



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE- EL HADJ LAKHDER – BATNA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE PRESENTE

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

En Biologie

Option : Biologie cellulaire et physiologie animale

Par

Mme BELHADI Kamilia

THEME

**Etude des hémoglobinopathies dans la
population de la région de Batna**

Devant le jury :

Soutenu le :

- | | | |
|----------------|--|--------------|
| *Pr HAMBABA L. | Faculté des sciences, université de Batna | Présidente |
| *Dr YAHIA M. | Maître de conférences, université de Batna | Rapporteur |
| *Dr ZAAMA DJ. | Maître de conférences, université de Constantine | Examinatrice |
| *Pr LAROUI S. | Faculté de médecine, université de Batna | Examineur |

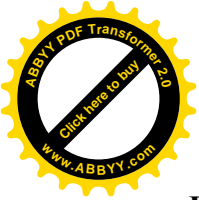
Année Universitaire : 2010/2011



Je dédie ce travail

A l'esprit de ma mère, à mon père, à mon marie,

à mes enfantsetà mes sœurs et frères



Remerciements

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

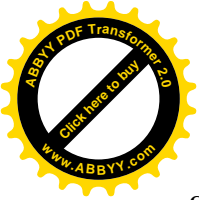
J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur YAHIA Mouloud Maître de conférences à l'université de Batna qui m'a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme HAMBABA Le professeur à la faculté des sciences, université de Batna d'avoir accepté de présider à jury.

Je tiens à exprimer également ma très grande considération à Mme Zaâma Dj Maître de conférences à l'université de Constantine d'avoir acceptée de faire partie du jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Monsieur LAROUIS professeur à la faculté de médecine, Université de Batna d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Je tiens à remercier infiniment Monsieur Boumlit Abdelkader, responsable du laboratoire d'hématologie CHU-Batna, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire, et qui a mis à ma disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail qu'il trouve ici mon respect et reconnaissance, et à tout les laborantins du laboratoire central d'hématologie, j'adresse aussi mes plus vifs remerciements à l'ensemble du laboratoire de biochimie CHU-Batna qui m'ont aidé à réaliser une partie de mon travail au sein de leur laboratoire.



SOMMAIRE

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Partie I : Etude bibliographique

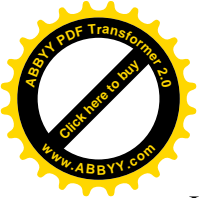
Chapitre I : L'hémoglobine

page

I.1. Structure de l'hémoglobine	1
I.1.1. L'hème.....	2
I.1.2 .La globine	2
I.2. Répartition des hémoglobines normales de l'homme	3
I.3. Fonction de l'hémoglobine	4
I.4. Biosynthèse et catabolisme de l'hémoglobine	6
I.4.1.La biosynthèse	6
I.4.1.1.Synthèse des chaînes polypeptidiques de la globine et contrôle génétique	6
I.4.1.1.1. Groupe des gènes de type α	7
I.4.1.1.2. Groupe des gènes de types β	7
I.4.1.2. Biosynthèse de l'hème	8
I.4.2.Catabolisme	9

Chapitre II : Les hémoglobinopathies

II.1. Les hémoglobinoses	10
II.1.1. L'hémoglobinoïde S ou drépanocytose.....	10
II.1.1.2. Physiopathologie de drépanocytose.....	10
II.1. 2. Autres substitutions.....	13
II.2. Les thalassémies et persistance de l'hémoglobine fœtale	13
II.2.1. Les β -thalassémies.....	13
II.2. 1. 1. Forme homozygote ou thalassémie majeure.....	13



II.2.1.2. Forme hétérozygote	14
II.2. 1. 3. Cas particulier à rattacher aux β -thalassémies	14
II.2. 2.Les α -thalassémie	14
II.2. 2.1.Formes homozygotes : l'anasarque fœtal ou hydrosfetalis	15
II.2.2.2. Formes hétérozygotes	15
II.2.3 .Physiopathologie des thalassémies	16
II.2 .4. La Persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale PHHF	16

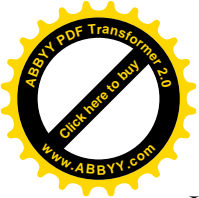
Chapitre III : Diagnostic des hémoglobinopathies

III.1. Mesures quantitatives sur les hématies et leur contenu	17
III.1.1. Nombre normale des hématies.....	17
III.1.2 .Hématocrite	18
III.1.3. Taux d'hémoglobine	18
III.1.4. Calcul des constantes érythrocytaires	18
III.2. Méthodes électrophorétiques	19
III.2.1. Préparation des hémolysats	19
III.2.2. Électrophorèse à pH alcalin, voisin de 8,5-9.....	20
III.2.3. Focalisation isoélectrique sur gel d'agarose en couche mince.....	20
III.2.4. Électrophorèse en gel d'agar à pH 6,2	20
III.3. Diagnostic prénatal	21

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. l'hémogramme.....	23
IV.1.1. Numération des globules rouges.....	23
IV.1.2. Volume globulaire moyen (VGM)	24
IV.1.3. L'hématocrite (HT)	24
IV.1.4. Le taux d'hémoglobine (Hb)	24



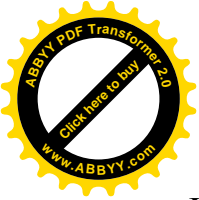
IV.1.5. Teneur corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH).....	25
IV.2. Examen des hématies sur le frottis	25
IV.3. Electrophorèse Capillarys d'hémoglobine.....	25
IV.4. Analyses statistiques	28

Chapitre V : Résultats et discussion

Conclusion générale

Annexes

Références bibliographiques



Liste des abréviations

Hb : Hémoglobine.

aa : Acide aminé.

Kb : Kilo base.

PM : Poids Moléculaire

EDTA : Ethylène-diamine-tétra-acétate.

GR : Globule Rouge.

pg : Picogramme.

fl : Femtolitre

ml : Millilitre.

g : Gramme.

pO₂ : Pression d'oxygène.

2,3 DPG : 2,3-di-phosphoglyceraldehyde.

SRE : Système réticuloendothélial.

Hp : Haptoglobine.

PS :Phosphatidylsérine.

mm : Millimètre.

VGM : Volume Globulaire Moyen.

TCMH :Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

pH : Potentiel d'hydrogène.

nm : Nanomètre.

µm : Micromètre.

tr /min : Tour/ minutes.

µl : Microlitre.

l : Litre.

mm³ :Millimètre cube.

Ht : Hématocrite.

HbF : Hémoglobine foetale.

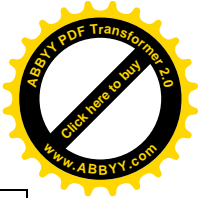
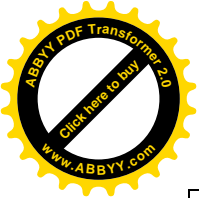
PHHF : persistance héréditaire de l'hémoglobine.

MMG :May-Grunwald-Giemsa.



Liste des figures

Figure n°	Titre	page
01	Schéma de la molécule complète d'hémoglobine	01
02	Structure de l'hème	02
03	Modification de la conformation l'hémoglobine après oxygénation	03
04	Biosynthèse des chaînes de globine au cours de la vie fœtale et jusqu'à l'âge de 6mois	04
05	Courbe de saturation de l'hémoglobine	05
06	Organisation des gènes globine	08
07	La physiopathologie de la drépanocytose	12
08	Mécanismes génétiques à l'origine des α -thalassémies	15
09	Automate médonique CA 620	24
10	CAPILLARYS 2 (sebia)	25
11	Principe d'un système d'électrophorèse capillaire	27
12	Profilé électrophorétique d'un sang normale	30
13	Profilé électrophorétique d'un sang β - thalassémique hétérozygote	30
14	Profilé électrophorétique d'une β -thalassémie homozygote	31
15	Profilé électrophorétique d'un sang avec variant homozygote HbS	32
16	Profilé électrophorétique d'un sang avec variant hétérozygote HbS	33
17	Profilé électrophorétique d'un sang avec hémoglobinose C hétérozygote	35
18	Profilé électrophorétique d'un sang avec double hétérozygote S/C	36
19	Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de β thalassémies hétérozygotes.	41
20	Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes	43
21	Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes	44

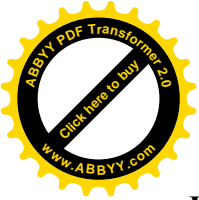


22	Variation du teneur corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes	44
23	Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de β -thalassémies homozygotes	46
24	Aspect microscopique des hématies sur frottisd'un β -thalassémique homozygote	47
25	Aspect microscopique des hématies sur frottisd'un β -thalassémique homozygote	48
26	Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) chez les malades de β -thalassémies homozygotes	50
27	Variation du teneur corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies homozygotes	50
28	Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de drépanocytose homozygote	52
29	Aspect microscopique des hématies sur frottisd'undrépanocytaire (hématies falciformes)	53
30	Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote	54
31	Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote	55
32	Variation du teneur corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de drépanocytose homozygote	56



Liste des tableaux

Tableau n°	Titre	Page
01	Numération de globule rouge (résultats normaux par mm ³)	17
02	Taux normal d'hémoglobine	18
03	Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies	29
04	Caractéristiques biologiques des syndromes drépanocytaires	34
05	Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Batna	37
06	Répartition de la population selon l'âge	39
07	Répartition de la population selon le sexe des sujets	40
08	Variation du nombre des globules rouges chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes	41
09	Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes	42
10	Variation du volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes	43
11	Variation du nombre des globules rouges chez les malades de β -thalassémies homozygotes	45
12	Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β -thalassémies homozygotes	48
13	Variation du volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies homozygotes	49
14	Variation du nombre des globules rouges chez les malades de drépanocytose homozygote	51
15	Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote	53



Introduction

Les hémoglobinopathies sont le plus souvent responsables d'anémies hémolytiques. Les thalassémies et les hémoglobines anormales, dont la plus fréquente est la drépanocytose, sont endémiques dans certaines populations (origine africaine, antillaise, méditerranéenne, asiatique), mais du fait des mouvements de populations elles sont de plus en plus souvent rencontrées (Galacteros et *al*, 1996).

L'anomalie hémoglobinique est l'apparition d'une hémoglobine pathologique qui se distingue des hémoglobines normales par une modification structurale affectant certaines chaînes polypeptidiques de l'hémoglobine. Les anomalies les plus fréquentes affectent les chaînes polypeptidiques β , plus rarement les chaînes α , exceptionnellement les chaînes γ ou δ . La modification la plus habituelle est la substitution d'un acide aminé de la chaîne par un autre acide aminé. C'est ainsi que dans les trois hémoglobinopathies à diffusion mondiale, la drépanocytose, l'hémoglobinose C et l'hémoglobinose E, l'anomalie structurale est la substitution d'un seul acide aminé des chaînes β de l'hémoglobine A par un autre acide aminé (Kafando et *al*, 2008).

L'identification d'anomalies de l'hémoglobine par analyse du phénotype suppose des renseignements précis accompagnant la demande d'examens (Elion et Ducrocq, 1991): motivation de la demande, origine géographique du patient et de ses parents présumés, antécédents familiaux connus d'hémoglobinopathies, renseignements cliniques (notion d'ictère...). Toute transfusion récente, datant de moins de trois mois, doit être signalée, car elle risque de rendre difficile, voire erronée, l'interprétation des résultats.

En outre, il faut disposer des résultats d'un hémogramme récent, accompagnés de manière idéale d'un décompte des réticulocytes. Le taux d'hémoglobine, le volume globulaire moyen et le nombre d'hématies doivent être interprétés en fonction de l'âge du patient (Kaplan et Delpech, 1989 ; Williams et *al*, 1996).

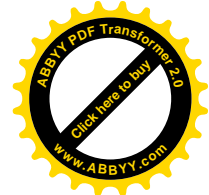
Dans le cadre d'un conseil génétique, lorsqu'est détectée une anomalie de l'hémoglobine chez un parent, il est important que l'autre parent soit examiné.

L'objectif de notre travail consiste à rechercher certaines anomalies de l'hémoglobine les plus fréquentes dans la population de la région de Batna.



Dans un premier temps, nous présentons un bref rappel sur l'hémoglobine, les hémoglobinopathies et leur diagnostic.

La seconde partie rapporte les techniques utilisées et les résultats obtenus sur un groupe de patients suspects d'hémoglobinopathie dans la région de Batna.



Partie I : Etude bibliographique



Premier chapitre

L'hémoglobine

I.1. Structure de l'hémoglobine

Les hémoglobines possèdent quatre protomères (sous -unités) identiques deux à deux. Les sous- unités sont constitués de l'association d'une chaîne polypeptidique, la globine, et d'un groupement prosthétique, l'hème. Les différences entre hémoglobines portent sur la séquence des chaînes peptidiques, alors que l'hème est identique dans toutes(Crossley et Orkin, 1993).

Il existe chez l'homme quatre variétés physiologiques d'hémoglobines et de nombreuses formes pathologiques n'ayant pas toutes d'expressions cliniques. On trouve chez l'adulte un type prédominant, l'hémoglobine A ou A0 (97 à 98%), un type mineur, l'hémoglobine A2, représentant 2 à 3 % de l'hémoglobine totale et l'hémoglobine foetale est appelée hémoglobine F(Donzeet *al*, 1995). Toutes les hémoglobines renferment 0.34% de fer impliquant une masse moléculaire de 16500 daltons par atome de fer. La masse moléculaire de l'hémoglobine est d'environ 67000 daltons (Vanbourdolleet *al*, 2007)(**Figure 1**).

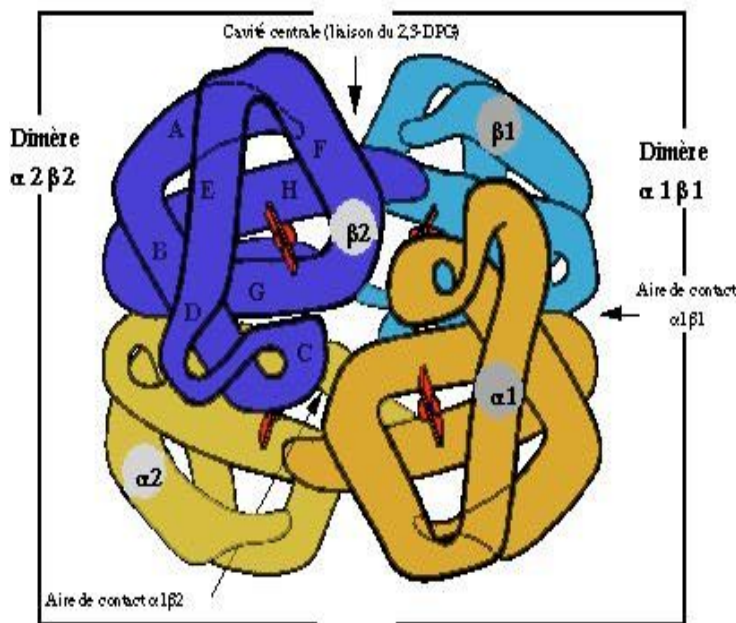
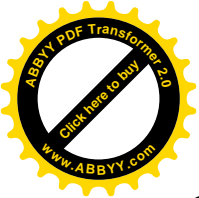


Figure 1. Schéma de la molécule complète d'hémoglobine (Serge, 2004).

- Tétramère : (2 α 2 β).
- Un hème
- Un atome de fer ferreux



I.1.1. L'hème

L'ensemble "fer incorporé à une porphyrine" constitue un hème. Dans le cas de l'hémoglobine, la porphyrine abritant l'atome de fer est la protoporphyrine, molécule hautement conjuguée, plane et donneuse d'électrons. L'hème coordonné à l'histidine proximale de la chaîne protéique globine et à l'oxygène (De Franceschi et Corroche, 2004) (**Figure 2**).

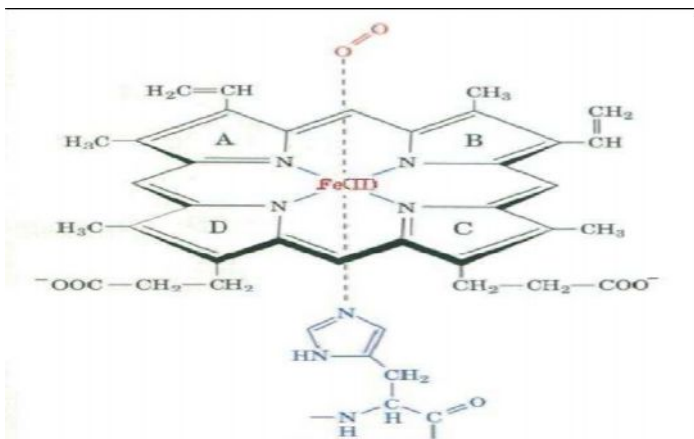


Figure 2. Structure de l'hème (Diakité, 2005).

I.1.2. La globine

C'est un ensemble de quatre chaînes polypeptidiques avec pour chaque molécule de l'Hb quatre chaînes semblables deux à deux sont appelées α et β pour l'HbA. (Globine de l'HbA= 2 α 2 β)(Hargrove et al, 1997).

Chaque chaîne est un polypeptide c'est-à-dire qu'elle est constituée d'acide aminé (146 pour la chaîne β et 141 pour la chaîne α) réunis par des liaisons peptidiques.

La chaîne ainsi formée s'enroule sur elle-même en spirale pour réaliser une structure secondaire en hélice. En fait, l'hélice est discontinue, l'ensemble de la chaîne formant 8 segments hélicoïdaux (A à H) et porte une crevasse entre hélices E et F où s'insère une molécule d'hème (Rivière et Sadelain, 1997).

Ces segments sont séparés par de courts segments non hélicoïdaux au niveau des quels se font des coudures pour donner à chaque chaîne sa forme définitive. Des liaisons de nature diverses entre acides aminés mise en évidence en contacte par les courbures de la molécule la

stabilisent (structure tertiaire). Enfin la réunion de 02 chaînes α et de 02 chaînes β forme une molécule symétrique globulaire (Bernard et *al*, 1998).

La forme désoxygénée de l'hémoglobine présente une conformation T (tendue), la forme oxygénée une conformation R (relaxée) (Bachir et Beauvais, 1992).

L'architecture de cette protéine globulaire compacte avec des dépressions, interfaces entre domaines et crevasses lui permet d'assurer ces fonctions dynamiques (Zack, 1992; Vanbourdolle, 2007) (**Figure3**).

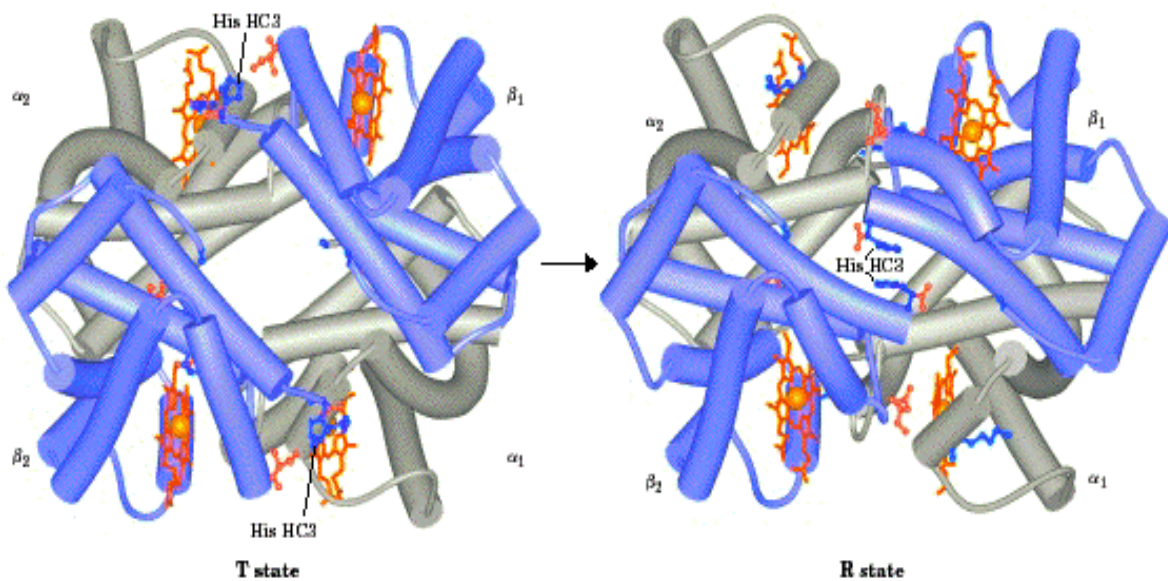


Figure 3. Modification de la conformation de l'hémoglobine après oxygénation.

(Lehninger, 2000)

I.2. Répartition des hémoglobines normales de l'homme

Différentes hémoglobines (Hb) se trouvent successivement mises en évidence au cours du développement humain. Pendant la période embryonnaire, différents types de chaînes vont être synthétisés (**figure 4**), ζ, ϵ , puis, progressivement, α et γ . (Tchernia, 1989; Rosa et *al*, 1993).

CHAPITRE I

L'hémoglobine

Dès le 37^e jour de vie fœtale, apparaît l'hémoglobine fœtale, Hb F ou $\alpha_2\gamma_2$, formée de l'association de deux chaînes α et de deux chaînes γ . L'Hb F, dont environ 15 % est sous forme acétylée, reste l'hémoglobine majoritaire tout au long de la vie fœtale jusqu'à la naissance. Le remplacement des chaînes γ par des chaînes β se fait progressivement jusqu'à l'âge d'un an chez le sujet normal, pour donner l'hémoglobine adulte, $2\alpha 2\beta$ (Hb A). Ainsi, à 30 semaines de vie fœtale, seulement 10 % de l'hémoglobine est de l'Hb A, contre environ 25 % à la naissance pour un bébé né à terme, et 75 % vers l'âge de trois mois (Tchernia, 1989 ; Forestieret *al*, 1991). Après l'âge d'un an, l'hémoglobine est constituée d'environ 97 % d'Hb A et de 2 à 3 % d'Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$). Le taux d'Hb F est souvent inférieur à 1 % vers l'âge d'un an, mais il peut décroître plus tardivement.

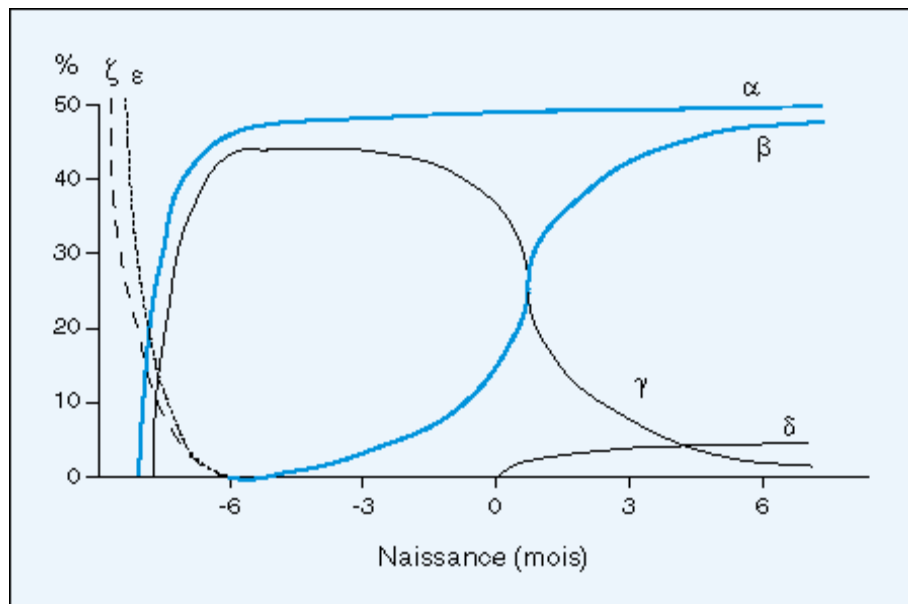


Figure 4. Biosynthèse des chaînes de globine au cours de la vie fœtale et jusqu'à l'âge de 6 mois (Rosa et *al*, 1993).

I.3.Fonction de l'hémoglobine

L'hémoglobine assure le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Une molécule d'oxygène se fixe par atome de fer et 1 g d'hémoglobine peut transporter au maximum 1,34 ml d'oxygène lorsque la saturation est totale, soit environ 20ml d'oxygène pour 100 ml de sang. **(Figure 5)**

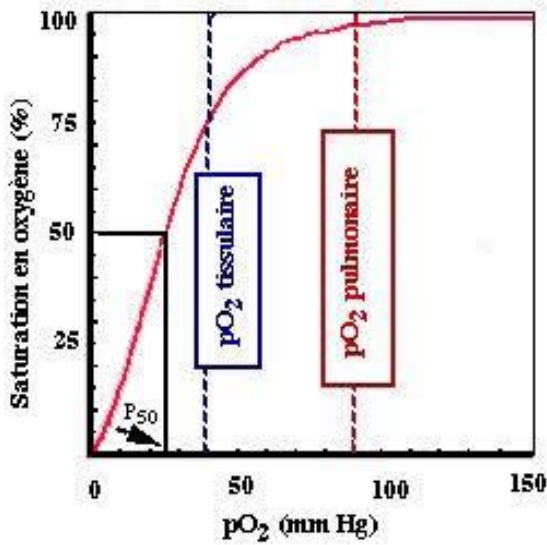
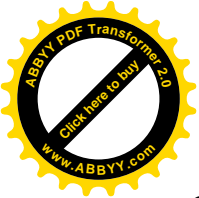


Figure 5. Courbe de saturation de l'hémoglobine (Arthur et Guyton, 1974).

La courbe de saturation de l'hémoglobine en fonction de la pO₂ présente une allure sigmoïde d'un point de vue moléculaire, cette fixation est un phénomène coopératif (en relation avec l'allostérie) dû à l'association et au recrutement différent des quatre sous-unités de l'hémoglobine (Wijgerde et *al*, 1996). Le segment initial de la courbe correspond à l'oxygénation du premier sou- unité du tétramère et témoigne d'une faible affinité de celle-ci pour l'oxygène. La pente de la courbe traduit la coopérativité. Le segment terminal de la courbe correspond, quant à lui, à l'oxygénation de la dernière sous-unité et révèle sa forte affinité pour le ligand (Lee et *al*, 1999).

L'oxygène se comporte comme un ligand qui stimule le changement de conformation de chaque sous-unité. La fixation d'une première molécule est relativement lente. L'oxygénation de cette première sous-unité entraîne la fixation d'oxygène successivement sur les autres sous-unités d'une façon auto catalytique (Faivre-Fiorina et *al*, 1998).

Pour une pO₂ 100mmHg, correspondant à la pression de l'alvéole pulmonaire. L'hémoglobine est saturée complètement (97,5%). En revanche, au niveau des tissus où la pO₂ est de 35 mmHg. La combinaison de l'hémoglobine à l'oxygène s'exprime en termes de pourcentage (%) de saturation, soit le rapport de l'oxyhémoglobine à l'hémoglobine totale.



L'équilibre $Hb + O_2 \rightarrow HbO_2$ est réglé par la pO_2 . L'oxygène sanguin est combiné pour 98,5% de sa totalité. La faible part restante joue un rôle capital et assure la pO_2 (Arthur et Guyton, 1974).

L'oxyhémoglobine libère l'oxygène au fur et à mesure que la pO_2 diminue. Plusieurs autres facteurs influencent l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, le principal étant la pression partielle en oxygène (plus la pression en oxygène est élevée et plus l'affinité de l'Hb pour l'oxygène baisse), mais également divers autres : baisse du pH, augmentation de la température ou augmentation du 2,3 DPG auront pour effet une baisse de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (Vanbourdolle et al, 2007).

I.4. Biosynthèse et catabolisme de l'hémoglobine

I.4.1. La biosynthèse

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, synthétisée dans les mitochondries cellulaires des tissus ;

Le fer, provenant essentiellement du recyclage interne ;

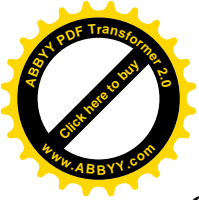
L'insertion de fer ferreux au centre de la protoporphyrine forme l'hème (Harper, 2003).

I.4.1.1. Synthèse des chaînes polypeptidiques de la globine et contrôle génétique

Comme toute protéine, la globine est synthétisée par :

- transcription : copie, sous forme d'une structure de base complémentaires, d'une partie de DNA correspondant à un gène de structure et formation d'un ARNm d'abord natif puis fonctionnel par perte des régions non codantes ;
- activation des acides aminés : par fixation des acides aminés cytoplasmiques sur un ARNt spécifique ;

Traduction : elle permet de traduire une séquence de nucléotides en séquences d'acides aminés et comprend trois étapes (initiation, élongation puis libération des chaînes polypeptidiques)



Chez l'homme, les gènes de l'hémoglobine se répartissent en deux groupes distincts :

- le groupe des gènes de type α ;
- le groupe de gène de type β (Vanbourdolle et al, 2007; Embury et al, 1979)

La structure de tous les gènes de globine est similaire : chacun est formé de deux introns (région non codantes) et de trois exons (régions codantes). La région transcrite est précédée d'un promoteur (boîtes TATAA et CCAAT) et de séquences régulatrices en amont qui synchronisent l'expression des gènes des différentes globines en fonction des cellules érythropoïétiques. Toutes les hémoglobines humaines sont des tétramères associant deux sous-unités du type α et deux autres du type β . Physiologiquement, il y a toujours équilibre de synthèse entre les chaînes α et β de globine (Sébahoun G, 2005).

I.4.1.1.1. Groupe des gènes de type α

Il est localisé sur le chromosome 16. Il comprend, de 3' à 5' (sur une petite séquence de DNA de 35Kb) :

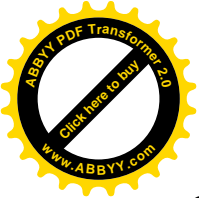
- deux gènes de structure $\alpha 1$ et $\alpha 2$, fonctionnels dès la vie embryonnaire ;
- un gène de structure ζ permettant la formation des chaînes ζ (qui remplacent les chaînes α au cours des premières semaines de la vie embryonnaire).

Chez un sujet normal, les gènes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ sont dupliqués. Il existe donc quatre gènes de structure α pour une paire de chromosomes. En revanche, les gènes $\alpha 2$ sont trois fois plus exprimés que les gènes $\alpha 1$ (**figure 6**) (Sadelain, 2006).

I.4.1.1.2. Groupe des gènes de types β

Il est localisé sur le bras court du chromosome 11 (dans un fragment de DNA de 60 Kb) et il comprend de 3' vers 5' :

- un gène β , dont l'expression débute à la fin du premier trimestre de gestation ;
- un gène δ , fonctionnel après la naissance ;
- deux gènes γA et γG qui diffèrent par la variation d'un acide aminé en position 136 de la chaîne fœtale (glycine et alanine) ;
- un gène ϵ embryonnaire.



CHAPITRE I

L'hémoglobine

Le gène β n'est pas dupliqué, contrairement aux gènes α . Les lésions qui touchent les gènes β s'expriment :

- pour 50% de l'hémoglobine totale si un seul gène est atteint ;
- pour 100% de l'hémoglobine totale si aucun des deux gènes n'est fonctionnel (**figure 6**)(Sadelain M., 2006).

En conséquence, la plupart des lésions qui porte sur le gène β sont plus sévères que celles qui atteignent les gènes α .

Pour chacun des groupes de gènes (α et β), il est possible de mettre en évidence des pseudogènes qui représentent des analogies avec les gènes de groupe considéré mais qui ne sont pas fonctionnels. Des structures participent au contrôle de l'activité des gènes, comme les sites de reconnaissances de l'ARNm polymérase permettant la transcription ou des enzymes de clivage des introns et d'épissage des exons (Sébahoun, 2005).

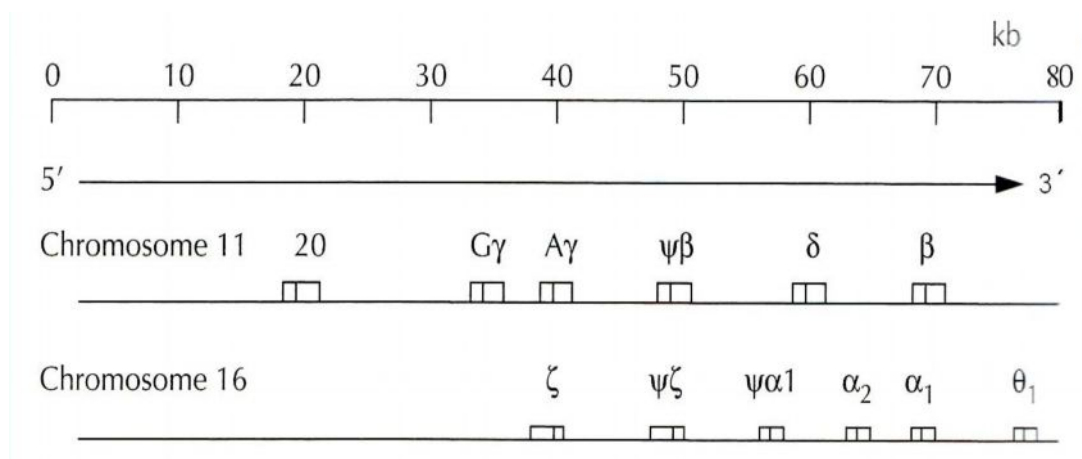
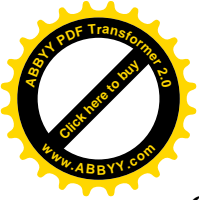


Figure 6. Organisation des gènes globines (Vanbourdolleet *al*, 2007).

I.4.1.2. Biosynthèse de l'hème

Le 85% de la biosynthèse de l'hème sert à faire de l'hémoglobine : érythropoïèse dans la moelle osseuse et 15% pour d'autre hémoprotéines ; majoritairement dans le foie, la biosynthèse dans la moelle osseuse est concertée avec le métabolisme de fer. Elle se fait dans les mitochondries des érythroblastes où tous les enzymes nécessaires sont réunis et dans le cytoplasme (Grand champ et *al*, 1981).



I.4.2. Catabolisme

Par utilisation des différents constituants radiomarqués de l'hémoglobine (globine, fer ou hème) il a été possible de montrer que :

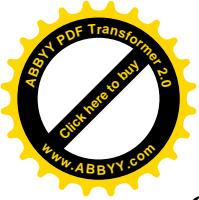
- La durée de vie des hématies circulantes chez l'homme est de 120 jours environ ;
- Le vieillissement des hématies est dû à l'épuisement des enzymes de la glycolyse ;
- Au cours du vieillissement, les propriétés antigéniques se modifient et les hématies sont phagocytées par le système réticuloendothélial (SRE) ;
- La destruction des hématies s'effectue dans le SRE, surtout au niveau du foie, de la moelle osseuse et de la rate : l'hémoglobine est libérée ;
- La dégradation de l'hémoglobine donne naissance pour l'hème aux pigments biliaires (bilirubine), alors que la globine suit le sort des protéines (Stryer, 2003).

Une hémolyse intravasculaire entraîne la libération d'hémoglobine (Hb) qui est captée par l'haptoglobine (Hp). Le complexe Hp-Hb est mené aux cellules du SRE pour la dégradation de l'hémoglobine.



Deuxième chapitre

Les hémoglobinopathies



Les maladies génétiques de l'hémoglobine sont représentées par les thalassémies (diminution de synthèse de l'hémoglobine) et les hémoglobinoses (apparition d'une ou de plusieurs hémoglobines anormales) dont la drépanocytose ou anémie falciforme (sicklecellanemia pour les Anglo-saxons) est la forme la plus répandue (Giroto, 1999).

Il existe dans certains cas une association d'anomalies quantitatives et qualitatives de l'hémoglobine.

Les hémoglobinopathies, qui étaient jusqu'à présent assez bien localisées dans certaines régions du monde, sont maintenant beaucoup plus dispersées du fait des migrations de populations (Lubin et *al*, 1991).

II.1. Les hémoglobinoses

On parle d'hémoglobinose lorsqu'il y a synthèse d'une nouvelle chaîne de globine par substitution d'un ou de plusieurs acides aminés de l'une des chaînes de la globine (Giroton et *al*, 1995). Il existe plusieurs types d'hémoglobinoses différentes les unes des autres par la qualité et la position de l'acide aminé substitué dans la chaîne de la globine (Diakite, 2005).

II.1.1. L'hémoglobinose S ou drépanocytose

La drépanocytose a été décrite en 1910 par Herrick (Herrick, 1910). Cette affection transmise selon le mode récessif autosomique est due à une modification du 6^e codon de la chaîne β de l'hémoglobine (substitution de l'acide glutamique par de la valine) qui entraîne la formation d'hémoglobine (Hb) S. Les sujets peuvent être homozygotes SS ou hétérozygotes (AS) le plus souvent asymptomatiques (Mac Donald et *al*, 1999; Tavin et *al*, 1993).

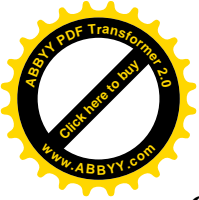
D'autres mutations associées aboutissent à des hétérozygotes composites :

- synthèse d'hémoglobine C par mutation du 6^e codon en leucine (hétérozygotes SC) ;
- β -thalassémie (hétérozygotes S- β thalassémiques).

Homozygotes SS, hétérozygotes SC et S- β thalassémiques sont regroupés sous le terme de syndromes drépanocytaires majeurs (Giroto, 1999; Whitehead et *al*, 1998).

II.1.1.2. Physiopathologie de drépanocytose

La mutation de la chaîne β de globine ($\beta 6^{val}$) est la cause de la drépanocytose. Les molécules d'hémoglobine S (HbS) diffèrent de l'hémoglobine A normale (HbA) par unenouvelle



propriété, celle de former des polymères quand elles sont désoxygénées, ce qui induit la falciformation (Morris et *al*, 2005). La falciformation et la polymérisation de l'HbS sont réversibles lors de la réoxygénation, les hématies reprenant une forme normale (Ferster et *al*, 1996). Des études de la polymérisation de l'hémoglobine S, par une désoxygénation brusque, ont montré un rôle essentiel de la concentration intracellulaire de l'hémoglobine S dans le délai de survenue de la polymérisation de l'HbS, qui est d'un ordre exponentiel élevé de la concentration de l'hémoglobine S (Eaton et Hofrichter, 1990; Steinberg, 1999). La polymérisation de l'hémoglobine S induit une déshydratation cellulaire par perte d'ions et d'eau. Elle augmente ainsi la densité cellulaire, la concentration de l'Hb et accélère la formation des polymères en cas de désoxygénation des globules rouges drépanocytaires (**figure8**) (Eaton et Hofrichter, 1990; Ballas et Smith, 1992). Les globules rouges déshydratés et denses sont capables de contenir des polymères dans des conditions d'hypoxie modérée et même dans le sang artériel, en raison de la concentration intracellulaire particulièrement élevée de l'HbS, jusqu'à 50 % (Brugnara et *al*, 1993). La proportion des hématies déshydratées joue un rôle important sur le pourcentage de globules rouges rigides et déformés dans les capillaires et les veinules post-capillaires où la viscosité accrue et le ralentissement circulatoire favorisent leurs interactions avec l'endothélium qui peut être activé. Les études de la physiopathologie ont montré que les globules rouges denses et déshydratés jouent un rôle central dans les manifestations aiguës et chroniques de la maladie drépanocytaires basées sur les vaso-occlusions et la réduction du flux sanguin dans les vaisseaux, conséquence de la falciformation dans les petits vaisseaux (**figure7**) (Steinberg, 1999; Solovey et *al*, 2001). Les altérations membranaires secondaires à la polymérisation de l'hémoglobine S favorisent également la génération de globules rouges rigides et déformés en permanence. Ceci contribue à des événements vaso-occlusifs additionnels et à la destruction des globules rouges dans la circulation. Ces globules rouges altérés ont également une perte de l'asymétrie des phospholipides avec l'externalisation de la phosphatidylsérine (PS), qui joue un rôle significatif dans leur reconnaissance par les macrophages et leur élimination prématurée, l'apoptose cellulaire et l'activation de la coagulation. (Solovey et *al*, 2001 ; Kuypers et *al*, 1998).

Les événements vaso-occlusifs dans la microcirculation résultent d'un scénario complexe impliquant les interactions entre différents types cellulaires incluant les globules déshydratés et denses, les réticulocytes, les cellules endothéliales anormalement activées, les leucocytes, les plaquettes et des facteurs plasmatiques (Whitehead et *al*, 1998;Ataga et *al*, 2004).

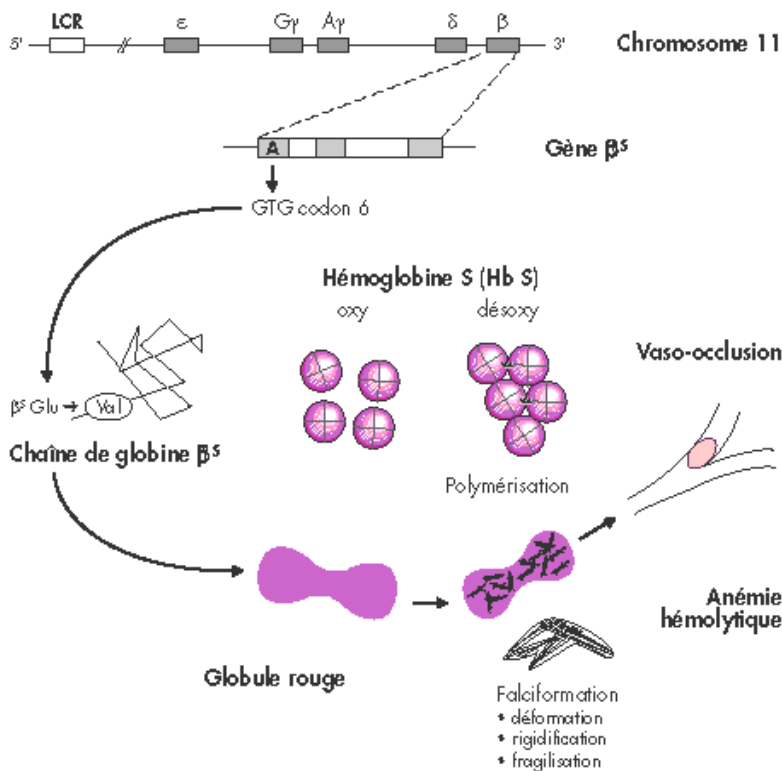
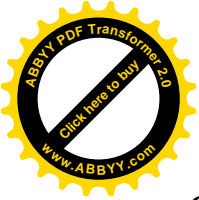


Figure 7. La physiopathologie de la drépanocytose.

Schéma physiopathologique de la drépanocytose. La polymérisation de l'Hb S dans sa forme désoxygénée est au centre du processus physiopathologique. Déformation, rigidification et fragilisation du globule rouge qui en résultent sont responsables de deux des grandes manifestations de la maladie : crise vaso-occlusive douloureuse et anémie hémolytique (modifié d'après Bunn, 1986)



II.1.2. Autres substitutions

D'autres hémoglobines correspondent à des substitutions de différents acides aminés. Elles se traduisent par l'apparition de cellules cibles sur un frottis sanguin :

- HbC, mutation au niveau de la chaîne β (glu6 \rightarrow lys), en Afrique et en Maghreb ;
- HbD, dont HbD Panjab (glu121 \rightarrow gln) en Inde ;
- HbE (mutation au niveau de la chaîne β (glu26 \rightarrow lys), dans le Sud-est asiatique.
- Hb O-Arab résulte d'une mutation ponctuelle au niveau du codon 121, cela a pour conséquence le remplacement de l'acide glutamique de la chaîne β par une lysine (Siguret et Andreux, 1997).

II.2. Les thalassémies et persistances de l'hémoglobine foetale

Les syndromes thalassémiques sont des affections génétiques, le plus souvent transmises selon le mode autosomal récessif. Ils entraînent une réduction de la synthèse des chaînes de globine, soit alpha (α -thalassémies), soit (β -thalassémies). Le déséquilibre de synthèse entre chaînes alpha et non- α provoque la précipitation des chaînes non appariées, une érythropoïèse inefficace et une anémie (Cao et *al*, 1995).

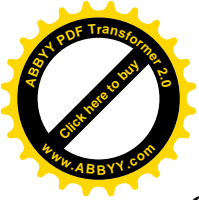
Les thalassémies sont développées dans certaines régions du monde (bassin méditerranéen, Asie du Sud- Est)(Montalembert, 2002).

II.2.1. Les β -thalassémies

Deux cents lésions moléculaires sont actuellement décrites (Vaubourdolle, 2007). Les β -thalassémies résultent en majorité de mutations ponctuelles sur le gène β (plus de 100 mutations décrites), spécifiques d'une population donnée : ces mutations se situent au niveau de la transcription de l'ADN en ARN, de l'épissage de l'ARN messenger (phénotype β° ou β^{+}) ou de la traduction de l'ARNm. Les délétions à l'origine d'une β -thalassémie sont plus rares (Montalembert, 2002).

II.2.1.1. Forme homozygote ou thalassémie majeure

La β -thalassémie homozygote majeure ou anémie de Cooley (β° thal) où le patient présente une anémie hémolytique, pouvant se compliquer de lithiase biliaire, des déformations



CHAPITRE II

Les hémoglobinopathies

morphologiques, une hypertrophie de la lignée érythroblastiques, une splénomégalie, une hépatomégalie et une surcharge en fer (Hageg et *al*, 2001; Bradai et *al*, 2003).

Les cellules érythropoïtiques médullaires ne subissent pas après la naissance la répression au niveau du gène γ et synthétisent l'hémoglobine F ($\alpha 2\gamma 2$), la synthèse d'HbA2 étant possible ($\alpha 2\delta 2$) (Giroto, 1994).

II.2.1.2. Forme hétérozygote

Les sujets porteurs d'une β -thalassémie hétérozygote sont bien-portants. Ils ne sont pas anémiques ; exceptionnellement, une splénomégalie de petite taille peut être palpée sous le grill costal. Biologiquement, le taux d'hémoglobine est normal ou discrètement diminué, la réticulocytose est normale ou un peu élevée (Ragusa et *al*, 2003).

Les deux signes biologiques caractéristiques sont la microcytose avec une élévation de l'hémoglobine A₂ (> 3,5%). Ce dernier signe peut être masqué par une carence en fer, c'est pourquoi, en pratique, on peut être amené à faire un contrôle biologique après un traitement martial de quelques semaines, si le fer sérique est bas au premier examen. (Bruneteau et *al*, 2000).

II.2.1.3. Cas particulier à rattacher aux β -thalassémies

La forme la plus habituelle est la bêta thalasso-drépanocytose qui présente un tableau clinique et hématologique très semblable à celui d'une drépanocytose homozygote. L'étude de l'hémoglobine décèle un fort pourcentage de fraction S associé à un certain pourcentage d'hémoglobine F et à une augmentation de l'hémoglobine A2 et l'absence (S β °Thal) ou la présence (S β +Thal) d'hémoglobine A (Kafando et *al*, 2008).

II.2.2. Les α -thalassémie

Elles sont le plus souvent la conséquence de la délétion d'un ou plusieurs gènes α .

(Figure 8).

Le sujet normal a deux gènes α . sur chaque chromosome 16, donc quatre gènes α . fonctionnels. La plupart des α -thalassémies sont expliquées par des délétions d'un ou de deux gènes α . L'inactivation d'un, deux, trois ou quatre gènes α va se traduire par des tableaux cliniques différents(Higgs, 1993).

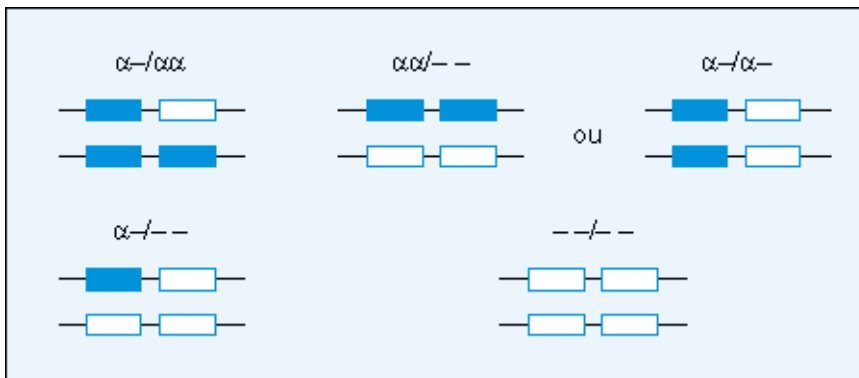


Figure 8. Mécanismes génétiques à l'origine des α -thalassémies.
(Kaplan et Delpech, 1989).

II.2.2.1. Formes homozygotes : l'anasarque fœtal ou hydrosfetalis

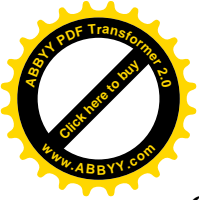
C'est le syndrome le plus grave, relativement fréquent dans le Sud-est Asiatique .Il induit la mort *in utero* ou très précocement après la naissance .Cette forme correspond à la délétion des quatre gènes α et donc à un déficit total en chaîne α , de génotype α^0 thal homozygote ($--/--$). 80 à 90% de l'hémoglobine détectée est l'hémoglobine Bart's embryonnaire (γ_4) et l'hémoglobine H (β_4) .Il peut même apparaître de l'hémoglobine Portland ($\zeta_2 \gamma_2$), les hémoglobines A et F étant absentes (Vanbourdolle *et al*, 2007).

II.2.2.2. Formes hétérozygotes

L'hémoglobine H : l'inactivation de trois gènes α ($--/\alpha$) est responsable d'une maladie à hémoglobine H. Les chaînes non- α en excès s'apparient sous forme d'Hb Bart's à la naissance puis de tétramères β_4 ou hémoglobine H lorsque les chaînes β se substituent aux chaînes γ . L'expression clinique est variable allant d'une anémie hémolytique chronique modérée (pâleur, ictère, hépatosplénomégalie) dans la plupart des cas à une anémie plus sévère nécessitant des transfusions répétées (Weatherall et Clegg, 1981).

Les autres formes hétérozygotes sont la conséquence de la délétion :

- de deux gènes, trait α^0 -thal ($\alpha\alpha/--$) hétérozygote ou α^+ -thal (α/α^-) homozygote, thalassémie mineure asymptomatique (Afrique noire). Dans la plus part des cas, il est détecté une diminution de l'HbA2, la présence d'une petite quantité d'hémoglobine Bart's à la naissance.



CHAPITRE II

Les hémoglobinopathies

ou un gène : trait α^+ -thal hétérozygote, sans manifestations clinicobiologiques (Afrique noire, Méditerranée, Asie)(Vanbourdolle et *al*, 2007).

II.2.3. Physiopathologie des thalassémies

Les syndromes thalassémiques regroupent des anomalies quantitatives plus ou moins sévères de la synthèse des chaînes de globine. Ils prédominent dans le Bassin méditerranéen et en Asie, où leur fréquence les met au premier rang mondial des maladies monogéniques (Weatherall et Clegg, 1996).

Leur transmission est le plus souvent de type autosomique récessif. Selon la chaîne de globine insuffisamment synthétisée, on distingue les α et β -thalassémies. Les syndromes thalassémiques sont la conséquence du déséquilibre de synthèse entre les chaînes α et non α : une α -thalassémie est caractérisée par un rapport α /non α inférieur à 1, une β -thalassémie par un rapport α /non α supérieur à 1. Dans les formes symptomatiques de thalassémie, l'excès relatif de chaînes « célibataires » forme des polymères peu solubles dans l'érythroblaste, responsables d'une érythropoïèse inefficace (Friedman et *al*, 2003). Il en résulte une hypersécrétion d'érythropoïétine qui stimule l'érythropoïèse et suscite une hyperplasie avec expansion érythroblastique caractéristique des thalassémies. L'anémie est la résultante de deux mécanismes : une dysérythropoïèse et une hyperhémolyse. L'importance de ces manifestations est très variable suivant les patients, conséquence tant de l'anémie chronique (pâleur, asthénie) que de l'hyperplasie érythroïde compensatrice (hépatosplénomégalie, déformations osseuses...).

Les transfusions peuvent donc avoir deux objectifs, corriger l'anémie et réduire l'érythropoïèse inefficace (Badens et *al*, 2003).

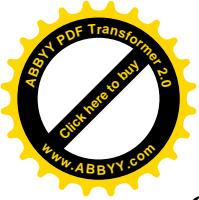
II.4. La Persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale PHHF

Ce terme désigne un groupe d'affections caractérisées chez l'homozygote par la production exclusive d'hémoglobine F, sans aucune conséquence clinique, ni hématologique sérieuse. (Forget, 2001). La synthèse des chaînes β et δ est diminuée à des degrés variables. Cependant la synthèse en compensation de chaîne γ est suffisante. Plusieurs formes sont décrites en fonction de degré de dépression de la synthèse de la chaîne β et δ et du taux d'hémoglobine F (Giroto, 1994).



Troisième chapitre

Diagnostic des hémoglobinopathies



CHAPITRE III

Diagnostic des hémoglobinopathies

Les circonstances d'étude des hémoglobines au laboratoire sont multiples. Elles sont en général recherchées consécutivement à la présence de signes cliniques d'appel : anémie, ictère, hépatomégalie. Elles sont le plus souvent mises en évidence dans des populations à risque.

La plus part du temps, un examen hématologique de routine (numération globulaire, VGM, TCMH) révèle une anémie normocytaire ou microcytaire hypochrome avec anomalies de tailles, de formes ou de coloration des hématies, ou quelques fois une polyglobulie (pseudo polyglobulie microcytaire), l'ensemble de ces éléments faisant évoquer une hémoglobinopathie. Ces pathologies peuvent également être détectées lors du dosage de l'hémoglobine, associée à une technique séparative des hémoglobines. Il est parfois nécessaire de réaliser des examens complémentaires (électrophorèse en milieu acide, dosage des différentes fractions) afin de préciser la nature de l'anomalie (Vanbourdolle et *al*, 2007).

III.1. Mesures quantitatives sur les hématies et leur contenu

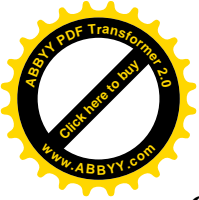
La quantité de l'hématie présente dans un échantillon de sang peut être apprécié par trois mesures : celle du nombre des globules rouges ; celle de l'hématocrite et celle du taux d'hémoglobine. Si en pathologie ces trois mesures évoluent toujours parallèlement. L'étude de l'une d'elle serait suffisante. Comme on peut observer des modifications dissociées de ces trois variables leur mesure conjointe est indispensable (Bernart et *al*, 1998).

III.1.1. Nombre normale des hématies

Il est indiqué dans le tableau :

	Valeurs normales
Hommes	4,5 à 5,9 $10^6 / \text{mm}^3$
Femmes	4,00 à 5,5 $10^6 / \text{mm}^3$
Nouveaux - nés	5,0 à 6,0 $10^6 / \text{mm}^3$
De 1 mois à 10 ans	5,0 à 6,0 $10^6 / \text{mm}^3$

Tableau 1. Numération des érythrocytes



III.1.2. Hématocrite

La centrifugation d'un petit volume de sang dans un tube gradué permet la lecture directe des volumes relatifs du plasma et des hématies .La mesure se fait dans des micros tubescentrifugés à haute vitesse. Dans les compteurs automatiques, l'hématocrite est en revanche calculé à partir du volume globulaire moyen que l'appareille mesure directement (Bordessoule D, 1992).

Les valeurs normales de l'hématocrite sont : hommes : 0,40 -0,50 ; femmes : 0,37 -0,43 ; enfants (5 ans) : 0,38 - 0,44 ; nourrissons (3 mois) : 0,35 - 0,40 ; nouveaux nés : 0,50 - 0,58.

III.1.3 .Taux d'hémoglobine

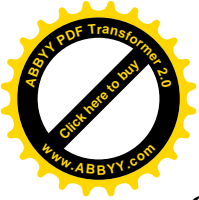
Différentes techniques, toutes fondées sur l'utilisation des propriétés spectrales de l'hémoglobine (Wajcman et al, 2002), mais la seule méthode est aujourd'hui retenue : la méthode de la cyan méthémoglobine dans laquelle l'hémoglobine et tous ses dérivés sont transformés par un réactif à base d'acide cyanhydrique en cyan méthémoglobine qui est dosée sur un spectrophotomètre (Benkerrou et al, 1999) .Le **tableau 2** donne les résultats normaux.

	Valeurs normales
Hommes	13 à 18 g/dl
Femmes	12 à 16 g/dl
Enfant (>2ans)	12 à 16 g/dl
Nouveau-né	14 à 20 g/dl

Le tableau 2. Taux normal d'hémoglobine (g/dl).

III. 1.4. Calcul des constantes érythrocytaires

Après avoir pratiqué une numération des érythrocytes, un dosage de l'hémoglobine et mesuré l'hématocrite, on peut calculer les constantes érythrocytaires, d'une grande aide pour le



diagnostic de problèmes de la lignée des globules rouges, entre autre des anémies. Si on ne peut pas doser l'hémoglobine, on peut toutefois calculer le volume globulaire moyen (VGM) et le teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (Najean, 1991).

Calcul du VGM : il se fait en divisant le volume globulaire compris dans mm³de sang (fourni par l'hématocrite) par le nombre des globules rouges (GR) contenu dans le même volume (fourni par la numération).

$$\text{VGM} = \text{Ht} / \text{nombre de GR}$$

Normales : 80-100 fl au delà, macrocytose, en deçà, microcytose (Fossat et *al*, 1996).

Calcul de la TCMH : elle s'obtient en divisant le résultat du dosage d'hémoglobine par le nombre des globules rouges. Il indique le poids moyen d'hémoglobine par globule, soit à l'état normale 29±2 pg (Sall et *al*, 2002).

Calcul de TCMH: teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (en pg)

$$\text{TCMH} = \text{Hb} / \text{GR}$$

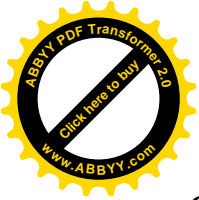
Normales : 28-32 pg, au delà, hyperchromie, en deçà, hypochromie (Ragusa et *al*, 2003).

III.2. Méthodes électrophorétiques

Leur principe consiste en la migration, dans un champ électrique, d'un hémolysat d'hématies lavées, l'échantillon du patient étant analysé parallèlement à ceux de témoins normaux et pathologiques (Favier et *al*, 1993).

III.2.1. Préparation des hémolysats

Dans le cas d'un prélèvement veineux ou capillaire, le sang est centrifugé pour éliminer plasma et globules blancs afin de pouvoir étudier les hématies (Riou et *al*, 1997), qui sont préalablement lavées plusieurs fois par addition d'eau physiologique. L'hémolyse des hématies lavées est réalisée par addition d'eau distillée froide ou de cyanure de potassium en présence d'agents tensioactifs type saponine. L'hémolysat est centrifugé et les examens sont pratiqués sur le surnageant clair, débarrassé de stromas globulaire. Les hémolysats peuvent être gardés quelques semaines à - 20 °C ou quelques mois à - 80 °C. (Bardakdjian et *al*, 2002).



III.2.2. Électrophorèse à pH alcalin, voisin de 8,5-9

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.

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

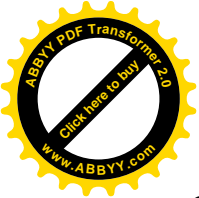
III.2.3. Focalisation isoélectrique sur gel d'agarose en couche mince

La focalisation isoélectrique est une technique hautement résolutive de séparation des hémoglobines en fonction de leur point isoélectrique dans un gradient de pH (Basset et *al*, 1978). Cette méthode permet, d'une part, la séparation rapide de la plupart des hémoglobines, notamment les Hb C et E, ou S et D, et d'autre part, elle permet la mise en évidence d'hémoglobines instables non identifiables par les techniques classiques d'électrophorèse à pH alcalin. De plus, grâce à la bonne séparation de l'Hb F et de l'Hb A, la focalisation isoélectrique constitue la méthode de choix dans le dépistage des hémoglobinopathies chez le nouveau-né.

Lors d'une résolution insuffisante entre plusieurs bandes, il est parfois intéressant de faire migrer un mélange d'hémolysats « patient + témoin normal ou pathologique » : l'obtention finale d'une bande unique est alors en faveur de l'identité de deux fractions de l'hémoglobine (Wajcman et *al*, 2002).

III.2.4. Électrophorèse en gel d'agar à pH 6,2

Lorsque la séparation entre plusieurs bandes est insuffisante, l'électrophorèse en agar à pH acide donne d'indispensables renseignements complémentaires. Elle permet, dans certains cas, de confirmer les résultats obtenus après électrophorèse à pH alcalin ou en focalisation isoélectrique (Shelton et *al*, 1984).



CHAPITRE III

Diagnostic des hémoglobinopathies

III.3. Diagnostic prénatal

La modalité privilégiée est une analyse directe de mutation sur le prélèvement des villosités choriales à 10-11 semaines d'aménorrhée. Il reste possible d'effectuer ce diagnostic sur liquide amniotique, voire sur sang foetal prélevé au cordon à 20 -21 semaines. Au delà de 23 semaines, le diagnostic prénatal devient beaucoup plus risqué et problématique, même s'il reste parfaitement autorisé : tous les efforts doivent être faits pour dépister plus précocement les couples à risque (Dover et *al*, 1998).

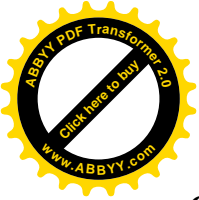


Partie II : Etude expérimentale



Quatrième chapitre

Matériels et méthodes



En pratique courante, le diagnostic d'hémoglobinopathie repose sur des données biologiques associées aux données d'une fiche de renseignements à remplir à l'occasion d'une demande d'exploration d'hémoglobine. Ces renseignements sont précis et indispensables : origine géographique du patient et de ses ascendants, antécédents, clinique, résultats d'un hémogramme récent (Hb, VGM, TCMH.....) avec anomalies de taille, de forme ou de coloration des hématies, notion de transfusion ou de traitement martial. L'isolement, l'identification et le dosage des différentes hémoglobines normales et pathologiques reposent essentiellement sur des méthodes séparatives et cytochimiques.

Cependant, l'identification de mutants nécessite parfois des techniques plus complexes mises en œuvre dans des laboratoires spécialisés, phénotypiques ou génotypiques avec comparaison des comportements dans des conditions expérimentales différentes (Vanbourdolle et *al*, 2007).

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire central d'hématologie du CHU de Batna et le laboratoire de biochimie CHU Batna, sur 115 sujets suspects d'hémoglobinopathie, de deux sexes, et de différents âges, provenant de différentes régions de la wilaya de Batna. L'étude a duré 9 mois d'Octobre 2009 à Juin 2010.

Le point de départ du diagnostic biologique repose sur des tests principaux et reproductibles :

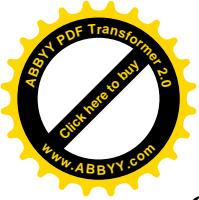
- Tests hématologique : l'hémogramme avec numération des globules rouges, calcule des constantes érythrocytaires :
 - Volume globulaire moyen (**VGM**).
 - Teneur corpusculaire moyen en hémoglobine (**TCMH**).

La mesure des taux d'hémoglobine (**Hb**).

Examen des hématies sur le frottis

- Tests biochimique : Electrophorèse Capillarys d'hémoglobine

Si les résultats de l'hémogramme (GR, VGM, TCMH, Hb) sont diminués en parallèle par rapport aux valeurs normales, il faut faire une électrophorèse de l'hémoglobine pour détecter l'hémoglobinopathie.



Au cours d'une enquête familiale, la réalisation d'un hémogramme n'est pas nécessaire, il suffit de faire une électrophorèse de l'hémoglobine, car certaines formes hétérozygotes sont cliniquement asymptomatiques.

IV.1. L'hémogramme

L'hémogramme est le principal examen en hématologie, on regroupe sous ce nom la mesure des **taux d'hémoglobine** et différents éléments figurés du sang, réalisée sur un échantillon du sang. Il comporte une étude quantitative des cellules : numération **des globules rouges**, des globules blancs et des plaquettes, **mesure ou calcul de l'hématocrite, dosage de l'hémoglobine, étude des constantes ou indices érythrocytaires (VGM et TCMH)** et plaquettaires. La réalisation de l'hémogramme, qui a longtemps reposé sur un dénombrement en microscope optique après dilution manuelle, a été révolutionnée par le développement d'automates. Les automates permettent l'analyse d'un grand nombre de cellules et fournissent ainsi des résultats précis et reproductibles. Ils doivent cependant être quotidiennement vérifiés et calibrés pour éviter qu'ils ne s'écartent pas des seuils de normalité et les résultats doivent être contrôlés dans toutes les situations pouvant favoriser des artefacts.

IV.1.1. Numération des globules rouges

L'appareil que nous avons utilisé est le **coulter (figure 9)** (l'automate médonique CA (cell analyseur.620). 4,5 ml de sang veineux est prélevé directement dans des tubes spéciaux contenant 0,5 ml d'EDTA (éthylène-diamine-tétra-acétate) dans une température ambiante varie de 20 à 22°C. Un tube est placé en contact avec l'aiguille de l'appareil qui va absorber 100 µl de sang destiné à l'analyse, le résultat s'affiché par la suite sur l'écran du coulter (Samama *et al*, 1970).



Figure 9. Automate médonique CA 620.

IV.1.2. Volume globulaire moyen (VGM)

Le paramètre VGM est dérivé de la courbe de distribution des GR. Il est calculé par la division du volume globulaire compris dans un mm^3 de sang (fourni par l'hématocrite) par le nombre des hématies contenu dans le même volume.

IV.1.3. L'hématocrite (HT)

L'hématocrite est défini comme étant le volume emballé de globules rouges dans le sang total. Il est calculé par le produit du VGM par le nombre des GR. Si aucune VGM n'est tirée d'un échantillon en raison de trop faible nombre des érythrocytes, aucune HT n'est calculée.

IV.1.4. Le taux d'hémoglobine (Hb)

L'hémoglobine est déterminée à partir de la dilution 1 :400. Pour chaque échantillon, un vide est mesuré comme une référence, cela signifie que toute dérive dans le réactif et de la cuvette absorption ou de la lampe est éliminé. Le système se compose d'un photomètre lampe au tungstène, une cuve avec une longueur de 15 mm et un filtre à une longueur d'onde de 535 nm (bande passante de 20 nm). Les lectures sont légèrement corrigées les taux d'hémoglobine pour la turbidité.

IV.1.5. Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

La TCMH est calculée par $\text{taux d'Hb} / \text{nombre des GR}$ donnant la concentration moyenne d'hémoglobine dans chaque hématie.

IV. 2. Examen des hématies sur le frottis

Elle est réalisée en étalant une fine goutte de sang sur une lame de verre et l'en examine au microscope après coloration (la coloration utilisée est le May-Grunwald-Giemsa, MMG). Cet examen au microscope permet d'étudier la morphologie des hématies.

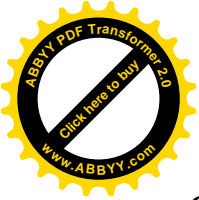
Normalement toutes les hématies ont approximativement même forme, même coloration et même diamètre. Toute modification des ces données traduit un état pathologique.

IV.3. 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 (**Figure 10**).



Figure 10. CAPILLARYS 2 (sebia)



Le système CAPILLARYS permet de réaliser toutes les séquences de l'électrophorèse jusqu'à l'obtention du profil des hémoglobines pour l'analyse qualitative ou quantitative. L'analyse peut être réalisée sur l'hémolysat de globules rouges sédimentés, centrifugés ou lavés. Les hémoglobines, séparées dans des capillaires en silice fondue, sont détectées directement au niveau d'une cellule sur le capillaire par spectrophotométrie d'absorbance à 415 nm, longueur d'onde d'absorption spécifique des hémoglobines.

Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies. La détection directe donne automatiquement une quantification relative précise de chaque fraction individualisée dont les hémoglobines présentant un intérêt particulier telles que l'hémoglobine A2 pour le diagnostic des β thalassémies. De plus, la bonne séparation des différentes fractions permet de confirmer l'identification des variantes de l'hémoglobine, en particulier, de différencier l'hémoglobine S de l'hémoglobine D, et l'hémoglobine E de l'hémoglobine C.

La quantification de l'hémoglobine A2 est également possible en présence d'hémoglobine E. A usage *in vitro* exclusivement.

La structure spatiale de l'hémoglobine (comme celle de toutes les protéines) dépend de la nature et de la séquence des acides aminés constituant les chaînes (Jellum et *al*, 1997). Les liaisons qui se forment entre les différents acides aminés sont responsables de la forme de la molécule, de sa stabilité et de ses propriétés (Oda et *al*, 1997). Placées dans un champ électrique, les hémoglobines se déplacent en fonction de leur charge, de la taille de la molécule, de la force ionique, du pH tampon et de la nature du support. Les variants de l'hémoglobine sont dus à des mutations de certains acides aminés entraînant les anomalies de l'hémoglobine.

L'électrophorèse des hémoglobines du sang humain est une analyse très utile en laboratoire d'analyse clinique pour rechercher les anomalies qualitatives et quantitatives de l'hémoglobine (Wending, 1986). Parallèlement aux techniques d'électrophorèses sur différents supports, dont le gel d'agarose, la technique d'électrophorèse capillaire s'est développée car elle offre l'avantage d'une automatisation complète de l'analyse, de séparations rapides et d'une bonne résolution.

Elle se définit comme une technique de séparation électrocinétique effectuée dans un tube de diamètre interne inférieur à 100 μm rempli d'un tampon composé d'électrolytes. Par

nombreux aspects, elle se présente comme un intermédiaire entre l'électrophorèse classique de zone sur support et la chromatographie liquide.

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 (**Figure 11**).

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 hémolytante est effectuée à l'anode par aspiration.

La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes de chaque capillaire. La détection directe des hémoglobines est effectuée à 415 nm côté cathode. Les capillaires sont lavés avant chaque analyse par une solution de lavage, puis par le tampon d'analyse. Avec le tampon utilisé à pH basique, l'ordre de migration des principales hémoglobines normales et anormales est le suivant, de la cathode vers l'anode : δA_2 (variant d'A2), C, A2/O-Arab, E, S, D, G-Philadelphia, F, A, Hope, Bart, J, N-Baltimore et H.

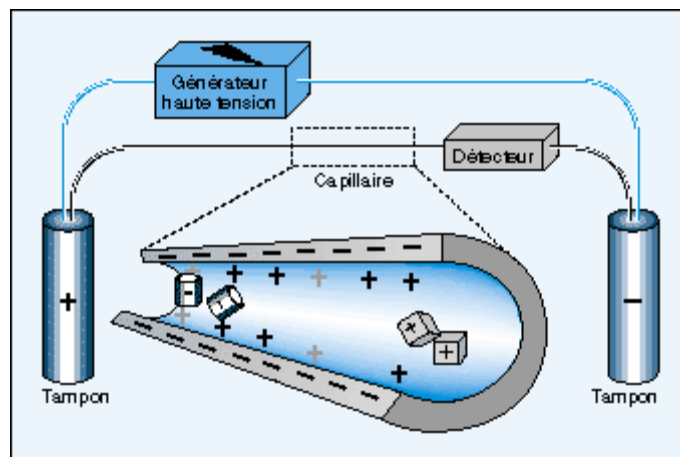
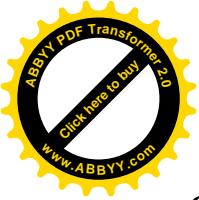


Figure11. Principe d'un système d'électrophorèse capillaire (Landers, 1995).



CHAPITRE IV

Matériels et méthodes

L'analyse se fait sur sang frais, prélevés sur anticoagulant (EDTA, citrate ou héparine). Les sangs doivent être prélevés selon la procédure utilisée pour tout test de laboratoire d'analyses cliniques.

Les sangs peuvent être conservés au maximum sept jours au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C).

Pour la préparation des échantillons :

On agite le tube avant de prélever le volume de sang total à traiter, puis on centrifuge le sang totale, pendant 5 minutes à 5000tr /min, on élimine le plasma

Et on lave 2 fois les globules rouges par 10 volumes d'eau physiologique. Les volumes de globules rouges inférieurs à 10 μL doivent être manipulés avec précaution, par la suite on élimine l'excès d'eau physiologique à la surface du culot globulaire lavé, les agiter au vortex avant de prélever les 10 μL à hémolyser, et enfin on hémolyse 10 μL de globules rouges par 130 μL de solution hémolysant, suivi d'une agitation au vortex pendant 10 secondes puis incubé 5 minutes à température ambiante.

Le système CAPILLARYS est un instrument multiparamétrique automatique qui assure l'analyse des hémoglobines sur 7 capillaires en parallèles

Dès la fin de l'analyse, la quantification relative des fractions est automatiquement effectuée et les profils peuvent être interprétés. Les pics d'hémoglobine A (HbA), F (Hb F) et A2 (Hb A2) sont identifiés de façon automatique et le pic d'Hb A est positionné au centre de la fenêtre de reprise.

Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies Les positions potentielles des différents variants de l'hémoglobine (identifiées par les zones Z1 à Z15) sont repérées à l'écran et sur le compte rendu résultats.

Les profils sont automatiquement recentrés par rapport au pic d'Hb A afin de faciliter leur interprétation.

IV.4. Analyses statistiques

La méthode statistique utilisée est le test « t » de student pour comparer les moyennes des échantillons. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm sem, les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 5,00.



Cinquième chapitre

Résultats et discussion



V.1. Etude des profils électrophorétiques des malades selon les différents types des hémoglobinopathies

Tableau 3. Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies

Type de la maladie	Effectif	Pourcentage %
β- thalassémies hétérozygotes (A/F)	08	16
β- thalassémies homozygotes (F/F)	14	28
Drépanocytoses homozygotes (S/S)	10	20
Drépanocytoses hétérozygotes (A/S)	16	32
Hémoglobinoase C (hétérozygote) (A/C)	01	2
Double hétérozygote (S/C)	01	2
Totale	50	100%

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

La détection directe sur le capillaire à 415 nm permet de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction (**figure 12–figure18**).

Les différentes zones de migration de variantes (identifiées de Z1 à Z15) sont repérées à l'écran et sur le compte rendu résultats. Le passage de la souris sur le nom d'une zone entraîne

l'affichage d'une info bulle indiquant les variants possibles de l'hémoglobine migrant dans cette zone.

Au cours de la détection de ces différentes hémoglobinopathies, le système CAPILLARYS HEMOGLOBINE représente des images électrophorétiques différentes selon les anomalies hémoglobiniques détectées.

V.1.1. Les β- thalassémies hétérozygotes (A/F)

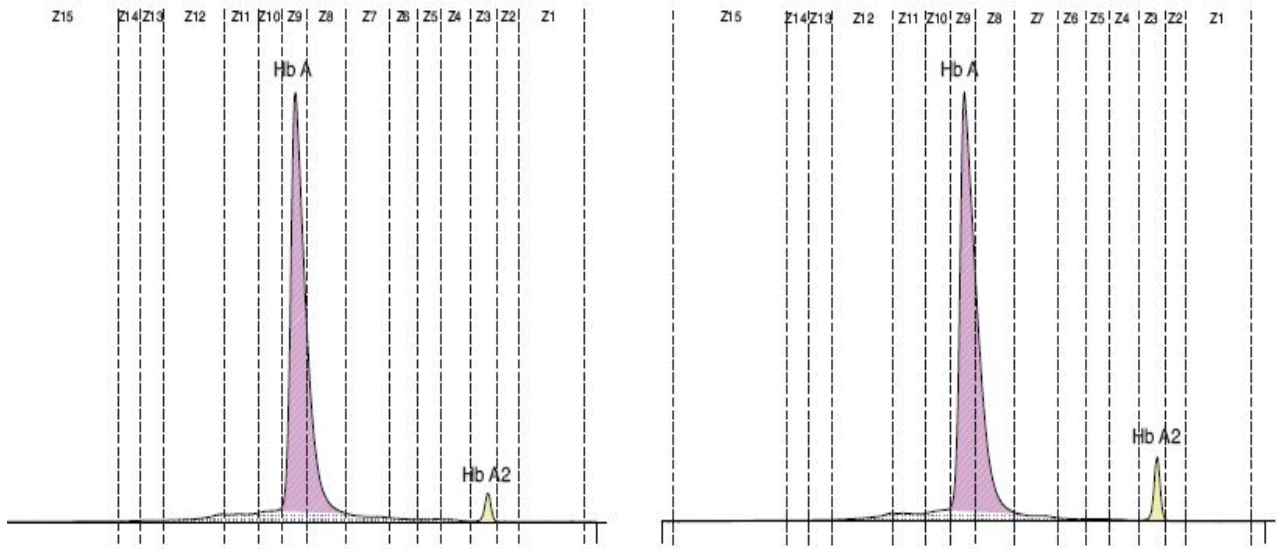


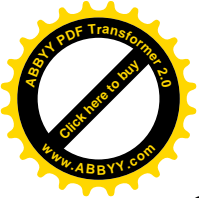
Figure 12. Profile électrophorétique d'un sang normal **Figure 13.** Profile électrophorétique d'un sang β- thalassémique hétérozygote

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %
Hb F < 0, 5 %
Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

Hb A = 94, 5 %
Hb A2 = 5, 5 %

Dans la technique CAPILLARYS HEMOGLOBINE, les valeurs des différentes hémoglobines normales obtenues permettent de détecter les cas des β-thalassémies (**figure 12**).

Un taux d'Hb A₂ supérieur à 3,5 %, généralement entre 4 et 8 %, est le plus souvent associé à une β –thalassémie hétérozygote (**figure13**) (Elion et Ducrocq, 1991), alors que chez le sujet normal, il est entre 2,2 et 3,2 %. Il faut savoir que la majorité des β -thalassémies hétérozygotes ne présentent pratiquement aucune des anomalies habituelles (un pseudo polyglobulie microcytaire), y compris l'élévation de l'Hb A₂ (Cao et al, 1995). Par ailleurs, l'Hb A₂ peut s'élever modérément au cours d'anémies mégalo-blastiques, d'hyperthyroïdies ou d'érythro-leucémies (Steinberg et Adams, 1991).



La β-thalassémie hétérozygote est détectée au cours d'une enquête familiale. L'intérêt du dépistage des hétérozygotes est le conseil génétique.

V.1.2. Les β- thalassémies homozygotes

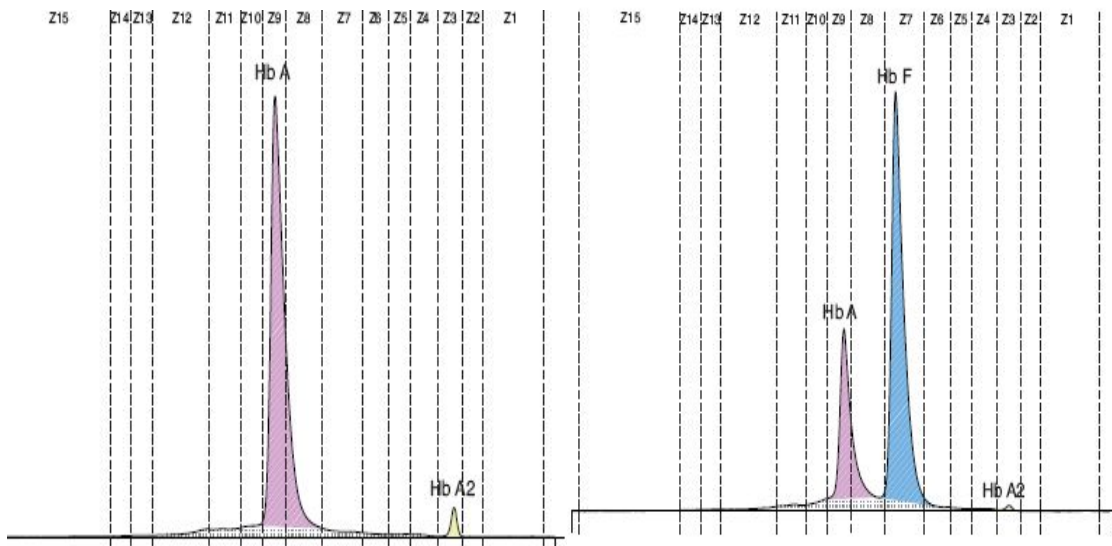


Figure12. Profile électrophorétique d'un sang normal
Figure14. Profile électrophorétique d'une β-thalassémie homozygote

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %

Hb F < 0, 5%

Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

Hb A = 5 à 45 %

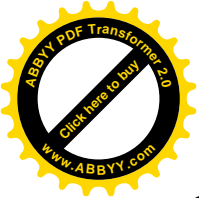
Hb F = 50 à 80 %

Hb A2 = 3 à 7 %

Chez l'adulte normal, le taux d'Hb F est inférieur à 0,5 % mais il existe des variations génétiques et liées à l'âge(Maier-Redelsperger et Girot, 1996) (**figure14**). La coexistence d'un taux d'Hb F entre 50 et 80 % et d'une anémie microcytaire hypochrome évoque une β-thalassémie majeure (Bardakjian-Michau et *al*, 2003). En effet, il existe une répartition hétérogène de l'Hb F dans les hématies : une population d'hématies contient de l'Hb F, l'autre non (Montalembert, 2002).

Un taux élevé d'Hb F sans anémie, ni microcytose, ni signes cliniques correspond en général à unePHHF (Elion et Ducrocq, 1991).

La persistance d'Hb F après la période néonatale, persistance dont le mécanisme est encore mal compris. On l'explique partiellement par une sélection des cellules contenant de



l'HbF, mais une augmentation absolue de synthèse est également possible, expliquant alors une moindre gravité de l'évolution. Comment cette surproduction serait contrôlée est un domaine de recherche très exploré (Forget, 2001).

V.1.3. Les drépanocytoses homozygotes

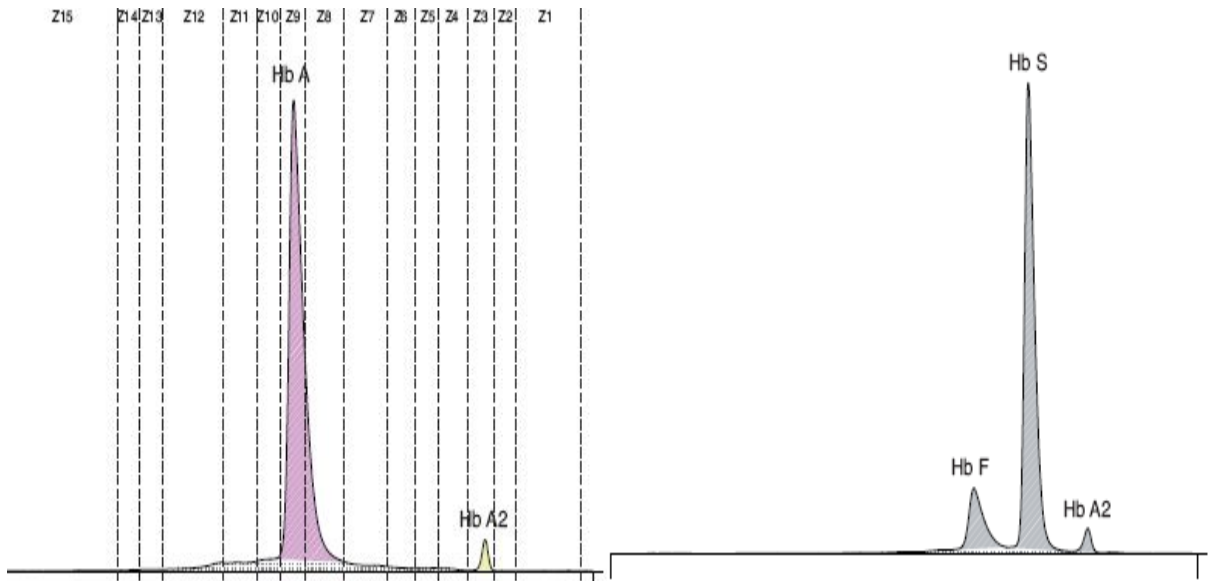


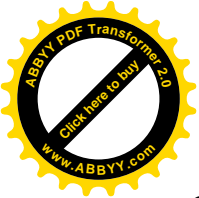
Figure12. Profile électrophorétique d'un sang normal
HbS

Hb A = 96,8 à 97,8 %
Hb F < 0,5 %
Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

Figure15. Profile électrophorétique d'un sang avec variant homozygote

Hb S = 77 à 98 %
Hb F = 2 à 20 %
Hb A2 = 2 à 3 %

La drépanocytose est due à une mutation d'un acide glutamique de la chaîne β (acide aminé n°6) par une valine (acide aminé neutre) (Basset, 1978) : elle présente ainsi un point isoélectrique augmenté par rapport à l'hémoglobine A (Bardakjian-Michau et al, 2003). Sa charge négative globale est donc diminuée au pH de l'analyse : cette hémoglobine migre plus rapidement que l'hémoglobine A. Dans la technique CAPILLARYS HEMOGLOBINE, en tampon alcalin, l'hémoglobine S migre entre les fractions A et A2, à environ 1/3 de la distance A-A2, coté A2 (figure 15).



Il existe une absence d'Hb A, deux cas peuvent se présenter : soit l'Hb S est nettement majoritaire et elle est en général associée à une bande minoritaire d'Hb F, soit l'Hb S est associée à une autre hémoglobine anormale (Vovan, 1985). Dans le premier cas de figure, un taux d'Hb S en moyenne entre 77 et 98 % permet d'évoquer une drépanocytose homozygote SS associée ou non à une α -thalassémie, ou un syndrome drépanocytaire $S\beta^0$; en cas de trait α -thalassémique associé, il peut y avoir atteinte d'un seul gène (sujets SS $\alpha^-/\alpha\alpha$) ou de deux gènes (SS α^-/α^-). Chez tous ces sujets, une bande F de faible intensité (de 5 à 10 % en moyenne) est visible (Galactéros, 1995; Lubin *et al*, 1991).

Dans le cas de PHHF associée à de l'Hb S (sujets S PHHF), le taux d'Hb F est de l'ordre de 30 % et ces sujets ne sont pas anémiques. Enfin, rappelons qu'un traitement des drépanocytaires par hydroxyurée fait augmenter le taux d'Hb F, qui peut alors s'élever jusqu'à 25 % (Ferster *et al*, 1996).

V.1.4. Les drépanocytoses hétérozygotes

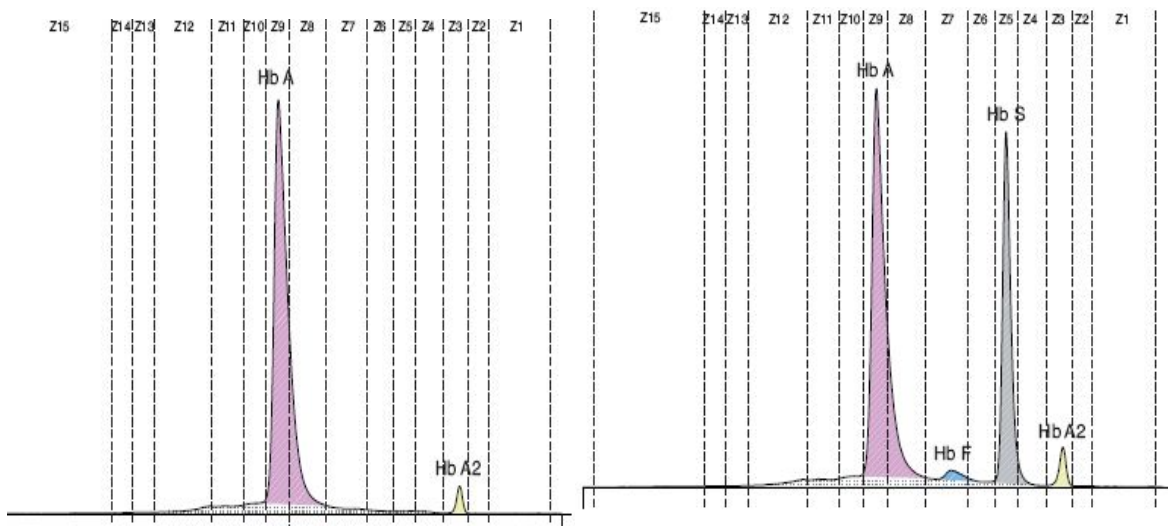


Figure 12. Profil électrophorétique d'un sang normal

Figure 16. Profil électrophorétique d'un sang avec variant hétérozygote HbS

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %

Hb F < 0, 5%

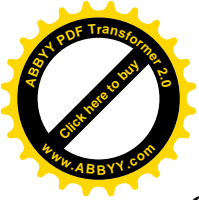
Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

Hb S = 33, 6 %

Hb A = 61, 6 %

Hb F = 1, 8 %

Hb A2 = 3, 0 %



CHAPITRE V

Résultats et discussion

La drépanocytose hétérozygote est caractérisée par la présence d'Hb A (Cao, 1996; Steinberg, 1999). Il est alors important de quantifier les différentes fractions A, A₂ et S (Joutovsky et *al*, 2004) (**figure16**). En l'absence de trait thalassémique associé, l'Hb S représente une fraction de l'ordre de 33, 6 % de l'hémoglobine totale. Les sujets AS ont un hémogramme normal et sont cliniquement asymptomatiques (Galactéros, 1995).

Un taux d'Hb S inférieur à 30 % est en faveur d'un α -thalassémie mineure associée à la drépanocytose hétérozygote AS. En revanche, un taux d'Hb S supérieur à 50 % évoque l'association d'une drépanocytose hétérozygote avec une β^+ -thalassémie (S/ β^+), l'Hb S étant, rappelons-le, un variant de la chaîne β . Dans ce cas, l'Hb A représente alors 5 à 20 % de l'hémoglobine totale. Ces sujets S/ β^+ présentent une microcytose avec ou sans anémie, et un taux d'Hb A₂ élevé (≥ 5 %) (Galactéros, 1995).

Tableau 4 : Caractéristiques biologiques des syndromes drépanocytaires

(Kafando et *al*, 2008).

	Normale	SS	SC	S β^0 Thal	S β^+ Thal
Hb (g/dl)	12-16	7-9	10-12	7-9	9-12
Electrophorèse de l'Hb (%)					
A	97-98	0	0	0	1-25
S	0	77-98	50	80-90	55-90
F	<2	2-20	<5	5-15	5-15
A2	2-3	2-3	-	4-6	4-6

V.1.5. L' hémoglobine C (hétérozygote)

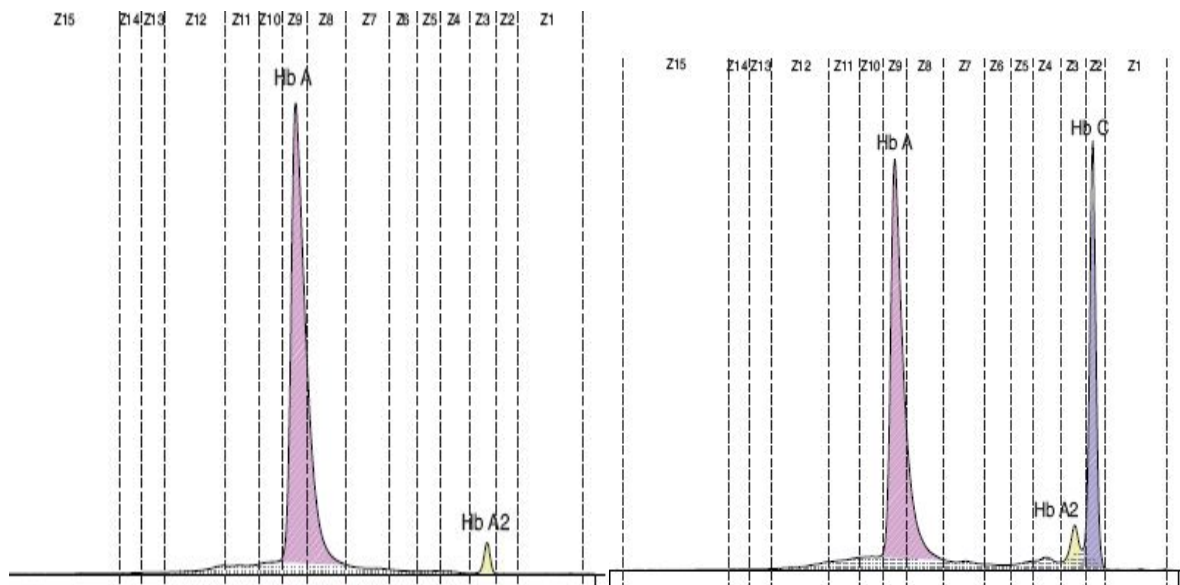


Figure12. Profile électrophorétique d'un sang normal

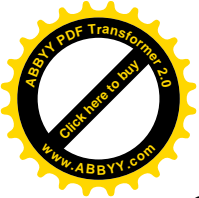
Figure17. Profile électrophorétique d'un sang avec hémoglobine C hétérozygote

Hb A = 96,8 à 97,8 %
Hb F < 0,5 %
Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

HbA = 66,5 %
Hb A2 = 2,5 %
Hb C = 31,0 %

L'hémoglobine C est due à une substitution d'un acide glutamique de la chaîne β par une lysine (acide aminé basique n°6) (Krauss et al, 1986); elle présente ainsi un point isoélectrique augmenté par rapport à l'hémoglobine A. Sa charge négative globale est donc diminuée au pH de l'analyse : cette hémoglobine migre plus rapidement que les hémoglobines A et A2, dont elle est partiellement séparée, ce qui améliore nettement le diagnostic médical (**figure17**).

Les hétérozygotes (A/C) peuvent être assimilés aux hétérozygotes (AS) (Maier-Redelsberger et Girot, 1989), ils ne manifestent aucun symptôme de la maladie, à l'exception du risque génétique de transmettre le gène anormal à chaque procréation (Oda et al, 1997). Ils sont détectés au cours d'une enquête familiale (Schneider, 1978).



V.1.6. Les doubles hétérozygotes (S/C)

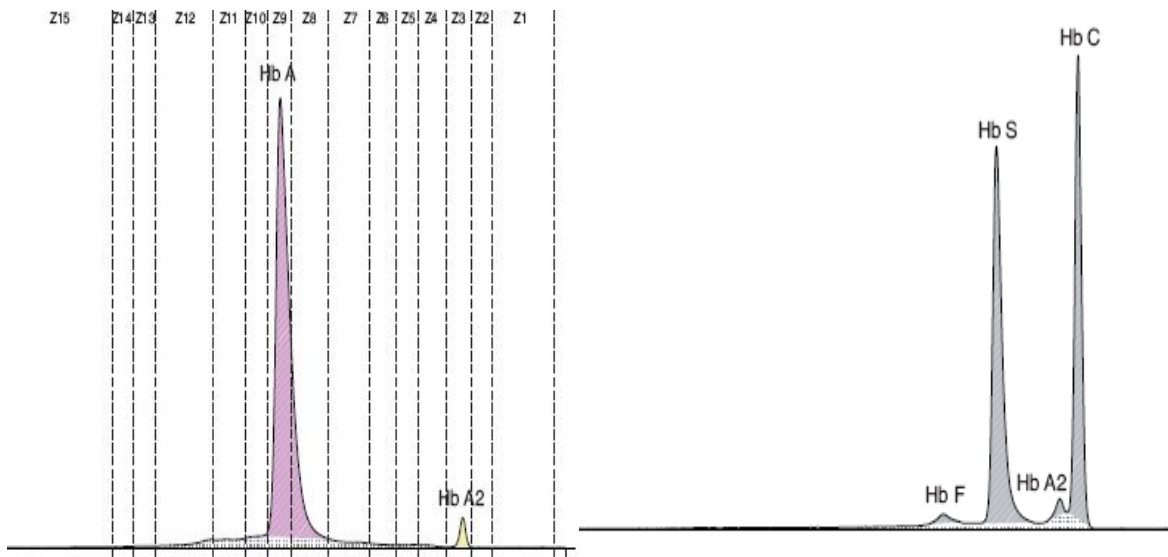


Figure12. Profile électrophorétique d'un sang normal

Figure18. Profile électrophorétique d'un sang avec double hétérozygote S/C

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %

Hb S = 54, 1 %

Hb F < 0, 5 %

Hb F = 1, 5 %

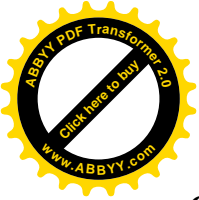
Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

Hb A2 = 2, 3 %

Hb C = 42, 1 %

Les hétérozygotes composites (SC), chez qui l'électrophorèse de l'hémoglobine montre 50% d'HbC et 50% d'HbS (figure18), associé à une anémie modérée microcytaire ou normocytaire (Galactéros, 1986).

Ils doivent être considérés comme des drépanocytaires homozygotes SS, bien que la symptomatologie soit en général un peu moins sévère que chez les sujets SS (Huisman et Jonxis, 1977 ; Kafando et al, 2008).



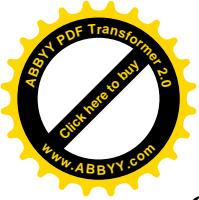
V.2. Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Batna

Tableau 5. Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Batna

effectif commune de	β .thalassémies hétérozygotes AF	β .thalassémies homozygotes FF	Drépanocytoses homozygotes SS	Drépanocytoses hétérozygotes AS	Hémoglobinoses AC	Double Hétérozygote S/C
Timgad	2	2	1	6	0	0
Tazoult	0	1	2	2	0	0
Ain-touta	0	1	1	1	0	0
Sarryana	0	0	0	0	1	0
Arris	3	3	2	3	0	0
Bouhmama	2	3	1	3	0	0
Chlia	1	1	2	1	0	0
Maâdher	0	2	0	1	0	0
Djarma	0	1	1	0	0	1

D'après les résultats du tableau n°5 nous avons confirmé l'existence de différents types des hémoglobinopathies chez la population de la région de Batna et qui sont répartis de façon irrégulière.

50 cas d'hémoglobine anormale ont été diagnostiqués, répartis de la manière suivante :



Les hémoglobinopathies identifiées sont classées par fréquence décroissante comme suit : Les drépanocytoses (homozygotes et hétérozygotes) puis les β -thalassémies (homozygotes et hétérozygotes) et enfin l'hémoglobinosose C et l'hétérozygote composite S/C ont la même incidence, à titre d'exemple, dans notre expérience.

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

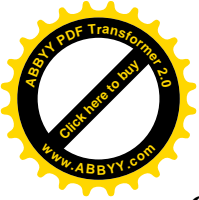
Aujourd'hui, les mouvements de populations, les métissages et surtout les mariages consanguins conduisent à une diffusion de plus en plus large de ces anomalies.

L'hémoglobinosose S ou drépanocytose est de loin l'anomalie d'hémoglobine la plus fréquemment observée. Cette pathologie se rencontre dans les régions tropicales et subtropicales (O'keefe et Warma, 1991).

Elle est fréquente en Afrique, dans toutes les régions où les natifs d'Afrique sont retrouvés (Antilles, continent nord-américain) (Giroto, 1999 ; Mac Donald et al,1999; Whiteheade et al, 1998), mais aussi sur l'ensemble du pourtour méditerranéen (Maghreb, Sicile, Grèce, Moyen-Orient) (Giabmonaa et al, 1997).

Les β -thalassémies, sont fréquemment identifiées chez des sujets originaires du pourtour méditerranéen (Italie, Sardaigne, Sicile, Grèce, Afrique du Nord), mais elles sont également rencontrées chez des sujets originaires d'Afrique noire et d'Asie (Iran, Inde, Viêt-nam, Thaïlande) (Rosa et al, 1993).

L'hémoglobinosose C, est représentée chez les Africains mais aussi chez les Noirs américains et les Maghrébins (Rosa et al, 1993).



V.3. Répartition de la population selon l'âge et le sexe des sujets

Tableau 6. Répartition de la population selon l'âge

Classe d'âge	[0-5]	[5-10]	[10-15]	[15-20]	[20-25]	[25-30]	[30-35]
Drépanocytose homozygote	10	0	0	0	0	0	0
β-thalassémie homozygote	14	0	0	0	0	0	0
Double hétérozygote S /C	0	1	0	0	0	0	0
Drépanocytose hétérozygote	1	2	1	2	6	0	4
Thalassémie hétérozygote	0	0	2	1	3	0	2
Hétérozygote C	0	0	0	0	0	1	0

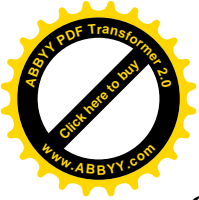
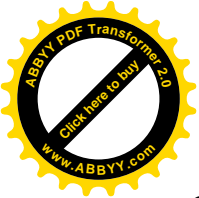


Tableau 7. Répartition de la population selon le sexe des sujets

Sexe	F	M
Drépanocytose homozygote	3	7
β-thalassémie homozygote	6	8
Double hétérozygote S /C	1	0
Drépanocytose hétérozygote	10	6
Thalassémie hétérozygote	4	4
Hétérozygote C	0	1
Pourcentage (%)	48	52

D’après nos résultats (**tableau 6**), les formes homozygotes (drépanocytose et β-thalassémie) ont été détectées chez les enfants âgés inférieurs de 5 ans, la double hétérozygote S/C est identifiée chez un enfant de 6 ans, pour les formes hétérozygotes sont détectées à tout les âges. Nos résultats (**tableau 7**), confirme aussi que cette pathologie peut toucher approximativement les deux sexes. D’après Bernard et *al*, 1998, la drépanocytose homozygote est une maladie très grave qui se révèle dès la petite enfance par une altération générale, et une anémie hémolytique chronique débutant dès le sixième mois de vie d’un enfant présentant d’une splénomégalie (Vanbourdolle et *al*, 2007). Elle est mortelle avant 20 ans dans la majorité des cas (Bernard et *al*, 1998).

Pour la β-thalassémie homozygote, les signes cliniques débutent entre le troisième et le sixième mois de la vie. Ces enfants ne présentent pas d’anémie à la naissance. Les cellules érythropoïtiques médullaires ne subissent pas après la naissance la répression au niveau du



gène γ et synthétisent l'HbF ($\alpha 2\gamma 2$), la synthèse d'Hb A2 ($\alpha 2\delta 2$) étant possible (Vanbourdolle et al, 2007). Les sujets hétérozygotes (drépanocytose, β -thalassémie et Hb C) ont une espérance de vie ne diffère pas de celle des sujets normaux (Bernard et al, 1998).

Le double hétérozygote S/C apparaît chez l'enfant entre 3 et 10 (Araujo et al, 1996). La transmission autosomique d'hémoglobinopathies prédise une fréquence égale parmi les deux sexes (Stryer, 2003).

V.4. Variation du nombre des globules rouges chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes

Tableau 8. Variation du nombre des globules rouges chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
Nombre des GR ($10^6 /mm^3$)	5,109 \pm 0,2110	6,244 \pm 0,3990 *

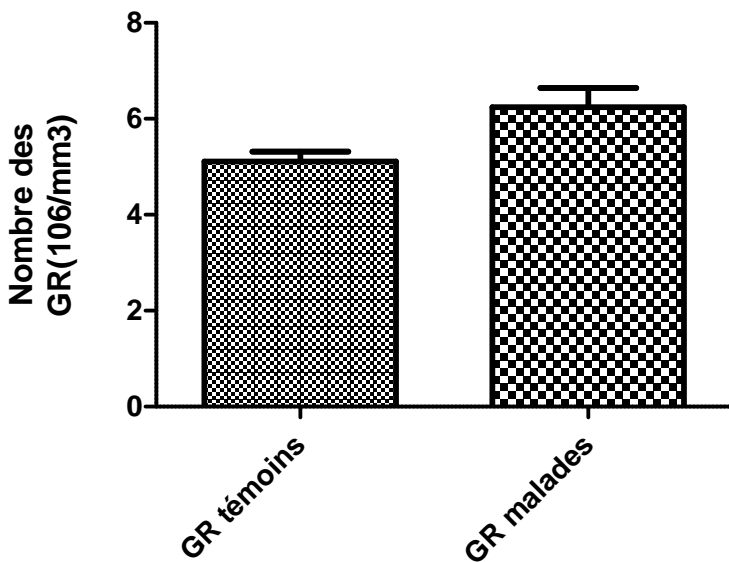
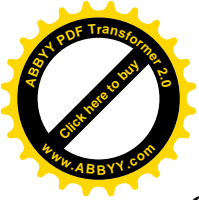


Figure 19. Variation du nombre des globules rouges ($10^6/mm^3$) chez les malades de β thalassémies hétérozygotes. (p= 0,0124).



Les résultats obtenus montrent qu'il n'existe pas de différence statistiquement significative du nombre des hématies ($p= 0,0124, <0,05$) chez ces malades ($6,244 \pm 0,3990$) par rapport aux témoins ($5,109 \pm 0,2110$) (**Figure19**). Selon Thein1993, les sujets porteurs sont asymptomatiques et que les signes biologiques sont l'augmentation du nombre de globules rouges. Les sujets porteurs d'une β -thalassémie hétérozygote sont bien-portants. Ils ne sont pas anémiques ; exceptionnellement, une splénomégalie de petite taille peut être palpée sous le grill costal. Le frottis sanguin peut montrer une anisocytose et une poïkilocytose.(Bruneteau, 2000).

À l'état hétérozygote, l'hémogramme des sujets β -thalassémiques montre classiquement un pseudo polyglobulie (hématies $> 5,8.10^{12}/l$) (Cao et al, 1995). La valeur normale des érythrocytes est $4,2-5,7 (10^6 / mm^3)$.

Pour la β -thalassémie mineure: il n'y a pas de symptomatologie clinique. Il peut cependant exister une légère splénomégalie. La biologie montre une microcytose sans anémie ou seulement modérée, un pseudoglobulie avec des globules rouges > 5 à 7 millions/ mm^3 , une hypochromie et une HbA2 $> \text{à } 3,5$ (Dominique, 2008).

V.5.Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes

Tableau 9. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
Taux de l'Hb (g/dl)	$14,79 \pm 0,2271$	$12,44 \pm 0,4792$ ***

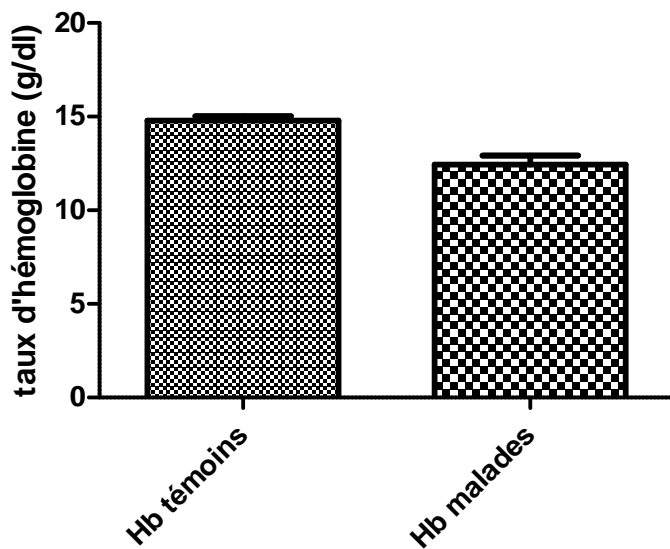


Figure 20. Variation du taux de l’hémoglobine (g/dl) chez les malades de β-thalassémies hétérozygotes (P < 0.05)

D’après nos résultats, on n’enregistre aucune différence significative (P < 0.05) du taux de l’hémoglobine entre les témoins (14,79 ± 0,2271) et les malades (12,44 ± 0,4792) (**Figure20**) (le taux normale de l’hémoglobine varie de 13 à 16 g/dl)(Vanbourdolle et *al*, 2007) dans chaque hématie microcytaire, la quantité d’hémoglobine est diminuée mais l’anémie n’est pas toujours présente .Biologiquement, le taux d'hémoglobine est normal ou discrètement diminué (entre 10 et 13 g/dl)(Al-Refaie et *al*, 1995).

V.6.Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) chez les malades de β-thalassémies hétérozygotes

Tableau 10. Variation du volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) chez les malades de β-thalassémies hétérozygotes :

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
VGM (fl)	91, 29 ± 1,457	71, 90 ± 4,638**
TCMH (pg)	30, 13 ± 0, 5492	21, 76 ± 1,720***

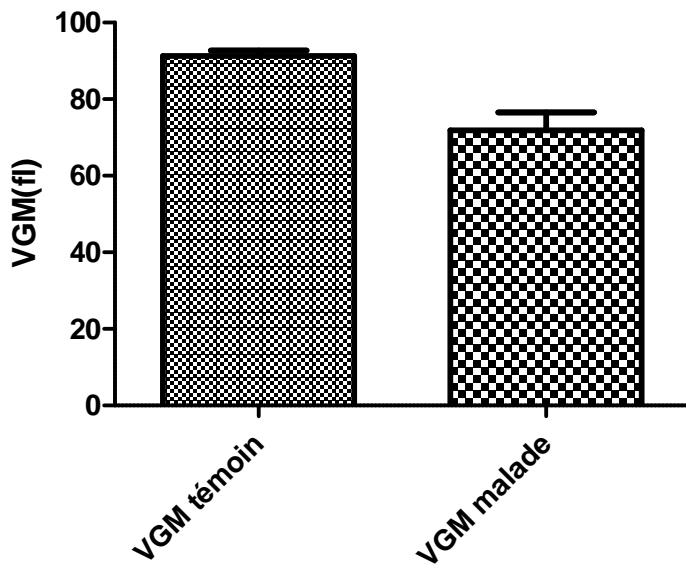
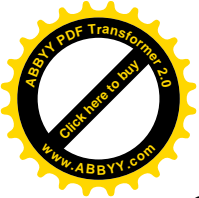


Figure21. Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes ($P < 0.05$).

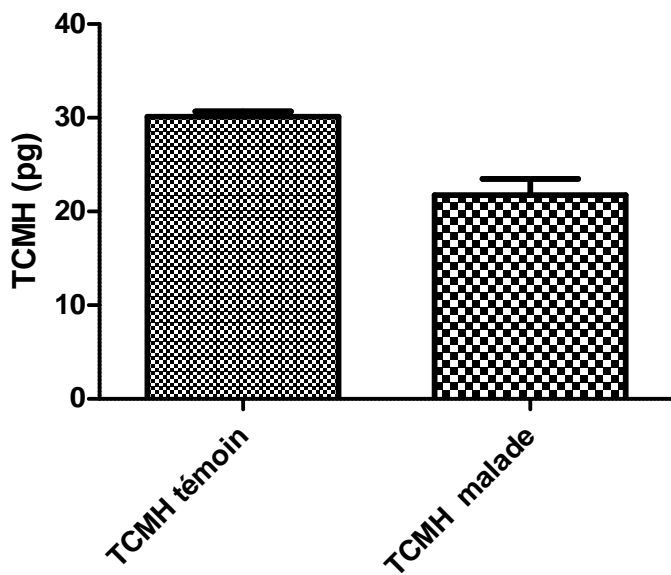
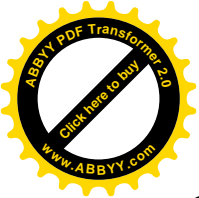


Figure22. Variation du teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies hétérozygotes ($P < 0.05$).



Les résultats obtenus montrent qu'il existe une différence statistiquement significative du volume globulaire moyen ($P < 0.05$) chez ces malades ($71, 90 \pm 4,638$) par rapport aux témoins ($91, 29 \pm 1,457$) (**Figure21**). Le VGM enregistré est inférieur à la normale. (Les valeurs normales varient de 85 à 95 fl). Selon Araujo et al, 1996; les deux signes biologiques caractéristiques sont la microcytose (volume moyen cellulaire < 80 fl) avec une élévation de l'hémoglobine A₂ ($> 3,5\%$).

Ce dernier signe peut être masqué par une carence en fer, c'est pourquoi, en pratique, on peut être amené à faire un contrôle biologique après un traitement martial de quelques semaines, si le fer sérique est bas au premier examen. La β -thalassémie est cliniquement asymptomatique. Sur le plan hématologique, c'est une pseudo polyglobulie modérée associée à une hypochromie et une microcytose constante (Forget, 2001).

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une diminution significative (***) : $P < 0.05$) du TCMH chez ces malades ($21, 76 \pm 1,720$) par rapport aux témoins ($30, 13 \pm 0, 5492$) (**Figure22**). La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine est diminuée par rapport aux valeurs normales (29 ± 2 pg). Selon Vanbourdolle et al, 2007; les troubles cliniques et hématologiques observées lors des β - thalassémies varient selon l'importance de déficit. Ils sont la conséquence du défaut de production d'hémoglobine par défaut de synthèse des chaînes. Ces troubles sont discrets chez les sujets hétérozygotes mais toujours très grave chez l'homozygote .Un taux intra érythrocytaire en hémoglobine TCMH inférieur à 27 pg doit altérer et faire rechercher ces anomalies.

V.7.Variation du nombre des globules rouges ($10^6/mm^3$) chez les malades de β -thalassémies homozygotes

Tableau 11. Variation du nombre des globules rouges chez les malades de β -thalassémies homozygotes

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
Nombre des GR ($10^6/mm^3$)	$5,006 \pm 0,1538$	$4,220 \pm 0,2778^*$

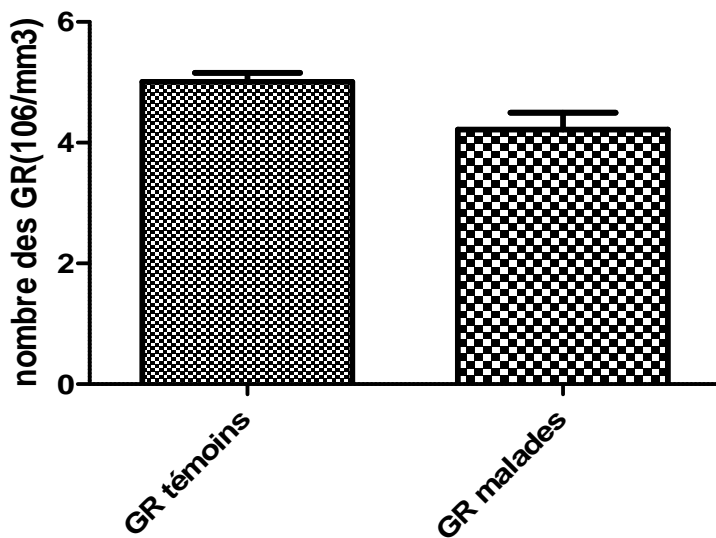


Figure23. Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de β -thalassémies homozygotes ($P < 0.05$)

Nos résultats révèlent, une diminution significative ($P < 0,05$) des hématies chez nos patients ($4,220 \pm 0,2778$) par apport aux témoins ($5,006 \pm 0,1538$) (**Figure23**)

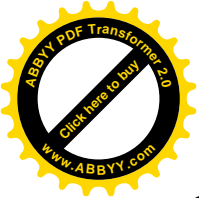
D'après Hagege et *a*, 2001 ; il n'y a pas d'anémie à la naissance puisque l'Hb F est le principal constituant de l'hémoglobine à ce moment de la vie. C'est au cours des premiers mois, lors de la commutation des hémoglobines, que le déficit de synthèse en chaînes β s'accompagne d'une augmentation relative des chaînes alpha au sein de l'érythroblaste. Le rapport de synthèse des chaînes de globine bêta ²sur alpha peut être mesuré dans les réticulocytes ; il est inférieur à 0,5 (normale = 1). Dans l'érythroblaste, l'excès relatif de chaînes alpha précipite sous la forme d'inclusions (Corps de Fessas), toxiques pour les membranes cellulaires et nucléaires. La lésion de ces membranes est responsable d'une destruction de l'érythroblaste dans la moelle (Beris et *al*, 1991). Cette dysérythropoïèse intéresse essentiellement les érythroblastes

polychromatophiles et acidophiles. (Weatherall et Clegg, 1981). L'érythropoïèse inefficace qui en résulte est le principal mécanisme de l'anémie dans la β -thalassémie homozygote. Certains érythroblastes, notamment ceux qui synthétisent de l'Hb F, parviennent à donner naissance à un réticulocyte, puis à un globule rouge mature qui passe dans le sang périphérique. L'hématie circulante, appauvrie en hémoglobine (hypochromie), déformée (poïkilocytose), a une demi-vie raccourcie et rend compte du deuxième mécanisme de l'anémie: l'hyperhémolyse. La plupart des érythroblastes étant détruits dans la moelle, l'anémie est peu régénérative, moins que ne le voudrait le taux d'hémoglobine circulant si la moelle fonctionnait correctement. Ainsi, l'érythropoïèse inefficace et l'hyperhémolyse sont les deux composants de l'anémie (De Montalembert, 2002), la dysérythropoïèse étant le mécanisme dominant. D'autre part, comme dans toute anémie hémolytique, l'hyperhémolyse peut se compliquer de lithiase biliaire, et l'augmentation du catabolisme des noyaux et de l'ADN qu'ils contiennent explique la tendance à l'hyperuricémie. (Olivieri et al, 1994).

L'examen du frottis sanguin des hématies montre une hypochromie, une anisocytose, une poïkilocytose et une érythroblastose parfois très élevée, jusqu'à 100 000 éléments par mm³



Figure24. Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un β -thalassémique homozygote (MGG x 100).



V.8. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β-thalassémies homozygotes

Tableau 12. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β-thalassémies homozygotes

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
Taux de l'Hb (g/dl)	14,83 ± 0,1412	6,880 ± 0,2553 ***

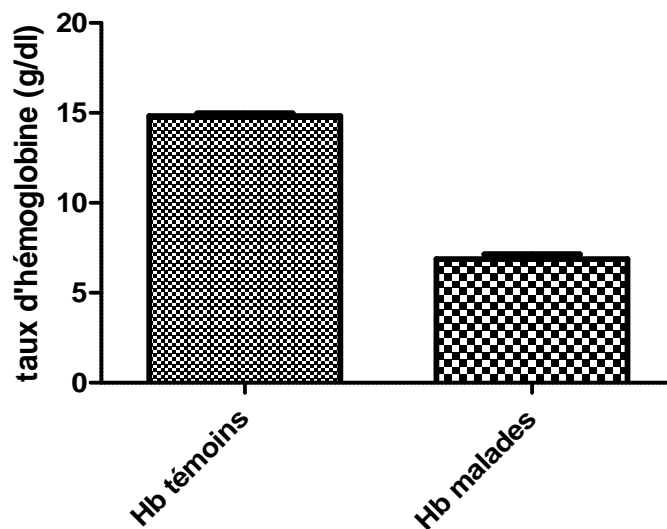
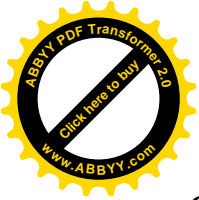


Figure 24. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de β-thalassémies homozygotes (p< 0,0001).

D'après nos résultats, on remarque un allongement très hautement significatif (p< 0,0001) du taux de l'Hb chez les témoins (14,83 ± 0,1412) par rapport aux malades (6,880 ± 0,2553) (Figure24). D'après Girot, 2003, l'hémoglobine A, tétramère α 2 β2 est synthétisée en quantité



extrêmement réduite ou nulle ou cours des β -thalassémies majeurs, proportionnelle au déficit de synthèse de la globine β .

La synthèse des chaînes α n'est pas affectée par le déficit en chaînes β ; or ces chaînes α célibataires sont instables et précipitent dans les érythroblastes. Cet excès de chaîne α libre induit des oxydations anormales, aboutit à la mort cellulaire et est responsable de l'érythropoïèse inefficace observée dans cette maladie(Drefys, 1992; Maier et Girot, 1996).

V.9. Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies homozygotes

Tableau 13. Variation du volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies homozygotes

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
VGM (fl)	91,78 \pm 1,221	63,80 \pm 2,014 ***
TCMH (pg)	29,86 \pm 0,4044	20,47 \pm 0,6023 ***

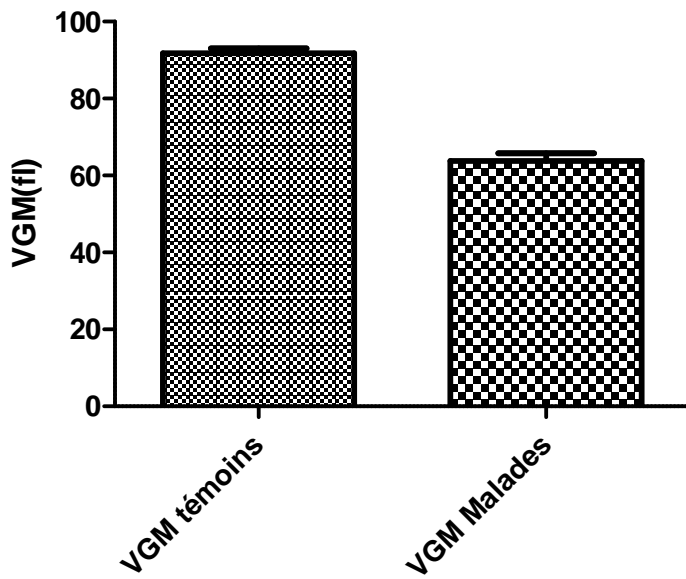


Figure26. Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) chez les malades de β -thalassémies homozygotes ($P < 0, 0001$).

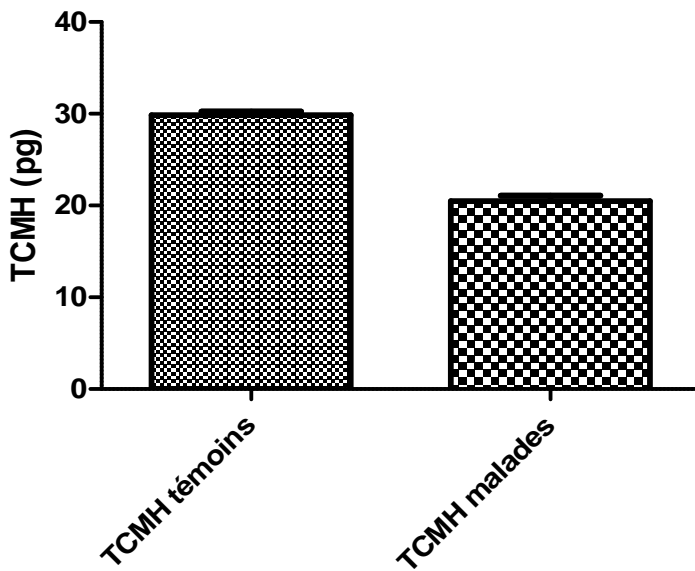
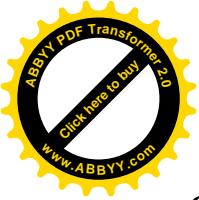


Figure27. Variation du teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de β -thalassémies homozygotes ($P < 0,0001$).



L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une diminution très significative de volume globulaire moyen ($P < 0,0001$) chez ces malades ($63,80 \pm 2,014$) par rapport aux témoins ($91,78 \pm 1,221$) (**figure26**).

L'hémogramme révèle une anémie ($Hb < 70$ g/l), microcytaire (VGM : 60-65 fl), hypochrome (TCMH < 26 pg), avec réticulocytose, moins élevée que ne le voudrait le degré de l'anémie. La moelle est très riche en érythroblastes (Bruneteau *et al*, 2000).

L'hémolyse est la conséquence de l'insolubilité des chaînes alpha qui provoquent une altération membranaire de l'hématie, le défaut de production d'hémoglobine entraîne une anémie microcytaire hypochrome (Vanbourdolle *et al*, 2007).

Selon nos résultats, on ne constate qu'une diminution significative de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ($P < 0,0001$) chez ces malades ($20,47 \pm 0,6023$) par rapport aux témoins ($29,86 \pm 0,4044$) (**figure27**). Selon Vanbourdolle *et al*, 2007; le défaut de production d'hémoglobine entraîne une anémie microcytaire hypochrome. L'hémogramme révèle une anémie souvent microcytaire, hypochrome (teneur globulaire moyenne en hémoglobine inférieure à 26 pg) (Giro, 2003).

V.10.Variation du nombre des globules rouges ($10^6/mm^3$) chez les malades de drépanocytose homozygote

Tableau 14. Variation du nombre des globules rouges chez les malades de drépanocytose homozygote

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
Nombre des GR ($10^6/mm^3$)	$5,009 \pm 0,1773$	$3,898 \pm 0,2045^{***}$

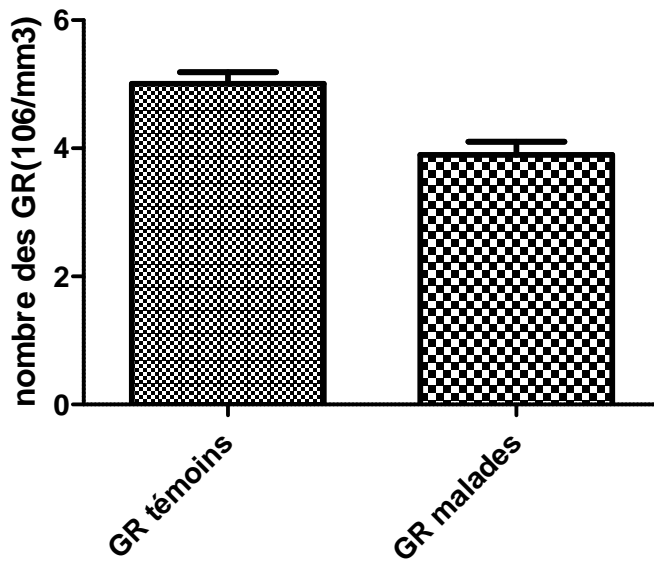


Figure28. Variation du nombre des globules rouges ($10^6 /\text{mm}^3$) chez les malades de drépanocytose homozygote ($P < 0.05$).

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une diminution statistiquement significative du nombre des hématies ($P < 0.05$) chez les malades ($3,898 \pm 0,2045$) par rapport aux témoins ($5,009 \pm 0,1773$) (**figure28**). Selon Vanbourdolle et *al*, 2007 ; la solubilité de la forme oxygénée de l'hémoglobine S est identique à celle de l'hémoglobine normale. En revanche sous forme désoxygénée cette hémoglobine S est moins soluble que l'hémoglobine A. Elle peut alors se polymériser selon un processus coopératif et permettre la rigidification, l'agglutination et la falciformation es hématies. De ce fait se produit une hémolyse exagérée ; entraînant une anémie.

Le frottis sanguinmontre la présence des hématies falciformes.

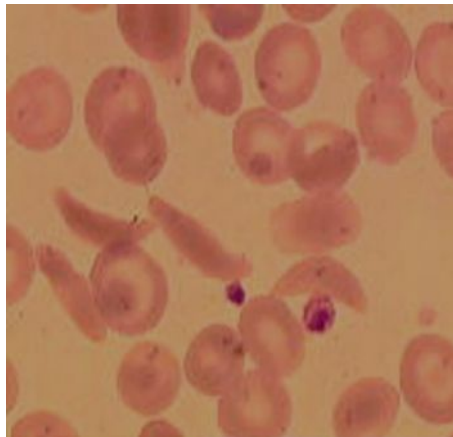


Figure29. Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire

(Hématies falciformes) (MGG x 100).

V.11.Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote

Tableau 15. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
Taux de l'Hb (g/dl)	14,81 ± 0,1977	6,910 ± 0,238 ***

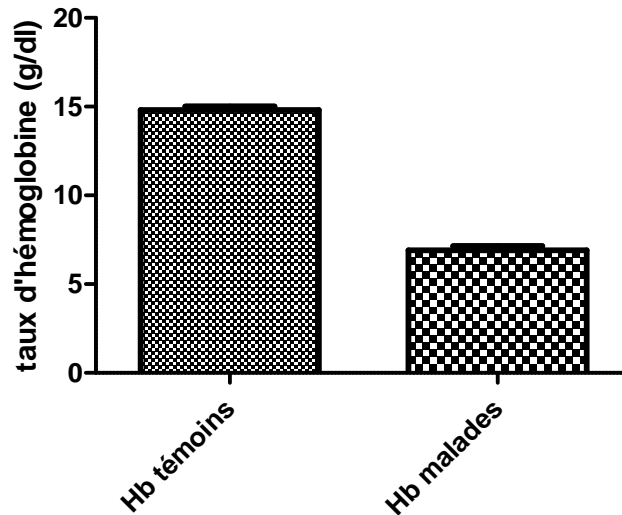
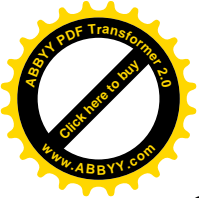


Figure 30. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote ($P < 0,0001$)

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une diminution très hautement significative ($p < 0,0001$) du taux de l'hémoglobine chez ces malades ($6,910 \pm 0,238$) (**Figure 30**) par rapport aux témoins ($14,81 \pm 0,1977$). Selon Kafando et al, 2008 ; le mécanisme moléculaire est le remplacement par une valine de l'acide glutamique en position 6 de la chaîne de la globine entraînant la production anormale de l'hémoglobine S (Hb S), cause de la déshydratation des globules rouges et d'un défaut de leur déformabilité (drépanocytes) liées à la polymérisation des molécules d'HbS en milieu pauvre en oxygène. Les examens biologiques servent à surveiller l'état basal : numération formule sanguine et réticulocytes avec anémie hémolytique régénérative ($Hb = 7g/dL$), avec hyperleucocytose $\geq 15\ 000 /mm^3$ et hyperplaquettose $> 400\ 000/mm^3$. L'ionogramme sanguin est perturbé en cas de déshydratation (hyperprotidémie).



V.12. Variation du volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de drépanocytose homozygote

Tableau 16. Variation du volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de drépanocytose homozygote

Etat/ Test biologique	TEMOINS	MALADES
TCMH (pg)	29,83 ± 0,4793	24,41 ± 0,5789***
VGM (fl)	91,24 ± 1,328	62,88 ± 0,1256 ***

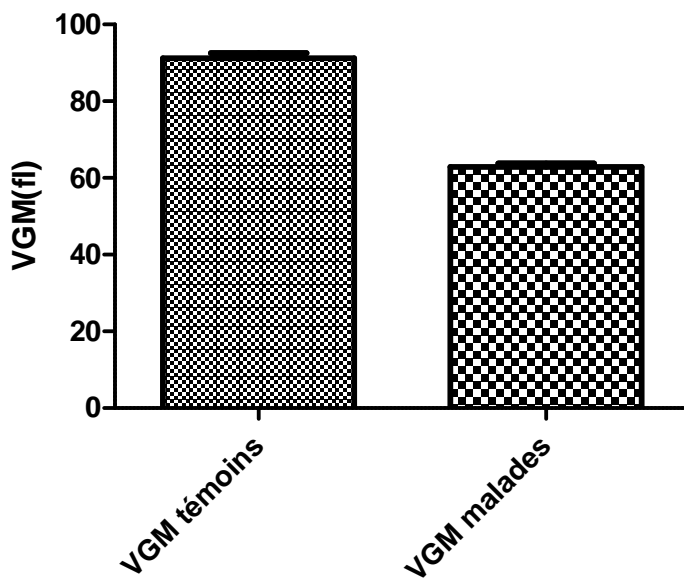


Figure31. Variation du volume globulaire moyen (VGM) (fl) chez les malades de drépanocytose homozygote (p < 0,0001)

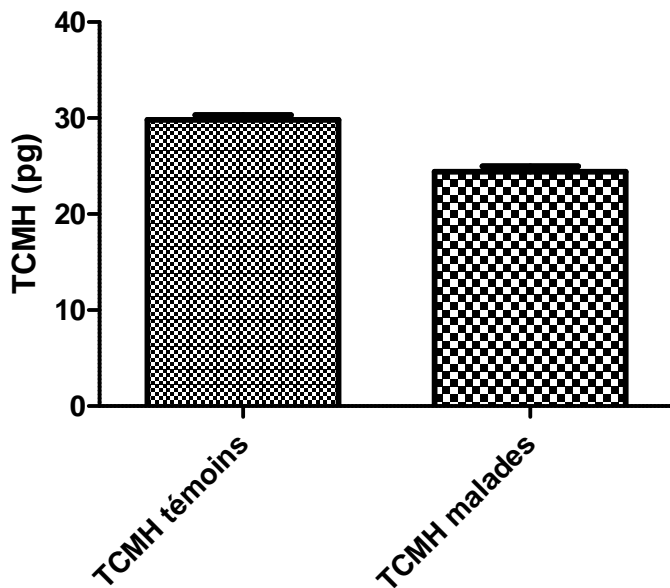
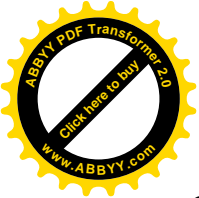


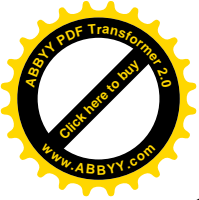
Figure32. Variation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de drépanocytose homozygote (***: $P < 0,0001$)

Les résultats obtenus permettent de constater une diminution statistiquement significative du volume globulaire moyen ($p < 0,0001$) chez ces malades ($62,88 \pm 0,1256$) par rapport aux témoins ($91,24 \pm 1,328$) (**Figure31**). Des anomalies fonctionnelles de la membrane accompagnent la falciformation. Tostson a été le premier à montrer l'augmentation de la perméabilité passive des cations monovalents Na^+ et K^+ au cours de la désoxygénation de courte durée des globules drépanocytaires, sans modification du contenu en eau ni de la quantité totale de cations monovalents (Tostson, 1952; Glader, 1978). Il est suggéré que l'hémoglobine polymérisée modifie l'interaction du cytosquelette et de la membrane en altérant ce réseau. L'asymétrie des lipides de la membrane est perdue en raison de la mobilité accrue des phospholipides entre les deux couches lipidiques.

Nos résultats révèlent une diminution significative ($P < 0,0001$) de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine chez ces malades ($24,41 \pm 0,5789$) par rapport aux témoins ($29,83 \pm 0,4793$) (**Figure32**). L'augmentation de la concentration de l'HbS favorise l'état polymérisé,



augmente la proportion d'hémoglobine polymérisée à une pO₂ donnée aux dépens des molécules libres (Hofrichter et *al*, 1974). La concentration d'HbS varie considérablement d'une cellule à l'autre, en raison de la déshydratation de certaines cellules et de la répartition très hétérogène de l'Hb foetale qui ne participe pas à la polymérisation de l'HbS et qui peut atteindre plus de 25% de l'Hb dans certaines cellules (Diagne et *al*, 2003; Alastair et Wood, 1999).



Conclusion générale

Ce travail porte sur une étude effectuée sur 115 cas suspects d'hémoglobinopathies de la population de la région de Batna. Il nous a permis de démontrer que :

La prévalence des hémoglobinopathies dans la région de Batna est 43,47% par rapport à la population étudiée. On a détecté l'existence de différents types d'anomalies d'hémoglobine et leur répartition géographique. Toutes ces anomalies coexistent dans la même population et les formes combinées sont loin d'être rare.

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

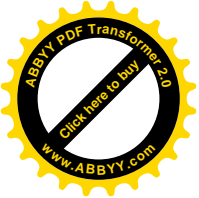
La connaissance des mécanismes des hémoglobinopathies permet d'expliquer et de justifier les signes biologiques de ces états pathologiques. Un homozygotisme (β -thalassémie homozygote) se traduit par une pathologie grave (diminution du taux d'hémoglobine, du nombre des hématies, du TCMH et de VGM). L'hétérozygotisme (β -thalassémie hétérozygote) est en générale mieux supporté, puisqu'il existe des formes clinicobiologiques muettes (pseudo polyglobulie, taux d'hémoglobine normale).

Notons également que des modifications apparence mineurs (changement d'un seul acide aminé) peuvent induire des pathologies très graves (drépanocytose homozygote) et les formes hétérozygotes (drépanocytose hétérozygote et l'hétérozygote C) sont porteurs de la maladie et sont cliniquement asymptomatiques. L'association d'une hémoglobine C et l'hémoglobine S est plus modérée que celui de la drépanocytose homozygote.

Ainsi l'exploration hématologique (l'hémogramme et examen des hématies sur frottis) et biochimique (l'électrophorèse CAPILLARYS HEMOGLOBINE) permet d'une part d'évaluer la prévalence des hémoglobinopathies dans la région de Batna et de préciser le type de l'anomalie hémoglobinique.



L'intérêt de l'étude de ces pathologies est le dépistage des porteurs et la prévention des hémoglobinopathies, mais pas encore pour leur traitement. Cependant les manipulations génétiques pourraient dans un avenir proche, permettre de traiter réellement ces états pathologiques, en rétablissement le génome normal.



Annexe :
 MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE BENFLIS Touhami BATNA

LABORATOIRE CENTRALE D'HEMATOLOGIE

N° : /lab./200....

ETUDE DE L'HEMOGLOBINE

1) ETAT CIVILE DU MALADE DE LA FAMILLE :

- * Nom & Prénom du malade :
- * Age : * Lieu de Naissance :
- * Service : * N° du Lit :
- * Nom et Prénom du Père :
- * Age : * Lieu de Naissance :
- * Nom et Prénom de la Mère : Lieu de Naissance :
- * Adresse :

2) ORIGINES :

- * Commune de :
- * Wilaya de :

3) RENSEIGNEMENTS CLINIQUES/

3-1 Le malade a-t-il été transfusé :

- Groupe ABO & Rhésus: / / - Chronique : / /
- Quand : / / - Ictère splénomégalie : / /
- Combien : / /

3-2 Antécédent Personnels :

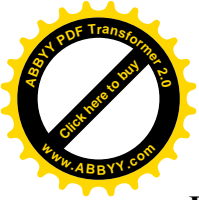
- * Ictère néonatal.
 - S'agit-il d'un premier épisode ? / /
 - Les parents ont-ils présents ces accidents semblables ? / /
 - Les frères & sœurs ont-ils la même maladie ?

* Résultats des examens biologiques :

- GR : / / - Fer Sérique : / /
- Hb : / / - Bilirubine: / /
- TCMH : / / - COOBS: / /
- VGM : / /

DIAGNOSTIC/ Thalassémies / / Drépanocytose / / Autres / /

NB:Fiche de renseignement à remplir à l'occasion d'une demande d'exploration de l'hémoglobine.



Références bibliographiques

Alaistair JJ; Wood MD. ;(1999).Management of sickle cell disease. *N Engl J Med* ; 340: 1021-1030.

Al-Refaie FN; Hershko C; Hoffbrand AV et al. ;(1995). Results of long term deferiprone (L_1) therapy: a report by the International Study Group on Oral Iron Chelators. *Br J Haematol*; 91: 224-9

Araujo A; Kosaryan M; MacDowell A et al. ;(1996) A novel delivery system for continuous desferrioxamine infusion in transfusional iron overload. *Brit J Haematol*; 93: 835-37.

Ataga KI; DeCastro LM ;Swerdlow P; Saunthararajay Y; Smith W. ;(2004). Efficacy and safety of the Gardos channel inhibitor, ICA-17043, in patients with sickle cell anemia. *Blood*; 104 : 33a.

Arthur C ; Guyton MD. ;(1974).Physiologie de l'homme.500p.

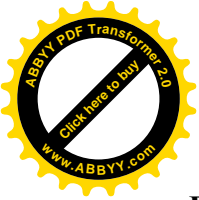
Bachir D ; Beauvais P. ;(1992). Prise en charge des patients drépanocytaires. *Rev Prat* ; 42 : 1900-7

Badens C; North ML; Lena-Russo D. ;(2003).Les β -thalassémies en France métropolitaine. *Presse Med*; 32: 1016-21.

Ballas SK; Smith ED. ;(1992) Red blood cell changes during the evolution of the sickle cell painful crisis. *Blood* ; 79 : 2154-63.

Bardakjian-Michau J; Dhondt JL; Ducrooq R; Galactéros F; Guyard A ; Huchet FX Lahary A ; Lena-Russo D ; Maboudou P ; North ML ; Prehu C ; Soummer AM ; Verschelde M ; Wajcman H. ;(2003). Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. *Ann. Bio. Clin*, 61, 401-409.

Bardakdjian-Michau J ;Guilloud-Bataille M ;Maier-Redelsperger M ;et al. ;(2002).Decrease morbidity in homozygous sickle cell disease detected at birth. *Hemoglobin* ; 26(3) : 211-7.



Basset P; Beuzard Y; Garel MC; Rosa. J .;(1978) .Isoelectric focusing of human hemoglobin : its application to screening, to the characterization of 70 variants, and to the study of modified fractions of normal hemoglobins. *Blood*; 51: 971-82.

Bordessoule D. ;(1992) .Anémies inflammatoires : physiopathologie, diagnostic. *Rev Prat* ; 42 : 2094-5.

Benkerrou M ; Brahimi L ; Denamur E. ;(1999).Information génétique et diagnostic prénatal dans la drépanocytose. *Ann Pédiatr* ; 46 : 470-825.

Beris P ; Kitundu MN ; Baysal E ; et al .;(1991).Black beta-thalassemia homozygotes with specific sequence variations in the 5' hypersensitive site-2 of the locus control region have high levels of fetalhemoglobin. *Am J Hematol* ; 41 : 97-101.

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

**Bunn HF; Forget BG. ;(1986).Hemoglobin : molecular, genetic and clinical aspects. 2nd ed.
Saunders: 456.**

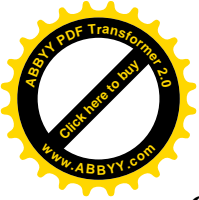
Bradai M ; Abad MT ; Pissard S ; Lamraoui F ;Skopinski L ; de

Montalembert M .;(2003).Hydroxyurea can eliminate transfusion requirements in children with severe β -thalassemia. *Blood*; 102: 1529-30.

Brugnara C ; Franceschi L ; Alper SL .;(1993). Inhibition of Ca (2+) dependent K+ transport and cell dehydration in sickle erythrocytes by clotrimazole and other imidazole derivatives. *J Clin Invest* ; 92 : 520-6.

Bruneteau G; Fenelon G; Khalil A;KanferA;Giot R.; (2000). [Spinal cord compression secondary to extramedullaryhematopoiesis in a patient with thalassemia] *Rev Neurol (Paris)*. ; 156: 510-3.)

Cao A ; Galanello R ; Rosatelli MC .;(1995). Pathologie moléculaire et diagnostic de la beta-thalassémie intermédiaire. *Hématologie* ; 4 : 289-94.



Clarke GM; Higgins T. ;(2000). Laboratory Investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *ClinChem*; 46 : 1284-90.

Crossley M; Orkin SH. ;(1993). Regulation of the beta-globin locus. *CurrOpin Genet Dev* ; 3 : 232-7.

Donze D; Townes TM; Bieker JJ. ;(1995). Role of erythroidKrüppel-like factor in human gamma- to beta-globin gene switching. *J BiolChem* ; 270 : 1955-9.

De Franceschi L ; Corroche R. ;(2004). Established and experimental treatments for sickle cell disease. *Haematologica* ; 89 : 348-56.

De Montalembert M. ;(2002). Syndromes thalassémiques. *Encycl Med Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier), Hématologie, 13-006-D17.*

Diagne I ; Diagne-Gueye NJR ; Signate-Sy H et coll .;(2003).Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant en Afrique : expérience de la cohorte de l'Hôpital d'enfants Albert Royer de Dakar. *Med. Trop.*, 63, 513-520.

Diakite S .;(2005). Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves de al paludisme A. P falciparum : résultats d'études préliminaires in vitro ; 41 :8 -100.

Dominique Labie .;(2008). Les thalassémiques sont protégés contre le paludisme par leur polyglobulie. *Hématologie* ; 14(4):320.

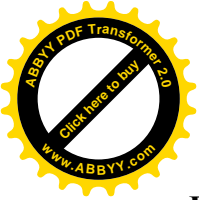
Drefys B; Janine BG; Reyes F; Rochant H; Rosa J and Vernant JP .;(1992).
L'hématologie de Bernard Drefys .1474pages

Eaton WA ;Hofrichter J .;(1990). Sickle cell hemoglobin polymerization. *AdvProteinChem*; 40: 63-2791.

Elion J ; Ducrocq R .;(1991). Le diagnostic des hémoglobinopathies en 1990. *SemHôp Paris* ; 67 : 1118-26.

Embury SH; Lebo RV; Dozy AM; Kan YX .;(1979). Organization of the alpha-globin genes in the Chinese alpha-thalassemia syndromes. *J Clin Invest* ; 63 : 1307-10.).

Faivre-Fiorina et al .;(1998). Les hémoglobines érythrocytaires, plasmatiques et substitives face aux agents oxydants et réducteurs physiologiques .*Ann Bio Clin*, 56 : 545-555.



Favier R ; Ozsahin H ; Laire V ; Douay L. ;(1993). Apport du laboratoire dans le dépistage et le diagnostic des hémoglobinopathies en milieu pédiatrique. *Rev Fr Lab* ; 248 : 53-62.

Forget BG. ;(2001). Molecular mechanisms of beta-thalassemia.. Disorders of hemoglobin. CambridgeUniversity Press: 252-76.

Forestier F ; Mandelbrot L ; Bazin A ; Catherine N ; Giovangrandi Y ; Andreux JP ; Daffos F. ;(1991) Diagnostics anténatals en hématologie. *EncyclMédChir, Hématologie*; 13050 A30, 11 p.

Fossat C ; Camoin-Jaul, Marin V ; Grob F ; David M. ;(1996). Interprétation des anémies chez l'adulte : intérêt des paramètres érythrocytaires. *Feuillets de biologie* ; 37 : 5-12.

Ferster A ; Vermeylen C; Cornu G; Buyse M; Corazza F; Devalck C; Fondu P; Toppet M; Sariban E. ;(1996).Hydroxyurea for treatment of severe sickle cell anemia : a pediatric clinical trial. *Blood*; 88: 1960-4.

Flint J; Harding RM; Boyce AJ; Clegg JB.; (1998). The population genetics of the haemoglobinopathies. *BaillieresClinHaematol*, 11: 1-51.

Friedman DF; Jawad AF; Martin MB; Horiuchi K; Mitchell CF; Cohen AR ;(2003) .Erythrocytapheresis to reduce iron loading in thalassemia. *Blood* ; 102 : 121.

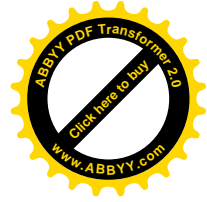
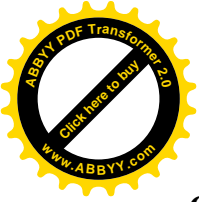
Galacteros F ; Bardakdjian-Michau J ; Briard ML ; et al .;(1996). Détection néonatale de la drépanocytose en France métropolitaine. *ArchPédiatr* ; 3 : 1026-31.

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

Galacteros F .; (1986). Thalassémie, drépanocytose et autres hémoglobinopathies. *Techniques et Biologie*, 3, 174-178.

Giambonaa ; Lo Gioco P ;MarinoM et Coll .;(1995). The great heterogeneity of thalassemia molecular defects in Sicily. *Hum Genet*; 95: 526-30.

Girodon E; Ghanem N; Goossens M .;(1995). Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies. *JIFCC* ; 7 : 54-61.



Girot R. ;(2003). La bêta-thalassémie. Encyclopédie Orphanet. Octobre .

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

Girot R. ;(1994). Thalassémies : physiopathologie et diagnostic .Revue du praticien, 44 : 52-28.)

Grandchamp B; MontgpmeryBISSEI D; Licko V; Schmid R. ;(1981). Formation and disposition of newly synthesizedheme in adult rat hepatocytes in primary culture.JBiolCem; 256 :11677-83

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

Jellum E et al. ;(1997). Diagnostic applications of chromathgraphy and capillary electrophoresis.J. Chromatog.B,689, 155-164.

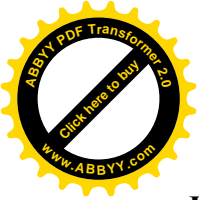
Hagege I; Becker A; Kerdaffrec T; Kanfer A; Girot R. ;(2001). Long-term administration of high-dose deferoxamine 2 days per week in thalassemic patients. Eur J Haematol; 67 : 230-1

Hargrove PW; Vanin EF; Kurtzman GJ; Nienhuis AW. ;(1997). High-level globin gene expression mediated by a recombinant adeno- associated virus genome that contains the 3' gamma globin gene regulatory element and integrates as tandem copies in erythroid cells. Blood ; 89 : 2167-75.

Harper. ;(2003). Précis de biochimie, Presses de l'Université Laval, Québec ; De Boeck université Paris –Bruxelllles , traduction de la 25^e édition américaine .

Hempe JM; Granger JN and Craver RD. ;(1997). Capillary isoelectric focusing of hemoglobin variants. Electrophoresis, 18 1785-1795.

Herrik JB .; (1910). Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of seve re anemia. Arch Intern Med; 6: 517- 521.



Hofrichter J; RossPD; Eaton WA.; (1974). Kinetics and mechanism of deoxyhemoglobin S gelation, a new approach to understanding sickle cell disease. *Proc Nat AcadSci* ; 71:4864-4868.

Higgs DR .;(1993). alpha-Thalassemia. In: Higgs DR&Weatherall DJ. *The haemoglobinopathies, Clinical Haematology.* Bailliere's.

Huisman THJ and Jonxis JHP. ;(1977). *The hemoglobinopathies: techniques of identification.* 456 pages.

Kafando E ; Savadogo LGB ; Ayéroué J et coll. ; (2008). Les syndromes drépanocytaires majeurs : une enquête anonyme auprès du corps médical au Burkina-Faso. *Med. Trop*, 68, 241-246.

Kaplan JC ;Delpech M. ;(1989). Génétique moléculaire de quelques maladies constitutionnelles. In : *Biologie moléculaire et médecine.* Flammarion Médecine-Sciences, Paris , 273-338.

Kuypers FA ; Yuan J ; Lewis RA ; et al. ;(1998). Membrane phospholipid asymmetry in human thalassemia. *Blood*; 91: 3044-51.

Krauss JS; Drew PA; Jonah MH; Trinh M; Shell S; Black L and Baisden CR.; (1986). Densitometry and microchromatography compared for determination of the hemoglobin C and A2 proportion in hemoglobin C and hemoglobin SC disease and in hemoglobin C trait. *Clin. Chem.* 32, 5, 860-863.

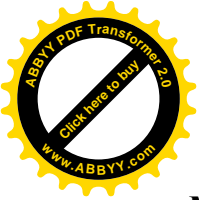
Landers JP. ;(1995). Clinical capillary electrophoresis. *ClinChem*; 41: 495-509.

Lehninger AL. ;(2000). "Principles of Biochemistry, 3rd Ed." Ed. Worth Publishers.

Lee CH; Murphy MR; Lee JS; Chung JH .;(1999). Targeting a SWI/SNF-related chromatin remodeling complex to the beta-globin promoter in erythroid cells. *ProcNatlAcadSci USA* ; 96 : 12311-5.

Lubin BH; Witkowska HE; Kleman K. ;(1991). Laboratory diagnosis of hemoglobinopathies. *ClinBiochem*; 24: 363-74.

Mac Donald CB; Bauer PW; Cox LC,Mac; Mahon L .;(1999). Otolologic findings in a pediatric cohort with sickle cell disease. *Int J PediatrOtorhinolaryngology*; 47 : 23-28.



Maier-Redelsperger M ; Girot R. ; (1996). Les aspects cellulaires de la distribution et de la production de l'hémoglobine fœtale. *Hématologie*; 2 : 437-42.

Maier-Redelsberger M ;Girot R. ;(1989). Diagnostic biologique des maladies de l'hémoglobine. *Feuillets de biologie*, 170.

Montalembert M. ;(2002). Syndromes thalassémiques. *Encycl Med Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier), Hématologie*, 13-006-D17.

Morris CR; Kato GJ; Poljakovic M;et al. ;(2005). Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA* ; 294 : 81-90.

Najean Y. ;(1991). Métabolisme du fer. *EncyclMédChir Hématologie 13000 E²⁰*. Paris : Elsevier .

Oda RP et al. ;(1997). Capillarys electrophoresis as a clinical tool for the analysis of protein in serum and other body fluids. *Electrophoresis* , 18,1715-1723.

O'Keefe LJ; War MA. ;(1991). Sudden total deafness in sickle cell disease. *J LaryngolOtol*; 105: 653-655.

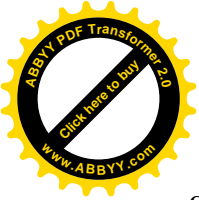
Olivieri N; Nathan DG; MacMillan JH et al. ;(1994). Survival in medically treated patients with homozygous bêta-thalassemia. *N Engl J Med*; 331: 574-78.

Ragusa A ; Amata S, Lombardo T ; et al. ;(2003). Asymptomatic and mild β -thalassemia in homozygotes and compound heterozygotes for the IVS2+1G>A mutation : role of the β -globin gene haplotype. *Haematologica* ; 88 : 1099-105.

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

Riou J; Godart C; Hurtrel D, et al. ;(1997). Evaluation of cation-exchange high-performance liquid-chromatography for presumptive identification of hemoglobin variants. *J ClinChem* ; 43 : 34-9.

Rivière I; Sadelain M. ;(1997). Methods for the construction of retroviral vectors and the generation of high titer producers. In : Totowa, NJ. *Gene therapy protocols: methods in molecular biology*. Humana Press, : 59-78.



Sadelain M. ;(2003). Recent advances in globine gene transfert for the treatment of beta – thalassaemia and sickle cell anemia. *Curr Opin Hematol*, 13:142-148.

Samama, M.; Prost RJ; Doumene, J; and Beuzart, A. ;(1970). Pathologie et biologie. 18 :868.

Sall-Lopez P ; Diagne I ;Cissé A ; et al. ;(2002). Limites des paramètres de routine dans le diagnostic de carence martiale au cours de la drépanocytose homozygote. *L’Eurobiologiste* ; 260 : 26-34

Sébahoun G. ;(2005). *Hématologie clinique*, 2e éd ., Paris, Arnette, 1-578.

Solovey AA; Solovey AN; Harkness J; Hebbel RP. ;(2001). Modulation of endothelial cell activation in sickle cell disease: a pilot study. *Blood* ; 97 : 1937-41.

Serge Pissard. ;(2004) Inter-relations métaboliques Physiopathologie Érythrocytaire et Métabolisme Énergétique.5 :23.

Schneider RG. ;(1978) .Methods for detection of hemoglobin variants and hemoglobinopathies in the routine clinical laboratory. *CRCCrit Rev. Clin. Lab. Sci*9, 243-271.

Shelton JB; Shelton JR; Schroeder WA. ;(1984). High performance liquid chromatographic separation of globin chains on a large-pore C4 column. *J Liquid Chromatograph* ; 7 : 1969-77.

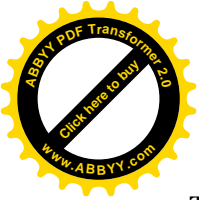
Steinberg MH. ;(1999). Management of sickle cell disease. *N Engl J Med*; 340: 1021-30.

Steinberg MH; Adams JG. ;(1991). Hemoglobin A₂.; origin, evolution, and aftermath. *Blood* ; 78 : 2165-77.

Stryer. L. ;(2003). *Biochimie*, 5^eéd .Paris, Flammarion Médecine-Sciences.

TavinME;Rubin JS; Camacho FJ . ;(1993). Sudden sensorineural hearing loss in haemoglobin SC disease. *J Lary n golOtol* ; 107: 831- 833.

Tosteson D; Carlsen E; Dunham E. ;(1952) .The effects of sickling on Iontransport. *J Clin Invest* ;31: 406-411.



Tchernia G. ;(1989). Érythropoïèse et érythrocytes chez l'enfant, physiologie et normes. Rev Prat ; 39 : 2111-6.

Vanbourdolle ; M et collaborateurs. ;(2007) .Biochimie hématologie 6-1116 pages.

Vovan L ; Lara-Russo D ; Orsini A. ; (1985).Diagnostic biologique des hémoglobinoses. Ann .Pédiat.32, 9,780-798.

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

Wajcman H ;Préhu C ; Bardakdjian-Michau J ; et al. ;(2001).Abnormal hemoglobins: laboratory methods. Hemoglobin ; 25 : 169-81.

Weatherall DJ ; Clegg JB.;(1996). Thalassemia – a global public health problem. Nat Med; 2 : 847-9.

Weatherall DJ and Clegg JB.; (1981) .The thalassemia syndromes. Oxford. Blackwell Scientific.

Wending A. ;(1986). Procédure de diagnostic : Justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage.sensibilité.spécificité.Impact-internat : 93-97.

Wijgerde M; Gribnau J; Trimborn T; Nuez B ; Philipsen S ; Grosveld F ; Fraser P. ;(1996).The role of EKLF in human beta-globin gene competition. Genes &Dev; 10: 2894-902.

Williams TN; Maitland K; Ganczakowski M; Peto TEA; Clegg JB; Weatherall DJ; Bowden DK.;(1996).Red blood cell phenotypes in the alpha+ thalassaemias from early childhood to maturity. Br J Haematol ; 95 : 266-72.

Whitehead RE; Mac Donald CB,Melhem ER; Mac MahonL. ;(1998). Spontaneous labyrinthehemorrhagae in sickle cell disease. Am JNeuroradiol; 19, september : 1437-1440.

Zack JA; Haislip AM; Krogstad P; Chen IS. ;(1992). Incompletely reverse-transcribed human immunodeficiency virus type 1 genomes in quiescent cells can function as intermediates in the retroviral life cycle. J Virol ; 66 : 1717-25.

Résumé

Afin d'effectuer un diagnostic biologique des hémoglobinopathies chez une partie de la population de la région de Batna, notre étude a été réalisée sur 115 patients suspects d'hémoglobinopathies, tous les cas ont bénéficiés des tests hématologiques tels que l'hémogramme (numération des hématies, calculs des indices érythrocytaire, VGM et TCMH, mesure du taux de l'hémoglobine) examen des hématies sur frottis et enfin un test biochimique en l'occurrence d'électrophorèse CAPILLARYS HEMOGLOBINE.

Les résultats obtenus ont montré :

50 cas d'hémoglobinopathies ont été trouvés sur 115 cas suspects et les syndromes drépanocytaires sont l'anomalie la plus fréquente (drépanocytose homozygote 20% et drépanocytose hétérozygote 32%) puis les syndromes thalassémiques qui représentent 28% pour la β -thalassémie homozygote et 16% pour la β -thalassémie hétérozygote. Enfin l'hétérozygote C et le double hétérozygote S/C représentent la même incidence qui est de 2%.

Les anomalies de l'hémoglobine sont fréquentes par rapport aux autres types d'anémies hémolytiques et leur répartition géographique est irrégulière. Elles sont fréquentes dans les communes d'Arris, de Chelia et de Bouhamama.

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

Mots clés

Hémoglobine, hémoglobinopathies, syndromes drépanocytaires, syndromes β -thalassémiques, diagnostic biologique

ملخص

من اجل تشخيص بيولوجي لأمراض خضاب الدم عند فئة من سكان ولاية باتنة. قمنا بإجراء دراسة على 115 حالة مشكوك فيها تعاني من فقر الدم. حيث استفاد هؤلاء المرضى من اختبارات دموية (حساب عدد الكريات الحمراء، VGM، TCMH، ومعايرة خضاب الدم، فحص كريات الدم الحمراء) و اختبار بيوكيميائي المتمثل في الفصل الكهربائي CAPILLARYS لخضاب الدم و لقد تحصلنا على النتائج التالية:

وجود 50 حالة من أمراض خضاب الدم من بين 115 حالة مشكوك فيها منها 32% يعانون من مرض خضاب الدم متخالف اللواقح و 20% من مرض خضاب الدم S متماثل اللواقح و هذا النوع هو الأكثر انتشارا ثم يأتي المرضى الذين يعانون من التلاسيميا β متماثلة اللواقح بنسبة 28% و متخالف اللواقح بنسبة 16%

و في الأخير المرضى الذين يعانون من فقر الدم المتخالف اللواقح نوع C و ثنائيمتخالف اللواقح S\C بنفس النسبة 2%.

إن أمراض خضاب الدم هي أكثر أنواع فقر الدم الأكثر انتشارا و توزيعها الجغرافي غير متساوي و يتركز خاصة في بلدية اريس و شليا و بوحمامة.

إن الهدف من هذه الدراسة هو عرض كيفية تشخيص أمراض خضاب الدم و إثبات أهمية التشخيص المبكر للأفراد الحاملين للمرض بالإضافة إلى إبراز أهم أمراض خضاب الدم المتواجدة على مستوى ولاية باتنة.

الكلمات المفتاحية

خضاب الدم، أمراض خضاب الدم، مرض خضاب الدم S، β التلاسيميا، التشخيص بيولوجي.