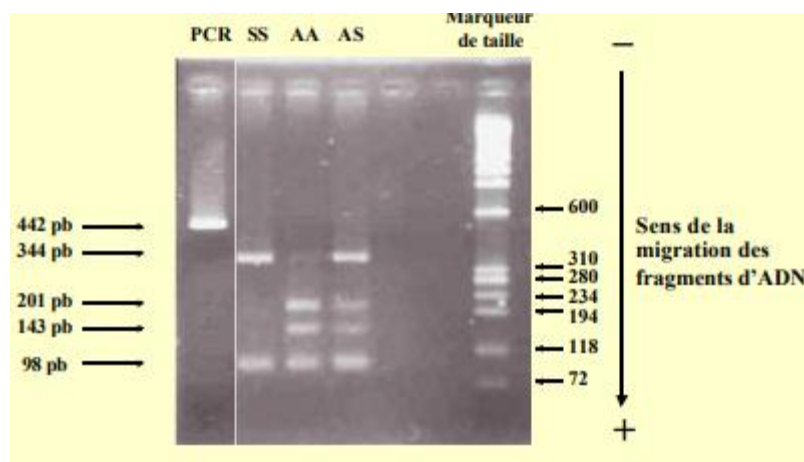


Figure 19 : migration sur gel d'agarose des fragments résultants de la restriction par enzyme (El Barjraji et al, 2004).

2.4.Diagnostic Prénatal

Le diagnostic prénatal combine toutes les techniques qui permettent la détection précoce d'anomalies fœtales ou de maladies génétiques .Le diagnostic prénatal pour la drépanocytose bénéficie des avancées de la biologie moléculaire obstétricale et de l'échographie fœtale et placentaire , et repose essentiellement sur l'analyse de l'ADN fœtal obtenu à partir des trophoblastes (biopsie de villosités choriale, entre 8 et 12 semaine d'aménorrhée (SA)) ou des cellules amniotique (amniocentèses précoce entre 15 et 20 SA) par biologie moléculaire permettant un diagnostic fiable et rapide (moins d'une semaine) à faible risque fœtal. Son intérêt est de prévenir à naissance d'un enfant atteint (Girot et al, 2003).

ANALYSE D'ARTICLE

1. Matériel et méthodes :

Le diagnostic biologique de la drépanocytose a beaucoup évolué ces dernières années qui demeure une des facettes de la prévention précoce de cette maladie, en Algérie cette maladie est mal traitée à cause de l'insuffisance du matériel de diagnostic génétique, pour cela nous avons sélectionné un article traitant l'utilisation des outils de diagnostic biologique.

Nous avons sélectionnés un travail portant sur une étude comparative entre la PCR et l'iso-électrolocalisation dans le diagnostic de la drépanocytose chez l'enfant à l'hôpital de la paix Ziguinchor (ZPH) Sénégal [Thiam L et al (2020)] pour valider la technique de biologie moléculaire (PCR) dans le diagnostic de la drépanocytose au laboratoire de l'HPZ, en prenant comme technique de référence l'IEF sur un échantillon de 286 prélèvements.

Tableau III: Répartition de la population selon les données épidémiologiques et sociodémographiques.

Données socio démographiques	Effectif (n = 286)	Pourcentage (%)
Sexe de l'enfant		
Masculin	156	54,5
Féminin	130	45,5
Age des enfants (ans)		
< 5	90	31,5
5 – 10	131	45,8
> 10	65	22,7
Groupe ethnique		
Diolas	90	31,5
Poulars	77	26,9
Manding	66	23,1
Wolofs	31	10,8
Sérères	17	05,9
Autres	06	02,1
Origine géographique		
Commune de Ziguinchor	168	58,7
Hors commune de Ziguinchor	118	41,3
Consanguinité parentale		
Oui	81	28,3
Non	205	71,7

Tableau IV: Répartition des enfants selon les circonstances du test, les antécédents et les signes cliniques.

Données cliniques	Effectif (n=286)	Pourcentage (%)
Circonstances du test		
Dépistage familial	119	41,6
Hospitalisation	89	31,1
Symptômes mineurs*	78	27,3
Antécédents/symptômes		
Hospitalisation	53	18,5
Transfusion	19	06,6
Syndrome pied-main	47	16,4
Autre crise vaso-occlusive	111	38,8
Hémolyse chronique	151	52,8

Symptômes mineurs* : douleur peu intense, pâleur et/ou ictère léger n'ayant pas nécessité une hospitalisation.

2. Résultats :

Tableau V: Répartition des enfants selon les résultats de la PCR et de l'iso électrofocalisation (IEF).

Effectif (n = 286)	Pourcentage (%)	Résultat PCR	Résultat IEF
116	40,6	SS	SS
98	34,3	AS	AS
09	03,1	AA	AA
01	00,3	AC	AC
03	01,0	SC	SC
31	10,8	SS	NI*
26	09,1	AS	NI*
01	00,3	SC	NI*
01	00,3	INV*	NI*

INV* = Invalide

NI* = non interprétable

Cinquante-huit (58) échantillons étaient non interprétables à l'IEF; un (01) échantillon était invalide à la PCR et non interprétable à l'IEF.

En dehors des cas non interprétables et/ou invalide, on notait une concordance de 100% entre les résultats des deux techniques.

Tableau VI: Performance comparée de la PCR et de l'iso électrofocalisation selon le profil.

		Drépanocytose + (AS, AC, SS, SC)	Drépanocytose - (AA)
Résultat du test PCR	Positif	Vrai positif (VP) = 218	Faux positif (FP)=0
	Négatif	Faux négatif (FN) = 0	Vrai négatif (VN) = 9

$$\text{Sensibilité} = \text{VP}/\text{VP}+\text{FN}$$

$$\text{Spécificité} = \text{VN}/\text{VN}+\text{FP}$$

$$\text{VPP} = \text{VP}/\text{VP}+\text{FP}$$

$$\text{VPN} = \text{VN}/\text{VN}+\text{FN}$$

La PCR avait une sensibilité à 100%, une spécificité à 100% par rapport à l'IEF. La valeur prédictive positive (VPP) était à 100% et la valeur prédictive négative (VPN) à 100%

L'ensemble des échantillons manipulés par la technique moléculaire s'est confirmé à l'IEF. Cette méthode a le meilleur pouvoir de résolution et offre une meilleure séparation des différentes hémoglobines (normales ou pathologiques).

Conclusion :

Il y avait une concordance de 100% entre les résultats des deux techniques comparées.

La validité de cette technique de biologie moléculaire est caractérisée par la rapidité technique et un risque moindre. Par ailleurs le cout financier est légèrement plus élevé par rapport à l'iso électrofocalisation.

3. Conclusion :

Notre étude bibliographique portant sur Les connaissances des différents aspects épidémiologiques, cliniques et diagnostiques de drépanocytose chez les enfants.

Après sélection et analyse d'un article pourtant sur les techniques de biologie moléculaire de diagnostic de drépanocytose, nous avons pu arriver que la PCR par la technique du KIT et la technique d'isoelctrofocalisation sont validées pour le diagnostic de la drépanocytose, mais il est recommandé d'utiliser la PCR par rapporte l'isoelctrofocalisation parce qu'il porte plus d'avantage, mais l'isoelctrofocalisation reste un outil remarquable pour l'étude de drépanocytose.

Malheureusement en Algérie la PCR par la technique du KIT de n'est pas disponible et l'isoelctrofocalisation est disponible en quelque centre telle que le centre hospitalise universitaire Salim Zemirli, centre pierre et Marie curie d'Alger , mais elle n'est pas utilisé pour le diagnostic de drépanocytose.

Due à l'insuffisance du matériel qui est nécessaire pour faire le dépistage, les connaissances épidémiologiques et la distribution de la maladie dans le pays est mal connu ; il faut les mettre en évidence par la disponibilité d'outils nécessaire de son diagnostic pour une meilleure prise en charge.

Bibliographie :

Abdala K.A1, 2, , Shindano M.E1, 2, and , Wembonyama O.S3 (2019) *Publié dans la Revue Africaine de Médecine et de Santé Publique sous Epidémiologie de la drépanocytose au Maniema : Défi du diagnostic et de la prise en charge de la drépanocytose à l'hôpital général de référence de Kindu .*

Ayéroué J., Kafando E., Kam L., Gué E., Vertongen F., Ferster A. (2009) - Hemoglobin sickle cell disease: experience of the Yalgado Ouedraogo University Hospital of Ouagadougou, Burkina Faso. *Arch Pediatr.*, 16 (4) : 316-21.

Ait, T. (2013, juin). "Il faut identifier les porteurs sains de la drépanocytose. *santé mag*, pp. 10-11.

Aubry, P., & Gaüzère, B. A. (2020). *Hémoglobinoses.* Université de Bordeaux, France: Médecine Tropicale.

Baudin, B. (2016) 'Les hémoglobines normales et pathologiques', *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(481), pp. 27–34.

Bizot, F. (2018) 'La thérapie génique: quel espoir pour les patients atteints de drépanocytose?', p. 127.

bouachiba, h., boukhalf, h., & gherbi, c. (2015). *Anémie héréditaire : drépanocytose et thalassémie.* alger: Santé et Médecine.

Boyvin, Lydie. (2014). *Evaluation Des Micronutriments (Vitamines A, E), Profils Hematologique Et Biochimique Chez Les Personnes Vivant Avec Le Virus De L'immuno-Deficience Humaine.*

Sophie Huynh-Moynot et al. (2011) *drépanocytose des aspects moléculaires.*

cappellini, m., cohen, a., porter, j., taher, a., & viprakasit, v. (2014). *recommandations pour la prise en charge des thalasseemies dependantes des transfusions- (tdt)3ème edition.* nicosia, cyprus: thalassaemia international federation.

CHABI ILOUGBADE O. T, T. (2014). *Hémoglobinoase C : Étude de Cohorte réalisée au Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V (HMIMV) - Rabat. UNIVERSITÉ MOHAMMED V - Souissi.*

Chéron, G. (2018). *Urgences pédiatriques, 5ème édition .* france: ELsevier masson.

El amani, m. (2019). thèse. *Diagnostic moléculaire Des bêta-thalassémies et des syndromes drépanocytaires chez les patients marocaines: à propose de 46 cas.* UNIVERSITE MOHAMMED V-RABAT.

El Barjraji Fattouch., Jazouli Nawal., Najar Mehdi. 2004. *Détection de la drépanocytose par analyse génétique, Printemps des Sciences, Sciences Biomédicales.*

Françoise Balédent (2006) Développement et Santé , Génétique et diagnostic biologique de la drépanocytose.

Françoise Balédent and Robert Girot (2016) Développement et Santé , Génétique et biologie de la drépanocytose.

GAUDRÉ, N. (2015, 06 19). Organisation D'une Filière De Soins Drépanocytose Dans Un Centre De Compétences. Université Toulouse Iii – Paul Sabatier .

GILLE, Y., PIERSON, A., & CUZIAT, J. (2015, 01 20). *BIOLTROP*. Récupéré sur BIOLOGIE TROPICALE: <http://www.bioltrop.fr/spip.php?article383>

Girot, R., Bégué, P., & Galacteros, F. (2003). *le drépanocytose*. JOHN LIBBEY EUROTEXT.

Gonzalez, Jean-Paul. (2018). Diagnostic tools and follow-up of sickle-cell anemia in Central Africa. *Medecine et sante tropicales*. 28. 124-127. 10.1684/mst.2018.0791.

Huret, J. L., & Troussard, X. (2008, 02). Gènes de la globine; drépanocytose - thalassémies. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*.

Hierso, R. (2015) 'Implication Du Stress Oxydant Dans La Physiopathologie De La Drepanocytose : Crises Vaso-Occlusives, Taux D'anticorps Anti-Bande 3 Et Oxydation Du Globule Rouge', P. 185.

ingeborg, r. b., & rousseau, j. (2003). *Avis scientifique sur le dépistage néonatal de l'anémie falciforme: état des connaissances et enjeux pour le Québec*. Guy Connolly.

inserm. (2017, 07 11). la drépanocytose. *La maladie génétique la plus fréquente en France*. république française.

Item , h., & Noui, c. (2017, 07 04). La drépanocytose : causes, symptômes et traitements. Université des Frères Mentouri Constantine.

Jean-Antoine Ribeil, Stéphane Blanche , Marina Cavazzana; Thérapie génique dans la drépanocytose.

Kitenge, Robert & Tshilolo, Léon & Loko, Gylna & Ngasia, Baron & Wamba, G & WHO, "WHO | World Malaria Report 2013," in WHO, 2013.

Kaddari, F., & Moradkhani, K. (2015, 09 25). Hémoglobinopathies du phénotype à la génétique. CNBH:44ème Colloque National des Biologistes Des Hopitaux Nantes.

Kehaili, I., & Mahmoudi, L. (2020, 06 28). Drépanocytose : génétique et épidémiologie. Université Abdelhamid IbnBadis-Mostaganem.

Klung, & Cummings. (1997). Récupéré sur Gene organization in the alpha and beta globin gene families: https://www.mun.ca/biology/scarr/Globin_gene_families.html

Ledoux, A. (s.d). *DIAGNOSTIC MOLECULAIRE*. Récupéré sur S: https://slideplayer.fr/slide/7308833/#.YMn048_qz1c.gmail

Labie, D., & Elion, J. (2005). Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. EMC - Hématologie, 2(4), 220–239.

Marroun, I. (2018) Le nouveau dictionnaire médical.

M.BELHANI. Epidémiologie de la bêta-thalassémie homozygotes en Algérie, Revue Algérienne d'Hématologie, 2009,1 : 22-29

MÉDECINE SORBONNE UNIVERSITÉ. (s.d.). Récupéré sur <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/BMbioch/POLY.Chp.14.12.html>

Odièvre MH, Verger E, Silva-Pinto AC, Elion J. Pathophysiological insights in sickle cell disease. Indian J Med Res. 2011 Oct;134(4):532-7.

OMS. (2006). *Drépanocytose*. Organisation Mondiale de Santé A59/9.

OMS. (2010). *DRÉPANOCYTOSE : UNE STRATÉGIE POUR LA RÉGION AFRICAINE DE L'OMS*. malabo: Organisation Mondiale de Santé.

ONU. (2008). *L'assemblée Générale Engage Les États Membres Dans La Lutte Contre Le Paludisme Et La Drépanocytose*. New York: Nations Unies.

Piel, F. B. (2013) 'Distribution géographique de la drépanocytose en 2010', médecine/sciences, 29(11), pp. 965–967.

pr.jean KOKO (2009) (1) Academia.edu | Recherche | prise en charge drépanocytose en Afrique.

Piel, F. B, Steinberg, M. H., & Rees, D. C. (2017). Sickle cell disease. New England Journal of Medicine, 376(16), 1561-1573.

Raisonnier, a. (2002, 06 19). Structures fonctions. Université Pierre et Marie Curie.

Rénatou, S. T., & Sabatier, P. 2019; (s.d.). *La Drépanocytose : Un Probleme Majeur De Sante Publique En Afrique*. France: Public Health Experts .

Récupéré sur De la structure à la fonction d'une protéine : l'hémoglobine: <http://pst.chez-alice.fr/protstfo.htm>

Sarah Mattionia, Katia Stankovic Stojanovica , Robert Girota , François Lionneta La drépanocytose en France. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - AVRIL 2016 - N°481.

Wajcman, H. (2004) , LA REVUE DU PRATICIEN, p. 5.

Wajcman, H. (2005) 'Hémoglobines : structure et fonction', EMC - Hématologie, 2(3), pp. 145–157.

zouikri, a. (2017). La drépanocytose est reconnue par l'OMS comme un problème majeur de santé publique. el watan.