

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de
L'Univers

Département d'Ecologie et Environnement

MEMOIRE

Présenté par

SENOUSSAOUI FATIMA

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master

En Génétique des populations humaines

Thème

Caractérisation épidémiogénétique de la population de Tlemcen par les hémoglobinoses. Analyse comparative à l'échelle National et Méditerranéen

Soutenu le:06/07/2017, devant le jury composé de:

Président	Mme TERKI Khadidja	Professeur	Université d'Oran
Encadreur	Mme BEGHDDI Fatima	M.A.A	Université de Tlemcen
Co-encadreur	Mme BENMANSOUR Nadia	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme AOUAR-METRI Amaria	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire: 2016-2017

Remerciements

Tout d'abord je tiens louange à notre dieu, celui qui m'a aidé à accomplir ce succès pour mes années de labeur.

Mes remerciements les plus sincères à mon encadreur Dr.F.BEGHDADI qui s'est donné à fond pour me permettre réaliser cette mémoire son soutien, sa disponibilité, son expérience, ses conseils, aussi un grand remerciement à mon co-encadreur Pr.N.BENMANSOUR pour son implication dans ce travail.

Mes vives remerciements cordialement vont à la responsable de la filière Pr. A. AOUAR METRI pour son dévouement à travers toute ma carrière avec sa gratitude et son efficacité et sa compréhension, j'approuve son esprit critique ses encouragements ornés d'une culture saine avec rigueur qui ont contribué énormément à ma réussite universitaire.

J'adresse aussi mes remerciements à toute l'équipe du service d'hémobiologie, à l'équipe d'épidémiologie de CHU Tlemcen en particulier Pr.N.CHAABNI pour son support inconditionnel.

Je remercie aussi "Pr.K.TERKI à la faculté de médecine d'Oran qui m'a honoré en lui adressant toute ma gratitude.

Quant aux jurés je leur adresse d'avoir répondu consciemment à leur stratégie pour me déclarer admis, je les remercie infiniment.

Enfin je salue tout le corps d'enseignement à notre faculté STU .

Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à mes parents pour leur amour
leur patience, leur présence et encouragements qu'ils
m'ont offerts durant toute ma vie*

*Mon très cher père qui ma aidée à concrétiser mon
rêve sans ne jamais manquer de rien Qu'Allah le
tout puissant me les garde*

*A mes chères sœurs je suis très reconnaissante pour
le bonheur qu'elles m'apportent, pour leur amour,
aides et encouragements*

A mes frères pour leur aide

A toute ma famille et mes amis (es)

A tous ceux qui me sont chers...

Sommaire

<i>Remerciements</i>	ii
<i>Dédicaces</i>	iii
Sommaire	iv
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	ix
Liste des abréviations.....	x
Introduction	1
ETUDE THEORIQUE.....	Erreur ! Signet non défini.
I. Rappel sur l'hémoglobine	4
I.1 Définition	4
I.2 Structure	4
I.3 Synthèse	5
I.4 Ontogénèse :	7
I.5 Fonctions :	9
I.6 Catabolisme :	9
II. Les hémoglobinoses :	12
II.1 La drépanocytose	12
1. Définition :	12
2. Epidémiologie :	12
3. Physiopathologie :	13
4. Diagnostic biologique	16
4.1. Interrogatoire	17
4.2. Etape préanalytique	18
4.3 Test biologique	18
5-Biologie moléculaire PCR (Polymerase Chain Reaction)	25
II.2 L' hémoglobinoses C :	26
1. Définition	26
2. Epidémiologie	26
3. Physiopathologie	26
4. Diagnostic biologique	27

II.3 Les autres hémoglobinoses :	29
II.4 Quelques formes composites	30
III. Traitements	33
IV. Conseil génétique	33
Etude Pratique	Erreur ! Signet non défini.
I. Protocole de l'étude	44
I.1 Objectifs.....	44
A. Objectif principal	44
B. Objectif secondaire	44
I.2 Type, lieu et durée de l'étude.....	44
I.3 Recrutement des patients	44
A. Critères d'inclusion	45
B. Critères d'exclusion	45
I.4 Recueil des donnée.....	45
II. Méthodes	46
III. Résultats	62
III.1 Répartition de la population générale :	62
III.2 Résultats épidémiologiques	64
1. Répartition de la population selon l'âge.....	64
2. Répartition de la population selon le sexe.....	64
3. Répartition de la population par région.....	65
4. Notion de consanguinité.....	65
III.3 Répartition selon les données biologiques :	66
1 Les hémoglobinoses homozygotes	66
2 Les hémoglobinoses hétérozygotes.....	67
2.1 L'hémoglobinoase C:	67
1. Répartition du taux d'hémoglobine.....	68
2. Répartition selon nombre des globules rouge	69
3. Répartition selon le VGM.....	70
4. Répartition de la population selon TGMH	71
5. Résultats du profil électrophorétique de l'hémoglobinoase et du dosage de l'HbA2 par chromatographie échangeuse d'ions.....	71
2.2 La drépanocytose:	72

1. Répartition des résultats selon le taux d'hémoglobine	73
2. Répartition Selon le nombre des globules rouges.....	73
3. Répartition des résultats selon le volume globulaire moyen	74
4. Répartition des résultats selon la TGMH	75
III.4 Les 2 enquêtes familiales	76
IV. Discussion	78
CONCLUSION.....	85
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	86
ANNEXES.....	90
RESUME.....	97

Liste des figures

Figure 1: Structure de l'hémoglobine.....	4
Figure 2: Contacts entre les chaînes d'hémoglobine	5
Figure 3: Organisation des gènes de globine de la famille α	6
Figure 4: Organisation des gènes de globine de la famille non α	6
Figure 5 : Enzyme et intermédiaires dans la voie de biosynthèse de l'hème et les types de porphyrines associées [4].	7
Figure 6 : Synthèse des chaînes de globine chez le fœtus et le nourrisson [3]	8
Figure 7 : L'hémolyse intra-tissulaire	10
Figure 8 : L'hémolyse intravasculaire.....	11
Figure 9 : La vaso-occlusion	15
Figure 10 : Le syndrome pied-main en cas de la forme homozygote de la drépanocytose	16
Figure 11 : Syndrome thoracique aigu (sévère)	17
Figure 12: Morphologie des globules rouges chez un sujet drépanocytaire homozygote	19
Figure 13: Test de solubilité d'ITANO.....	22
Figure 14 : Profil d'iso-électrolocalisation d'hémoglobine	23
Figure 15: Profil électrophorétique de l'hémoglobine sur gel d'agar à pH acide.....	25
Figure 16 : La répartition géographique de l'hémoglobine C	26
Figure 17 : Localisation géographique de la wilaya de Tlemcen.....	45
Figure 18 : Préparation de l'hémolysât (photo originale)	48
Figure 19 : Dépôt du témoin et des hémolysats (photos originales)	48
Figure 20: Préparation de la plaque d'acétate de cellulose (photo originale)	49
Figure 21: Préparation de la chambre de migration (photo originale)	50
Figure 22: Dépôt des hémolysâts sur la plaque d'acétate de cellulose (photos originales)	50
Figure 23: Migration de l'hémoglobine de la cathode vers l'anode (photos originales)	51
Figure 24 : Etapes de coloration/décoloration des plaques d'électrophorèse (photos originales)	52
Figure 25 : Plaque d'électrophorèse après coloration et séchage (photo originale).....	53
Figure 26 : Profil électrophorétique de l'hémoglobine sur acétate de cellulose à pH alcalin....	54
Figure 27: Colonne échangeuse de cations pour la chromatographie de l'hémoglobine A2	55
Figure 283 : Elution de l'hémoglobine A ₂ (Photo originale)	56
Figure 29: Etape de centrifugation	58
Figure 30:L'ajout de NaCl et précipitation de l'ADN.....	59
Figure 31 : La formation de la mésuse	60
Figure 37: Récupération de la méduse	60
Figure 38 : Répartition de la population selon les différents types d'hémoglobinopathies	63
Figure 34 : Répartition de la population en fonction d'âge.....	64
Figure 39 : Répartition de la population selon le sexe	64
Figure 40 : Répartition de la population selon le sexe	65
Figure 42 : Répartition du taux d'hémoglobine	68
Figure 43 : Répartition selon nombre des globules rouge	69
Figure 44 : Répartition selon le VGM.....	70
Figure 46 : Répartition de la population selon TGMH	71
Figure 46 : Répartition du taux d'hémoglobine	73
Figure 47 : Répartition du nombre de GR.....	73
Figure 48 : Répartition selon le volume globulaire moyen	74
Figure 49 : Répartition selon la TGMH	75

Liste des tableaux

Tableau 1 : Enzyme et intermédiaires dans la voie de biosynthèse de l'hème et les types de porphyries associées [3]	8
Tableau 2: Valeur de la numération formule sanguine dans les formes drépanocytaires	18
Tableau 3: Valeur de la numération formule sanguine dans les formes drépanocytaires	19
Tableau 4: Résultats du bilan d'hémolyse chez le drépanocytaire homozygote	20
Tableau 5: Valeurs de la FNS et FSP selon les formes de hémoglobinoase C	27
Tableau 6: Représentation des autres hémoglobinoses [26]	29
Tableau 7 : quelques formes composites des hémoglobinopathies [35].....	30
Tableau 8 : diagnostic biologique de l' Hb E et Hb O-Arab et Hb D-Punjab.....	32
Tableau 9 : Normalité des GR, HT et HB en fonction de l'âge et du sexe	47
Tableau 10: Répartition de la population selon les différents types d'hémoglobinopathies.....	63
Tableau 11 : Répartition de la population par région.....	65
Tableau 12 : Tableau récapitulatifs des résultats biologiques au cours de la drépanocytose homozygote	66
Tableau 13 : Tableau récapitulatifs des résultats biologiques au cours de l'hémoglobinoase homozygote	66
Tableau 14 : Tableau récapitulatifs des résultats biologiques au cours de l'hémoglobinoase C hétérozygote	67
Tableau 15 : Normalités du taux d'hémoglobine	68
Tableau 16 : Normalité des GR.....	69
Tableau 17 : Normalités du VGM en fonction de l'âge et du sexe	70
Tableau 18 : Normalités du TGMH en fonction de l'âge et du sexe	71
Tableau 19 : Récapitulatif des résultats biologiques au cours de la drépanocytose.....	72

Liste des abréviations

AA : Acide aminé.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

ARNt : Acide ribonucléique de transfert.

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

CHU : Centre hôpitalo universitaire.

cm : Centimètre.

CO : Monoxyde de carbone.

CO₂ : Dioxyde du carbone.

CS : Coefficient de saturation en fer de la transferrine.

CVO : Crises vaso-occlusives.

°C : Degré Celsius.

Da : Dalton.

DO : Densité optique.

EB : Erythroblaste.

EDTA : Ethylène-diamine-tétra-acétate.

fl : Femto litre.

FSP : Frottis de sang périphérique.

g : Gramme.

g/dl : Gramme par décilitre.

G/L : Giga par litre.

GB : Globule blanc.

GR : Globule rouge.

Gln : Glutamine.

Glu : Acide glutamique.

Hb : Hémoglobine.

Hb CS : Mutation constant spring.

HbF : Hémoglobine feotale.

HLA : Human leucocyte antigen.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

Ht : Hématocrite.

HTAP : Hypertension artérielle pulmonaire.

HU : L'hydroxyurée.

IEF : Isoélectrophocalisation.

j : Jour.

LDH : Lactate déshydrogénase.

Lys : Lysine.

MGG : May Grunwald et Giemsa .

ml : Millilitre.

mm³ : Millimètre cube.

N : Normal.

NFS : Numération formule sanguine.

ng : Nano gramme.

nm : Nanomètre.

NNé : Nouveau-né.

NO : Monoxyde d'azote.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PCR : Polymerase Chain Reaction .

pg/L : Pico gramme par litre.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PHHF : Persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale.

Rh : Rhésus.

S/U : Sous unité.

T/L : Téra /litre.

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

Thal : Thalassémie.

TIBC : Capacité totale de fixation du fer.

UI : Unité international.

Val : Valine.

VGM : Volume Globulaire Moyen.

VN : Valeur normale.

α : Alpha.

β : Bêta.

μm : Micromètre.

δ -ALA : acide δ -aminolevulinique

Introduction

Introduction

Les hémoglobinopathies représentent la catégorie la plus fréquente des troubles héréditaires cliniquement significatives, provoquant un énorme fardeau sur la santé publique.

Leur transmission se fait selon le mode autosomique récessif, mais elles représentent une variation significative de la sévérité clinique. Certaines hémoglobinopathies sont asymptomatiques, alors que d'autres, principalement si le gène anormal est transmis à la fois par le père et par la mère, entraînent des anémies hémolytiques, c'est-à-dire une diminution de la quantité de globules rouges secondaire à leur destruction.

Les études épidémiologiques précédentes ont montré une grande incidence de ces maladies dans les populations originaires de pays tropicaux et méditerranéens, elles sont aussi répandues dans tout le Moyen-Orient, le Sud-Est asiatique [1].

Cependant, en raison des mouvements de population, cette répartition tend à se modifier et la plupart des pays sont concernés.

Selon les données de l'Organisation mondiale de la Santé, 7 % de la population mondiale est porteuse d'un gène anormal de globine et dans certaines régions du monde jusqu'à 1 % des nouveau-nés sont atteints d'une pathologie de l'hémoglobine [2].

Plus de 300 000 enfants présentant une forme grave d'hémoglobinopathie naissent chaque année.

Des programmes de prise en charge et de prévention efficaces permettent de réduire le poids des hémoglobinopathies sur la santé.

Les anomalies de l'hémoglobine se répartissent en deux grands groupes :

- Anomalies quantitatives constitutionnelles de la synthèse de globine : Syndromes thalassémiques, on distingue :

Les β -thalassémies et les α -thalassémies

- Anomalies qualitatives constitutionnelles de la synthèse de globine :

Il existe plus de 400 types d'hémoglobines mutées dont la plupart n'ont pas une

Signification clinique, ni électrophorétique.

La plus répandue est la drépanocytose ou l' hémoglobinoS et l' hémoglobinoC

Les objectifs de notre étude sont :

La caractérisation épidémiogénétique de la population de la Wilaya de Tlemcen par l' hémoglobinoS

Le dépistage précoce des formes infra cliniques (formes hétérozygotes) afin d' éviter la survenue de formes majeurs de ces maladies.

Etude Théorique

I. Rappel sur l'hémoglobine

I.1 Définition

L'hémoglobine (Hb) est le pigment respiratoire du globule rouge (33% du poids de globule rouge), fixant réversiblement l'oxygène, le transport des poumons et le délivre aux tissus.

L'Hb est une chromoprotéine qui a une structure globuleuse hétérotétramérique, d'un poids moléculaire de 64500 Da faite de 4 sous-unités (S/U) identiques 2 à 2 qui se distinguent en S/U de type α et S/U de type non α , chaque S/U comporte :

- ❖ Une partie protéique : la globine qui correspond à une chaîne polypeptidique dont il existe 2 familles : famille α et famille non α .
- ❖ Une partie non protéique : l'hème (ou groupement prosthétique), qui est une ferroporphyrine de type IX dont le centre est occupé par un atome de fer ferreux (Fe^{2+}) qui fixe l' O_2 [3]

I.2 Structure

L'hémoglobine présente une structure primaire définie par la séquence en acides aminés des chaînes de globine, une structure secondaire (alternance d'hélices alpha et non-alpha), une structure tertiaire définie par l'arrangement tridimensionnel du monomère de globine qui permet de délimiter une poche à hème, et une structure quaternaire définie par les interactions entre les monomères au sein du tétramère.

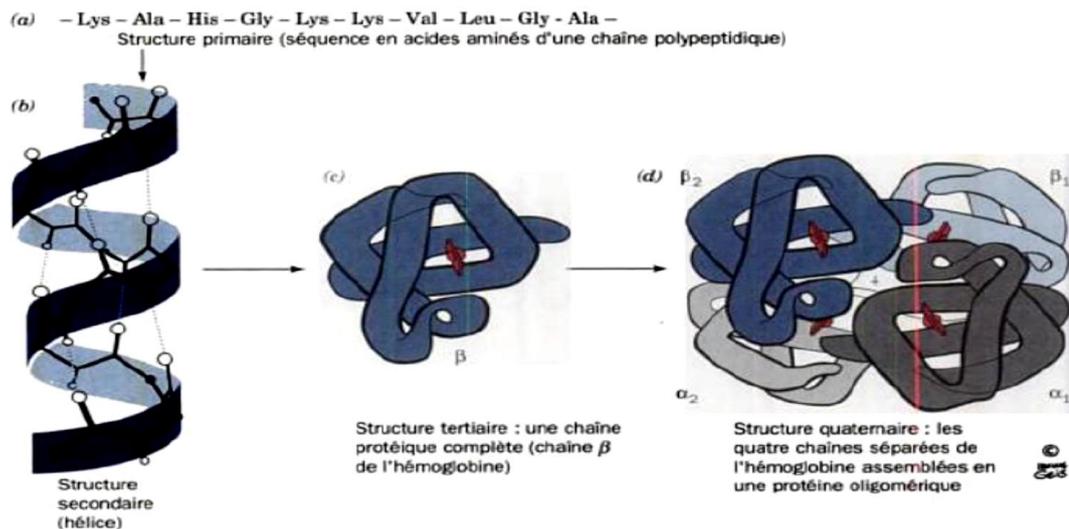


Figure 1: Structure de l'hémoglobine

Les chaînes α et β sont assemblées entre elles par des liaisons fortes (liaisons $\alpha_1\beta_1$ et $\alpha_2\beta_2$) et par des liaisons faibles (liaisons $\alpha_1\beta_2$ et $\alpha_2\beta_1$), les premières jouant un rôle essentiel dans la stabilité de la molécule et les secondes dans le processus de transition allostérique [4].

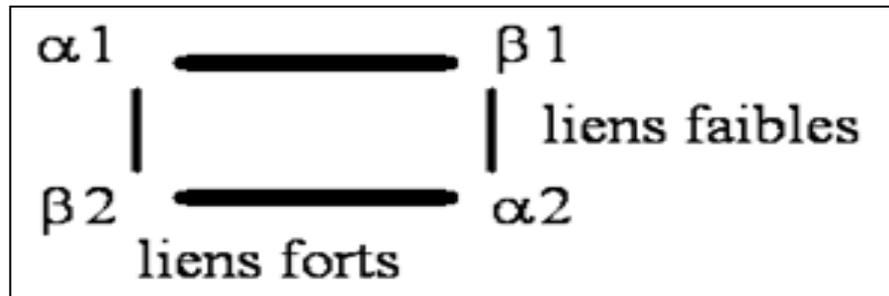


Figure 2: Contacts entre les chaînes d'hémoglobine

I.3 Synthèse

La biosynthèse de l'hémoglobine est réalisée chez l'adulte dans les érythroblastes de la moelle osseuse et dans les réticulocytes circulants.

Les précurseurs de l'hémoglobine sont :

- Les chaînes polypeptidiques de la globine.
- La protoporphyrine IX, synthétisée dans les mitochondries cellulaires des tissus.
- Le fer, provenant essentiellement du recyclage interne.

L'insertion de fer ferreux au centre de la protoporphyrine forme l'hème.

A. Synthèse des chaînes polypeptidique de la globine

Comme toute protéine, la globine est synthétisée par :

- Transcription : copie d'une partie de l'ADN correspondant à un gène de structure et formation d'un ARNm d'abord natif puis fonctionnel.
- Activation des acides aminés : par fixation des acides aminés cytoplasmiques sur un ARNt spécifique.
- Traduction : elle permet de traduire une séquence de nucléotides en séquence d'acides aminés [5].

Gènes de globine

1- Les gènes du locus α

Les gènes de type α sont regroupés sur le chromosome 16, sur la partie terminale du bras court.

La famille α comporte 3 gènes fonctionnels : le gène ζ code pour la chaîne embryonnaire et précède les deux gènes des chaînes α : α_1 et α_2 [6].

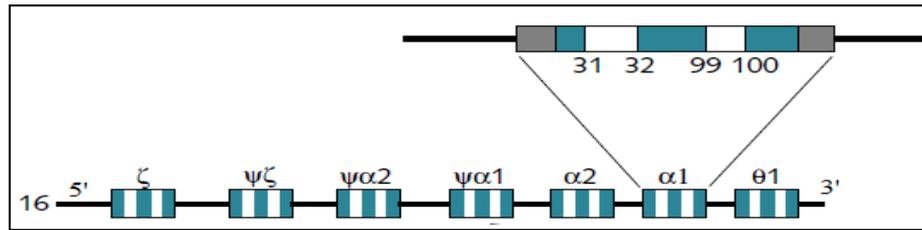


Figure 3: Organisation des gènes de globine de la famille α

2- Les gènes du locus β

Les gènes de type β se trouvent à l'extrémité distale du bras court du chromosome 11.

La famille β compte 5 gènes fonctionnels : le gène de la chaîne embryonnaire ϵ , qui est suivi par les deux gènes des chaînes fœtales γ ($^G\gamma$ et $^A\gamma$), puis par les deux gènes des chaînes adultes δ et β . [6]

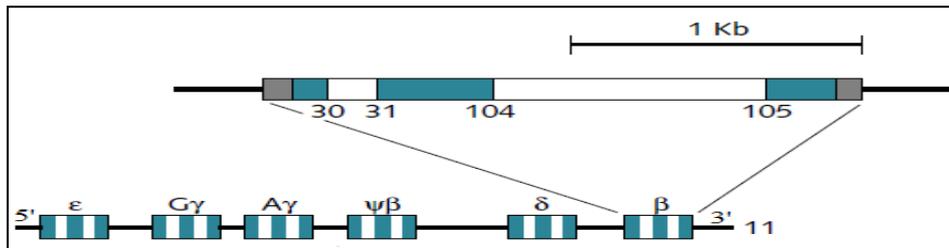


Figure 4: Organisation des gènes de globine de la famille non α

B. Synthèse des porphyrines et de l'hème :

La biosynthèse de l'hème s'effectue indépendamment de celle de la globine en plusieurs étapes. Certaines sont localisées dans les mitochondries, d'autres dans le cytosol des érythroblastes. Les différentes étapes de la synthèse sont présentées dans la figure:

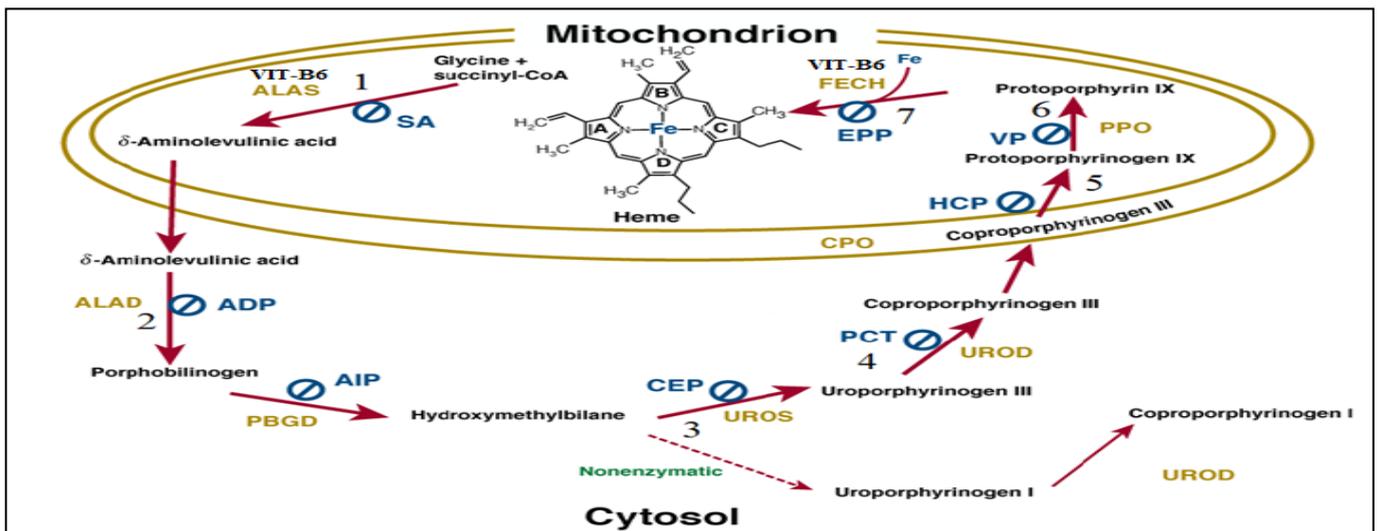


Figure 5 : Enzyme et intermédiaires dans la voie de biosynthèse de l'hème et les types de porphyries associées [4].

- 1 : Synthèse de l'acide δ -aminolevulinique (δ -ALA) à partir de l'acide succinique et de la glycine et sous l'action de l'ALA synthétase.
 - 2 : Passage de δ -ALA dans le cytoplasme et condensation de 2 molécules pour former le porphobilinogène.
 - 3 : Condensation de 4 porphobilinogène aboutissant à l'uroporphyrinogène I et III.
 - 4 : Formation du coproporphyrinogène III par décarboxylation de l'uroporphyrinogène III puis passage dans la mitochondrie.
 - 5 : Décarboxylation du coproporphyrinogène III en protoporphyrinogène IX.
 - 6 : Oxydation protoporphyrinogène IX en protoporphyrine IX.
 - 7 : Incorporation d'un atome de fer (Fe^{2+}) en présence de l'hème synthétase (ferrochélatase) et formation de l'hème.
- La vitamine B6 est le coenzyme de l'ALA-synthétase et de l'hème-synthétase.

I.4 Ontogénèse :

La proportion des différentes hémoglobines évolue en fonction du changement de lieu de l'érythropoïèse dans les étapes successives de la vie :

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

Tableau 1 : Enzyme et intermédiaires dans la voie de biosynthèse de l'hème et les types de porphyrines associées [3]

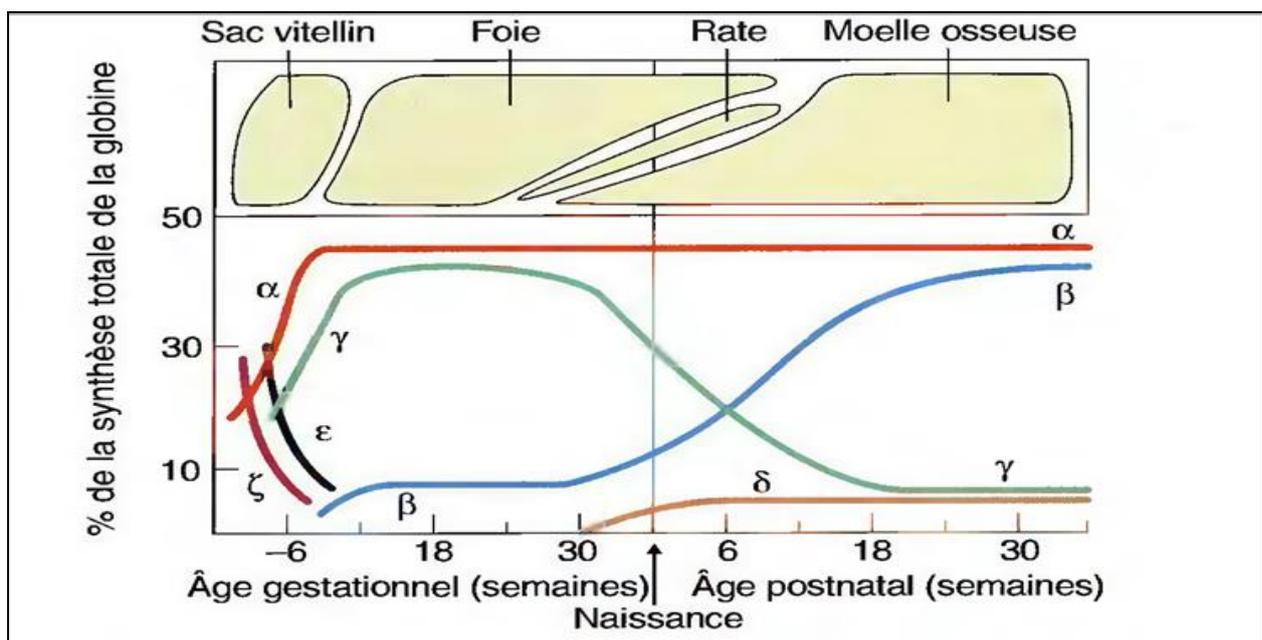


Figure 6 : Synthèse des chaînes de globine chez le fœtus et le nourrisson [3]

I.5 Fonctions :

➤ **Transport de l'oxygène (oxygénation des tissus) :**

L'Hb assure le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Une molécule d'oxygène se fixe par atome de fer, chaque molécule d'hémoglobine fixe 4 molécules d'oxygène et constitue l'oxyhémoglobine et 1 g d'hémoglobine peut transporter au maximum 1,34 ml d'oxygène lorsque la saturation est totale, soit environ 20 ml d'oxygène pour 100 ml de sang [7].

➤ **Transport de dioxyde de carbone (CO₂):**

Ce mécanisme est important au niveau des hématies circulantes. Après action de l'anhydrase carbonique, la plus grande partie du CO₂ total (90 %) est transportée sous forme de bicarbonates, et les ions H⁺ produits sont captés par la désoxyhémoglobine est sous forme dissoute. Le reste du CO₂ se combine avec la globine de l'hémoglobine (carbhémoglobine).

➤ **Autres fonctions :**

Transport des ions H⁺ et effet tampon.

Liaison avec le monoxyde de carbone (CO).

Transport du monoxyde d'azote (NO).

I.6 Catabolisme :

Les globules rouges ont une durée de vie de 120 jours au terme de laquelle ils meurent par vieillissement et épuisement de leur stock enzymatique. Ils sont alors phagocytés par les macrophages, notamment de la moelle osseuse et du foie, et leurs constituants sont métabolisés dont l'hémoglobine.

A- Catabolisme des chaînes de la globine :

La globine est dégradée en acides aminés (catabolisme des protéines) qui rejoindront le pool métabolique général.

B- Catabolisme de l'hème :

▪ **L'hémolyse intra-tissulaire (extravasculaire):**

L'hème est dégradé par l'hème-oxygénase qui ouvre le cycle tétrapyrrolique et libère le fer de la protoporphyrine.

- ✗ A l'ouverture du cycle, la protoporphyrine sera métabolisée en biliverdine.
- ✗ La biliverdine sera réduite en bilirubine libre (non conjuguée) insoluble dans le plasma. La bilirubine passera dans le plasma où elle sera fixée à l'albumine et aux α -globulines qui la transportent aux hépatocytes.
- ✗ Dans le foie : la bilirubine libre est glucoroconjuguée par la glucoronyl-transférase,

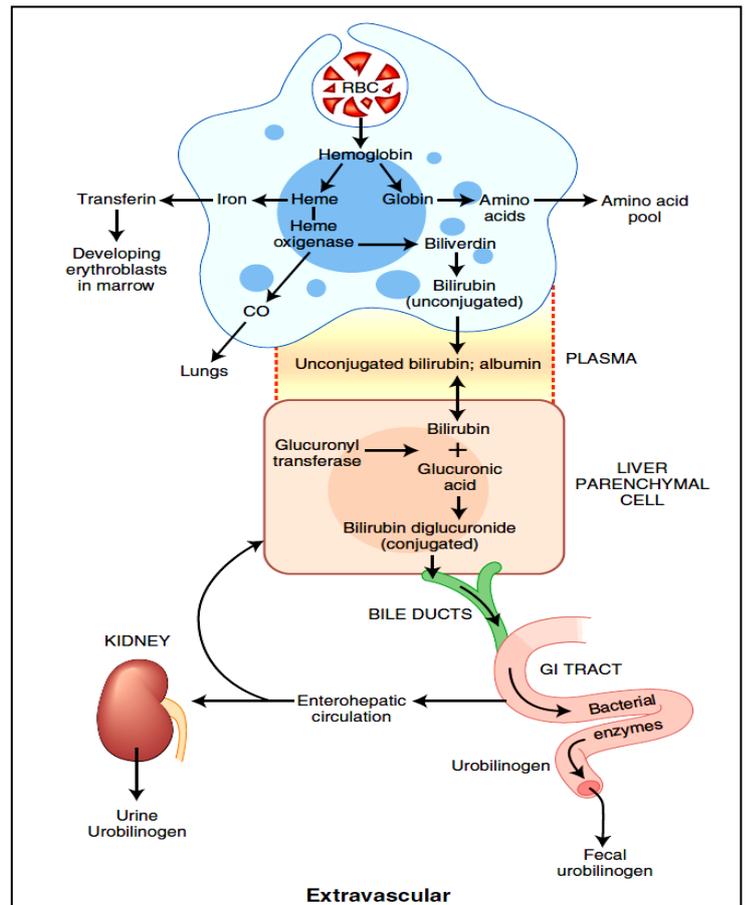


Figure 7 : L'hémolyse intra-tissulaire

la bilirubine conjuguée est sécrétée par la bile.

- ✗ Dans l'intestin, la bilirubine conjuguée est transformée par la flore intestinale en urobilinogène et stercobilinogène qui peuvent :
 - ✓ Passer dans le cycle entéro-hépatique.
 - ✓ Être éliminés dans les selles sous forme oxydée urobiline et stercobiline (la plus grande partie).
 - ✓ Réabsorbée au niveau de l'intestin puis éliminée dans les urines sous forme d'urobiline (la petite partie).

▪ **L'hémolyse intravasculaire :**

Une petite partie de l'hémoglobine (environ 20 %) est détruite directement dans la circulation.

- ✓ Liaison des dimères α - β à l'haptoglobine.
- ✓ Les complexes hémoglobine-haptoglobine de taille importante, ne peuvent pas traverser le glomérule rénal.
- ✓ Ils sont captés par les hépatocytes où l'hémoglobine est dégradée.

- ✓ Quand l'hémolyse est importante, les capacités de liaison de l'haptoglobine sont dépassées.
- ✗ L'hémoglobine apparaît à l'état libre dans le plasma (hémoglobinémie).
- ✗ Elle est éliminée dans les urines (hémoglobinurie).
- ✗ Une petite partie de l'hémoglobine est oxydée en hématine puis en méthémoglobine.
- ✓ L'hématine va se lier à 2 protéines plasmatiques: albumine et l'hémopexine.
- ✓ Le complexe hémopexine-hématine est capté par les hépatocytes, l'hème est dégradé tandis que l'hémopexine retourne dans le plasma.
- ✓ Les complexes albumine-hématine forment la méthémalbumine qui est aussi éliminée par les hépatocytes.

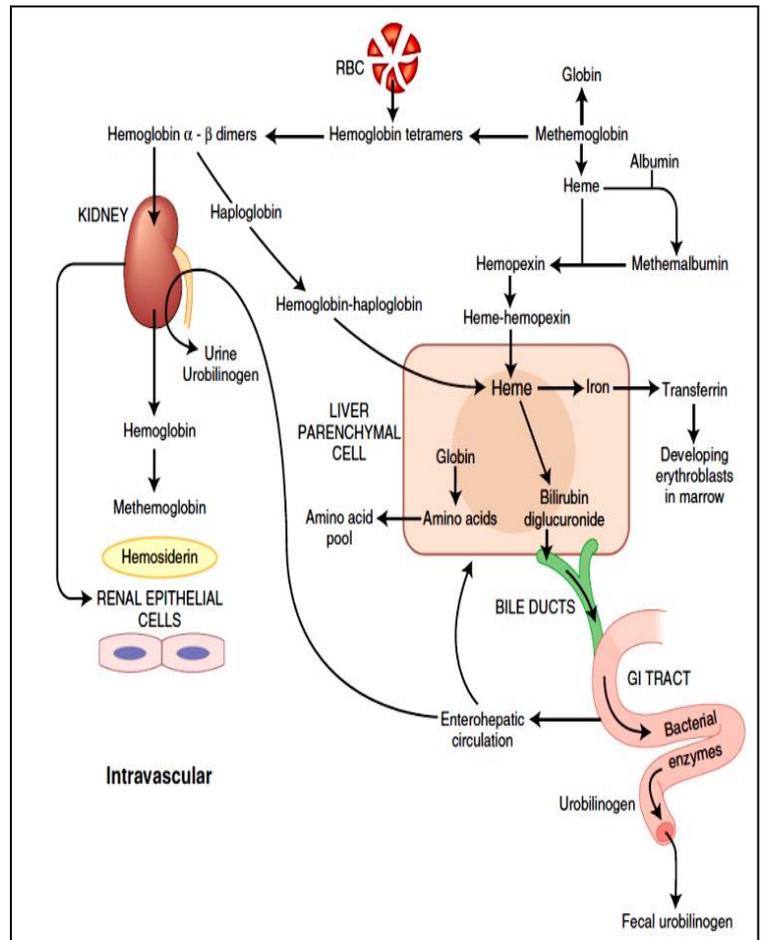


Figure 8 : L'hémolyse intravasculaire

C- Devenir du fer :

Le fer libéré va être récupéré par l'organisme (circuit fermé) :

Les 2/3 passe dans la circulation,

se lie à la transferrine pour être réutiliser pour l'érythropoïèse

- ✗ Le 1/3 restant est stocké dans les macrophages sous forme de ferritine et d'hemosidérine.

II. Les hémoglobinoses :

L'hémoglobinoase est un terme générique qui désigne l'ensemble des maladies affectant la structure de

l'hémoglobine, protéine majeure du sang responsable du transport de l'oxygène. Ces maladies sont toutes dues à une anomalie héréditaire et qualitative de l'hémoglobine. Il existe plusieurs types d'hémoglobinoase, comme l'hémoglobinoase S, plus connue sous le nom de drépanocytose, forme la plus grave des hémoglobinoses.

On rencontre aussi la méthémoglobinémie congénitale, ou hémoglobinoase M, et d'autres appelées hémoglobinoses C, E, H...

Certaines ne sont responsables d'aucun symptôme, alors que d'autres, principalement si le gène anormal est donné à la fois par le père et par la mère, entraînent des anémies hémolytiques, c'est-à-dire une diminution de la quantité de globules rouges secondaire à leur destruction. La drépanocytose est caractérisée par des globules rouges de forme anormale en forme de faucilles, d'où le nom d'anémie à hématies falciformes.

II.1 La drépanocytose

1. Définition :

Hémoglobinoase secondaire à une anomalie qualitative des chaînes β globine.

2. Epidémiologie :

La drépanocytose est la première maladie génétique de l'Afrique intertropicale. Dans certaines zones, la prévalence du génotype hétérozygote AS peut atteindre 25 % à 30 % de la population [19].

Les flux migratoires ont diffusé la mutation drépanocytaire d'Afrique et d'Asie vers l'Amérique et l'Europe. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime à 120 millions le nombre de porteurs du trait drépanocytaire dans le monde [20].

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 4,29 / 100 000 h [8].

Drépanocytose et paludisme

La répartition de la drépanocytose se superpose à celle du paludisme ceci est dû à la résistance à l'infection par *Plasmodium falciparum*.

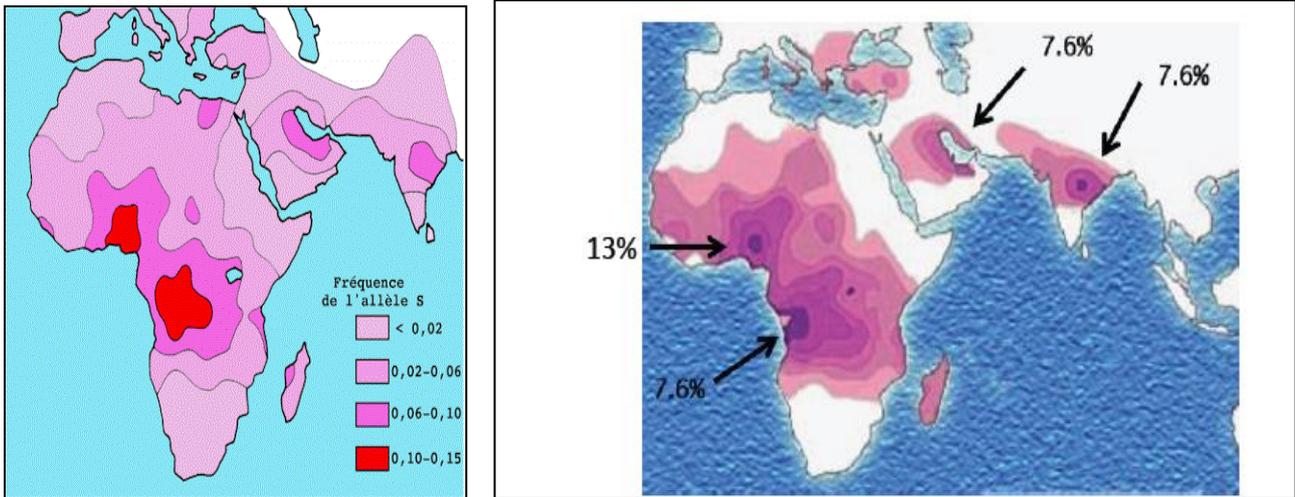


Figure 9 : Schéma de la répartition géographique de la drépanocytose [21]

3. Physiopathologie :

a- Bases moléculaires de la drépanocytose

Mutation responsable et son produit

La drépanocytose résulte d'une mutation ponctuelle portant sur le 6^{ème} codon du gène β globine, localisé sur le chromosome 11p15 (GAG→GTG), substituant l'acide glutamique « hydrophile » par une valine « hydrophobe » (β 6Glu→Val) donnant un gène muté β^S .

b- Résultat du mécanisme moléculaire

- Production d'une hémoglobine anormale « hémoglobine S », qui se polymérise provoquant la falciformation des hématies (« sickle » = faucille).
- Se manifeste par une anémie hémolytique corpusculaire.

c- Transmission

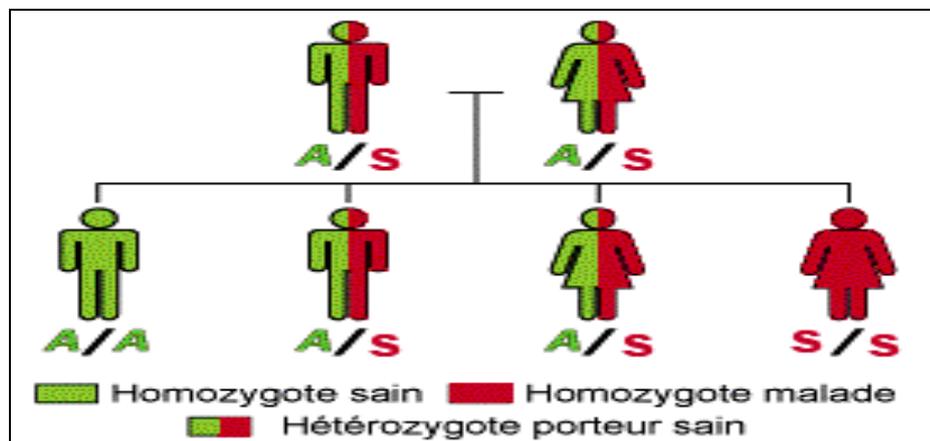


Figure 10: Mode de transmission de la drépanocytose

La drépanocytose est une maladie à transmission autosomique récessive : Les gènes responsables des maladies transmises sur le mode autosomique récessif (AR) sont localisés sur les autosomes. L'allèle muté responsable de la maladie est récessif sur l'allèle sauvage; les hétérozygotes sont sains et la maladie ne s'exprime que chez les homozygotes.

Caractéristiques généalogiques des maladies AR :

- Les deux sexes sont atteints avec une fréquence égale.
- Les deux parents sont en général sains mais sont obligatoirement hétérozygotes.
- Dans les familles, les sujets atteints se retrouvent le plus souvent dans la même fratrie donnant une répartition horizontale sur l'arbre généalogique.
- On observe un excès d'unions consanguines chez les parents de sujets atteints.

Risque de récurrence

d- Mécanismes physiopathologiques

La drépanocytose se manifeste par :

- Crises vaso-occlusives.
- Anémie hémolytique.

Le phénomène de base de ces deux entités est la conséquence de la polymérisation de l'Hb S.

Mécanisme de la polymérisation de l'Hb S

En conditions de désoxygénation et lors du passage dans la microcirculation :

- La substitution « $\beta 6\text{Glu} \rightarrow \text{Val}$ » dans la molécule d'Hb S rend sa surface plus hydrophobe et devient insoluble.
- La « $\beta 6\text{Val}$ » d'Hb S peut établir des liaisons hydrophobes avec la chaîne β d'une autre molécule d'Hb.
- Les molécules d'Hb forment de longues chaînes. Leurs regroupements en fibres hélicoïdales et leurs rigidifications engendrent la déformation en faucilles des globules rouges.

Facteurs favorisant la polymérisation de l'Hb S

- Augmentation de la température.
- Diminution du pH (acidose).
- Répartition des hémoglobines à l'intérieur des hématies:

- ✓ L'Hb F inhibe la polymérisation de l'Hb S, une hématie qui contient plus de 20 % d'Hb F ne peut pas se polymériser.
- ✓ Le trait α -thalassémique, en diminuant la CCMH, diminue la polymérisation de l'Hb S.
- ✓ Le porteur hétérozygote d'Hb S possède suffisamment d'Hb A pour contrer la polymérisation dans l'état désoxygéné.
- ✓ A l'inverse, l'Hb C, l'Hb D- Punjab et l'Hb O-Arab favorisent la polymérisation.
- La polymérisation est amplifiée par :
 - ✓ L'hypoxie induite par l'ischémie locale due à la vaso-occlusion.
 - ✓ La déshydratation cellulaire par perte d'eau [22].

1 .Mécanismes de la vaso-occlusion

- Hyperviscosité sanguine secondaire à la diminution de la déformabilité
- Augmentation de la CCMH et de l'hématocrite
- Adhésion des drépanocytes à l'endothélium
- Adhésion des globules rouges est plus importante dans les zones de flux turbulent (capillaires de 7-10 μm de diamètre) [23].

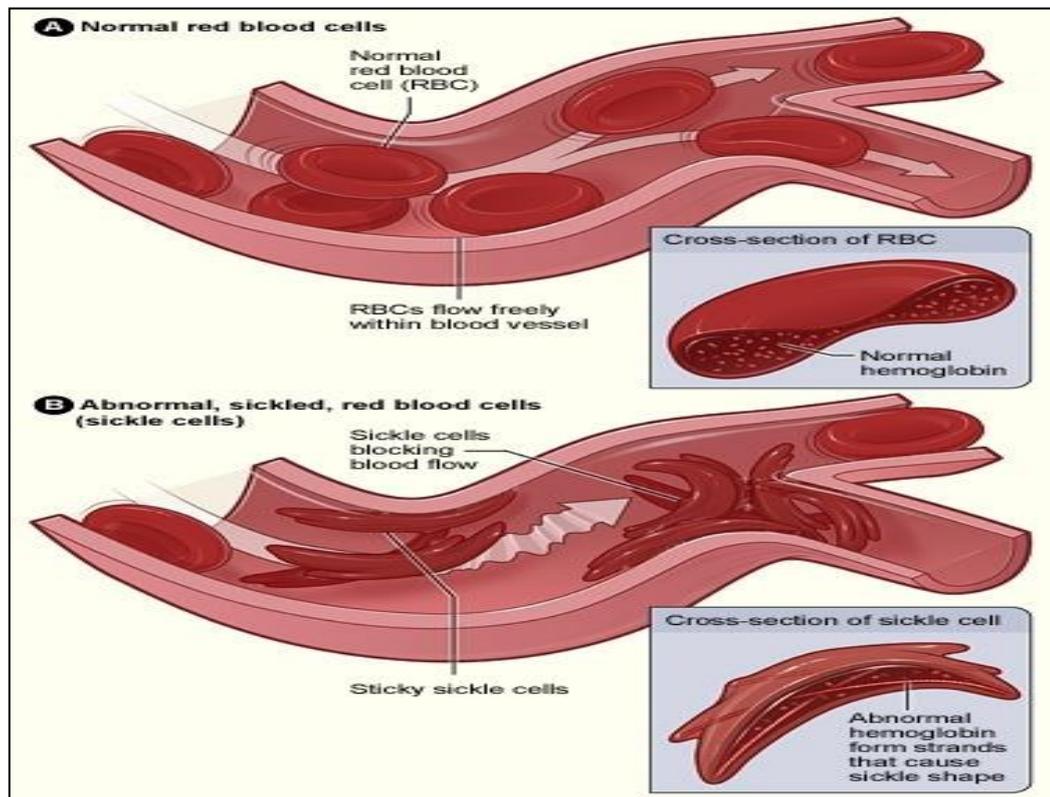


Figure 9 : La vaso-occlusion

2. Mécanismes de l'hémolyse

- L'hémolyse est due à :
 - Augmentation de la fragilité mécanique de la membrane érythrocytaire.
 - Altérations de la membrane par oxydation.
 - Recouvrement des drépanocytes par des immunoglobulines.

⇒ Anémie hémolytique intra-vasculaire et intra-tissulaire régénérative

e- Les conséquences cliniques :

Deux formes cliniques ont été individualisées, symptomatiques et asymptomatiques

1- Forme homozygote

- Asymptomatique jusqu'au 5^{ème} et 6^{ème} mois de vie. Elle est ensuite d'une grande sévérité
- Maladie grave évoluant à la fois sur le mode chronique et sur le mode aigu, elle est découverte devant :
 - Un œdème des mains et des pieds chez le nourrisson : syndrome pied-main



Figure 10 : Le syndrome pied-main en cas de la forme homozygote de la drépanocytose

- Une triade hémolytique : elle peut être découverte suite à l'apparition de complications.

Complications

* Aiguës:

– Crises vaso-occlusives osseuses (CVO)

Survenue brutale de douleurs osseuses +++ localisées ou diffuses surtout au niveau des os longs, rachis, et sternum

– Syndrome thoracique

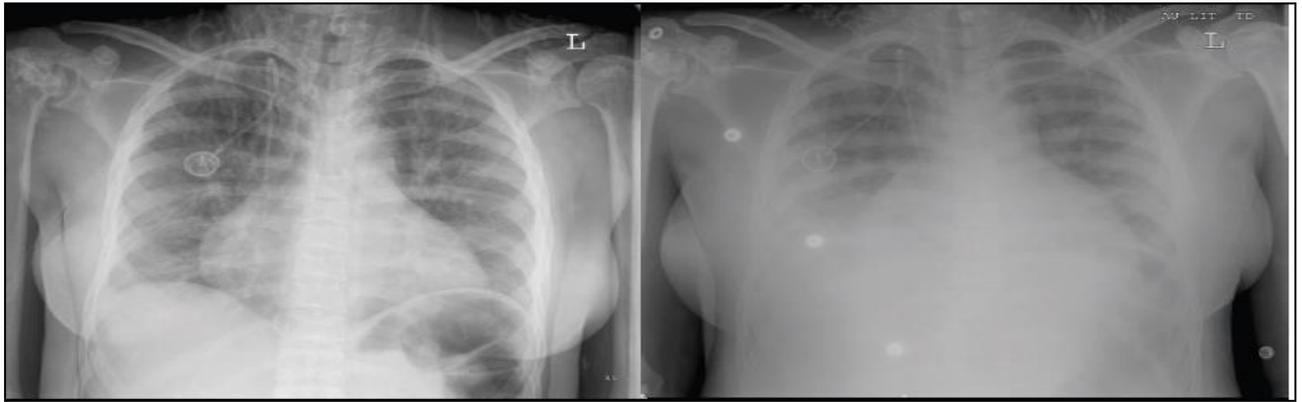


Figure 11 : Syndrome thoracique aigu (sévère)

*** Chroniques**

- Ostéonécrose
- Dyspnée (cardiopathie diastolique, HTAP)
- Ulcères de jambes
- Rétinopathies
- Insuffisance rénale
- Complication du traitement: hémochromatose/transfusions

2-Forme hétérozygote

- Découverte fortuite lors d'un bilan systématique, un bilan prénuptial, ou lors d'une enquête familiale.
- Cliniquement asymptomatique: sujet bien portant, non anémique.
- Les crises drépanocytaires ne surviennent qu'en cas de très grande hypoxie (exemple : haute altitude).
- Les sujets A/S ont une résistance au paludisme.

3. Diagnostic biologique

4.1. Interrogatoire :Comporte la recherche de

- Âge
- Sexe
- Origine ethnique
- Notion de consanguinité
- Antécédents d'hémolyse : Personnels, Familiaux
- Signes cliniques évocateurs : Symptômes d'anémie, Ictère, douleurs, splénomégalie.
- Notion de transfusion sanguine

4.2. Etape préanalytique

La plupart des techniques d'exploration des hémoglobinopathies se réalisent sur sang total recueilli sur EDTA, l'idéal étant de travailler sur du sang frais (moins de 4 jours). L'analyse sera effectuée après un délai minimum de 2 mois après toute transfusion sanguine et un mois après traitement martial.

4.2. Tests biologique

1-Test d'orientation

a- Hémogramme

Tableau 2: Valeur de la numération formule sanguine dans les formes drépanocytaires

Paramètres	Valeurs		
	Forme homozygote	Forme hétérozygote	Normes
Hb (g/dL)	7-9	N ou discrètement diminué	12-16 (femme) 13-17 (homme)
VGM (fL)	N	N	80-100 (adulte) 70-90 (Enfant)
TCMH (pg)	N	N	27-32
CCMH (%)	N	N	32-36
GB (G/L)	15-20	N	4-10
Plaquettes (G/L)	300-500	N	150-400

b- Frottis Sanguin

Repose sur l'étude quantitative et qualitative sur microscope optique des trois lignées cellulaires du sang d'un FSP coloré au MGG.

➤ **Forme homozygote**

- ❖ Poikilocytose : drépanocytes, schizocytes, elliptocytes, hématies en cibles.
- ❖ Normocytose.
- ❖ Anisochromie : polychromatie.
- ❖ Corps de Jolly à cause de l'hyposplénie.
- ❖ Érythroblastose circulante.

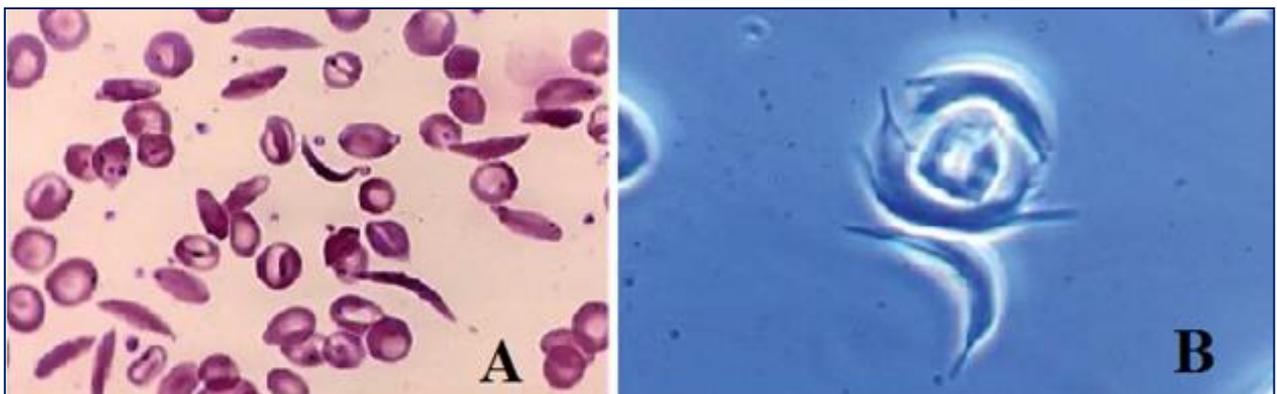


Figure 12: Morphologie des globules rouges chez un sujet drépanocytaire homozygote

A : FSP coloré au MGG, B : image par microscopie en phase de contact

➤ **Forme hétérozygote**

- ❖ Normale

c- Taux de réticulocytes

Tableau 3: Valeur de la numération formule sanguine dans les formes drépanocytaires

Formes	Forme homozygote	Forme hétérozygote	Normes
Taux de réticulocytes (G/L)	> 120	N	20-80

d- Bilan d'hémolyse

- **Forme hétérozygote:** bilan normal.

- **Forme homozygote :** nous pouvons noter deux tableaux biologiques différents, éventuellement associés.

Tableau 4: Résultats du bilan d'hémolyse chez le drépanocytaire homozygote

Bilans	Hémolyse intra-tissulaire chronique	Hémolyse intra-vasculaire aigue	Normes
Haptoglobine (g/L)	< 0,5	< 0 ,1	1-3
Bilirubine libre (mg/L)	↑	↑	< 10
LDH (UI/L)	↑	↑	190-445
Fer sérique (µmol/L)	N ou ↑	↑	9-30 (homme) 8-28 (femme)
Hémoglobinurie	Absente	présente	Absente
Hémoglobinémie mg/L	Absente	présente	Absente

e- Test direct à l'antiglobuline

À visée de diagnostic différentiel.

Négatif car l'hémolyse n'est pas d'origine immunologique.

2-Test de dépistage

a- Test de falciformation (test d'EMMEL)

Consiste à déclencher la falciformation des hématies sur lame en provoquant un état d'hypoxie

- En rajoutant du métabisulfite au sang du malade.
- En créant une atmosphère pauvre en oxygène [28].

Résultats

- A l'état frais, entre lame et lamelle les hématies où l'Hb S est présente prennent progressivement la forme typique en faucilles.
- Le test est positif chez les drépanocytaires homozygotes et hétérozygotes.

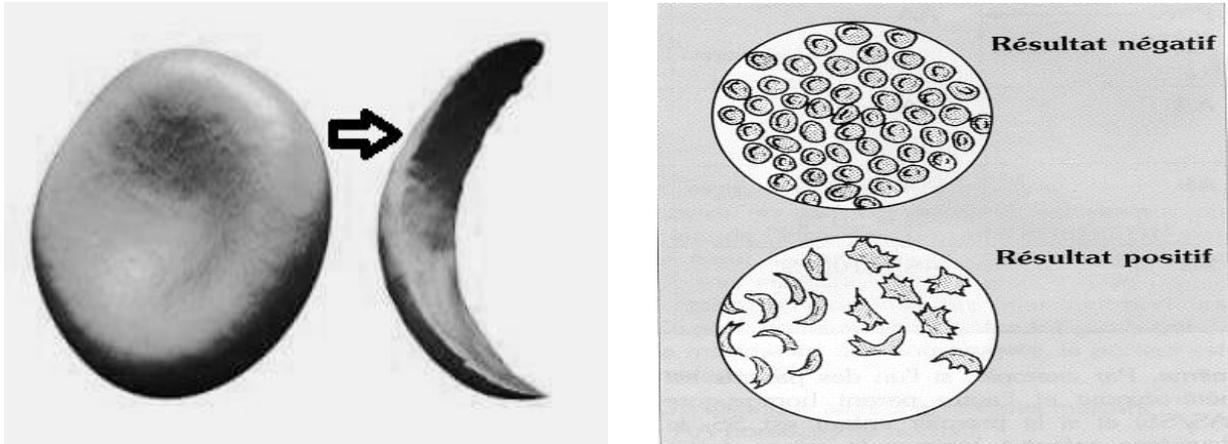


Figure 15 : Test de falciformation

b- Test de solubilité (test d'ITANO)

En milieu tampon phosphate à pH =7,5 et à basse force ionique, l'Hb est libérée sous l'action de la saponine. La réduction de l'Hb S par la dithionite de sodium entraîne la formation de microtubules de turbidité élevée qui précipitent sous forme d'un culot rouge [29].

Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés en présence de témoins positif et négatif.

Après centrifugation, la formation d'un précipité rouge signale la présence de l'Hb S.

- ✓ Sujet normale (A/A) : surnageant rouge et pas de culot.
- ✓ Forme homozygote (S/S): surnageant clair (Hb F) avec un culot rouge.
- ✓ Forme hétérozygote (S/A) : surnageant rose avec culot rouge.

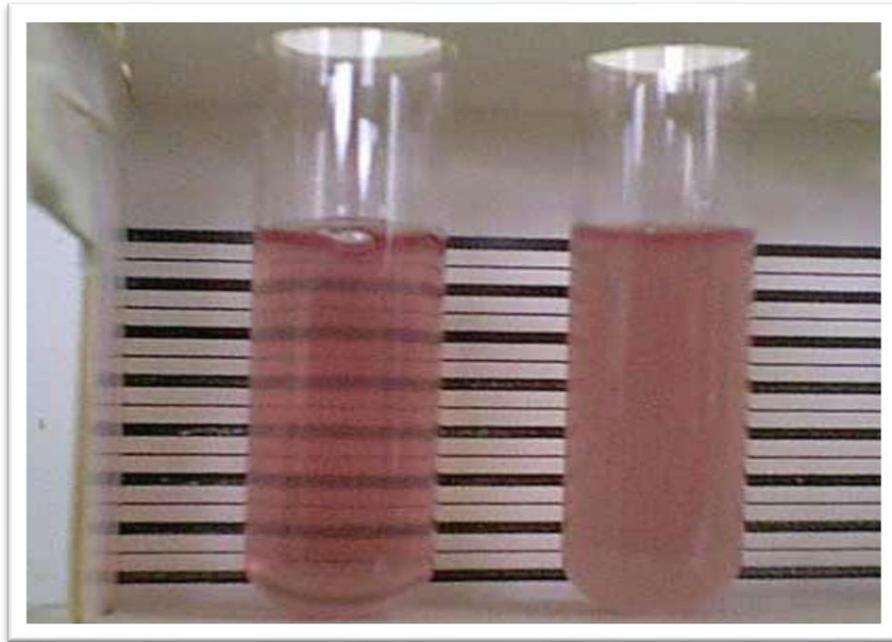


Figure 13: Test de solubilité d'ITANO

A gauche : forme homozygote ; A droite : forme hétérozygote

1-Test de confirmation

a- Électrophorèse à pH alcalin

L'électrophorèse à pH alcalin est réalisée soit sur gel d'acétate de cellulose, soit sur gel d'agar, ces deux types de support étant disponibles dans le commerce. Après migration, plusieurs bandes sont visualisées chez un adulte normal après coloration : une bande correspondant à l'Hb A très majoritaire (environ 97 %), une bande correspondant à l'Hb A2 située plus près du dépôt et représentant 2 à 3 % de l'hémoglobine totale, une ou deux bandes très discrètes proches du dépôt et correspondant aux anhydrases carboniques érythrocytaires.

Résultats

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

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

b- Iso-électro-focalisation

La focalisation isoélectrique est une technique hautement résolutive de séparation des hémoglobines en fonction de leur point isoélectrique dans un gradient de pH .

Elle permet :

- La séparation rapide de la plupart des hémoglobines, notamment les Hb C et E, ou S et D.
- La mise en évidence d'hémoglobines instables non identifiables par les techniques

classiques d'électrophorèse à pH alcalin [25].

Elle constitue la méthode de choix dans le dépistage des hémoglobinopathies chez le nouveau-né.

Résultats

L'Hb S migre entre l'Hb F et A2.

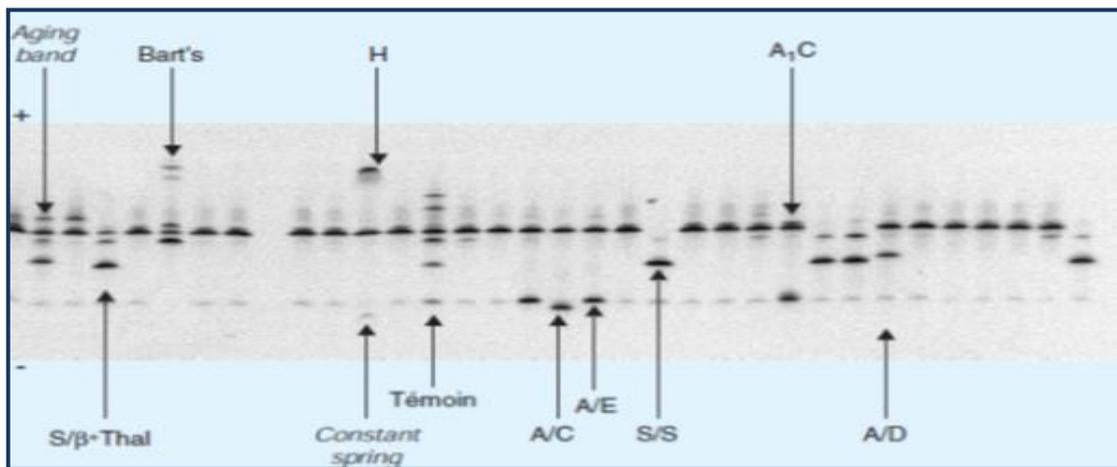


Figure 14 : Profil d'iso-électrolocalisation d'hémoglobine

f- Electrophorèse capillaire en veine liquide: Electrophorèse Capillarys d'hémoglobine

Le kit CAPILLARYS HEMOGLOBINE permet la séparation en milieu basique (pH 9, 4) des hémoglobines normales du sang humain (A, F et A2) et à la détection des principales hémoglobines anormales (notamment S, C, E et D) par électrophorèse capillaire dans le système automatique CAPILLARYS.

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

Le système CAPILLARYS comprend une série de capillaires en parallèle, permettant 7 analyses simultanées. Sur ce système, l'injection dans les capillaires de l'échantillon dilué dans la solution hémolyante est effectuée à l'anode par aspiration [26].

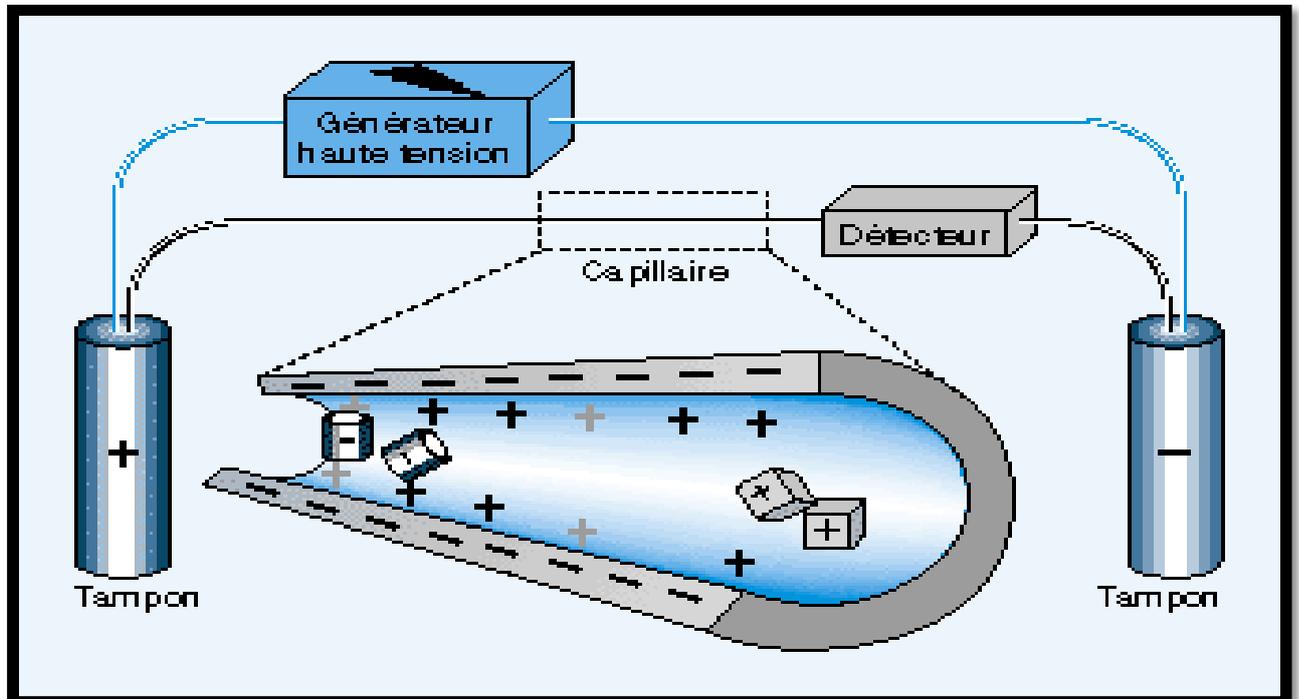


Figure 18 : Principe d'un système d'électrophorèse capillaire

f- Électrophorèse à pH acide

Séparation des différentes fractions d'Hb en fonction de leurs charges électriques respectives sur gel d'agar à pH acide (6,0).

Technique complémentaire de l'électrophorèse d'Hb à pH alcalin. Elle permet une bonne séparation :

- Des hémoglobines S, D et G.
- De l'hémoglobine A et F, ce qui est utile en période néonatale [42].

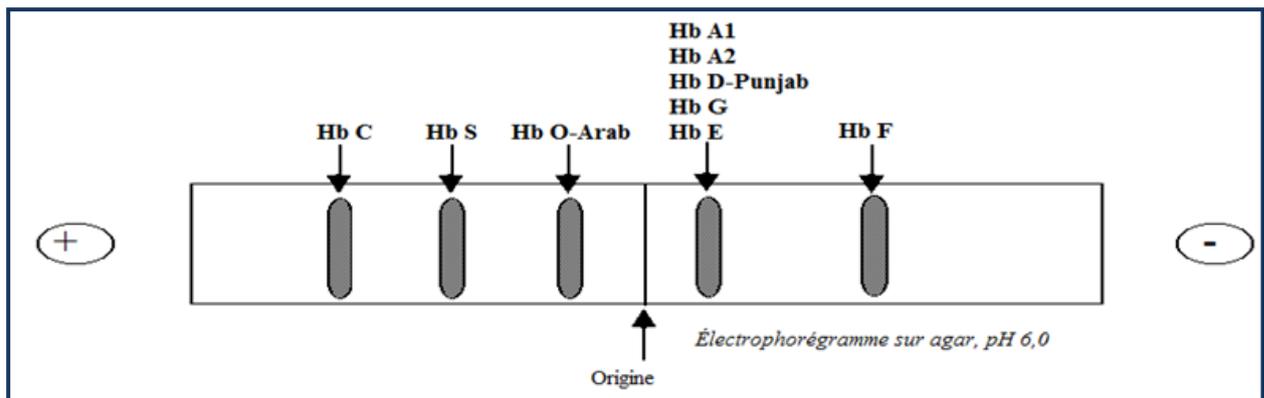


Figure 15: Profil électrophorétique de l'hémoglobine sur gel d'agar à pH acide

Résultats

L'Hb S migre à mi-chemin entre l'HbA et l'Hb A2, elle est bien séparée des Hb D et G.

4-Biologie moléculaire PCR (Polymerase Chain Reaction)

Font appel classiquement à la PCR (Polymerase Chain Reaction) , suivie d'études de modification de site de restriction et de séquençage

Principe de la PCR :

- Repose sur l'extraction de l'ADN à partir des précurseurs érythroblastiques, dénaturation, amplification et étude de l'ADN par des techniques :
- De basse résolution (RFLP)
- De moyen débit (séquençage)
- D'électrophorèse
- De haut débit (puces à ADN, BeadChip)

Intérêts : Mise en évidence des mutations et des délétions

Diagnostic

- Diagnostic d'une drépanocytose homozygote chez un sujet récemment transfusé et dont le phénotype n'a pas été établi antérieurement.

-Diagnostic prénatal, essentiel pour l'identification des couples porteurs d'anomalies de l'Hb qui risquent d'avoir des enfants atteints d'un syndrome drépanocytaire majeur.

-Rechercher le polymorphisme de populations par la détermination des haplotypes de restriction.

II.2 L' hémoglobine C :

1. Définition

L'**hémoglobine C**, couramment symbolisée par **HbC**, est une hémoglobine anormale résultant d'une mutation génétique conduisant à la substitution d'un résidu de glutamate par un résidu de lysine en position 6 de la séquence de la sous-unité β -globine. Cette forme d'hémoglobine mutée réduit la plasticité des érythrocytes, provoquant une hémoglobinopathie généralement asymptomatique, hormis chez les homozygotes, pour lesquels elle demeure malgré tout bénigne.

2. Epidémiologie

C'est un variant caractéristique de l'Afrique de l'Ouest (20 %), présent également aux Antilles (3 %).

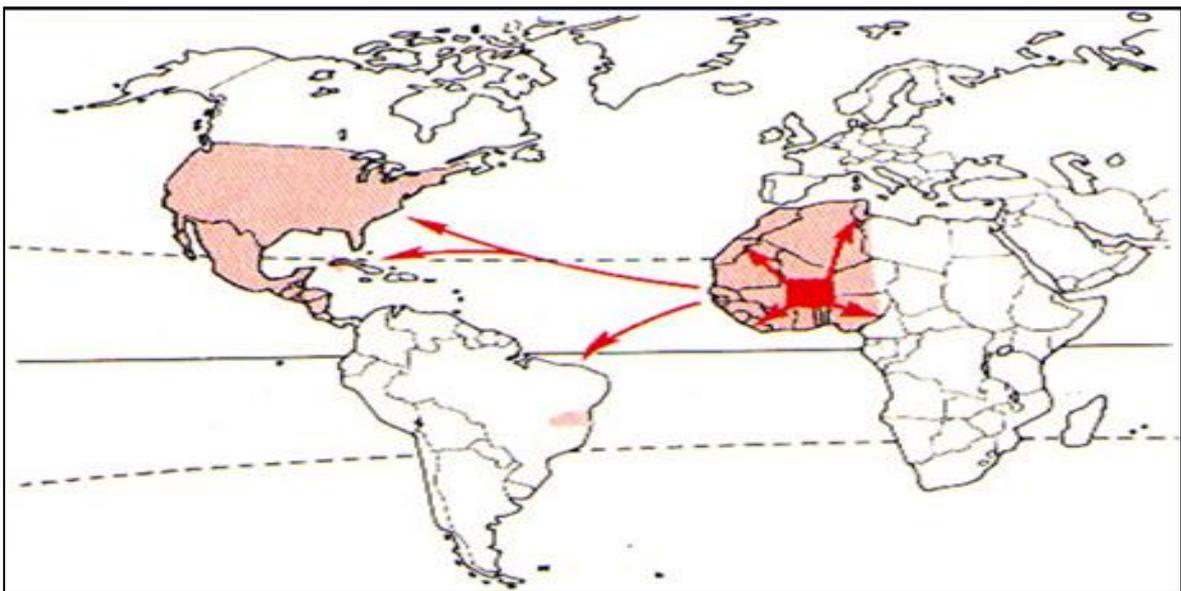


Figure 16 : La répartition géographique de l'hémoglobine C

3. Physiopathologie

Les sujets hétérozygotes sont cliniquement asymptomatiques. L'hémogramme est normal, parfois discrètement microcytaire.

Les sujets homozygotes présentent une anémie hémolytique chronique modérée. Les frottis sanguins montrent de nombreuses cellules cibles et parfois quelques microsphérocytes.

C'est la cristallisation de l'HbC qui est à l'origine d'une déshydratation cellulaire et d'une moindre déformabilité des hématies. Cette déshydratation est responsable d'une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) élevée (environ 38 g/dl) et d'une microcytose (VGM moyen de 72 fl)

Il existe plusieurs associations avec l'hémoglobine C tels que : la Hb C / β thal et Hb C / HB S

C'est l'association HbS/HbC qui est grave, puisqu'elle conduit à un syndrome drépanocytaire majeur. La présence d'HbC doit donc être prise en compte dans le conseil génétique de la drépanocytose. Les couples risquant d'avoir un enfant avec une hémoglobinopathie SC doivent être informés du risque de syndrome drépanocytaire majeur [26].

4. Diagnostic biologique

Interrogatoire (voir drépanocytose)

Etape préanalytique (voir drépanocytose)

1-Tests d'orientation

a- Hémogramme

Tableau 5: Valeurs de la FNS et FSP selon les formes de hémoglobinoses C

	Forme A/C	Forme C/C
FNS	Hb Normal VGM : Normal	présente une discrète anémie microcytaire. Hb : 10-13 g/dl VGM : 65-75 fl
FSP	Normale	Cellules cibles

b- Tests de réticulocytes

c- Bilan d'hémolyse

d- Tests de confirmation:

L'HbC migre avec l'HbE lors de l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin, mais s'en distingue légèrement par focalisation isoélectrique et très clairement par CLHP d'échange d'ions.

Dosage de l'hémoglobine A₂ et Hb F par chromatographie échangeuse d'ions sur micro-colonnes :

Le principe repose sur l'élution différentielle des différentes fractions d'hémoglobines sur résine échangeuse d'anions en micro-colonnes en utilisant différentes phases mobiles spécifiques de chaque fraction d'hémoglobine. Le dosage de la fraction recherchée sur l'éluât se fait par comparaison de sa densité optique par rapport à celle de l'hémoglobine totale par spectrophotomètre à 415 nm.

NORME : Hb A₂ à 3.5

Dosage de l'Hb F par mesure de la résistance à la dénaturation alcaline :

Toutes les hémoglobines sont dénaturées à pH alcalin (pH = 12) sauf l'Hb F, ce qui permet sa séparation et son dosage par spectrophotométrie à 540 nm après transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine.

Chromatographie liquide à haute performance HPLC sur colonne échangeuse de cations

C'est une technique qualitative très résolutive, quantitative et automatisable permettant de :

- Doser les fractions d'hémoglobine mineures (Hb A₂ et Hb F) et les principales hémoglobines anormales.
- Distinguer entre plusieurs variantes, aussi bien des chaînes α que des β .

II.3 Les autres hémoglobinoses :

Tableau 6: R Représentation des autres hémoglobinoses [26]

	Définition	Epidémiologie	La clinique et la biologie
Hb E	<p>-Un mutant de la chaîne β où l'acide glutamique en position 26 est remplacé par une lysine.</p> <p>-C'est la plus fréquente des Hb anormales.</p> <p>Le bilan est donc une β^+thalassémie peu sévère.</p>	<p>-Elle concerne essentiellement les populations du Sud-Est asiatique.</p> <p>-En raison d'une forte immigration des ces populations on l'observe aujourd'hui partout dans le monde.</p>	<p><u>Forme hétérozygote :</u></p> <p>-Bien supportée.</p> <p>-L'hémogramme est normal, il peut montrer une microcytose ou une discrète anémie.</p> <p>-HbE=30 %.</p> <p><u>Forme homozygote :</u></p> <p>-Les effets sont mineurs, se limitant à une anémie microcytaire hypochrome modérée.</p> <p>-L'HbA=0%</p> <p>-HbE =85 à 99 %.</p> <p>-HbF inférieur à 15 %.</p>
Hb O-Arab	<p>-L'HbO-Arab est un mutant de la chaîne β où l'acide glutamique en position 121 est remplacé par une lysine.</p>	<p>-On le retrouve en Europe orientale, mais également en Afrique et dans le Moyen-Orient</p>	<p>-Ce variant n'entraîne aucune anomalie chez les hétérozygotes et les homozygotes.</p> <p>-C'est l'association HbO-Arab/HbS qui est grave, puisqu'elle conduit à un syndrome drépanocytaire majeur.</p>
Hb D-Punjab	<p>-L'HbD-Punjab est un mutant de la chaîne α où l'acide glutamique en position 121 est remplacé par une glutamine</p>	<p>-Ubiquitaire, on le retrouve avec une forte prévalence chez les Sikhs du Punjab et dans les populations du nord-ouest des Indes.</p>	<p>-Cette Hb est asymptotique aussi bien à l'état hétérozygote qu'homozygote.</p> <p>-C'est l'association HbD-Punjab/HbS qui est grave, puisqu'elle conduit à un syndrome drépanocytaire majeur</p>

Repartitions géographique des principales hémoglobines anormales

Les Hb anormales les plus importantes sont : Hb S, C, D (Pundjab ou Los Angeles), E, et O Arab (Europe de l'est, gitans).

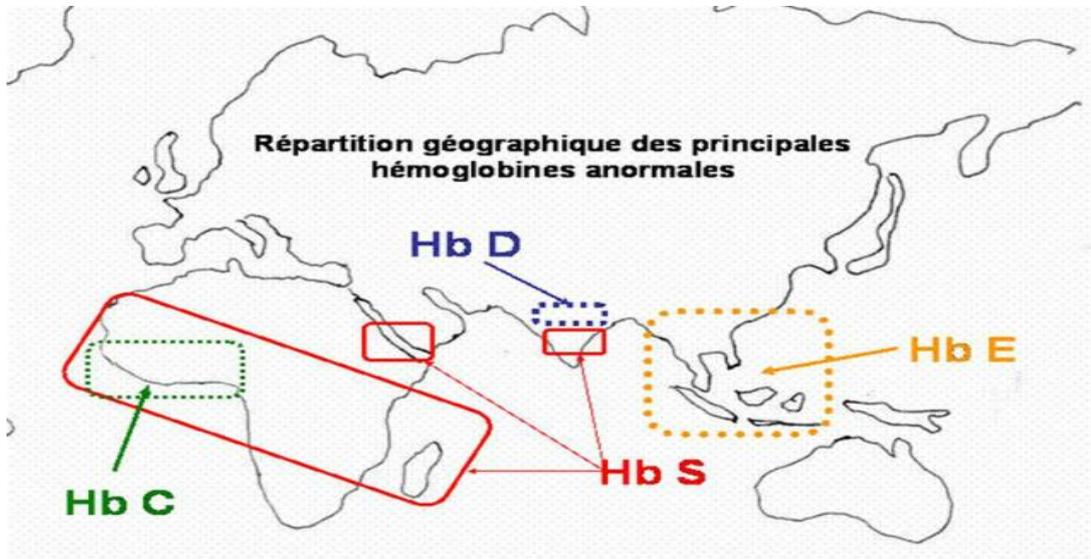


Figure 21 : Répartition géographique des principales hémoglobines anormales

II.4 Quelques formes composites

Les Hb anormales étant très fréquentes dans la race noire, il faut interpréter avec prudence les résultats des électrophorèses de l'Hb, car par exemple les Hb C, E et A₂ migrent au même niveau à pH alcalin.

Il existe des doubles hétérozygotes (ou hétérozygotes composites), soit entre 2 chaînes β anormales (par exemple S/C) soit entre Hb anormale et thalassémie α ou β . Ceci se traduit par des différences avec les pts simplement mutés. Notamment la thalassémie induit une diminution de synthèse de chaînes et la quantité d'Hb anormale est moindre que celle attendue chez l'hétérozygote.

Tableau 7 : quelques formes composites des hémoglobinopathies [35]

Anomalie génétique	Expression clinique	Diagnostic biologique							
		Hémogramme	Frottis	Etude de l'Hb					
				Hb A (%)	Hb F (%)	Hb A2 (%)	Hb S (%)	Hb C (%)	Hb E (%)
Hétérozygotie A / S	Asymptomatique	Normal	Normal	60-65	<1	2,5-3,5	35-40	-	-
Homozygotie S / S	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb : 6-10 g/dL VGM : normal	Drépanocytes Cellules cibles Corps de Jolly Erythroblastes	0	5-20	2,5-3,5	80-95	-	-
Hétérozygotie composite S/C	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb : 10-12 g/dL VGM : 70-90 fL	Drépanocytes Cellules cibles	0	1-7	2,5-3,5	50	45	-
Hétérozygotie composite S / β thalassémie	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb : 7-12 g/dL VGM : 60-95 fL	Anisocytose Poikilocytose Drépanocytes Cellules cibles Corps de Jolly	0-25	5-15	variable	55-90	-	-
Hétérozygotie A / C	Asymptomatique	Normal (parfois discrète microcytose)	Normal	60-65	<1	2,5-3,5	-	35-40	-

Homozygotie C / C	Anémie hémolytique chronique modérée	Hb : 10-13 g/dL VGM : 65-75 fL	Cellules cibles Cristaux d'Hb C	0	<3	2,5-3,5	-	> 90	-
Hétérozygotie A / E	Asymptomatique	Normal (ou discrète microcytose)	Normal	70- 75	<1	2,5-3,5	-	-	25- 30
Homozygotie E / E	Anémie hémolytique modérée, bien supportée	Hb : 10-13 g/dL VGM : 65-75 fL	Cellules cibles	0	< 15	2,5-3,5	-	-	> 85
Hétérozygotie composite E / β thalassémie	Thalassémie intermédiaire	Hb : 7-12 g/dL VGM : 65-80 fL	Cellules cibles Anisocytose Poïkilocytose	0- 25	5- 15	variable	-	-	> 40

Tableau 8 : diagnostic biologique de l' Hb E et Hb O-Arab et Hb D-Punjab

Diagnostic biologique	
Hb E	-Lors de l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin, l'HbE migre comme les HbC et HbA ₂ , -Elle peut être distinguée des autres Hb lentes par focalisation isoélectrique, électrophorèse capillaire ou bien par électrophorèse sur gel d'agar, où elle se comporte comme l'HbA.
Hb O-Arab	-Il comigre avec les HbC et E lors de l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin, mais peut facilement en être différencié par électrophorèse sur gel d'agar, en focalisation isoélectrique ou en CLHP sur échangeur de cations.
Hb D-Punjab	-L'HbD-Punjab se distingue de l'HbS en focalisation isoélectrique ou en CLHP sur échangeur de cations. -Néanmoins, elle peut être confondue avec d'autres variantes et son identification formelle nécessite l'utilisation de techniques complémentaires.

III. Traitements

1. La drépanocytose

Les traitements utilisés dans la drépanocytose ont pour la plupart une action symptomatique. Seuls deux traitements ayant une action de fond sont actuellement disponibles : la transfusion et l'hydroxyurée.

a- La transfusion : apporte des globules rouges contenant de hémoglobine A. Elle est utilisée dans le traitement d'urgence de certaines complications graves, ou en prophylaxie sous forme de programmes transfusionnels [43].

b-L'hydroxyurée (HU): est une chimiothérapie. En effet, si certaines molécules interférant avec le processus de polymérisation de l'hémoglobine S représentent un espoir, le seul traitement actuel de ce type ayant fait la preuve de son efficacité et couramment prescrit depuis 1995 est l'HU [41], qui améliore l'espérance de vie, diminue la fréquence des CVO et des hospitalisations.

Chez l'adulte drépanocytaire, contrairement à l'enfant, il n'y a pas d'indication clairement établie à la greffe médullaire allogénique, en raison notamment de l'augmentation du risque de mortalité toxique avec l'âge, et du risque de poursuite de l'évolutivité des atteintes organiques malgré cette procédure [44].

IV. Conseil génétique

Le médecin peut être amené à donner une information génétique dans trois situations différentes, qui correspondent à des problématiques différentes : le dépistage des porteurs sains, le diagnostic prénatal, le dépistage néonatal.

a- Dépistage des porteurs sains

Le dépistage des porteurs sains repose sur l'initiative de chaque médecin, en fonction de l'origine ethnique et des histoires familiales et personnelles de tout sujet à risque. La réalisation d'une numération avec détermination des réticulocytes et d'une électrophorèse de l'hémoglobine permettent d'évaluer ce risque. Si le propositus est une femme enceinte et que le conjoint ne peut être étudié, seul le diagnostic prénatal permettrait d'établir le diagnostic chez l'enfant attendu.

b- Diagnostic prénatal

Il est proposé à tous les couples se trouvant dans la situation où un risque existe de donner naissance à un enfant porteur d'une hémoglobinopathie, c'est-à-dire essentiellement une drépanocytose homozygote ou hétérozygote composite S / β^0 thal, qui restent, malgré les progrès thérapeutiques, des maladies graves et pénibles.

Le principe de l'information génétique qui précède le diagnostic prénatal repose sur l'explication claire du risque au couple, afin qu'il puisse exprimer son souhait librement en respectant ses convictions morales, philosophiques et religieuses. Il est surtout fondamental d'expliquer les conséquences éventuelles de la maladie chez l'enfant à naître, en tenant compte de la difficulté posée par la variabilité et l'imprévisibilité de l'expression phénotypique [41].

Il faut qu'il soit clair que le diagnostic prénatal, parce qu'il fait courir un risque faible de complication, n'est proposé qu'aux couples qui souhaiteraient une interruption médicale de grossesse.

Les techniques utilisées sont la biopsie de trophoblaste, réalisables à 10-12 semaines d'aménorrhée, et l'amniocentèse, à 15 semaines d'aménorrhée. Les prélèvements recueillis sont ensuite analysés par biologie moléculaire [40].

c- Dépistage néonatal

Il faut établir un programme de dépistage néonatal de la drépanocytose chez les nouveau-nés dont les parents font partie d'un groupe à risque, son but est de permettre la mise en place précoce d'une prise en charge adaptée comportant notamment une prophylaxie antipneumococcique chez les enfants malades.

Etude Pratique

ETUDE PRATIQUE

I. Protocole de l'étude

I.1 Objectifs

A. Objectif principal

Notre étude épidémiologique, a pour objectif, la caractérisation épidémio-génétique de la population de la Wilaya de Tlemcen par l'hémoglobinoses

B. Objectif secondaire

De mettre en évidence les hémoglobinoses qui passe inaperçue et faire un diagnostic précoce de hémoglobinopathies pour une bonne prise en charge thérapeutique

I.2 Type, lieu et durée de l'étude

L'étude que nous avons menée est une étude prospective et rétrospective, réalisée dans le service d'hémodiagnostic et banque de sang du CHU Tlemcen. La durée de la période est de 4 mois allant de mars 2017 à juin 2017, 15 cas d'hémoglobinoses ont été recensés, selon l'étude rétrospective nous avons recensé 11 cas et 4 cas selon l'étude prospective.

I.3 Recrutement des patients

Les patients recrutés sont des sujets porteurs d'hémoglobinopathies, demeurant à la région de Tlemcen, celle-ci se situe à l'extrémité Nord-ouest Algérienne, Elle s'étend du littoral (mer Méditerranée) au Nord à la steppe au Sud, sur une superficie globale de 9 100 km². Elle est limitée géographiquement au Nord-Est par la Wilaya de Ain-Temouchent, à l'Est par la Wilaya de Sidi Bel-Abbes, à l'Ouest par le royaume du Maroc et au Sud par la Wilaya de Naâma.

La population de la Wilaya de Tlemcen est estimée en 2010 à 977 206 habitants pour une densité de 108 habitants au Km².(ONS)



Figure 17 : Localisation géographique de la wilaya de Tlemcen

A. Critères d'inclusion

Deux types de recrutements ont été effectués :

Par le biais du service d'hémodiagnostic et banque de sang à partir des résultats de l'hémogramme, les critères d'orientation sont:

- Un taux d'hémoglobine normal ou diminué.
- Un nombre de globules rouges élevé.
- Le volume globulaire moyen bas.

Des demandes d'électrophorèse provenant des autres services hospitaliers du CHU Tlemcen.

B. Critères d'exclusion

Patients en cours de traitement par le fer par voie orale.

Patients transfusés dans moins de trois mois.

I.4 Recueil des données

Le recueil des données a été fait sur un questionnaire hémoglobinopathies préétabli, de manière active en interrogeant les patients ou leurs parents.

L'interrogatoire commence par le recueil des informations personnelles : nom, prénom, âge, adresse, antécédents personnels et familiaux.

Les questions posées avaient pour but de préciser l'histoire de la maladie, les circonstances de découvertes, la notion de consanguinité, les signes d'anémie hémolytique, ictère, splénomégalie et éventuellement chercher une notion transfusionnelle et de prise médicamenteuse

II. Méthodes

1. Prélèvement

L'échantillon biologique est représenté par une quantité de 5 ml de sang total prélevée aseptiquement par ponction au niveau du pli du coude et recueilli dans un tube stérile contenant de l'EDTA en respectant le rapport anticoagulant / sang (1/9).

Ce prélèvement servira à :

- La réalisation d'une numération formule sanguine (NFS) complétée par un frottis sanguin.
- L'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin sur acétate de cellulose. (sur du sang frais ou conservé à +4°C dans un délai maximal de 7 jours).
- Dosage de l'hémoglobine A₂ par chromatographie échangeuse d'ions.

***L'examen biologique**

Pour chaque prélèvement on a réalisé un hémogramme, un frottis du sang périphérique (FSP) éventuellement une ferretinémie.

2. Hémogramme

L'hémogramme est un examen de routine permettant d'obtenir rapidement un ensemble de données quantitatives (paramètres érythrocytaires, nombre des globules blancs et des plaquettes), incluant également la formule leucocytaire et la numération des réticulocytes à la demande.

L'automate utilisé dans le laboratoire est l'ADVIA 2120i.

L'hématimètre ADVIA®2120i est un cytomètre de flux entièrement automatisé utilisant la diffraction lumineuse sous deux angles, la lyse différentielle des leucocytes et la coloration de la myéloperoxydase pour caractériser les cellules, avec une cadence de 120 analyses par heure.

Normes

	Taux des GR (10⁶ /mm³)	Hématocrite HT (%)	Taux d'HB (g/dl)
Hommes	4.5 à 5.9	40 -50	13 à 18
Femmes	4.0 à 5.5	37 -43	12 à 16
Enfants	5.0 à 6.0	38 - 44	12 à 16
nouveaux nés	5.0 à 6.0	50 – 58	14 à 20

Tableau 9 : Normalité des GR, HT et HB en fonction de l'âge et du sexe

Le VGM compris entre 80-100 fl traduit une normocytose

Un VGM>100fl témoigne d'une macrocytose, à l'inverse un VGM bas témoigne d'une microcytose.

Le TGMH compris entre 27-32 pg traduit une normochromie. Une TGMH basse < 27pg témoigne d'une hypochromie.

3. Frottis du sang périphérique : FSP

Il repose sur l'examen microscopique d'un frottis sanguin, après étalement d'une goutte de sang sur lame puis coloration au May Grunwald et Giemsa (MGG). Il permet de :

- ✗ Faire un équilibre leucocytaire.
- ✗ Faire une étude qualitative de la lignée érythrocytaire : taille, forme et coloration, ainsi que les autres lignées, dans notre étude nous nous sommes limités uniquement à la lignée érythrocytaire.

4. Taux de réticulocytes :

La coloration au bleu de crésyl fait apparaître les réticulocytes qui sont des globules rouges jeunes contenant encore quelques granules ou filaments d'ARN. Facilement différenciables ces éléments seront colorés en bleu foncé. Cet examen est indiqué dans le cadre de l'exploration d'une anémie. Il permet d'apprécier le caractère régénératif ou arégénératif d'une moelle osseuse.

5. Electrophorèse de l'Hb à pH alcalin sur acétate de cellulose:

a-Préparation des échantillons:

- Préparation des hémolysats : 1 volume de sang total est ajouté à 3 volumes de réactif hémolysant.
- Bien mélanger et laisser reposer 5 minutes.



Figure 18 : Préparation de l'hémolysât

- Déposer 5 μ L d'hémolysât du patient préparé dans les puits des masques échantillons à l'aide d'une micropipette. Déposer en parallèle 5 μ L du témoin.



Figure 19 : Dépôt du témoin et des hémolysats

b-Entre temps préparer les plaques de migration d'acétate de cellulose comme suite

- Dissoudre un sachet de tampon Supre-heme dans 980ml d'eau distillée.
- Identifier correctement le nombre nécessaire de plaques Titan III-H en écrivant sur le coté dur et brillant avec un marqueur Helena.
- Tremper le nombre nécessaire de plaques dans le tampon pendant 5 minutes.
- Les plaques doivent être trempées en les plongeant lentement et uniformément dans le tampon.

Il faut noter qu'une plaque d'acétate de cellulose peut contenir jusqu'à 7 patients et le témoin.

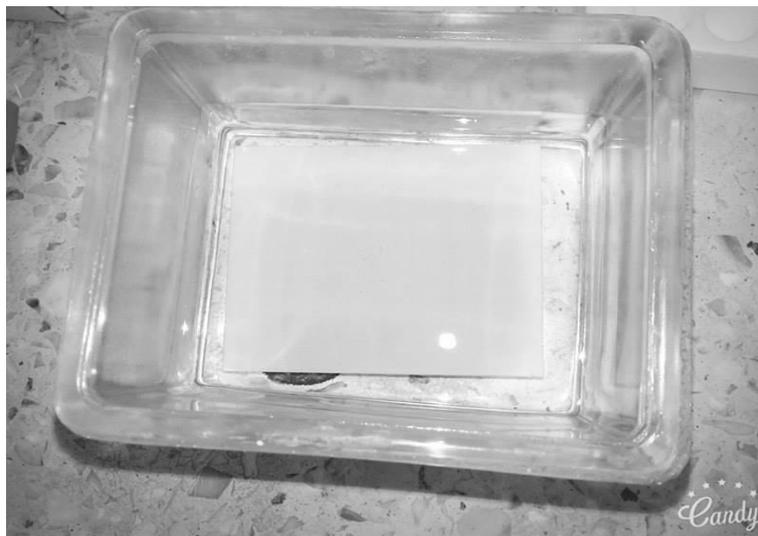


Figure 20: Préparation de la plaque d'acétate de cellulose

c-Préparation de la chambre d'électrophorèse :

- Verser environ 100 ml de tampon Supre-Heme dans chacun des compartiments extérieurs de la chambre.
- Humidifier deux ponts papier jetables dans le tampon et en déposer un sur chaque pont du support, en veillant à ce qu'ils soient bien en contact avec le tampon et qu'aucune bulle d'air ne reste dessous.
- Couvrir la chambre pour éviter que le tampon ne s'évapore.



Figure 21: Préparation de la chambre de migration

d-Dépôt des échantillons :

- Amorcer l'applicateur en abaissant les embouts dans les puits échantillons 3 ou 4 fois.
- Déposer cette charge sur un papier buvard. Ne pas charger à nouveau l'applicateur et passer à l'étape suivante, enlever la plaque Titan III du tampon et la sécher entre 2 papiers buvards.
- Placer la plaque sur l'embase d'alignement, acétate de cellulose vers le haut, en faisant correspondre le bas de la plaque avec la ligne de séparation noire par dépôt cathode.
- Déposer l'échantillon sur la plaque en abaissant les embouts de l'applicateur dans le puits échantillon 3 ou 4 fois puis transférer l'applicateur sur l'embase d'alignement. Appuyer sur le bouton et le maintenir appuyé pendant 5 secondes.



Figure 22: Dépôt des hémolysats sur la plaque d'acétate de cellulose

e- Migration :

- Placer la plaque dans la chambre, acétate de cellulose vers le bas. Placer un poids sur la plaque de façon à assurer un bon contact avec les ponts papier.
- Faire migrer 20 minutes à 350 volts.
- Après migration : enlever la plaque de la chambre



Figure 23: Migration de l'hémoglobine de la cathode vers l'anode

f-Coloration :

L'étape de la coloration comporte une série d'étapes de coloration/décoloration.

- Colorer avec du rouge Ponceau S pendant 5 minutes.
- Décolorer dans 2 bains successifs d'acide acétique à 5% de 2 minutes chacun.
- Déshydrater les plaques dans 2 bains successifs de méthanol absolu de 2 minutes chacun.



1- Coloration par le Ponceau S.



2- Décoloration dans 2 bains successifs d'acide acétique à 5%.



3- Déshydratation des plaques dans le méthanol absolu.

Figure 24 : Etapes de coloration/décoloration des plaques

Evaluation qualitative

Une lecture visuelle des plaques permet de déterminer si des bandes d'hémoglobines anormales sont présentes ou non. Les hémogrammes Helena utilisés servent de marqueurs de position pour l'identification des bandes.

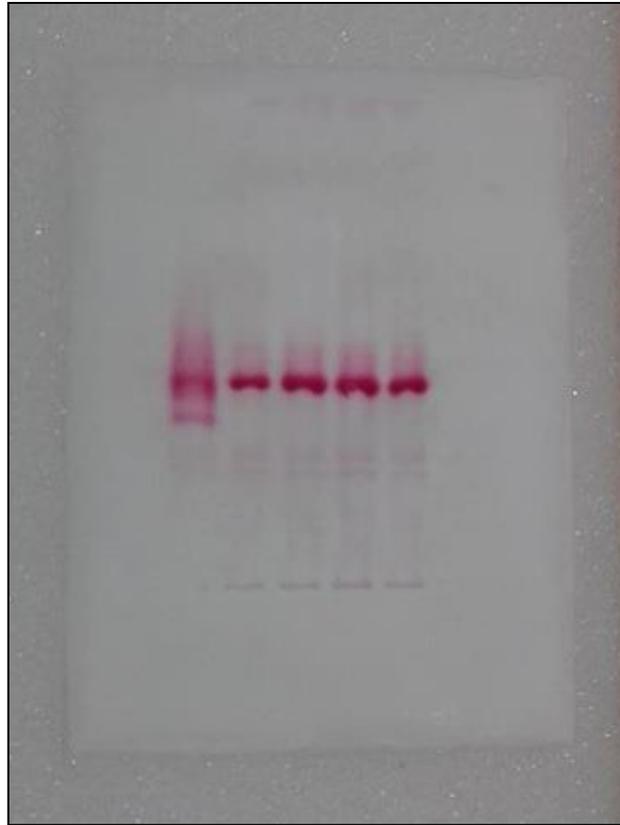


Figure 25 : Plaque d'électrophorèse après coloration et séchage

Interprétation des résultats

Divers hémoglobines pathologiques peuvent être dépistées sur acétate de cellulose. Il s'agit principalement de l'hémoglobine S qui migre à mi-distance entre l'Hb A₁ et l'Hb A₂. D'autres Hb anormales peuvent prendre la même position de migration. Il s'agit essentiellement de l'Hb D, l'Hb G, et l'Hb Lepore.

L'hémoglobine C migre à la même position que l'Hb A₂ mais avec une bande de migration plus intense.

D'autres hémoglobines pathologiques peuvent prendre cette même position de migration comme l'Hb E, Hb O Arab ou autres.

Des formes composites S-C ou C-β thalassémie ou thalasso-drépanocytose peuvent exister.

Les formes homozygotes se distinguent par l'absence de l'Hb A par rapport aux formes hétérozygotes.

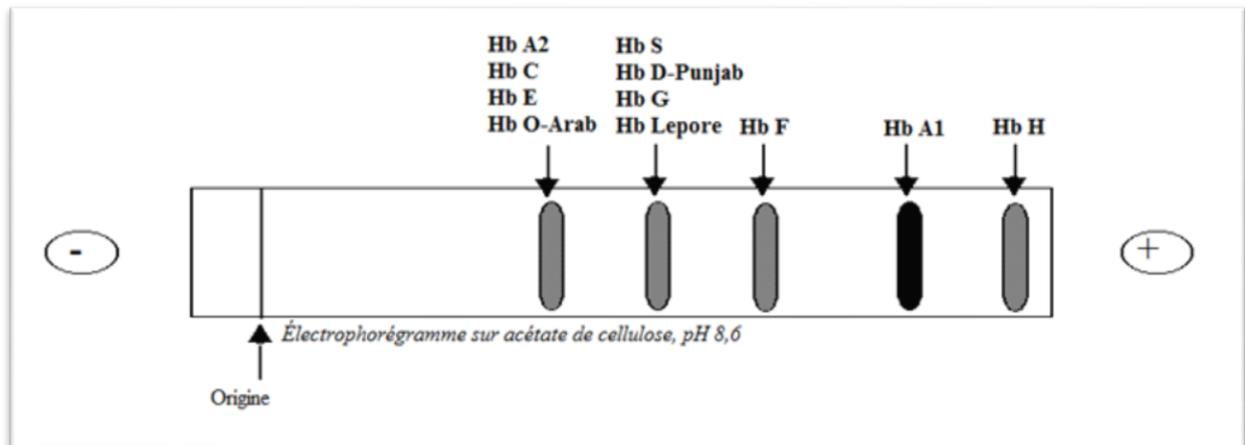


Figure 26 : Profil électrophorétique de l'hémoglobine sur acétate de cellulose à pH alcalin

6. Dosage chromatographique de l'hémoglobine A2 sur colonne échangeuse d'anions:

Matériels et réactifs :

- Coffret Helena : Beta-Thal Quik Column : pour dosage de l'hémoglobine A2.
- Kit d'équipement pour colonne Quick.
- Spectrophotomètre.

a- Préparation de l'hémolysât :

- Introduire 50 µl de sang total, prélevé sur EDTA dans une éprouvette en verre.
- Ajouter 250 µl de réactif-C hémolysant.
- Agiter vigoureusement et laisser reposer 5 minutes afin que l'hémolyse soit totale.

b- Préparation de la fraction totale :

- Introduire 100µl d'hémolysât dans le grand tube de récupération.
- Compléter le tube jusqu'à la ligne avec l'eau distillée.
- Volume total = 15ml.

c- Préparation des colonnes :

- Retourner plusieurs fois la colonne afin d'enlever la résine qui adhère au capuchon supérieur ensuite enlever le.
- Tenir la colonne au dessus d'un bécher puis enlever le capuchon inférieur de façon à éluer le tampon.
- Dès que La résine se tasse ; aspirer le surnageant et le jeter (il est nécessaire d'éliminer tout le tampon de la colonne sans perturber la résine).
- Déposer lentement et avec précautions 100 μ l d'hémolysât de l'échantillon dans la colonne ; éviter la formation de bulles et l'écoulement sur la paroi.
- Laisser la résine absorber complètement l'échantillon. L'hémolysât a un aspect brillant lorsqu'il est vu du dessus ; une fois l'absorption terminée la partie supérieure de la résine aura un aspect mat et terne.



Figure 27: Colonne échangeuse de cations pour la chromatographie de l'hémoglobine A2

d- Elution de l'Hb A₂

- Lorsque la résine a absorbé l'hémolysât; placer la colonne sur une tube de récupération.
- Pipeter 2.5 ml de la phase mobile HbA₂ dans la colonne ; la phase mobile restant au dessus de la colonne doit être transparente (si la phase mobile contient de l'Hb, jeter et recommencer l'analyse).
- Laisser toute la phase mobile traverser la colonne de sorte qu'elle soit récupérée dans le petit tube de récupération (environ 20min).



Figure 283 : Elution de l'hémoglobine A₂

- Compléter le petit tube avec de l'eau distillée jusqu'à la ligne. Volume total = 3 ml.
- Détermination du pourcentage de l'HbA₂ par spectrophotomètre
- Inverser les tubes plusieurs fois afin d'assurer un mélange parfait.
 - Régler la longueur d'onde à 415 nm.
 - Mettre à zéro l'instrument avec de l'eau distillée.
- Lire et relever l'absorbance (DO) de chaque éluât et de chaque fraction totale.

L'hémoglobine A₂ est calculée selon la formule suivante:

$$A_2 = \frac{\text{DO Hb A}_2 * 100}{\text{DO Hbt} * 5}$$

DO Hb A₂ : l'absorbance de l'éluât.

DO Hbt : l'absorbance de la fraction totale.

Interprétation des résultats

Les valeurs normales d'HbA₂ sont comprises entre 1,5-3,5%.

L'interprétation des résultats des dosages de l'hbA₂ doit être réalisée conjointement avec les antécédents du patient, le taux d'Hb total ainsi que d'autres données biologiques et cliniques.

Un taux d'HbA₂ entre 3,5%-8% est en faveur d'un trait β thalassémique.

Un taux d'HbA₂ <1,5% est en faveur d'une carence martiale sévère ou d'une α thalassémie.

Un taux d'HbA₂ >8% est en faveur d'autres variants Hb C, et HbE.

7.Extraction de l'ADN génomique humain à partir du sang total par la technique NaCl « Salting Out » :

Le but de l'extraction va être d'isoler l'ADN des autres composés de la cellule (protéines et acides nucléiques autres que l'ADN tels que l'ARN etc...)

Les techniques d'extraction des acides nucléiques relativement simples, permettent d'obtenir un ADN de pureté élevée et de quantité importante.

Elles ont pour but de récupérer les acides nucléiques en suspension et de les resolubiliser dans un tampon adéquat. Il convient simplement d'éviter toute destruction enzymatique ou mécanique de l'ADN.

De nombreuses méthodes permettent d'extraire de l'ADN génomique. Ces méthodes sont soit manuelles (ex: Kits d'extraction , méthode de Miller) soit automatisées (ex: MagNAPure®, Roche Diagnostics®).

a-Principe :

Le principe est celui d'un « salting out », c'est à dire d'une déshydratation suivie d'une précipitation des protéines par une solution de chlorure de sodium saturée. Après précipitation des protéines, l'ADN est précipité par de l'éthanol puis repris en suspension.

b-Matériels, réactifs et appareils utilisés :

- Matériels : Seringues de 5 ml stériles, Gants, Tubes falcon, Eppendorfs, Embouts, Pipettes pasteur, Pissettes, Bêchers, éprouvettes, Portoirs, Micropipettes.
- Réactifs : EDTA, Tris, NaOH, HCl, SDS, NaCl, Protéinase K, Ethanol 70%.
- Appareils : Appareil à glace, Centrifugeuse, Bain marie.

c-Protocole

1- Lyse des globules rouges

La première étape consiste à diluer le sang avec environ 4 volumes de TE 10/10 avec agitation douce, et incuber dans la glace 30 min pour que la lyse des hématies ait lieu. Centrifuger à 2500 T/min pendant 15 min.

Eliminer doucement le surnageant.

Remettre en suspension les cellules avec 15 ml de TE 10/10 avec agitation si nécessaire.

Le culot doit être complètement dissocié, et compléter le tube à 45 ml de TE 10/10.

Remette dans la glace pendant 10 minutes, puis centrifuger 15 min à 2500 T/min.



Figure 29: Etape de centrifugation

Ces étapes consistent à éliminer les globules rouges (puisqu'elles ne contiennent pas d'ADN) et toutes les impuretés du milieu extra cellulaire. Et la centrifugation permet de séparer les globules blancs des débris de globules rouges. A la fin de la centrifugation, il apparaît au fond du tube un « culot » blanc (ce sont les restes de globules blancs) et un « surnageant » rouge (ce sont les débris de globules rouges) que l'on va retirer du tube.

Refaire cette étape jusqu'à ce que le culot soit translucide.

2- Lyse des globules blancs:

Pour cette étape, on utilise une solution agressive de détergent (SLB) afin de déstabiliser la membrane des globules blancs et le noyau de la cellule. Ensuite, 125 μ l de l'enzyme « Protéinase K » est ajoutée à la solution à 20 mg/ml, pour dégrader les protéines de la cellule.

Le tube est incubé à 37°C dans un bain marie sous agitation douce, pendant le reste de la journée, et la nuit entière, afin d'avoir une activité optimale de la protéinase K.

3- Précipitation de l'ADN :

On reprend le travail le lendemain et on remarque que suite à cette étape, le tube contient un mélange d'ADN, et les restes de la cellule : fragments de protéines, résidus de la membrane de la cellule et toutes les molécules du cytoplasme.

Un volume de 2 ml de NaCl est ajouté au mélange, qui est ensuite agité vigoureusement et centrifugé à 4000 T/min pendant 10 min.



Figure 30:L'ajout de NaCl et précipitation de l'ADN

Grâce à la précipitation, on peut séparer l'ADN du reste de la solution de lysat. Pour cela on récupère cette fois le surnageant dans un autre tube et ajouter deux volumes d'éthanol absolu froid pour éliminer le maximum de la solution de lyse, c'est l'eau qui va solubiliser les impuretés autour de la pelote d'ADN (la méduse).



Figure 31 : La formation de la mésuse

Récupérer la pelote à l'aide d'une pipette pasteur soudée à l'extrémité, la rincer à l'éthanol 70% et la faire passer au séchage dans un tube Eppendorf. On laisse donc le tube ouvert pour que l'éthanol s'évapore.

La méduse est ensuite dissoute dans 200 à 500 μ l de TE 10/1 et laissée à température ambiante afin d'obtenir une dissolution totale avant de passer au Spectrophotomètre pour lire sa densité optique à 260 nm.



Figure 32 : Récupération de la méduse

4- Détermination de la concentration en ADN :

L'échantillon est dilué au 1/40 et la lecture de la densité optique à 260 nm est effectuée grâce à un Spectrophotomètre. La concentration de la solution mère (C) est donnée par la formule suivante : $C (\mu\text{g/ml}) = \text{facteur de dilution} \times \text{DO } 260 \times 50 \mu\text{g / ml}$

Le rapport des DO_{260/280} optimal, garant de la pureté de l'extraction, est situé entre 1,8 et 2,1.

III. Résultats

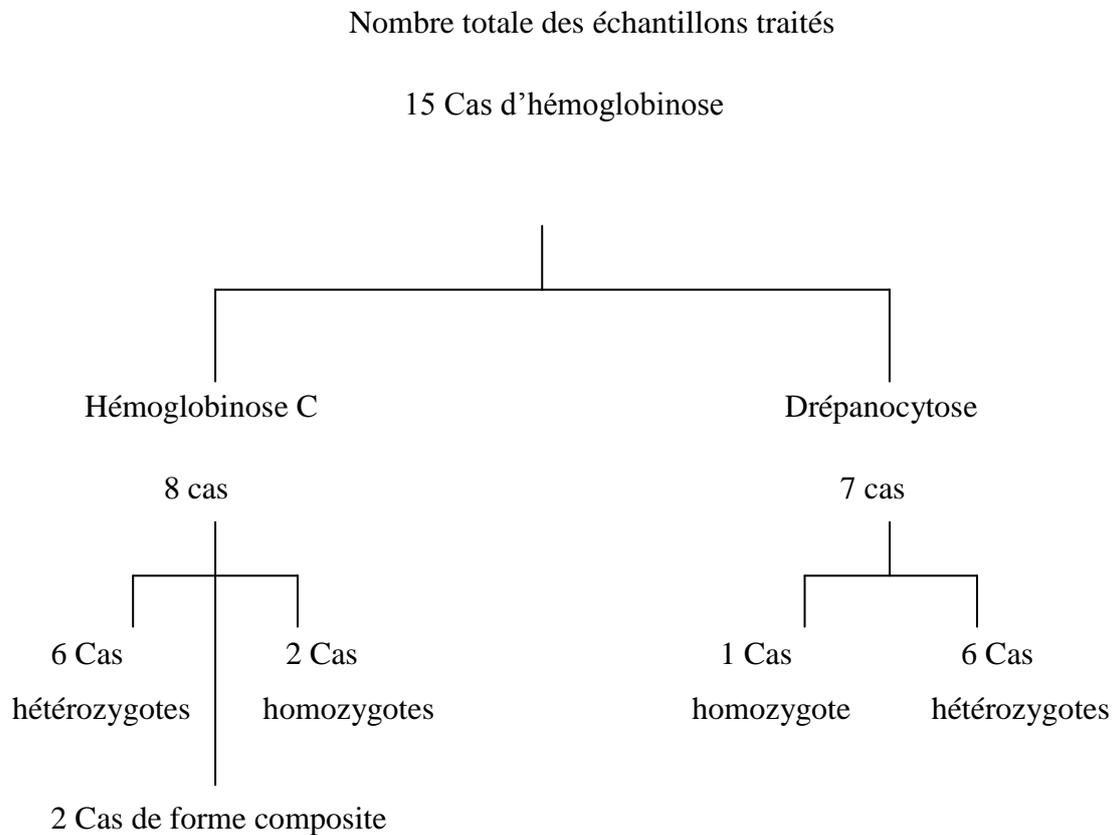
Dans notre étude, nous avons travaillé sur 15 échantillons.

Quatre prélèvements ont été étudiés suite à la découverte fortuite à l'hémogramme d'une pseudo polyglobulie microcytaire et 11 patients ont été recrutés après une étude de dossiers .

Notre étude a été effectuée sur une population de patients atteints d'hémoglobinoses âgées entre 2 ans et 69ans, recrutés au service d'hémodiologie et banque de sang CHU Tlemcen.

III.1 Répartition de la population générale :

Répartition de la population selon le type d'hémoglobinopathie :



Nos résultats confirment l'existence de différents types d'hémoglobinoses dans la population de la région de Tlemcen, parmi les 15 patients qui ont été recensés au cours de cette étude 7 sujets avaient une hémoglobinoses S : un cas homozygote S/S, et 6 cas hétérozygotes A/S .

Huit patients avaient une hémoglobinoses C : Deux cas homozygotes C/C, et 6 cas hétérozygotes A/C.

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 10: Répartition de la population selon les différents types d'hémoglobinopathies

	Effectif	Pourcentage
Hémoglobinosse C homozygote	2	13.33%
Hémoglobinosse C hétérozygote	4	26.66%
Formes composites C/β+ thalassémie	2	13.33%
Drépanocytose homozygote	1	6.66%
Drépanocytose hétérozygote	6	40%
Total	15	100,0%

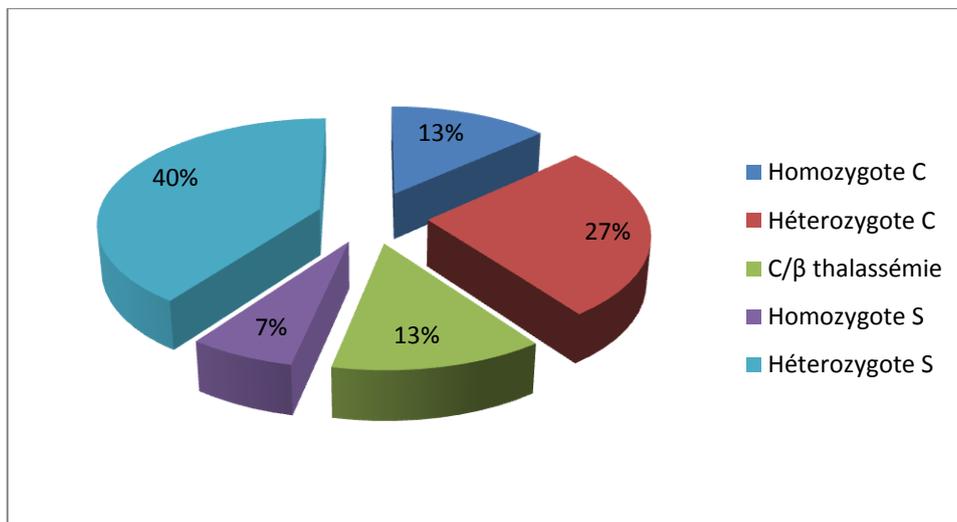


Figure 33 : Répartition de la population selon les différents types d'hémoglobinopathies

III.2 Résultats épidémiologiques

1. Répartition de la population selon l'âge

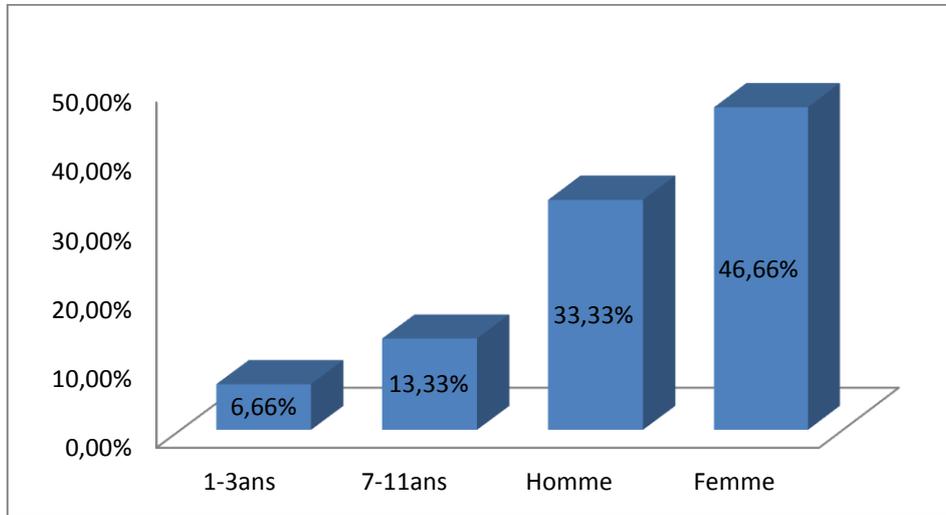


Figure 34 : Répartition de la population en fonction d'âge

Le moyen âge dans notre série est de 33.76 ans, avec des extrêmes de 2ans à 69 ans.

Pour les 15 patients qui ont été recensés au cours de cette étude, nous comptons 6.66% enfant (de 1-3ans), 13.33% enfant (de 7-13ans), 33.33% homme et 46.66% des femmes.

2. Répartition de la population selon le sexe

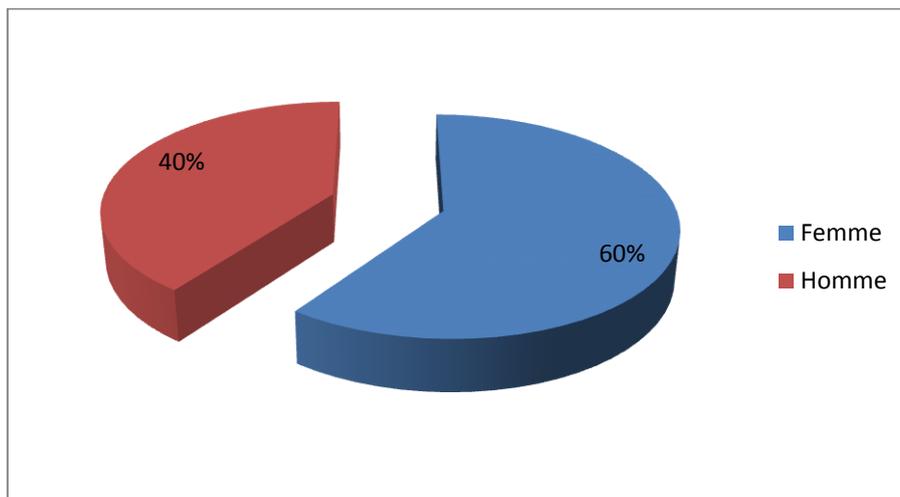


Figure 35 : Répartition de la population selon le sexe

Les 15 cas d'hémoglobinopathies sont répartis comme suite :

40 % Homme et 60 % Femmes

Nous notons alors une prédominance féminine, avec un sex-ratio de 0.66.

II.2.3 Répartition de la population par région

On a pu savoir les régions d'habitat de 9cas, qui étaient originaires de Tlemcen et Honaine, et Ouled-Mmimoune ils étaient répartis comme suite :

Tableau 11 : Répartition de la population par région

Région	Nombre	Pourcentage
Tlemcen	6	66.67%
Honaine	2	22.22%
Ouled-Mmimoune	1	11.11%
Total	9	100%

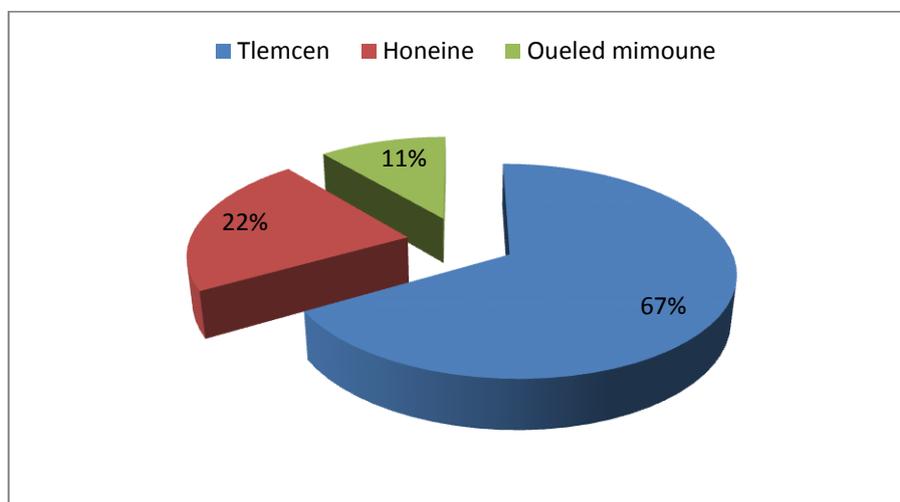


Figure 36 : Répartition de la population selon le sexe

4Notion de la consanguinité :

La recherche de la notion de consanguinité chez les familles étudiées a révélé l'absence de celle-ci chez la totalité des sujets étudiés.

III.3 Répartition selon les données biologiques :

III.1 Les hémoglobinoses homozygotes

1.1 La drépanocytose : Parmi les sujets drépanocytaires on a un seule cas homozygote :

Tableau 12 : Tableau récapitulatifs des résultats biologiques au cours de la drépanocytose homozygote

Diagnostic	Sexe	Age	GR T/L	Hb g/dL	VGM fL	TGMH Pg	TR G/L	Morphologie des globules rouges	Profil Electrophorétique	Ferritine
S/S	F	15ans	3.19	9	85	28.1	74	Anisocytose poikilocytose , présence de cellules cibles et drépanocytes	Bande intense migrant en position S	2

1.2 Hémoglobinoase C homozygotes : Nous comptons que sur les 8 patient on a 2cas homozygote

Tableau 13 : Tableau récapitulatifs des résultats biologiques au cours de l'hémoglobinoase C homozygote

Diagnostic	Sexe	Age	GR T/L	Hb g/dL	VGM fL	TGMH Pg	TR G/L	Morphologie des globules rouges	Electrophorèse	A2 %	Ferritine
C/C	F	34ans	4.46	12.7	93	28.5	110	Présence de cellule cible	Bande intense migrant en position A2		
C/C	M	21ans						Anisocytose à tendance microcytaire présences de cellule cible	Bande intense migrant en position A2	99	78.11

III.2 Les hémoglobinoses hétérozygotes

2.1 L'hémoglobinoase C:

Dans les cas d'hémoglobinoase C hétérozygotes on trouve les résultats suivants :

Tableau 14 : Tableau récapitulatifs des résultats biologiques au cours de l'hémoglobinoase C hétérozygote

Diagnostic	Sexe	Age	GR T/L	Hb g/dL	VGM fL	TGMH Pg	TR G/L	Morphologies des globules rouges	Profil électrophorétique	A2 %	Ferretine Ng/ml
A/C	F	69ans	5.02	15	70.4	26.6	15.1	Anisocytose Normochromie	Bande intense migrant en position A2	34.36	
C/β+ thal	M	49ans	5.89	13.6	68.1	26.9	109.5	Microcytaose Nomochromie Présence de cellule cible	Bande intense migrant en position A2	59.11	78.11
A/C	F	60ans	4.8	14.8	76.5	27.6		Normocytose Nomochromie	Bande intense migrant en position A2	33.30	
C/β+ thal	F	44ans	6.2	12.4	66.7	19.9	64	Microcytose Hypochromie Présence de cellules cibles	Bande intense migrant en position A2	50.86	110.81
A/C	M	31ans	5.3	14	69.5	22.5	112.9		Bande intense migrant en position A2	34,51	
A/C	F	40ans	6.18	11.7	70.3	21.2	54.6	Anistocyte Normochromie Présence, des,hématies cyble	Bande intense migrant en position A2	39.8	

1-Répartition des résultats selon le taux d'hémoglobine

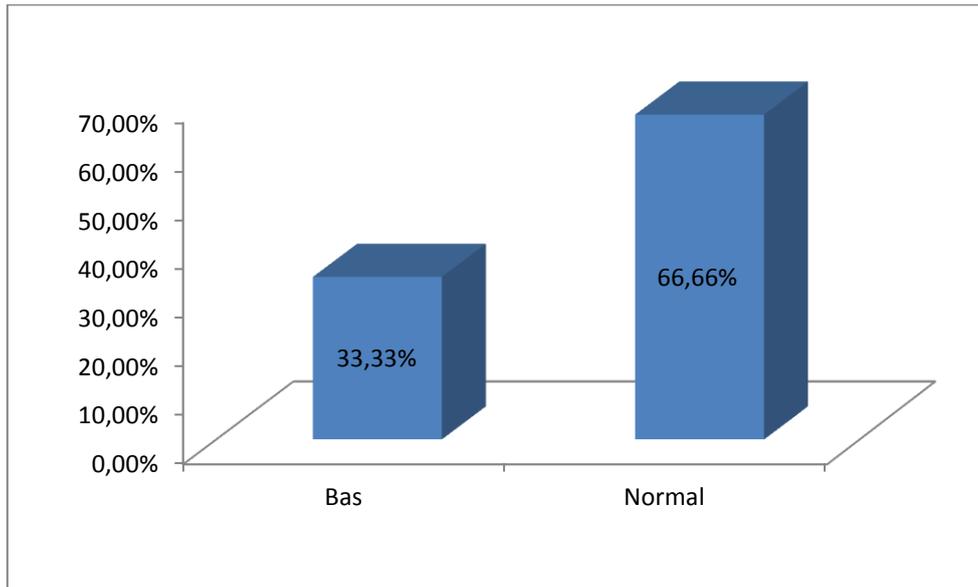


Figure 37 : Répartition du taux d'hémoglobine

Tableau 15 : Normalités du taux d'hémoglobine

	Enfant de 7à 10ans	Homme	Femme
Hb (g/dl)	12-14.5	13-17	11.5-15

Le taux moyen de l'hémoglobine est 13.58 g/dl, avec des limites entre 11.7 g/dl à 15g/dl.

Pour les patients atteints d'une hémoglobinose C hétérozygote, 66.66% sont dans les normes, alors que les 33.33% qui restent sont inférieurs aux normes.

2-Répartition Selon le nombre des globules rouges :

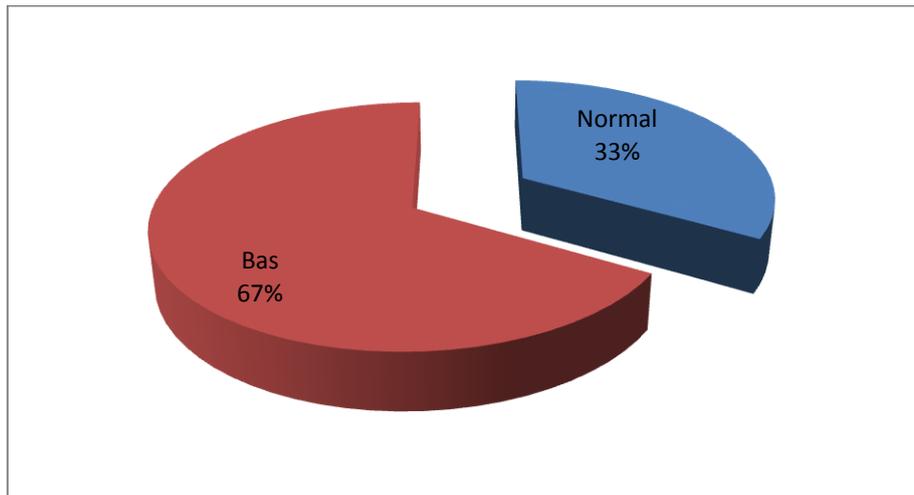


Figure 38 : Répartition selon nombre des globules rouge

Tableau 16 : Normalité des GR

	Enfant de 7à 10ans	Homme	Femme
GR (T/L)	4-5.4	4.5-5.5	4-5

Le taux moyen du nombre des globules rouges est 5.56T/L, avec des extrêmes de 4.8T/L à 6.2T/L.

D'après les résultats de l'hémogramme nous constatons que 33% des patients avaient un taux de GR normal, et les 67% avaient un taux de GR inférieur aux normes.

3- Répartitions des résultats selon le volume globulaire moyen

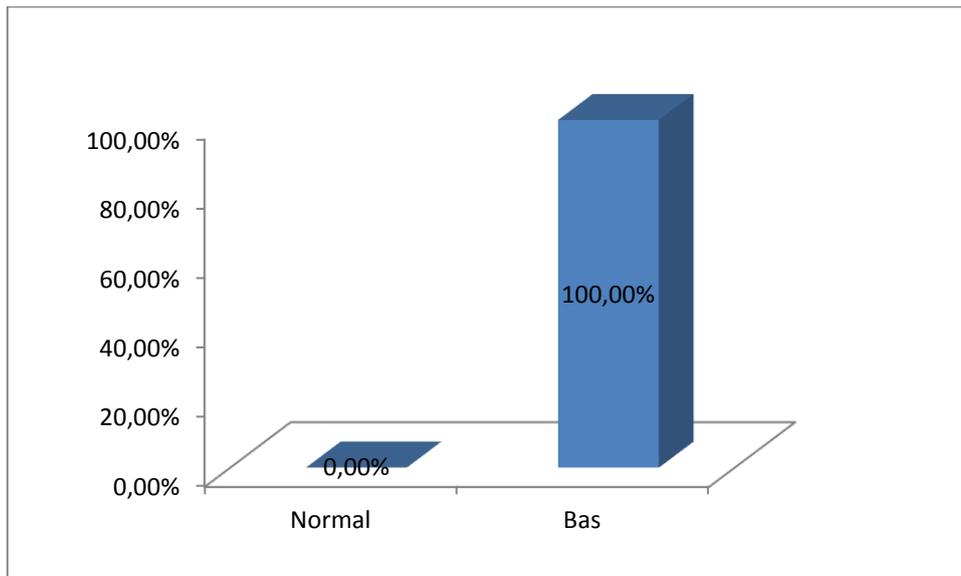


Figure 39 : Répartition selon le VGM

Tableau 17 : Normalités du VGM en fonction de l'âge et du sexe

	Enfant de 7à 10ans	Homme	Femme
VGM (fl)	77-91	82-98	82-98

Le taux moyen du volume globulaire moyen est 70.25fl, avec des extrêmes de 66.7fl à 76.5fl.

D'après l'hémogramme nous constatons que tous les patients avaient un VGM bas.

4-Répartition des résultats selon la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TGMH) :

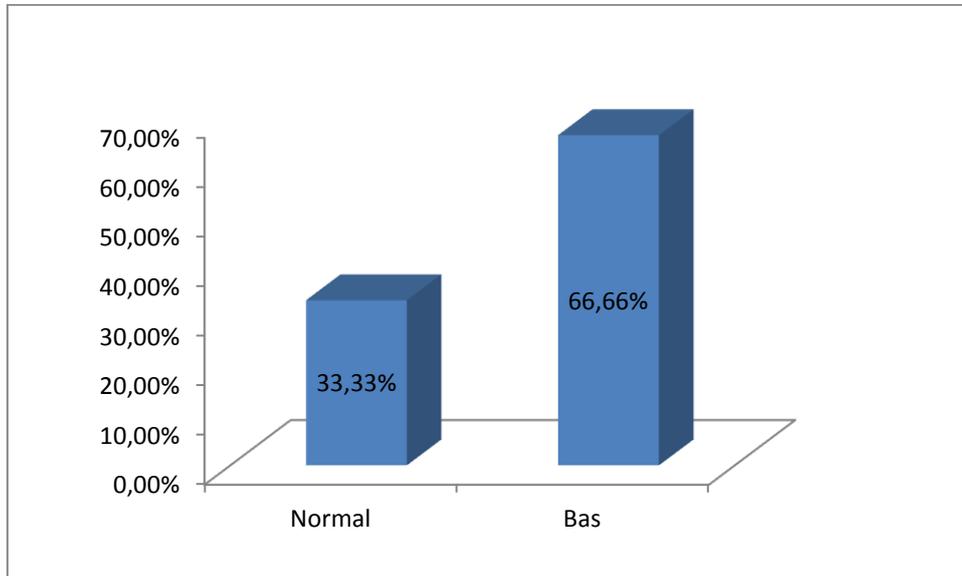


Figure 40 : Répartition de la population selon TGMH

Tableau 18 : Normalités du TGMH en fonction de l'âge et du sexe

	Enfant de 7à 10ans	Homme	Femme
TGMH (pg)	24-27	27-32	27-32

Le taux moyen de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine est de 24.11pg, avec des extrêmes de 19.9pg à 27.6pg.

D'après les résultats de l'hémogramme nous comptons sur les 6 patient 66.66% avaient une TGMH inférieure aux normes, et les 33.33% qui restent sont dans les normes.

Nous constatons que la majorité des patients avait un e TGMH base qui se traduit par une hypochromie.

5-Résultats du profil électrophorétique de l'hémoglobine et du dosage de l'Hb A2 par chromatographie échangeuse d'ions

Dans notre série, l'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin sur acétate de cellulose révèle la présence d'une bande moyennement importante migrant en position A2 et une bande importante migrant en position A

Le taux moyen de l'hémoglobine A2 est de 42.42 % avec des extrêmes allant de 33.30 à 59.11%.

3.3 La drépanocytose:

Dans le cas de la drépanocytose on trouve les résultats suivants :

Tableau 19 : Récapitulatif des résultats biologiques au cours de la drépanocytose

Diagnostic	Sexe	Age	GR T/L	Hb g/dL	VGM fL	TGMH Pg	TR G/L	Morphologie des globules rouges	Electrophorèse	A2 %
1	M	52ans	5.35	15.4	89	28.9	27	Microcytose Poikilocytose , presencce de cellule cible drépanocytaire, polypochromie	Bande moyennement intense migrant en position S et une bande moyenne en position A	3.71
3	M	11ans	4.8	12.3	71	26.9	31	Anisocytose forme normale	Bande moyennement intense migrant en position S et une bande moyenne en position A	
4	F	2.5ans	3.93	8.6	66	21.8	55	Anisocytose forme normale Hypochromie	Bande moyennement intense migrant en position S et une bande moyenne en position A position S	
5	M	19ans	6.24	13.9	79	31.1	34.8	Poikilocytose , presencce de cellule cible drépanocytaire, stomatocyte.	Bande moyennement intense migrant en position S et une bande moyenne en position A	

1. Répartition des résultats selon le taux d'hémoglobine

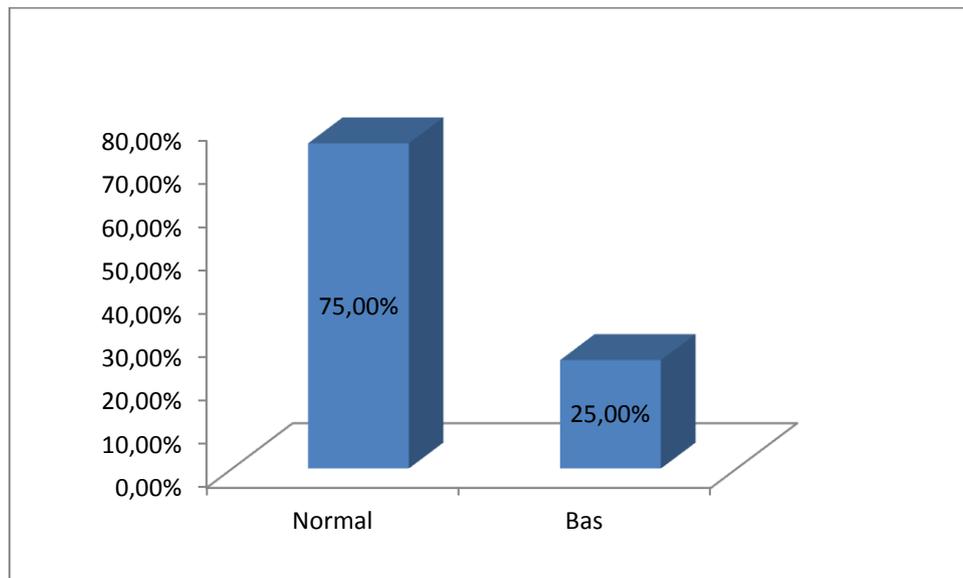


Figure 41 : Répartition du taux d'hémoglobine

Le taux moyen de l'hémoglobine est 12.55 g/dl, avec des limites entre 8.6 g/dl à 15.4g/dl.

Pour les patients atteints d'une hémoglobinose S, nous constatons que 75% avaient un taux d'hémoglobine normale, et 25% ont un taux inférieur aux normes.

2. Répartition Selon le nombre des globules rouges

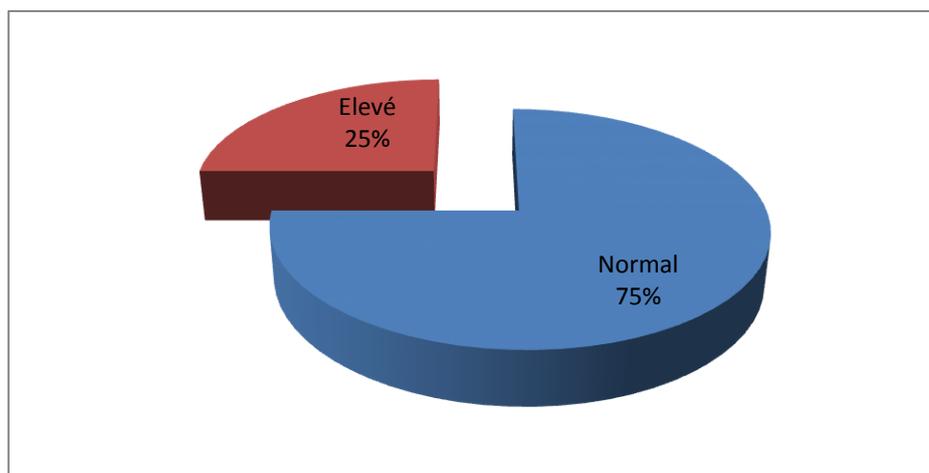


Figure 42 : Répartition du nombre de GR

Le taux moyen du nombre des globules rouges est 5.08T/L, avec des extrêmes de 3.93T/L à 6.24T/L

D'après l'hémogramme nous constatons que 75% des patients avaient un taux de GR normal, et 25% avaient un taux supérieur aux normes.

3. Répartition des résultats selon le volume globulaire moyen

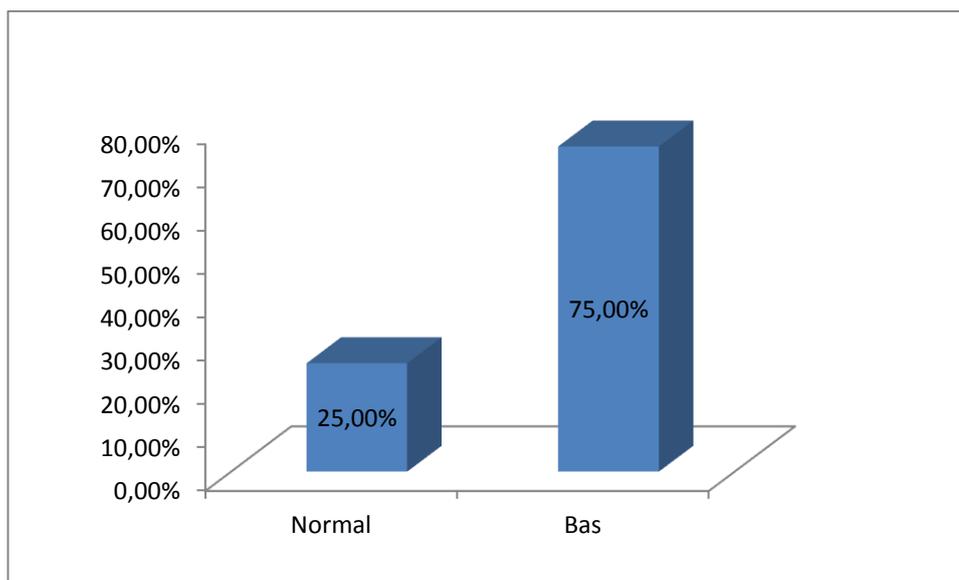


Figure 43 : Répartition selon le volume globulaire moyen

Le taux moyen du volume globulaire moyen est 76.25fl, avec des extrêmes de 66 fl à 89fl.

D'après l'hémogramme nous constatons que 1 patient avait un VGM normal et 3 inférieur aux normes.

4. Répartition des résultats selon la TGMH

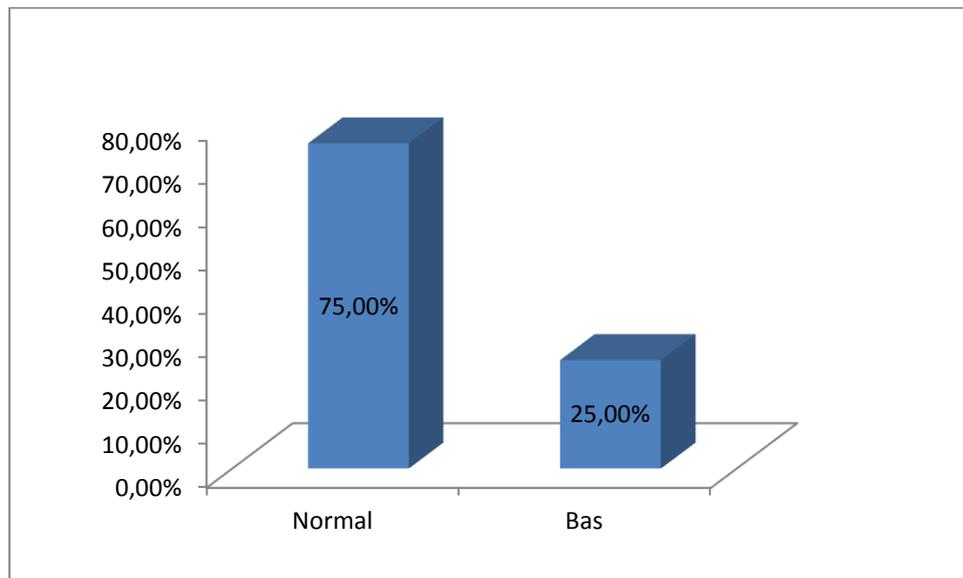


Figure 44 : Répartition selon la TGMH

Le taux moyen de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine est 27.17pg, avec des extrêmes de 21.8pg à 31.1pg.

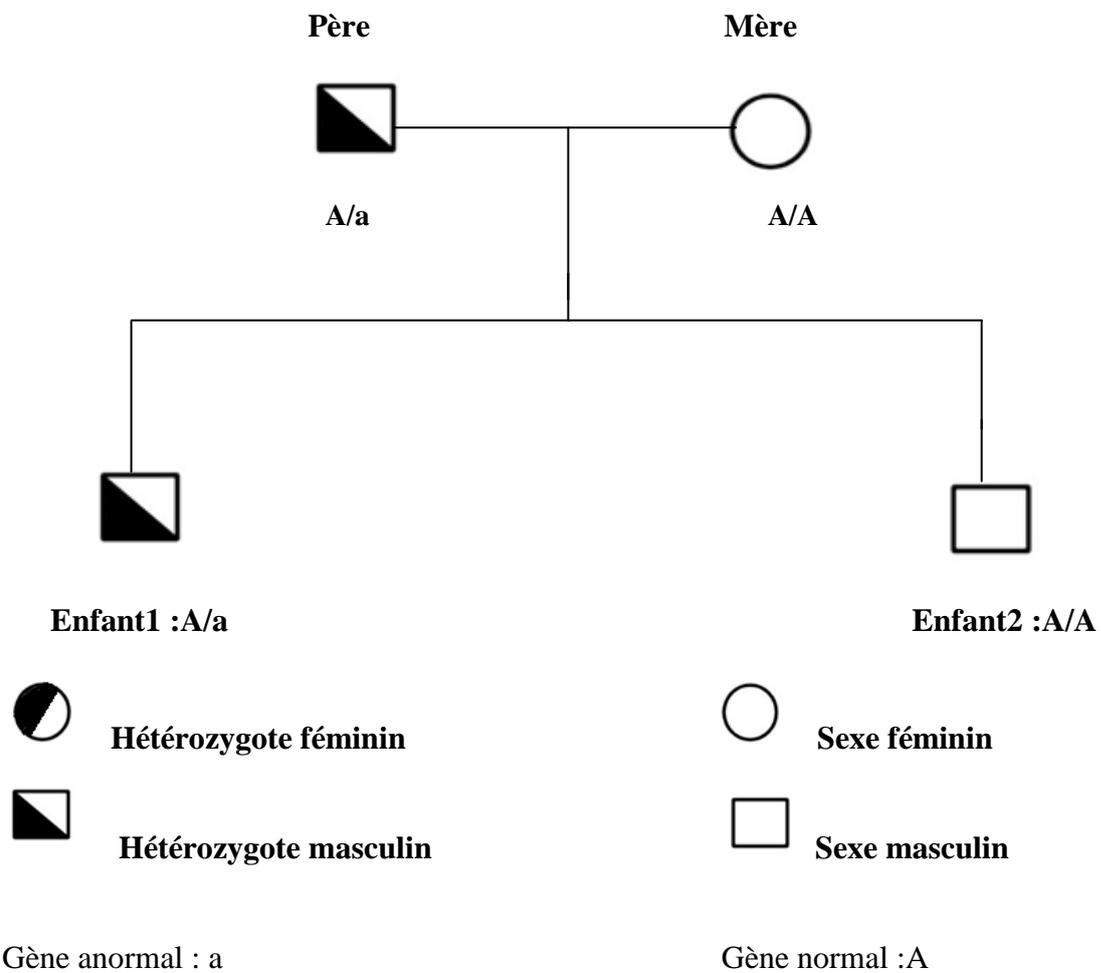
Nous comptons que 75% avaient une TGMH normale, alors que pour les 25% qui restent inférieure aux normes.

III.4 Les 2 enquêtes familiales

La première famille

La première famille, la mère était normale et le père avait un trait drépanocytaire (A/S).

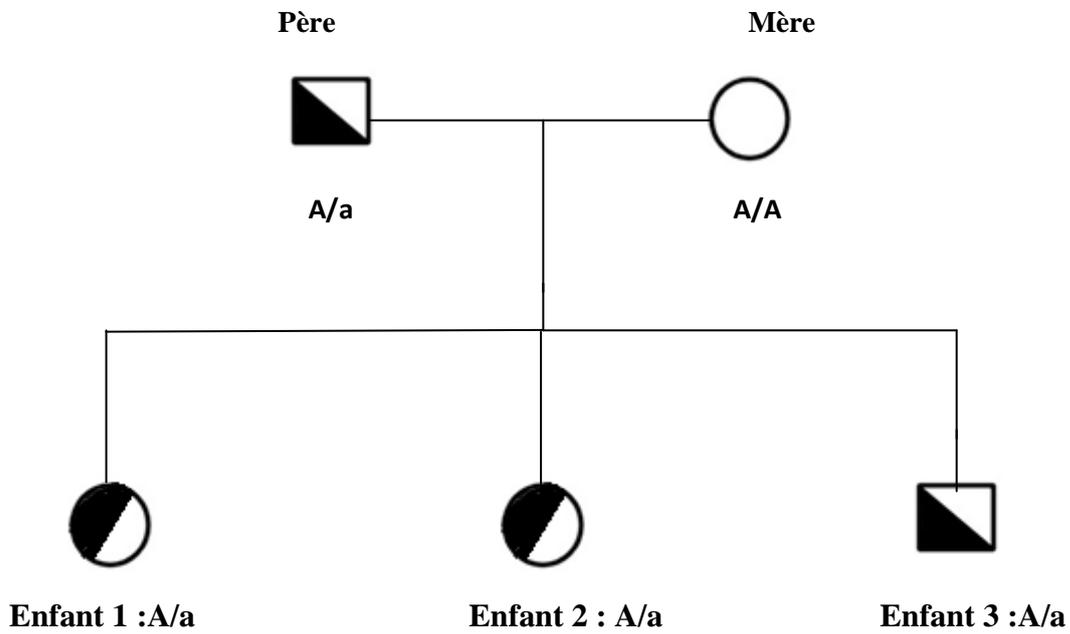
1 des enfants était normal alors que le deuxième est drépanocytaire hétérozygote



La deuxième famille

La mère était normal et le père avait un drépanocytose hétérozygote .

Les 3 enfants de cette famille étaient un S hétérozygotes.



Hétérozygote féminin



Sexe féminin



Hétérozygote masculin



Sexe masculin

Gène anormal : a

Gène normal : A

III. Discussion

1-Résultats épidémiologiques

1-Résultats épidémiologiques

Selon les données de l'organisation mondiale de la santé, 7 % de la population mondiale est porteuse d'un gène anormal de globine et dans certaines régions du monde jusqu'à 1 % des nouveau-nés sont atteints d'une pathologie de l'hémoglobine [1].

Notre étude confirme l'existence de différents types d'hémoglobinoses dans la région de Tlemcen, quinze cas ont été recensés, parmi eux 8 sujets porteurs d'hémoglobinoce C, 4 sont hétérozygotes A/C, 2 sont homozygotes C/C et 2 autres sont porteurs d'une double hétérozygotie C/ β +thalassémie probable. Sept cas sont porteurs du trait drépanocytaire 1 seule cas homozygote et 6 étaient hétérozygotes.

Tous ces syndromes coexistent souvent dans les mêmes populations et les formes combinées sont loin d'être rares. Leurs diffusions, posent des problèmes de santé publique.

L'hémoglobinoce C, est présente chez les Africains mais aussi chez les Noirs américains et les Maghrébins.

L'hémoglobinoce S ou drépanocytose est de loin l'anomalie de l'hémoglobine la plus fréquemment observée. Elle atteint surtout les populations originaires des régions suivantes : Afrique noire, Madagascar, Réunion, Antilles, Amérique centrale, bassin méditerranéen, Proche-Orient[39].

Selon nos résultats, l'hémoglobinoce C occupe la première place parmi les hémoglobinoses avec un taux de 53.33 %, suivie par l'hémoglobinoce S hétérozygote et homozygote avec un pourcentage de 46.67%. Ceci est dû essentiellement au nombre important de sujets dépistés à partir d'anomalies de l'hémoogramme présentant une pseudopolyglobulie microcytaire.

Selon une étude réalisée en 1990-1991 dans la région de Tlemcen. Elle a révélé une nette prédominance de l'hémoglobinoce C suivie par la drépanocytose parmi les hémoglobinoses (soit 11 HbC pour 4 Hb S) [31].

Par contre l'étude épidémiologique réalisée à Batna a révélé que les hémoglobinoses identifiées dans cette région sont classées par fréquence décroissante comme suite : Les drépanocytoses (homozygotes et hétérozygotes) puis l'hémoglobinoase C et l'hétérozygote composite S/C [32].

2-Répartition selon le sexe

Nous trouvons dans notre série une prédominance féminine avec un sex-ratio de 0.66. La répartition par sexe des deux pathologies montre une nette prédominance féminine

Notre résultat rejoint l'étude réalisée par Zatloua dans l'ouest algérien entre 1992 et 2005[34] qui retrouve une prédominance féminine avec un sex-ratio 0.15.

Par ailleurs, plusieurs études retrouvent des résultats contradictoires, A titre d'exemple l'étude nationale faite à Batna en 2010 [32], et au Mali entre 2004 et 2007 [33] ou les sex-ratios respectives étaient 1,08 et 1,5.

3-Répartition selon l'âge

L'âge moyen de notre population est de 33.76 ans avec des extrêmes allant de 2 à 69 ans. La répartition de nos sujets selon les classes d'âge montre une nette prédominance des adultes par rapport aux enfants , le fait qu'il s'agit dans la majorité des cas de formes infra cliniques diagnostiquées à un âge adulte.

Nos résultats concernant l'âge se rapprochent d'une étude réalisée à Blida en 2016 [34] et qui a montré que la plupart des patients étaient âgés de plus de 10 ans, avec une proportion de 71% alors que les patients âgés de moins de 5 ans représentent une proportion de 29%.

4-Répartition de la population par région

D'après nos résultats, 6 patients sont originaires de la ville de Tlemcen, 2 de Honaine et 1 de Ouled-Mimoune. Ces résultats ne peuvent refléter la réelle répartition des hémoglobinoses dans la région de Tlemcen vu le nombre restreint de patients recrutés et chez qui le questionnaire a pu être réalisé.

5- Fréquence des différentes hémoglobinoses

5-1-L'hémoglobinoase C

Sur les 15 échantillons explorés, nous avons recensé 8 sujets atteints d'hémoglobinoase C : Quatre sujets sont hétérozygotes ce qui correspond à 26.66% des cas, 2 cas de formes composites C/ β + thalassémie, ce qui représente 13.33% de l'ensemble des hémoglobinoses recensées et 2 cas de formes homozygotes correspondant à 13.13% .

Plusieurs études ont confirmé la prédominance de la forme hétérozygote de l'hémoglobinoase C. A titre d'exemple lors d'une étude faite au CHU Mustapha Bacha en 2009 [35], les prévalences rapportées concernant le génotype des sujets atteints d'hémoglobinoase C sont les suivants : 95 % de sujets sont des hétérozygotes et 5 % sont des homozygotes.

5-2-La drépanocytose

La majorité de nos sujets porteurs de drépanocytose sont des hétérozygotes. Nous avons recensé 7 patients atteints de cette pathologie : Six cas hétérozygotes correspondant à 40% des cas, et 1 seule cas homozygote a été recensé.

Des études ont confirmé la prédominance de la forme hétérozygote de la drépanocytose C'est le cas en Île-de-France où les hémoglobinopathies identifiées sont, par ordre de fréquence décroissante, les drépanocytoses, les hémoglobinoses C, puis E. À titre d'exemple, dans une expérience, sur 1990 électrophorèses de l'hémoglobine réalisées en 1996, 106 cas d'hémoglobines anormales ont été diagnostiqués, répartis de la manière suivante : 80 sujets AS (76 %), un sujet SS [39]

6- La notion de consanguinité

La recherche de la notion de consanguinité chez les familles étudiées a révélé l'absence de celle-ci chez la totalité des sujets étudiés, ceci est dû au nombre restreint de cas étudiés, la rareté des formes homozygotes dépistés dans notre étude et au changement du mode de vie du fait des mouvements de population et la diminution des mariages consanguins.

7. Répartition selon les résultats biologiques

7.1. Les formes homozygotes

Les formes homozygotes d'hémoglobine C ont montré un hémogramme normal avec présence de cellules cibles au frottis sanguin.

Les formes homozygotes de la drépanocytose ont montré une anémie normochrome normocytaire et présence de cellules en faucilles au frottis sanguin.

Ce qui concorde avec les données théoriques.

Le diagnostic a été porté par l'électrophorèse à pH alcalin où il a montré une bande intense migrant en position S pour le cas de la drépanocytose homozygote et une bande intense migrant en position A2 pour l'hémoglobine C homozygote et absence de la bande A ce qui confirme l'homozygotie des deux hémoglobines.

7.2 Les formes hétérozygotes

Nous constatons que tous les patients porteurs d'une hémoglobine C hétérozygote présentaient une pseudopolyglobulie microcytaire, et 80 % parmi eux avaient une TGMH < 27 pg, avec absence de syndrome anémique.

Tous les résultats de l'hémogramme des cas drépanocytaires hétérozygotes étaient normaux, parmi eux un cas qui avait une anémie hypochromie microcytaire ceci est dû à une autre pathologie immunitaire associée.

L'étude du frottis de la majorité des patients porteurs de l'hémoglobine C montre des anomalies érythrocytaires comme l'anisocytose à prédominance microcytaire et une hypochromie. Pour le cas de la drépanocytose, le frottis est souvent normal.

Le profil électrophorétique a montré que la totalité des patients avaient une bande intense de l'hémoglobine A et une autre bande migrant en position A2 ou S d'intensité variable, faible à intense selon les pathologies citées ci-dessous.

Le dosage de l'hémoglobine A2 par chromatographie liquide sur colonne échangeuse d'ions (CL-EA) a montré un taux compris entre 35 et 40% chez les traits hémoglobines C et une Hb A2 plus importante et supérieur à l'Hb A (>50%) chez les composites C/β+ thalassémie.

Pour les deux sujets présentant une double hétérozygotie C/β+ thalassémie, le diagnostic a été porté devant un taux d'hémoglobine C supérieur à 45% excluant une hémoglobine C hétérozygote et inférieur à 90% avec présence de l'hémoglobine A éliminant ainsi une hémoglobine C homozygote. Devant ce tableau d'une Hb C supérieur à

l'Hb A, le diagnostic le plus probable est celui d'une double hétérozygotie C/β+ thalassémie, si on prend en considération les hémoglobinopathies les plus fréquentes dans notre région.

Les deux cas observés concernés par cette pathologie étaient asymptomatiques avec absence d'anémie, alors que dans la littérature les patients C/β+ thalassémie présentent une anémie modérée microcytaire. Néanmoins les Hb C/β thalassémie sont asymptomatiques chez les africains, mais l'anémie est modérée à sévère pour les patients du pourtour méditerranéen [36] ceci pourrait expliquer l'absence de l'anémie chez ces patients.

D'autre part le manque de moyens d'investigation nous empêche d'étayer le diagnostic avec certitude, à savoir l'électrophorèse à pH acide pour séparer les différentes fractions migrant en position A2 : A2, C, E et O arabe et S : Hb D punjub, Hb G, Hb Lepore ou encore l'isoélectrofocalisation et l'étude moléculaire.

La ferritinémie n'a été effectuée que chez une minorité, soit 5% de notre série, en raison de l'indisponibilité du test à notre niveau et en pratique courante. Un taux normal permet d'écarter une carence martiale surajoutée responsable de la microcytose aussi de la diminution de l'Hb A2.

L'électrophorèse capillaire: est la technique la plus récente. Contrairement aux électrophorèses classiques, Elle sépare les Hb selon deux critères, non seulement la charge électrique mais également selon leur rapport charge/masse. Elle reste coûteuse, et son intérêt réside dans le fait qu'elle est reproductible et quantitative. Malheureusement aucun de nos patients n'a bénéficié de cet examen.

Il faut rappeler que l'interprétation du taux d'Hb A2 ou S peut comporter plusieurs pièges et qu'il est capital de le garder à l'esprit pour éviter de poser un diagnostic erroné [37].

CONCLUSION

Conclusion

Les hémoglobinoses sont des pathologies dont l'expression clinique est variable, allant de formes asymptomatiques aux formes sévères.

Ces derniers mettent en jeu le pronostic vital et pose un problème de santé publique à prendre en considération. Ce travail porte sur une étude effectuée sur 15 échantillons suspects d'hémoglobinoses provenant de la population de la région de Tlemcen.

Nous avons constaté que parmi les hémoglobinoses recensées, la drépanocytose hétérozygote constituent l'anomalie la plus fréquente 40 %, suivie de l'hémoglobinoze C hétérozygote 26.66%, les formes composite C/ β + thalassémie et C homozygotes évalués à un taux de 13.33% et enfin la formes homozygote de la drépanocytose avec une fréquence de 6.66% .

Toutes ces anomalies coexistent dans la même population et les formes combinées sont loin d'être rares.

L'intérêt de l'étude de ces pathologies réside dans le dépistage précoce des porteurs des hémoglobinoses dans le but d'optimiser la prise en charge des personnes atteintes des formes majeures et la prévention de la survenue des formes homozygotes graves.

Donc la mise en place d'un programme de dépistage, associé au conseil génétique, s'avère une obligation absolue, qui exige une implication à la fois des professionnels de la santé et des pouvoirs publiques.

Mais aussi la nécessité d'introduction de techniques très performantes tels que la biologie moléculaire pour poser le diagnostic de certitudes et qui va contribuer pour une bonne prise en charge thérapeutique.

Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [23] **ACCES (Actualisation Continue des Connaissances des Enseignants en Sciences)**
<http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/dyna/adn-du-genotype-au-phenotype/le-phenotype-drepanocytaire/comprendre/repartition-geographique-de-la-drepanocytose-et-de-la-malaria-paludisme/>
- [17] **A.ORSINI, H.PERRIMOND, L.VOVAN, M.MATTEI**, 1982.Hématologie pédiatrique. ED. Flammarion, Paris :442-530.
- [12] **BACHIR.D**, Aspects cliniques des hémoglobinopathies, BIO-RAD 2008.
- [24] **BAIN BJ**, Haemoglobinopathy diagnosis. – 2nd edition. Oxford : Blackwell Publishing, 2006 :313- 409 .
- [22]**BARDAKDJIAN J, WAJCMAN H**. Epidemiology of sickle cell anemia. Rev Prat 2004 :54.
- [40] **BENKERROU M, DENAMUR E, ELION J**. Information génétique et diagnostic prénatal dans la drépanocytose. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, editors. La drépanocytose. Paris: John Libbey; 2003 : 293.
- [32] **BELHADI Kamilia**, Etude des hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna, magister en Biologie, UNIVERSITE- EL HADJ LAKHDER – BATNA, 2010-2011.
- [23] **CARTRON JP, ELION J**. Erythroid adhesion molecules in sickle cell disease: effect of hydroxyurea. Transfus Clin Biol 2008;15:39
- [27] **CARRELL R.W., KAY R**. A simple method for the detection of unstable haemoglobins. British Journal of Haematology 1972, 23(5): p. 615-9.
- [16] **CHUI. DH, FUCHAROEN.S, CHAN.V**, Hemoglobin H disease, not necessarily a benign disorder blood, 2003, 101(3) :791.
- [39] Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype Volume 55, numéro 2, Mars - Avril 1997.
- [31] **DR.BENMANSOUR**, dépistage et étude de familles porteuses d'hémoglobinopathies dans la région de Tlemcen : 1990-1991.
- [33] **Dr Mody Coulibaly**, étude des hémoglobinopathies au sein du service de pédiatrie de CHU- GT de Bamako, Mali : 2004 et 2007.
- [34] **DR Zatla**, Les béta-thalassémies dans l'ouest algérien entre 1992 et 2005, service d'hématologie Oran.
- [36] **DR BEN MAAMAR**, Etude des hémoglobinopathies à CHU Mustapha Bacha d'Alger, 2009.

- [22] **EATONWA, HOFRICHTER J.** Hemoglobin S gelation and sickle cell disease.
- [11] **ELEFTHEROIN A.** About thalassaemia. 2007 : 38.
- [28] **EMMEL V.E.** A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with elongated and sickle-shaped red blood corpuscles. Archives of Internal Medicine , 20:586-598.
Blood 1987;70:1245-66
- [7] **GULBIS B, COTTON F, VERTONGEN F,** Hémoglobines anormales rares, EMC-Hématologie, 2004/(4) :106.
- [43] **GERMAIN S, BRAHIMI L, ROHRLICH P, BENKERROU M, GEROTA I, BALLERINI P.** La transfusion dans la drépanocytose. Pathol Biol 1999;47:65-72.
- [25] **GODART C, RIOU J.** Place de l'HPLC dans le diagnostic des hémoglobinopathies, BIO-RAD, 2007.
- [13] **HARTEVELD CL, HIGGER DR,** Alfa-thalassaemia, Orphanet J Rare dis 2010, 5 :13.
- [42] **HARTWELL S.K, SRISAWANG B, KONGTAWELERT P, CHRISTIAN G.D, GRUDPAN K.** Review on screening and analysis techniques for hemoglobin variants and thalassemia. Talanta 2005, 65(5):1149-61
- [44] **HAGAR W, VICHINSKY E.** Advances in clinical research in sickle cell disease. Br J Haematol 2008 :141.
- [29] **ITANO H.A.** Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. Archives of Biochemistry and Biophysics, 47(1):148-59.
- [10] **JOLY P., PONDARRE C., BADENS C.** Les bêta-thalassémies: aspects moléculaires, épidémiologiques, diagnostiques et cliniques. In Annales de Biologie Clinique. 2014.
- [15] **KANAVIKIS.E, IKARAGIORGA.M, VRETTO.C, TRAEGER-SYNODINOS.J,** Phenotypic and molecular diversity of hemoglobin H disease : a greek experience, British Journal Of Hematology, 2000, 111(3) : 915 ;
- [6] **KAPLAN J.C., DELPECH M.** Le modèle des maladies de l'hémoglobine. Biologie moléculaire et médecine 3ème édition (2007) :379 – 393.
- [26] **Le Laboratoire suisse d'analyse du dopage (LAD).** L'électrophorèse capillaire.
http://www.doping.chuv.ch/lad_home/lad-prestations-laboratoire/lad-prestations-laboratoire-appareils/lad-prestations-laboratoire-appareils-ec.htm
- [8] **M.BELHANI.** Epidémiologie de la bêta-thalassémie homozygotes en Algérie, Revue Algérienne d'Hématologie, 2009,1 : 22-29.
- [5] **Michel VANBOURDOLLE, V.ANNAIX, Pr A.THUILLIER,** Biochimie Hématologie. Tome 2, 3ème édition : 785-788.
- [1] **Mise au point de la DGGE en vue du diagnostic des bêta thalassémies et**

Drépanocytose.djamaa ines

- [41] **MONTALEMBERT M, GUILLOUD-BATAILLE M, DUCROS A, GALACTEROS F, GIROT R, HERVE C, et al.** Implications of prenatal diagnosis of sickle cell disease. *Genet Couns* 1996 :15.
- [35] **Nabila HADDAD, Mohamed BRADAI,** Epidémiologie de la bêta thalassémie hétérozygote, dans le CHU de Blida: Implications, pour le dépistage de la population, 2016 :1.
- [4] **N. COUAUE, M. De MONTALEMBERT :** Hématologie, Hémoglobinopathies : Diagnostic des hémoglobinopathies, Vol.Liv N : 311, Mars 2013:6-18.
- [2] **Organisation mondiale de la santé : WorldHealthOrganization,** 2008. Management of haemoglobin disorders
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs308/fr>
- [18] **O.RITTER, V.FATTORUSSO.** *Vademecum clinique du diagnostic au traitement.* Paris, 2001 :566.
- [38] **R. DE GIROT, I. THURET, C. Pondarré.** *La thalassémie chez l'enfant.* 2013;12.
- [21] **SERJEANT GR, SERJEANT BE.** *Distribution of sickle cell disease.* Oxford: Oxford University Press; 2001. p. 16.
- [37] **The Globin Gene Server :**<http://globin.cse.psu.edu/>
- [14] **The portal for rare diseases and orphan drugs.**
[http://www.orpha.net/data/patho/pub/fr/alpha thalassaemia-FRPubSov2001](http://www.orpha.net/data/patho/pub/fr/alpha_thalassaemia-FRPubSov2001). PDF, AVRIL 2010.
- [30] **VALERIE GUERARD,** Mise en place de l'électrophorèse capillaire MINICAP® (Sebia) pour le diagnostic des hémoglobinopathies au CHU de Nancy, 2014 : 25.
- [3] **WAJCMAN H.** Hémoglobines : structure et fonction. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hématologie (2005), 13-000-R-60.
- [9] **WEATHERALL Dj.** Phénotype-génotype relationships in monogenic disease : Lessons from the thalassaemia ; *Nat revu Genet*, 2001 : 245-55.

Annexes

ANNEXES

ANNEXE 1 : Fiche de renseignements

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE TLEMCEM
SERVICE D'HEMOBIOLOGIECHEF DE SERVICE
Dr K TAOUFI Ep ALLALUNITE DE CYTOLOGIE
DR N MERAD BOUDIA
Dr F BEGHDAJ

NOM : SERVICE :

PRENOM : N° D'ENREGISTREMENT :

NE LE :/...../..... ADRESSE ET TELEPHONE :

FICHE DE RENSEIGNEMENT
EXPLORATIONS ERYTHROCYTAIRES*Prélèvement sur tube EDTA à distance des transfusions sanguines (2 mois) et de tout traitement martial (1 mois)*

CLINIQUE			BIOLOGIE	
Accidents d'hémolyse	<i>oui</i>	<i>non</i>	GR :	VGM :
Ictère	<i>oui</i>	<i>non</i>	Hb :	TCMH :
Cyanose	<i>oui</i>	<i>non</i>	Ht :	CCMH :
Splénomégalie	<i>oui</i>	<i>non</i>	GB :	PQ :
Prise-médicaments	<i>oui</i>	<i>non</i>	Réticulocytes :	TDA (Coombs) :
Préciser			Bilirubine D :	Bilirubine T :
Transfusions	<i>oui</i>	<i>non</i>	Ferritinémie :	Fer sérique :
Nombre			TIBC :	Coef Satu :
Date dernière T S			Autres :	

RENSEIGNEMENTS FAMILIAUX ET ETHNIQUES

Origine :

Consanguinité :

Antécédents personnels :

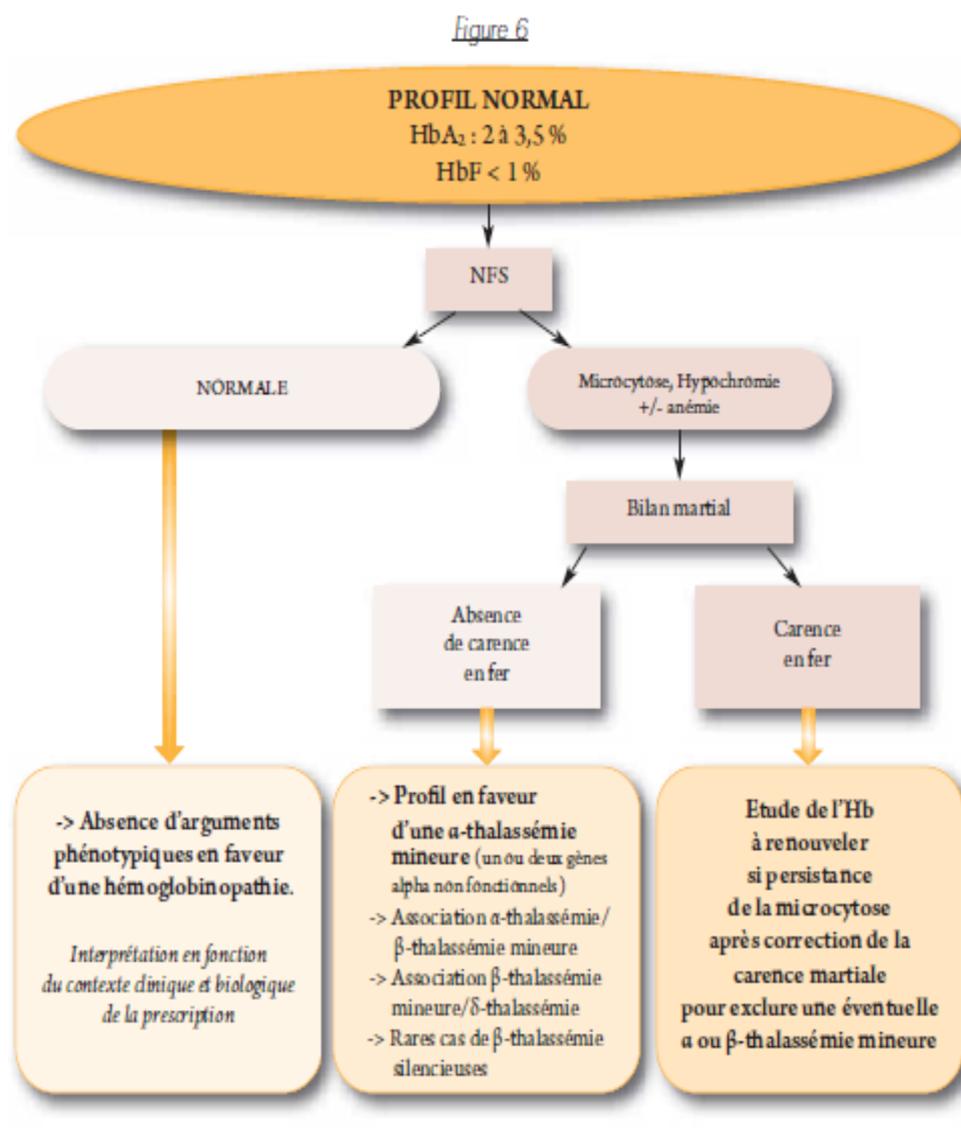
Antécédents familiaux :

Autres renseignements :

Tlemcen le/...../.....

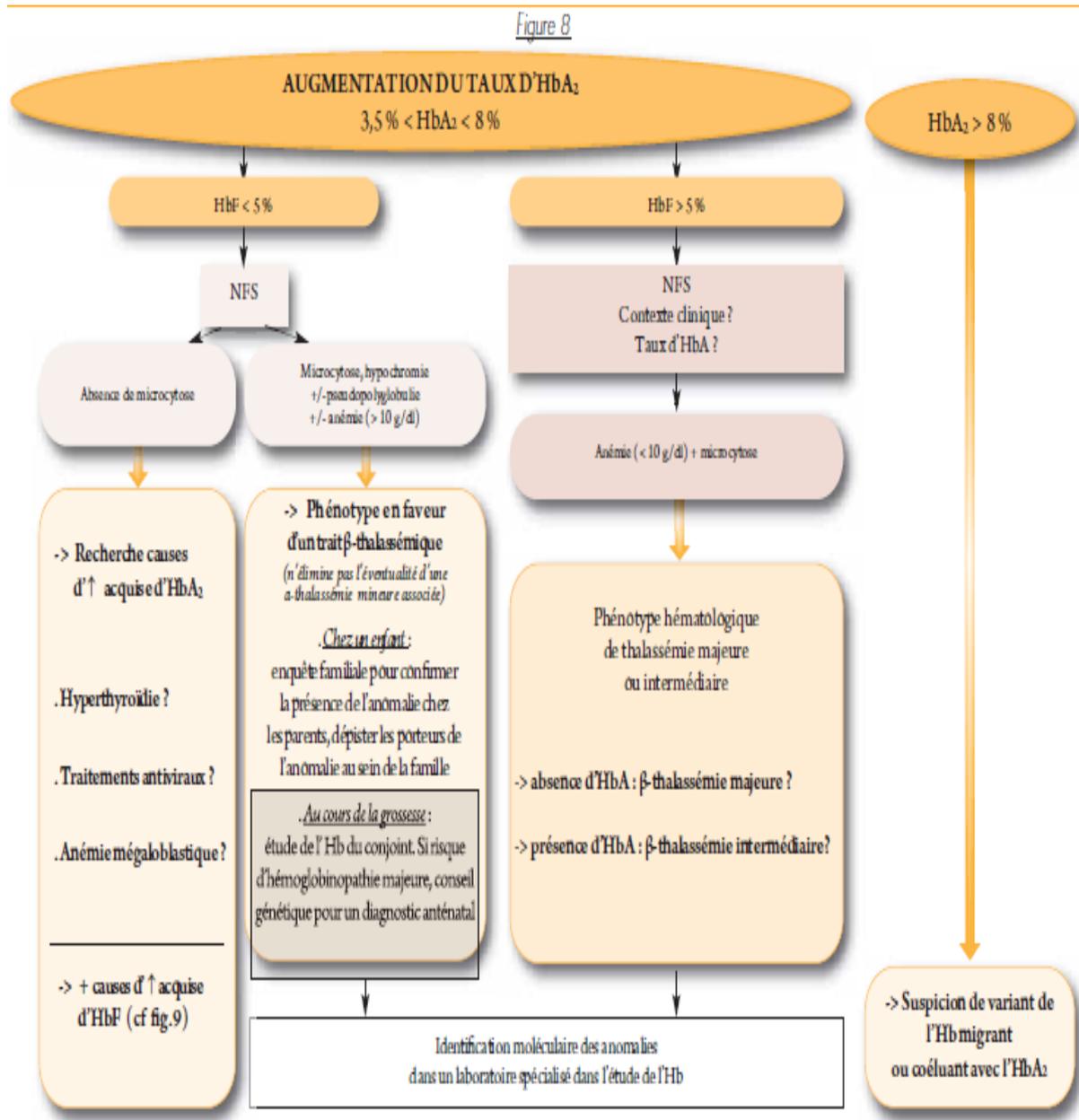
Signature.

ANNEXE 2 : Algorithmes pour l'interprétation des résultats



Stratégie proposée par la SFBC pour la recherche d'une anomalie de l'Hb

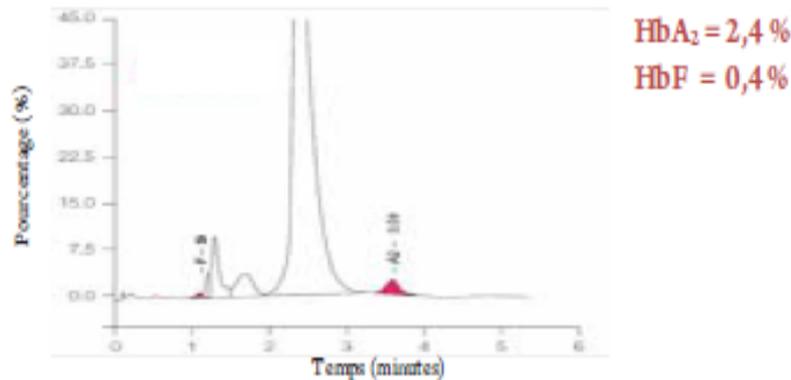
Figure 8



ANNEXE 3 : Quelques résultats de l'électrophorèse

Exemple 1 : Profil normal

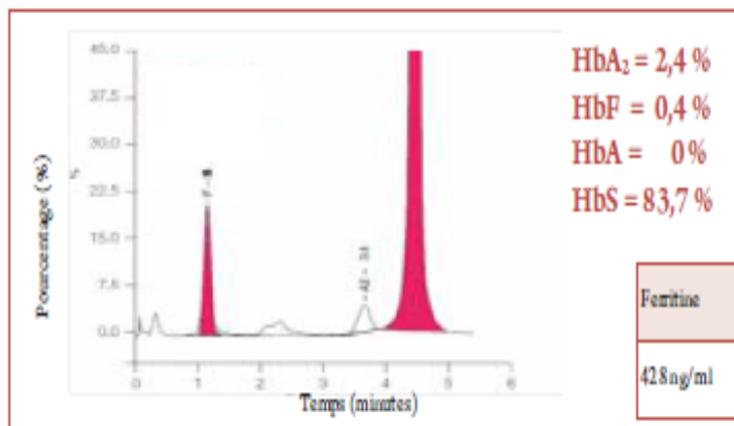
Génotype	Age	Origine	Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
Normal	15	Italie	5,33	16,5	30,9	36,9	44,7	84



1-Profil normal

Exemple 9 : Drépanocytose homozygote

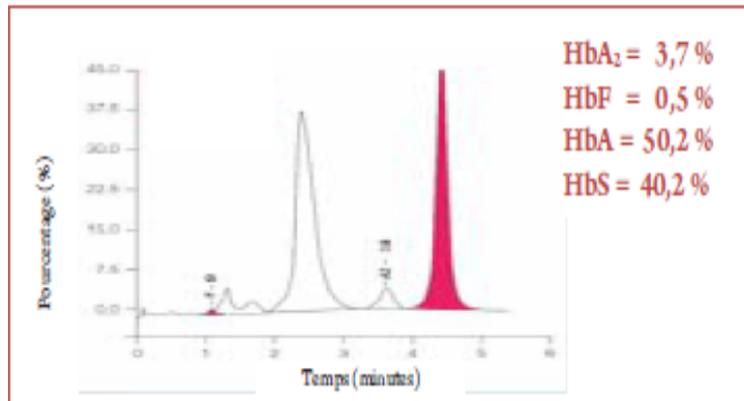
Génotype	Age	Origine	Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
Homozygote HbS [β6 (A3) Gln->Val]	11	Niger	3,91	7,9	23,3	30,6	26,0	66



2- Drépanocytose homozygote

Exemple 8 : Drépanocytose hétérozygote

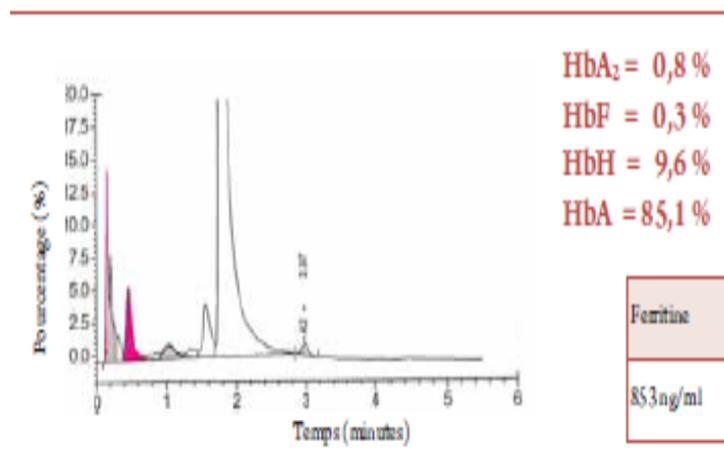
Génotype	Age	Origine	Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
Hétérozygote HbS [$\beta^6(A3)$ Glu->Val]	34	Nicaragua	4,42	13,1	29,7	33,1	39,6	89



3- Drépanocytose hétérozygote

Exemple 10 : Hémoglobinose H

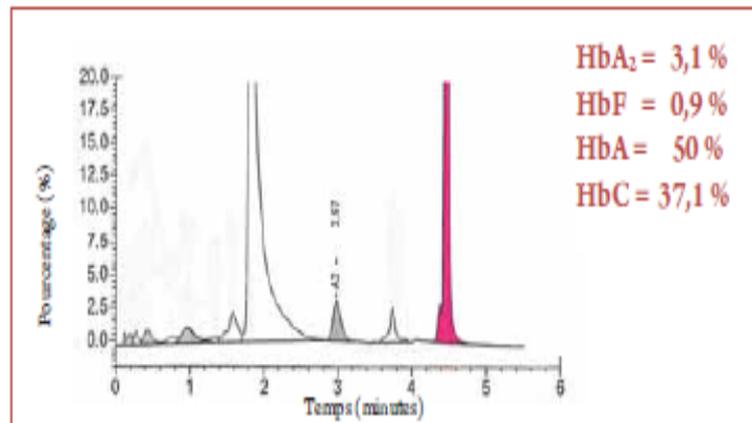
Génotype	Age	Origine	Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
[$\alpha^{2\Delta}$ / α^{42}]	24	Cambodge	6,46	11,7	18,1	31,2	37,5	58



4- Hémoglobinose H

Exemple 12 : Hémoglobinoses C hétérozygote

Génotype	Age	Origine	Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
[$\beta 6$ Glu- \rightarrow Lys]	35	Togo	4,87	14	28,7	36	39	80



9- Hémoglobinoses C hétérozygote

RESUME

Les hémoglobinoses, définies par la présence d'anomalies qualitatives des chaînes de globine, figurent parmi les maladies génétiques les plus fréquentes dans le monde.

Le but de ce travail est de déterminer la caractérisation épidémiogénétique de la population de Tlemcen par les hémoglobines, il s'agit d'une étude prospective et rétrospective, réalisée dans le service d'hémodiagnostic et banque de sang du CHU Tlemcen.

L'étude a duré 4 mois du 03/2017 au 06/2017 sur 15 sujets suspects d'hémoglobinoïse, des deux sexes, et de différents âges, provenant de différentes régions de la wilaya.

Nous comptons la présence d'hémoglobinoïse C chez 53.33% des cas, 50 % parmi eux avaient une forme hétérozygote, 25% étaient homozygotes et 25% avaient une forme composite C/β+ thalassémie).

La drépanocytose est présente chez 46.67% des cas, 14.28% parmi eux avaient une drépanocytose homozygote et 85.72% portaient le trait drépanocytaire.

Le diagnostic des hémoglobinoses nécessite impérativement la confrontation de l'étude de l'hémoglobine proprement dite, des données cytologiques et des données cliniques et de techniques très performantes pour une interprétation correcte des résultats.

Mots clés : Drépanocytose ; Electrophorèse de l'hémoglobine, Hémoglobinoïse C,

Abstract

Hemoglobinosis, defined by the presence of qualitative abnormalities in globin chains, is one of the most frequent genetic diseases in the world.

The purpose of this work is to determine the epidemiogenetic characterization of the population of Tlemcen by hemoglobins, a prospective and retrospective study carried out in the Hemobiology and Blood Bank of the Tlemcen Hospital.

The study lasted 4 months from 03/2017 to 06/2017 on 15 suspected subjects of hemoglobinosis, of both sexes, and of different ages, coming from different regions of the wilaya.

We found hemoglobin C in 53.33% of cases, 50% of them had a heterozygous form, 25% were homozygous, and 25% had a composite C / β + thalassemia form.

Sickle cell disease was present in 46.67% of cases, 14.28% had homozygous sickle cell anemia and 85.72% had sickle cell disease.

The diagnosis of hemoglobinosis necessitates the confrontation of the study of hemoglobin proper, cytological data and clinical data and of very powerful techniques for a correct interpretation of the results.

Key words : Sickle cell disease; Electrophoresis of hemoglobin, hemoglobin C.

المخلص

مرض خضاب الدم ينتج عن خلل في نوعية سلاسل الهيموغلوبين. يعتبر من الأمراض الوراثية الأكثر انتشارا في العالم

الهدف من دراستنا هو تشخيص المرضى الحاملين لهذا الداء و الكشف المبكر للحالات التحت سريرية.

هذه الدراسة هي دراسة استطلاعية تمت في وحدة أمراض و بنك الدم في المستشفى الجامعي بتلمسان.

الدراسة امتدت لمدة اربعة اشهر من 03/2017 الى 6/2016 و تضمنت 15 شخصا.

نتوقع وجود أمراض خضاب الدم في 53.33 من الحالات، كان 50٪ منهم متخالفا متغايرة الهيموجلوبين C و 25٪ لديهم النوع المشترك بين C و β الثلاسيميا.

تشخيص أمراض خضاب الدم يتطلب حتما مواجهة دراسة الهيموغلوبين في حد ذاته، و البحث في البيانات الخلوية والسريية وذلك باستعمال تقنيات فعالة جدا من أجل

التفسير الصحيح للنتائج.

الكلمات المفتاحية: مرض الهيموغلوبين مرض، الخلية المنجلية. الكهربائي من الهيموغلوبين،