

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mouloud MAMMERY
Faculté de médecine
TIZI-OUZOU



جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

X.⊙Λ.∞ξX □://%Λ °X □Λ.□.○

Département de Pharmacie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

N° D'ORDRE : /FM/DP/2020

Présenté et soutenu publiquement

Le : Mardi 15 septembre 2020

En vue de l'obtention du diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Thème

**Caractéristiques Hématologiques de la Bêta Thalassémie
Hétérozygote au niveau du Laboratoire d'Hémobiologie -CHU
Tizi-Ouzou**

Réalisé par : ABBAS Tinhinane

CHIR Zakia

OULIMAR Sonia

RABET Fatima

Encadrées par : Dr SISMAIL Nedjma

Composition du jury :

Dr ARBANI Sara	MAHU	Faculté de Médecine	UMMTO	Présidente de jury
Pr KESSAL Fatma	MAHU	Faculté de Médecine	UMMTO	Examinatrice
Dr SISMAIL Nedjma	MAHU	Faculté de Médecine	UMMTO	Promotrice
Dr TAIB Karima	Résidente en épidémiologie		UMMTO	Co-promotrice

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous nous portons modestement reconnaissantes envers DIEU qui nous a guidé vers la voie du savoir et illuminé notre chemin en nous armant de patience, de courage et de persévérance dans notre parcours d'études ;

A notre promotrice, Docteur SISMAIL Nedjma, chef de service d'hémobiologie ; nous sommes très touchées par l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous confier ce travail. Vous nous avez inspiré ce sujet. Vous nous avez toujours accueilli avec bienveillance et sympathie tout au long de l'élaboration de ce mémoire que vous avez guidé par vos précieux conseils. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre gratitude ;

A notre co-promotrice, Docteur TAIB Karima, résidente en épidémiologie, nous tenons à vous exprimer ici nos plus sincères remerciements pour votre accompagnement tout au long de ce projet. Nous avons beaucoup apprécié votre implication, votre disponibilité ainsi que votre humanité. Nous avons été heureuses de pouvoir travailler avec vous ;

A tout le personnel du service d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou, en particulier le Dr LARIBI Hanane, vous nous avez été d'un soutien indispensable. Nous vous remercions du fond du cœur pour votre sollicitude ;

Nos remerciements vont également à Dr ARBANI Sara et Pr KESSAL Fatma qui ont accepté de faire partie de notre jury et de nous consacrer leurs temps en examinant le manuscrit. Nous en sommes honorées et nous leurs exprimons toute notre profonde reconnaissance ;

Nous remercions enfin tous les professeurs qui ont contribué à notre formation en nous dispensant des enseignements de haut niveau tout au long de notre cursus.

DEDICACES



Tous les mots ne sauraient exprimer l'amour, la gratitude, le respect...

Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce mémoire

A mes très chers parents, ma raison de vivre merci pour votre soutien, votre amour et les immenses sacrifices que vous avez consenti. Sans votre présence et vos encouragements, je ne serai pas devenue ce que je suis. Vos prières m'ont toujours accompagné et ont éclairé mon chemin. Puisse le tout puissant vous accorde meilleure santé et longue vie. Je vous aime beaucoup !

*A mon cher frère MOULOUD à qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite ;
A ma chère sœur KAMILIA, son mari et ELINE qui illumine ma vie; que le bonheur et la prospérité vous accompagne tout au long de votre vie ;*

A ma chère famille en particulier ma grand-mère maternelle, mes oncles et mes tantes. Je voudrais leur dire à quel point j'ai conscience d'avoir énormément de chance de les avoir et leur exprimer toute ma gratitude ;

A mes petits anges : Imad, Alicia et Jura ;

A mon trio spécial : DJILLALI, LYNDA et SONIA, merci pour tout ;

A tous mes amis qui ont rendu plus belle ma vie. Je ne peux tous vous citer, mais sachez que nos partages divers et variés sont gravés !

Sonia





Au meilleur des pères Remdane qui était mon mentor éternel, celui qui m'épaulait et illuminait mon chemin ;

A ma tendre maman qui ne cesse jamais de veiller sur moi, celle qui sacrifie tout pour mon bonheur ;

*Tous les mots du monde ne suffiront jamais pour exprimer ma gratitude et l'amour que je vous porte. Merci infiniment d'être mes parents ;
J'espère être à la hauteur de vos espérances ;*

A mes grandes sœurs Hassiba et Fatiha, leurs époux Abdelkader et Belaid, ainsi que leurs enfants, je vous souhaite une longue vie embellie d'amour et de bonne santé ;

*A mes petits frères Ferhat et Hakim. Je vous souhaite un avenir radieux plein de succès ;
Aux meilleures amies Lydia, Sonia, Tinhinane et Zakia, j'espère que vous trouverez vos voies qui mènent à la réussite dans le monde professionnel ;*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement omis de citer ;
A tous ceux qui m'ont accompagné tout au long de la réalisation de ce modeste travail.*

Fatima





Je dédie ce modeste travail :

*A ma chère mère, pour m'avoir mise au monde, pour son sacrifice et sa fréquente présence
avec autant d'amour et d'affection ;*

*A mon cher père, qui m'a guidé vers la droiture et le bon sens et m'a soutenu le long de ma
vie ;*

A mon cher frère Tahar et son épouse Kahina ;

A mes chères sœurs Messad et Massilia ;

A mon neveu adoré Selyan ;

A mon défunt neveu Silas ;

A tous mes amis, tout particulièrement Fatima qui m'a toujours accordé son soutien ;

A toute la famille ABBAS spécialement mes oncles et tantes, cousins et cousines ;

A toute personne proche du cœur qui se reconnaitra à travers mes paroles.

Tinhinane





J'ai le plaisir de dédier ce travail :

A Allah tout puissant qui m'a inspiré et qui m'a guidé dans le bon chemin. Je lui dois ce que je suis devenue, louanges et remerciements pour sa clémence et miséricorde ;

A mes très chers parents, grâce à vos tendres encouragements et grands sacrifices, aucune dédicace ne saurait exprimer mes considérations et mon profond amour pour vous. Je prie Dieu de vous préserver et de veiller sur vous ;

A ma chère grande mère et cher défunt grand père, à mon petit frère Mohamed, mes grands frères, ma sœur et son époux et à toute personne de ma grande famille ;

A mes chers amis Thanina, Sabrina, Syla, Soraya, Madjid et le pharmacien Djaou .R, je vous exprime à travers ce modeste travail mes sentiments d'un profond amour.

Zakia



Sommaire

Liste des abréviations.....	iv
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	ix
Glossaire.....	xii
Introduction.....	1
Objectifs.....	2

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur les hémoglobinopathies

1. Hémoglobine.....	3
1.1.Structure.....	3
1.2.Conformation des chaînes de globine.....	4
1.3.Génétique.....	6
1.4.Evolution ontogénique des hémoglobines humaines.....	8
1.5.Biosynthèse de l'hémoglobine.....	10
1.6.Dégradation de l'hémoglobine (Hémolyse physiologique).....	11
1.7.Les fonctions de l'Hb dans l'organisme.....	13
2. Les hémoglobinopathies.....	15
2.1.Les anomalies qualitatives de l'hémoglobine ou ses variants.....	16
2.1.1. La drépanocytose (Sickle cell disease).....	16
2.1.2. L'hémoglobinose C.....	18
2.1.3. L'hémoglobinose E.....	19
2.1.4. Les deux autres principales hémoglobinoses.....	21
2.2.Anomalies quantitatives.....	21
2.2.1. L'alpha-thalassémie.....	21
2.2.2. La β -thalassémie.....	24

Chapitre II : La bêta-thalassémie

1. Définition.....	25
2. Découverte de la bêta-thalassémie.....	25
3. Répartition géographique en Algérie.....	26
4. Transmission.....	27
5. Bases moléculaires.....	27
5.1.Les mutations β -thalassémiques.....	28
5.2.Corrélation génotype-phénotype.....	29
6. La physiopathologie.....	29
6.1.Mécanisme de l'anémie.....	29
6.2.Production de l'hémoglobine F.....	30
6.3.La surcharge en Fer.....	31

7. Classification.....	31
7.1.La bêta-thalassémie majeure.....	31
7.1.1. Les signes cliniques	31
7.1.2. Les signes biologiques	32
7.1.3. Les signes hématologiques	32
7.1.4. Les manifestations radiologiques.....	33
7.2.La bêta-thalassémie intermédiaire	33
7.2.1. Les signes cliniques	33
7.2.2. Les signes biologiques.....	34
7.2.3. Les signes hématologiques	34
7.3.La β -thalassémie mineure ou trait β -thalassémique.....	35
7.3.1. Les signes cliniques	35
7.3.2. Les signes biologiques.....	35
7.3.3. Les signes hématologiques	36
8. Autres formes de thalassémie	36
9. Prise en charge thérapeutique de la bêta-thalassémie	37
9.1.Transfusion sanguine	38
9.2.Le traitement chélateur du fer	42
9.3.La supplémentation en acide folique	45
9.4.La splénectomie	45
9.5.Les inducteurs de l'hémoglobine fœtale « Hydroxyurée/Hydroxycarbamide ».....	46
9.6.La greffe de cellules souches hématopoïétiques.....	46
9.7.La thérapie génique.....	47
9.8.La vaccination.....	49
9.9.Prévention	49
9.9.1. Le dépistage des porteurs.....	49
9.9.2. L'enquête familiale	49
9.9.3. Le conseil génétique	50
9.9.4. Diagnostic prénatal	50

Chapitre III : Techniques d'étude de l'hémoglobine

1. Stratégie d'étude de l'hémoglobine	51
2. Etude phénotypique de l'Hb par les méthodes séparatives.....	51
2.1.Les méthodes électrophorétiques	51
2.1.1. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin	51
2.1.1.1.Sur acétate de cellulose.....	52
2.1.1.2.Sur gel d'agarose.....	52
2.1.2. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH acide	53
2.1.3. Complémentation entre électrophorèse à pH alcalin et pH acide	54
2.1.4. Electrophorèse capillaire (EC).....	55
2.1.5. Isoélectrofocalisation (IEF) ou focalisation isoélectrique	55
2.2.Etude de l'hémoglobine par HPLC.....	56
3. Etude génotypique de l'Hb par la biologie moléculaire	59

Partie pratique

Matériels et méthodes

1. Matériels	61
1.1.Type et population d'étude	61
1.2.Lieu et période d'étude	61
1.3.Critères d'inclusion et critères d'exclusion.....	61
2. Méthodes	61
2.1.Collecte des données.....	61
2.1.1. Source des collectes des données.....	61
2.1.2. Fiche d'exploitation	62
2.2.Analyse statistique.....	62
2.3.Recommandations pré-analytiques	62
2.4.Méthodes d'analyses (phases analytique).....	63
2.4.1. NFS	63
2.4.2. Frottis sanguin.....	66
2.4.3. La numération des réticulocytes	69
2.4.4. Etude chromatographique de l'Hb.....	70

Résultats

1. Aspects épidémiologiques des β -thalassémies hétérozygotes	74
1.1.La fréquence de la β -thalassémie hétérozygote comparant aux autres bêta- thalassémies	74
1.2.La fréquence de la β -thalassémie comparant aux autres hémoglobinopathies.....	75
1.3.Description de la β -thalassémie hétérozygote.....	76
1.3.1. Selon le sexe.....	76
1.3.2. Selon l'âge des patients.....	77
1.3.3. Selon l'origine géographique.....	77
1.3.4. Selon la notion de consanguinité	80
1.3.5. Selon le motif de prescription de l'étude de l'Hb	81
2. Aspects hématologiques des β -thalassémies hétérozygotes	82
2.1.Selon les résultats des paramètres hématologiques.....	82

Discussion	90
-------------------------	-----------

Conclusion générale	100
----------------------------------	------------

Références bibliographiques.....	102
---	------------

Annexes.....	I
---------------------	----------

Résumé

Abréviations

α : Alpha.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ALAT : Alanine aminotransférase.

ARN : Acide ribonucléique.

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

β : Bêta.

C/ β thalassémie : Hétérozygote composite C/bêta-thalassémie.

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

CFH : Concentration du fer intrahépatique.

CLHP : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

δ : Delta.

D/ β : Hétérozygote composite D/bêta-thalassémie.

DFO : Déféroxamine.

DFP : Défériprone.

DFX : Déférasirox.

da : Dalton.

dNTP : Désoxyribonucléoside triphosphate.

ϵ : Epsilon.

EC: Electrophorèse capillaire.

EDTA : Éthylène-diamine-tétra-acétique.

E/ β thalassémie : Hétérozygote composite E/bêta-thalassémie.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

FFC : Cytométrie en flux de fluorescence.

fl : Femtolitre (1fl = 10⁻¹⁵L).

FNS : Formule de numération sanguine.

γ : Gamma.

g/l : Gramme par litre.

GR : Globule rouge.

GVH : Réaction du greffon contre l'hôte.

Hb : Hémoglobine.

HbA : Hémoglobine adulte.

HbA2 : Variante normale de l'hémoglobine adulte.

HBB : Gène codant pour la chaîne β de l'hémoglobine.

HbC : Variant anormale de l'hémoglobine responsable de l'hémoglobinose C.

HbD : Variant anormale de l'hémoglobine responsable de l'hémoglobinose D.

HbF : Hémoglobine fœtale.

HbH : Variant anormale de l'hémoglobine responsable de l'alpha-thalassémie.

HbS : Variant anormale de l'hémoglobine responsable de la drépanocytose.

H2O : Molécule d'eau.

HPFH : Persistance héréditaire d'hémoglobine fœtale.

HS : Site hypersensible.

IEF : Isoélectrofocalisation.

IgG : Immunoglobuline G.

IPSCs : Cellules souches pluripotentes induites.

Kb : kilobase.

LCR : Locus Control Region.

MO : Moelle osseuse.

NFS : Numération Formule Sanguine.

Nm : Nanomètre.

NTDT : Non Transfusion-Dependent Thalassemia.

O2 : Dioxygène.

Pb : Paire de bases.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

Pg : Picogramme.

Ph : Potentiel d'hydrogène.

pI : Point isoélectrique.

ψ : Psi.

RAI : Recherche d'anticorps irréguliers.

RDW : Indice de distribution érythrocytaire.

S/ β -thalassémie : Hétérozygote composite S/bêta-thalassémie.

SC : Sous-cutanée.

S/S : Homozygote SS « Drépanocytose ».

TDT : Transfusion-Dependent Thalassemia.

TM : Thalassémie majeure.

VGM : Volume globulaire moyen.

VMP : Le volume plaquettaire moyen.

ζ : Zêta.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Tableau représentant les proportions des différents types d'hémoglobine au cours de la vie embryonnaire jusqu'au stade adulte.....	10
Tableau 02 : Caractéristiques cliniques et biologiques de la drépanocytose hétérozygote et homozygote.....	17
Tableau 03 : Tableau résumant les caractéristiques biologiques des hémoglobinoses S hétérozygotes composites.....	17
Tableau 04 : Les différentes caractéristiques cliniques et biologiques des hémoglobinoses C.....	18
Tableau 05 : Les différents paramètres biologiques et cliniques des hémoglobinoses E.....	20
Tableau 06 : Tableau résumant le diagnostic clinico-biologique de l'hémoglobine O-Arab et de l'hémoglobine D-Punjab.....	21
Tableau 07 : Les caractéristiques clinico-biologiques des α -thalassémies.....	23
Tableau 08 : Tableau récapitulatif des différentes caractéristiques des classes de la β -thalassémie.....	24
Tableau 09 : Tableau représentant les différents temps de rétention des fractions de l'Hb caractéristiques hémoglobinopathies.....	58
Tableau 10 : Le principe des différentes étapes de l'étude génétique du gène HBB.....	59
Tableau 11 : Fréquence de la β -thalassémie hétérozygote comparant aux autres types de béta-thalassémies diagnostiquées au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019.....	74
Tableau 12 : Fréquence de la β -thalassémie comparant aux autres hémoglobinopathies diagnostiquées au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019.....	75
Tableau 13 : Répartition des patients diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs wilayas.....	78
Tableau 14 : Répartition des patients de la wilaya de Tizi-Ouzou diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs régions.....	79
Tableau 15 : Répartition des patients diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la notion de consanguinité.....	80
Tableau 16 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le motif de prescription de l'étude de l'Hb.....	81

Tableau 17 : Résultats des moyennes des différents paramètres hématologiques des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019.....	82
Tableau 18 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le nombre de globules rouges.....	83
Tableau 19 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le type de l'anémie.....	84
Tableau 20 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de TGMH.....	85
Tableau 21 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de VGM.....	86
Tableau 22 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations de la taille des globules rouges.....	87
Tableau 23 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations de la coloration des globules rouges.....	87
Tableau 24 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations des formes des globules rouges.....	87
Tableau 25 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les types de cellules.....	88
Tableau 26 : Les résultats hématologiques d'un patient originaire de Tigzirt (Tizi-Ouzou)..	96
Tableau 27 : Les résultats de l'HPLC du patient X.....	96
Tableau 28 : Résultats d'un hémogramme d'une patiente originaire de Ouagnoun (Tizi-Ouzou).....	98
Tableau 29 : Les résultats de l'HPLC de la patiente Y.....	99

Liste des figures

Figure 01 : Schéma représentant une molécule d'hème contenant du fer.....	3
Figure 02 : La partie protéique de l'hémoglobine.....	4
Figure 03 : Aspect de l'hémoglobine dans sa structure tertiaire.....	5
Figure 04 : La structure quaternaire de l'hémoglobine.....	5
Figure 05 : Structure et localisation chromosomique des clusters alpha (chromosome 16) et bêta-globine (chromosome 11).....	7
Figure 06 : Image montrant des pseudogènes au sein des chaînes de globine α et β	7
Figure 07 : Génération des hémoglobines embryonnaires à partir de l'appariement des chaînes alpha et non alpha.....	8
Figure 08 : Proportions des différentes hémoglobines chez le fœtus et l'enfant.....	9
Figure 09 : Stades de développement et sites de synthèse des globines humaines.....	9
Figure 10 : Image de l'hémolyse physiologique.....	13
Figure 11 : Courbe de dissociation d'O ₂ de forme sigmoïde qui définit l'affinité de l'Hb pour l'O ₂ par mesure de la saturation de l'hémoglobine à 50%.....	14
Figure 12 : Transport des gaz par l'hémoglobine.....	15
Figure 13 : Répartition mondiale des β -thalassémies.....	26
Figure 14 : Illustration de la transmission autosomique récessive.....	27
Figure 15 : Schéma illustrant le mécanisme général de l'anémie et sa conséquence sur l'organisme.....	30
Figure 16 : Tableau clinique typique de bêta-thalassémie majeure non transfusée.....	32
Figure 17 : Radiographie du crâne de face montrant l'aspect en poil de brosse.....	33
Figure 18 : Masses paravertébrales d'érythropoïèse extramédullaire chez un patient β -thalassémique intermédiaire en train de devenir transfuso-dépendant.....	34
Figure 19 : Image d'un enfant bêta-thalassémique sous transfusion.....	39
Figure 20 : La compatibilité entre les différents groupes sanguins des donneurs et des receveurs pour les transfusions de globules rouges.....	40
Figure 21 : Structure de la déféroxamine.....	43

Figure 22 : Structure de la déféripone.....	44
Figure 23 : Structure du déférasirox.....	44
Figure 24 : Protocole clinique de la vectorisation du gène.....	48
Figure 25 : Profil normal de l'électrophorèse de l'Hb sur gel d'agarose à pH alcalin.....	52
Figure 26 : Profil de migration des fractions de l'Hb sur gel d'agarose à pH alcalin.....	53
Figure 27 : Electrophorèse sur citrate agar à ph 6.....	54
Figure 28 : Schéma général de l'appareil d'électrophorèse capillaire.....	55
Figure 29 : Isoélectrofocalisation en gel d'Agarose.....	56
Figure 30 : Automate SYSMEX XT 1800i.....	64
Figure 31 : Exemple d'un hémogramme normal selon les normes adaptées au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou.....	65
Figure 32 : Schéma de la réalisation d'un frottis sanguin périphérique.....	66
Figure 33 : Automate HEMA_TEK 2000.....	67
Figure 34 : Aspect d'un frottis sanguin sur HEMA_TEK 2000 par la coloration de Wright..	69
Figure 35 : Coloration des réticulocytes au bleu de Crésyl brillant.....	70
Figure 36 : Automate d'HPLC BIO-RAD D-10.....	71
Figure 37 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la fréquence des différents types.....	75
Figure 38 : Répartitions des différentes hémoglobinopathies diagnostiquées au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la fréquence.....	76
Figure 39 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le sexe.....	76
Figure 40 : Répartition des patients atteints β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon l'âge.....	77
Figure 41 : Répartition des patients atteints β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs wilayas.....	78

Figure 42 : Répartition des patients de la wilaya de Tizi-Ouzou diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs régions.....	79
Figure 43 : Répartition des patients diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la notion de consanguinité.....	80
Figure 44 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le motif de prescription de l'étude de l'Hb.....	81
Figure 45 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le nombre de globules rouges.....	83
Figure 46 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le type de l'anémie.....	84
Figure 47 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de TGMH.....	85
Figure 48 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de VGM.....	86
Figure 49 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la microcytose, l'hypochromie et la poikilocytose.....	88
Figure 50 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les différentes fractions d'Hb.....	89
Figure 51 : Figure montrant les différentes fractions de l'Hb après analyse par HPLC du patient X.....	97

Glossaire

Allèles : Les différentes formes que peut prendre un même gène sur un locus donné.

Allo-immunisation : Immunisation d'un individu par un antigène provenant d'un autre individu de la même espèce.

Anisocytose : Inégalité anormale des tailles des hématies.

Autosomique : Un caractère génétique est dit à transmission autosomique quand le gène impliqué est porté par un autosome.

Cellule cible : Globule rouge dans lequel l'hémoglobine n'est pas répartie de façon homogène, mais forme des anneaux concentriques.

Chromoprotéine : Une hétéroprotéine composée d'une protéine et d'un groupement prosthétique coloré.

Cluster : Correspond à un groupe d'au moins deux gènes appartenant à un même ensemble et codant pour une protéine identique ou similaire, par exemple pour des récepteurs membranaires sensibles au même produit.

Corps de Jolly : Des restes de noyaux pycnotiques (condensation de chromatine) apparaissant après splénectomie

Double hétérozygotie : Deux anomalies situées sur deux gènes différents.

Effet allostérique : L'allostérie est un mode de régulation de l'activité d'une protéine oligomérique par lequel la fixation d'une molécule effectrice en un site modifie les conditions de fixation d'une autre molécule, en un autre site distant de la même protéine.

Elution : Un procédé permettant de mettre en solution un composé adsorbé à l'aide d'un solvant (ou un chélateur) nommé l'éluant.

Épissage : Un processus par lequel les ARN transcrits à partir de l'ADN génomique peuvent subir des étapes de coupure et ligature qui conduisent à l'élimination de certaines régions dans l'ARN final.

Exon : Sont les segments d'un précurseur ARN qui sont conservés dans celui-ci après épissage et que l'on retrouve dans l'ARN mature dans le cytoplasme.

Ferritine : Une protéine qui se trouve à l'intérieur des cellules et se lie au fer, de sorte à ce qu'il soit disponible en cas de besoin. Elle est présente dans le foie, la rate, les muscles squelettiques, la moelle osseuse et dans la circulation sanguine en plus petite quantité. C'est la forme de réserve du Fer.

Génotype : Ensemble des caractères génétiques d'un être vivant, qu'ils se traduisent ou non dans son phénotype (ensemble des caractères physiques et biologiques d'un individu).

Haptoglobine : Une mucoprotéine existant dans le plasma sanguin se combinant facilement avec l'hémoglobine extra-globulaire.

Hémochromatose : C'est une maladie génétique qui entraîne une accumulation de fer dans l'organisme et certains organes (le foie, le pancréas, la peau et le cœur).

Hémosidérine : Une forme de stockage insoluble du fer, dont la mobilisation est plus lente que pour le fer contenu dans les molécules de ferritine libres.

Hepcidine : Principale hormone hyposidérémiant de l'organisme qui régule l'absorption du fer au niveau intestinal et son stockage hépatique.

Hétérozygote : Se dit d'un individu dont les deux copies d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire) sont différentes.

Hétérozygote composite : Individu possédant deux allèles mutés au même locus.

Homozygote : Individu possédant deux copies identiques d'un même gène (chacune portée par l'un des deux chromosomes homologues d'une paire).

HPLC en phase inverse : Ou plus précisément chromatographie de partage à polarité de phases inversée, est une méthode physico-chimique très utilisée en biochimie et visant à séparer les constituants d'un mélange en fonction de leur polarité. La phase stationnaire (colonne) est apolaire ou peu polaire et le solvant utilisé est polaire.

HPFH : Une affection inhabituelle dans laquelle les globules rouges contiennent des quantités supérieures à la normale d'hémoglobine fœtale même à l'âge adulte.

Hydrops fœtal : La forme la plus sévère de l'alpha-thalassémie, presque toujours létale. Elle est caractérisée par l'apparition au stade fœtal d'un œdème généralisé, d'épanchements pleuraux et péricardiques ainsi que par une anémie hypochrome sévère.

Intron : Un intron est une portion d'un gène qui est transcrite en ARN, au sein d'un ARN précurseur et qui est ensuite éliminée par un processus d'excision programmé et qu'on ne retrouve donc pas dans l'ARN mature.

Locus : Une position fixe (d'un gène ou d'un marqueur génétique) sur un chromosome. Chaque chromosome porte de nombreux gènes. Une variante d'un gène situé à un locus donné est un allèle.

Microcytose : Diminution de la taille des globules rouges.

Microsphérocytes : Des petits globules rouges qui, de profil, ne sont pas biconcaves, mais d'épaisseur égale au centre et aux bords.

Mutation : Modification survenant dans la séquence de l'ADN d'une cellule et pouvant entraîner la disparition d'un caractère préexistant ou l'apparition d'un caractère nouveau.

Mutation faux-sens : Une mutation ponctuelle dans laquelle un nucléotide d'un codon est changé induisant le changement de l'acide aminé associé. Ceci peut rendre la protéine traduite non fonctionnelle.

Mutations non-sens : Une mutation ponctuelle dans laquelle un nucléotide d'un codon est changé induisant le remplacement d'un codon codant pour un acide aminé par un codon-stop.

Mutation ponctuelle : Mutation de structure portant sur une seule base (substitution d'une base par une autre). On distingue deux classes de mutations ponctuelles, celles ne modifiant qu'un seul codon et celles qui modifient le cadre de lecture.

Phénotype : Le trait visible ou observable d'un organisme comme la couleur des cheveux. Le phénotype dépend du génotype mais peut également être influencé par des facteurs environnementaux.

Poïkilocytose : Présence d'hématies de formes très variées.

Pseudogène : Un gène inactif au sein d'un génome, du fait d'altérations génétiques le rendant non fonctionnel et donc incapable de conduire à l'expression d'une protéine.

Résolution : Action de désagréger un corps composé en ses éléments constituants.

Récessive : Un caractère génétique est dit à transmission récessive quand la présence des deux allèles mutants est nécessaire pour que la maladie s'exprime.

Sensibilité : Propriété d'une technique ou instrument à mesurer les concentrations les plus faibles d'un phénomène ou d'une grandeur.

Spécificité : Ensemble de caractères qui distinguent de manière absolue une espèce, un organisme de tous ceux qui lui sont apparentés ou qui lui ressemblent.

Stercobilinogène : Est un métabolite incolore issu de la digestion de la bile et produit essentiellement par la dégradation de la bilirubine par les bactéries de la flore intestinale. Il est oxydé en stercobiline (pigment).

Substitution : Mutation résultant du remplacement d'un (ou plusieurs) nucléotides par un autre (ou plusieurs autres) nucléotide comportant une base azotée différente.

Temps de rétention : Le temps nécessaire à un composé pour être élué de la colonne et être détecté.

Transferrine : Ou sidérophiline, est une protéine produite par le foie et qui sert au transport du fer vers la moelle osseuse où le fer est incorporé dans l'hémoglobine des globules rouges. Son taux dépend du statut nutritionnel de l'individu et du bon fonctionnement du foie.

Transgène : Un gène ou un matériel génétique qui a été transféré d'un organisme à un autre de même espèce de manière naturelle ou artificielle.

Introduction

Les hémoglobinopathies regroupent l'ensemble des pathologies liées à une anomalie génétique de l'hémoglobine ; reconnues par leur importante émergence dans le monde. On estime que 5,2 % de la population présente un variant cliniquement significatif (HbS, HbE, HbC, HbD, β -thalassémie et α -thalassémie) [1].

Parmi elles nous distinguons la β -thalassémie, un problème sanitaire majeur, plus fréquente chez les personnes d'ascendance méditerranéenne, avec une incidence qui varie entre 1.66% et 3% en Algérie [2]. Cette maladie autosomique récessive est caractérisée par la diminution ou l'absence de production de l'une des chaînes de β globine normale entraînant une anémie de sévérité variable.

Il existe trois types de β -thalassémie : majeure, intermédiaire (forme homozygote) et mineure (forme hétérozygote) selon le degré de l'anémie et la variabilité des manifestations cliniques. Son diagnostic est essentiellement phénotypique, orienté par des examens hématologiques de routine et confirmé par une technique électrophorétique ou chromatographique fiable.

La prise en charge des patients est en fonction de la sévérité des symptômes en établissant un bon régime transfusionnel pour les patients transfuso-dépendants couplé à un traitement chélateur de fer afin d'atténuer la sévérité des symptômes et d'augmenter l'espérance de vie. Cependant, la greffe de moelle osseuse reste le seul traitement curatif de la maladie.

C'est donc à la β -thalassémie que nous nous sommes intéressées, vu l'ampleur de cette affection dans notre pays et aussi suite au manque de recherches scientifiques effectuées dans le cadre de l'exploration de cette pathologie. Nous avons donc entrepris une étude rétrospective par recensement de tous les patients diagnostiqués d'une hémoglobinopathie et plus précisément d'une β -thalassémie hétérozygote au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Objectif principal de notre travail

Décrire le profil hématologique des patients atteints de bêta-thalassémie hétérozygote au sein de l'unité d'hémo-biologie du CHU de Tizi-Ouzou.

Les objectifs secondaires

- Estimer la fréquence de la bêta-thalassémie ;
- Estimer la fréquence des différentes hémoglobinopathies ;
- Etudier l'aspect démographique des patients atteints de bêta-thalassémie hétérozygote ;
- Décrire l'aspect clinique de la bêta-thalassémie hétérozygote ;
- Déterminer l'intérêt de la chromatographie de l'Hb dans l'orientation diagnostique de la bêta-thalassémie hétérozygote.

Partie théorique

Chapitre I: Généralités sur les hémoglobinopathies

1. Hémoglobine

L'hémoglobine, couramment symbolisée Hb est la principale protéine constituant le globule rouge du sang auquel, elle donne sa couleur rouge. Elle représente 96% du poids sec des hématies avec un poids moléculaire de 64500da [3]. C'est une métalloprotéine (protéine renfermant du fer) globulaire complexe formée de deux parties : une partie protéique (la globine) et un groupement prosthétique (l'hème).

1.1. Structure

- **Groupement prosthétique (l'hème)**

L'hème est un groupement prosthétique, synthétisé à partir de la glycine et de l'acide succinique dans les mitochondries des érythroblastes où se trouvent les enzymes nécessaires. Chaque sous unité composant l'hémoglobine est constituée par une protoporphyrine liée au centre à un atome de fer ferreux (Fe^{2+}) et pouvant fixer une molécule d'oxygène et donc quatre molécules de cette dernière peuvent être transportées par une molécule d'Hb [4].

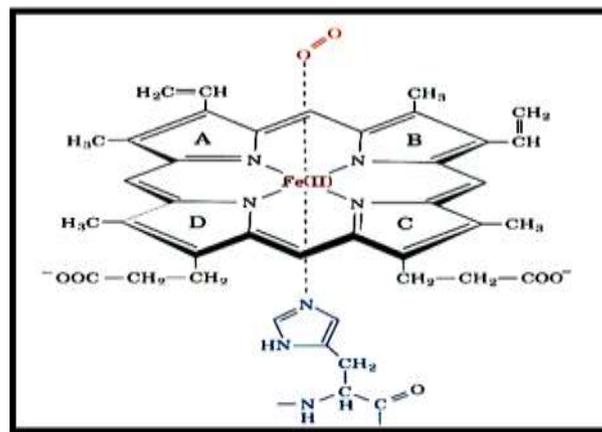


Figure 01 : Schéma représentant une molécule d'hème contenant du fer [5].

Au centre de la porphyrine l'atome de fer est lié par six valences (hexacoordonné) ; quatre de ces directions fixent le fer sur les quatre atomes d'azote de la porphyrine. Une valence du fer est liée à un des azotes d'une histidine (histidine proximale colorée en bleue) et la dernière libre permettant de recevoir une molécule d'oxygène (O_2 coloré en rouge) ou tout autre ligand. Lors de la fixation de l'oxygène, l'atome de fer se rapproche de l'histidine proximale. L'oxygène fixé s'interpose entre l'atome de fer et les acides aminés en position distale [5].

- **Partie protéique (les globines)**

Les globines humaines sont des chaînes polypeptidiques synthétisées dans les érythroblastes et différenciées par leurs séquences au niveau de quelques acides aminés. Elles sont constituées de deux types de chaînes : les chaînes de type alpha de 141 acides aminés et les chaînes non-alpha (bêta, gamma, delta...) constituées de 146 acides aminés. Le premier est une valine à l'extrémité N-terminale pour les deux chaînes alpha et non alpha [6, 7].

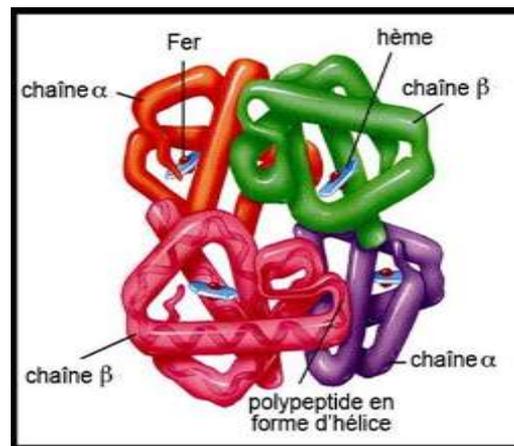


Figure 02 : La partie protéique de l'hémoglobine [8].

1.2. Conformation des chaînes de globine

- **Structure I aire** : Chaîne linéaire variable par le nombre et par la séquence des acides aminés. La chaîne α = 141 acides aminés ; la chaîne non α = 146 acides aminés (β , δ et γ).

- **Structure II aire** : Résulte de l'enroulement en spirale sur elle-même de la structure primaire pour réaliser une structure hélicoïdale (75% de la globine). Chez l'homme, dans chaque sous-unité d'Hb α (ou β), on distingue en allant de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale sept (ou huit) segments hélicoïdaux en forme d'hélices droites désignés par une lettre de A à H et des zones inter-hélicoïdales portant le nom des deux hélices qui leur sont adjacentes et comportant parfois des coudes [9].

- **Structure III aire** : Correspond à la disposition de la protéine dans l'espace. La chaîne se replie en une structure tridimensionnelle après un assemblage des structures secondaires. Cela est dû au repliement de la chaîne polypeptidique qui est stabilisé par des liaisons mettant en jeu les chaînes latérales des acides aminés et des liaisons entre des acides aminés pouvant être éloignés dans la structure primaire [10].

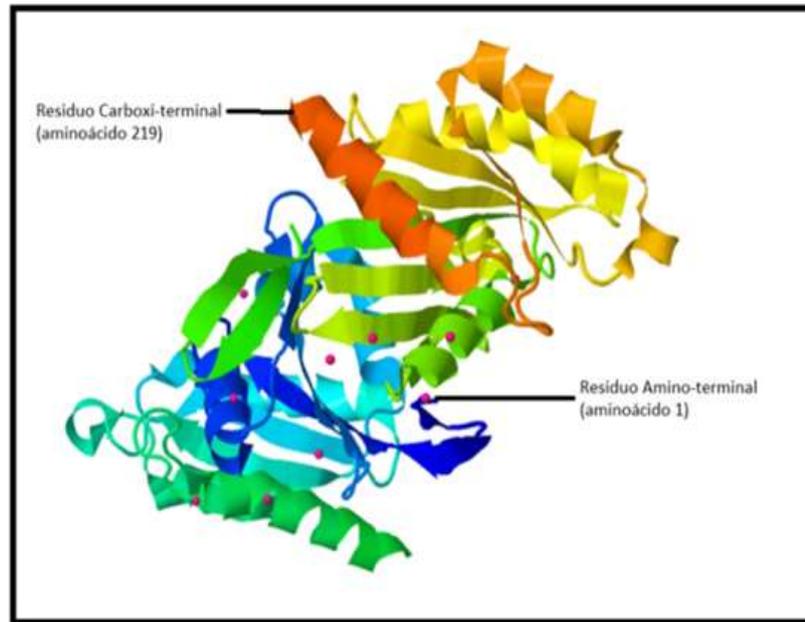


Figure 03 : Aspect de l'hémoglobine dans sa structure tertiaire [11].

- **Structure IV aïre :** Résulte de l'assemblage des chaînes polypeptidiques ou monomères entre elles pour former le tétramère de globine afin de donner une protéine fonctionnelle. Dans la structure tétramérique, les dimères sont disposés de façon à ce que la sous-unité $\alpha 1$ soit au contact de la sous-unité $\beta 2$ et $\alpha 2$ de $\beta 1$. La disposition des chaînes est telle que des rapports très intriqués existent entre les chaînes latérales de résidus appartenant aux sous-unités non homologues.

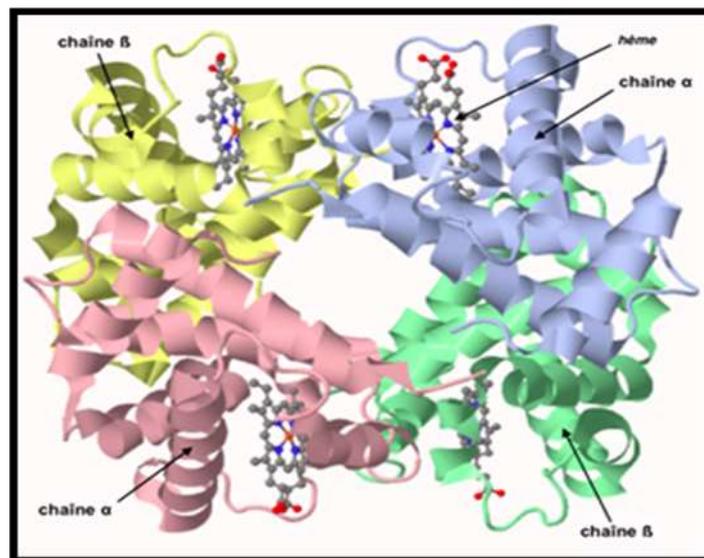


Figure 04 : La structure quaternaire de l'hémoglobine [12].

1.3. Génétique

- **Localisation**

Les chaînes de globines sont codées par deux groupes de gènes localisés sur deux chromosomes différents :

- Les gènes du cluster α sont regroupés sur le chromosome 16, sur la partie terminale du bras court ;
- Les gènes du cluster β se trouvent à l'extrémité distale du bras court du chromosome 11.

- **Structure et famille des gènes**

La structure des gènes de globines α et β est similaire, trois exons séparés par deux introns, la principale différence étant que le deuxième intron (900pb) dans la famille des gènes de globine β est beaucoup plus long que le premier intron (120 à 140pb) et c'est ce qui rend les gènes de globine β deux fois plus longs que les gènes de globine α [13].

Le complexe alpha qui s'étend sur une distance de 30Kb, comprend de 5' à 3' : le gène ζ codant pour une chaîne présente uniquement au stade embryonnaire, 3 pseudogènes ($\psi\zeta 1$, $\psi\alpha 1$ et $\psi\alpha 2$) et les deux gènes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ codant une chaîne polypeptidique identique α . En effet, ces deux gènes très homologues possèdent une séquence codante identique et ne diffèrent l'un de l'autre que par deux paires de bases et une insertion de 7 paires de bases dans le second intron. Cette chaîne alpha est présente aussi bien au stade fœtal qu'adulte. Le gène $\alpha 2$ est plus exprimé que le gène $\alpha 1$ avec un rapport de 1/3. En aval du gène $\alpha 1$ se trouve le gène $\theta 1$ dériverait du gène $\alpha 1$ par duplication, récemment découvert et dont la fonction n'a pas encore été déterminée.

Cinq gènes fonctionnels et un seul pseudogène forment le complexe β globine qui s'étend sur 50kb. On retrouve de 5' à 3' le gène embryonnaire ϵ , les deux gènes fœtaux $G\gamma$, $A\gamma$ et les gènes adultes δ et β qui codent les chaînes δ et β des HbA2 et A respectivement.

En amont du gène embryonnaire de chaque locus, se trouve une région régulatrice dont

l'importance dans l'expression des gènes a été démontrée par de nombreux travaux : β LCR (Locus Control Region) pour le Locus β et HS 40 (Site Hypersensible à 40 Kilo bases en amont de ζ) pour le locus α . Au niveau des deux clusters α et β tous les gènes de globines sont disposés suivant l'ordre dans lequel ils s'expriment au cours du développement ontogénique: $5' \zeta - \alpha 2 - \alpha 1 3'$ et $5' \epsilon - G\gamma - A\gamma - \delta - \beta 3'$ [14].

Des duplications des gènes se sont succédées et des mutations sur chacun des gènes ont assuré une certaine diversité. Parmi ces gènes dupliqués, beaucoup sont fonctionnels d'autres ne le sont pas car ils codent pour des protéines non fonctionnelles, ils sont appelés pseudogènes ($\psi\zeta 1$, $\psi\alpha 1$, $\psi\alpha 2$ et $\psi\beta 1$) [15].

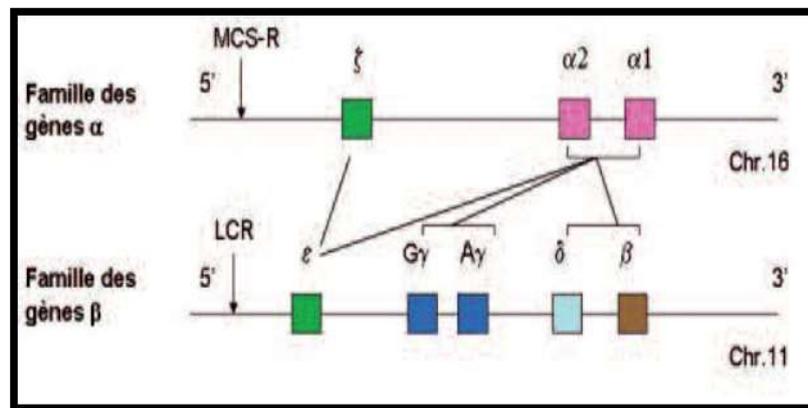


Figure 05 : Structure et localisation chromosomique des clusters alpha (chromosome 16) et bêta-globine (chromosome 11) [16].

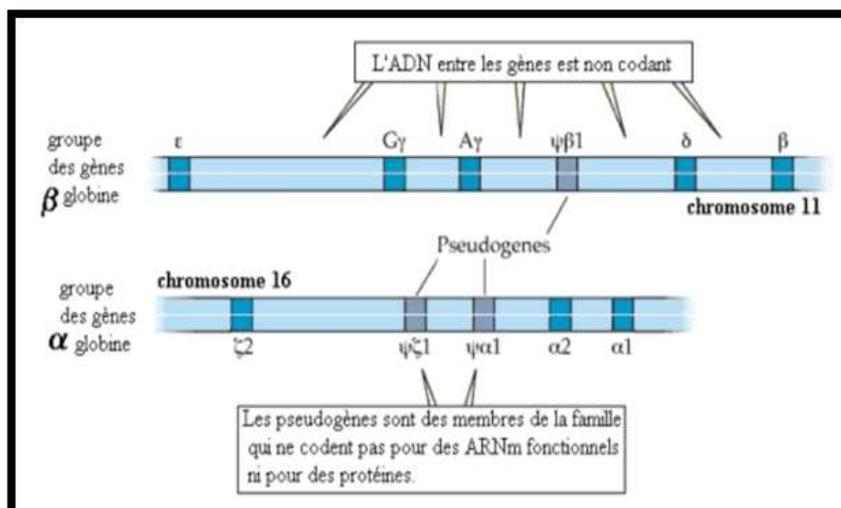


Figure 06 : Image montrant des pseudogènes au sein des chaînes de globine α et β [17].

1.4. Evolution ontogénique des hémoglobines humaines

Différentes hémoglobines se succèdent et se chevauchent au cours des étapes de la vie. Elles se distinguent par la nature des chaînes qui les constitue. Chaque deux chaînes α (ζ ou α) se lient systématiquement à deux chaînes non α (ϵ , γ , δ ou β) et permettent la production successive de diverses hémoglobines qui évoluent parallèlement au changement du lieu de l'érythropoïèse : sac vitellin chez l'embryon, foie, rate et moelle osseuse chez le fœtus, moelle osseuse chez l'adulte normal (figure 09).

- **Chez l'embryon** : Pendant les 3 premiers mois de la gestation, les chaînes de type alpha (ζ puis α) et les deux chaînes de type β (ϵ et γ) coexistent. Ainsi, les globules rouges contiennent des hémoglobines embryonnaires suivantes [18] :

- Gower 1 ($\zeta_2 \epsilon_2$) ;
- Gower 2 ($\alpha_2 \epsilon_2$) ;
- Portland ($\zeta_2 \gamma_2$).

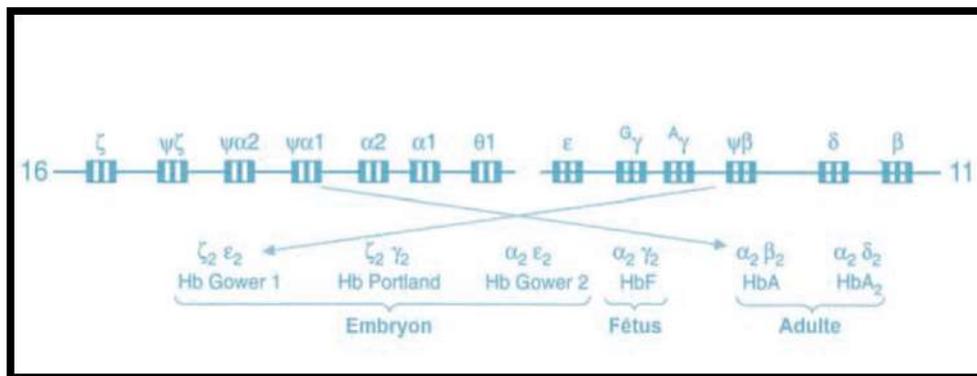


Figure 07 : Génération des hémoglobines embryonnaires à partir de l'appariement des chaînes alpha et non alpha [18].

- **Chez le fœtus et à la naissance** : Aux alentours de la 6^{ème} semaine, l'Hb fœtale ($\alpha_2\gamma_2$) apparaît pour devenir le composant hémoglobinique principal. Sa proportion atteint 90% entre la 8^{ème} et la 10^{ème} semaine [19]. Peu avant la naissance, entre la 32^{ème} et la 36^{ème} semaine de gestation, l'HbF commence à décliner au profit de l'HbA ($\alpha_2\beta_2$). A noter que durant les périodes de vie intra-utérine, le cluster α globine subit une seule commutation ou switch pendant le développement (ζ - α) alors que le cluster β en subit deux ; de ϵ à γ pendant la vie

embryonnaire puis de γ à β qui s'achève vers l'âge de 6 à 12 mois [20]. A la naissance, la synthèse d'hémoglobine se poursuit dans la moelle osseuse pour des taux d'HbF (85%) et d'HbA approximativement de 15%.

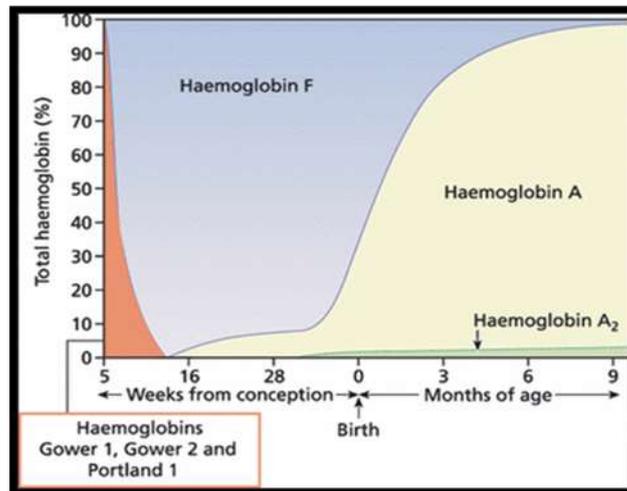


Figure 08 : Proportions des différentes hémoglobines chez le fœtus et l'enfant [21].

- **Chez l'adulte :** Le profil caractéristique s'observe à partir de l'âge de 6 mois. Le switch γ - β est effectué à 90% au 6^{ème} mois et à 95% à 1 an. Il est terminé vers 5 à 6 ans. L'HbA représente 97% de la totalité des hémoglobines. Il existe un constituant mineur, l'HbA2, dont la synthèse débute pendant la période néonatale et qui est exprimée à un taux d'environ 2,5% tandis que l'HbF ne subsiste plus qu'à l'état de traces (<1%) et reste limitée à une population restreinte dans les cellules « F ».

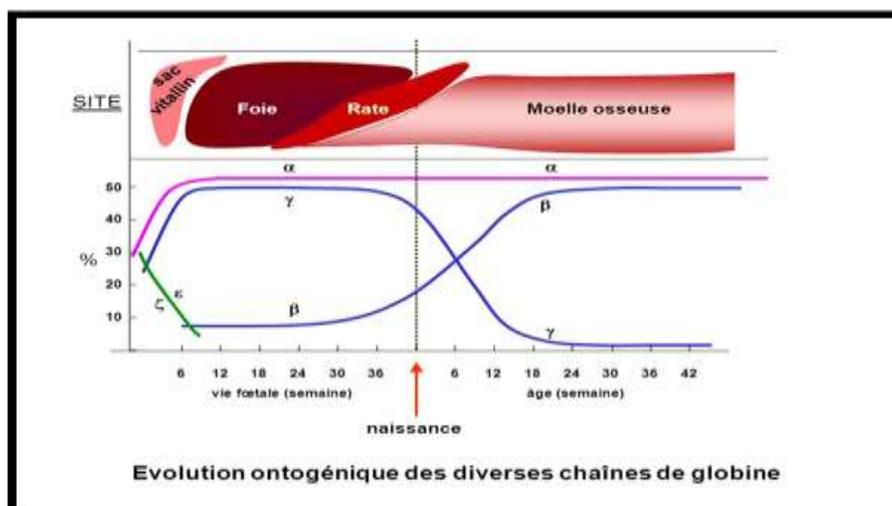


Figure 09 : Stades de développement et sites de synthèse des globines humaines [22].

Tableau 01 : Tableau représentant les proportions des différents types d'hémoglobine au cours de la vie embryonnaire jusqu'au stade adulte [18, 19, 22].

Stade de vie	Types d'hémoglobines rencontrées	Proportions des différentes hémoglobines	Chaînes de globines	Lieu de synthèse de l'hémoglobine
Embryonnaire	Hb Gower 1 Hb Gower 2 Hb Portland		$\zeta_2\varepsilon_2$ $\alpha_2\varepsilon_2$ $\zeta_2\gamma_2$	Le sac vitellin
Fœtale	HbF HbA	85 % 15 %	$\alpha_2\gamma_2$ $\alpha_2\beta_2$	Le foie, la rate et la moelle osseuse
Adulte	HbA HbA2 HbF	97 % 2,5 % < 1 %	$\alpha_2\beta_2$ $\alpha_2\delta_2$ $\alpha_2\gamma_2$	La moelle osseuse

1.5. Biosynthèse de l'hémoglobine

La biosynthèse de l'Hb nécessite un équipement nucléaire complet qui n'existe que dans les précurseurs des hématies. Ces dernières sont des cellules anucléées, donc dépourvues de l'équipement informationnel et enzymatique nécessaire à la synthèse des protéines. L'hémoglobine est synthétisée au cours des étapes de l'érythropoïèse qui ont conduit à la formation de GR mature. La biosynthèse de l'Hb commence au stade de proérythroblaste et s'achève à celui de réticulocyte.

- **La synthèse des chaînes de globines**

Elle s'effectue selon le schéma général de la synthèse protéique, après transcription de l'ADN en ARNm et maturation de ce dernier, il va subir une migration dans le cytoplasme où il sera traduit en protéines par les ribosomes. On y retrouve les trois étapes classiques : initiation, élongation et terminaison dans lesquelles interviennent de nombreux facteurs.

Le gène α_2 est trois fois plus exprimé que le gène α_1 et il y a globalement un excès de production de 40% des ARNm alpha par rapport aux ARNm bêta mais la vitesse de traduction en protéine de l'ARNm bêta étant plus rapide que celle de l'ARNm alpha et donc la synthèse

des deux sous-unités est équilibrée [23].

- **La synthèse de l'hème**

La synthèse de l'hème s'effectue indépendamment de celle de la globine. L'hème ne vient que secondairement s'accrocher aux chaînes néo-synthétisées pour réaliser la sous-unité d'Hb. L'hème est fabriqué dans les mêmes cellules que la globine, certaines étapes de sa synthèse sont localisées dans les mitochondries d'autres dans le cytosol.

Dans le cytoplasme, la transferrine ainsi que la ferritine cèdent un atome de fer et dans les mitochondries la protoporphyrine est formée à partir de la glycine et la succinyl-CoA. Finalement, en insérant du fer, le groupe hème est complété. La régulation de sa synthèse est assurée par le produit final : l'hème libre exerce une rétro inhibition lorsqu'il se trouve en excès par rapport aux chaînes de globine.

Enfin, sous l'influence d'une enzyme ; l'hémoglobine synthétase, la molécule d'hémoglobine est formée par concaténation d'hème et de globine.

1.6. Dégradation de l'hémoglobine (Hémolyse physiologique) [24]

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges sont détruits. Le GR normal vit en moyenne 120 jours et meurt par vieillissement. Ce dernier résulte de l'épuisement progressif du stock d'enzymes de la glycolyse avec pour conséquence une hyperhydratation avec perte de leur forme biconcave et altération de la membrane.

Les hématies devenues sphériques sont piégées dans les capillaires de la moelle osseuse et du foie. La rate n'est pas un organe prépondérant de l'hémolyse physiologique.

L'hémolyse physiologique est un phénomène essentiellement intratissulaire (80 à 90%) ; une faible partie est intravasculaire (10 à 20%).

- **Hémolyse intratissulaire (extravasculaire)**

Cette destruction des globules rouges a lieu principalement dans la moelle osseuse (50%) et le foie (25%) où les macrophages les phagocytent.

Lorsque les macrophages phagocytent les globules rouges, l'hémoglobine est libérée directement dans les macrophages :

- La partie globinique de l'Hb (globine) : est dégradée en acides aminés qui vont rejoindre le pool métabolique général ;
- La partie hémique de l'Hb (hème) : est transformée en bilirubine qui sera libérée dans le plasma sous forme de bilirubine libre (bilirubine non conjuguée). Cette dernière sera fixée sur l'albumine et transportée vers les cellules hépatiques où elle sera conjuguée.

La bilirubine conjuguée passera dans la bile et sera ensuite éliminée majoritairement par les selles sous forme de stercobiline et de stercobilinogène et très partiellement par les urines sous forme d'urobiline et d'urobilinogène.

Concernant le fer issu de la dégradation des globules rouges : le $\frac{1}{3}$ sera stocké dans les macrophages sous forme de ferritine et d'hémosidérine ; tandis que les $\frac{2}{3}$ seront libérés par les macrophages dans la circulation où le fer va se lier à la transferrine pour être réutilisé dans l'érythropoïèse.

- **Hémolyse intravasculaire**

L'hémoglobine est libérée dans le plasma où elle sera captée par l'haptoglobine. Ce complexe hémoglobine-haptoglobine sera récupéré par les hépatocytes au niveau desquels l'hémoglobine sera dégradée. Si la capacité de fixation de l'haptoglobine est dépassée, l'excédent d'hémoglobine sera éliminé par le rein.

A l'état normal, la production des globules rouges est équivalente à la quantité détruite chaque jour. L'hémolyse pathologique se produit par contre surtout dans la rate.

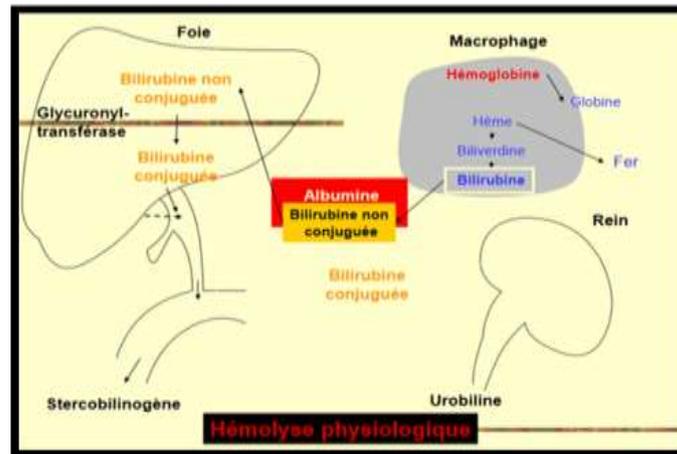


Figure 10 : Image de l'hémolyse physiologique [25].

1.7. Les fonctions de l'Hb dans l'organisme [26]

- **Transporteur d'oxygène** : La fonction principale de l'hémoglobine est le transport de l'oxygène des poumons vers tous les tissus du corps. La capacité de liaison de l'Hb à l'oxygène est de 1,34ml d'O₂ par gramme. Lorsqu'un hème fixe une molécule d'O₂, ceci va induire un changement de conformation de la chaîne peptidique, ce qui va augmenter l'affinité des autres hèmes pour l'O₂. Celui-ci va se lier de plus en plus facilement à mesure que les autres hèmes fixent l'O₂ et c'est ce qu'on appelle un effet allostérique.

En fait, ce transport dépend de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ qui n'est pas linéaire ainsi que de la pression partielle (qui est la pression exercée par l'oxygène lorsqu'il est incorporé dans le sang artériel).

Quand la pression partielle de l'O₂ augmente, l'affinité augmente et vice versa. Par conséquent, dans les alvéoles pulmonaires, l'Hb se charge en oxygène puis lorsqu'elle se trouve à proximité de tissus où la pression partielle est basse (donc augmentation du besoin en oxygène), l'affinité pour l'oxygène va diminuer (effet Bohr) permettant la dissociation de l'O₂ de l'hémoglobine (figure 11).

L'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ ne dépend pas seulement de la pression partielle, elle peut être modifiée par d'autres facteurs comme le pH (un pH plus acide favorisera la libération d'O₂ et un pH plus basique la diminuera) ou le CO₂ (qui est acidifiant) [27].

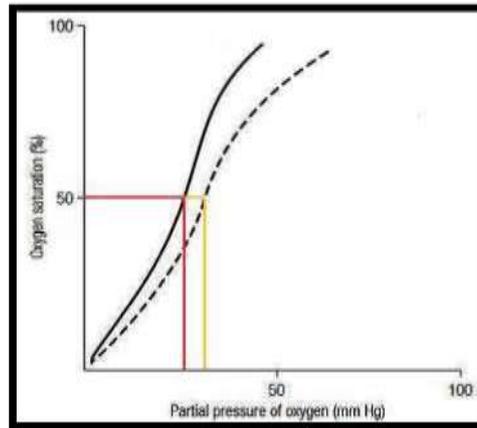


Figure 11 : Courbe de dissociation d'O₂ de forme sigmoïde qui définit l'affinité de l'Hb pour l'O₂ par mesure de la saturation de l'hémoglobine à 50% [28].

L'effet Bohr

Décrit l'effet du pH sur la courbe de dissociation de l'oxygène de l'hémoglobine. Plus le pH est bas, moins l'affinité de l'O₂ pour l'hémoglobine est grande et inversement. Le pH est en rapport étroit avec la pression partielle du CO₂ (PCO₂). Une augmentation de la PCO₂ est liée à une diminution du pH. On peut donc choisir comme paramètre à la place du pH, la (PCO₂). Comme le pH dans le sang fœtal est bas, la diffusion de l'O₂ vers les tissus fœtaux depuis l'Hb fœtale est facilitée [29].

- **Transporteur de dioxyde de carbone** : L'hémoglobine transporte également le dioxyde de carbone des tissus vers les poumons en se fixant sur des sites différents que ceux de l'O₂. Après action de l'anhydrase carbonique, 90% de CO₂ est transporté sous forme de bicarbonate et les ions H⁺ produits sont captés par la désoxyhémoglobine. Le reste du CO₂ se combine avec la globine de l'hémoglobine. Il se forme des groupements carbamylés avec les fonctions amines N-terminales des chaînes α et β de l'Hb [9].

L'affinité de l'Hb pour l'oxygène est diminuée par liaison avec le CO₂ qui se lie plus intimement à la désoxyhémoglobine qu'à la forme oxygénée.

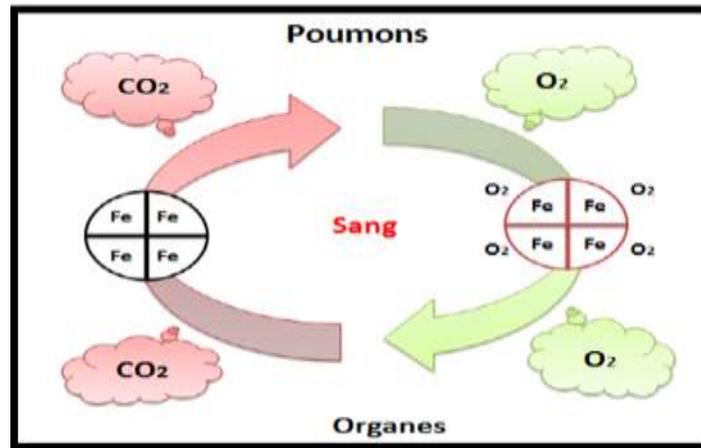


Figure 12 : Transport des gaz par l'hémoglobine [9].

- L'hémoglobine donne une couleur rouge aux globules rouges grâce au Fe^{2+} et maintient leur forme.
- **Action tampon** : L'hémoglobine maintient le pH sanguin à 7,4. L'accumulation de dioxyde de carbone dans le sang diminue ce pH. La modification du pH peut être inversée par la ventilation.



- **Interaction avec les ligands** : Les hémoglobines se lient également à d'autres ligands ; tels que le monoxyde de carbone, l'oxyde d'azote, le cyanure, le monoxyde de soufre, le sulfure et le sulfure d'hydrogène. La liaison au monoxyde de carbone peut parfois être mortelle car la liaison est irréversible. L'hémoglobine peut également transporter des médicaments vers leur site d'action.

2. Les hémoglobinopathies

Correspondent à des anomalies génétiques héréditaires de transmission autosomique récessive, donnant à l'état homozygote des anémies sévères et chroniques. Elles touchent la partie protéique de l'Hb et sont les affections héréditaires les plus répandues dans le monde [30]. On en distingue :

- Le groupe d'anomalies qualitatives ou hémoglobinoses : ce sont des anomalies de structure de l'hémoglobine ;
- Le groupe d'anomalies quantitatives : il s'agit d'un déficit total ou partiel de synthèse de cette protéine.

On rencontre également l'association de ces deux anomalies, c'est l'exemple de l'association : S/ β -thalassémie et E/ β -thalassémie.

Avant de se retrouver dans toutes les régions du monde, ces pathologies étaient localisées dans des zones géographiques connues, cette expansion est due au phénomène de migration des populations.

La clinique varie en fonction du génotype de la maladie : asymptomatique pour les hétérozygotes ; sévère et grave pour les homozygotes et les hétérozygotes composites.

2.1. Les anomalies qualitatives de l'hémoglobine ou ses variants

L'anomalie hémoglobinique qualitative est l'apparition d'une hémoglobine pathologique dont certaines chaînes polypeptidiques sont structurellement modifiées. Les anomalies les plus fréquentes affectent les chaînes polypeptidiques bêta, plus rarement les chaînes alpha et exceptionnellement les chaînes gamma ou delta. La modification la plus habituelle est la substitution d'un acide aminé de la chaîne par un autre acide aminé [31].

2.1.1. La drépanocytose (Sickle cell disease)

C'est une maladie héréditaire de l'hémoglobine de transmission autosomique récessive, elle résulte d'une mutation ponctuelle induisant le remplacement de l'acide glutamique par la valine au niveau de la chaîne bêta de l'hémoglobine par remplacement du 6^{ème} codon GAG par GTG, plus précisément la mutation du 17^{ème} nucléotide A par le nucléotide T [32] induisant la synthèse d'une hémoglobine anormale : l'hémoglobine S.

- Classification

Tableau 02 : Caractéristiques cliniques et biologiques de la drépanocytose hétérozygote et homozygote [33].

La génétique	La clinique	Diagnostic biologique					
		FNS	Frottis	HbA %	HbF %	HbA2 %	HbS %
S/A hétérozygote	Asymptomatique	Normal	Normal	60-65	< 1	2,5-3,5	35-40
S/S homozygote	Anémie hémolytique chronique, syndrome vaso-occlusif et susceptibilité aux infections bactériennes	Hb 6-10g/dl VGM normal	Drépanocytes Cellules cibles Corps de jolly	0	05-20	2,5-3,5	80-95

- Les formes hétérozygotes composites

Tableau 03 : Tableau résumant les caractéristiques biologiques des hémoglobinoses S hétérozygotes composites [33].

Anomalie génétique	La clinique	Diagnostic biologique						
		Hémogramme	Frottis	Etude de l'hémoglobine				
				HbA %	HbF %	HbA2 %	HbS %	HbC %
Hb S/C	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb 10 à 12 g/dl VGM 70 à 90fl	Drépanocytes Cellules cibles	0	1-7	2,5-3,5	50	45
Hb S/β^+	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb 9-12g/dl VGM 60-95 fl	Microcytose	0-15	5-15	Variable	55-90	-
Hb S/β^o	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb 7-11g/dl	Anisocytose Poikilocytose Drépanocytes Cellules cibles Corps de Jolly	0	5-15	Elevée	80-90	-

Les homozygotes SS, hétérozygotes SC et S/ β -thalassémiques sont regroupés sous le terme de syndromes drépanocytaires majeurs.

2.1.2. L'hémoglobine C

- Définition

Couramment symbolisée HbC, elle touche principalement la population noire [34] (Côte d'Ivoire, Ghana, Burkina Faso, Benin, Togo, Sud du Mali et rive ouest Niger), résulte d'une mutation ponctuelle sur le gène de la chaîne β de globine et aboutissant à la substitution d'un acide glutamique par une lysine en position 6.

- Classification clinique et biologique

Tableau 04 : Les différentes caractéristiques cliniques et biologiques des hémoglobines C [35].

Anomalie génétique	La clinique	Diagnostic biologique				
		FNS	Etude de l'hémoglobine			
			HbA %	HbC %	HbF %	HbA2 %
Hémoglobine C hétérozygote	Asymptomatique	Normale, parfois discrètement microcytaire	60-65	35-40	< 1	< 3
Hémoglobine C hétérozygote et α-thalassémie associée		Microcytose sans carence martiale associée	60-75	30 et 35 (1 seul gène α délété) 25-30 (2 gènes α délétés)	< 1	< 3
Hémoglobine C homozygote	Anémie hémolytique chronique modérée	Anémie (Hb > 8g/dl) microcytaire CCMH (38 %) Cellules cibles++ Microsphérocytes	0	> 90	< 3	< 3
Hétérozygotie C/β^+-thalassémie	Anémie hémolytique chronique modérée	Anémie modérée microcytaire Cellules cibles++ Microsphérocytes	20-30	60-80	2-10	< 3
Hétérozygotie composite C/β^0-thalassémie	Thalassémie intermédiaire	Anémie (7-10 g/dl) microcytaire Cellules cibles++ Microsphérocytes	0	> 90	2-10	< 3

2.1.3. L'hémoglobinose E

C'est une maladie fréquente chez les personnes originaires du Sud-est asiatique [36]. Elle résulte d'une mutation faux-sens du codon 26 du gène β -globine remplaçant un acide glutamique par une lysine (GAG→AAG). Ceci crée un site alternatif d'épissage partiellement utilisé qui dévie une partie de l'ARNm vers une maturation anormale qui dépend de la production d'ARNm normal. Cette substitution d'acides aminés conduit donc à un défaut de production d'hémoglobine par diminution du taux d'ARNm normal sans affecter la fonction de l'hémoglobine. Le problème n'est donc pas celui d'une protéine anormale mais celui d'une synthèse en quantité insuffisante de cette protéine anormale. L'hémoglobinose E se présente donc comme une thalassémie discrète [37].

- Classification clinique et biologique

Tableau 05 : Les différents paramètres biologiques et cliniques des hémoglobinoses E [35].

La génétique	La clinique	Diagnostic biologique				
		FNS	Etude de l'hémoglobine			
			HbA %	HbE %	HbF %	HbA2 %
Hémoglobinoses E hétérozygote	Asymptomatique → thalassémie mineure	Normale ou microcytose ou discrète anémie	70-75	25-30	< 1	-
Hémoglobinoses E homozygote	Asymptomatique → thalassémie mineure	Normale ou pseudolopoglobulie microcytaire hypochrome ou anémie microcytaire hypochrome modérée	0	> 85	< 15	-
Hémoglobinoses E hétérozygote et α-thalassémie associée	Asymptomatique → conseil génétique	Microcytose Discrète anémie	75-80	20 et 25 (un seul gène α délété) <20 (deux gènes α délétés) <10 (trois gènes α délétés)	< 1	-
Hétérozygotie composite E/β°-thalassémie	Thalassémie intermédiaire	Anémie (7-10 g/dl) microcytaire Cellules cibles++ Microsphérocytes	0	40-60	30-60	-
Hétérozygotie E/β^{+}-thalassémie	Thalassémie intermédiaire	Anémie modérée microcytaire Cellules cibles++ Microsphérocytes	10	> 40	30-60	-

2.1.4. Les deux autres principales hémoglobinoses

Tableau 06 : Tableau résumant le diagnostic clinico-biologique de l'hémoglobine O-Arab et de l'hémoglobine D-Punjab [21].

Forme	Définition	Clinique et biologie
Hémoglobine O-Arab	L'Hb O-Arab est un mutant de la chaîne β où l'acide glutamique en position 121 est remplacé par une lysine.	<ul style="list-style-type: none"> - La forme hétérozygote n'a aucune complication. - La forme homozygote est peu symptomatique. - L' NFS révèle une anémie hémolytique chronique modérée. La biologie est caractérisée par les proportions suivantes de l'Hb : Hb A1 : 0%, HbF : <5%, Hb O Arab : 95-98%, Hb A2 : 2-3%. - L'association HbS/HbO est grave car elle entraîne un syndrome drépanocytaire majeur.
Hémoglobine D-Punjab	L'acide glutamique en position 121 de la chaîne β est remplacé par une glutamine.	<ul style="list-style-type: none"> - Forme hétérozygote asymptomatique avec présence d'hématies en cibles et une HbD de 25% à 40%. - Forme homozygote caractérisée par une splénomégalie, une anémie modérée, des hématies en cible et une HbD > 95%. - L'association HbS/HbD donne un syndrome drépanocytaire majeur.

2.2. Anomalies quantitatives

Les syndromes thalassémiques sont des affections génétiques, le plus souvent transmises sur le mode autosomal récessif. Ils entraînent une réduction de la synthèse des chaînes de globines, soit alpha (α -thalassémies) ou bêta (β -thalassémies). Le déséquilibre de synthèse entre les chaînes alpha et non-alpha provoque la précipitation des chaînes non appariées, une érythropoïèse inefficace et une anémie.

2.2.1. L'alpha-thalassémie

Les α -thalassémies sont des anomalies constitutionnelles de synthèse de l'hémoglobine transmises par un mode autosomique récessif. Elles sont souvent la conséquence de délétion d'un ou de plusieurs gènes alpha qui se caractérisent par une réduction du taux de synthèse

des chaînes alpha globines dont l'expression hématologique de base est une anémie hypochrome microcytaire de sévérité variable [38].

- **Physiopathologie**

L' α -thalassémie est caractérisée par un rapport alpha/non alpha inférieur à 1 [39]. Dans toutes les classes la diminution quantitative de synthèse des chaînes α a pour conséquence une diminution de l'élaboration de l'hémoglobine d'où la microcytose [40].

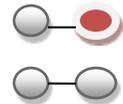
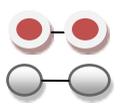
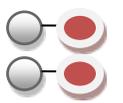
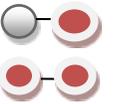
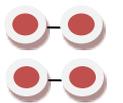
Dans l'hémoglobinose H et l'Hydrops fœtal, les chaînes β en excès forment des tétramères d'HbH instables qui précipitent essentiellement dans le cytoplasme des globules rouges. Ces derniers seront phagocytés par les macrophages de la rate d'où une hémolyse chronique avec anémie et hyper réticulocytose.

Ces tétramères ont une haute affinité pour l'oxygène du fait du manque d'interactions hème-hème et une mauvaise capacité d'apport d'oxygène [41]. Par ailleurs, le fer non utilisé du fait de la diminution de la synthèse globinique s'accumule dans les mitochondries et provoque leur altération par la suite, ce qui contribue à écourter la vie des hématies [40].

Les globules rouges seront détruits au niveau de la rate ce qui provoque une splénomégalie. Pour compenser l'anémie, la MO tend à produire plus de globules rouges, ce qui peut avoir pour conséquence d'élargir et de déformer certains os (notamment ceux du visage) [42].

- Diagnostic clinico-biologique des différentes classes de l'alpha-thalassémie

Tableau 07 : Les caractéristiques clinico-biologiques des α -thalassémies [35].

Désignation	Nombre de gènes α atteints 	Répartition géographique et fréquence	Anomalies moléculaires	biologie NFS	Etude de l'Hb	La clinique
α^+ -thalassémie (- α/α)		Anomalie génétique la plus répandue dans le monde: Afrique: porteurs hétérozygotes → 1/4 population Bassin méditerranéen, sud-est asiatique et Inde (40% de la population)	Généralement: délétion totale ou partielle du gène $\alpha 2$ Plus rarement: mutation ponctuelle sur un gène α	Normale ou discrète microcytose ou discrète anémie microcytaire hypochrome	Normale chez l'adulte 1 % d'Hb Bart's à la naissance	Asymptomatique → thalassémie silencieuse
α^0 -thalassémie hétérozygote (--/ α)		Fréquente en Chine, dans le sud-est asiatique et sur le pourtour du bassin méditerranéen	Généralement: délétion des deux gènes α en cis	Pseudopolyglobulie microcytaire hypochrome	Normale chez l'adulte 5 à 10 % d'Hb Bart's à la naissance	Bien tolérée → thalassémie mineure → conseil génétique pour les α^0 -thalassémies hétérozygotes des sujets asiatiques
α^+ -thalassémie homozygote (- α - α)		Fréquente en Afrique: porteurs homozygotes → 1 à 2 % de la population	Généralement: délétion des deux gènes $\alpha 2$ en trans	Microcytose +/- Discrète anémie		
Hémoglobinoses H (- α -/- par exemple)		Fréquente en Chine et dans le sud-est Asiatique → rarement rencontrée en France, concernent des sujets asiatiques ou plus rarement originaires des pays du bassin méditerranéen	- Différentes anomalies génétiques dont la plus fréquente est la forme --/- α , résultant d'une hétérozygotie composite α^0 -thalassémie / α^+ -thalassémie - La caractérisation moléculaire est indiquée pour approcher la sévérité de la maladie	Anémie hémolytique avec microcytose et hypochromie Hb = 3 à 10 g/dl	- 1 à 40 % d'Hb H chez l'adulte - HbA2 (1 à 2 %) - HbF parfois (1 à 3 %) - 20 à 40 % d'Hb Bart's à la naissance	Plus ou moins bien tolérée: thalassémie intermédiaire → conseil génétique
α^0 -thalassémie homozygote (--/--)		Sud-est asiatique, Chine et bassin méditerranéen	4 gènes α non fonctionnels		Etude moléculaire indispensable	Mort fœtale in utéro dans un tableau d'hydrops fœtal avec anasarque fœtoplacentaire

2.2.2. La β -thalassémie

La β -thalassémie est un groupe d'anémies qui résulte d'un défaut héréditaire dans la production des chaînes β de l'hémoglobine. Elles se traduisent par des phénotypes variables, allant des sujets cliniquement asymptomatiques aux individus anémiques graves [43]. Elles comprennent trois formes principales : la thalassémie majeure, la thalassémie intermédiaire et la thalassémie mineure. L'érythropoïèse inefficace et l'hémolyse excessive des globules rouges expliquent l'origine de l'anémie.

- Les différentes caractéristiques des formes de la β -thalassémie

Tableau 08 : Tableau récapitulatif des différentes caractéristiques des classes de la β -thalassémie [44].

	β-thalassémie mineure ou trait thalassémique	β-thalassémie intermédiaire	β-thalassémie majeure
Génétique	Mutation hétérozygote du gène β -globine	Bases moléculaires Hétérogènes : le plus souvent association de 2 mutations avec synthèse résiduelle d'HbA	Mutations sévères des 2 gènes β -globine
Signes cliniques	Asymptomatique	Anémie de degré variable. Principales complications liées à la dysérythropoïèse	Anémie sévère et précoce, principales complications liées aux transfusions à long cours en particulier à la surcharge en fer
Degré d'anémie et indice érythrocytaire	Taux d'Hb normal ou très modérément abaissé Pseudopolyglobulie microcytaire et hypochrome	Anémie de degré variable microcytaire et hypochrome, Hb > 7g/dl, besoins en transfusion occasionnels ou absents	Anémie microcytaire et hypochrome Hb < 7g/dl Besoins en transfusion Permanents
Etude de l'Hb	HbA2 > 3,5% HbF normale ou faiblement augmentée	HbF augmentée HbA abaissée mais présente le plus souvent	HbF majoritaire HbA absente ou en quantité très faible

Chapitre II: La bêta- thalassémie

1. Définition

Une maladie héréditaire et génétique du sang résultant d'une mutation dans les gènes de β globine au niveau du 11^{ème} chromosome, aboutissant à la synthèse d'une hémoglobine anormale. On distingue la β^- -thalassémie et la β^+ -thalassémie selon qu'il n'y a plus de synthèse de chaînes β de globine (absence totale) ou une synthèse en très faible quantité de ses chaînes.

2. Découverte de la bêta-thalassémie

- C'est en 1800 que, VON JACKSCH découvre à Prague une anémie non leucémique chez un enfant de 14 mois porteur d'une splénomégalie et qui mourut avant l'âge de 2 ans [40].
- En 1925, la forme majeure ainsi que la forme mineure de la maladie furent décrites. Cette forme majeure a été étudiée en détail cliniquement par deux pédiatres THOMAS COOLEY et PEARL LEE [45] aux Etats- Unis qui l'ont individualisée du cadre confus de l'anémie pseudo-leucémique de VON JACKSCH. Depuis, le terme de maladie de Cooley est souvent utilisé pour désigner les bêta-thalassémies homozygotes majeures et le terme « thalassémie » fut introduit par Whipple et Brad-Ford pour désigner une anémie en 1932.
- Vers la même époque en Italie, la forme mineure a été découverte, décrite sous le terme d'ictère hémolytique primitif et souvent appelée maladie de Rietti-Greppi-Micheli [46].
- En 1940, WINTROBE et COLL [47] découvrirent aux Etats-Unis la forme mineure décrite par les italiens et notèrent que les parents des malades atteints de la maladie de Cooley présentaient les anomalies hématologiques caractéristiques de la maladie de Rietti-Greppi-Micheli.
- DA WESHEK reconnaissait à la même date (1940) le caractère familial de la forme mineure et proposait de l'appeler « anémie à cellules cibles ».
- En 1944 et 1948, aux Etats-Unis, VALENTINE et NEEL [48] ont donné la description classique de thalassémie à hérédité mendélienne hétérozygote et homozygote.
- HALDANE, en 1949 pensait que la microcytose causée par la thalassémie était bénéfique pour les gens souffrant de malnutrition ou de maladies infectieuses, comme le paludisme.
- En 1959, INGRAM et STRETT suggérèrent l'existence de deux types de thalassémies : la thalassémie α et la thalassémie β . DEISSEROTH a ensuite démontré que les gènes pour les deux types de chaînes étaient sur différents chromosomes. FESSAS rapporte que ce sont les chaînes libres α ou β qui lèsent les globules rouges et causent l'hémolyse.

3. Répartition géographique en Algérie

La β -thalassémie était retrouvée dans le bassin méditerranéen (c'est pourquoi la maladie est appelée ainsi, car elle tire son nom du mot grec "Thalassa" qui veut dire "la mer"), le moyen orient, le sud et sud-est asiatique, la chine méridionale [49] et même en Europe du nord et en Amérique [50].

Les porteurs hétérozygotes ont signalé une grande fréquence à Chypre (14%), en Sardaigne (12%) [50] et en Grèce (8%). Environ 1,5% de la population mondiale sont des β -thalassémiques porteurs. Sur 330000 naissances annuelles de malades atteints d'hémoglobinopathies majeures environ 17% d'entre eux ont une β -thalassémie [49] avec une incidence annuelle estimée des personnes symptomatiques de 1 sur 100 000 à travers le monde et de 1 sur 10 000 personnes dans l'Union Européenne [51].

En Algérie, la prévalence du trait thalassémique varie de 1.66% à 3% [2]. Les approches épidémiologiques réalisées témoignent d'une augmentation de la prévalence de la maladie. En 2006, 750 patients ont été recensés et 931 en 2014, dont 56 enfants (59.7%) et 66% sont des thalassémiques majeurs [52].

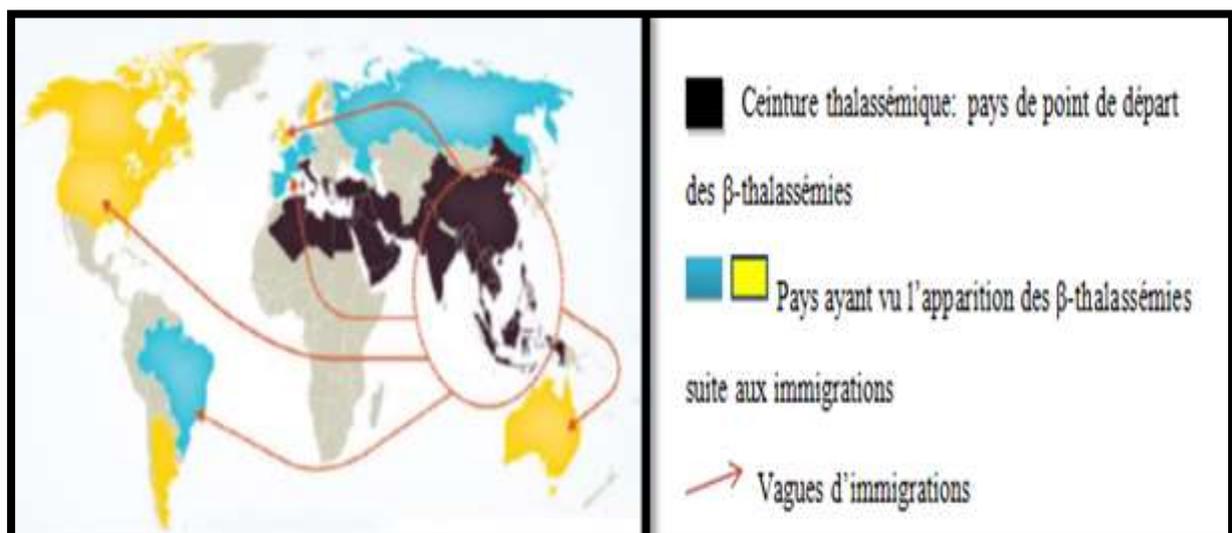


Figure 13 : Répartition mondiale des β -thalassémies [53].

4. Transmission

La bêta-thalassémie est une maladie génétique à transmission autosomique récessive comme la drépanocytose et l'alpha-thalassémie. Etant récessive, cela signifie que pour son expression à l'état homozygote les deux copies de gènes doivent être nécessairement atteintes alors que pour l'état hétérozygote, une copie de gène est seulement altérée.

Chaque enfant issu de parents hétérozygotes a 25% de chances d'être atteint, 25% de chances d'être sain et non porteur et 50% de chances d'être porteur asymptomatique. Mais le problème d'une maladie autosomique récessive réside dans le fait que le couple à risque l'ignore souvent car les hétérozygotes n'étant pas symptomatiques et leur statut de porteur sain n'est pas forcément connu. Donc parfois, seulement à la naissance d'un enfant malade que la présence d'une mutation chez les parents est décelée.

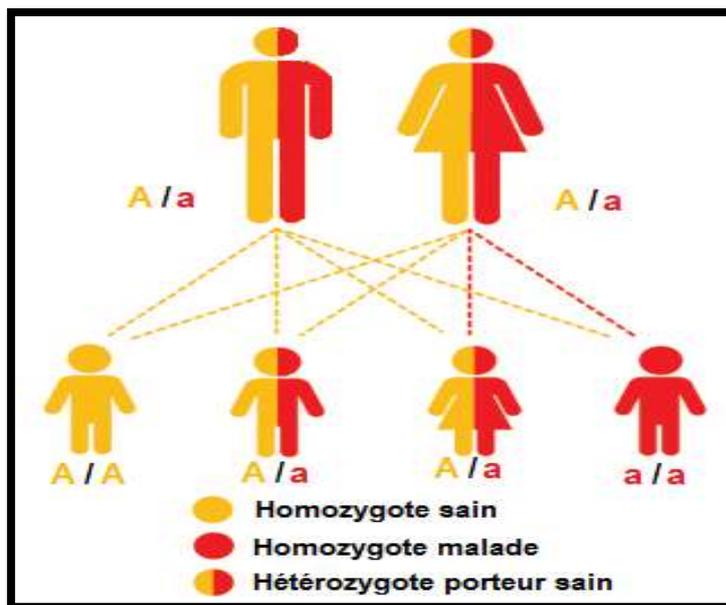


Figure 14 : Illustration de la transmission autosomique récessive [54].

5. Bases moléculaires

La β -thalassémie est due à un nombre élevé de défauts moléculaires spécifiques à chaque population (groupe ethnique) à l'inverse des anomalies qualitatives où la mutation causale est unique. Environ 200 mutations ont été identifiées [55].

La classification phénotypique de la β -thalassémie nous a permis de distinguer :

- Les formes qualifiées de « + », où la protéine est synthétisée en quantité limitée ;
- Les formes désignées comme « ° », où le gène atteint ne permet aucune synthèse.

5.1. Les mutations β -thalassémiques

– **Mutations β -thalassémiques** : Il s'agit principalement des mutations touchant le codon d'initiation ou les sites d'épissage (deux premières ou dernières bases d'un intron). Dans le premier cas, l'étape de transcription sera complètement abolie ; dans le second cas, c'est l'épissage du pré-ARNm β -globine qui sera totalement annihilé par l'absence des séquences consensus d'épissage en début (GT) ou en fin d'intron (AG). Les mutations non-sens et les délétions/insertions courtes entraînant un décalage du cadre de lecture (frame-shift en anglais) donnent également naissance à des allèles β -thalassémiques mais uniquement quand ces anomalies touchent les deux premiers exons du gène [50]. En effet, dans ce cas-là, l'ARNm bêta est dégradé prématurément par la machinerie cellulaire avant l'étape de traduction ce qui évite la synthèse d'une chaîne de globine très anormale et instable [56].

– **Mutations β^+ -thalassémiques** : Il s'agit souvent de mutations au niveau des séquences promotrices du gène HBB qui ont pour conséquence une fixation moindre des facteurs de transcription. Les zones concernées sont principalement les boîtes TATA, CAAT et la boîte CACCC qui est dupliquée. Peuvent également appartenir à cette catégorie des mutations introniques (hors des sites d'épissage) qui créent des sites alternatifs d'épissage et diminuent ainsi l'efficacité de l'épissage normal sans l'abolir totalement.

Des larges délétions β -thalassémiques sont observées :

Délétions emportant le gène HBB : elles emportent soit le gène HBB uniquement (β -thalassémie), soit les gènes HBD et HBB ($(\delta\beta)^\circ$ -thalassémie) soit l'intégralité du cluster β -globine ($(\epsilon\gamma\delta\beta)^\circ$ -thalassémie). Les conséquences hématologiques sont les mêmes à l'âge adulte que celles des allèles β -thalassémiques à la différence près que le taux d'HbA2 n'est pas augmenté dans les deux derniers cas.

Certaines délétions qui emportent les gènes HBB et HBD induisent une persistance de l'HbF à l'âge adulte qui atténue le phénotype delta-bêta-thalassémie (absence concomitante d'HbA

et d'HbA2 suite à la délétion des gènes β et δ respectivement) en bloquant la commutation γ vers β qui se produit normalement entre 3 mois et 2 ans [50].

5.2. Corrélation génotype-phénotype

Il existe une corrélation assez forte entre le type de mutation β -thalassémique qui conditionne le niveau de perturbation de la synthèse de la chaîne protéique et la sévérité clinique. L'effet d'une mutation sur le niveau d'expression du gène dépend de sa nature et de sa localisation. Les mutations localisées dans le promoteur ou dans les introns sont en principe moins délétères que les mutations non-sens ou les mutations localisées sur les sites consensus d'épissage ou encore les délétions emportant l'ensemble du gène. En règle générale, l'hétérozygote β -thalassémique n'est pas symptomatique, il présente seulement les modifications érythrocytaires typiques (pseudopolyglobulie et microcytose) et une élévation modérée de l'HbA2. Chez l'homozygote ou l'hétérozygote composite, les deux allèles sont mutés ; on observe alors en fonction de la nature des mutations un continuum de sévérité pouvant aller d'une forme intermédiaire à une forme majeure [57].

6. La physiopathologie

6.1. Mécanisme de l'anémie

Elle est caractérisée par l'absence totale ou partielle de synthèse de la chaîne β de globine, s'accompagnant d'une augmentation des chaînes α non associées avec les chaînes β . Les chaînes α libres en excès forment des tétramères α_4 instables et moins solubles, ces derniers s'oxydent et précipitent dans le cytoplasme sous forme d'inclusion (corps de Fesses) appelés hémichromes toxiques pour la membrane cellulaire et nucléaire que ce soit pour les érythroblastes de la moelle osseuse (thalassémie intermédiaire et majeure) ou les réticulocytes circulants. Elles sont responsables de l'anémie due à l'érythropoïèse inefficace (premier mécanisme de l'anémie) et de l'hyperhémolyse, suite à la destruction accrue des hématies au niveau de la rate induisant une splénomégalie. Cette hyper destruction représente le deuxième mécanisme de l'anémie [58].

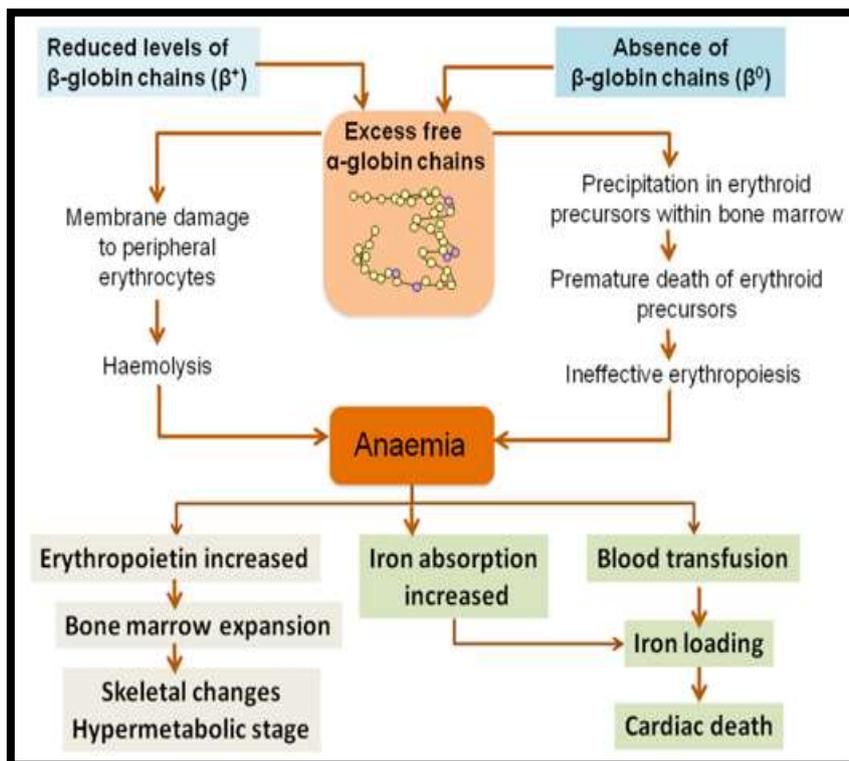


Figure 15 : Schéma illustrant le mécanisme général de l'anémie et sa conséquence sur l'organisme [59].

6.2. Production de l'hémoglobine F

Certains érythroblastes, notamment ceux qui synthétisent de l'HbF parviennent à donner naissance à un réticulocyte puis à un GR mature qui passe dans le sang. Cependant, ce mécanisme est insuffisant pour palier au déficit complet d'HbA, il en résulte donc une baisse de l'Hb totale avec instauration d'une anémie microcytaire hypochrome avec déformation des hématies (poikilocytose).

Par ailleurs, l'hypoxie tissulaire entraîne une stimulation de la sécrétion d'érythropoïétine, il en résulte une inflation importante du secteur érythroblastique médullaire : la moelle devient hyperactive et multiplie sa surface afin de produire plus d'hématies. L'expansion de la MO déforme le crâne, l'implantation des dents de la mâchoire supérieure, les côtes et les vertèbres. C'est ainsi que les os s'amincissent, se fragilisent et créent un risque de fractures [6].

6.3. La surcharge en Fer

Toutefois, l'hyperplasie érythroïde provoque par un mécanisme encore mal connu une baisse importante de la synthèse d'hepcidine. En absorbant plus de fer, les patients s'exposent à une surcharge en fer. Ce fer non utilisé s'accumule dans différents organes (surrénales, pancréas, myocarde...etc) et cela s'accompagne de complications endocriniennes incluant le diabète sucré, l'hypothyroïdie, l'hypo-parathyroïdie, l'hypogonadisme et la puberté retardée [60, 61]. Cette tendance à l'hémochromatose est accentuée par les transfusions répétées [62].

7. Classification

7.1. La bêta-thalassémie majeure

Aussi appelée TDT « Transfusion-Dependent Thalassemia », c'est la forme la plus sévère et précoce des β -thalassémies qui apparaît à partir du 6^{ème} mois de la vie. L'anémie de Cooley de génotype homozygote β^0/β^0 et parfois avec la combinaison allélique β^+/β^0 se transmet selon un mode autosomique par les deux parents, l'un et l'autre porteurs d'un gène β -thalassémique [51].

7.1.1. Les signes cliniques

La bêta-thalassémie majeure se produit entre 6 et 24 mois par une anémie sévère, pâleur progressive, diarrhée, irritabilité, fièvre...etc. L'élargissement progressif de l'abdomen dû à la spléno-hépatomégalie est une complication rare de nos jours du fait de la prise en charge précoce par des transfusions régulières. Les patients peu ou pas traités présentent un retard de croissance, un ictère, une faible musculature, la formation de masse due à une hématopoïèse extra médullaire incluant des déformations des os et des anomalies cranio-faciales typiques comme les bosses dans les régions frontales et occipitales et un aspect asiatique caractéristique chez les enfants (malaires élargis, base du nez aplatie, protrusion du maxillaire supérieur) dû à l'hyperplasie des os plats de la face. Chez les patients transfusés régulièrement, la croissance et le développement semblent normaux mais des complications liées à une surcharge en fer peuvent survenir [63].

Les patients ayant subi une splénectomie sont plus sensibles aux infections. L'espérance de vie est inférieure à 20 ans en absence de traitement [64].



Figure 16 : Tableau clinique typique de bêta-thalassémie majeure non Transfusée [50].

7.1.2. Les signes biologiques

Le diagnostic biologique de la TM (thalassémie majeure) révèle un taux d'Hb de 5-7g/dl avec absence (ou quasi-absence) d'HbA et un taux d'HbA2 normal ou élevé. L'HbF devient majoritaire (taux >90%). Au niveau génétique, aucune synthèse résiduelle de chaînes β (génotype β/β) est observée dans la TM mais des génotypes β/β^+ ou β^+/β^+ peuvent aussi donner un tableau clinique de TM [50].

7.1.3. Les signes hématologiques

L'anémie est constante et sévère à un taux d'hémoglobine < 7g/dl, elle commence dès la petite enfance par une altération de l'état général révélant une anémie microcytaire (VGM : 50-70fl), hypochrome (TCMH<26pg et la CCMH de 28-30g/dl). La réticulocytose est modérément élevée (2-6%) voisin de 100000 éléments/mm³. Le frottis sanguin montre une anisocytose avec une microcytose, une hypochromie, une poikilocytose et une érythroblastose très élevée après une splénectomie atteignant jusqu'à 100 000 éléments/mm³ [52]. La moelle osseuse est très riche en érythroblastes.

7.1.4. Les manifestations radiologiques

Sur le plan radiologique, on note chez les patients mal transfusés :

- Une cardiomégalie constante correspondant à « un cœur anémique » ;
- Un élargissement des espaces médullaires ;
- Un amincissement des corticales ;
- Une ostéoporose généralisée ;
- Des réactions d'ossification perpendiculaires à la base interne réalisent l'aspect en « poil de brosse » [65].



Figure 17 : Radiographie du crâne de face montrant l'aspect en poil de brosse [65].

7.2. La bêta-thalassémie intermédiaire

Atteinte génétique représentant 10 à 20% des β -thalassémies sévères [51], caractérisée par l'atteinte des deux gènes permettant quand-même une synthèse très réduite de chaînes β globine. Elle est de génotype β^+/β^+ ou β/β^+ . L'anémie d'apparition tardive ne nécessite souvent pas un régime transfusionnel strict comme c'est le cas de la β -thalassémie majeure.

7.2.1. Les signes cliniques

Cette forme est caractérisée par une bonne tolérance à l'anémie, une croissance staturo-pondérale normale, une absence d'asthénie et une puberté souvent retardée mais généralement complète [51]. Ces patients peuvent mener une existence normale sans être transfusés puisque leur taux d'hémoglobine peut avoisiner les valeurs normales. Cependant, malgré l'absence de

transfusions régulières, il peut se constituer une hémochromatose sévère dès le début de la troisième décennie, l'hyperplasie érythroblastique entraînant une hyper absorption digestive du fer par diminution de l'hepcidine. Cette hyperplasie érythroblastique se manifeste aussi par des altérations morphologiques du segment céphalique ainsi que toutes les anomalies morphologiques décrites dans la thalassémie majeure peuvent s'observer chez eux.

De même, la splénomégalie habituelle dans ces formes de thalassémies peut évoluer vers l'hypersplénisme et rendre compte de besoins transfusionnels d'une leucopénie et/ou d'une thrombopénie qui seront corrigés par la splénectomie



Figure 18 : Masses paravertébrales d'érythropoïèse extramédullaire chez un patient β -thalassémique intermédiaire en train de devenir transfuso-dépendant [50].

7.2.2. Les signes biologiques

L'électrophorèse de l'Hb montre un taux d'HbF de 7 à 8%, ce taux est extrêmement variable d'un patient à un autre en fonction de l'importance du déficit relatif en chaînes β -globine et il peut atteindre 60-70% [50]. Le taux d'HbA2 est anormalement élevé entre 4 et 7% avec un taux $> 8\text{g/dl}$ d'Hb [66, 67].

7.2.3. Les signes hématologiques

- La numération formule sanguine montre un taux d'hémoglobine de 8-12g/dl, une microcytose dont le VGM est de 60-70fl et une hypochromie modérée avec un CCMH de 29-31g/dl ;

- Par séquestration splénique, on observe une thrombopénie et une neutropénie ;
- Le frottis révèle quelques cellules cibles associées à quelques hématies en larmes et quelques hématies ponctuées [68].

7.3. La β -thalassémie mineure ou trait β -thalassémique

Aussi appelée NTDT « Non Transfusion-Dependent Thalassemia », c'est la forme la plus fréquente et la plus tolérée des β -thalassémies de génotype β^+/β ou β/β . Elle est caractérisée par l'atteinte d'un seul gène codant pour la chaîne β globine et n'a pas de conséquences sur la santé puisque l'autre gène est capable de compenser l'anomalie et de fabriquer suffisamment de chaînes β pour produire un taux d'Hb normale ou proche de la normale [51].

7.3.1. Les signes cliniques

Les sujets porteurs d'une β -thalassémie hétérozygote n'ont pas de signes cliniques d'anémie mais une splénomégalie discrète peut être observée. Ce sont des potentiels transmetteurs du déficit car la maladie n'est découverte que fortuitement après un bilan de routine ou une recherche réalisée dans le cadre d'une enquête génétique. Aucun traitement ayant une relation avec cette pathologie n'est à envisager chez ces sujets. La seule démarche utile est l'enquête familiale afin d'identifier les couples dont les parents seraient tous les deux porteurs d'une β -thalassémie hétérozygote et de leur proposer un conseil génétique [69].

7.3.2. Les signes biologiques

L'électrophorèse de l'hémoglobine montre une augmentation de la fraction d'HbA2 (3,5-5%), associée à une élévation d'HbF de 2-7% dans 30-50% des cas. Le pourcentage de ces deux fractions varie en fonction du type d'anomalies génétiques en cause (β^+/β ou β/β) [35]. L'hémoglobine A est légèrement diminuée.

7.3.3. Les signes hématologiques

L’NFS montre une microcytose isolée ou pseudopolyglobulie microcytaire hypochrome ou plus rarement une légère anémie microcytaire. Le taux d’hémoglobine peut être normal ou légèrement abaissé [35].

8. Autres formes de thalassémie

- **L’hémoglobine Lepore [21, 70]**

C’est une forme rare de thalassémie caractérisée par la présence d’une hémoglobine particulière formée par deux chaînes α normales et deux chaînes « non alpha » hybridées dont l’extrémité C-terminale étant formée par un fragment de chaînes β tandis que l’extrémité N-terminale est un fragment de chaîne δ .

Cette anomalie résulte d’un crossing-over non homologue entre les gènes δ et β . Le chromosome qui porte le gène recombinant ne porte ni le gène δ ni le gène β .

En fonction de la région où s’est produit le crossing-over, on distingue plusieurs variétés d’Hb Lepore. Les sujets hétérozygotes ont un hémogramme évocateur de β -thalassémie. L’étude de l’Hb retrouve un variant en faible quantité (10-15%) qui migre près de l’HbS à l’électrophorèse à pH alcalin, près de l’HbA à pH acide et coélue avec l’HbA2 en CLHP.

Les homozygotes ou hétérozygotes composites Hb Lepore/ β -thalassémie présentent un tableau de thalassémie majeure ou intermédiaire. L’étude de l’Hb ne retrouve que de l’HbF et de l’Hb Lepore.

- **Thalassémie bêta-delta ($\beta \delta$) [71]**

Beaucoup moins répandue que la β -thalassémie classique, elle est rencontrée principalement dans le bassin méditerranéen. Mais elle a été retrouvée chez les Noirs américains et chez les Asiatiques.

Dans cette forme de thalassémie, le gène responsable détermine une inhibition de la synthèse des chaînes β et δ ; la compensation ne peut pas se faire par un accroissement du taux de la fraction A2 mais uniquement par une augmentation de la fraction F même dans les formes hétérozygotes. Elle est appelée aussi F-thalassémie ou β -thalassémie de type 2. Cette forme particulière de thalassémie pourrait résulter de la délétion des gènes β et δ qui se succèdent sur le même chromosome.

- **Thalassémie delta-gamma ($\delta \gamma$) [71]**

Quelques observations de thalassémie affectant les chaînes δ et γ ont été rapportées. A l'état hétérozygote, elle se manifeste par une diminution de la fraction A2 et par sa disparition complète à l'état homozygote. Dans un cas comme dans l'autre il n'existe aucun retentissement clinique ou hématologique ; l'importance pratique de telles anomalies est nulle. Il a été également rapporté une anémie hémolytique hypochrome et microcytaire chez un nouveau-né dont le père était porteur d'une thalassémie hétérozygote. Cette anémie devait disparaître dans les premiers mois de la vie. L'enfant présente par la suite tous les signes d'une β -thalassémie hétérozygote.

L'étude in vitro de la synthèse des chaînes de l'Hb montrait chez cet enfant une diminution de la synthèse affectant les chaînes β et γ ; les enfants furent considérés comme porteurs d'un double hétérozygotisme thalassémie- β thalassémie- γ .

9. Prise en charge thérapeutique de la bêta-thalassémie

Les tableaux cliniques assez divers observés chez les patients thalassémiques impliquent une diversité de la prise en charge ainsi ces derniers peuvent ne pas recevoir de traitement ou peuvent être dépendants d'un régime transfusionnel strict.

Actuellement la seule thérapeutique curative de la β -TM est la greffe de cellules souches hématopoïétiques mais seule une minorité de patients peut en bénéficier. Le traitement conventionnel de la β -TM comporte : des transfusions sanguines répétées engendrant une surcharge en fer qui représente la principale cause de morbidité. Cependant, un chélateur de fer lui est toujours associé [72], à cela s'ajoute une supplémentation en acide folique, une

splénectomie et des inducteurs de l'hémoglobine fœtale ou Hydroxyurée.

9.1. Transfusion sanguine

Le régime transfusionnel comporte des transfusions régulières effectuées toutes les 3 à 4 semaines et réalisées avec des concentrés érythrocytaires déleucocytés. Avant la première transfusion, les patients doivent bénéficier d'une détermination de leur phénotype érythrocytaire élargi (systèmes ABO, Rhésus, Kell, Kidd, Duffy, MNSs).

Les transfusions systématiques de 10-20ml/kg visent à maintenir en permanence un taux d'hémoglobine pré-transfusionnel supérieur ou égal à 100g/l. En effet, il permet d'obtenir une suppression correcte de l'expansion érythroblastique par abaissement des taux élevés d'érythropoïétine, de prévenir les troubles de la croissance, les déformations osseuses, ainsi que l'hépatosplénomégalie et de diminuer l'hyperabsorption digestive du fer associée à la dysérythropoïèse [73].

Les patients ne doivent subir cette transfusion qu'une fois le diagnostic de thalassémie établi par les études de laboratoires citées et si :

- Des taux d'Hb inférieurs à 7g/dl ont été observés au moins à deux occasions séparées d'au moins deux semaines. Il arrive que des patients aient une croissance et un développement normaux alors qu'ils ont des taux d'Hb entre 6 et 7g/dl ;
- Des taux d'Hb supérieurs à 7g/dl mais avec les signes cliniques suivants :
 - Déformations du visage ;
 - Retard de croissance (poids et/ou taille) ;
 - Fractures osseuses ;
 - Hématopoïèse extra-médullaire responsable de masses tumorales.

En présence de ces critères, la transfusion ne doit pas être différée [74].

Les transfusions répétées avec des concentrés de globules rouges présentent des risques de complications, telles que :

- Les complications infectieuses ;
- Le dépôt de fer dans les os avec des troubles systémiques : dépôts au niveau du

myocarde et des glandes endocrines, diabète, troubles hépatiques. En général les sujets meurent de défaillance cardiaque entre 20 et 30 ans [75] ;

- Le risque d'allo-immunisation augmente avec l'âge. Il est préférable de débiter la transfusion avant l'âge de 03 ans. En effet, chez les thalassémiques majeurs, débiter les transfusions le plus tôt possible après la première année permet l'installation d'une tolérance immunologique freinant l'apparition de l'allo-immunisation. Par contre, en cas de thalassémie intermédiaire, le taux d'allo-immunisation érythrocytaire est plus élevé dû à une mise en place des transfusions plus tardive [76].



Figure 19 : Image d'un enfant bêta-thalassémique sous transfusion [77].

- **Examens immuno-hématologiques**
 - ✓ **Détermination du groupe ABO**

C'est le système majeur de l'immunologie transfusionnelle et le seul système dont la définition repose sur l'existence concomitante d'antigènes membranaires (A, B et H) et d'anticorps plasmatiques (anticorps anti A et anti B). Il est impératif de connaître le système ABO et de respecter ses règles transfusionnelles: transfusion de groupes identiques, transfusion de groupes compatibles [66].

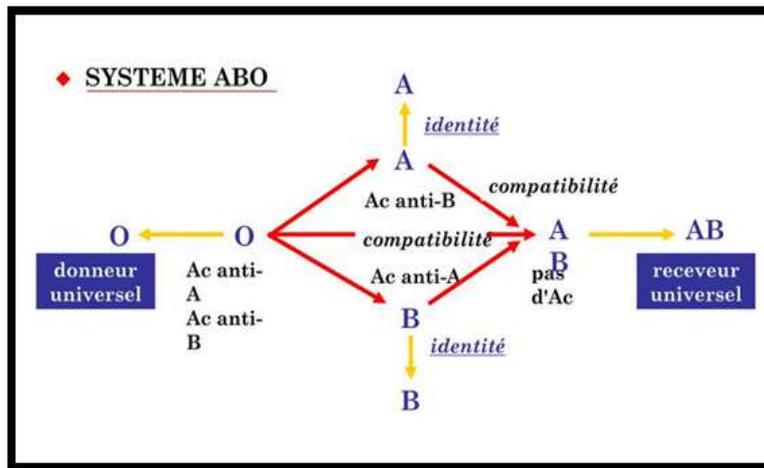


Figure 20 : La compatibilité entre les différents groupes sanguins des donneurs et des receveurs pour les transfusions de globules rouges [78].

✓ Détermination du système Rhésus

C'est le système le plus immunogène et le plus polymorphe de tous les systèmes de groupes sanguins érythrocytaires connus chez l'homme. Il se définit par sa complexité par rapport à tous les systèmes de groupes sanguins. A ce jour, près de 50 antigènes du système rhésus ont été décrits dont le plus important en transfusion est l'antigène D. Dans ce système, cinq antigènes principaux méritent d'être connus (surtout en pratique transfusionnelle) ; les antigènes D, C, E, c et e [66].

Dans la pratique transfusionnelle la détermination des groupes sanguins est régie par la règle :

- Deux techniciens ;
- Deux techniques différentes (Beth-Vincent et Simonin) ;
- Deux échantillons prélevés à des moments différents ;
- Deux séries de réactifs différentes.

✓ Détermination du phénotype étendu

On retrouve à la surface des hématies de nombreux antigènes n'appartenant pas aux groupes ABO et Rh. Ces antigènes sont en règle moins immunogènes, mais peuvent parfois susciter en cas d'incompatibilité transfusionnelle une allo-immunisation avec risque d'hémolyse : le système Kell, Duffy, Kidd, MNS [79].

✓ La recherche d'anticorps irréguliers (RAI) [80]

Son principe repose sur la détection de l'existence d'anticorps irréguliers chez un patient en faisant réagir son sérum vis à vis d'une gamme d'hématies tests de groupe O et de phénotypes connus. Ces hématies-tests présentent l'ensemble des antigènes potentiellement dangereux en transfusion sanguine (Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, MNS...etc). Avant toute transfusion de globules rouges une Recherche d'Agglutinines Irrégulières s'impose (durée légale de validité: 3 jours).

Mais ce qui serait recommandé :

- 24H si transfusion < 3 semaines ;
- 72H si le patient a eu une transfusion il y a plus de 3 semaines et moins de 6 mois ;
- 3 semaines si pas de transfusion ou antécédents obstétricaux depuis moins de 6 mois.

En post transfusionnel, le médecin prescrit une RAI. La recherche sera effectuée de préférence entre la 3^{ème} et la 5^{ème} semaine car il s'agit du moment idéal pour détecter l'apparition d'un anticorps. En effet le taux plasmatique peut chuter jusqu'à devenir indétectable dans les semaines qui suivent. La RAI fait partie du bilan de suivi de la femme enceinte, selon des modalités bien précises.

✓ Test de compatibilité [81]

En plus des anticorps ABO, on peut retrouver d'autres anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires non ABO. Il s'agit alors le plus souvent d'anticorps immuns et irréguliers (IgG) nécessitant des techniques particulières pour être mis en évidence. Leur présence dans le sang d'un individu est le plus souvent due à une immunisation contre un ou plusieurs antigènes lors d'une transfusion sanguine antérieure ou chez la femme lors d'une grossesse. Les risques dépendent de l'immunogénécité des antigènes soit par ordre d'importance : dans le système Rhésus D, E, c, e, C; le K du système Kell; le Fya du système Duffy ; le Jka du système Kidd...Pour bien faire, il faudrait donc tenir compte de tous les antigènes (ou du moins des antigènes les plus immunogènes) avant de réaliser une transfusion. Cette analyse complète la RAI et peut mettre en évidence des anticorps anti-privés, c'est à dire des anticorps

dirigés contre des antigènes rarement rencontrés dans la population.

Cet examen s'applique :

- Avec un résultat de RAI positif ou douteux (anticorps sans spécificité bien définie) ;
- En cas d'antécédent de réaction hémolytique même mineure.

✓ **Le contrôle ultime au lit du malade « rapid cross match »** [81, 82]

Il s'agit de la vérification ultime de la compatibilité ABO entre le sang du receveur et du donneur systématiquement réalisée « au lit du malade », immédiatement avant la transfusion de chaque culot globulaire. Elle comporte 2 phases :

- Le contrôle de la concordance entre l'identité du patient et l'identité portée sur la carte de groupe sanguin et entre le groupe sanguin mentionné sur cette carte et sur l'unité de sang à transfuser ;
- La vérification des groupes ABO du receveur et de l'unité de sang à transfuser au lit du malade. Cela consiste à rechercher la concordance ABO entre le sang du receveur et le sang de la poche à transfuser en faisant réagir les hématies avec des antisérums connus.

9.2. Le traitement chélateur du fer

Les patients devraient commencer la chélation après 10 à 20 transfusions ou quand la concentration de la ferritinémie dépasse 1000ng/ml [74]. Trois molécules sont actuellement disponibles : le déféroxamine (DFO, DESFERAL) administré par voie injectable, la déféripone (DFP, FERRIPROX) et le déférasirox (DFX, EXJADE); les deux disponibles par voie orale. Le chélateur idéal doit satisfaire aux critères suivants : avoir une affinité haute et spécifique avec le fer sous forme Fe^{3+} , un haut pouvoir chélateur, un faible taux de métabolisation, une bonne pénétration cellulaire, pas de redistribution du fer, bien sur une toxicité relativement faible et enfin une bonne biodisponibilité [83].



Figure 22 : Structure de la déférisiprone [86].

- **Le déférasirox**

Indiqué en première intention chez les patients thalassémiques âgés de plus de 6 ans recevant des transfusions fréquentes et présentant une surcharge en fer post-transfusionnelle. Administré comme traitement alternatif à tous les patients qui ne tolèrent pas la déféroxamine ou qui présentent une tolérance faible à celle-ci. Il est indiqué chez l'enfant de 2 à 6 ans ou chez les patients thalassémiques moins transfusés. Le DFX administré en une unique prise quotidienne à la dose de 20 à 30mg/kg/jour est d'efficacité comparable à celle de la DFO sur l'évolution à un an de la CFH et des ferritinémies chez les patients thalassémiques polytransfusés. Les données d'efficacité et de tolérance ont été confirmées à quatre ans de traitement. Les doses de 5 et 10mg/kg/jour sont insuffisantes pour équilibrer la balance du fer chez des patients recevant plus de 8 transfusions par an. Les doses prescrites sont adaptées à l'importance de la surcharge et des apports transfusionnels en fer ainsi qu'à la tolérance médicamenteuse [44].

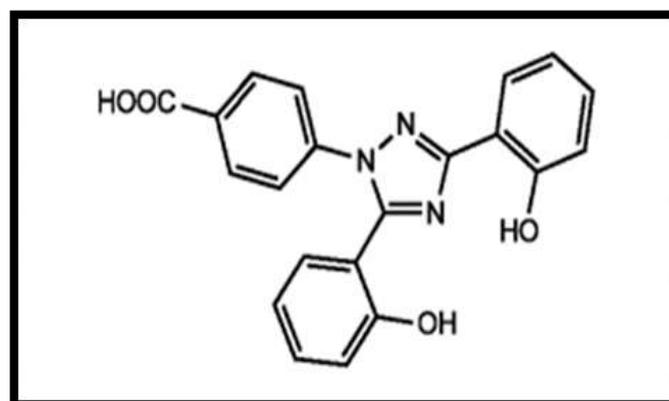


Figure 23 : Structure du déférasirox [87].

❖ La bithérapie : une possibilité ?**- L'association Déféroxamine/Défériprone (DFO/DFP) [62]**

La combinaison de la DFO avec la DFP présentent des avantages certains. Ayant chacune des cibles différentes, combiner les deux molécules permet d'épurer un plus grand nombre de pools de fer. En somme, on observe une augmentation de la chélation par addition des effets de chaque chélateur. La qualité de vie est améliorée notamment par la possibilité d'espacer les transfusions. Cependant, l'exposition aux effets secondaires des traitements lors de la bithérapie est trois fois supérieure à celle présentée par la DFO seule. Ainsi, devant ces risques élevés, seule l'aggravation des dépôts de fer au niveau du myocarde suggérerait la mise en place de ce type de bithérapie.

- L'association Déféroxamine/Déférasirox (DFO/DFX) [88]

L'addition des effets des deux molécules permet la chélation d'une plus grande quantité de fer. Des études ont montré une diminution de 40% de la ferritinémie et une diminution marquée de la CHF après un an de chélation par cette bithérapie chez des patients pour qui ce taux ne diminuait pas significativement avec une monothérapie. Par ailleurs, la combinaison améliore les effets sur les cellules cardiaques par rapport à une thérapie par DFO seule. Le risque d'apparition d'effets secondaires n'est pas augmenté lors d'une bithérapie comparé au risque de ces traitements en monothérapie.

9.3. La supplémentation en acide folique

L'acide folique (vitamine B9) intervient dans la fabrication des globules rouges qui est accélérée en cas de thalassémie. Les besoins en acide folique sont donc plus importants [51], une prise quotidienne est recommandée à une dose de 5mg/j [89].

9.4. La splénectomie

La splénectomie est indiquée chez les patients atteints de thalassémie majeure sous régime transfusionnel systématique recevant plus de 220ml/kg/an de concentrés érythrocytaires. Dans les thalassémies intermédiaires, cet acte chirurgical est indiqué lorsqu'il existe des signes d'hypersplénisme (volumineuse splénomégalie, cytopénie et accroissement des besoins

transfusionnels) [73]. Cependant, une prophylaxie rigoureuse doit être instituée pour prévenir les complications essentiellement les thromboses et les infections qui peuvent mettre en jeu le pronostic vital [90].

9.5. Les inducteurs de l'hémoglobine fœtale « Hydroxyurée/Hydroxycarbamide » [83]

L'augmentation du taux d'HbF ($\alpha_2\gamma_2$) permet une diminution proportionnelle de l'HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) qui ne possède pas de rôle physiologique. L'augmentation proportionnelle des chaînes γ permet de compenser dans une certaine mesure le faible taux des chaînes β et ainsi d'atténuer le déséquilibre entre les chaînes α et β que présente les patients β -thalassémiques. L'amélioration de l'anémie est donc le premier but de ce traitement.

L'hydroxyurée par ses propriétés inhibitrices de l'érythropoïèse est indiquée en cas de manifestations hématopoïétiques extramédullaires ou d'anémie sévère. Ce traitement est donc surtout utilisé chez les patients atteints de β -thalassémie intermédiaire qui présentent plus fréquemment ce type de tumeurs. Par ailleurs, le taux d'HbF étant déjà élevé chez les patients β -TM, l'intérêt de cette molécule est plus réduit pour ces derniers.

L'hydroxycarbamide est capable d'augmenter en moyenne le taux d'HbF de 1 à 5g/L par rapport au taux d'origine après 3 à 6 mois d'administration. La molécule permet une résorption digestive satisfaisante autorisant une voie d'administration orale.

9.6. La greffe de cellules souches hématopoïétiques

Le tissu sanguin d'une personne non malade se renouvelle et est constamment régulé grâce aux cellules souches hématopoïétiques, cellules indifférenciées et capables d'auto-renouvellement. Par conséquent, la transplantation de ces cellules saines à des patients affectés d'hémoglobinopathies, également appelée « greffe de moelle osseuse », permet de leur restaurer une hématopoïèse normale [83]. Cette greffe représente le seul traitement curatif de la β -thalassémie. C'est un traitement qui réserve parfois des complications graves et qui nécessite de trouver un donneur compatible HLA identique intrafamilial (généralement parmi la fratrie). Le taux de réussite est de l'ordre de 90% à 95%. Les résultats sont en effet bien

meilleurs lorsque la maladie est peu avancée [74].

9.7. La thérapie génique

La thérapie génique représente une des approches les plus prometteuses pour l'avenir des traitements des β -thalassémies et regroupe de nombreuses stratégies complémentaires, permettant de traiter la cause directe de la pathologie et non plus ses complications. Comparée à une greffe de cellule souche allogénique classique, cette approche évite les problèmes d'incompatibilité HLA, les réactions de GVH et limite ainsi la durée des traitements immunosuppresseurs post-greffes [91].

- **La vectorisation du gène de β -globine**

Ce traitement représente une alternative pour traiter définitivement l'hémoglobinopathie en cas d'impossibilité de recourir à un donneur pour une greffe allogénique, en offrant la possibilité d'une greffe autologue : les propres cellules souches hématopoïétiques du patient sont génétiquement modifiées avant de lui être réinjectées. Ainsi, l'addition du gène β -globine par un vecteur et son intégration chromosomique dans les cellules souches hématopoïétiques du patient est une approche de choix grâce à des éléments de régulation génétiques appropriés contenus dans le vecteur.

Les virus ont la capacité d'intégrer leur propre matériel génétique dans les cellules humaines, ils représentent donc de potentiels vecteurs pour ce type de thérapie. Le principe général est d'ôter au virus les séquences génétiques responsables de son caractère pathologique, le rendant inoffensif et de lui supprimer la capacité de se reproduire. Enfin, le gène à visée thérapeutique vient remplacer ces séquences.

Le Lentivirus, appartenant à la famille des rétrovirus est le seul germe qui infeste les cellules en cours de division mais également les cellules quiescentes (non en division cellulaire). Par ailleurs, il provoque une réponse immunitaire limitée et permet la survie des cellules infectées [92, 93].

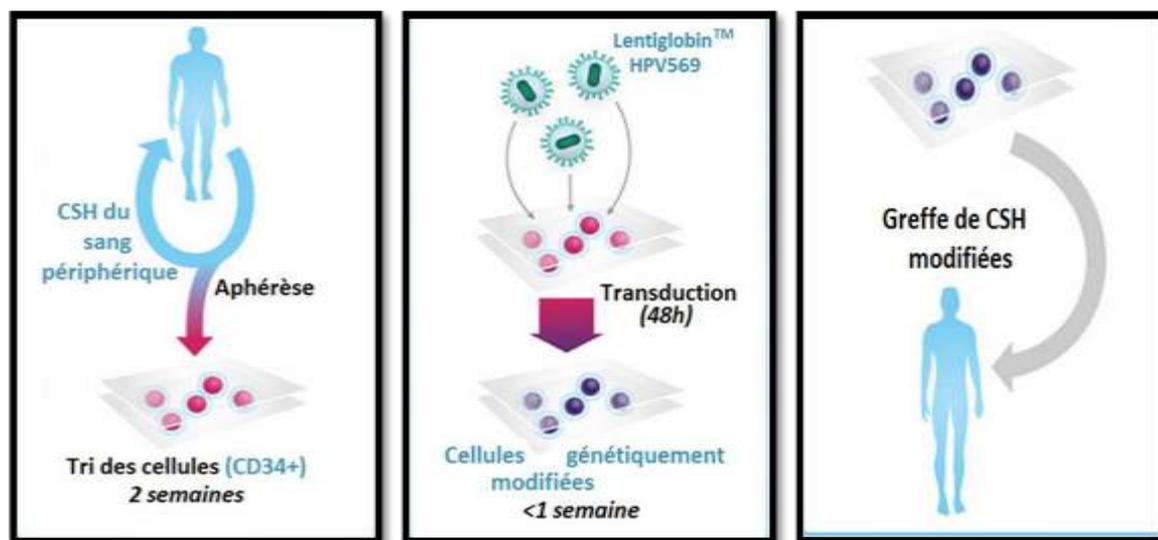


Figure 24 : Protocole clinique de la vectorisation du gène [83].

La réussite de cette thérapie génique utilisant un vecteur lentiviral encodant le promoteur du gène de la β -globine humaine a été démontré en premier sur le modèle β -thalassémique murin. Une augmentation de l'hémoglobine totale de 4-6g/dl a été obtenue [94].

- **Autres perspectives [92, 95, 96, 97]**
 - **Les cellules souches pluripotentes induites (iPSCs) :** Sont des cellules souches pluripotentes qui ont été produites en laboratoire par reprogrammation, à partir de cellules déjà différenciées (cellule somatique). Elles sont qualifiées de pluripotentes car, comme les cellules embryonnaires, elles peuvent se diviser à l'infini et se différencier sans restriction en n'importe quel type de cellules de l'organisme. La transplantation d'iPSC représente cependant des risques, notamment de formation de tumeur en cas de prolifération incontrôlée des cellules ou des risques de mutagenèse insertionnelle.
 - **Activation de l'hémoglobine fœtale :** Augmenter la production de l'HbF chez les patients β -thalassémiques est sans nul doute bénéfique. Au lieu d'agir sur le gène β porteur de la mutation, vectoriser un transgène qui active la γ -globine endogène permettrait d'augmenter la production d'HbF. Par ailleurs, la conjugaison de la thérapie génique avec un inducteur d'HbF permet d'atteindre des taux élevés d'Hb fonctionnelle dans les cellules β -thalassémiques et de diminuer l'excès d' α -globine.

- **Nucléases de synthèse** : Le développement de 2 types d'enzyme de restriction, 'TALEN' pour Transcription Activator-Like Effector Nucleases et 'ZFN' zinc finger nucleases permet de repérer le locus du gène β -globine humaine et de cliver le gène β -globine muté.

9.8. La vaccination [66]

Une vaccination par les vaccins suivants est recommandée pour minimiser le risque infectieux :

- Vaccin anti-pneumocoque ;
- Vaccin anti-haemophilusinfluenzae ;
- Vaccin anti-méningocoque ;
- Vaccin anti hépatite B ;
- Eviter les vaccins vivants atténués (rougeole, rubéole, fièvre jaune, oreillon...).

9.9. Prévention [52, 62]

Un programme de prévention basé sur le dépistage des porteurs sains, le conseil génétique et le dépistage anténatal a permis de diminuer la morbidité d'une façon appréciable des formes sévères de la β -thalassémie dans les pays ayant une forte prévalence des traits thalassémiques.

9.9.1. Le dépistage des porteurs

Il peut être un dépistage en masse, ciblé dans une micropopulation à risque localisée dans une zone géographique déterminée ou au cours d'un bilan prénuptial.

9.9.2. L'enquête familiale

Indispensable au diagnostic et peut révéler que les deux parents sont des porteurs sains et présentent une pseudopolyglobulie microcytaire à l'hémogramme et un taux d'HbA2 > 3.5% à l'électrophorèse de l'Hb.

9.9.3. Le conseil génétique

Il vise à informer les patients, les parents et les porteurs du trait thalassémique sur l'histoire naturelle de la maladie, le mode de transmission, le risque d'apparition de la forme homozygote sévère chez leurs descendances y compris le traitement disponible et les thérapies en cours de recherche.

9.9.4. Diagnostic prénatal

Le diagnostic prénatal pour les grossesses à risque accru est possible par l'analyse de l'ADN extrait de cellules fœtales obtenues par amniocentèse, habituellement réalisée environ 15 à 18 semaines de gestation ou sur des villosités chorales à 11 semaines de la gestation. Actuellement, de nouvelles approches de diagnostic non invasives sont envisageables : l'analyse des érythroblastes fœtaux isolés à partir du sang maternel et l'analyse de l'ADN libre fœtal dans le plasma maternel peuvent également être réalisées.

Chapitre III: Techniques d'étude de l'hémoglobine

1. Stratégie d'étude de l'hémoglobine [98]

Deux stratégies s'offrent actuellement au biologiste pour dépister les anomalies de l'Hb : soit l'utilisation des techniques classiques (électrophorèse de l'Hb à pH alcalin en première intention), soit l'utilisation de la chromatographie liquide haute performance (CLHP en deuxième intention) qui dose avec précision les fractions HbA2 et HbF et qui permet de suspecter la présence des mutants les plus fréquents de l'Hb (HbS, D et E). Elle offre aussi l'avantage d'être précise, rapide, de nécessiter une faible quantité d'échantillon et d'être adaptée aux analyses en grande série.

Ces deux stratégies sont des stratégies de dépistage. La suspicion de la présence d'un mutant nécessitera la mise en place d'analyses complémentaires (test de stabilité, test de solubilité, électrophorèse à pH acide et isoélectrofocalisation).

2. Etude phénotypique de l'Hb par les méthodes séparatives

2.1. Les méthodes électrophorétiques

a. Principe

Le principe des méthodes électrophorétiques repose sur la migration dans un champ électrique d'un hémolysât d'hématies lavées. Les hémoglobines se déplacent alors en fonction de leurs charges, leurs tailles, leurs compositions en aminoacides, de la force ionique, du pH du tampon et de la nature du support [99].

2.1.1. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin

a. Principe

Les hémoglobines sont chargées négativement à pH alcalin et migrent vers l'anode (+). Si le variant de l'Hb présente un acide aminé de surface ayant un résidu qui modifie sa charge il va être séparé de l'HbA lorsqu'il est soumis au champ électrique [16]. Les hémoglobines qui ont un gain de charges positives migrent plus lentement et migrent donc moins près de l'anode que l'HbA contrairement aux hémoglobines plus chargées négativement.

2.1.1.1. Sur acétate de cellulose

2.1.1.1.1. Principe

L'électrophorèse à pH alcalin réalisée sur acétate de cellulose (support solide) est une technique simple à mettre en œuvre mais présente l'inconvénient de ne pas être suffisamment précise pour quantifier les fractions mineures HbA₂ et HbF expliquant ainsi son faible pouvoir résolutif. Cependant, ça sera impossible de distinguer des variants de même migration: HbS/D-Punjab ou HbE/HbC/HbO-Arab. Aussi, l'HbF est mal séparée des HbA et HbS chez le nouveau-né ce qui signifie que cette méthode n'est pas recommandée dans le diagnostic des hémoglobinopathies chez ce dernier. Cette technique est abandonnée.

2.1.1.2. Sur gel d'agarose [100]

2.1.1.2.1. Principe

Les gels d'agarose permettent la séparation des hémoglobines normales (A et A₂) et la détection des principales hémoglobines anormales : S ou D et C ou E.

Par électrophorèse sur gel d'agarose (cuve), l'analyse se fait sur l'hémolysât de globules rouges lavés. Les hémoglobines sont séparées en présence d'un tampon alcalin (pH 8,5), fixées par la chaleur ou en milieu alcool/acide et colorées par une solution d'amidoschwarz. L'excès de colorant est éliminé en milieu acide.

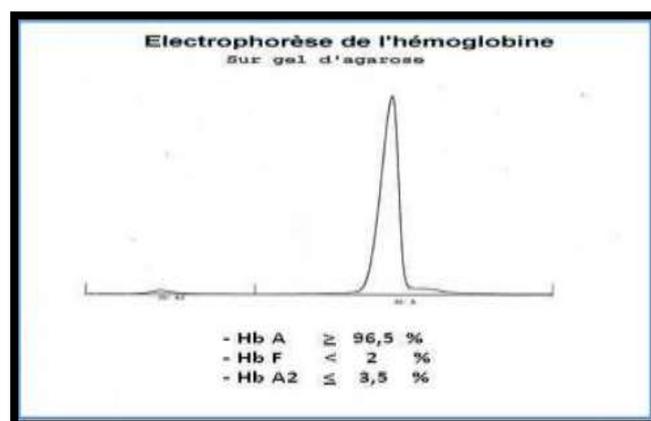


Figure 25 : Profil normal de l'électrophorèse de l'Hb sur gel d'agarose à pH alcalin [101].

Le profil de migration des fractions normales et pathologiques de l'Hb à ce pH est illustré sur la figure ci-dessous.

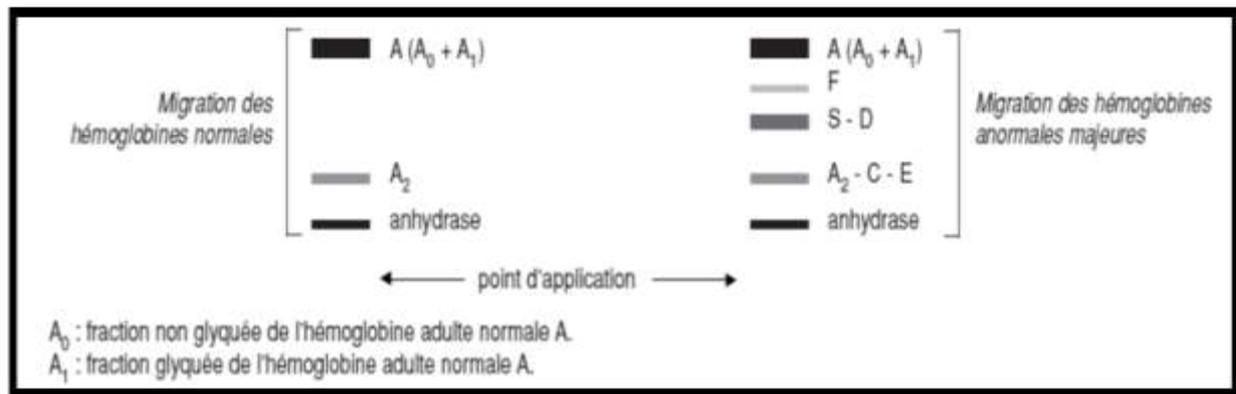


Figure 26 : Profil de migration des fractions de l'Hb sur gel d'agarose à pH alcalin [101].

Cette méthode nous permet de réaliser l'étude qualitative des hémoglobines normales et anormales et de faire une analyse quantitative grâce à un densitomètre qui donne une quantification relative précise en pourcentage des zones individualisées des hémoglobines présentant un intérêt particulier tel que la valeur de l'HbA2 dans le diagnostic de la β -thalassémie.

Elle fonctionne selon les étapes suivantes : application des échantillons, migration électrophorétique, séchage, coloration, décoloration, séchage final et lecture.

Cette technique est facile à mettre en œuvre mais présente l'inconvénient de ne pas permettre une quantification fiable des fractions mineures et d'être peu résolutive [100].

2.1.2. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH acide

2.1.2.1. Principe

Lors de l'observation de bandes anormales ou difficiles à séparer, une électrophorèse sur gel d'agar en pH acide doit être mise en œuvre. Il s'agit d'un test de seconde intention permettant de confirmer l'identification des variants de l'hémoglobine [102].

La migration d'une hémoglobine anormale en agar citraté dépend premièrement de la localisation de la mutation et secondairement du changement de la charge. En effet à pH acide, la mobilité des hémoglobines chargées positivement est affectée par des interactions

électrostatiques avec les charges négatives de l'agar [103].

Cette migration résulte de [101] :

- La liaison réversible de l'Hb à l'agaropectine → complexe formé migrant vers l'anode ;
- L'effet de l'ion citrate → compétition avec l'agaropectine pour sa fixation à l'Hb.

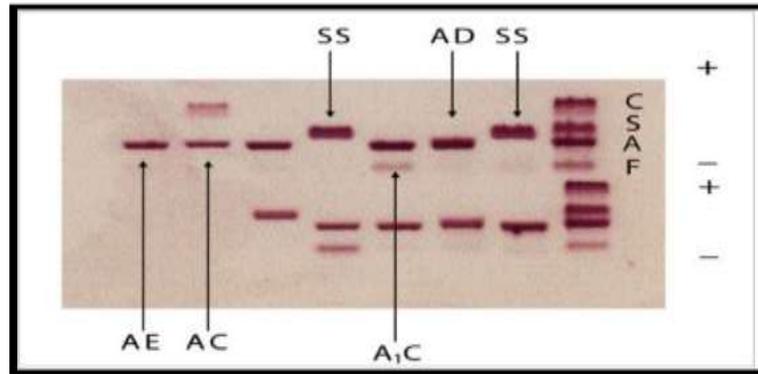


Figure 27 : Electrophorèse sur citrate agar à pH 6 [33].

2.1.3. Complémentarité entre l'électrophorèse à pH alcalin et pH acide [104, 105, 106, 107, 108]

A pH alcalin (classiquement pH 8,6), les hémoglobines A₂, C, E et O migrent dans la même zone, de même que les hémoglobines S, D et G migrent selon la même vitesse. Dans le cas de suspicions de telles anomalies de l'hémoglobine, une technique complémentaire doit donc être envisagée. La distinction entre ces différents variants se fait le plus souvent par électrophorèse sur gel d'agarose à pH acide (pH 6) qui permet de séparer l'HbC de l'HbE et de l'HbO, ainsi que l'HbS de l'HbD et de l'HbG. En revanche, les HbE et HbO ainsi que les HbD et HbG ne peuvent toujours pas être différenciées en combinant ces deux méthodes électrophorétiques.

De plus, ces techniques présentent l'inconvénient d'être consommatrices de temps et de main d'œuvre et manquent de précision pour la quantification des hémoglobines en concentrations faibles comme l'HbA₂ et pour la détection des variants à migration rapide comme l'HbH ou l'Hb Bart's. Il est même maintenant admis que la quantification des variants par densitométrie manque de précision et que ces deux techniques d'électrophorèse doivent être utilisées à visée qualitative. Elles sont donc aujourd'hui le plus souvent utilisées combinées à une autre méthode principalement la chromatographie liquide de haute performance qui présente une précision bien plus importante.

2.1.4. Electrophorèse capillaire (EC)

2.1.4.1. Principe

C'est une technique d'électrophorèse liquide où la migration se fait dans un capillaire de silice rempli d'une solution tampon qui plonge dans deux réservoirs contenant cette même solution. Ces cuves vont être reliées à une électrode connectée à un générateur de courant. Suite à l'injection de l'hémolysât dans le système et à l'application du courant électrique, les différentes fractions de l'hémoglobine vont se séparer en fonction de leur mobilité électrophorétique (donc de leur charge) mais aussi en fonction du courant d'électro-osmose (donc de leur rapport charge/masse). Les hauts voltages appliqués permettent une séparation rapide et sensible des différentes fractions [109].

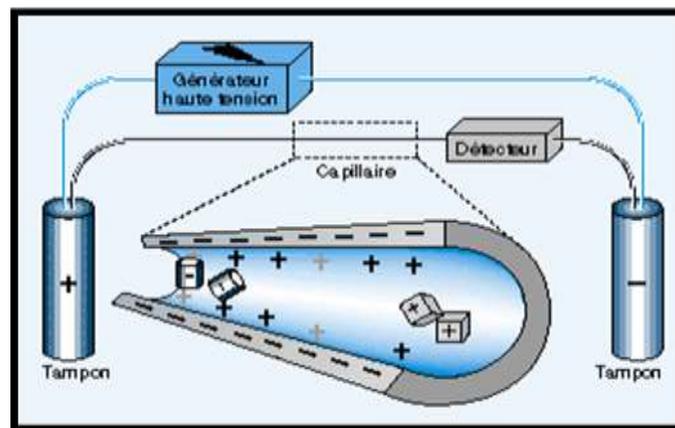


Figure 28 : Schéma général de l'appareil d'électrophorèse capillaire [109].

L'EC a pu mesurer l'HbA2 en présence d'HbE, contrairement à l'HPLC [110]. Elle permet aussi d'analyser des composés hydrosolubles et toutes les molécules chargées ou non peuvent potentiellement être analysées : ions inorganiques, molécules organiques et macromolécules [111]. Du coup, l'EC ne sépare pas les différentes fractions post-traductionnelles de l'HbA (glycation, dégradation) et présente des difficultés à mesurer l'HbA2 en présence d'HbC [110].

2.1.5. Isoélectrofocalisation (IEF) ou focalisation isoélectrique

2.1.5.1. Principe

C'est une méthode d'électrophorèse sur gel d'agarose qui utilise un gradient de pH6 à pH8

sous voltage élevé. La migration et donc la séparation des variants d'hémoglobine se feront en fonction de leur point isoélectrique pI qui est le pH pour lequel la charge globale de la molécule est nulle. Les différentes hémoglobines vont donc migrer dans ce gradient de pH jusqu'à ce que celui-ci atteigne leur pI. L'identification d'un mutant inconnu se fera par comparaison de son pI avec celui d'un échantillon de référence. Il est ainsi possible de séparer deux variants d'hémoglobine qui diffèrent de 0.01 unité de pH. Par exemple les points isoélectriques de l'HbA1 et de l'HbA2 sont respectivement de 6,98 et 7,42, celui de l'HbS est de 7,20 [105].

Cette méthode permet d'une part, la séparation rapide de la plupart des hémoglobines (HbC, HbE, HbS et HbD) et d'autre part, elle permet la mise en évidence des hémoglobines instables non identifiables par les techniques classiques d'électrophorèse à pH alcalin. Aussi, l'IEF constitue la méthode de choix dans le dépistage des hémoglobinopathies chez le nouveau-né grâce à la bonne séparation de l'HbF et de l'HbA [112]. Mais c'est une technique manuelle dont l'interprétation des résultats nécessite une certaine maîtrise. Elle est seulement qualitative et non quantitative.

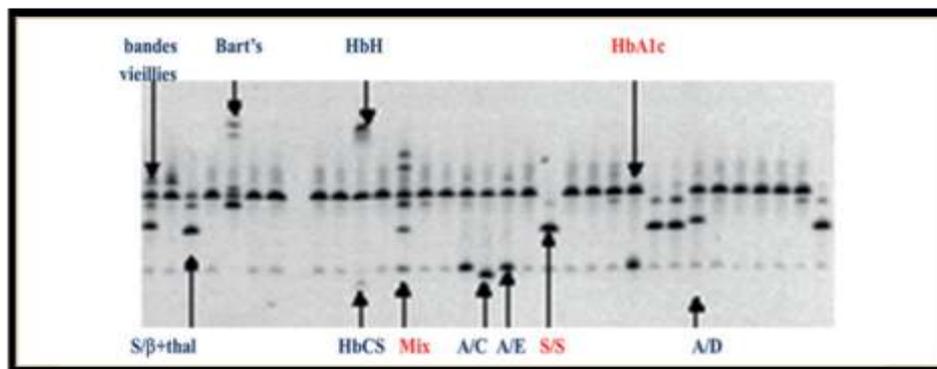


Figure 29 : Isoélectrofocalisation en gel d'Agarose [113].

2.2. Etude de l'hémoglobine par HPLC [110, 114, 115]

2.2.1. Principe

C'est une technique qualitative et quantitative avec une sensibilité et une spécificité relativement élevées. Elle est basée sur la séparation des différentes fractions d'hémoglobines en fonction de la force de leurs interactions ioniques sur une colonne échangeuse d'ions. Ces

fractions seront éluées à un temps caractéristique donné qui est « le temps de rétention » et une détection des pics formés sera faite grâce à un spectrophotomètre à 415nm.

2.2.2. Avantages de la méthode

- La méthode est capable de séparer plus de 45 variants d'hémoglobine couramment rencontrées, en 12min (O-Arab, lepre, HbF, HbA₂, HbS...);
- Une quantification précise et reproductible des concentrations, en particulier l'HbF et l'HbA₂ qui sont utiles pour le diagnostic de l'HPFH et de la β -thalassémie respectivement ;
- Sépare les différentes fractions post-traductionnelles de l'HbA (HbA_{1C}, Hb carbamylé et Hb labile) ;
- Permet la mesure des formes post-traductionnelles de l'HbC pour donner des pics individualisés qui n'interfèrent pas avec celui de l'HbA₂ ;
- Identification de l'HbC et de l'Hb O-Arab est exacte à l'aide de la méthodologie HPLC. Cette méthode peut être à la fois confirmative et diagnostique.

2.2.3. Inconvénients de la méthode

- Certains des produits de dégradation et de l'HbC glyquée seront présents dans le pic de l'HbS ;
- La valeur d'HbA₂ était significativement plus élevée lorsqu'elle est mesurée par HPLC (moyenne, 4,0% ; EC, 1,0%) vs EC (moyenne, 3,1% ; EC, 0,8%) en raison d'une fraction majeure de produits glyqués d'HbS co-migrant avec le pic d'HbA₂ dans la méthode HPLC ;
- Les méthodes HPLC ne peuvent pas séparer l'HbE de l'HbA₂. Bien que l'HPLC en phase inverse fournisse une estimation de l'HbA₂ en présence d'HbE, cette méthode n'est pas couramment utilisée dans les laboratoires cliniques ;
- Les fractions glyquées de l'HbE sont séparées de l'HbE si elles sont coéluées avec l'HbA, ce qui signifie que la valeur réelle de l'HbE sera sous-estimée.

2.2.4. Les temps de rétention des différentes fractions de l'hémoglobine selon le type de l'hémoglobinopathie, mesurés par HPLC

Tableau 09 : Tableau représentant les différents temps de rétention des fractions de l'Hb caractéristiques des hémoglobinopathies [116].

Le type de l'hémoglobinopathie	Le temps de rétention (min) des différentes fractions de l'Hb			
	HbA2	HbF	HbA	HbS
Echantillon normal	3,06	-	1,80	-
Trait β -thalassémique	3,14	0,46	1,70	-
La β -thalassémie intermédiaire	3,16	0,50	1,74	-
La β -thalassémie majeure	3,13	-	1,76	-
HbE hétérozygote	2,96	-	1,72	-
HbE homozygote	2,74	0,44	1,66	-
Double hétérozygotie HbE/trait β -thalassémique	2,93	0,50	1,66	-
HbS hétérozygote	3,01	0,43	1,71	4,13
HbS homozygote	3,08	0,54	1,77	4,10
Double hétérozygotie HbS/trait β -thalassémique	3,02	0,45	1,76	4,12
Double hétérozygotie HbS/PHHF	3,02	0,52	1,76	4,12
Double hétérozygotie HbS/HbE	2,94	0,44	1,76	4,12
Hb D-punjab hétérozygote	2,99	0,59	1,69	-
Double hétérozygotie Hb D-punjab/trait β -thalassémique	2,99	0,44	1,63	-
Double hétérozygotie HbS/HbD	3,10	0,51	1,77	4,16
Hb D-Iran hétérozygote	2,63	0,42	1,70	-
Hb Q-Inde hétérozygote	3,10	0,42	1,69	-
Double hétérozygotie Hb Q-Inde/trait β -thalassémique	3,12	0,55	1,70	-
Hb lepore hétérozygote	2,79	0,43	1,65	-
HbH	3,10	-	1,70	-

3. Etude génotypique de l'Hb par la biologie moléculaire

La prévalence d'un nombre limité de mutations dans chaque population a grandement facilité les tests de génétique moléculaire. Les mutations courantes du gène de la β globine sont détectées par des procédures basées sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR) (la RFLP-PCR et la PCR en temps réel) à l'aide de sondes oligonucléotidiques spécifiques [117].

3.1. Les différentes étapes de l'étude génétique du gène de l'HB

Tableau 10 : Le principe des différentes étapes de l'étude génétique du gène HBB [107, 118, 119, 120].

Étapes	Principe général
1. Prélèvement sanguin	Le prélèvement du sang veineux recueilli dans des tubes contenant l'anticoagulant EDTA qui est un inhibiteur de l'action des enzymes ADNases ou nucléases, préservant ainsi l'intégrité moléculaire puis stockés à +4°C.
2. Extraction de l'ADN	L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN des cellules ou des tissus. L'ADN ainsi extrait peut être ensuite utilisé pour des recherches en biologie moléculaire. Elle se fait par la destruction des membranes par des réactions physico-chimiques et la centrifugation pour séparer les différents composants.
3. Amplification de l'ADN par PCR	La PCR est une méthode de biologie moléculaire d'amplification génétique in vitro, qui permet de dupliquer en grand nombre une séquence d'ADN ou d'ARN connue à partir d'une faible quantité d'acide nucléique et d'amorces spécifiques.
4. La séparation électrophorétique des produits d'amplification	Elle se fait par la technique de l'électrophorèse sur gel d'agarose qui est basée sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique. Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel d'agarose: les molécules de plus petite tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures.
5. Purification des produits	Elle est utilisée pour le nettoyage enzymatique du produit PCR amplifié. Elle utilise deux enzymes hydrolytiques: - Exo-nucléase : qui supprime toutes les amorces simples brins résiduelles et les ADN simples brins; - Phosphatase alcaline : qui déphosphoryle les dNTP en excès et provoque leur inactivation.
6. Le séquençage des gènes bêta	Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides pour un fragment d'ADN donné. Les produits de séquençage sont à leur tour purifiés pour subir une électrophorèse capillaire pour être identifiés. Les gènes de globine sont de petite taille, leur séquençage est réalisable relativement rapidement et permet de mettre en évidence l'anomalie moléculaire, même si elle est rare.

3.2. Intérêt de l'étude génétique

- Enquête familiale.
- Le diagnostic prénatal.

Partie pratique

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Type et population d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive portant sur 155 patients atteints d'une β -thalassémie hétérozygote parmi 202 malades atteints d'une hémoglobinopathie sur un total de 525 candidats ayant bénéficié d'une électrophorèse colligés au sein du service d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou.

1.2. Lieu et période d'étude

Cette étude a été menée au sein du laboratoire d'hémobiologie du centre-hospitalo-universitaire NEDIR Mohammed de Tizi-Ouzou sur une période d'une année, allant du 1^{er} Janvier 2019 au 31 Décembre 2019.

1.3. Critères d'inclusion et critères d'exclusion

✓ Critères d'inclusion

Tous les sujets dont le diagnostic d'hémoglobinopathie a été nouvellement posé par HPLC au sein du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou.

✓ Critères d'exclusion

Sont exclus de cette étude :

- Les sujets diagnostiqués en dehors de notre période d'étude ;
- Les sujets transfusés dans les 3 mois qui précèdent le prélèvement ;
- Les sujets suivis pour une hémoglobinopathie connue (contrôle).

2. Méthodes

2.1. Collecte des données

2.1.1. Source de collecte des données

Le recueil des données a été établi à partir d'un registre renfermant les caractéristiques

hématologiques : NFS, étude du frottis, taux de réticulocytes, bilan martial et résultat de la chromatographie de l'Hb.

2.1.2. Fiche d'exploitation (voir annexe IV)

Elle a été établie pour chaque patient comprenant le plan de travail. Nous nous sommes intéressées aux :

- Données générales à savoir : l'identité, l'âge, le sexe et l'origine géographique ;
- Les caractéristiques cliniques et biologiques au moment du diagnostic.

2.2. Analyse statistique

Tous les paramètres ont été recueillis sur un logiciel SPSS puis par la suite reportés sur un tableau Excel (Microsoft office Excel 2007) permettant l'analyse statistique descriptive afin d'analyser les particularités épidémiologiques, cliniques et hématologiques des patients porteurs d'une hémoglobinopathie.

2.3. Recommandations pré-analytiques

2.3.1. Prélèvement

Le prélèvement sanguin a été réalisé pour chaque patient à partir du sang veineux au pli du coude (ou artériel chez les nouveaux nés) sous des conditions stériles. Le sang est recueilli dans des tubes (de 5ml), contenant l'anticoagulant EDTA. L'identité du patient est mentionnée sur le tube.

- **Remarque** : Précaution lors de la collecte d'échantillons: il faut considérer tout prélèvement d'origine humaine comme infectieux et il faut le manipuler selon les procédures de biosécurité habituelles.

2.3.2. Conservation des échantillons

Tous les prélèvements ont été stockés à +4°C.

2.3.3. Délais du traitement des échantillons

Le tube contenant l'EDTA est immédiatement acheminé pour l'étude cytologique et la réalisation de l'analyse chromatographique de l'Hb dans un délai ne dépassant pas les 72h.

2.4. Méthodes d'analyse (phase analytique)

Avant toute recherche d'anomalie de l'Hb, un bilan biologique relativement complet doit être réalisé (notamment le bilan martial).

2.4.1. NFS

Consiste en une étude quantitative et qualitative. Elle est réalisée en routine par des automates. Elle étudie les éléments figurés du sang : globules rouges, globules blancs et plaquettes.

C'est un examen qui permet de déterminer le nombre absolu par unité de volume de sang (en giga/l) de chaque type d'éléments figurés du sang en suspension dans le plasma donnant ainsi des renseignements utiles permettant de suspecter une anomalie hémoglobinique.

L'automatisation est caractérisée par sa rapidité et sa reproductibilité (30 secondes). Cependant, elle nécessite un contrôle de qualité (le sang de contrôle passe une à deux fois par jour selon le nombre de prélèvements et doit donner des résultats inclus dans les normes établies par le laboratoire).

Il doit comporter :

- La numération des cellules sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes) ;
- L'étude des constantes hématimétriques ;
- Taux d'hémoglobine (Hb) ;
- Hématocrite (Ht) ;
- Volume globulaire moyen (VGM) $VGM = Ht / \text{nombre de GR (en millions)} \times 10$. Il est exprimé en femtolitre (fl) ou en microns cube (μ^3) ;

- Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) $TCMH = \text{Hb} / \text{nombre de GR (en millions)} \times 10$. Il est exprimé en picogramme (pg) ;
- Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) $CCMH = \text{Hb} / \text{Ht} \times 100$. Il est exprimé en pourcentage.

Il donne aussi d'autres indices :

- **RDW** : qui rend compte du degré d'anisocytose normalement compris entre 11,5% et 14,5%. Il est supérieur à 15% dans l'anémie ferriprive ;
- **VMP** : qui oriente vers l'origine centrale (augmenté) ou périphérique (diminué) d'une thrombopénie.

2.4.1.1. Appareil

L'établissement de la numération formule sanguine est réalisée sur l'automate SYSMEX XT1800i. Ce système est automatisé et comprend trois modules : l'automate SYSMEX XT 1800i, une station de traitement informatique (qui facilite l'utilisation de ce dernier et offre la possibilité d'enregistrer les résultats des patients) et une imprimante laser.



Figure 30 : Automate SYSMEX XT 1800i.

Il permet également de signaler certaines anomalies : microcytose, agrégats plaquettaires ... Cet automate utilise une technologie de FFC. La FFC examine le contenu ARN/ADN, la taille des cellules et la complexité des cellules internes plutôt que la taille des cellules seules. Cela

génère des résultats remarquablement précis. Il permet d'assurer un débit autonome de 80 échantillons/heure.

2.4.1.1.1. Mode opératoire

Trois modes d'aspiration de l'échantillon sont disponibles :

- Automatique en rack ;
- Manuel en tube ouvert pour les prélèvements en faible volume ;
- Manuel en tube fermé pour les prélèvements urgent ou à risque.

2.4.1.2. Les valeurs normales de l'hémogramme

	NOUVEAU-NE	ENFANT <5 ans	FEMME	HOMME
Hb (g/dl)	15 - 22	11,5 - 13	12 - 15	13 - 17
GR (T/L)	4,3 - 5,7	3,7 - 5	4 - 5	4,5 - 5,5
Hématocrite %	47 - 68	33 - 39	37 - 47	40 - 54
GB (G/l)	10 - 20	5 - 15	4 - 10	4 - 10
PNN %	40 - 80	20 - 40	40 - 70	40 - 70
PNE %	1 - 4	1 - 4	1 - 7	1 - 7
PNB %	0 - 1	0 - 1	0 - 2	0 - 2
Lymphocytes %	20 - 40	50 - 70	20 - 40	20 - 40
Monocytes %	2 - 10	2 - 10	2 - 10	2 - 10
Plaquettes (G/l)	200 - 400	150 - 400	150 - 400	150 - 400

Figure 31 : Exemple d'un hémogramme normal selon les normes adaptées au laboratoire d'hémobiologie de CHU de Tizi-Ouzou.

L'interprétation se fait selon le sexe, l'âge (taux d'Hb différent chez l'homme, la femme et l'enfant), les variations physiologiques et les caractéristiques ethniques.

En cas d'anomalies, un frottis sanguin s'impose. Il faut par ailleurs éliminer les artéfacts tels que :

- Les fausses cytopénies, souvent la thrombopénie due à un caillot ;
- La fausse hyperplaquettose en cas de microcytose importante, les globules rouges très microcytaires ($< 36\mu^3$) seront comptés comme des plaquettes ;
- Les fausses macrocytoses : en cas d'autoagglutination donnant des VGM très élevés. Ceci est valable pour les appareils ne travaillant pas à 37° ;
- La fausse élévation de la CCMH ($> 36\%$) en cas de plasma opalescent.

Malgré le perfectionnement des analyseurs automatisés d'hématologie destinés à la réalisation des hémogrammes, l'examen du frottis sanguin au microscope reste indispensable lorsque les données fournies par les appareils sont quantitativement anormales ou demandent une confirmation.

2.4.2. Frottis sanguin

Le frottis sanguin est l'observation et le dénombrement des cellules sanguines d'une goutte de sang étalée sur une lame de verre d'un microscope. Cette technique permet de faire une étude morphologique des cellules du sang. Il est réalisé systématiquement suite à une anomalie de l' NFS afin de compléter et confirmer le diagnostic.

2.4.2.1. Mode opératoire

- Déposer une goutte de sang sur une lame porte objet dégraissée, propre et sèche ;
- Placer le bord de la 2^{ème} lame rodée sur la 1^{ère} lame et faire glisser celle-ci jusqu'à ce qu'elle entre en contact avec la goutte en maintenant un angle de 45° ;
- La goutte s'étale le long de l'arête par capillarité. Puis, pousser dans un mouvement uniforme vers l'autre extrémité de la lame sans atteindre celle-ci ;
- Le frottis une fois jugé bon avec mention d'identité du patient est rapidement séché à l'air et à l'abri des poussières.

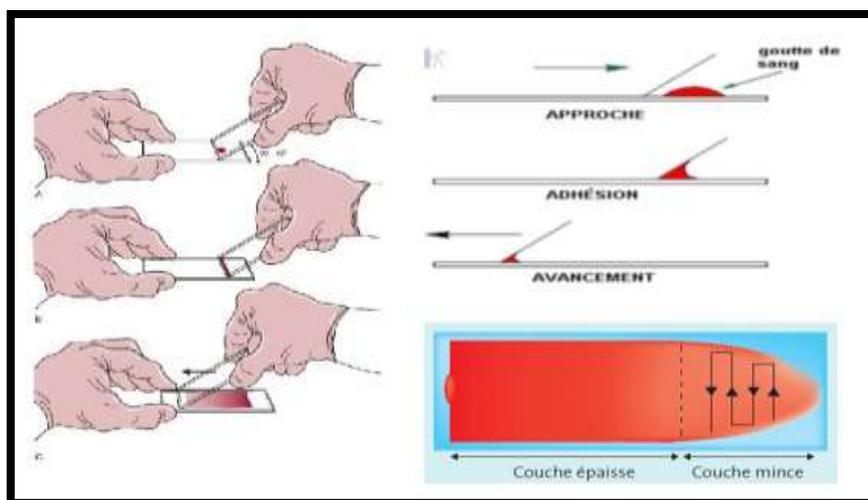


Figure 32 : Schéma de la réalisation d'un frottis sanguin périphérique.

2.4.2.2. Qualité d'un bon frottis sanguin périphérique

La qualité d'un bon frottis sanguin est relative à sa présentation et son uniformité. Ainsi, un frottis de qualité doit répondre aux critères suivants :

- Doit posséder une tête, un corps et une queue ;
- Ne doit être ni trop mince (sinon pauvre en éléments) ni trop épais (sinon éléments rétractés non identifiables) ;
- Ne doit atteindre ni les bords ni les extrémités de la lame (sinon les éléments les plus volumineux seront perdus) ;
- Doit être correctement séché (sinon présence d'artefacts et les hématies seront crénelées) ;
- Ne doit pas présenter de stries verticales ou horizontales (cas où l'étalement est mal rodé) ou des trous (cas où la lame est mal dégraissée).

2.4.2.3. Appareil

HEMA_TEK 2000, un système automatisé de paillasse qui permet d'obtenir une coloration uniforme et stable des frottis en hématologie. Doté d'un chargement en continu, il réduit le gaspillage de temps souvent associé aux procédures de coloration. Il utilise la coloration de Wright qui permet la réalisation de formule sanguine et médullaire.



Figure 33 : Automate HEMA_TEK 2000.

2.4.2.3.1. Coloration du frottis sanguin périphérique

C'est un mélange de bleu de méthylène d'éosine et d'azur de méthylène. Il fixe le frottis par son alcool méthylique et comme tous les colorants neutres en solution alcoolique il ne libère son activité colorante qu'après addition d'eau tamponnée. A la fin de la coloration, le séchage de la lame se fait par ventilation d'air chaud. Elle offre l'avantage d'être plus rapide que la coloration MGG.

2.4.2.3.2. Caractéristiques de l'appareil

- Facile à maintenir ;
- Tache jusqu'à 60 lames par heure ;
- Fournit des volumes précis de teinture fraîche pour chaque lame ;
- Fournit une coloration uniforme d'un champ à l'autre et d'une diapositive à l'autre.

2.4.2.4. Etude microscopique du frottis sanguin périphérique

Le frottis est d'abord examiné à faible grossissement (X10) dans sa totalité pour vérifier la qualité de l'étalement, la coloration et l'absence d'éléments volumineux anormaux. On évalue ensuite la densité et la distribution des différentes catégories cellulaires. La distribution des globules rouges pourra révéler des phénomènes d'agglutination déjà suspectés macroscopiquement. On estime ensuite au grossissement (X40) la richesse du frottis en leucocytes et en plaquettes en tenant compte de la répartition des cellules.

Une étude de la morphologie des éléments figurés du sang doit être réalisée à l'immersion à fort grossissement (X100). La formule leucocytaire classique est établie en comptant au moins une centaine de leucocytes lors du balayage de la zone de lecture

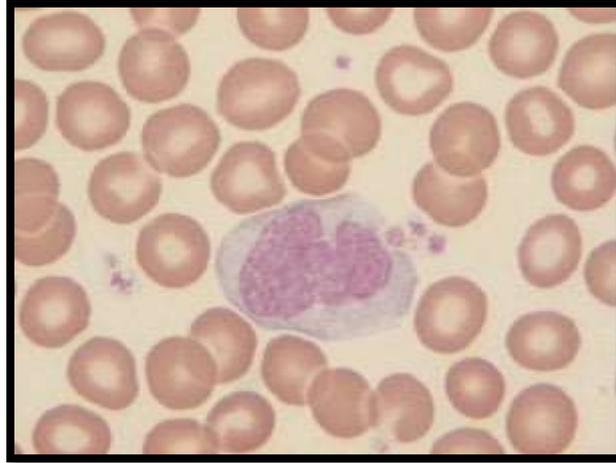


Figure 34 : Aspect d'un frottis sanguin sur HEMA_TEK 2000 par la coloration de Wright.

2.4.3. La numération des réticulocytes

Le taux de réticulocytes ou globules rouges jeunes reflète le taux de production médullaire de l'érythropoïèse et donc le renouvellement érythrocytaire. Ce sont des globules rouges jeunes qui contiennent encore des ribosomes et des mitochondries leur permettant de poursuivre pendant 24 à 48 heures une faible synthèse d'hémoglobine. Ces structures particulières n'apparaissent pas à la coloration standard (MGG) et nécessitent une coloration particulière (le bleu de crésyl brillant « colorant vital ») sur un frottis sanguin étalé sur une lame de verre.

2.4.3.1. Mode opératoire

- Prélever un volume connu de sang (3 à 5 gouttes) et le placer dans un tube à hémolyse ;
- Ajouter une quantité égale de colorant, mélanger par rotation ;
- Laisser le mélange agir pendant 15 minutes ;
- Après mélanger pour remettre les globules rouges en suspension ;
- Déposer une goutte de mélange sur chacune des trois lames et préparer quelques frottis par la technique habituelle en faisant des étalements minces.

2.4.3.2. Les valeurs normales

Le taux de réticulocytes peut être exprimé en pourcentage dont les valeurs normales sont de

0.2% à 2.0% chez l'adulte ou en valeur absolue avec des valeurs normales comprises entre 25000 et 120000 éléments/mm³.

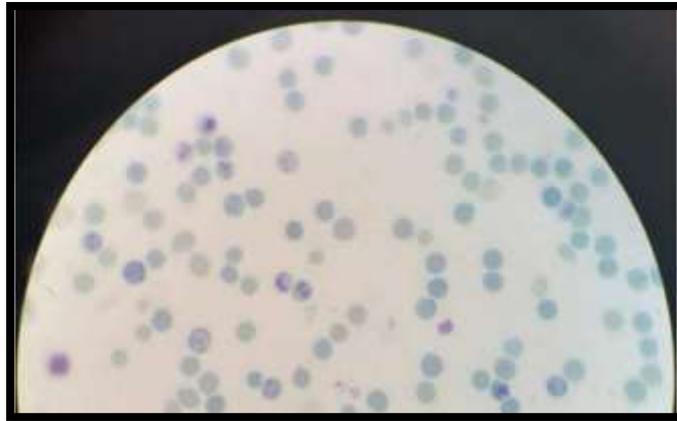


Figure 35 : Coloration des réticulocytes au bleu de Crésyl brillant.

2.4.4. Etude chromatographique de l'Hb

2.4.4.1. Appareil

2.4.4.1.1. Principe du test

L'étude de l'hémoglobine sur l'automate de chromatographie BIO-RAD D-10 programmé sur la méthode Dual HbA2/F/A1c utilise les principes de l'HPLC à échange d'ions. Les échantillons sont automatiquement dilués sur le D-10 et injectés dans la colonne d'analyse formée d'une silice poreuse recouverte d'acide polyaspartique. Le D-10 délivre un gradient de tampon programmé (2 tampons d'élution) d'une force ionique croissante à l'intérieur de la colonne où les hémoglobines sont séparées en fonction de leurs interactions ioniques avec le matériau de cette dernière. Les fractions d'hémoglobine séparées passent à travers une cellule de débit où l'absorbance est mesurée à 415nm. Un étalonnage à deux niveaux est utilisé pour la quantification des valeurs des fractions de l'Hb. A la fin de chaque analyse, un rapport chromatogramme/échantillon est généré. Les pics détectés correspondent à des temps de rétention bien définis. Si un pic d'élution est atteint à un temps de rétention non prédéfini, il est marqué comme inconnu.



Figure 36 : Automate d'HPLC BIO-RAD D-10.

2.4.4.1.2. Mode opératoire

- **Type d'échantillon** : Sang total. Les échantillons de sang total sont prélevés dans un tube de prélèvement contenant de l'EDTA.
- **Conservation des échantillons** : Les échantillons de sang total sont conservés 3 jours à 2-8°C.
- **Préparation des échantillons**

- Laissez les tubes à échantillons atteindre la température ambiante (15-30°C) avant d'effectuer le test. Aucune préparation de l'échantillon n'est nécessaire. Le mélange n'a aucun impact sur la valeur des différentes fractions de l'hémoglobine tant que la surface totale est dans la fourchette ;

- Les tubes à échantillons sont chargés dans le portoir d'échantillons D-10 et placés dans l'automate ;

- Il faut toujours s'assurer que les codes à barres des échantillons sont orientés vers l'arrière de l'instrument ;

- Si l'échantillon est dans un tube de taille/type anormal ou s'il y a moins de 2ml d'échantillon dans le tube, alors l'échantillon doit être prédilué ;

- Pour prédiluer, on pipete 1,5ml de solution de lavage/diluant puis 5µl de l'échantillon de sang total. On bouche le flacon d'échantillon et on mélange soigneusement. Avant de pipeter à partir du tube contenant le sang total, on mélange soigneusement l'échantillon en retournant

doucement ce dernier.

La dilution des échantillons se fait automatiquement par l'automate.

2.4.4.1.3. Interprétation des résultats

✓ Critères de validation des chromatogrammes A2/F/A1c Dual

- L'aire totale doit être comprise entre 1 et 4 millions de μ volts ;
- Les pics principaux doivent être présents (HbA1a/HbA1b, +/-Hbf, +/-LA1c/CHb, HbA1c, +/-P3, HbA0, HbA2) ;
- La ligne de base est correctement construite ;
- Le pourcentage du pic d'HbA1c est dans le domaine de linéarité de la méthode [3.7%-18.4%] ;
- Le pourcentage du pic d'HbA2 est dans le domaine de linéarité de la méthode [1.5%-11.4%] ;
- Le pourcentage du pic d'HbF est dans le domaine de linéarité de la méthode [0.8%-16.5%] ;
- Les paramètres d'étalonnage et de contrôle de qualité sont compris dans les fourchettes d'acceptabilité ;
- Les pics sont correctement identifiés selon leur temps de rétention respectifs ;
- Selon les bonnes pratiques de laboratoire, la fréquence d'analyse de contrôle qualité est recommandée toutes les 24h ;
- Absence d'anémie hémolytique chez les patients susceptible de diminuer la durée de vie des globules rouges et générer des résultats d'hémoglobine faussement diminués ;
- L'HbS dégradée (HbS vieillie) peut être coéluée avec l'HbA2, il ne faut donc pas rendre le résultat si le pic d'HbA2 présente un épaulement.

✓ Critère d'interprétation des résultats A2/F/A1c

- Un profil chromatographique est rendu normal en cas d'absence de pic anormal ou s'il n'y a pas d'augmentation de la fraction $HbA2 < 3,7\%$ ou $HbF \leq 1\%$;
- La mise en évidence d'une anomalie quantitative de l'hémoglobine doit être toujours confirmée par une analyse de l'électrophorèse en pH acide, IEF ou par la biologie moléculaire ;

- Avant de poser le diagnostic d'une β -thalassémie, il faut éliminer d'autres causes pouvant provoquer une élévation de l'HbA2 :

- Traitements antirétroviraux (Anti VIH) ;
- Les hépatites virales (B et C) ;
- L'hyperthyroïdie ;
- Les carences en vit B12, martiales et folates ;
- Les trisomies.

- Les causes pouvant provoquer une élévation de l'HbF :

- Hémolyse ;
- Hémopathies : Leucémies, myélomonocytaire juvénile et anémie de Fanconi ;
- Traitements : Hydrea, érythropoïétine, butyrates...
- Persistance héréditaire d'HbF [\[121\]](#).

Résultats

Au terme de notre étude, en tenant compte des critères d'inclusion et d'exclusion, 202 patients ont été diagnostiqués au niveau du service d'hémodiagnostic du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année comme porteurs d'hémoglobinopathies sur un total de 525 patients, soit une fréquence de 38,48%.

Sur ces 202 patients, 155 sont porteurs de la β -thalassémie hétérozygote, soit une fréquence de 29,52%.

1. Aspects épidémiologiques des β -thalassémies hétérozygotes

1.1. La fréquence de la β -thalassémie hétérozygote comparant aux autres bêta-thalassémies

Une nette prédominance de la β -thalassémie mineure (155 patients) est constatée au cours de notre étude sur les 157 cas β -thalassémiques, soit la quasi-totalité des patients diagnostiqués au niveau de notre service.

La figure 37 et le tableau 11 ci-dessous résument nos résultats.

Tableau 11 : Fréquence de la β -thalassémie hétérozygote comparant aux autres types de bêta-thalassémies diagnostiquées au laboratoire d'hémodiagnostic du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019.

Type de la β -thalassémie	Nombre de cas	Pourcentage (%)
β -thalassémie majeure	1	0,63
β -thalassémie intermédiaire	1	0,63
Trait thalassémique	155	98,74
Total	157	100

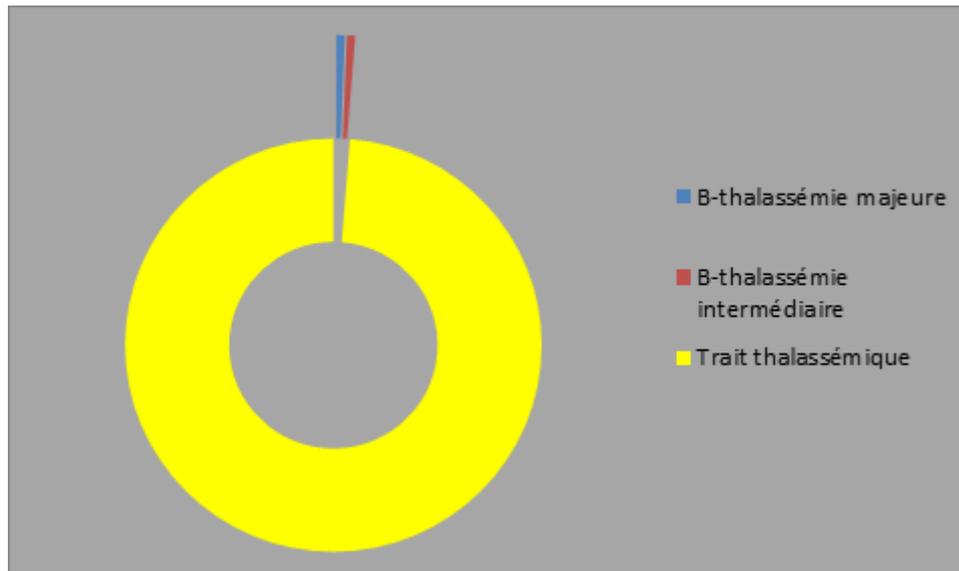


Figure 37 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la fréquence des différents types.

1.2. La fréquence de la β -thalassémie comparant aux autres hémoglobinopathies

Notre étude rapporte une atteinte importante par la β -thalassémie des patients diagnostiqués au sein du service d'hémobiologie soit 157 cas. Par ailleurs, nous avons enregistré des nombres variés mais faibles pour les autres hémoglobinopathies.

Le tableau 12 et la figure 38 ci-dessous reflètent le résultat de cette fréquence.

Tableau 12 : Fréquence de la β -thalassémie comparant aux autres hémoglobinopathies diagnostiquées au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019.

Type de l'hémoglobinopathie	Nombre de cas	Pourcentage (%)
β -thalassémie	157	77,72
α -thalassémie	1	0,49
HémoglobinoS	14	6,93
HémoglobinoC	20	9,9
HémoglobinoS/C	4	1,98
S/ β -thalassémie	6	2,97
Total	202	100

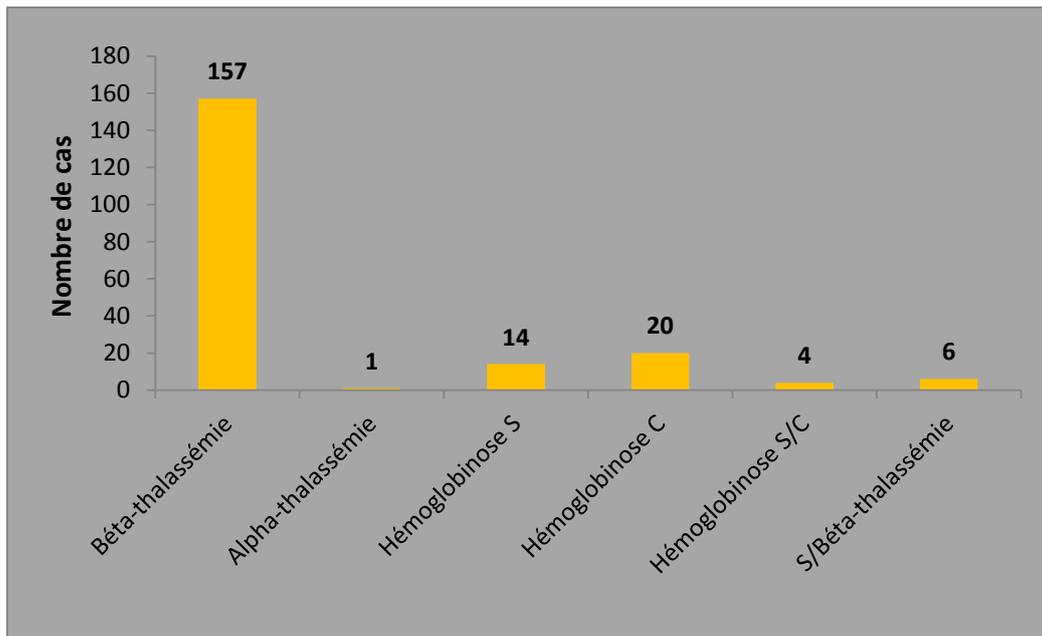


Figure 38 : Répartitions des différentes hémoglobinopathies diagnostiquées au niveau du laboratoire d'hémo-biologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la fréquence.

1.3. Description de la β -thalassémie hétérozygote

1.3.1. Selon le sexe

Dans notre série, on constate une légère augmentation du sexe féminin. Le sexe ratio (H/F) est de 0,74. Ainsi le nombre de cas féminins est de 89 soit 57,4% contre 66 cas masculin soit 42,6%.

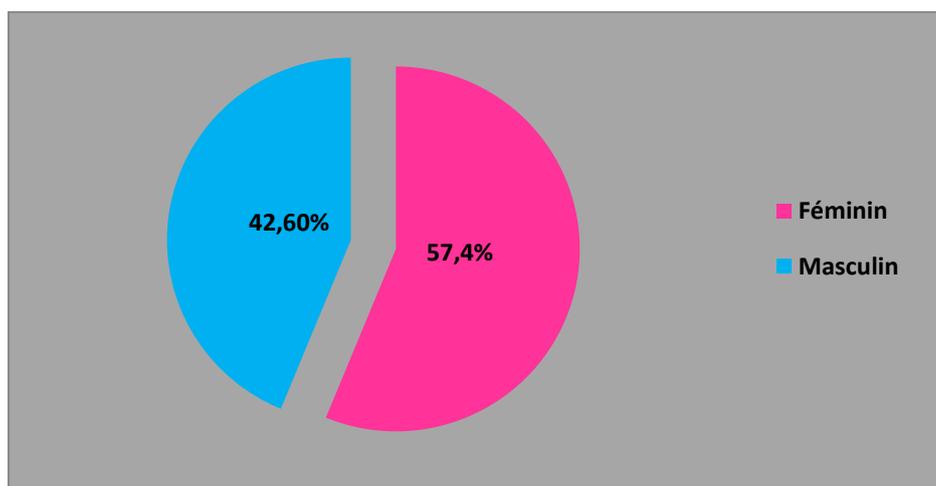


Figure 39 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémo-biologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le sexe.

1.3.2. Selon l'âge des patients

- L'âge des patients β -thalassémiques hétérozygotes faisant partie de notre étude varie entre 7 mois et 78 ans avec un âge moyen de 31,05 ans \pm 18,82 ans ;
- 25,8% des malades sont des enfants dont l'âge est \leq 15 ans contre 74,2% de patients adultes âgés de plus de 15 ans ;
- L'âge moyen des enfants est de 7,62 ans \pm 4,91 avec un minimum de 7 mois et un maximum de 15 ans ;
- L'âge moyen des adultes est de 40,37 ans \pm 16,04 avec un minimum de 16 ans et un maximum de 78 ans.

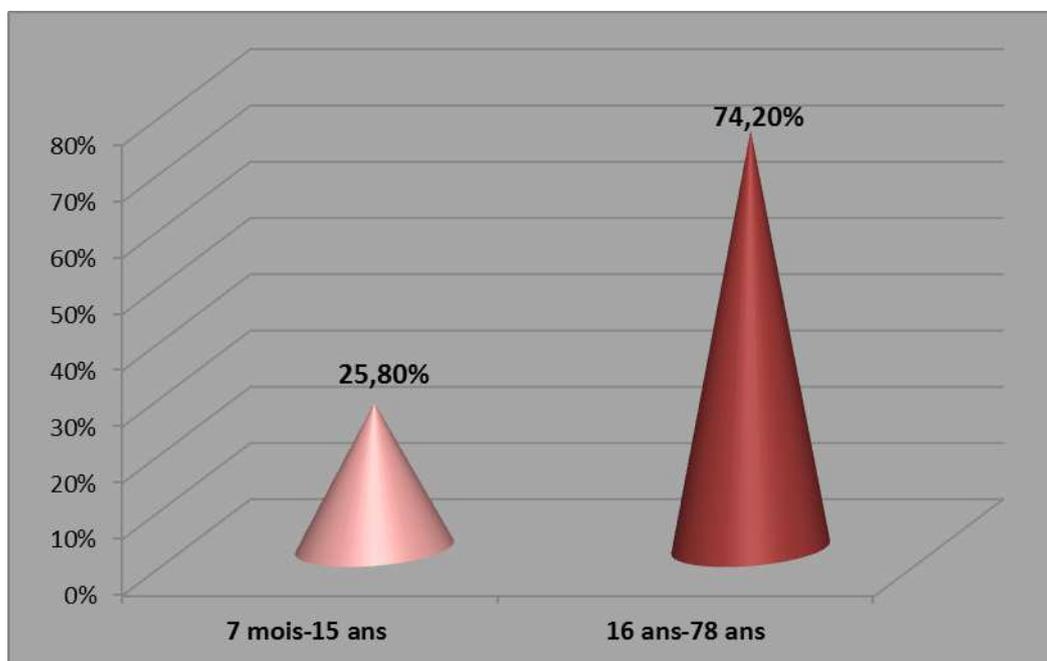


Figure 40 : Répartition des patients atteints β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon l'âge.

1.3.3. Selon l'origine géographique

Parmi les 155 patients inclus dans notre étude, on a cité 95 cas (61,29%) dont on ignore l'origine géographique tandis que 60 patients sont répartis sur 6 wilayas (Tableau 15).

Tableau 13 : Répartition des patients diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs wilayas.

Wilaya	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Tizi-Ouzou	53	88,33
Alger	1	1,66
Boumerdes	2	3,33
Bouira	2	3,33
Béjaïa	1	1,66
Souk ahras	1	1,66

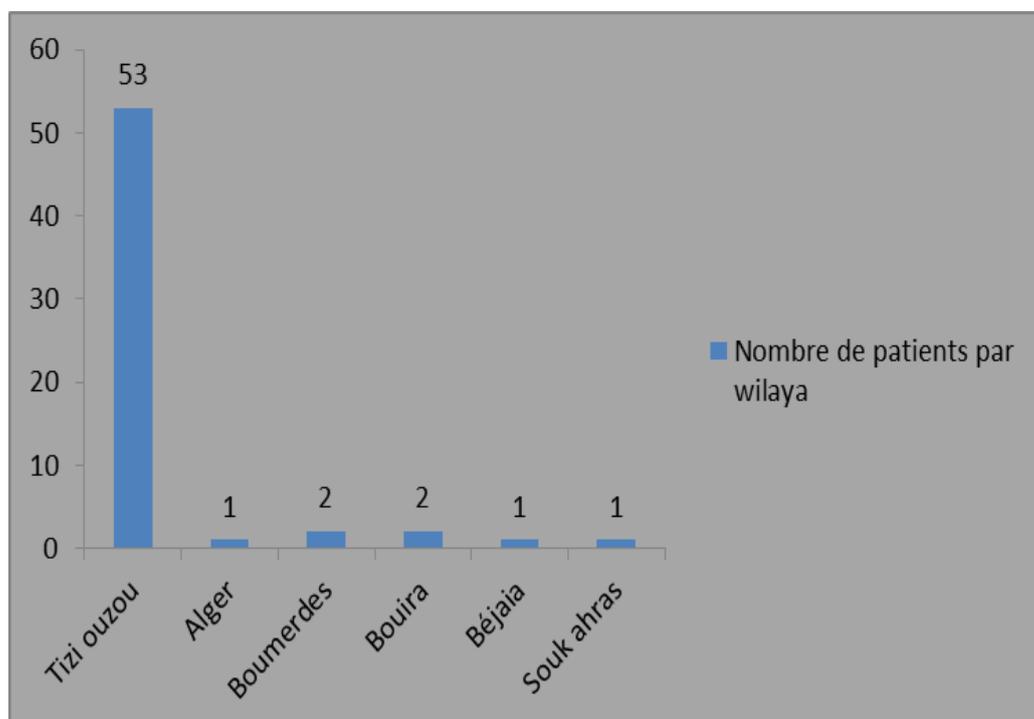
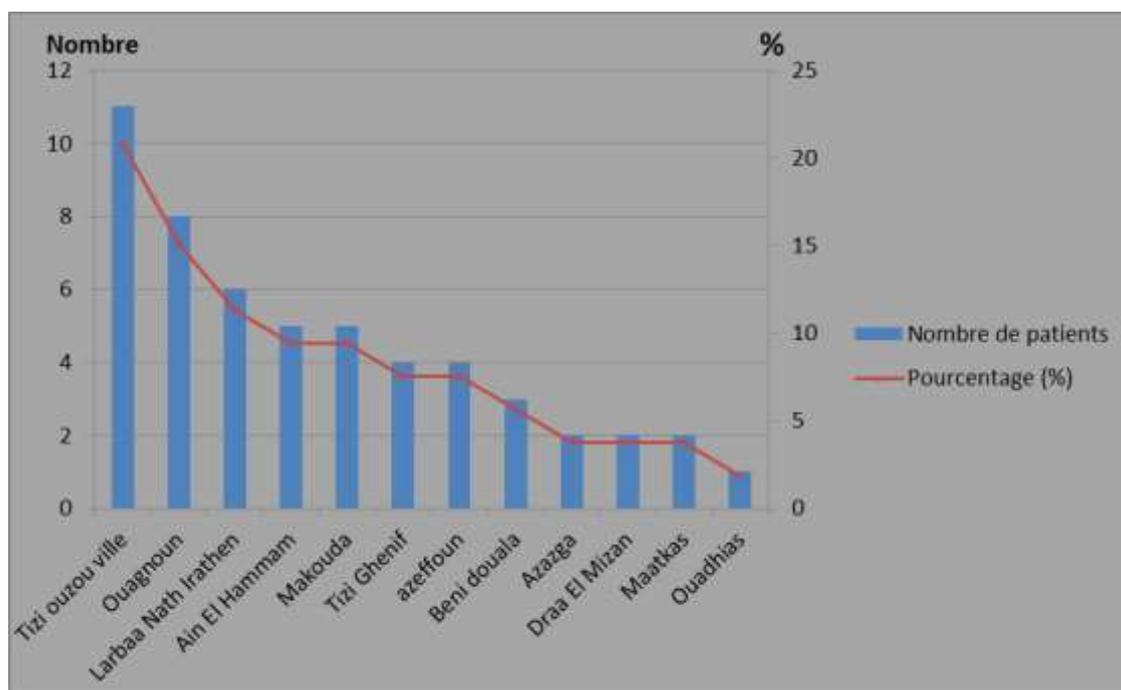


Figure 41 : Répartition des patients atteints β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs wilayas.

- Parmi les 60 patients, la majorité écrasante voir 53 cas (88,33%) étaient originaires de la wilaya de Tizi-Ouzou (Figure 46).

Tableau 14 : Répartition des patients de la wilaya de Tizi-Ouzou diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs régions.

Wilaya	Région	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Tizi-Ouzou	Tizi-Ouzou ville	11	20,75
	Ouagnoun	8	15,09
	Larbaa Nath Irathen	6	11,32
	Ain El Hammam	5	9,43
	Makouda	5	9,43
	Tizi Ghenif	4	7,55
	azeffoun	4	7,55
	Beni douala	3	5,66
	Azazga	2	3,77
	Draa El Mizan	2	3,77
	Maatkas	2	3,77
	Ouadhias	1	1,89

**Figure 42** : Répartition des patients de la wilaya de Tizi-Ouzou diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon leurs régions.

- La ville de Tizi-Ouzou, Ouagnoun, Larbaa Nath Irathen, Makouda et Ain El Hammam sont les régions qui connaissent plus de patients.

1.3.4. Selon la notion de consanguinité

Parmi les 155 patients inclus dans notre étude, la notion de consanguinité n'a pas été étudiée chez 99 des cas (63,87%).

Tableau 15 : Répartition des patients diagnostiqués au laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la notion de consanguinité.

Notion de consanguinité	Fréquence	Pourcentage (%)
OUI	13	8,38
NON	43	27,74
Indéterminée	99	63,87

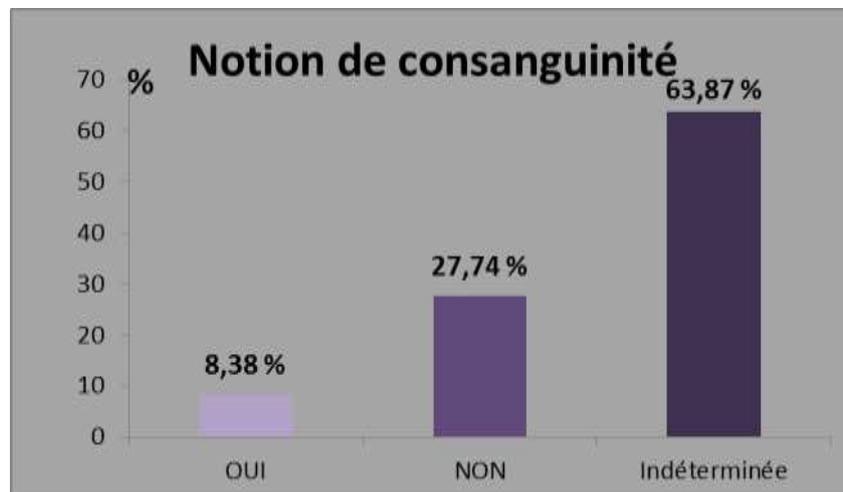


Figure 43 : Répartition des patients diagnostiqués au laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la notion de consanguinité.

- 13 patients voir 8,38% sont issus d'un mariage intrafamilial ;
- 43 patients voir 2,74% ne répondent pas à la notion de consanguinité.

1.3.5. Selon le motif de prescription de l'étude de l'Hb

Tableau 16 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le motif de prescription de l'étude de l'Hb.

Motif de prescription d'Hb	Nombre de cas	Pourcentage (%)
Anomalies hématologiques	60	38,5
Enquête familiale	51	32,5
Pâleur	20	12,9
Indéterminé	24	15,48
Total	155	100

Les anomalies hématologiques constituent le motif le plus fréquent dans notre série :

- 60 patients, soit 38,5% des cas ont une anomalie hématologique (anémie, pseudopolyglobulie, microcytose...);
- 20 patients, soit 12,9% des cas ont une pâleur cutanéomuqueuse ;
- 51 patients, soit 32,5% des cas sont diagnostiqués suite à une enquête familiale ;
- Les motifs insuffisamment précis, ne rejoignant aucune des catégories citées ci-dessus, ont été classés dans la catégorie « indéterminée ».

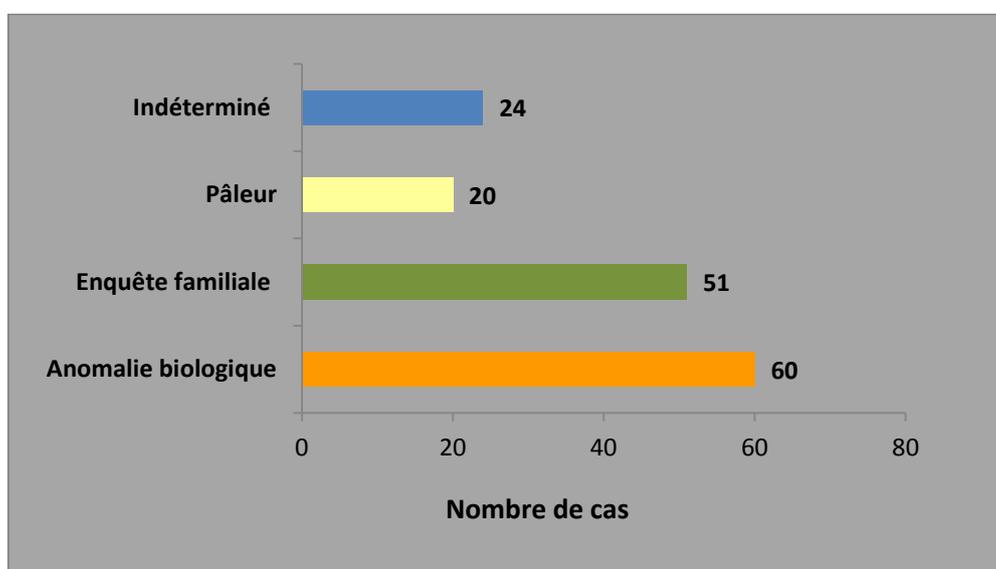


Figure 44 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le motif de prescription de l'étude de l'Hb.

2. Aspects hématologique des β -thalassémies hétérozygotes

2.1. Selon les résultats des paramètres hématologiques

Le tableau ci-dessous représente les résultats des explorations hématologiques concernant ce groupe de patients étudiés.

Tableau 17 : Résultats des moyennes des différents paramètres hématologiques des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019.

Age	Effectif	Taux moyen d'Hb (g/dl)	VGM moyen (fl)	TGMH moyen (pg)	GR (T/L)	Taux de réticulocyte (giga/l)	Frottis sanguin
≤15ans	Enfant	10,76	56,55	17,96	6,08	116,56	- Microsphérocytes - Dacryocytes - Cellules cibles - Microcytose - Hypochromie -Pseudopolyglobulie
>15ans	Femme	10,93	62,43	19,48	5,70	112,11	
	Homme	12,25	60,42	19,52	6,45	118,36	

Ces résultats révèlent :

- La présence d'anomalies morphologiques (cellules en cibles, poikilocytose, hypochromie associée à une microcytose) à l'étude du frottis sanguin ;
- Une variation significative du taux d'Hb et du nombre de globules rouges en fonction de l'âge et du sexe tandis que les variations du VGM et TGMH sont négligeables.

2.1.1. Selon le nombre de globules rouges

- Le nombre de globules rouges chez les enfants β -thalassémiques varie entre 4,50T/l et 7,75T/l avec une valeur moyenne de 6,08T/l \pm 0,56T/l ;
- Le nombre de globules rouges chez les hommes et femmes β -thalassémiques varie respectivement entre 4,22-8,18T/l et 4,12-7,59T/l avec une valeur moyenne de 6,45T/l \pm 0,65T/l chez les hommes et 5,66T/l \pm 0,8T/l chez les femmes.

Tableau 18 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le nombre de globules rouges.

Nombre de GR (T/l)	Nombre de patients	Pourcentage (%)
< à la normale	4	2,60
normal	20	12,90
> à la normale	131	84,51
Total	155	100

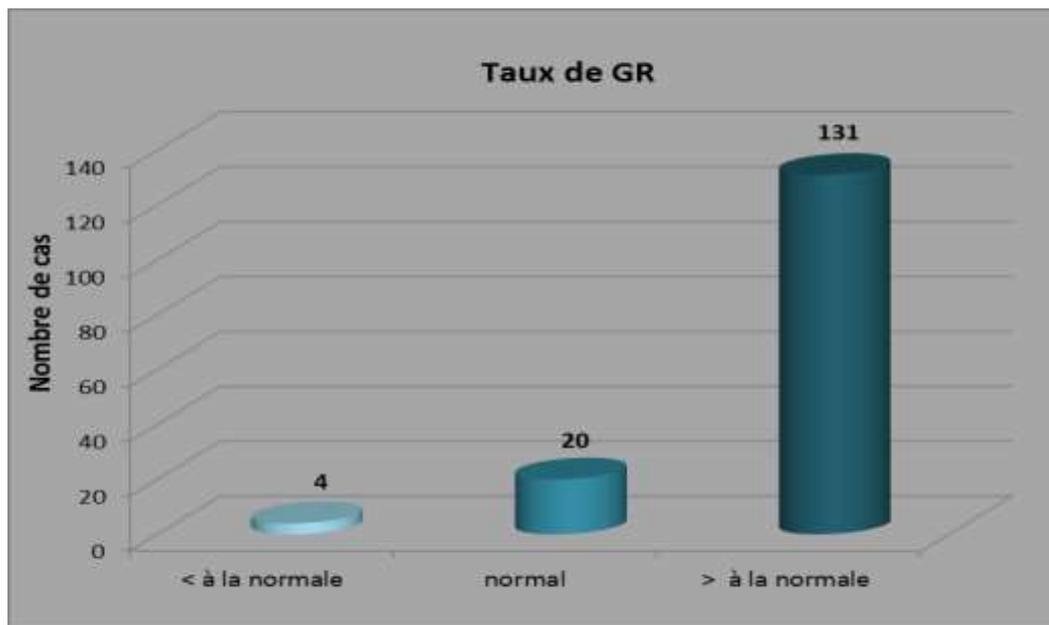


Figure 45 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le nombre de globules rouges.

- 4 patients ont un nombre de globules rouges inférieur à la normale ;
- 20 patients ont un nombre de globules rouges normal ;
- 131 patients ont un nombre de globules rouges supérieur à la normale (pseudopolyglobulie).

2.1.2. Selon le taux d'Hb

- Les taux de l'Hb chez les enfants β -thalassémiques hétérozygotes varient entre 9,10g/dl et 13,20g/dl avec une valeur moyenne de 10,76g/dl \pm 0,94g/dl ;
- Les taux d'Hb chez les hommes et les femmes β -thalassémiques hétérozygotes varient respectivement entre 9,80-14,60g/dl et 7,80-14,6g/dl avec une valeur moyenne de 12,25g/dl \pm 1,05g/dl chez les hommes et 10,93g/dl \pm 1,04g/dl chez les femmes.

2.1.3. Selon le type d'anémie

Tableau 19 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémo-biologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le type de l'anémie.

Type d'anémie	Nombre de cas	Pourcentage (%)
Anémie régénérative	82	52,90
Anémie arégénérative	23	14,83
Absence d'anémie	50	32,26
Total	155	100

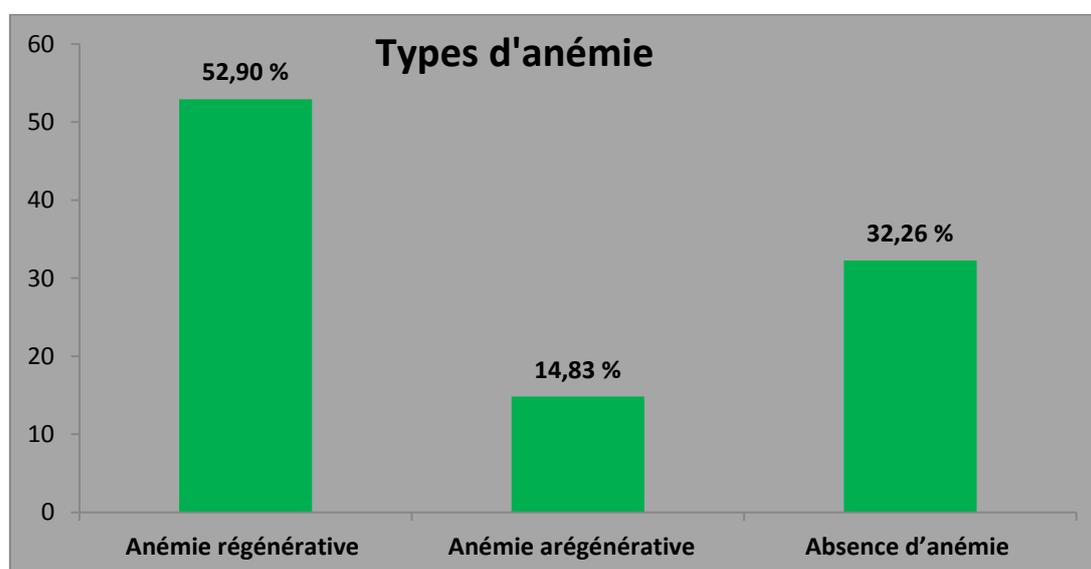


Figure 46 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémo-biologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon le type de l'anémie.

2.1.4. Selon la teneur globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH)

- Les valeurs du TGMH chez les enfants β -thalassémiques hétérozygotes varient entre 15pg et 31pg avec une valeur moyenne de $17,96\text{pg} \pm 2,57\text{pg}$;
- Les valeurs du TGMH chez les hommes et les femmes β -thalassémiques hétérozygotes varient respectivement entre 14,2-31pg et 14-30pg avec une valeur moyenne de $19,52\text{pg} \pm 3,12\text{pg}$ chez les hommes et $19,48\text{pg} \pm 2,47\text{pg}$ chez les femmes.

Tableau 20 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de TGMH.

Taux du TGMH (pg)	Nombre de cas	Pourcentage (%)
Inférieur à 27	153	98,70
27-32	2	1,30
Total	155	100

- 153 patients ont un TGMH inférieur à 27pg (hypochromie), soit 98,70% des cas ;
- 2 patients ayant un TGMH normal, soit 1,29% des cas.

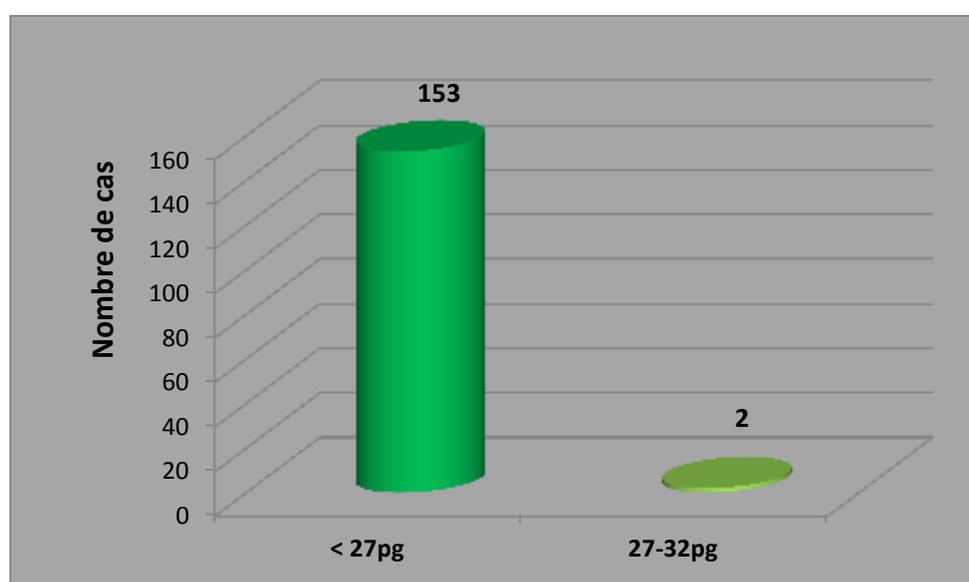


Figure 47 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de TGMH.

2.1.5. Selon le volume corpusculaire moyen (VGM)

- Les taux du VGM chez les enfants β -thalassémiques varient entre 48,80fl et 76,60fl avec une valeur moyenne de $59,55\text{fl} \pm 4,85\text{fl}$;
- Les taux du VGM chez les hommes et femmes β -thalassémiques varient respectivement entre 48-78,80fl et 49,90-84,70fl avec une valeur moyenne de $60,42\text{fl} \pm 4,35\text{fl}$ chez les hommes et $62,43\text{fl} \pm 6,19\text{fl}$ chez les femmes.

Tableau 21 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de VGM.

Taux de VGM (fl)	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Inférieur à 80	152	98,07
80-100	3	1,93
Supérieur à 100	0	0
Total	155	100

- 152 patients ont un VGM inférieur à 80fl, soit 98,06% des cas ;
- 3 patients ont un VGM compris entre 80-100fl, soit 1,93% des cas.

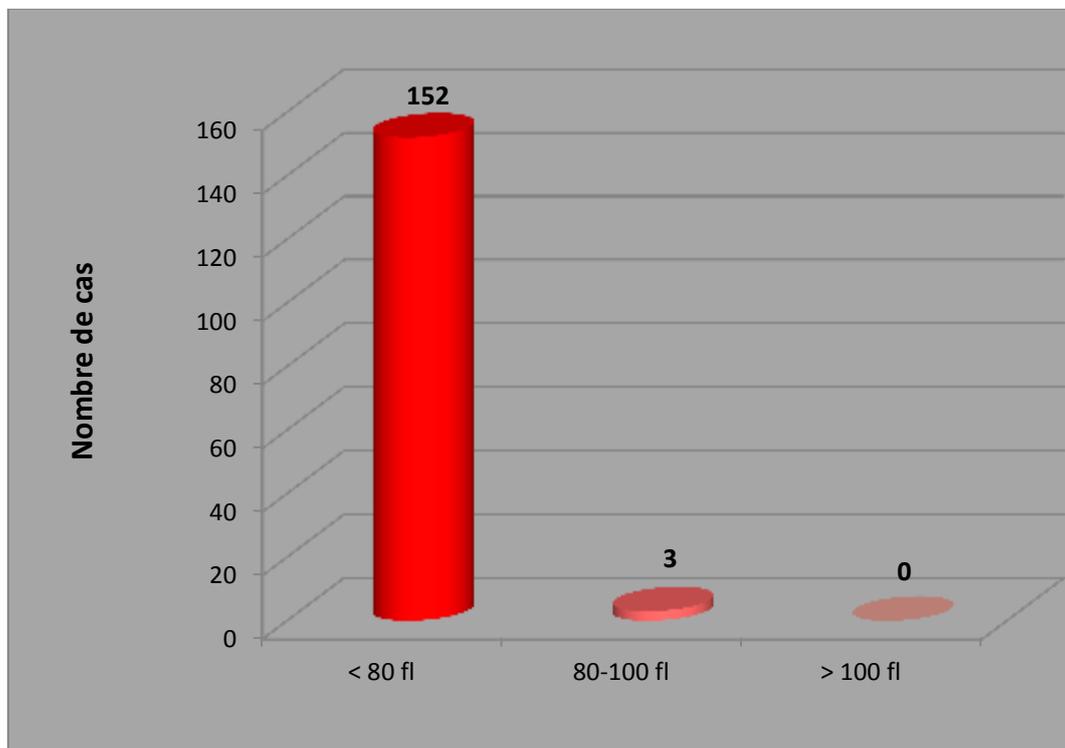


Figure 48 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations du taux de VGM.

2.1.6. Selon l'étude du frottis

2.1.6.1. Selon la taille des globules rouges

Tableau 22 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations de la taille des globules rouges.

	Fréquence	Pourcentage (%)
Microcytose : +	39	25,2
Microcytose : ++	96	61,9
Microcytose : +++	18	11,6
Normocytose	2	1,30
Total	155	100

+ : le degré/l'intensité

2.1.6.2. Selon l'intensité de la coloration des globules rouges

Tableau 23 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations de la coloration des globules rouges.

	Fréquence	Pourcentage (%)
Hypochromie : +	30	19,40
Hypochromie : ++	100	64,50
Hypochromie : +++	23	14,80
Normochromie	2	1,30
Total	155	100

2.1.6.3. Selon la forme des cellules

2.1.6.3.1. Poikilocytose

Tableau 24 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les variations des formes des globules rouges.

	Fréquence	Pourcentage (%)
Poikilocytose : +	92	59,40
Poikilocytose : ++	17	11
Poikilocytose : +++	45	29
Absence	1	0,60
Total	155	100

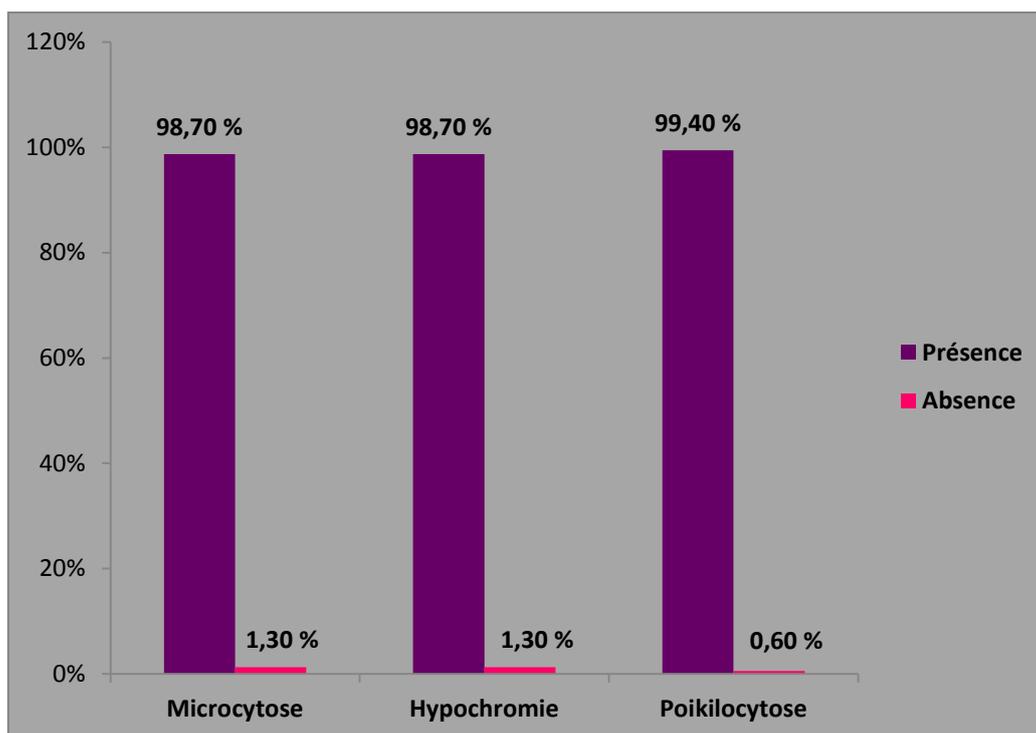


Figure 49 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon la microcytose, l'hypochromie et la poikilocytose.

2.1.6.3.2. Types de cellules

Tableau 25 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les types de cellules.

Type de cellule	Pourcentage (%)		Total
	Présence	Absence	
Cellules cibles	52,90	47,09	155
Dacryocytes	59,35	40,64	
Ovalocytes	61,93	38,06	
Sphérocytes	66,45	33,54	
Eliptocytes	27,09	72,90	
Polychromatophiles	17,42	82,58	

2.1.7. Selon le taux des différentes fractions d'Hb

On s'est assuré qu'aucun patient n'a subi une transfusion dans les trois mois qui précèdent l'analyse de l'Hb.

L'étude chromatographique d'Hb des patients atteints de β -thalassémie mineure a révélé :

- Un taux de la fraction d'HbA variant entre 81,60% et 95,40% avec une moyenne de $92,06\% \pm 2,17\%$;
- Un taux de la fraction d'HbA2 variant entre 3,70% et 8,60% avec une moyenne de $5,93\% \pm 0,69\%$ nous constatons donc que sur les 155 patients β -thalassémiques hétérozygotes cette fraction est élevée ;
- Un taux de la fraction d'HbF variant entre une valeur inférieure à 0,8% et 7,8% avec une moyenne de $2,59\% \pm 1,44\%$.

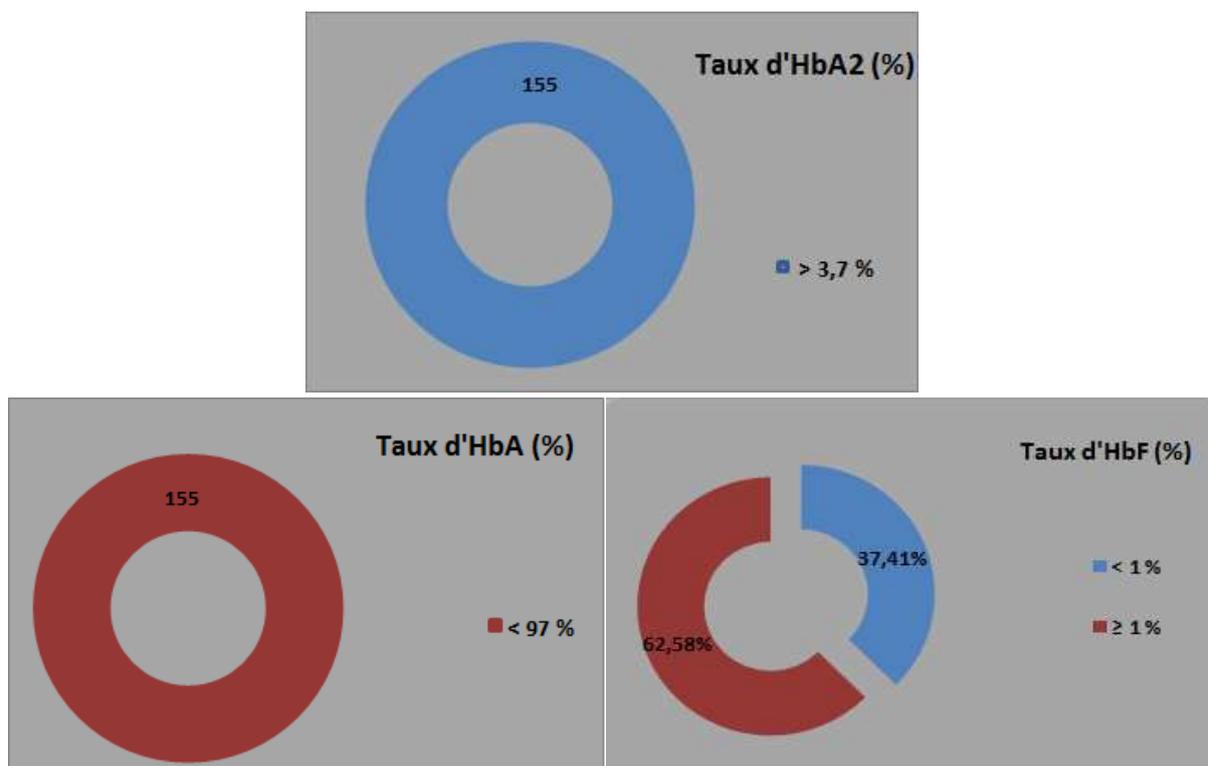


Figure 50 : Répartition des patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou au cours de l'année 2019 selon les différentes fractions d'Hb.

Discussion

Biais et limites de l'étude

- Manque de données épidémiologiques et des renseignements clinico-biologiques relatifs aux patients vue que le laboratoire ne recevait pas toujours les fiches de renseignements ;
- La variable « ethnie » n'est pas toujours établie par absence d'informations sur la fiche de renseignements ;
- Nous n'avons pas pu, faute de disponibilité de réactif, élargir cette étude à une population quantitativement plus importante.

Discussion

Notre étude est portée sur 525 patients adressés au laboratoire d'hémobiologie durant l'année 2019 afin de réaliser un examen de chromatographie d'Hb.

La fréquence des patients atteints d'hémoglobinopathies trouvée dans notre étude est de 38,48% soit 202 malades, dont 29,52% (155 cas) diagnostiqués comme patients atteints de β -thalassémie hétérozygote.

On peut conclure que cette fréquence est élevée comparant à celle obtenue par l'étude faite au CHU de Tizi-Ouzou en 2016 par Boudaa A et Lakehal N recensant une fréquence de 12% pour les hémoglobinopathies et 24% pour les β -thalassémies hétérozygotes [122]

Tandis qu'elle est similaire à une étude faite à TLEMCEN en juin 2017 par DJEDDI Z et BENAMEUR ZK qui a recensé 21 cas présentant une hémoglobinopathie soit une fréquence de 30,43% ; 16 d'entre eux ont une β -thalassémie hétérozygote avec une fréquence de 23,18% [123].

➤ Aspect épidémiologique des β -thalassémies hétérozygotes

L'analyse de nos résultats retrouve différents types de variants d'Hb à savoir principalement la β -thalassémie avec un pourcentage de 77,72% tandis que l' α -thalassémie ne représente que

0,49%. Cela revient à dire que nos résultats concordent avec les données de la littérature : la bêta-thalassémie est à localisation géographique méditerranéenne.

Par contre une autre étude en Turquie en 2016 par Ariyurek S et all [124] a révélé une prédominance des anomalies qualitatives.

Parmi les patients β -thalassémiques 98,74% présentent un profil de trait thalassémique. L'étude indienne faite en 2003 par Balgir RS, Mishra RK et Murmu B [125] a montré un résultat similaire. Cela est probablement dû à la prise de conscience des gens sur les conséquences fatales des mariages consanguins et aussi grâce à l'introduction d'un bilan pré-nuptial qui est d'une importance majeure dans la révélation de ce genre de pathologies.

Les proportions chez l'homme et la femme sont respectivement de 42,60% et 57,4% avec un sexe/ratio (H/F) de 0,74. Ce résultat est superposable à celui de BLE HERVE PATRICK de l'Afrique du sud en 2006 [126] qui a trouvé un sexe/ratio de 0,81. Par contre une étude faite à Marrakech en 2018 par Zahra OUAATOU [127] a noté une prédominance masculine (68%) avec un sexe/ratio H/F de 2,15.

Il faut noter que la β -thalassémie est une maladie à transmission autosomale donc non liée au sexe. Cette prédominance féminine ne revêt donc pas à une signification particulière. Elle pourrait être liée à un biais de recrutement et notant que l'anémie est plus fréquente chez la femme et donc elle consulte souvent.

Chez la majorité de nos patients, à savoir 115 cas (74,20%), l'âge du diagnostic est fait tardivement (> à 15ans) comme conclut par les résultats de l'étude faite à Blida en 2016 par EL FARTAS M [128] dont l'âge adulte est le plus révélateur du génotype hétérozygote. En revanche l'étude faite en Algérie en Juillet 2018 par Hamani Fatima et Oribi Chahrazad [129] a été marqué par la prédominance de la tranche d'âge ente 5 et 11 ans.

La répartition de nos sujets selon les classes d'âge montre une nette prédominance des adultes par rapport aux enfants, car il s'agit dans la majorité des cas de formes infracliniques

diagnostiquées à un âge adulte.

Les patients originaires de la Wilaya de Tizi-Ouzou sont prédominants par rapport aux autres wilaya limitrophes. Ce qui est normal vue l'éloignement du laboratoire d'Hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou par rapport à ces dernières.

Au sein de la wilaya de Tizi-Ouzou ; la commune la plus représentée est celle de Tizi-Ouzou ville.

Sur les 155 patients diagnostiqués, 8,38% seulement sont issus d'un mariage intrafamilial tandis que 27,74% des cas ne répondent pas cette notion de consanguinité. En revanche, le manque d'informations sur ce critère nous a empêché d'apprécier l'ampleur de ce phénomène chez 63,87% des cas.

➤ Aspect clinique des β -thalassémies hétérozygotes

Les anomalies biologiques notamment l'anémie était le motif de prescription le plus fréquent avec 38,5% suivie par les enquêtes familiales avec une valeur de 32,5%, tandis que la pâleur n'a fait que 12,9% d'objet d'exploration.

L'anémie est le motif le plus observé suite à une diminution de la synthèse des chaînes β de globine avec une hémolyse excessive des globules rouges. Malgré cela cette anémie est bien tolérée dans la plupart des cas.

De même que l'étude réalisée au Maroc en 2015 par Melle YACOUBA ISSAKA [99] a montré que les signes biologiques sont de loin le motif révélateur de la maladie avec 41%.

➤ Aspect hématologique

✓ Selon le nombre de globules rouges

On constate dans notre étude une élévation du nombre de globules rouges chez 84,51% des patients, témoignant d'une pseudopolyglobulie afin d'assurer les échanges gazeux.

✓ **Selon le taux d'Hb**

Un taux d'Hb inférieur à la normale est noté chez presque les deux tiers de nos patients soit 67,73% dont 52,90% présentent une anémie régénérative s'expliquant par les deux mécanismes pathologiques déjà cités : hémolyse et érythropoïèse inefficace.

✓ **Selon le volume corpusculaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne (TGMH)**

La majorité présente une microcytose soit 98,07% des patients de notre étude, de même que pour la diminution du TGMH soit 98,70% des patients reflétant une hypochromie chez la quasi-totalité des cas.

Lors de l'érythropoïèse et dans le compartiment de maturation, les cellules érythroblastiques subissent plusieurs mitoses dont le nombre est régulé par la concentration d'Hb synthétisée dans l'érythroblaste. En cas de défaut de synthèse de l'Hb, les érythroblastes continuent à se diviser car la quantité d'Hb présente à leur niveau n'a pas encore atteint le seuil adéquat, ces cellules deviennent de plus en plus petites suite aux mitoses supplémentaires aboutissant à une microcytose.

L'hypochromie dans ce cas-là se traduit par une diminution de la concentration du pigment (Hb) ce qui donne l'aspect clair des hématies.

Effectivement ces conclusions auxquelles nous sommes arrivées à travers notre étude ont été démontrées avec preuves dans plusieurs recherches, citant l'exemple du travail fait à Blida en 2016 par Haddad et Bradai [130] rapportant la présence d'une pseudo-polyglobulie microcytaire hypochrome et sont aussi en concordance avec les données de la littérature où il a été prouvé que la β -thalassémie mineure présente une anémie régénérative, microcytaire et hypochrome, à l'exception de l'étude faite à Batna par Belhadi.K [131] chez qui les valeurs de l'hémoglobine étaient normales.

✓ **Selon le frottis sanguin**

Dans notre projet de recherche, 155 patients atteints de la β -thalassémie mineure ont bénéficié d'un frottis sanguin, différents types de cellules ont été retrouvés (plusieurs anomalies de formes sont observées dans un même frottis), l'aspect prédominant était les schizocytes chez 103 patients (soit 66,5%), suivi des ovalocytes chez 96 patients (soit 61,9%), les dacryocytes chez 92 patients (soit 59,4%) et les hématies cibles chez 81 patients (soit 52,3%).

Comme nous avons observé :

Des élliptocytes, polychromatophiles, microsphérocytes et des acanthocytes.

Au Maroc, une étude réalisée par LAHLOU S en 2016 [20] a démontré le même résultat que le notre en étudiant le frottis sanguin retrouvant une microcytose, une hypochromie et une poikilocytose avec un aspect prédominant de schizocytes et de cellules cibles, de même que pour les résultats obtenus dans le travail de recherche fait à Marrakech en 2018 par Zahra OUAATOU [127].

La présence de dacryocytes s'explique par l'extraction par la rate des inclusions formées par les précipités de chaînes de globines non appariées. Quant aux schisocytes, ils résultent de la fracture accidentelle des hématies. Les hématies cibles sont dues à une augmentation du rapport surface/volume du GR, conséquence d'une diminution de la quantité d'Hb. Les ovalocytes se forment à cause de leur cytosquelette instable qui leur permet d'être déformés par une contrainte de cisaillement.

➤ **Aspect chromatographique**

Après étude des différentes fractions d'Hb sur HPLC, on a noté une diminution de la fraction HbA chez la totalité de nos patients avec une moyenne de 92,06%, ainsi qu'une élévation de la fraction HbF chez 62,58% des patients avec une moyenne de 2,59%, comme nous avons souligné l'élévation de la fraction HbA2 chez tous les bêta-thalassémiques hétérozygotes avec une moyenne de 5,93%.

Nos résultats sont similaires aux deux études faites au Maroc en 2015 par Melle YACOUBA

ISSAKA Ramatou [99] et en Inde par Dogaru et al en 2011 [131] qui ont montré que les taux d'HbA2 varient entre 3.5 et 7.8%.

A la fin de notre étude nous déduisons que la β -thalassémie hétérozygote est caractérisée par une anémie microcytaire s'expliquant par la survenue d'une déficience lors de la synthèse de l'Hb, aboutissant à une réduction de sa concentration cytoplasmique et à une augmentation du nombre de mitoses afin de poursuivre une certaine maturation de l'érythroblaste, avec une pseudopolyglobulie résultant de la réaction de la moelle osseuse qui augmente la synthèse de globules rouges pour satisfaire aux besoins de transport de l'O₂.

La β -thalassémie est aussi associée à un taux élevé de la fraction HbA2 (> 62,58%) qui est la conséquence d'une diminution de la proportion des chaînes β -globine, compensée relativement par une légère augmentation des chaînes δ .

- Pour illustrer les résultats de notre étude, nous donnons l'exemple de deux patients atteints de β -thalassémie hétérozygote diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU Tizi-Ouzou.

Patient 01 : Il s'agit d'un patient X de sexe masculin âgé de 3 ans qui consulte pour une pâleur cutanéomuqueuse et une asthénie, l'enfant est originaire de Tigzirt (Tizi-Ouzou), et dont les parents ont un lien de consanguinité de premier degré.

Le bilan réalisé pour le patient comporte les examens suivants :

Hémogramme (NFS, frottis et le taux de réticulocytes) ;

Bilan martial (fer sérique, ferritinémie) ;

Bilan d'hémolyse (bilirubine, haptoglobine).

- **Résultats**

Les résultats obtenus après avoir effectué ces analyses sont les suivants :

➤ **Hémogramme**

Tableau 26 : Les résultats hématologiques d'un patient originaire de Tizirt (Tizi-Ouzou).

Technique	Hémogramme				
Paramètres	Hb (g/dl)	GR (T/L)	VGM (fl)	TGMH (pg)	Taux de réticulocytes (G/l)
Valeurs	10,7	6,5	53,2	16,5	149,5.10 ⁹

Sur la formule sanguine, on constate une anémie régénérative, une pseudopolyglobulie, une microcytose et une hypochromie.

➤ **Frottis sanguin**

Après observation d'un frottis confectionné et coloré par la coloration de Wright on remarque la présence de plusieurs formes de cellules (dacryocytes à ++ et cellules cibles à +) ainsi que la confirmation de la microcytose (à ++) et l'hypochromie (à ++) révélées sur l'hémogramme.

➤ **L'étude de l'hémoglobine par HPLC a montré le profil suivant**

Tableau 27 : Les résultats de l'HPLC du patient X.

Technique	HPLC BIORAD-D10		
Fractions de l'Hb	HbA%	HbA2%	HbF%
Valeurs	94,1	<u>5,1</u>	0,8

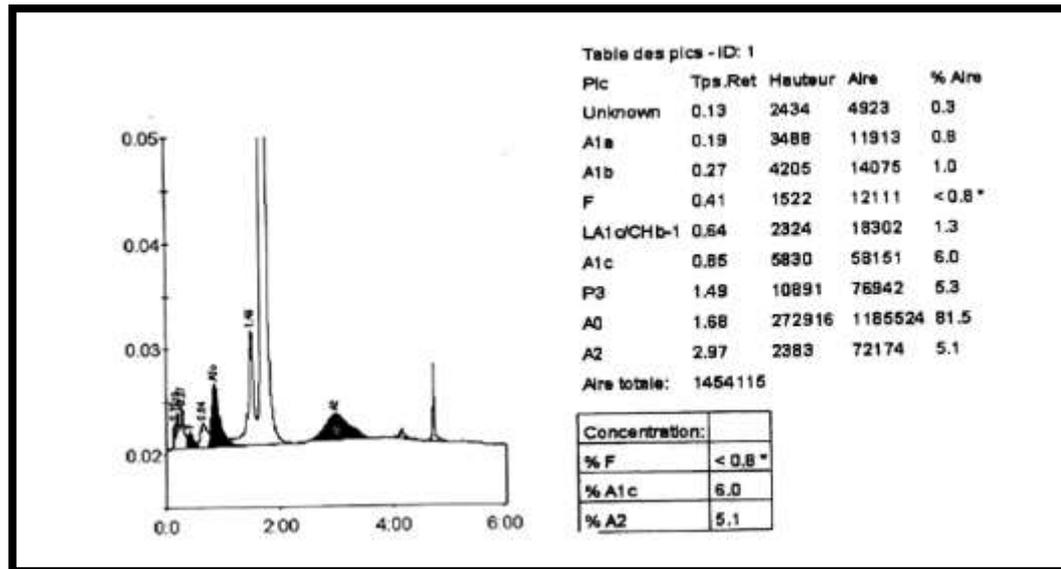


Figure 51 : Figure montrant les différentes fractions de l'Hb après analyse par HPLC du patient X.

➤ Autres analyses

Le bilan martial ainsi que le bilan d'hémolyse sont revenus normaux :

Fer sérique : 94 mg/l (valeur normale : 50-160mg/l) ;

Ferritine : 270 mg/l (valeur normale : 15-150mg/l) ;

Bilirubine directe : 2 mg/l (valeur normale : 0-2mg/l) ;

Bilirubine totale : 9 mg/l (valeur normale : 2-12mg/l).

• Interprétation des résultats

- Le patient X est porteur de β -thalassémie hétérozygote avec un aspect typique sur l'héogramme ;
- L'étude des différentes fractions de l'hémoglobine sur l'automate d'HPLC D-10 a permis de poser le diagnostic avec un taux de A2 élevé supérieur à 3,7% ;
- L'enquête familiale a permis de confirmer le diagnostic en révélant que le père est aussi porteur du gène de la β -thalassémie.

Patient 02 : Le patient Y est de sexe féminin âgé de 22 ans qui se présente au laboratoire d'hémobiologie pour un bilan de routine. La patiente est bien portante et ne présente aucun

symptôme. Originaire de Ouagnoun, ces parents n'ont aucun lien de parenté.

La patiente a bénéficié des examens suivant :

Un hémogramme complet (NFS, frottis sanguin et le taux de réticulocytes) ;

Un bilan martial (fer sérique et ferritinémie) ;

Un bilan d'hémolyse (bilirubine).

➤ **Résultats**

➤ **Hémogramme**

Tableau 28 : Résultats d'un hémogramme d'une patiente originaire de Ouagnoun (Tizi-Ouzou).

Technique	Hémogramme				
Paramètres	Hb (g/dl)	GR (T/L)	VGM (fl)	TGMH (pg)	Taux de réticulocytes (G/l)
Valeurs	11.5	4.92	54.6	16.59	98.4

Les résultats montrent une anémie arégénérative, microcytaire et hypochrome.

La confection du frottis a permis de confirmer la microcytose à ++ et l'hypochromie à ++; nous avons observé plusieurs anomalies de forme: présence de quelques polychromatophiles, des cellules cibles, des dacryocytes, des schizocytes et des cellules ponctuées.

➤ **Le bilan martial**

Les résultats montrent une carence martiale :

Fer sérique bas : 18mg/l (valeur normale : 50-160mg/l) ;

Réserves diminuées : ferritine à 11mg/l (valeur normale : 15-150mg/l).

➤ **L'étude de l'hémoglobine par chromatographie liquide haute performance**

Cet examen a été réalisé en deux fois, avant et après correction de la carence en fer.

Tableau 29 : Les résultats de l'HPLC de la patiente Y.

Technique Paramètres	HPLC BIORAD-D10		
	HbA%	HbA2%	HbF%
Avant correction de la carence en fer	94.2	<u>4.9</u>	0.9
Après correction de la carence en fer	93,9	<u>5,2</u>	0.9

➤ **Le bilan d'hémolyse**

Bilirubine totale : 11mg/l (valeur normale : 2-12mg/l) ;

Bilirubine directe : 2mg/l (valeur normale : 0-2mg/l) ;

Haptoglobine : 0,7g/l (valeur normale : 0,03-2,7g/l).

➤ **Interprétation des résultats**

Les premières analyses réalisées au niveau du laboratoire d'hémobiologie ont révélé que la patiente Y présente une β -thalassémie avec une carence martiale associée.

Après correction de la carence martiale, l'étude de l'hémoglobine par HPLC a montré la persistance de l'augmentation de la fraction A2 de l'hémoglobine.

On conclut que l'aspect du frottis observé en cas de carence martiale et de β -thalassémie est pratiquement identique (microcytose, hypochromie, polychromatophiles, cellules cibles, dacryocytes...), cela ne permet pas de trancher entre ces deux pathologies, donc une étude phénotypique des fractions de l'Hb s'impose.

L'enquête familiale a été réalisée et a permis de confirmer la transmission du gène atteint du côté paternel.

La patiente a été orientée en hématologie et un conseil génétique a été donné ; afin de prévenir d'éventuelles formes homozygotes qui sont des formes sévères de la β -thalassémie nécessitant une prise en charge lourde aussi bien pour le patient que pour la structure de soin qui le prend en charge.

Conclusion générale

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes focalisées sur l'étude descriptive des paramètres hématologiques de la β -thalassémie hétérozygote.

Cette étude a ciblé des patients diagnostiqués au service d'hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou durant une période d'une année allant du 1^{er} janvier 2019 au 31 décembre 2019. Notre objectif principal était de décrire le profil hématologique du trait β -thalassémique mais aussi de déterminer sa fréquence ainsi que celle des autres hémoglobinopathies, d'étudier l'aspect démographique et clinique du trait β -thalassémique et de déterminer en dernier l'intérêt de la chromatographie de l'Hb dans l'orientation du diagnostic.

Nos résultats ont montré une fréquence des hémoglobinopathies de 38,48%, tandis que celle de la β -thalassémie hétérozygote était de 29,52%. Nos statistiques trouvent que cette dernière est la plus fréquente de toutes les hémoglobinopathies avec une fréquence de 77,72%. Par ailleurs, un seul cas d'anémie de Cooley et de bêta-thalassémie intermédiaire ont été rapportés.

La forme mineure se distingue par une symptomatologie peu alarmante, elle est diagnostiquée majoritairement chez l'adulte avec une prédominance féminine malgré sa transmission autosomique récessive non liée au sexe.

D'une part, l'étude de l'hémogramme et du frottis sanguin était d'une aide précieuse dans l'orientation du diagnostic de la β -thalassémie hétérozygote, ce qui nous a permis de constater une pseudopolyglobulie dans 84,51% des cas, une anémie régénérative dans 52,90% des cas, une microcytose et une hypochromie chez presque la totalité des cas.

D'autre part, l'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance qui constitue la base de l'exploration biologique dans un but de diagnostic a affirmé une élévation de la fraction HbA2 et une diminution de celle de l'HbA. Les résultats des analyses prouvent la précision de cette technique ainsi que sa spécificité pour la détection des fractions d'Hb

notamment l'HbA2 et l'HbF.

Afin de poser le diagnostic de certitude, il est primordial de compléter par d'autres techniques électrophorétiques, d'introduire de nouvelles techniques d'analyse (biologie moléculaire) ainsi que de dépister précocement les porteurs hétérozygotes de la β -thalassémie et de les sensibiliser sur les risques encourus de transmettre la maladie à leur descendance.

Références bibliographiques

- [1]: Modell B. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bull World Health Organ. 2008 Jun; 2008(6):480-7
- [2]: Belhani M. Epidémiologie de la β -thalassémie homozygote en Algérie. Revue Algérienne d'hématologie. 2009; 1 : 22.
- [3]: M.CISSE Hamidou. Evaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par l'HemoCue® Hb301 par rapport à l'automate d'hématologie ABX Micros ES60 au sein d'une cohorte à Kalifabougou [Thèse]. Mali: UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO; 14 Juil 2018.
- [4]: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/sfbioch/poly.chp3.html> [Accès le 10 Jan 2020].
- [5]: Study of the bacterial heme-proteins oxygen-sensors FixL and Dos. - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Lheme-b-Au-centre-de-la-porphyrine-latome-de-fer-est-lie-par-six-valences_fig4_281531991 [Accès le 10 Jan 2020].
- [6]: Androulla E. A propos de la thalassémie. Fédération internationale de la thalassémie. Nicosie-chypre. 2007.
- [7]: Coiffier B, Germain D, Gentilhomme O, Bryon PA. Physiologie humaine. Paris : ED. SIMEP. 1981: 28-105.
- [8]: <https://docplayer.fr/docs-images/72/67747686/images/108-0.jpg> [Accès le 10 Jan 2020].
- [9]: Yassine Z. HEMOGLOBINES INSTABLES: DE LA PHYSIOPATHOLOGIE A LA THERAPEUTIQUE [Thèse]. Rabat: UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE; 2011: 37-43.
- [10]: <https://spcl.ac-montpellier.fr/moodle/mod/page/view.php?id=3946> [Accès le 11 Jan 2020].
- [11]: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a1/Estructura_tridimensional_de_la_prote%C3%ADna_Rab3b.jpg [Accès le 11 Jan 2020].
- [12]: <http://pst.chez-alice.fr/image7/hb.png> [Accès le 11 Jan 2020].
- [13]: <http://pst.chez-alice.fr/protstfo.htm> [Accès le 11 Jan 2020].
- [14]: Labie D, Elion J. Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. EMC-Hématologie. 2005; 1(1): 1-15.
- [15]: Gènes de la globine; drépanocytose – thalassaemia. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. 2016 Aug 09.
- [16]: Couque1 N, M DE MONTALEMBERT. Diagnostic d'une hémoglobinopathie. Feuillet de Biologie. VOL LIV N° 311; 2013 mar.
- [17]: http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/analyse/5_fichiers/fig5E3p1_2.gif [Accès le 13 Jan 2020].
- [18]: Eleftheriou A. A propos de la thalassémie. Fédération Internationale de la thalassémie.

2007: 170.

[19]: Panja A, Ghosh T, Basu A. Genetics of Thalassemia in India population. Journal of community nutrition and health. 2012; 1(1): 39-46.

[20]: Mme. Lahlou Sarra. Profil épidémio-clinique, biologique, thérapeutique et évolutif de la thalassémie chez l'enfant [Thèse]. Maroc; 15 Nov 2016: 16-17.

[21]: Barbara J. Bain. Haemoglobinopathy Diagnosis. Blackwell Publishing. 2006: 313

[22]: <https://slideplayer.fr/slide/506055/2/images/32/Evolution+ontog%C3%A9nique+des+diverses+cha%C3%A9nes+de+globine.jpg> [Accès le 13 Jan 2020].

[23]: Beaumont C. Mécanismes moléculaires de l'homéostasie du fer. Paris: s.n. Med SCI. 2004. Vol 20.

[24]: Rahli FZ. Guide d'hématologie clinique à l'usage de l'étudiant en médecine en stage hospitalier [Thèse]. 20 Fév 2018: 20-22.

[25]: <http://www.fmpc.ac.ma/cours/hematologie/A3.4.pdf> [Accès le 14 Jan 2020].

[26]: <https://fr.strephonsays.com/what-is-the-function-of-hemoglobin-in-the-human-body> [Accès le 14 Jan 2020].

[27]: <https://www.rts.ch/decouverte/sante-et-medecine/corps-humain/9852272-comment-s-effectue-le-transport-du-dioxygene-dans-les-hematies-.html> [Accès le 14 Jan 2020].

[28]: Marengo-Rowe A.J. Structure-function relations of human hemoglobins. Proceedings "Baylor University. Medical Center". 2006; 19(3): 239-45.

[29]: <http://www.embryology.ch/francais/qblood/popupblood/q01blut/bohr.html> [Accès le 14 Jan 2020].

[30]: Oliver M, Wolf A, Roche C, Moalic JL. Hémoglobinopathies. Diagnostic au laboratoire. 2011; 71 : 217.

[31]: Pierre Aubry, Docteur Bernard-Alex Gaüzère. Hémoglobinoses. 2019; p01; disponible sur site : www.medecinetropicale.com [Accès le 18 Jan 2020].

[32]: <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-l-hematologiecellulaire/globules-rouges-et-leur-pathologie/88-drepanocytose> [Accès le 29 Jan 2020].

[33]: Valérie GUERARD. Mise en place de l'électrophorèse capillaire MINICAP® (Sebia) pour le diagnostic des hémoglobinopathies au CHU de Nancy [Thèse]. Nancy: UNIVERSITE DE LORRAINE; 2014: 15-29.

[34]: Evan M, Braunstein MD, PhD, Johns Hopkins. School of Medicine. Hémoglobinoses C, S-C et E. 2017 Sep.

[35]: Isabelle Vinatier. CAHIER CERBA. Recommandations pour la mise en œuvre et l'interprétation de l'étude de l'hémoglobine. 2010: 06-10.

[36]: Gulbis B, Aguilar Martínez P. European Network for Rare and Congenital Anaemias (Enerca). 2008

- [37]: Jeanne L. Place de l'électrophorèse capillaire dans le diagnostic et le suivi des hémoglobinopathies. 2010 ; 21:17–20.
- [38]: Martin R, Howard, Peter J. Hamilton, Pr Joel, X corberand. Thalassémies, Hématologie, ISBN. 2004; 2-84299: 572-4.
- [39]: Docteur Claire BARRO. Thalassémies (297a). Nov 2002 (Mise à jour Jan 2005).
- [40]: Pouiré Yameogo. Contribution à l'étude des paramètres Hématologiques chez les femmes enceintes atteintes d'une alpha thalassémie au centre médical saint camille d'ouagadougou. Ecole doctorale regionale du RA-Biotech. 26 Nov 2009: 10-11.
- [41]: Chui DH, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. 2003; 101(3): 791–800.
- [42]: L'alpha-thalassémie Encyclopédie Orphanet Grand Public. Disponible sur site: www.orpha.net/data/patho/pub/fr/Alphathalassémie-FRfrPub50v01.pdf/Avril 2010.
- [43]: Alain J, Marengo-rowe MD. The thalassemiias and related disorders. Baylor University Medical Center Proceedings. 2007; 20: 27-31.
- [44]: Syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare Haute Autorité de Santé. 2008: 10-7
- [45]: Brumpt LC, Pays JF. La thalassémie bêta zéro eurasiatique et les migrations mongoles. La Société française d'Histoire de la Médecine. 27 Fév 1988: 67-8.
- [46]: Rietti G. Ittero emolitico primitivo. atti.accad.sci.med.nationferra. 1925; (2):14-20.
- [47]: Wintrobe M, Dobyns B. A familial haemapoitic disorder in Italian adolescents and adults. j. med. Ass.1940; (114): 736.
- [48]: Valentine W, Neel j. Haematologic and genetic transmission of thalassemia archintern med. 1944; (74): 185.
- [49]: L. Hessissen L, Harif M. Quelles nouveautés dans la thalassémie ? Jan2010; 2(1): 10-24
- [50]: Philippe Joly, Corinne Pondarre, Cathérine Badens. Les bêta-thalassémies: aspects moléculaires, épidémiologiques, diagnostiques et cliniques. Annale de biologie-clinique. 2014; 72(6): 639-68.
- [51]: Galanello R, Origa R. 2010. Beta-thalassemia. Orphanet Journal Of Rare Diseases. 5: 1-15.
- [52]: Tenzaout F. Allogreffe des cellules souches hématopoïétiques dans la β -thalassémie majeure [Thèse]. Alger: Faculté de médecine; 2017: 4-12.
- [53]: <http://www.ironhealthalliance.com/disease-states/talassemia.jsp> [Accès le 03 Fév 2020].
- [54]: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/93/Illustration_de_la_transmission_autosomique_r%C3%A9cessive.png [Accès le 03 Fév 2020].
- [55]: Dr Thuret I. Orphanet; Le portail des maladies rares et des médicaments orphelins Avr 2011.

- [56]: Khajavi M, Inoue K, Lupski JR. Nonsense-mediated mRNA decay modulates clinical outcome of genetic disease. *Eur J Hum Genet*. 2006; 14: 1074-81.
- [57]: Bonello-palot N, Badens C. Bases moléculaires des syndromes thalassémiques et facteurs génétiques modulateurs de sévérité de la bêta-thalassémie. *Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine*. 2010; 1: 1-10.
- [58]: Fessas P, Iokopolos D, Kaltasoya A. Peptid analysis of the inclusion of erythroide beta cells in β -Thalassemia. *Biochim biophys acta*. 1966; 124: 430-32.
- [59]: Cappellini MD, Cohen A, Porter J, Taher A, Viprakasit V. GUIDELINES FOR THE MANAGEMENT OF TRANSFUSION DEPENDENT THALASSAEMIA (TDT), 3RD EDITION. 2014 : 17.
- [60]: Ayfer GP, Turgay D, Gokalp D, Bevazit N, Haspolat K, Soker M. Assessment of thyroid function in children aged 1-13 years with beta-thalassemia major. *Iranian Journal of Pediatrics*. 2011; 1 (21): 77-82.
- [61]: Noetzli LJ, Mittelman SD, Watanabe RM, Coates TD, Wood JC. Pancreatic iron and glucose dysregulation in thalassemia major. *American Journal of Hematology*. 2010; 87: 155-60.
- [62]: Rani, P.S, Vijayakumar S. Beta-thalassemia, mini review. *International journal of pharmacology research*. 2013; 3(12): 71-79.
- [63]: Galanello Renzo, Dr Raffaella Origa, 2011. La beta thalassémie majeure.
- [64]: Olivieri NF, Weatherall DJ. Clinical aspects of beta-thalassemia and related disorders. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs D, Weatherall DJ, eds. *Disorders of hemoglobin genetics, pathophysiology and clinical management*, Second ed. New-York: Cambridge University Press. 2009: 357-416.
- [65]: Girot R, De Montalembert M. Thalassémies chez l'enfant. *EMC Pédiatrie* 2006 et 4-080-A-30.
- [66]: Hadjadj Tiziri, Kezzoul Nadia. STRATEGIE DE PRISE EN CHARGE DES ENFANTS BETA THALASSEMIQUES AU NIVEAU DU CHU DE BEJAIA. 01 Juin 2016: 28-78.
- [67]: Bonello-palot N, Cerino P, Joly P, Badens C. Les thalassémies en 2016. *Revue Francophone Des Laboratoires*. 2016; 481: 67-75.
- [68]: Hematocell.fr. LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE DU CHU D'ANGERS. Les syndromes thalassémiques.
- [69]: Vichinsky EP, Macklin EA, Waye JS, et al. Changes in the epidemiology of thalassemia in North America: a new minority disease *Pediatrics*. 2005; 116(6): 818-25.
- [70]: Wajcman H. Hémoglobines et hémoglobinopathies. Disponible sur: http://rbc.gs.im3.fr/DATA/VFHW_CD/VFMenu1.html
- [71]: Bedir L, Miloudi R. La prévalence de thalassémie dans la wilaya d'el-oued [Mémoire]. OUARGLA: FACULTÉ DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR; 2006: 4-8.
- [72]: Millot S, Woimant H, Ejeil AL, Charrier JL. Bêta thalassémie majeure : actualisation de

la prise en charge en médecine bucco-dentaire. 2011: 51.

[73]: Thuret I. Prise en charge thérapeutique des patients atteints de thalassémie majeure. 2000: 95-7.

[74]: Pr Khattab M. La thalassémie. Doctinews N° 55. Mai 2013.

[75]: Vaulont S, Labie D. Thalassaemia Therapeutic hopes carried by hepcidin. Mai 2011; 27(5): 473-75.

[76]: Boucherit C; Taoussi S, Lamraoui F, Oukid S, Ferdi Z, Abad MT, Bradai M. C16: PLACE DE LA CORTICOTHERAPIE DANS L'ALLOIMMUNISATION POST TRANSFUSIONNELLE DANS LA B THALASSEMIE HOMOZYGOTE. Ehs Elcc CAC Faculté de médecine: Université Blida 1. Revue algérienne d'hématologie. 14^{ème} congrès national. 2017: 32.

[77]: https://www.cotizup.com/uploads/campaigns/872472d374ab54315efaa45e28d53a517a7c_cacb.jpg [Consulté le 04 Fév 2020].

[78]: <https://image2.slideserve.com/4778426/r-gles-de-compatibilit-abo-1.jpg> [Consulté le 14 Fév 2020].

[79]: Queloz M, Siegenthaler A, Conne J, Schneider PH, Tissot JD. Bases de médecine transfusionnelle. 4^{ème} édition. Août 2005.

[80]: Docteur Tazerout M, Galinier Y. Les clés de l'hémovigilance. MANUEL D'AIDE A LA FORMATIONEN TRANSFUSION SANGUINE. Toulouse.

[81]: Gillet P, Idzi P, De Boeck H, Jacobs J. 140819_HDB_pg Hématologie tropicale pratique notions de base.doc.Fév 2009: 2.

[82]: Rohrllich P, Bardiaux L. Transfusions pédiatriques Elsevier Masson. 2008.

[83]: Chevet E. Nouvelles pistes thérapeutiques dans la β -Thalassémie [Thèse]. Université Angers; 14 Sept 2015: 65-79

[84]: ANSM. Résumé des caractéristiques du produit [En ligne]. Mar 2013 [consulté le 13 Jan 2020]. Disponible sur : <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0220039.htm>.

[85]: <https://previews.123rf.com/images/molekuul/molekuul1711/molekuul171100281/89059240-deferoxamine-drug-molecule-used-to-treat-iron-poisoning-hemochromatosis-skeletal-formula-.jpg> [Consulté le 28 Fév 2020].

[86]: <https://encryptedtbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcRrIEaoBWtigkbXsUbY3j7uop86bk0HwSgBSzA--zg-uXpNn96N> [Consulté le 03 Mar 2020].

[87]: https://lh3.googleusercontent.com/proxy/JcIFfv91qQ3Q17AQxrRZuZViftGQ_wCl6Av6KzMXLv6q0sslba6qNRklt_ZkIf17C6Hq1O4d9LHXlaCpZo9JaG87CMbIzuN3i4fEce_qxlbPOJgAGe6JsBfbDPIBbhMYLSyE_bWs40mXCqQJiiiObU7zGUnPH8qK9vp6kdoABB2jTwZfg0A8asPueOxkt-jktcFRLjaMVUUG [Consulté le 03 Mar 2020].

[88]: Lal A, Porter J, Sweeters N, et al. «Combined chelation therapy with deferasirox and deferoxamine in thalassaemia». Blood cells, molecules and diseases. 2013 Feb; 50(12): 99-104.

- [89]:** Bendriss I. Prise en charge de la surcharge en fer au cours de la thalassémie [mémoire]. Fès. Maroc : Université de Fès. 2014.
- [90]:** Doumir Z, Ch.Aboura N, Zidani N, Khouni N, Belhani M, Boudjerra. C19: COMPLICATIONS DE LA SPLENECTOMIE CHEZ LES BETA THALASSEMIQUES. N Service d'hématologie CHU Béni Messous. Revue algérienne d'hématologie 14^{ème} congrès national. 2017: 33.
- [91]:** Emengaha FC, Nnodim J, Hope O, et al. «Gene therapy in the developing countries». International Journal of Medical and Health Sciences Research. 2015; 2(15): 80-92.
- [92]:** Dong A, Rivella S, Breda L. «Gene therapy for hemoglobinopathies: progress and challenges». Translational research. 2013 Apr; 161(14): 191-306.
- [93]:** Arumugam P, Malik P. «Genetic therapy for beta-thalassemia: from the bench to the bedside». American society of Hematology. 2010; 2(10): 445-50.
- [94]:** Roselli EA, Mezzadra R, Frittoli M, et al. «Correction of β -thalassemia major by gene transfer in haematopoietic progenitors of pediatric patients». EMBO Molecular Medicine. 2010 Aug; 2(18): 315-28.
- [95]:** Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. «Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by defined factors». 20017 Nov ; 131 : 861-72.
- [96]:** Zuccato C, Breda L, Salvatori F, et al. «A combined approach for β -thalassemia based on gene therapy-mediated adult hemoglobin (HbA) production and fetal hemoglobin (HbF) induction». Annals of hematology. 2012 Mar; 91(18): 1201-13.
- [97]:** Ma N, Liao B, Wang L, et al. «Transcription activator-like effector nuclease (TALEN)-mediated gene correction in integration-free β -thalassemia induced pluripotent stem cells». The journal of biological chemistry. 2013 Nov; 288(148): 34671-79.
- [98]:** North ML, Piffaut MC, Duwig I. Revue Francaise des Laboratoires.1995; (275): 107-16.
- [99]:** YACOUBA ISSAKA Ramatou. La Bêta-thalassémie: Etude d'une cohorte de cas colligés au Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V (HMIMV). [Thèse]. Rabat; 2015: 10.
- [100]:** HYDRAGEL 7 & 15 HEMOGLOBIN(E). Notice d'utilisation Sebia. 2005. Réf. 4106 & 4126.
- [101]:** Chabi ilougbade O. T. Tatiana T. Hémoglobinoses C: Étude de Cohorte réalisée au Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V (HMIMV). [Thèse]. Rabat; 2014: 14-8.
- [102]:** Siguret V, Andreux JP. Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype. Annales de Biologie Clinique. Revues générales. 1997; 55(2): 103-12.
- [103]:** HYDRAGEL 7 & 15 ACIDE HEMOGLOBIN(E). Notice d'utilisation Sebia. 2005. Réf. 4108 & 4128
- [104]:** Ou CN, Rognerud CL. Diagnosis of hemoglobinopathies: electrophoresis vs. HPLC. Clin Chim Acta. 2001; 313: 187-94.

- [105]: Bardakdjian-Michau J, Dhondt J-L, Ducrocq R, Galactéros F, Guyard A, Huchet F-X, Lahary A, et al. Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. *Ann Biol Clin. Paris.* 2003; 61: 401–9.
- [106]: Aguilar-Martinez P, Badens C, Bonello-Palot N, Cadet E, Couque N, Ducrocq R, et al. Réseau DHOS Pathologie héréditaire de l'érythrocyte. Arbres décisionnels pour le diagnostic et la caractérisation moléculaire des hémoglobinopathies. *Ann Biol Clin. Paris.* 2010 ; 68 : 455-64.
- [107]: Clarke GM, Higgins TN. Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and Update. *Clin Chem.* 2000 ; 46 : 1284–90.
- [108]: Kim JE, Kim BR, Woo KS, Kim JM, Park JI, Han JY. Comparison of capillary electrophoresis with cellulose acetate electrophoresis for the screening of hemoglobinopathies. *Korean J Lab Med.* 2011; 31: 238–43.
- [109]: Blessum C, Jeppsson JO, Aguzzi F, Bernon H, Bienvenu J. L'électrophorèse capillaire: principe et applications au laboratoire de biologie clinique. *Ann Biol Clin. Paris.* 24 Nov 1999; 57(6): 643-57.
- [110]: David F. Keren, Hedstrom D, Gulbranson R, et al. Comparison of Sebia Capillary Electrophoresis With the Primus High-Pressure Liquid Chromatography in the Evaluation of Hemoglobinopathies. *American Society for Clinical Pathology.* 2008; 130: 824-31.
- [111]: Cotton F, Vertongen F, Gulbis B. Stratégie d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique Électrophorèse capillaire et hémoglobinopathies. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.* 2006; 21: 45–50.
- [112]: Wajcman H, Riou J, Tapo AP. Globin chain analysis by reversed phase high performance liquid chromatography: recent developments. *Hemoglobin.* 2002; 26: 271-84.
- [113]: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S1773035X16301265-gr6.jpg> [Consulté le 5 Mars 2020].
- [114]: Daniel D, Mais MD. The Range of Hemoglobin A2 in Hemoglobin E Heterozygotes as Determined by Capillary Electrophoresis. *American Journal of Clinical Pathology.* 2009 Jul; 132(1): 34-8.
- [115]: Joutovsky AMD, Nardi M, MS Hemoglobin C and hemoglobin O-Arab can be diagnosed using the Bio-Rad Variant II (High-Performance-Liquid Chromatography System) Without Further confirmatory tests. 2004; 128(4): 435-39.
- [116]: D10™ Hemoglobin Testing System, Library of chromatograms. Bio-Rad Laboratories India Pvt. Ltd. 2006.
- [117]: Mosawy WF. The beta-thalassemia. *Scientific Journal Of Medical Research.* 2017: 03.
- [118]: ELIEN Shari Dona. Etude du gène HBB dans les bêta-thalassémies. 2018: 17-9.
- [119]: Old JM. Screening and Genetic Diagnostic of Hemoglobin Disorders. *blood Rev.* 2003: 43-53.
- [120]: Krause A, Wainstein T, Essop FB, Goodyear Q. Testing for haemoglobinopathies in

Johannesburg, South Africa: A 30-year review. *S Afr Med J*. 2013; 103: 989–93.

[121]: Berdakdjian-michau J, Dhondt JL, Ducrocq R. Groupe de travail SFBC « Recommandations dans le domaine des diagnostics des hémoglobinopathies ». (responsables : F Galactéros). Bonnes pratiques de l'étude d'hémoglobine.

[122]: Boudaa A, Lakehal N. Caractéristiques biologiques des variants de l'hémoglobine diagnostiqués au Laboratoire d'hémo-biologie au CHU Tizi-Ouzou. 2016.

[123]: DJEDDI Z, BENAMEUR ZK. DEPISTAGE DES HEMOGLOBINOPATHIES AU CHU TLEMCCEN. TLEMCCEN: UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD; 20 juin 2017

[124]: Ariyurek S, Yildiz S, Erdinc A, Yalin, Guzelgul F, Aksoy K. Hemoglobinopathies in the Çukurova Region and Neighboring Provinces. *International journal for hemoglobin research*. Turquie. 2016: 1-5.

[125]: Balgir RS, Mishra RK, Murmu B. Clinical and Hematological Profile of Hemoglobinopathies in Two Tribal Communities of Sundargarh District in Orissa, India. *Int J Hum Genet*. 2003; 3(4): 209-16.

[126]: Ble herve P. PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE, CLINIQUE, BIOLOGIQUE, THERAPEUTIQUE ET EVOLUTIF DE LA BETA THALASSEMIE MINEURE DU NOIR AFRICAIN A propos de 20 cas colligés dans le service d'Hématologie Clinique du CHU de Yopoujon. [Thèse]. Cote d'Ivoire: UFR SCIENCES MEDICALES; 14 Déc 2006.

[127]: Zahra OUAATOU. Apport du frottis sanguin dans l'orientation du diagnostic des hémoglobinopathies, expérience du laboratoire d'hématologie de l'hôpital militaire de Marrakech. [Thèse]. Marrakech: Université Cadi Ayyad; 09 Mai 2018.

[128]: EL FARTAS M. Prévalence du trait bêta-thalassémique : Enquête sur 5ans. Blida: Université Saad Dahlab de Blida 1. 19 Mai 2016.

[129]: Hamani F, Oribi C. La prévalence de la bêta-thalassémie au niveau de l'EPH Ain Tadless. Mostaganem: Université Abdelhamid Ibn Badis; 03 Jul 2018.

[130]: HADDAD N, BRADAI M. Epidémiologie de la bêta thalassémie hétérozygote, dans le CHU de Blida: Implications, pour le dépistage de la population. *Santé-Mag*. 2016 ; 53 : 10-13.

[131]: BELHADI K. Diagnostic biologique et moléculaire de la bêta-thalassémie chez une partie d'enfants d'Algérie. [Thèse de doctorat]. Batna : Université Mustapha Ben Boulaid Batna 2.

[131]: DOGARU M, TALMACI R, CORIU D, BADELITA S. Sensitivity, specificity and efficiency of different discriminative indexes in differentiation of thalassemia trait from iron deficiency anemia. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2011; 1 (1): 2-8.

Annexe I : Nomenclature des principales hémoglobines anormales par ordre alphabétique.

Nom de l'hémoglobine	Mutation décrite ou caractéristiques
Hb A	Hb adultes (A ₀ , A ₁ , A _{1c} , A ₂ -)
Hb C	β6 Glu→Lys
Hb D	Mutations β du groupe +1
Hb E	β26 Glu→Lys
Hb F	Hb foetale
Hb G	Mutations α du groupe +1
Hb H	Tétramère β
Hb I	Mutations α du groupe -2
Hb J	Variants α et β du groupe -1
Hb K	Variants α et β rapides entre -1 et -2
Hb M	Variants responsables de méthémoglobinémies
Hb N	Variants rapides β du groupe -2
Hb O	O-Arab β121 Glu→Lys
Hb P	P-Nilotic Gène-fusion
Hb Q	Variants α du groupe +1
Hb S	β6 Glu→Val
Hb T	T-Cambodia

Annexe II : Les caractéristiques des trois molécules chélatrices du fer.

	Déféroxamine (Desféral)	Défériprone (Ferriprox)	Déférasirox (Exjade)
Dose journalière usuelle (mg/kg/jour)	25-60	75	20-30
Mode d'administration	Sous-cutanée/ intraveineuse 8-12 (24) heures, 5 jours/semaine	Orale, 3 fois par jour	Orale, 1 fois par jour
Demi-vie	20-30 minutes	3-4 heures	8-6 heures
Elimination	Urine, selles	Urine	Selles
Efficacité chélation foie/cœur	+++ / + Bonne tolérance à très long terme. Administration continue sur 24 h pour traiter les atteintes cardiaques	++ / +++ Cardio-protection supérieure au DFO avec amélioration de la fraction d'éjection systolique	+++ / +++ Maintien ou réduit la charge globale en fer avec contrôle du fer non lié à la transferrine
Toxicité	Principalement locale Quelques troubles neuro-sensoriels, sur la croissance et une augmentation des infections à Yersinia E. ont été aussi décrites	Agranulocytose : 1,7 % imposant une NFS hebdomadaire ; arthropathie : 15 % ; troubles gastro-intestinaux : 33 % ; augmentation des ALAT	Rash : 10 % ; troubles gastro-intestinaux : 20 % ; augmentation de la créatinine avec protéinurie : 36 % imposant une surveillance mensuelle ; augmentation des ALAT

Annexe III : Les différentes caractéristiques clinico-biologiques des autres formes de bêta-thalassémie.

Anomalie génétique	La clinique	Diagnostique biologique							
		Hemogramme	Frottis	étude de l'hémoglobine					
				HbA %	HbF %	HbA2 %	HbS %	HbC %	HbE %
Hb S/ β^+	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb 9-12g/dl VGM 60-95 fl	Microcytose	0-15	5-15	Variable	55-90	-	-
Hb S/ β^0	Syndrome drépanocytaire majeur	Hb 7-11g/dl	Anisocytose Poikilocytose Drépanocytes Cellules cibles Corps de Jolly	0	5-15	Elevée	80-90	-	-
Hétérozygotie C/β^+-thalassémie	Anémie hémolytique chronique modérée	Anémie modérée	Microcytose Cellules cibles++ Microsphérocytes	20-30	2-10	< 3	-	60-80	-
Hétérozygotie composite C/β^0-thalassémie	Thalassémie intermédiaire	Anémie (7-10 g/dl)	Microcytose Cellules cibles++ Microsphérocytes	0	2-10	< 3	-	> 90	-
Hétérozygotie composite E/β^0-thalassémie	Thalassémie intermédiaire	Anémie (7-10 g/dl)	Microcytose Cellules cibles++ Microsphérocytes	0	30-60	variable	-	-	40-60
Hétérozygotie E/β^+-thalassémie	Thalassémie Intermédiaire	Anémie modérée	Microcytose Cellules cibles++ Microsphérocytes	10	30-60	variable	-	-	> 40

Annexe IV : Fiche d'exploitation établie pour les malades.

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
DE TIZI-OUZOU

Tizi-Ouzou, le.....

HOPITAL NEDIR Mohamed

SERVICE HEMOBIOLOGIE

UNITE DE BIOCHIMIE HEMATOLOGIE

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Nom :.....Prénom.....

Né le : à

Hospitalisé à :.....

Origine géographique du père :.....

Origine géographique de la mère :.....

Consanguinité : OUI
 NON

Adresse :.....

Tel :

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES :

- Anémie :
- Ictère :
- Cyanose :
- Splénomégalie
- Hépatomégalie :
- Douleurs articulaires :
- Transfusion :
- Accidents d'hémolyse :
- Prise médicamenteuse :
- Favisme :
- Antécédents personnels :
- Traitement martial :
- Antécédents familiaux :

BILAN BIOCHIMIQUE :

- * Fer sérique :
- * Ferritinémie :
- * CRP :
- * VS :
- * Haptoglobine :
- * Bilirubine :
- * Test de Coombs :

Médecin prescripteur :

Service :

Résumé

La β -thalassémie hétérozygote est une pathologie résultant d'une anomalie génétique, autosomique et récessive de l'Hb. C'est un problème de santé publique qui prend une grande ampleur en Algérie.

Nous avons mené une étude rétrospective descriptive de cette maladie sur 155 patients diagnostiqués au sein du Laboratoire d'Hémobiologie du CHU de Tizi-Ouzou durant l'année 2019. Cette recherche nous a permis d'exploiter les données clinico-hématologiques et épidémiologiques de ces cas et elle a révélé une fréquence de 29,52%.

Dans la majorité des cas, les paramètres de l'hémogramme ont démontré une pseudopolyglobulie (84,51%), une microcytose (98,06%) et une hypochromie (98,7%) confirmés par le frottis sanguin. Par ailleurs, l'étude chromatographique des différentes fractions de l'Hb a retrouvé un taux d'HbA2 élevé allant de 3,70 % à 8,60 %, cela donc a servi pour poser le diagnostic.

A la lumière de ces résultats, plus d'intérêt doit être accordé à cette maladie en instaurant un programme de prévention basé sur le dépistage des hétérozygotes, le conseil génétique et le dépistage anténatal afin de limiter l'apparition de nouveaux cas.

Mots clés : Hémoglobinopathie, β -thalassémie hétérozygote, HPLC, Conseil génétique.

Abstract

β -heterozygous thalassemia is a pathology resulting from a genetic, autosomal and recessive Hb anomaly. This is a public health problem that is growing in Algeria.

We conducted a descriptive retrospective study of this disease on 155 patients diagnosed at the Hemobiology Laboratory of the Tizi-Ouzou University Hospital during the year 2019. This research allowed us to exploit the clinical-hematological and epidemiological data of these cases and revealed a frequency of 29.52%.

In the majority of cases, the parameters of the hemogram showed pseudopolyglobulism (84.51%), microcytosis (98.06%) and hypochromia (98.7%) confirmed by the blood smear. In addition, chromatographic study of the different Hb fractions found a high HbA2 level ranging from 3.70% to 8.60%, which was therefore used to make the diagnosis.

In the light of these results, more attention must be paid to this disease by setting up a prevention programme based on heterozygous screening, genetic counselling and antenatal screening in order to limit the appearance of new cases.

Keywords : Hemoglobinopathy, β -heterozygous thalassemia, HPLC, Genetic counselling.