

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA



FACULTE DES SCIENCES AGRO-VÉTÉRINAIRE ET BIOLOGIQUES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

Spécialité :
GENIE-BIOLOGIQUE
THEME:

**Intérêt de l'électrophorèse dans la détection
d'hémoglobinopathie**

Présenté par

M^{elle} BAID Rafika

Soutenue le : 25/12/2013

Devant le jury composé de :

M^{me} DEFFAIRI D.	MAA	USDB	Présidente
M^{me} ZATRA Y.	MAA	USDB	Examinatrice
M^{me} SAADI L.	MCB	USDB	Promotrice
M^r BITAM A.	MCA	ENSA	Co-promoteur

Promotion : 2011- 2012

Remerciements

Je remercie ALLAH

Le tout puissant, Le Miséricordieux pour m'avoir donné la santé et la force de réaliser ce travail.

« Telle est la grâce d'ALLAH qu'il la donne à qui veut. Et ALLAH est le détenteur de l'énorme grâce ».

Mes plus vifs remerciements et ma gratitude à ma promotrice: M^{me} SAADI Leila, maitre de conférence au département de biologie pour ses efforts, ses orientations, ses précieux conseils et son soutien.

Je tiens à remercier particulièrement les membres de jury :

M^{me} DEFFAIRI D., Maitre assistante au département de biologie, d'avoir fait l'honneur de présider le jury examinant ce travail.

Mes vifs remerciements également M^{me} ZATRA Y., maitre assistante au département de biologie, d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les professeurs ayant assuré notre formation en particulier et tous les professeurs de département de Biologie de Blida en général.

Nous tenons aussi à remercier d'une part tout le personnel du laboratoire d'analyses médicales Dr H. ARABI d' Alger de nous avoir accepté comme stagiaire au sein de leur laboratoire d'analyses et plus particulièrement Madame Lamia, et M^{elle} Fahima pour leur extrême gentillesse.

En terminant par un grand remerciement à toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

En témoignage de ma profonde gratitude, je dédie ce modeste travail :

A mon père

Pour son amour et son soutien moral qu'il m'a apporté durant toute la durée de cette formation.

A ma mère

Le bonheur de ma vie, pour ses sacrifices à mon égard et ses encouragements.

A mes chères frères : *Youssef, Yasser que dieu les protège.*

A ma chère sœur : *Asmaa.*

A ma tante Bahia et mon oncle Khaled.

A mes amis: *Khalida, Najou, Loubna, Et a mes amis de Biochimie Walid, Amine, Karima, Yasmina, Khadija, Imene,. Et a toutes personnes qui m'ont connue de loin ou de près.*

A tous ceux qui nous sont chers et qui nous aiment

Rafika

RESUME

Notre étude a porté sur 61 cas recrutés au niveau du laboratoire d'analyses médicales d'Alger afin de chercher une hémoglobinopathie à travers la formule numération sanguine et les profils électrophorétiques. La détermination de nombre des érythrocytes, du volume globulaire moyen, du taux de l'hémoglobine, l'hématocrite et le taux plasmatique de fer ainsi que le calcul des indices discriminatifs et l'électrophorèse sont réalisés chez tous les cas.

D'après l'analyse des résultats, nous constatons que la majorité des cas étudiés présentent une formule sanguine perturbée : un nombre élevé d'érythrocytes (26 cas), un faible volume globulaire moyen (50 cas), un taux faible d'hémoglobine (52 cas), un faible taux d'hématocrite (54 cas) et un taux élevé de fer sérique (52 cas). Le calcul des indices discriminatifs a permis de relever des cas qui sont orientés vers une carence en fer et d'autres vers la recherche de l'hémoglobinopathie par l'électrophorèse.

D'après l'analyse des profils électrophorétiques chez tous les cas étudiés, on montre différents types d'hémoglobinopathies avec la dominance de la β thalassémie hétérozygote (54,1%). La présence des types d'hémoglobinopathies diffère selon le sexe et l'âge.

D'après les résultats, nous pouvons conclure que la formule numération sanguine n'oriente pas vers le type d'hémoglobinopathie. L'électrophorèse reste le moyen adéquat à révéler de telle maladie chez l'homme. Cependant, le calcul des indices discriminatifs reste imprécis.

Mots clés : Hémoglobinopathie, Fer plasmatique, Electrophorèse, Formule numération sanguine.

Abstract

Our study focused on 61 cases recruited at the Algiers medical laboratory to seek hemoglobinopathies through the formula blood counts and electrophoretic profiles. The determination of the number of erythrocytes, mean corpuscular volume, hemoglobin levels, hematocrit and plasma iron levels and calculation of indices and discriminative electrophoresis are performed in all cases.

Based on the analysis results, we find that the majority of the cases studied show a disturbed blood count: a high erythrocyte (26 cases) number, a low mean corpuscular volume (50 cases), low hemoglobin (52 cases), low hematocrit (54 cases) and a high serum iron (52 cases). The calculation of discriminative indices can take on cases that are towards iron deficiency and others to search for hemoglobinopathies by electrophoresis.

Analysis of électrophorétic profiles in all cases studied, we note different types of hemoglobinopathies with the dominance of β thalassemia heterozygote's (54,1%). The presence of different types of hemoglobinopathies by sex and age.

From the results, we can conclude that the formula blood count is not moving towards the type of hemoglobinopathy. Electrophoresis remains the adequate means to reveal such disease in humans. However, the calculation of discriminative cues remains unclear.

Keywords: Hemoglobinopathy, Iron serum, Electrophoresis, Formula blood counts.

المخلص

61

(26)

(50)

(52)

(54)

(52)

(54.1%)

β

Liste des abréviations

- **ADN** : Acide Désoxyrube Nucléotide
- **CLHP** : Chromatographie Liquide à Haute Performance
- **EDTA** : acide éthylène diamine tétracétique
- **Fl** : Femtolitre
- **FNS** : formule numération sanguine
- **Glu** : Glutamique
- **GR** : globule rouge
- **Hb** : Hémoglobine
- **HbA** : Hémoglobine Adulte
- **HbA₂** : Hémoglobine Adulte 2
- **HbC** : Hémoglobine C
- **HbE** : Hémoglobine E
- **HbF** : Hémoglobine fœtale
- **HbS** : Hémoglobine S
- **HTC** : Hématocrite
- **VGM** : Volume globulaire moyen
- **IDM** : indice discriminatif MENTZER
- **IDE** : indice discriminatif ENGLAND
- **IDB** : indice discriminatifs BINET
- **Nm** : Nanomètre

- **NFS** : numération de formule sanguine
- **PCR** : Polymérase Chaîne Réaction
- **β thal hétér** : β thalassémie hétérozygote
- **β thal homo** : β thalassémie homozygote
- **S hétér** : S hétérozygote
- **S homo** : S homozygote
- **C hétér** : C hétérozygote
- **C homo** : C homozygote
- **α thal** : α thalassémie
- **S/C hétér** : S/C hétérozygote

Liste des figures

Figure 1 : Les drépanocytes sont des globules rouges allongés aux extrémités effilées, légèrement incurvés. Drépanocytose homozygote (Hb S/S)	04
Figure 2 : Anisocytose, hypochromie et anomalies de forme (poïkilocytose) des globules rouges (syndrome thalassémique)	06
Figure 3: Exemple d'une mère porteuse d'hémoglobine (AS) et d'un père porteur d'hémoglobine (AS).....	08
Figure 4: Électrophorèse de l'hémoglobine normale et anormale.....	09
Figure 5: Électrophorèse a pH alcalin sur acétate de cellulose.....	10
Figure 6: Focalisation isoélectrique sur gel d'agarose ou de polyacrylamide.....	11
Figure 7: Électrophorèse capillaire.....	12
Figure 8: Chromatographie liquide à haute performance.....	13
Figure 9: Test de falciformation.....	14
Figure 10 : Séparation des cellules par la cytométrie en flux.....	17
Figure 11 : Applicateur	20
Figure 12 : Port applicateur	20
Figure 13 : Profils électrophorétiques.....	21
Figure 14 : Répartition des cas selon le taux d'hémoglobine (a) et d'hématocrite (b).....	24
Figure 15: Répartition des cas selon le nombre des érythrocytes (a) et de volume globulaire moyen (b).....	25
Figure 16: Répartition des cas selon le taux de fer sérique.....	26

Figure 17 : Résultats du calcul des indices discriminatifs par les formules de Binet (a) de Mentzer (b) et d'England (c).....	28
Figure18: Différents types d'hémoglobinopathies chez les hommes (a), les femmes (b) et chez les enfants (c).....	30
Figure 19 : Profil électrophorétique chez des cas non anémiques.....	33
Figure 20 : Profil électrophorétique chez un sujet β thalassémique	34
Figure 21 : Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobine S hétérozygote.....	35
Figure 22 : Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobine C hétérozygote.....	36
Figure 23: Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobine une double hétérozygotie de type S/C	37
Figure 24: Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobine une double hétérozygotie de type S/ β thalassémie.....	38
Figure 25 : Profil électrophorétique chez un sujet α thalassémique	39
Figure 26 : Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobine avec la persistance d'hémoglobine fœtale	40
Figure 27 : Technique de l'application et de la migration	Annexe 01

Liste des tableaux

Tableau I : Cas sélectionné pour l'analyse des profils électrophorétiques

Tableau II : Réactifs fournis dans le kit HYDRAGELAnnexe 1

Tableau III : Paramètres hématologiques et les hémoglobinopathies chez 61 cas

Tableau IV : Taux de fer sérique chez les 61 cas.....Annexe 2

Tableau V : Indices discriminatifs chez les 61 cas.....Annexe 2

Tableau VI : Différents types d'hémoglobinopathies chez les hommes.....Annexe 2

Tableau VII : Différents types d'hémoglobinopathies chez les femmes..... Annexe 2

Tableau VIII : Différents types d'hémoglobinopathies chez les enfants..... Annexe 2

CONCLUSION

Notre étude est réalisée sur 61 cas afin de rechercher une hémoglobinopathie à travers certains paramètres hématologiques et l'analyse des profils électrophorétiques.

Les résultats obtenus montrent la présence de différents types d'hémoglobinopathies dont le pourcentage diffère selon le sexe et l'âge. Les types rependus sont :

- β thalassémie hétérozygote est retrouvée chez 68,42 % hommes, 63,63% femmes et 35 %enfants.
- S hétérozygote est enregistrée chez 5,26% hommes, 9,09% femmes et 5%enfants.
- C hétérozygote est signalée chez 5,26% hommes, 18,18% femmes et 5% enfants.
- persistance d'hémoglobine foétale est notée chez 15,18% hommes, 9,09% femmes, et 50% enfants.

Le calcul des indices discriminatifs par les trois formules (Binet, Mentzer et England) n'oriente pas le type d'hémoglobinopathie avec précision. Le type est confirmé par l'électrophorèse.

Il serait intéressant d'approfondir cette étude par des techniques de biologie moléculaire afin de faire un diagnostic plus précis.

Glossaire

Anémie hémolytique : anémie par excès d'hémolyse, elle liée à une anomalie Constitutionnelle.

Anisocytose : ce terme désigne une grande variabilité de la taille des érythrocytes, au-delà des limites normales.

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

Drépanocytose : est une pathologie génétique définie par une mutation d'au moins un des deux gènes codant pour la chaîne bêta de la globine formant ainsi l'hémoglobine S.

Hématimétrique : mesure du nombre de globules sanguins dans une quantité déterminée de sang.

Hémoglobinopathies : toute affection due à une hémoglobine anormale.

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

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

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

Maladie monogénique : maladie génétique qui est due à la présence d'une ou plusieurs mutations au sein d'un seul gène.

Microcytaire : dont les érythrocytes ont un diamètre réduit.

Normochrome : le contenu des érythrocytes en hémoglobine est normal.

Poikilocytose : elle indique une variabilité de la forme des érythrocytes (ovalocyte , schizocyte, acanthocyte, sphérocyte, stomatocyte, cellule cible, échinocyte.....).

Thalassémie : anémie grave résultant d'une déficience de la synthèse en globine.

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1-Généralités sur l'hémoglobinopathie.....	2
I-2-Mécanisme génétique.....	2
I-3-Classification	3
I-3-1. Drépanocytose.....	3
I-3-2. Hémoglobinose C.....	4
I-3-3. Doubles hétérozygoties.....	5
I-3-4. Thalassémies.....	6
I-4- facteurs de risques des hémoglobinopathies.....	7
I-5- Techniques spécifiques d'exploration des hémoglobinopathies	8
I-5-1. Techniques électrophorétiques.....	8
I-5-2. Techniques chromatographiques.....	13
I-5-3. Techniques hématologiques et biochimiques complémentaires	14
I-5-4. Exploration génomique.....	15

CHAPITRE II : MATERIEL ET MÉTHODES

II-1- Matériel.....	16
II-1-1- Matériel biologique.....	16
II-1-2- Matériel et Appareillage.....	16
II-2-Méthodes.....	17
II-2-1- Prélèvement sanguins.....	17
II-2-2- FNS	17
II-2-3- Dosage de fer sérique.....	18
II-2-4-Technique électrophorétique	18
II-2-5-Recherche d'hémoglobinopathies par la méthode des indices discriminatif.....	22

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

III-1-Résultats.....	23
III-1-1- Analyse des résultats des paramètres hématologiques.....	23
III-1-2- Taux de fer sérique.....	26
III-1-3- Calcul des indices discriminatifs	27
III-1-4- Analyse des profils électrophorétiques	30
CONCLUSION.....	41

Références bibliographiques

Annexes

I- INTRODUCTION

Les anomalies de l'hémoglobine sont des maladies parfois graves se manifestant généralement par une anémie hémolytique (Arnal et Girot, 2002). Elles constituent un sérieux problème de santé publique dans de vastes pays du monde car elles sont de par leur fréquence, les premières des maladies génétiquement déterminées (Dreyfus, 1986).

Ces maladies touchent plusieurs centaines de millions d'individus en Asie, en Afrique et autour de la méditerranée (Bernard, 1978). Nous estimons à 50 000 000 d'individus le nombre de porteurs du trait drépanocytaire dans le monde. Aux Etats-Unis, la fréquence du trait drépanocytaire chez les afro-américains se situe entre 7 et 9% avec une prévalence de 0,2% (≥80 000 malades). En France métropolitaine, les patients drépanocytaires vivent essentiellement dans les zones les plus urbanisées (Arnal et Girot, 2002). 7% de la population mondiale sont des porteurs hétérozygotes d'une hémoglobinopathie et parmi les naissances d'enfants atteints de forme grave nous comptons 100 000 thalassémiques.

La détermination de la fréquence d'un gène β -thalassémique en Algérie est estimée à 3%. Cependant, une enquête nationale réalisée en 2007 sur 2000 personnes tirées au sort a donné un chiffre de 2% pour la prévalence du trait thalassémique, de 1,2% pour la prévalence de la drépanocytose tandis que celle de l'hémoglobine C est de 0,5% (Belhani, 2009).

Plusieurs travaux ont montré que chez des parents drépanocytaires hétérozygotes AS, un enfant sur quatre souffrira d'une anémie grave. Avec les progrès de la médecine, si cette anémie est vite diagnostiquée, l'enfant atteint aura une espérance de vie améliorée comme celle d'un sujet normal. Lorsqu'un seul des parents est atteint, l'anomalie chez les enfants est le plus souvent latente et bien supportée (Bernard, 1978).

A travers ce présent travail, nous nous sommes intéressés à la recherche de l'hémoglobinopathie chez des malades suspectés d'être anémiques et l'implication de la formule numérique sanguine et la méthode de l'électrophorèse dans la détection des types de l'anomalie.

I.1. Généralités sur l'hémoglobinopathie

Les hémoglobinopathies sont des maladies héréditaires du sang qui compromettent le transport de l'oxygène dans l'organisme. Toutes les anomalies hémoglobiniques actuellement connues sont liées à une altération de la globine. A présent, on n'a pas décrit d'hémoglobinopathie relevant d'une anomalie de l'hème (Giro, 1999). Ce sont des anomalies congénitales qualitatives ou quantitatives de l'hémoglobine. Les anomalies congénitales qualitatives appelées hémoglobinoses sont la conséquence d'une mutation ponctuelle entraînant le remplacement d'un acide aminé par un autre (au niveau des gènes de structure codant pour la synthèse des chaînes de la globine). La plus fréquente et la plus grave est la drépanocytose (hémoglobinoS où l'hémoglobine mutée est désignée par la lettre S) (Zittoun et al., 1988 ; Dreyfus., 1986). Les anomalies congénitales quantitatives appelées syndromes thalassémiques sont la conséquence d'un déficit de synthèse des chaînes β ou α de la globine. La maladie de Cooley (B Thalassémie Homozygote) est la forme la plus redoutable de par sa fréquence et sa gravité (Aitchafaa et al., 2010).

I.2. Mécanisme génétique

Les mécanismes génétiques des hémoglobinopathies sont multiples. La simple mutation d'une base de l'ADN codant pour la chaîne de la globine par une autre est le phénomène le plus fréquent. Dans la plupart des cas, cette mutation aboutit à la substitution d'un acide aminé par un autre dans la chaîne protéique synthétisée. Certaines hémoglobines anormales sont la conséquence de deux mutations affectant le même gène : cas de l'hémoglobine C Harlem et C Ziguinchor. Dans de rares cas, l'hémoglobinopathie est secondaire à une fusion de gènes par crossing-over (cas de l'hémoglobine Lepore), par insertion ou délétion d'un ou plusieurs nucléotides (Dreyfus, 1986). La transmission des hémoglobinopathies est autosomale, dominante, cependant leur expression clinique a un caractère récessif (Zittoun et al., 1988 ; Dreyfus, 1986).

I.3. Classification

Les hémoglobines anormales sont des mutants structuraux caractérisés par le remplacement d'un acide aminé par un autre dans une des chaînes de la globine, secondaire à une mutation ponctuelle d'une base sur l'ADN. (Zittoun et *al.*, 1988). Selon le type de chaînes qui porte l'anomalie on distingue :

I.3.1. drépanocytose

Elle est la maladie génétique humaine la plus fréquente et la plus grave des hémoglobinoses (Guindo, 1998 ; Arnal et Girot, 2002).

Elle résulte de la mutation sur le chromosome 11 du sixième codon de la chaîne β entraînant la substitution d'un acide glutamique par une valine sur la protéine (Zittoun et *al.*, 1988 ; Arnal et Girot, 2002).

Elle est due à la production d'une hémoglobine anormale, l'hémoglobine S qui polymérise quand les GR sont désoxygénés dans la microcirculation (Arnal et Girot, 2002). Les globules rouges sont alors déformés en faux, se forment un thrombus (Zittoun et *al.*, 1998).

On a deux formes de drépanocytose :

- **Forme homozygote**

Le sujet a un taux d'hémoglobine de 7 à 9g/dl, une réticulocytose de 200 à 600.000/mm³, un VGM normal, la présence constante sur le frottis sanguin de drépanocytes. L'électrophorèse de l'hémoglobine met en évidence la présence d'hémoglobine S, F, et A₂, il n'y a pas d'hémoglobine A (Arnal et Girot, 2002).

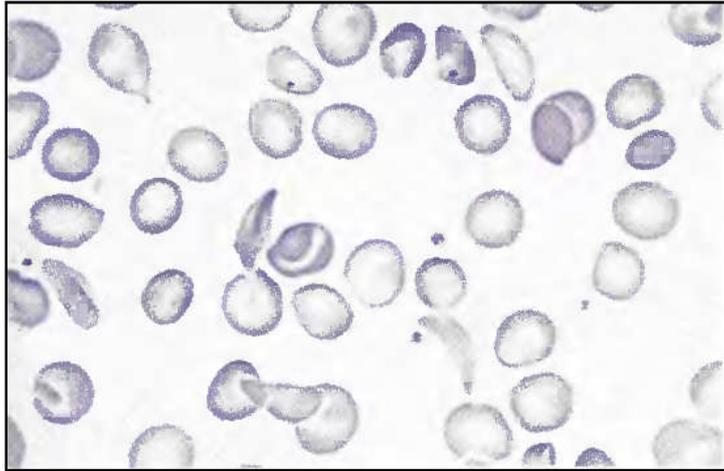


Figure 1 : Les drépanocytes sont des globules rouges allongés aux extrémités effilées, légèrement incurvés. Drépanocytose homozygote (Hb S/S) (Valensi, 2005).

Le frottis sanguin de la figure 1 montrant la déformation des érythrocytes en faux qui due à la production d'hémoglobine S qui polymérise quand les érythrocytes sont désoxygénés dans la microcirculation (Arnal et Girot, 2002).

- **Forme hétérozygote**

Les caractéristiques hématimétriques du sang périphérique sont identiques à celles du sang normal. La morphologie des hématies est normale, pas de drépanocytes en circulation. La concentration érythrocytaire de l'hémoglobine S est trop faible pour que la falciformation se produise *in vivo* (Baby, 1991). Cependant, lorsque les globules rouges sont incubés dans un milieu privé d'O₂, le phénomène de falciformation se développe et fait apparaître des drépanocytes (Arnal et Girot, 2002).

I.3.2. Hémoglobinose C

Elle est due à une hémoglobine anormale mutée sur la chaîne β $\alpha_2\beta_2$ (6Glu \rightarrow Lys). L'hémoglobine C migre comme l'hémoglobine A₂ à l'électrophorèse à pH alcalin. En milieu désoxygéné les globules rouges ne falciforment pas (Guindo, 1998). La transmission se fait selon le mode autosomique codominant.

- **Forme homozygote**

L'expression clinique est discrète caractérisée par une anémie hémolytique modérée avec splénomégalie. La croissance est normale de même que l'espérance de vie (Zittoun et *al.*, 1988 ; Guindo, 1998). L'électrophorèse montre 100% d'hémoglobine C.

- **Forme hétérozygote**

Elle est généralement asymptomatique (Zittoun et *al.*, 1988 ; Guindo, 1998), la durée de vie des globules rouges est normale (Arnal et Girot, 2002).

I.3.3. Doubles hétérozygoties

I.3.3.1. Hémoglobinose S/C

L'hémogramme montre une anémie modérée normochrome, normocytaire régénérative parfois hypochrome microcytaire (Baby, 1991). Le taux d'hémoglobine est de 10 à 12g/dl. Le test de falciformation est positif. Quand à l'électrophorèse, elle montre la coexistence des hémoglobines S et Hb C (Arnal et Girot, 2002).

I.3.3.2. Thalasso drépanocytoses

Les patients ont un syndrome anémique moins important que celui des drépanocytaires homozygotes (Zittoun et *al.*, 1988).

- **Forme usuelle β^+/S**

Elle présente plus d'hémoglobine S que d'hémoglobine A et en outre, un excès d'hémoglobine F et d'hémoglobine A2 (Zittoun et *al.*, 1988).

- **Forme β^0/S**

Elle n'a que de l'hémoglobine S et F et doit être distinguée de la drépanocytose par l'enquête familiale (Zittoun et *al.*, 1988). Elle est comparable à celle de l'homozygotie S.

I.3.4. Thalassémies

Les syndromes thalassémiques sont des affections génétiques. Ils sont la conséquence d'une insuffisance de synthèse d'une ou plusieurs chaînes de globine. Les syndromes thalassémiques sont caractérisés par des anémies héréditaires hémolytiques. Ils se transmettent sur le mode autosomique récessif (Demontalembert, 2002).

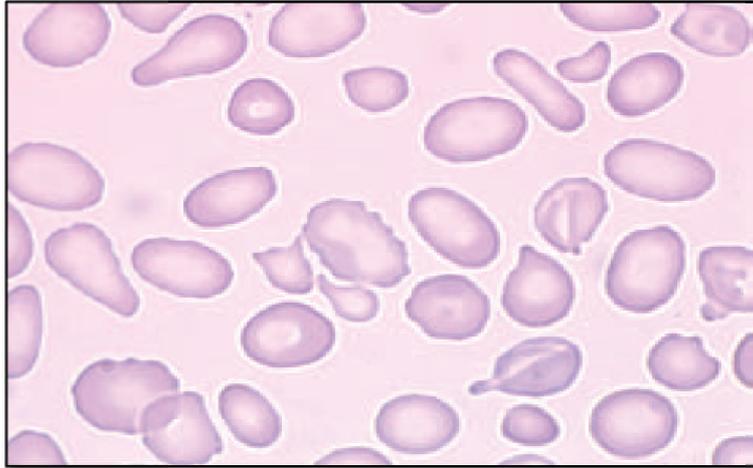


Figure 2 : Anisocytose, hypochromie et anomalies de forme (poïkilocytose) des globules rouges (syndrome thalassémique) (Valensi, 2005).

Le frottis sanguin de la figure 2 montrant les caractéristiques des érythrocytes qu'on peut les observées chez les personnes thalassémique. Selon cette figure nous constatons une grande variabilité de la taille des érythrocytes au de –là des limites normales se qui nous donne différentes formes (ovalocyte , schizocyte, acanthocyte, sphérocyte, stomatocyte, cellule cible, échinocyte.....) accompagné avec une hypochromie (Arnal et Girot, 2002).

I.3.4.1. Syndromes α - thalassémiques

Par définition, un rapport α / non α inférieur à 1 correspond à une α -thalassémie (Galacteros et Goldcher, 1985). Ils sont caractérisés par la diminution de synthèse des chaînes α affectant par conséquent la synthèse des trois hémoglobines physiologiques. L'excès de synthèse des chaînes β et γ par rapport aux chaînes α provoque la formation des tétramères sans chaînes α :

- l'hémoglobine Bart's (= γ_4)

- l'hémoglobine H(=β4) (Galacteros et Goldcher, 1985)(Demontalembert,2002).

I.3.4.2. Syndromes β-thalassémiques

Par définition, un rapport α / non α supérieur à 1 correspond à un β-thalassémie chez un adulte et à une γ thalassémie chez un fœtus ou un nouveau-né (Galacteros et Goldcher, 1985). Ils sont caractérisés par la diminution de synthèse des chaînes β. Seule la synthèse de l'hémoglobine A est affectée donc les taux des hémoglobine F et A2 sont augmentés (Galacteros et Goldcher, 1985 ;Demontalembert, 2002).

- **β-thalassémies homozygotes (Anémie de Cooley)**

Les signes cliniques apparaissent chez le nourrisson: pâleur constante L'hyperplasie des os de la face confère aux enfants un aspect asiatique, L'anémie est constante, le taux d'hémoglobine varie de 2 à 7g/dl (Demontalembert, 2002).

- **β-thalassémies hétérozygotes**

Les sujets sont bien portants, pas de signes cliniques d'anémie, exceptionnellement une splénomégalie discrète est constatée né (Galacteros et Goldcher, 1985 ; Demontalembert, 2002). Le taux de l'hémoglobine A2 est supérieur à la normale (supérieur à 3,5%) ; l'hémoglobine F est normale ou discrètement augmentée.

I.4. Facteurs de risques des hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont héritées des parents, tout comme le groupe sanguin, la couleur et la texture des cheveux, la couleur des yeux et autres caractéristiques physiques.

L'hémoglobine est constituée de 2 parties qui sont transmises par chacun des parents (de manière héréditaire). On garde la même hémoglobine toute sa vie. Schématiquement, une personne est dessinée avec 2 lettres (une pour la partie reçue du papa et une pour celle reçue de la maman). Le plus souvent, c'est de l'hémoglobine A, si l'une des 2 lettres (une des 2 parties de l'hémoglobine) n'est pas

"A" mais différente ("X"), on dit que l'on est « porteur d'une hémoglobinopathie, d'une hémoglobine "X" ». Un porteur est en bonne santé ; il est aussi appelé "AX".

Si l'on reçoit une hémoglobine anormale des deux parents ("XX"), on peut être malade, par exemple avoir trop peu de globules rouges (« anémie »). Cela dépend des deux parents. Si les deux parents portent une hémoglobine X, le risque d'avoir un enfant malade est de $\frac{1}{4}$ à chaque grossesse. Si un parent est porteur et l'autre pas, il n'y aura pas d'enfant malade (anonyme, 2006).

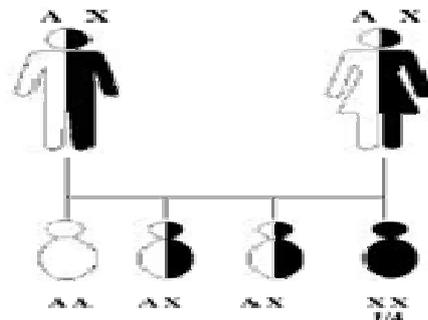


Figure 3: Exemple d'une mère porteuse d'hémoglobinose (AS) et d'un père porteur d'hémoglobinose (AS) (anonyme, 2006).

Les patients qui sont les plus à risque de porter une hémoglobinopathie :

- Toute personne d'origine géographique à risque d'hémoglobinopathie.
- Toute personne présentant une microcytose-polyglobulie sanguine inexplicée (risque de thalassémie).
- Toute personne présentant des symptômes cliniques évocateurs d'hémoglobinopathie (Valérie, 2001).

I.5. Techniques spécifiques d'exploration des hémoglobinopathies

I.5.1. Techniques électrophorétiques

➤ Électrophorèse sur gel d'agarose à pH alcalin

Elle a été réalisée à pH alcalin. La technique consistait à faire migrer un hémolysat sur une plaque de gel d'agarose et les différentes hémoglobines migraient plus ou moins rapidement suivant leur mobilité électrophorétique en

fonction de leur poids moléculaire et de leur charge électrique (Audigie et Zonszain, 1995)

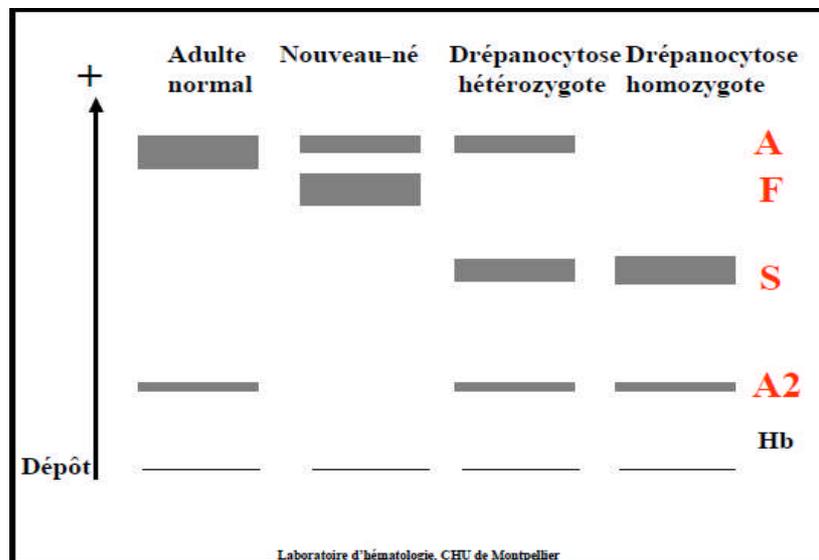


Figure 4: Electrophorèse de l'hémoglobine normale et anormale (Aguillar-Martinez, 2004).

La figure 4 montre une différenciation des hémoglobines normales A, A₂, F, l'électrophorèse permet également de différencier les hémoglobines anormales.

-L'adulte normale possède l'hémoglobine A, A₂

-chez le nouveau né et l'enfant de mois d'un an on trouve de l'hémoglobine F. Dans la drépanocytose, il existe une hémoglobine anormale, l'hémoglobine S qui migre différemment de l'hémoglobine A, chez l'homozygote (SS) on ne trouve pas du tout l'hémoglobine A normale (sauf s'il est transfusé). Chez l'hétérozygote il y'a à la fois de l'hémoglobine A et de l'hémoglobine S (Aguillar-Martinez, 2004).

➤ **Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin**

Elle sépare les différentes hémoglobines en fonction de leur charge et de la position de l'acide aminé muté dans la molécule. Elle permet une bonne séparation des différentes fractions hémoglobiniques normales : A, F, A₂ et le dépistage des syndromes thalassémiques. Cependant il faut doser l'hémoglobine A₂ pour confirmer le diagnostic de β -thalassémie et utiliser un autre système de séparation pour identifier les hémoglobines anormales. Un tracé normal n'exclut pas une hémoglobinopathie (Couprie, 2000).

- Principe : à pH 8.5, la molécule d'Hb chargée négativement migre vers l'anode, les hémoglobines qui ont un gain de charge positive migrent plus lentement.
- L'Intérêt de cette technique : Simple à mettre en œuvre.
- Des remarques sur cette technique Technique la plus utilisée (Vinatier, 2006)

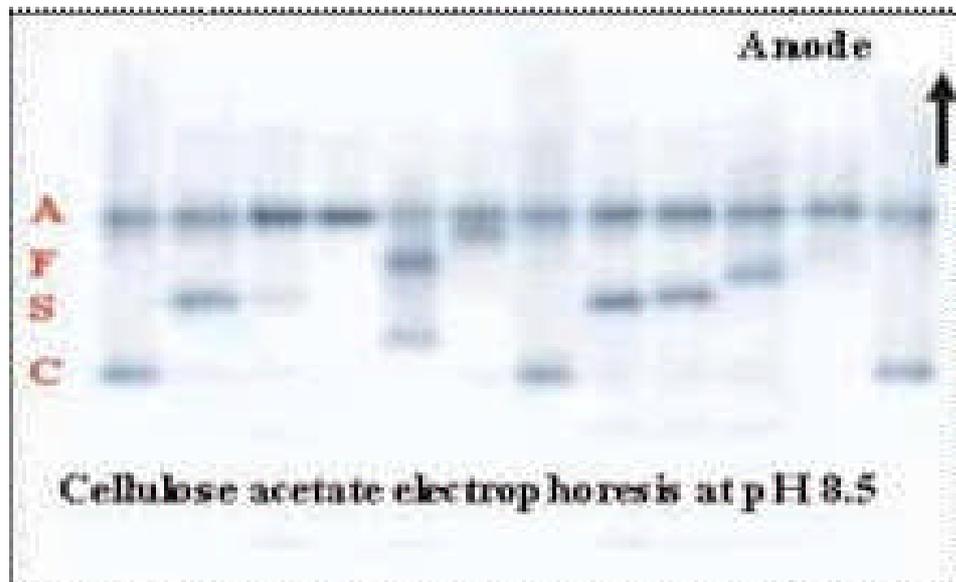


Figure 5 : Electrophorese a pH alcalin sur acetate de cellulose (Vinatier, 2006).

La figure 5 montre la migration des différentes hémoglobines normales qui correspondent de l'hémoglobine A qui est majoritaire chez les patients normales ou chez les patients porteurs d'hémoglobinopathies hétérozygotes mais on le trouvera jamais chez les patients porteurs des hémoglobinopathies homozygotes et F et les hémoglobines pathologiques qui correspondent de l'hémoglobine S et C et on remarque aussi que l'hémoglobine C migre en même niveau de l'hémoglobine A₂ (Vinatier, 2006).

➤ **Focalisation isoélectrique ou isoélectrofocalisation**

L'isoélectrofocalisation est une technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient de pH, sous voltage élevé. Les hémoglobines sont séparées grâce à leur point isoélectrique. La visualisation définitive des fractions hémoglobiniques est réalisée par une brève fixation par l'acide trichloracétique. Elle permet d'identifier les hémoglobines anormales chez l'adulte par comparaison de la

position isoélectrique du mutant inconnu avec celle d'un mutant de référence. Elle permet de détecter les hémoglobines anormales chez le nouveau-né (Hb F) (Couprie, 2000).

- Principe : utilise la différence de point isoélectrique des hémoglobines.
- L'intérêt de cette technique : elle a une très bonne résolution, Méthodes de choix pour la détection des hémoglobines anormales (Vinatier, 2006).

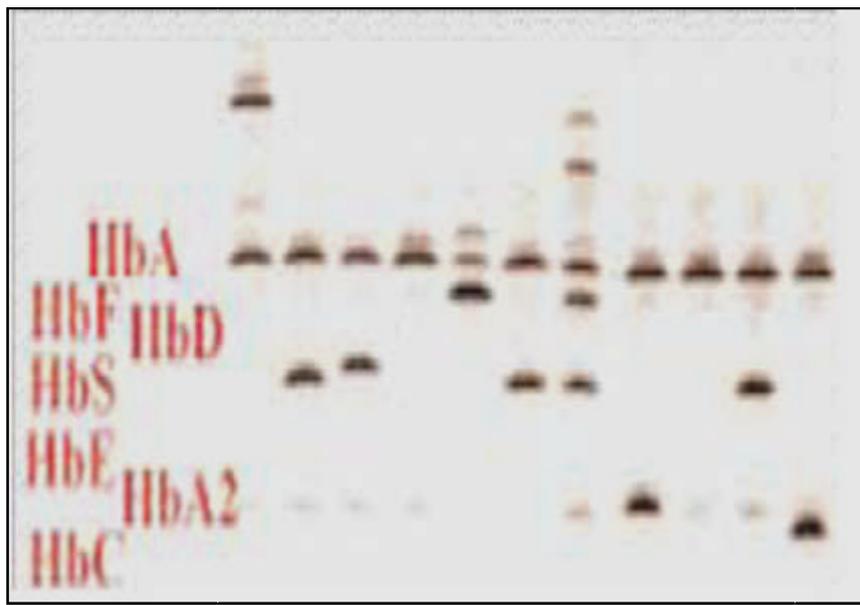


Figure 6 : Focalisation isoelectrique sur gel d'agarose ou de polyacrylamide (Vinatier, 2006).

L'isoélectrofocalisation permet de caractériser les hémoglobines F, S, C, D et E. on remarque d'après la figure 6 que : chez l'enfant de moins d'un an et le nouveau né ont une hémoglobine A et hémoglobine F, l'adulte normale possède une hémoglobine A et hémoglobine A₂. Chez l'homozygote on ne trouve pas l'hémoglobine A. chez l'hétérozygote AS ou AC, on trouve à la fois une hémoglobine A, S, ou C. l'enfant drépanocytaire possède une hémoglobine S et F (Vinatier, 2006).

➤ **Electrophorèse des chaînes de globine**

Cette électrophorèse est réalisée en gel de polyacrylamide en milieu acide dissociant, c'est-à-dire en présence d'urée 8 M et d'un détergent le Triton-X100 Cette technique met en évidence toute substitution d'acides aminés impliquant une

différence d'hydrophobicité de la chaîne latérale de l'acide aminé concerné, même en l'absence de différence de charge. Elle permet de séparer les deux chaînes γ qui ne diffèrent entre elles que par un résidu méthyle (Couprie, 2000).

➤ **Electrophorèse capillaire**

- L'intérêt de cette technique : elle est Rapide et Automatisée
- Performances satisfaisantes pour doser les fractions mineures, hémoglobine A₂ et hémoglobine F (Vinatier, 2006).

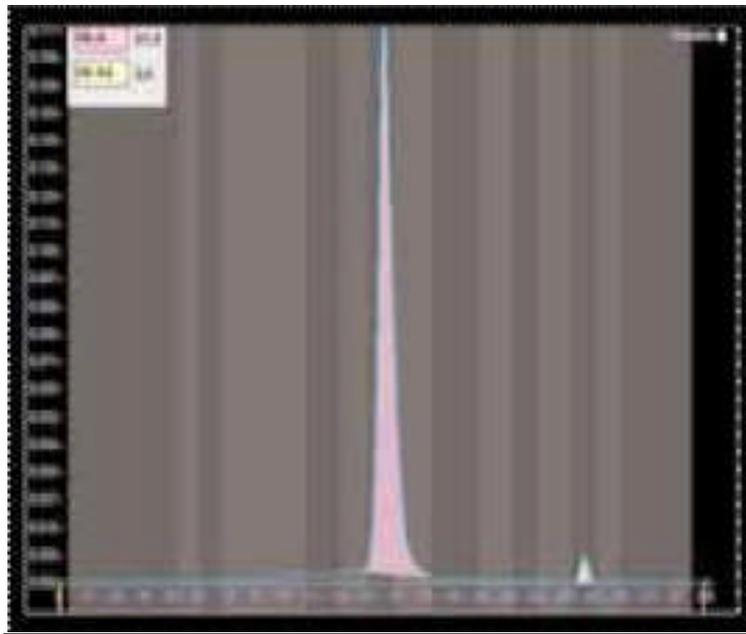


Figure 7 : Electrophorese capillaire (Vinatier, 2006).

D'après cette figure on remarqua l'apparition de 2 pics qui correspondent aux deux hémoglobines anormales qui sont l'hémoglobine F qui correspond au pic majeur et l'hémoglobine A₂ qui correspond au pic mineure (Vinatier, 2006).

I.5.2. Techniques chromatographiques :

➤ Chromatographie liquide à haute performance

Permet de quantifier les fractions hémoglobiniques A2 et F (Couprie, 2000).

- Principe : les différentes fractions d'hémoglobine sont séparées par un gradient de tampons de force ionique et de pH croissants (Vinatier, 2006).

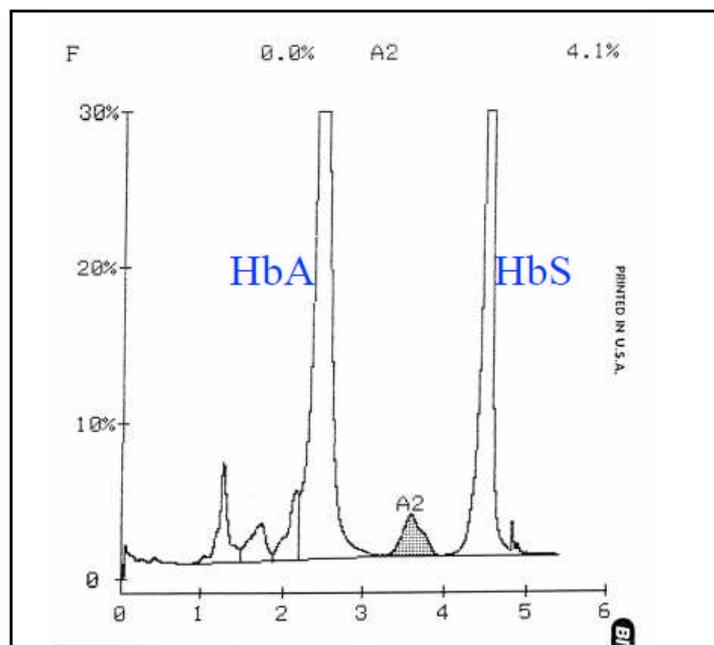


Figure 8 : Chromatographie liquide à haute performance (Vinatier, 2006).

Selon la figure 8 on remarqua l'apparition de 3 pics, l'une correspond à l'hémoglobine normale A, et les deux autres pics correspondent aux deux hémoglobines anormales qui sont respectivement l'hémoglobine A₂ avec un pourcentage de 4,1% et l'hémoglobine S avec un pourcentage de 30%.

I.5.3. Techniques hématologiques et biochimiques complémentaires**➤ Test de falciformation d'Emmel**

Il permet de rechercher une drépanocytose. La technique consiste à mettre en contact, sur une lame, une goutte de sang avec une goutte de métabisulfite de sodium. L'hémoglobine S et d'autres hémoglobines (comme l'hémoglobine C Harlem) ont une solubilité très diminuée quand elles sont désoxygénées. Les hématies qui les contiennent changent de forme et deviennent incurvées. On décèle alors rapidement au microscope la falciformation. C'est une technique très grossière qui ne permet pas de faire la différence entre drépanocytose hétérozygote et homozygote (Couprie, 2000).

- Principe : consiste à sceller une goutte de sang entre lame et lamelle et à attendre que les processus oxydatifs aient suffisamment réduit la tension en oxygène pour induire une falciformation visible au microscope.
- Les limites de cette technique : ne peut pas faire la distinction entre les diverses formes génétiques de drépanocytose, peu sensible, pas complètement spécifique de l'hémoglobine S (Vinatier, 2006).



Figure 9 : Test de falciformation (Vinatier, 2006).

D'après la figure 9 on remarque qu'il y a l'apparition d'hématies en faux lors de la présence d'hémoglobine S il est négatif en présence d'un taux élevé

d'hémoglobine F, de plus des hémoglobines autres que l'hémoglobine S peuvent donner une falciformation (Galactéros, 1995).

➤ **Test de solubilité de l'hémoglobine S ou test d'Itano**

L'hémoglobine S, sous forme désoxygénée, précipite quand elle se trouve en solution saline concentrée. Seule l'hémoglobine H, instable, précipite dans les mêmes conditions (Couprie, 2000).

- Principe : précipitation de l'hémoglobine S désoxygénée par du dithionite (hydrosulfite de sodium) en milieu salin concentré (tampon phosphate 2.8 M, pH 6.8).
- L'intérêt de cette technique : elle est très spécifique de l'hémoglobine S et Utile pour son identification (Vinatier, 2006).

➤ **Dosage de l'hémoglobine fœtale**

Plusieurs techniques existent. Cependant seule la CLHP permet de doser l'hémoglobine F quel que soit son taux (Couprie, 2000).

- Principe : mesure spectrophotométrique
- L'intérêt de cette technique : elle est Facile à exécuter et précisée (Vinatier, 2006).

I.5.4. Explorations génomiques

➤ **Polymérase Chain Réaction**

Des techniques d'amplification de l'ADN à l'aide d'amorces judicieusement choisies permettent de faire apparaître sur l'électrophorèse en gel d'agarose ou de polyacrylamide, des produits d'amplification de tailles différentes selon la présence ou l'absence d'une mutation ou d'une délétion (Couprie, 2000).

- Principe : les sondes sont construites de façon à être complémentaires des frontières de la délétion et d'amplifier ainsi un fragment spécifique à la délétion et qui la recouvre. Dans le cas de délétions étendues, la distance entre les deux sondes est trop importante pour permettre l'amplification de l'ADN normal.
- L'intérêt de cette technique : mise en évidence des délétions plus ou moins étendues des gènes α et β , plusieurs délétions peuvent être recherchées simultanément dans une même PCR (PCR multiplex) (Vinatier, 2006).

Notre travail est réalisé sur 61 cas, recrutés au niveau du laboratoire d'analyses médicales privé d'Alger afin de réaliser leur formule numération sanguine (FNS). La période de stage est étalée entre mois d'Août au mois de Novembre 2012.

L'objectif de cette étude est d'explorer les différentes hémoglobinopathies humaines à travers la détermination de quelques paramètres hématologiques et par les électrophoregrammes.

II-1- MATERIEL

II-1-1- Matériel biologique

Les cas présentés en laboratoire sont 19 hommes et 22 femmes avec un âge y compris entre 21 et 78 ans. 20 enfants de quelques mois à 10 ans font l'objet de notre étude. Les renseignements (l'âge, le sexe, GR, VGM, Hb, HCT, le fer sérique) des 36 cas sont prélevés à partir des fiches accompagnant chaque prélèvement. Alors que pour les cas restant (n= 25), ces paramètres sont réalisés par nous même.

II-1-2- Matériel et Appareillage

Au cours de notre étude, nous avons utilisé l'appareillage et les réactifs destinés à effectuer les dosages des paramètres demandés. Parmi les appareillages utilisés, nous citons : la centrifugeuse : qui sert à séparer les différents constituants du sang, le densitomètre pour la lecture des résultats, l'électrophorèse pour séparer les différentes fractions hémoglobiniques et un appareil pour l'FNS (Annexe 1).

II-2-METHODES

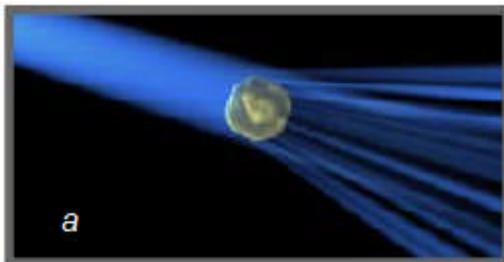
II-2-1- Prélèvements sanguins

Le sang est collecté dans des tubes avec un anticoagulant (EDTA). Le prélèvement est placé à 4°C si l'analyse n'est pas réalisée rapidement.

II-2-2- Formule numération sanguine

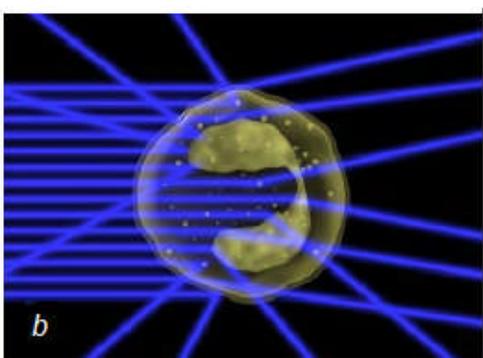
Elle est réalisée à partir d'un automate type SYSMEX, utilisant le principe de la cytométrie en flux, donnant un hémogramme complet. La cytométrie en flux permet d'étudier les caractéristiques physiques et biologiques des cellules en suspension comme le sang.

Toutes les cellules passent devant un faisceau laser qui le diffracte dans tous les plans de l'espace. Grâce aux caractéristiques de lumière diffractée, les cellules sont séparées selon la taille et le contenu cytoplasmique (figure 8).



Prodiffusion

Taille : plus la lumière est diffractée dans l'axe du laser plus la cellule est grosse



Diffusion latérale

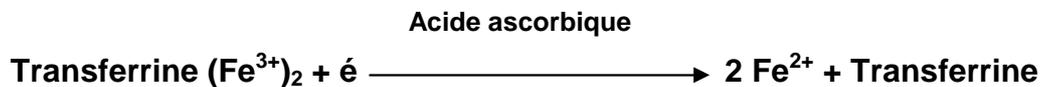
Complexité : contenu cytoplasmique

Figure 10 : Séparation des cellules par la cytométrie en flux (Terra, 2011).

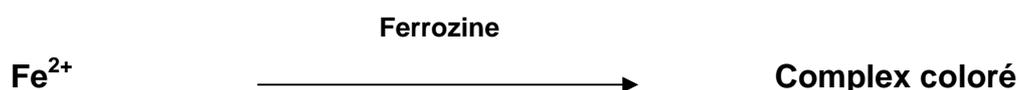
II-2-3- Dosage de fer sérique

Ce dosage s'avère nécessaire pour faire le diagnostic différentiel avec les anémies microcytaires causées par une carence martiale. Le taux de fer sérique a été mesuré par colorimétrie à la Ferrozine.

Dans le premier temps un volume de 1ml de réactifs [R1 : Acetate (100 m mol/l) + R2 : Acide ascorbique (99,7%)] est ajouté à 200 µl de l'échantillon (plasma) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5min à 37°C. Et donc le fer est détaché de la transferrine selon la réaction suivante :



Puis l'addition d'une goutte du réactif R3 [Ferrozine: (40 mmol/L)] et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction des ions de fer ferreux (Fe²⁺) qui forment un complexe coloré avec la Ferrozine. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en fer et est mesurée par photométrie à 562 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil (Annexes 01).



II-2-4- Technique électrophorétique

II-2-4-1- Principe

L'électrophorèse est une technique qui permet de mettre en évidence une modification, soit :

- en acides aminés par une modification de la charge électrique ;
- de la taille de la molécule ;
- de la fixation des molécules chargées : acide sialique, acide phosphorique ;

- de la configuration, qui peut entraîner secondairement une modification de la charge électrique.

Expérimentalement, une électrophorèse se déroule de la manière suivante :

-dépôt de l'échantillon

-passage du courant dans le support

-révélation des protéines « par des colorants spécifiques » (Sergier et Lucotte, 1981).

II-2-4-2- Etapas de la technique

-Préparation de l'hémolysat : Les globules rouges (GR) sont lavés deux fois par dix volumes d'eau physiologique (100 µl des GR+ 1000 µl de l'eau physiologique) puis centrifugés pendant 2 min. Le surnageant est ensuite éliminé. Nous hémolysons 10 µl de GR par 130 µl de solution hémolysante.

- Nous faisons sortir le gel de son emballage et nous éliminons rapidement l'excès de liquide en surface, en effleurant le gel avec un papier filtre.

-Le gel est ensuite placé sur le plateau de la porte applicateur contre la barrette (figure 27 a).

-L'appareil de l'électrophorèse « HYDRASYSE » est mis sous tension. 10 µl d'échantillon hémolysé sont déposés dans chaque puits de l'applicateur (figure 11) et (figure 27 c).

-Nous éliminons la protection des dents et nous plaçons l'applicateur dans le compartiment de la migration à 340 V constant à 20°C pendant 30 minutes sur le porte- applicateur (figure 12) et (figure 27 d).

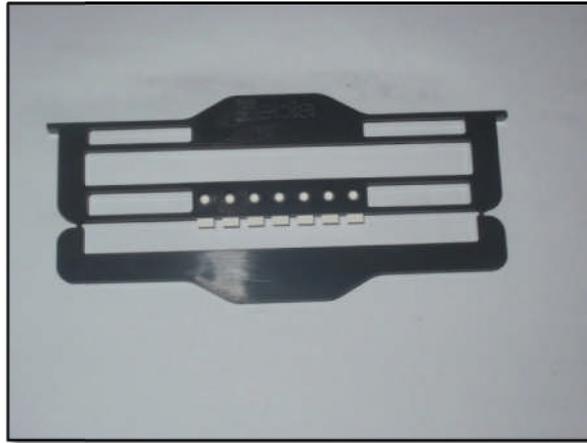


Figure 11 : Applicateur (Photo originale)



Figure12: porte applicateur (Photo originale)

Dans un bac rempli avec 150 ml de solution de fixation on immerge le gel pendant 15mn. Le gel est sorti et séché sous air chaud à 80°C dans l'incubateur sécheur,le gel sec refroidi est immergé dans la solution colorante pendant 5mn. Le gel est décoloré par trois bains successifs de décolorant jusqu'à obtention d'un fond parfaitement clair.

-La lecture se fait au densitomètre intégrateur à 570 nm. L'évaluation quantitative est faite par le densitomètre intégrateur qui donne le pourcentage des différentes fractions d'hémoglobine. Après observation, nous déterminons la présence ou l'absence d'une hémoglobine anormale.

Hémoglobine S

Sa mobilité est diminuée. Dans la technique HYDRAGEL HEMOGLOBIN, en tampon alcalin, l'hémoglobine S migre en position médiane entre les fractions A et A2.

Hémoglobine C

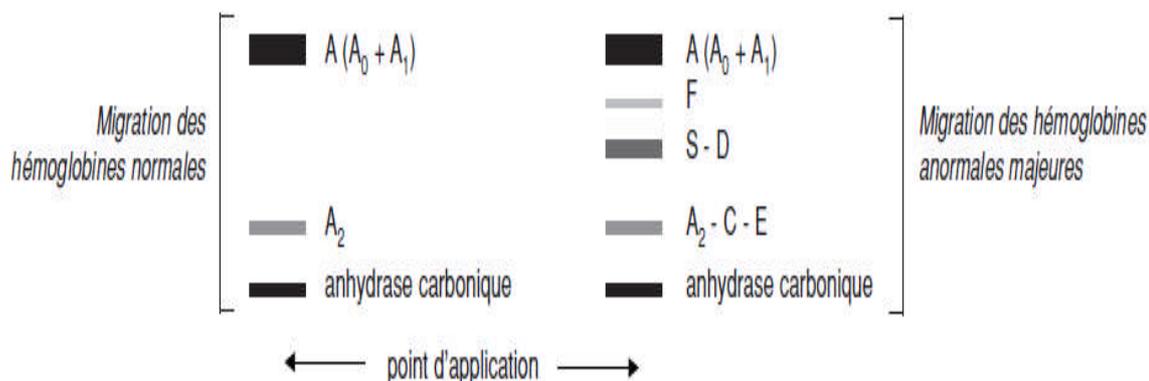
Sa mobilité est très réduite. Les hémoglobines C et E se trouvent parfaitement superposées à la fraction A2. Quand cette fraction est supérieure à 15%, la présence d'hémoglobine C et E peut alors être suspectée.

Hémoglobine E

Elle migre exactement comme l'hémoglobine C. En tampon acide, elle ne se sépare pas des hémoglobines A et A2., ce qui permet de la différencier de l'hémoglobine C.

Hémoglobine D

Elle migre exactement comme l'hémoglobine S. En tampon acide, elle ne se sépare pas des hémoglobines A et A2., ce qui permet de la différencier de l'hémoglobine S.



A₀ : fraction non glyquée de l'hémoglobine adulte normale A.
 A₁ : fraction glyquée de l'hémoglobine adulte normale A.

Figure 13: Profils électrophorétiques (SEBIA, 2006)

II-2-5-Recherche d'hémoglobinopathies par la méthode des indices discriminatifs

Trois indices discriminatifs sont utilisés pour déterminer l'origine de l'anémie:

- Indice discriminatif de BINET (IDB) avec une formule

$$\text{IDB} = (0.0379 \times \text{VGM}) + \text{GR} - 1.8$$

Si IDB < 5.7 : le résultat oriente vers une carence en fer.

Si IDB > 5.7 : le résultat oriente vers une thalassémie à confirmer par une électrophorèse.

- Indice discriminatif d'ENGLAND (IDE) avec une formule

$$\text{IDE} = (\text{VGM} - \text{GR} - (5 \times \text{Hb})) - 3.4$$

Si IDE > 0: nous oriente vers une carence en fer.

Si IDE < 0 : nous oriente vers une thalassémie à confirmer par une électrophorèse

- Indice discriminatif de MENTZER (IDM) avec une formule

$$\text{IDM} = \text{VGM} / \text{GR}$$

Si IDM > 13: nous oriente vers une carence en fer.

Si IDM < 13 : nous oriente vers une thalassémie à confirmer par une électrophorèse (Fossat et *al.*, 1996).

III.1. RESULTATS

Notre étude est réalisée afin d'explorer les différentes hémoglobinopathies humaines à travers certains paramètres hématologiques et les profils électrophorétiques.

III.1.1. Analyse des résultats des paramètres hématologiques

D'après l'analyse des résultats de notre étude, nous constatons que la majorité des cas étudiés présentent une formule sanguine perturbée qui touche essentiellement les paramètres suivants : l'hémoglobine, l'hématocrite, le nombre des érythrocytes, le volume globulaire moyen et le taux du fer sérique.

III.1.1.1. Hémoglobine et l'hématocrite

Le tableau III de l'annexe 2 et la figure 14 a et b, montrent que parmi 61 cas, 52 ont un taux d'hémoglobine inférieur à la norme alors que 9 cas, leur taux d'hémoglobine est normal. En ce qui concerne l'hématocrite, nous remarquons 54 cas avec un hématocrite inférieur à la norme et 7 cas avec un hématocrite normal.

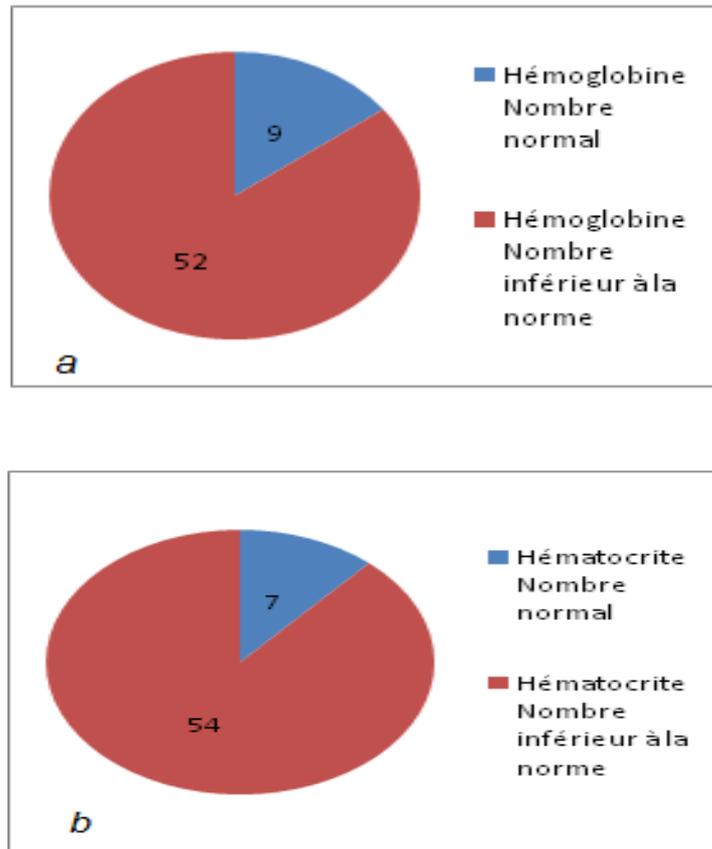


Figure 14 : Répartition des cas selon le taux d'hémoglobine (a) et d'hématocrite (b).

En effet une étude faite au CHU Beni messous- Alger a montré une diminution de différents paramètres hématologiques chez la totalité de la population, 76,47% présente une anémie hypochrome (Menasser, 2011).

Dans les maladies d'origine thalassémique l'hémoграмme révèle une anémie sévère souvent inférieure à 7g/dl et hypochrome < 37% liée à une érythropoïèse inefficace et une hyperhémolyse (Girrot, 2003).

III.1.1.2. Nombre des érythrocytes et le volume globulaire moyen

En comparaison avec les normes usuelles, nos résultats révèlent 8 cas présentant un faible nombre d'érythrocytes et 26 cas avec nombre élevé. Les 27 cas restant ont un nombre normal (tableau III de l'annexe 2 et la figure 15 a). En parallèles, le volume globulaire moyen diffère d'après les cas. Nous enregistrons 50 cas avec un faible volume et 2 cas avec un volume supérieur à la norme. Le reste des cas ont un volume globulaire moyen normal (le tableau II de l'annexe 2 et la figure 15b).

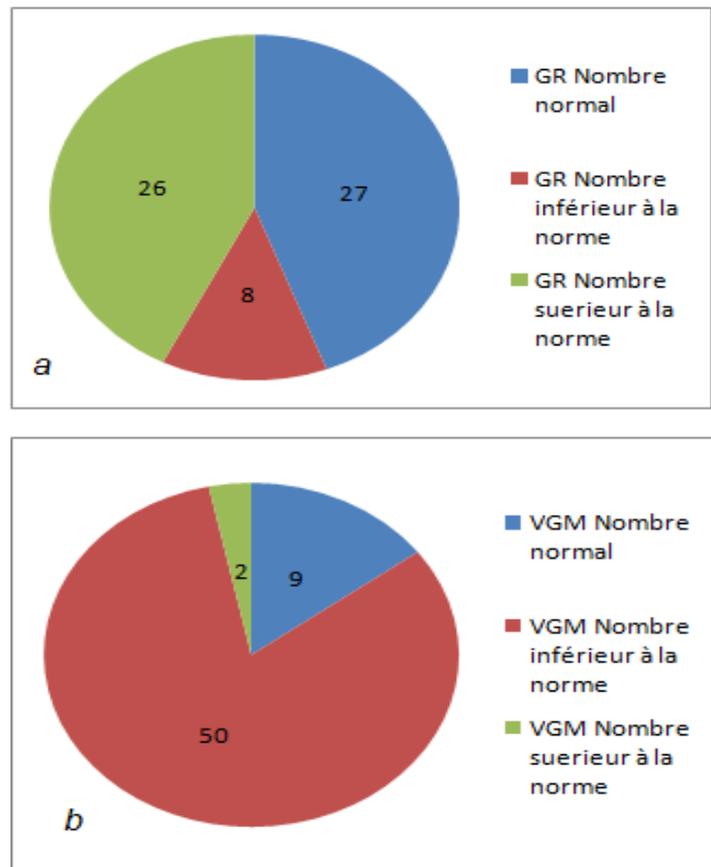


Figure 15 : Répartition des cas selon le nombre des érythrocytes (a) et le volume globulaire moyen (b).

Selon une étude faite au CHU Beni messous- Alger a montré que chez 70% de la population présente un taux faible de volume globulaire moyen donc a des érythrocytes microcytaires (Menasser, 2011).

Dans les maladies d'origine thalassémique l'hémogramme révèle une anémie microcytaire sévère souvent inférieure à 7g/dl et hypochrome < 37% avec un volume globulaire moyen : 60 et 80 μ^3 liée à une érythropoïèse inefficace et une hyperhémolyse (Giot, 2003).

III.1.2. Taux de fer sérique

Le dosage de fer sérique montre que parmi 61 cas, 9 cas présentant un taux de fer sérique normal alors que le reste des cas (n=52) ont un taux a supérieure à norme (tableau IV de l'annexe 2 et la figure 16).

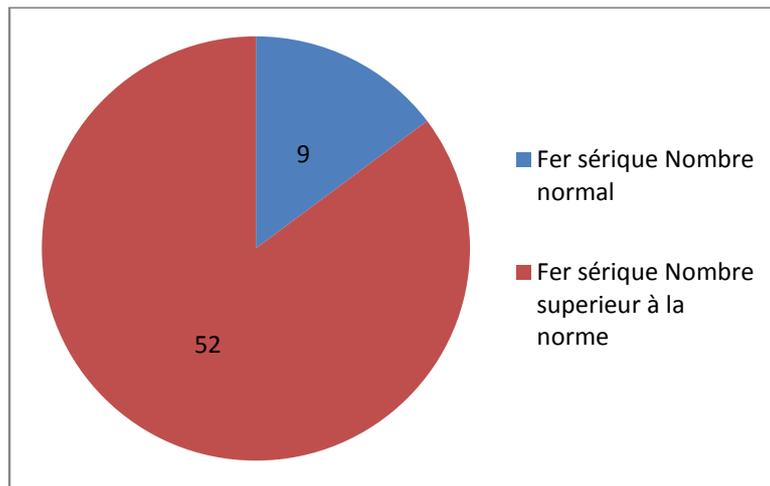


Figure 16 : Répartition des cas selon le taux de fer sérique.

D'après une étude faite en 2004 sur 40 cas ont constaté que : 7 cas ont eu une valeur abaissés du fer sérique, 31 cas ont eu une valeur normales et 2 cas ont une valeur élevées du fer sérique (Lopez et *al.*, 2004).

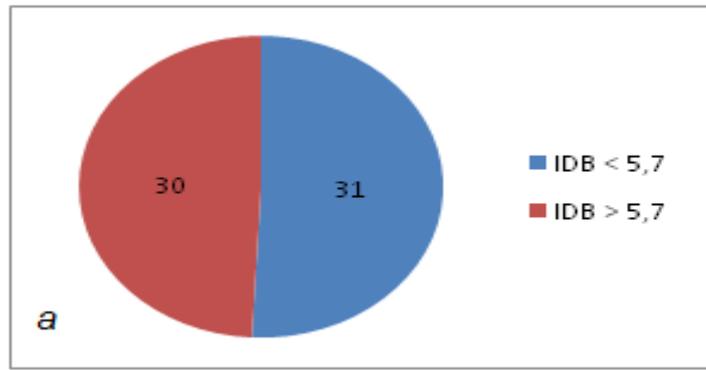
III.1.3. Calcul des indices discriminatifs

Le tableau V de l'annexe 2 et la figure 17 a, b et c présentent les résultats des calculs des indices discriminatifs (ID) par différentes formules.

Le calcul des ID par la formule de Binet (figure 17 a) avec 31 cas est $< 5,7$ qui présentent une carence en fer et $> 5,7$ avec les 30 cas restants. Ces derniers sont orientés vers une thalassémie à confirmer par l'électrophorèse.

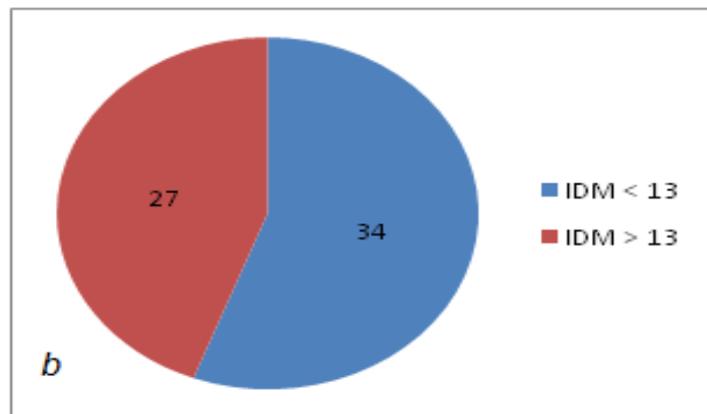
Le calcul des indices par la formule de Mentzer donne des résultats différents à ceux de la première formule (figure 17 b). L'IDM de 27 cas est supérieure à 13, ce qui oriente vers une carence en fer. Le reste des cas (n=34) leur IDM est inférieure à 13, ceci oriente vers une thalassémie à confirmer par l'électrophorèse.

Le calcul des indices par la formule d'England donne aussi des résultats différents (figure 17 c). L'IDE est > 0 chez 37 cas, qui sont orientés vers une carence en fer, et chez les 24 cas restants < 0 . Ces cas sont orientés vers une thalassémie à confirmer par l'électrophorèse.



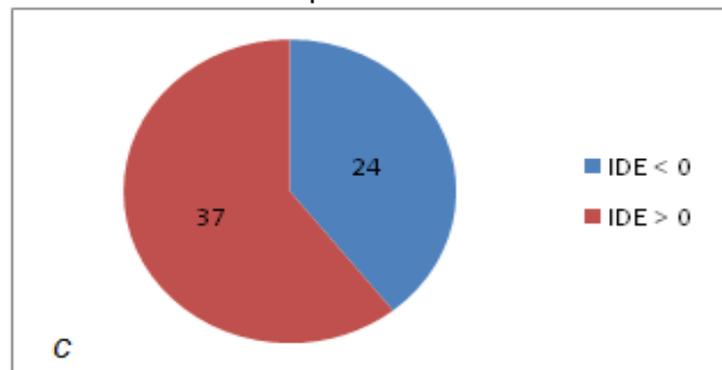
Si IDB < 5.7 : résultat oriente vers une carence en fer.

Si IDB2 > 5.7 : résultat oriente vers une hémoglobinopathie à confirmer par une électrophorèse



Si IDM > 13: nous oriente vers une carence en fer.

Si IDM < 13 : nous oriente vers une hémoglobinopathie à confirmer par une électrophorèse.



Si IDE > 0: nous oriente vers une carence en fer.

Si IDE < 0 : nous oriente vers une hémoglobinopathie à confirmer par une électrophorèse

Figure 17 : Résultats du calcul des indices discriminatifs par les formules de Binet (a) de Mentzer (b) et d'England (c).

D'après les calculs par différentes formules et en comparaison avec le dosage de fer, les résultats obtenus sont contradictoires. Aucun cas en carence de fer n'est présenté lors du dosage de fer sérique (figures 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26).

Au contraire, la majorité des cas ont un taux plus ou moins important.

D'après une étude faite, au cours de leur exploration et par l'utilisation des indices discriminatifs d'England, Mentzer et de Binet, ont orienté respectivement vers 26,87%, 34,33%, 53,73% d'anémie d'origine thalassémique (Boukrid et *al*, 2011).

III.1.4. Analyse des profils électrophorétiques

L'analyse électrophorétique chez les 61 cas montre la présence de plusieurs types d'hémoglobinopathies dont la β thalassémie hétérozygote domine chez toutes les catégories : 68,42% chez les hommes, 63,63% chez les femmes et 35% chez les enfants suivi par la persistance d'hémoglobine fœtale chez les hommes (15,78%) et les enfants avec un âge inférieure à 6 ans (50%) et le type C hétérozygote chez les femmes (18,18%) et (tableau II de l'annexe 2 et la figure 18 a, b et c). Les autres types se présentent en faible pourcentage.

Chez les hommes, nous retrouvons C hétérozygote, S hétérozygote et le type double hétérozygotie S / β thalassémie avec le même pourcentage (5,26%) tableau VI de l'annexe 2 et la figure 18(a).

Chez les femmes, existe le S hétérozygote et le type persistance d'hémoglobine fœtale avec le même pourcentage (9,09%) tableau VII de l'annexe 2 et la figure 18(b).

Chez les enfants, nous retrouvons S hétérozygote et le type double hétérozygotie S / β thalassémie et α thalassémie hétérozygote avec le même pourcentage (5%) tableau VIII de l'annexe 2 et la figure 18(c).

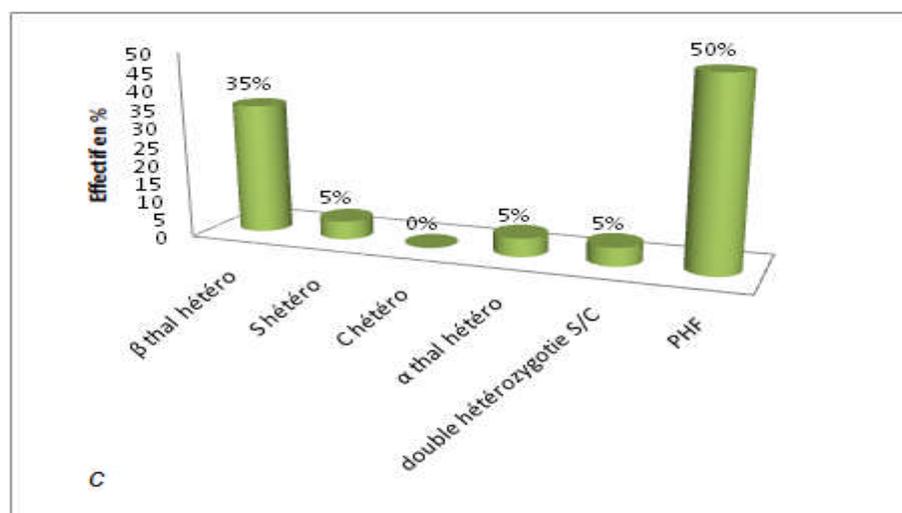
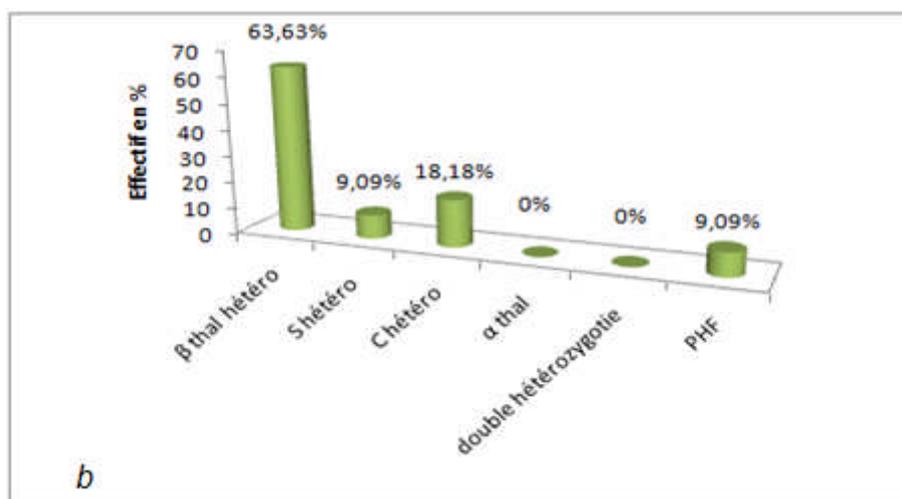
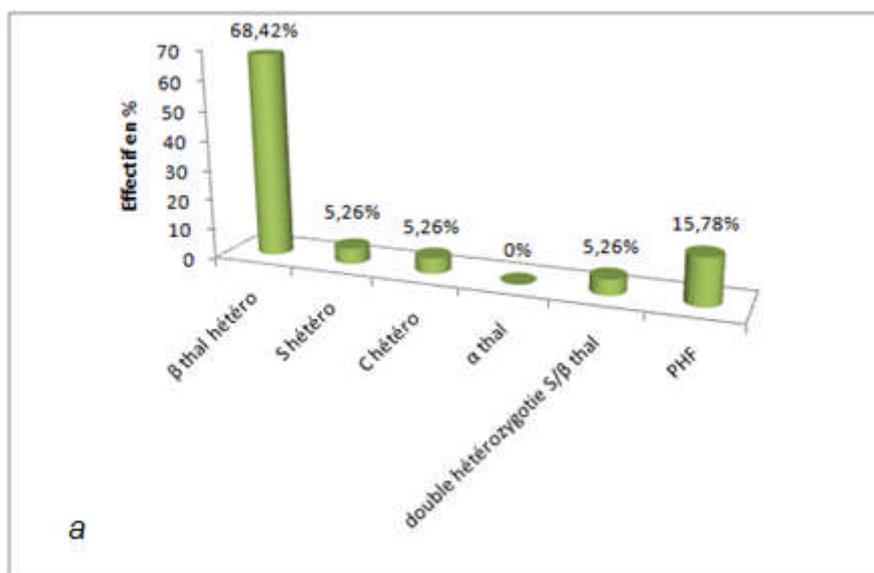


Figure18: Différents types d'hémoglobinopathies chez les hommes (a), les femmes (b) et chez les enfants (c).

Ces résultats confirment que cette pathologie peut toucher approximativement les deux sexes. D'après Bernard et *al*, 1998, la drépanocytose homozygote est une maladie très grave qui se révèle dès la petite enfance par une altération générale, et une anémie hémolytique chronique débutant dès le sixième mois de vie d'un enfant présentant d'une splénomégalie (Vanbourdolle et *al*, 2007). Elle est mortelle avant 20 ans dans la majorité des cas (Bernard et *al.*, 1998).

D'après une étude faite, a révélé que les syndromes drépanocytaires sont l'anomalie la plus fréquente (drépanocytose homozygote 20% et drépanocytose hétérozygote 32%) puis les syndromes thalassémiques qui représentent 28% pour la β -thalassémie homozygote et 16% pour la β thalassémie hétérozygote. Enfin l'hétérozygote C et le double hétérozygote S/C représentent la même incidence qui est de 2%(Belhadi K, 2011).

D'après une étude leurs résultats a confirmé l'existence de différents types d'hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna, 50 malades ont été trouvés parmi 115 sujets suspects, 8 sujets β -thalassémiques hétérozygotes (A/F) ,14 sont atteints d'une β - thalassémie homozygote (F/F), 10 malades drépanocytaires homozygotes (S/S) ,16 malades drépanocytaires hétérozygotes (A/S), un malade atteint d'une hétérozygote A/C et un autre une double hétérozygote S/C (Belhadi K, 2011).

L'analyse de quelques profils électrophorétiques chez une personne non anémique, présentant une FNS normale, et chez sept sujets soupçonnés d'être anémiques d'après les taux faibles de certains paramètres (HB, VGM, HCT). Ces patients sont aussi orientés vers une hémoglobinopathie par le résultat des calculs des indices discriminatifs (tableau V).

Tableau I : Cas sélectionnés pour l'analyse des profils électrophorétiques

Cas	GR	Hb	VGM	Hct	Fer sérique	IDB	IDM	IDE
1	4,5	13	80	47	130	5,7	17,77	7,1
2	5,89	12,3	66,6	39,3	178,3	6,61	11,31	-4,19
3	4,73	10	66	31,2	161,4	5,43	13,95	7,87
4	4,9	10,6	63	33,4	150	5,49	12,86	1,7
5	4,7	10	61	31,1	152	5,21	12,98	2,9
6	5,46	12	70	38	175	6,31	12,82	1,14
7	4,86	6,7	51,4	25	153,2	5,01	10,58	9,64
8	5,59	12,4	76,3	35	176,8	6,68	13,64	5,31

HB : Hémoglobine ; VGM : Volume Globulaire Moyen ; HCT : Hématocrite ;

IDB : Indice Discriminatif de Binet ; IDM : Indice Discriminatif de Mentzer ;

IDE : Indice Discriminatif d' England

Le gel d'agarose montre une forte migration de l'hémoglobine A par rapport à celui de A₂ qui a une mobilité très réduite. La lecture par densitomètre montre une fraction majeure de l'hémoglobine A avec un pourcentage de 97,5% et une fraction faible de l'hémoglobine A₂ (2,5%). Ces résultats que le sujet ne présente pas une hémoglobinopathie (figure 19).

III.1.4.2. Profil électrophorétique du deuxième cas

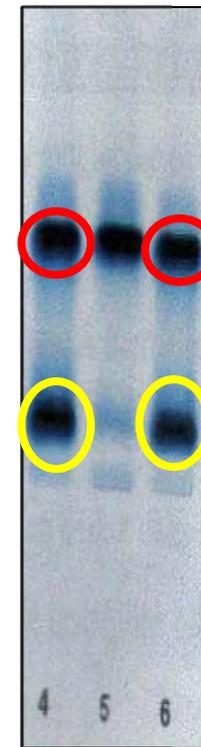
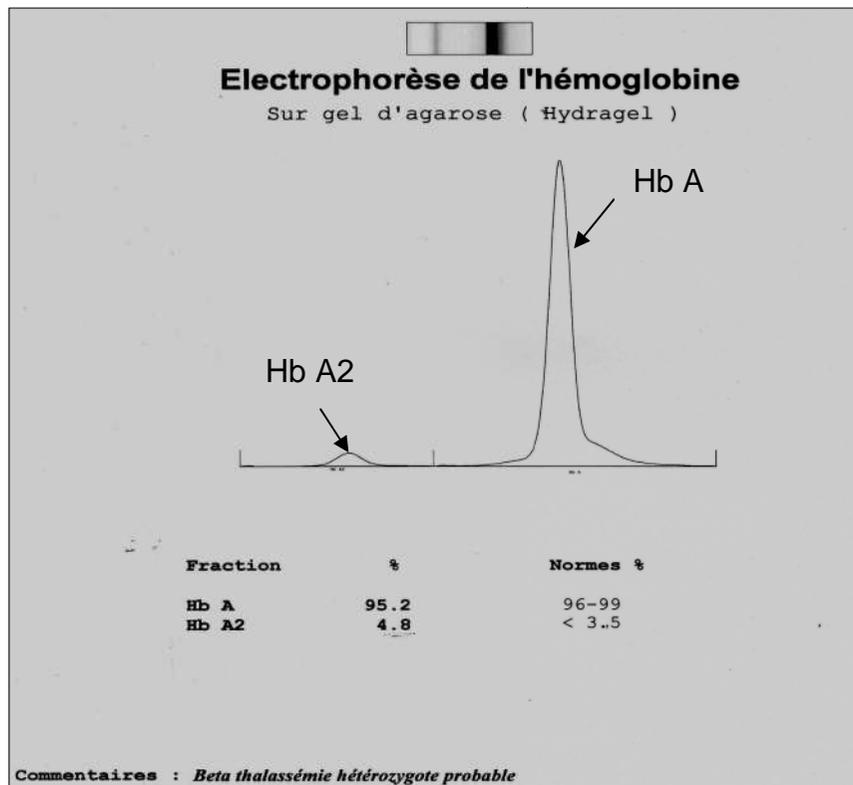


Figure 20: Profil électrophorétique chez un sujet β thalassémique hétérozygote.

Cercle jaune : HBA2 ; Cercle rouge : HBA.

Selon la figure 20, le gel montre l'apparition d'une bande d'hémoglobine A2 plus ou moins importante. Le densitomètre enregistre une augmentation de la fraction d'hémoglobine A₂ (4,8%) avec la présence de la fraction d'hémoglobine A (95,2%). Ce profil oriente vers une β thalassémie hétérozygote.

III.1.4.3. Profil électrophorétique du troisième cas

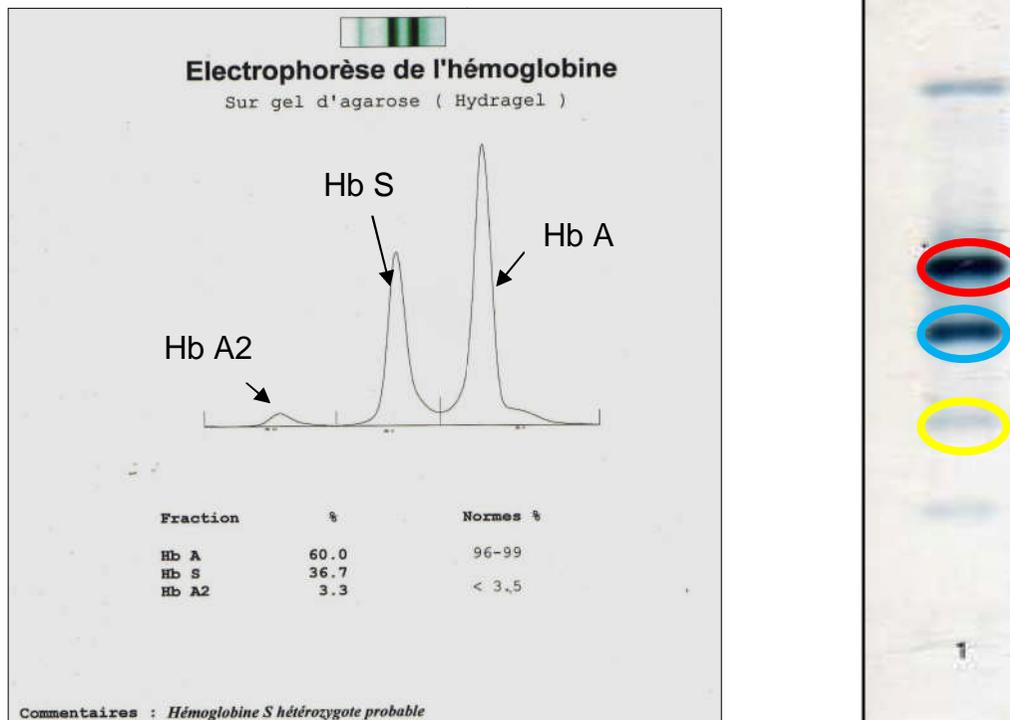


Figure 21: Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobinose S hétérozygote.

Cercle jaune : HBA₂ ; Cercle Bleu : HBS ; Cercle rouge : HBA.

Les résultats présentent une diminution de la fraction d'hémoglobine A (61,7%) et l'apparition d'une nouvelle fraction C (38,3%) superposée à la fraction A2 (figure 22). Quand la fraction A2 est supérieure à 15%, la présence d'hémoglobine C peut alors être suspectée à sa place.

III.1.4.5. Profil électrophorétique du cinquième cas

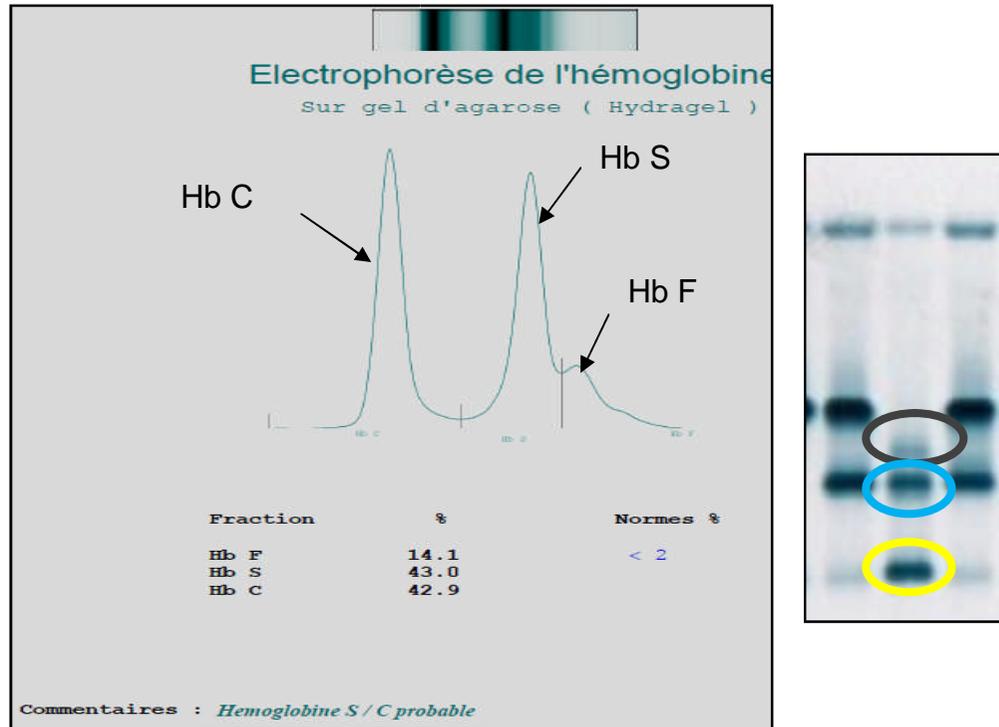


Figure 23: Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobinose une double hétérozygotie de type S/C.

Cercle jaune : HbC ; Cercle noir ; HbF ; Cercle bleu : HbS.

Le gel montre l'existence de deux bandes pathologiques, la première correspond à l'hémoglobine S (43%) qui migre en position médiane entre l'hémoglobine A et l'hémoglobine A2. La deuxième correspond à l'hémoglobine C (42,9%) qui est superposé sur l'hémoglobine A2 (figure 23).

III.1.4.6. Profil électrophorétique du sixième cas

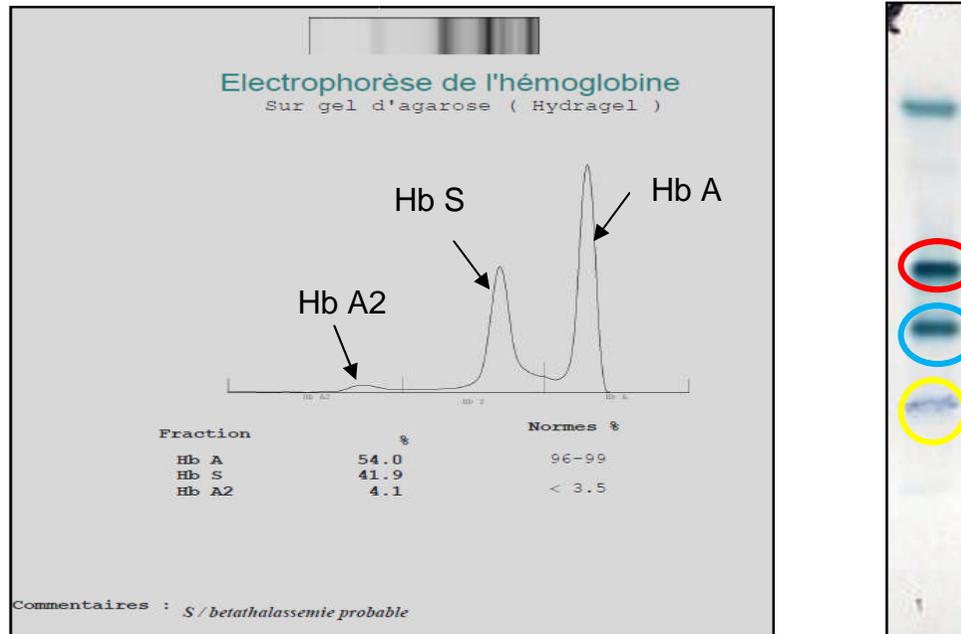


Figure 24: Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobinose une double hétérozygotie de type S/ β thalassémie.

Cercle jaune : Hb A2 ; Cercle bleu : Hb S ; cercle rouge : Hb A

Selon le gel présenté par la figure 24, nous remarquons l'apparition d'une bande pathologique qui correspond à l'hémoglobine S avec une fraction importante 95,4% et l'augmentation de la fraction A2 (4,6%). La sixième personne est atteinte d'une hémoglobinopathie S/ β thalassémique.

III.1.4.6. Profil électrophorétique du septième cas

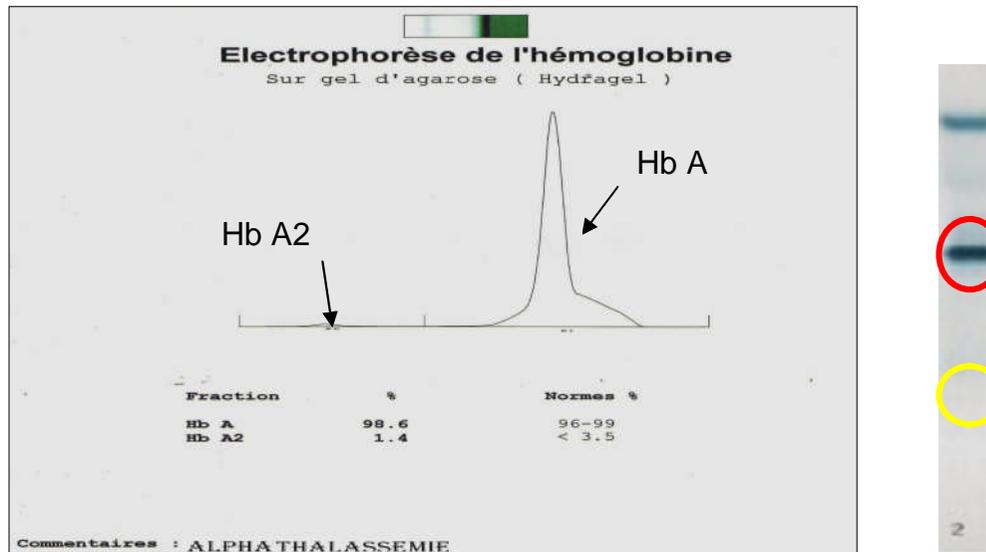


Figure 25: Profil électrophorétique chez un sujet α thalassémique.

Cercle jaune : HbA2 ; Cercle rouge : Hb A

L'électrophorèse met en évidence une fraction majeure de l'hémoglobine A avec une fraction normale (98,6%) et une hémoglobine A₂ trop faible (1,6%) (Figure 25). Cette personne a une hémoglobinose α thalassémique.

III.1.4.6. Profil électrophorétique du septième cas

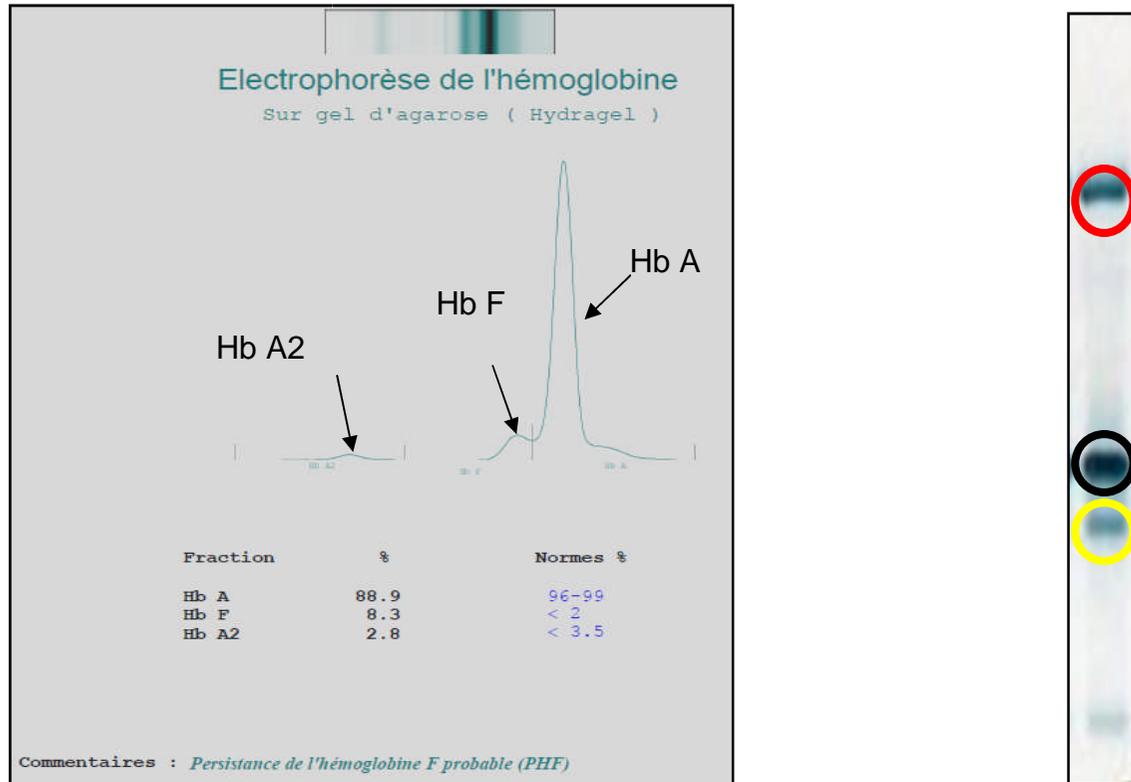


Figure 26: Profil électrophorétique chez un sujet avec une hémoglobinose avec la persistance de l'hémoglobine fœtale.

Cercle jaune : HBA2 ; Cercle bleu : HBS ; cercle rouge : HBA

D'après le gel présenté par la figure 26, nous constatons l'apparition d'une bande pathologique qui correspond de l'hémoglobine fœtale (8,3%) qui a une forte mobilité avec une position juste sous l'hémoglobine A normale (88,9%). La fraction A2 est normale (2,8) (Figure 26). La personne présente une hémoglobinose avec la persistance de l'hémoglobine fœtale.

Aitchafaa T., Touchirft C., Ahlouche H. 2010 : Anémie, unité d'hématologie laboratoire central de biologie hôpital Hamond, CHU Hussein Dey, P : 63.

Audigie C.I., et Zonszain F. 1995 : Principe des méthodes d'analyses biochimiques. Tome 1 Dor édition - Paris. PP 25-38.

Aquillar M. 2004 : exploration de la pathologie érythrocytaire. Édition 06-PP12.

Arnal C., Girot R. 2002 : Drépanocytose chez l'adulte. Encycl Méd Chir, Hématologie, 13-006 - D -16 ,15p.

Anonyme 1 : Red Blood Cell Group- Belgian Hematological Society 2006 ; 4 : 2 [http:// www.bns.be/](http://www.bns.be/).

Baby M. 1991 : Approche pluridisciplinaire des hémoglobinopathies chez les dogons de l'arrondissement de Sangha (MALI) Thèse pharmacie, Bamako, N°2.

Belhadi K. 2011 : Etude des hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna. Université Elhadj-Lakhdher Batna. 57P

Belhani M. 2009 : la β thalassémie homozygote en Algérie .Revue Algérienne d'Hématologie, sous l'égide de la Société Algérienne d'Hématologie et de Transfusion Sanguine ; N° 1.PP 22-26.

Bernard J; Lévy JP ; Bruno V ; Pierre Clauvel J ;Didier Rain J and YvetteS .;(1998).Hématologie.352 pages.

Boukrid I., Kerboua K. 2011 : Prévalence de l'hémoglobinopathie dépistée par électrophorèse de l'hémoglobine au niveau de CHU Mohamed Lamine Debaghine (Alger). Université de Blida. 50P.

Couprie N. 2000: les hémoglobinopathies laboratoire, Marcel. M hématologie spécialisée, P17-22: 24 P.

Demontalambert M. 2002 : Syndromes thalassémiques. Encycl Méd Chir, Hématologie, 13- 006- D-17, 8p.

Dreyfus B. 1986 : Hématologie Flammarion Médecine, Sciences. 2ème tirage revu et corrigé.

Dogaru M., Talmaci R., Corriu D. 2011 : sensitivity, specificity and efficiency of different discriminative indexes in differentiation of thalassémia from iron deficiency anemia, Bio interface Research, P : 6.

Fossat C., Carnoil J., Marin V., Grab F et David M. 1996 : Interprétation des anémies chez l'adulte, l'intérêt des paramètres érythrocytaires, vol XXXVIIN°210 .

Galacteros F., Goldcher A. 1985 : Anémies hémolytiques congénitales par hémoglobinopathies. Encycl Méd Chir (Paris, France) Sang, 13006 D15, 12,16p.

Galactéros F. 1995 : Drépanocytose. Physiopathologie et diagnostic. Rev Prat ; 45 : 351-61.

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

Guindo A. 1998 : Hémoglobinopathies et paludisme chez l'enfant d'âge scolaire au Mali. Impact de deux schémas de suppléments martiaux. Thèse Pharm. Bamako, N°25, 87p.

Lopez S.,Diop I., Diagne., A., Cissé. 2004 : Apport des récepteurs solubles de la transferrine dans l'évaluation du statut en fer au cours de l'hémoglobinoase, vol VI II, N° 4 : 415- 21.

Menasser A. 2011 : Thèse doc. Les paramètres biochimiques et hématologiques chez les personnes thalassémiques. Université de Blida.

Sebia. 2006 : Hydragel hemoglobin K20. Ref 3010

Seger J., Lucotte.G, 1981 ; la pratique de l'électrophorèse appliquée à la détermination des polymorphismes humain Masson –Paris. P8.9.23-31.

Terra R. 2011 : La cytométrie en flux et le dépistage de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. P :7, 64 P.

Valensi F. 2005: Laboratoire d'hématologie hopitale Necker-enfants malades.. 75743 ,France

Valérie H. 2001 : Hémoglobinopathie en pratique médicale courante. Edit Debacker, Bruxeelles. P 7 : 34.

Vanbourdolle ; M et collaborateurs. 2007 : Biochimie hématologie 6-11.16 pages.

Vinatier I. 2006 : Recommandation pour la mise en œuvre et l'interprétation de l'étude de l'hémoglobine. 2^{ème} édition Oxford. P : 14-17, 313 p.

Zittoun R., Marie J-P., et Samama. M. 1998 : Manual d'hématologie, 5^{ème} édition, Ed Doin, Paris, P : 67-82.

Réactifs fournis dans le kit HYDRAGEL

Gels d'agarose : Ils sont prêts à l'emploi. Chaque gel contient :

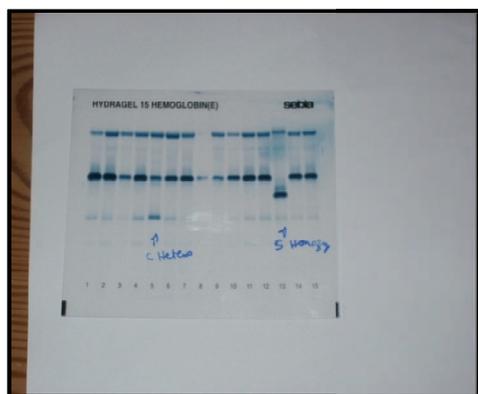
- agarose (8g/dl),
- tampon alcalin (pH=8,5),
- composant sans danger aux concentrations utilisées,
- accessoires pour des performances optimales.

Ces gels sont utilisés comme supports pour l'électrophorèse de l'Hb.

La conservation se fait à température ambiante (15° à 30°C) ou au réfrigérateur (2° à 8°C).



Gel d'agarose avant utilisation (photo originale)



Gel d'agarose après l'utilisation (photo originale)

Tampon :

Chaque flacon de tampon concentré doit être complété à un litre avec de l'eau distillée ou déminéralisée. Après dilution, la solution contient : tampon tris barbital pH= 9,2 ± 0,3 et azoture de sodium.

La solution est utilisée comme tampon pour l'électrophorèse. La conservation se fait à température ambiante ou au réfrigérateur.

Diluant colorant et colorant d'amidoschwarz :

Le flacon d'amidoschwarz concentré doit être complété à 300ml avec 60ml de diluant colorant concentré et de l'eau distillée ou déminéralisée.

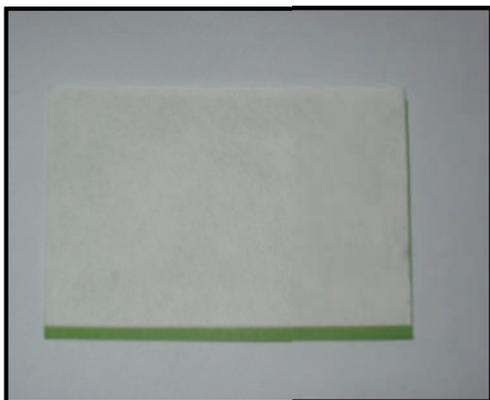
Après dilution la solution colorante contient : solution acide pH=2, amidoschwarz = 4g/dl, éthylène glycol= 6,7%, composante sans danger aux concentrations utilisées nécessaires pour des performances optimales. La conservation se fait à température ambiante ou au réfrigérateur pour éviter l'évaporation.

Décolorants : le flacon de décolorant concentré doit être dilué à 1/1000 avec de l'eau distillée ou déminéralisée. On prélève 1ml qui est complété à un litre avec de l'eau. Il est utilisé pour éliminer l'excès de colorant après coloration du gel. La conservation se fait à température ambiante ou au réfrigérateur.

Solution hémolysante : elle est prête à l'emploi, utilisée pour l'hémolyse des GR. La conservation se fait à température ambiante ou au réfrigérateur.

Applicateurs : à usages uniques, les applicateurs prédécoupés sont utilisés pour le dépôt des échantillons.

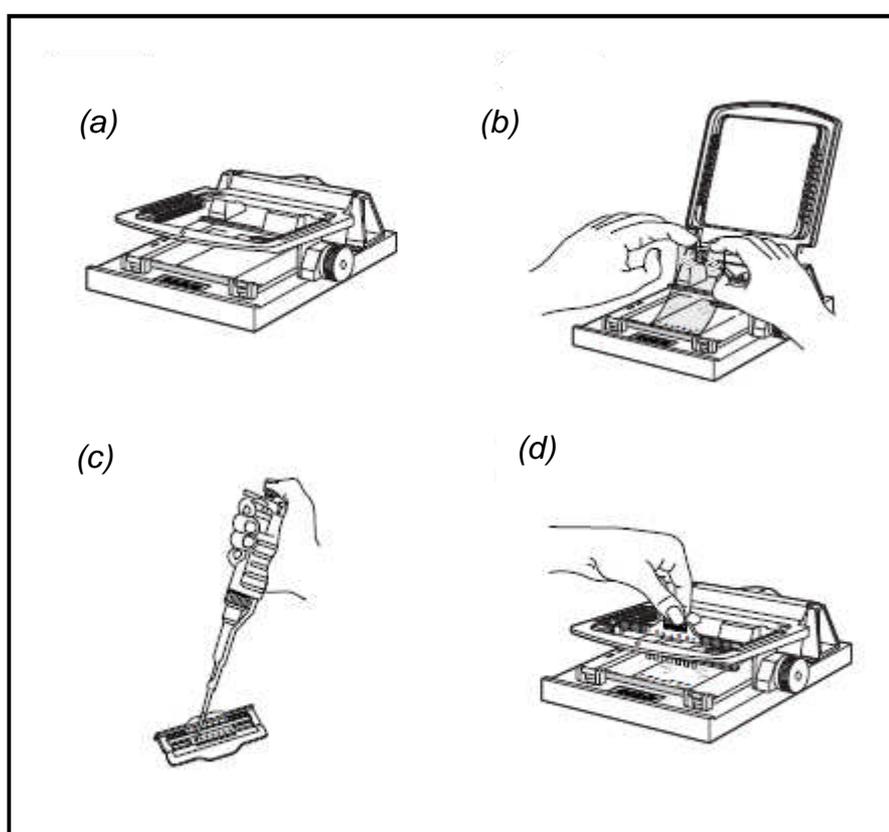
Papiers filtres : à usages uniques, ils sont utilisés pour l'absorption de l'excès de liquide à la surface du gel avant l'application des échantillons.



Papier filtre (photo originale)

Tableau II : Réactifs fournis dans le kit HYDRAGEL

COMPOSANTS	REF.N° 3010
Gels d'agarose (prêts à l'emploi)	10 gels
Tampon Tris-Barbital (solution concentrée)	3 fl. de 75 ml
Diluant colorant (solution concentrée)	1 fl. de 60 ml
Colorant amidoschwars (solution concentrée)	1 fl. de 20 ml
Décolorant (solution concentrée)	1 fl. de 100 ml
Solution hémolysante (prête à l'emploi)	1 fl. de 20 ml
Applicateurs 7 dents (prête à l'emploi)	1 boîte de 10
Papiers-filtres fins	1 sachet de 10

**Figure 27 : Technique de l'application et de la migration (Sebia, 2006)**



Les échantillons à analyser (photo originale)



Apareille de NFS (photo originale)



Micropipettes (Photo originale)



Centrifugeuse (photo originale)



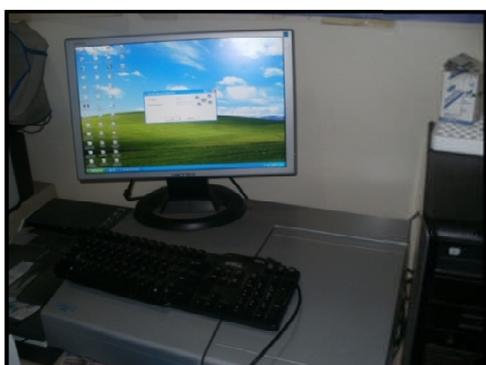
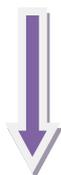
Spectrophotomètre (photo originale)



Electrophorèse d'Hb semi-automatique (photo originale)



Densitomètre (photo originale)



0Tableau III : Paramètres hématologiques et les hémoglobinopathies chez 61 cas

N°	âge	Erythrocyte (millions/mm ³)	Hb (g/dl)	VGM (μ ³)	HCT (%)	pathologie
1	45	5,89	12,3	66,6	39,2	β thalassémie hétérozygote
2	29	5,77	11,1	60,1	27,9	β thalassémie hétérozygote
3	51	5,39	13,8	75,1	45	C hétérozygote
4	78	5,77	11,3	64	36,9	β thalassémie hétérozygote
5	65	5,74	11,7	63,2	36,3	β thalassémie hétérozygote
6	37	5,18	13,9	80	41,6	S hétérozygote
7	31	6,27	10,8	54	30,8	β thalassémie hétérozygote
8	45	6,18	10,2	54	33,2	β thalassémie hétérozygote
9	22	5,97	11,5	60	35,9	β thalassémie hétérozygote
10	44	5,46	12	70	38	S/β thalassémie
11	78	5,77	11,3	64	36,9	β thalassémie hétérozygote
12	65	5,74	11,7	63,2	36,3	Persistence d'hémoglobine fœtale
13	29	5,69	11,2	61	33,65	β thalassémie hétérozygote
14	76	5,1	11	61,5	33,4	β thalassémie hétérozygote
15	30	5,59	12,4	76,3	35	Persistence d'hémoglobine fœtale
16	45	5,89	12,3	66,6	39,2	β thalassémie hétérozygote
17	47	4,92	9,5	63	31	β thalassémie hétérozygote
18	42	6,16	16,6	76	46,8	β thalassémie hétérozygote
19	22	5,64	11,3	62,3	33,7	Persistence d'hémoglobine fœtale
20	63	6,33	11,3	59,7	36,6	β thalassémie hétérozygote
21	25	4,82	9,5	62,9	30,3	β thalassémie hétérozygote
22	63	6,2	12	61,3	38	β thalassémie hétérozygote
23	21	5,33	10,6	61,2	32,6	β thalassémie hétérozygote
24	25	4,73	10	66	31,2	S hétérozygote
25	33	5,23	11,1	61	33,9	β thalassémie hétérozygote
26	28	5,78	12	64	36,8	β thalassémie hétérozygote
27	27	4,86	10,6	69	33,4	C hétérozygote
28	23	4,46	10	74	33	β thalassémie hétérozygote
29	26	4,2	9,5	74	30,9	F/β thalassémie
30	33	3,17	10,5	100	31,7	S hétérozygote
31	43	3,21	10	93	30	Persistence d'hémoglobine fœtale
32	27	4,84	10,6	69	33,6	C hétérozygote

Annexe 2

33	51	5,39	13,8	75,1	40,5	C hétérozygote
34	63	5,33	10,6	61,2	38	β thalassémie hétérozygote
35	25	4,82	9,5	62,9	30,3	β thalassémie hétérozygote
36	70	4,6	9,6	36,3	30,5	β thalassémie hétérozygote
37	63	4,5	11,2	70	33,6	β thalassémie hétérozygote
38	33	5,06	10,2	62,5	31,5	β thalassémie hétérozygote
39	27	4,84	10,6	69	33,4	C hétérozygote
40	43	3,21	10	93,5	30	Persistence d'hémoglobine fœtale
41	50	6,1	12	61,2	37,8	β thalassémie hétérozygote
42	10	4,76	9,3	60,3	28,7	β thalassémie hétérozygote
43	8	5,76	11,1	59,2	34,1	β thalassémie hétérozygote
44	0	4,3	10,2	74,4	31,2	Persistence d'hémoglobine fœtale
45	1	4,76	9,3	60,3	28,7	β thalassémie hétérozygote
46	0	4,17	9,9	75,1	34,3	Persistence d'hémoglobine fœtale
47	2	4,74	11,7	72	34,3	S hétérozygote
48	6	5,69	9,8	56	31,8	β thalassémie hétérozygote
49	1	4,86	6,7	51,4	25	α thalassémie hétérozygote
50	2	4,84	12,2	73,8	35,7	Persistence d'hémoglobine fœtale
51	3	3,81	8,5	70,3	26,8	β thalassémie hétérozygote
52	0	4,61	10,8	69,8	32,2	Persistence d'hémoglobine fœtale
53	1	2,23	7,8	104,9	23,4	Persistence d'hémoglobine fœtale
54	4	6	11,1	55,5	33,3	β thalassémie hétérozygote
55	4	6	11,2	55,5	33,4	β thalassémie hétérozygote
56	1	4,6	10,7	70,9	32,6	Persistence d'hémoglobine fœtale
57	0	4,07	11,3	86,8	35,3	Persistence d'hémoglobine fœtale
58	0	4,08	11,2	76,8	33,12	Persistence d'hémoglobine fœtale
59	0	4,48	11	73,2	32	Persistence d'hémoglobine fœtale
60	1	4,5	10,6	70,8	32,5	Persistence d'hémoglobine fœtale
61	3	4,7	10	61	31,1	S/C

Tableau IV : Taux de fer sérique chez les 61 cas

N°	Fer sérique (µg/dl)	N°	Fer sérique (µg/dl)
1	178,3	32	162,3
2	177,9	33	158,4
3	180	34	156,8
4	183,8	35	161
5	175,5	36	159,3
6	176,8	37	166,7
7	184,9	38	154,7
8	180,8	39	158,9
9	186,7	40	152,8
10	175	41	163,7
11	177,8	42	157,3
12	182,8	43	156,8
13	185,7	44	155
14	186,9	45	150,6
15	176,8	46	151,5
16	175	47	150
17	180	48	158,4
18	175	49	153,2
19	175,5	50	150
20	150	51	154,2
21	153,5	52	150,2
22	156,8	53	152,8
23	160,2	54	150
24	161,4	55	150,3
25	150,7	56	150
26	157,8	57	150,3
27	150	58	151,8
28	155,5	59	150,5
29	150,3	60	153,2
30	159	61	152
31	157,5		

Tableau V : Indices discriminatifs chez les 61 cas

N°	IDB		IDM		IDE	
	< 5,7	> 5,7	< 13	> 13	< 0	> 0
1		6,61	11,3		-4,19	
2		6,25	10,41		-4,57	
3		6,44		13,93	-2,69	
4		-6,4	11,09		-1,67	
5		6,33	11,01		-4,44	
6		6,41		15,44		1,92
7		6,51	8,61		-9,67	
8		6,42	8,74		-6,58	
9		6,44	10,05		-6,87	
10		6,31	12,82			1,14
11		6,39	11,09		-1,67	
12		6,33	11,01		-4,44	
13		6,2	10,72		-4,09	
14	5,63		12,01		-2	
15		6,68		13,64		5,31
16		6,62	11,31		-4,19	
17	5,51		12,8			7,18
18		7,24	12,33		-16,56	
19		6,2	11,05		-3,24	
20		6,79	9,43		-6,53	
21	5,4			13,05		7,18
22		6,72	9,89			20,7
23		5,85	11,48		-0,53	
24	5,43			13,95		7,87
25		5,89	12,43			0,87
26		6,4	11,07		-5,18	
27	5,49		12,86			1,7
28	5,46			16,59		16,14
29	5,13			17,62		18,9
30	5,16			31,54		40,93

31	4,93			28,97		36,39
32	5,65			14,26		7,76
33		6,43		13,93	-2,69	
34		5,84	11,48		-0,53	
35	5,36		12,86			7,18
36	5,31			14,41		10,3
37	5,35			15,55		6,1
38	5,63		12,35			3,04
39	5,66			14,25		7,76
40	4,95			29,12		36,89
41		6,61	10,03		-8,3	
42	5,24		12,66			5,64
43		6,2	10,27		-5,46	
44	5,32			17,3		15,7
45	5,25		12,67			5,64
46	5,22			18,01		18,03
47	5,66			15,19		5,36
48		6,01	9,84		-2,09	
49	5,01		10,58			9,64
50		5,83		15,24		4,56
51	4,67			18,45		20,59
52	5,46			15,14		7,79
53	4,4			47,04		60,27
54		6,3	9,25			16,1
55		6,3	9,25		-9,4	
56	5,49			15,41		9,4
57	5,56			21,32		22,83
58	5,19			18,82		13,32
59	3,31			15,12		9,96
60	5,38			15,73		9,9
61	5,21		12,98			2,9

Tableau VI : Différents types d'hémoglobinopathies chez les hommes avec n=19

pathologie chez l'homme	pourcentage%
β thalassémie hétérozygote	68,42
β thalassémie homozygote	0
S hétérozygote	5,26
S homozygote	0
C hétérozygote	5,26
C homozygote	0
α thalassémie	0
double hétérozygotie S/β thalassémie	5,26
Persistance d'hémoglobine foétale	15,78

Tableau VII : Différents types d'hémoglobinopathies chez les femmes avec n=22

pathologie chez la femme	pourcentage%
β thalassémie hétérozygote	63,63
β thalassémie homozygote	0
S hétérozygote	9,09
S homozygote	0
C hétérozygote	18,18
C homozygote	0
α thalassémie	0
double hétérozygotie	0
Persistance d'hémoglobine foétale	9,09

Tableau VIII: Différents types d'hémoglobinopathies chez les enfants avec n=20

pathologie chez les enfants	pourcentage%
β thalassémie hétérozygote	35
β thalassémie homozygote	0
S hétérozygote	5
S homozygote	0
C hétérozygote	0
C homozygote	0
α thalassémie hétérozygote	5
double hétérozygotie	5
Persistance d'hémoglobine foétale	50