

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie



Thèse d'exercice

N° d'ordre : 06

Présentée et soutenue

Le 26 juin 2016

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Thème

**Caractéristiques biologiques des variants de l'hémoglobine
diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie**

CHU de Tizi Ouzou

Réalisé par :

M^{elle} BOUDAA Asma

M^{elle} LAKEHAL Nassiba

Encadré par : Dr. Si Smail N.

Maitre assistante en hémobiologie

Co-encadré par : Dr. Issiakhem F.

Assistante en épidémiologie

Jury :

Présidente : Dr. KESSAL F.

Maitre assistante en hémobiologie

Examinatrice : Dr. Arbani S.

Maitre assistante en hémobiologie

2015/2016

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier Allah le tout puissant de nous ouvrir les portes du savoir et de nous avoir aidé dans les moments difficiles.

Nous souhaitons remercier notre promotrice Dr Si Smail Nedjma qui a bien voulu nous encadrer et a veillé au grain au bon suivi de notre travail par son expertise, ses précieux conseils et ses orientations ainsi vers toute l'équipe du laboratoire d'hémobiologie CHU TO.

Nos remerciements vont également à notre Co-promotrice Dr Issiakhem et à Dr Halli, qui n'ont épargné aucun effort pour le bon déroulement de ce travail. Leurs remarques et leurs conseils ont été pour nous d'un grand apport, et qui n'ont cessé de nous guider et de nous faire bénéficier de leurs savoir, nous les remercions du fond du cœur.

Nous tenons à remercier très chaleureusement l'ensemble des membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Nos sincères remerciements iront aussi à tous nos enseignants pour la qualité de l'enseignement qu'ils ont bien voulu nous prodiguer durant nos études.



Dédicace

A mes chers parents

Akli et Zahira

Tout les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi.

A Mes chers petits frères

Abderrezak, Walid et Mazem

Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous.

Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.

A tous les membres de la famille LAKEHAL et BENALI, sans exception.

A Tous mes amis(es)

Surtout Sarra, Asma et Meriem

Merci pour votre gentillesse et votre générosité et pour les bons moments qu'on a passé ensemble.

A Tous Ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

A tous mes enseignants tout au long de mes études.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Nassiba





Dédicace

*Au meilleur des pères Abdelhamid
A ma très chère maman Nacira
Qu'ils trouvent en moi la source de leur fierté
A qui je dois tout.*

*A mon cher frère Abderahmene et ma sœur Nassima
A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.*

A mes chères sœurs Amel, Lila et Sabrina ainsi que leurs époux.

*A tous mes amis et en particulier Sarra et Nassiba.
A tous ceux qui me sont chers.*

« Asma »



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale et problématique 1

Objectifs 2

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : L'Hémoglobine

1. Définition 3

2. Structure 3

2.1. La globine 4

2.2. L'hème 5

2.3. Tétramère hémoglobinique 5

3. Evolution ontogénique des hémoglobines humaines 6

4. Les gènes de la globine 8

4.1. Organisation des gènes de globine en famille 8

4.1.1. La famille des gènes des α -globines 8

4.1.2. La famille des gènes des β -globines 8

5. Synthèse de l'hémoglobine 9

5.1. Synthèse de la globine 9

5.2. Synthèse de l'hème 9

6. Fonction de l'hémoglobine 9

CHAPITRE II : Les hémoglobinopathies

1. Anomalies de synthèse des chaînes de globine : Syndromes thalassémiques 11

1.1. Les β -thalassémies 11

1.2. Les α -thalassémies 12

2. Anomalies de structure des chaînes de globine : les variants qualitatifs 12

2.1. Les hémoglobines anormales les plus fréquentes 12

2.1.1. Hémoglobine S 12

2.1.2. Hémoglobine C 18

2.1.3. Hémoglobine E 19

2.2. Les hémoglobines anormales rares 21

2.2.1. Les hémoglobines instables 21

2.2.2. Les hémoglobines anormales à fonction oxyphorique altérée 21

2.2.3. Hémoglobine M 24

2.3. Autres 25

2.3.1. Hémoglobine D-Punjab 25

2.3.2. Hémoglobine O-Arab 25

2.3.3.	Les variants de la chaine delta.....	26
2.3.4.	Les variants de la chaine alpha	26

CHAPITRE III : Diagnostic biologique des hémoglobines anormales

1.	Circonstances de découverte	27
2.	Anamnèse	27
3.	Prélèvement des échantillons.....	27
4.	Examens biologiques.....	28
4.1.	Hémogramme.....	28
4.2.	Techniques d'étude séparatives	29
4.2.1.	Electrophorèse	29
4.2.1.1.	Electrophorèse à pH alcalin.....	29
4.2.1.2.	Electrophorèse à pH acide.....	29
4.2.1.3.	Isoélectrofocalisation	30
4.2.1.4.	L'électrophorèse capillaire	31
4.2.2.	Chromatographie liquide haute performance	33
4.3.	Techniques d'étude non séparatives	34
4.3.1.	Test d'Emmel	34
4.3.2.	Test d'Etano	34
4.3.3.	Recherche des corps de Heinz	35
4.3.4.	Test de stabilité à l'isopropanol.....	35
4.3.5.	la mise en évidence de la méthémoglobine	35
4.3.6.	Mesure de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène	35
5.	Place de la biologie moléculaire	36

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

1.	Matériel	37
1.1.	Population d'étude.....	37
1.2.	Echantillon biologique	37
2.	Méthodes biologiques.....	37
2.1.	La phase pré analytique.....	37
2.1.1.	Anamnèse.....	37
2.1.2.	Le prélèvement du patient.....	38
2.1.3.	La conservation	38
2.1.4.	Délais de traitement des échantillons.....	38
2.2.	La phase analytique	38
2.2.1.	Hémogramme	38
2.2.1.1.	Numération sanguine	38
2.2.1.2.	Le frottis sanguin	40
2.2.1.3.	Numération des réticulocytes	42
2.2.2.	Le test de coombs direct	43
2.2.3.	L'électrophorèse capillaire	44

3. Méthodes statistiques.....	49
3.1. Déroulement de l'étude.....	49
3.2. Analyse statistique.....	49

CHAPITRE II : Résultats

1. Répartition des différents sujets étudiés selon leur profil	50
2. Description de la population atteinte d'hémoglobine anormale	50
3. Description des patients selon les différents variants.....	52
3.1. Description de la Drépanocytose.....	52
3.1.1. Selon l'âge	53
3.1.2. Selon le sexe.....	53
3.1.3. Selon le génotype.....	54
3.1.4. Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes selon l'âge.....	54
3.1.5. Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes selon le sexe.....	55
3.1.6. Les paramètres biologiques des drépanocytaires hétérozygotes.....	55
3.1.7. Les paramètres biologiques des drépanocytaires homozygotes.....	57
3.2. Description de l'hémoglobinose C.....	58
3.2.1. Répartition des sujets atteints de l'hémoglobinose C selon l'âge et le sexe.....	58
3.2.2. Répartition des sujets atteints de l'hémoglobinose C selon le génotype.....	59
3.2.3. Description de l'hémoglobinose C homozygote.....	59
3.2.4. Description de l'hémoglobinose C hétérozygote.....	60
3.3. Les hétérozygotes composites	62
3.3.1. Répartition des hétérozygotes composites selon l'âge et le sexe.....	62
3.3.2. Répartition des hétérozygotes composites selon le génotype	63
3.3.3. Description des hétérozygotes composites S/C.....	63
3.3.4. Description des hétérozygotes composites S/ β -thal.....	65
3.3.5. Les hétérozygotes composites S/variant α	66
3.4. Les sujets atteints d'hémoglobine Sétif (variant Alpha).....	67
3.5. Les sujets atteints d'hémoglobine instable (Hémoglobine Köln)	69

CHAPITRE III : Discussion

Conclusion générale.....	80
--------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

ACD: adénine-citrate-dextrose.

ADN : acide désoxyribonucléique.

AGH : Antiglobuline Humaine.

Ala : Alanine.

Arg: Arginine

ARN_m : L'acide ribonucléique messenger.

Asn: Asparagine

Asp: Acide aspartique.

BCB : Bleu de Crésyl Brillant.

Ca: Calicium

CCMH: Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire.

Cl: Chlore.

CO₂ : le dioxyde de carbone.

Cys: Cystéine.

DPG: Diphosphoglycérate.

dl: Décilitre.

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tetracétique.

EC: Eléctrophorèse Capillaire.

EOF : Flux Eléctro-Osmotique.

ET-1 : Endothéline 1.

Fe:Fer.

Fl : Fentolitre.

g : gramme.

Gln: Glutamine.

Glu:Acide glutamique.

Gly : Glycine.

GR:Globule rouge.

H:Heure.

Hb : Hémoglobine.

Hb A :Hémoglobine humaine adulte.

Hb A₁C: Hémoglobine Glyquée.

Hb F : Hémoglobine fœtale.

Hg: Mercure.

His: Histidine.

HPLC : Chromatographie liquide haute performance.

IC : Intervalle de confiance.

Ig: Immunoglobuline.

K:Potassium.

KCN:Cyanure de Potassium.

Leu:Leucine.

LDH :Lactate Déshydrogénase.

Lys : Lysine.

Met: Methionine.

Min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

N :Normal.

N° : Numéro.

NFS : Formule de numération sanguine.

nm : nanomètre.

NO: Monoxyde d'azote.

O₂: Dioxygène.

Pg : Picogramme.

pH : potentiel hydrogène.

Phe : Phénylalanine.

PHHF: Persistance héréditaire de l'Hémoglobine F.

PI: Point Isoélectrique.

PO₂: Pression partielle en oxygène.

P50: la pression d'un gaz requise pour atteindre 50 % de saturation d'une enzyme.

q.s.p : quantité suffisante pour.

Rétic :Réticulocyte.

rpm : rotation per minute.

SDM: Syndrome Drépanocytaire Majeur.

Ser: Serine.

T : Téra.

TCD : Test de Coombs Direct.

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

Thal : Thalassémie.

Thr : Thréonine.

Tr : Tours.

TR : Temps de Rétention.

Tyr: Tyrosine.

V : Variable.

Val : Valine.

VGM : Volume Globulaire Moyen.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Représentation tridimensionnelle d'un tétramère d'hémoglobine.....	3
Figure 02 : Représentation des hélices de la chaîne de globine.....	4
Figure 03 : Structure de l'hème.....	5
Figure 04 : Expression des différentes hémoglobines au cours du développement.....	7
Figure 05 : Structure et organisation des deux familles de gènes-globines.....	9
Figure 06 : Courbe de saturation en O ₂ de l'hémoglobine.....	10
Figure 07 : Scanning d'un globule rouge d'un sujet drépanocytaire.....	14
Figure 08 : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose.....	16
Figure 09 : Aspect des hématies très en faveur d'une hémoglobinose C (Frottis sanguin)....	19
Figure 10 : Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin.....	29
Figure 11 : Electrophorèse sur gel d'agar à pH 6.....	30
Figure 12 : Isoélectrofocalisation.....	31
Figure 13 : Représentation schématique d'un appareillage d'électrophorèse capillaire	31
Figure 14 : Le flux endo-osmotique.....	32
Figure 15 : Schéma simplifié de la chromatographie.....	33
Figure 16 : Test de solubilité de l'hémoglobine S.....	34
Figure 17 : L'automate ADVIA® 2120 (Siemens).....	39
Figure 18 : Confection d'un frottis sanguin.....	41
Figure 19 : Automate HEMA-TEC 2000.....	41
Figure 20 : Automate Capillarys 2 Sebia.....	45
Figure 21 : Répartition des différents sujets enquêtés selon leur profil hématologique au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015).....	50
Figure 22 : Répartition des sujets ayant une hémoglobine anormale diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon le sexe.....	50
Figure 23 : Répartition des sujets ayant une hémoglobine anormale diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge.....	51
Figure 24 : Répartition des sujets ayant une hémoglobine anormale selon les types de variant diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015).....	52

Figure 25 : Répartition des sujets drépanocytaires diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge.....	53
Figure 26 : Répartition des sujets drépanocytaires diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon le sexe.....	53
Figure 27 : Répartition des sujets drépanocytaires diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon le génotype.....	54
Figure 28 : Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon l'âge.....	54
Figure 29 : Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon le sexe.....	55
Figure 30 : Répartition des sujets atteints d'une hémoglobinoase C diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.....	58
Figure 31 : Répartition des sujets atteints d'hémoglobinoase C diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon le génotype.....	59
Figure 32 : Répartition des sujets atteints d'hémoglobinoase C hétérozygotes diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.....	60
Figure 33 : Répartition des hétérozygotes composites diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.....	62
Figure 34 : Répartition des hétérozygotes composites diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon le génotype.....	63
Figure 35 : Répartition des sujets atteints de l'Hb Sétif diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.....	67
Figure 36 : Electrophorèse à pH alcalin sur gel d'agarose.....	74
Figure 37 : Profil de migration de l'Hb Sétif (CAPILLARYS).....	75
Figure 38 : Profil hémoglobinique obtenu par HPLC.....	76
Figure 39 : Profil de migration de l'Hb Köln (CAPILLARYS).....	78
Figure 40 : Profil hémoglobinique obtenu par HPLC.....	78

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Les valeurs normales de l'Hb A2 et l'Hb F.....	8
Tableau 02 : Les principaux variants et leurs caractéristiques clinico-biologiques.....	20
Tableau 03 : Exemple des hémoglobines anormales à haute affinité pour l'O ₂	22
Tableau 04 : Exemple des Hémoglobines anormales à affinité diminuée pour l'O ₂	23
Tableau 05 : Les différentes variétés d'Hb M et HbF-M.....	24
Tableau 06 : Normes internationales du 22-06-2004 de la numération formule sanguine.....	40
Tableau 07 : Fractions Hb et variants en fonction des zones.....	48
Tableau 08 : Les valeurs moyennes de l'hémogramme des drépanocytaires hétérozygotes.....	56
Tableau 09 : Profil hémoglobinique des drépanocytaires hétérozygotes.....	56
Tableau 10 : L'hémogramme d'un drépanocytaire homozygote.....	57
Tableau 11 : Profil hémoglobinique des drépanocytaires homozygotes.....	57
Tableau 12 : Hémogramme d'un sujet atteint d'hémoglobinoïse C homozygote.....	59
Tableau 13 : Profil hémoglobinique d'un sujet atteint d'hémoglobinoïse C homozygote.....	60
Tableau 14 : Les valeurs moyennes de l'hémogramme des patients atteints d'hémoglobinoïse C hétérozygotes.....	61
Tableau 15 : Profil hémoglobinique des patients atteints d'hémoglobinoïse C hétérozygote..	61
Tableau 16 : Répartition des hétérozygotes composites S/C selon le sexe et l'âge.....	63
Tableau 17 : Les résultats de l'hémogramme des sujets atteints d'une S/C.....	64
Tableau 18 : Profil hémoglobinique des sujets atteints d'une S/C.....	64
Tableau 19 : Répartition des hétérozygotes composites S/ β -thal selon l'âge et le sexe.....	65
Tableau 20 : L'hémogramme des patients hétérozygotes composites S/ β -thal.....	65
Tableau 21 : Profil hémoglobinique des patients hétérozygotes composites S/ β -thal.....	66
Tableau 22 : L'hémogramme d'un sujet hétérozygote composite S/variant α	66
Tableau 23 : Profil hémoglobinique d'un sujet hétérozygote composite S/variant α	67
Tableau 24 : Hémogramme des sujets atteints d'Hb Sétif.....	68
Tableau 25 : Profil hémoglobinique des sujets atteints d'Hb Sétif.....	68
Tableau 26 : L'hémogramme d'un sujet atteint d'Hb instable.....	69

Tableau 27 : Profil hémoglobinique d'un sujet atteint d'Hb instable.....	69
Tableau 28 : L'hémogramme de la patiente X.....	73
Tableau 29 : Les résultats de l'électrophorèse capillaire et l'HPLC de la patiente X.....	74
Tableau 30 : L'hémogramme du patient.....	77
Tableau 31 : Les résultats de l'électrophorèse capillaire et l'HPLC du patient.....	77

Introduction générale

Les hémoglobinopathies, maladies héréditaires de l'hémoglobine, sont devenues au cours de ces dernières années un important problème de santé publique dans le monde. Ces anomalies de l'Hb sont dues principalement à des mutations survenant soit au niveau des gènes α ou β , on reconnaît deux grandes catégories : Les anomalies quantitatives de l'hémoglobine qui résultent d'une synthèse diminuée des chaînes de globine, et définissent ainsi les syndromes thalassémiques, les anomalies qualitatives conduisant à la production d'une hémoglobine de structure anormale [1].

Actuellement, environ 1200 variants affectant les gènes de globine sont répertoriés, certains occupent une place prépondérante de part leur fréquence et leur caractère pathogène et d'autres sont rares. Dans la population d'origine africaine, les mutants les plus fréquents sont l'Hb S et l'Hb C et accessoirement les Hb D-Punjab et O-Arab alors que dans les populations du Sud-est asiatique c'est essentiellement l'Hb E. Les hémoglobines anormales rares se répartissent en deux groupes : le premier, ne donne lieu à aucune pathologie aussi bien dans les formes hétérozygotes qu'homozygotes. Le second, au contraire, conduit à des phénotypes cliniques dominants dans lesquels les porteurs hétérozygotes manifestent des désordres hématologiques. En raison des flux migratoires la distribution globale de ces anomalies génétiques a été considérablement modifiée [2].

Malgré la très grande diversité des anomalies en cause sur le plan moléculaire, le diagnostic est généralement porté sur le seul phénotype. L'utilisation d'une combinaison de techniques fiables et suffisamment précises permet d'en faire le diagnostic dans la grande majorité des cas. L'interprétation des résultats nécessite de connaître le contexte clinique et transfusionnel éventuel, le contexte biologique (hémogramme, bilan martial, bilan d'hémolyse) ainsi que le contexte ethnique et familial du patient [3].

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées aux patients reçus au niveau du laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou dans le cadre d'une exploration d'une anémie hémolytique congénitale, vue sa fréquence et dans le but d'établir un diagnostic et d'instaurer une prise en charge appropriée permettant une amélioration considérable de la qualité de vie des patients ainsi de programmer un conseil génétique pour les populations à risque afin d'éviter les formes majeures dont les complications sont graves et la prise en charge est lourde.

Objectifs

Objectif général

- Déterminer les paramètres biologiques des patients présentant des variants de l'hémoglobine diagnostiqués au service d'hémo-biologie CHU de Tizi-Ouzou.

Objectifs spécifiques

- Répartition des patients selon les différents profils hématologiques ;
- Estimer les proportions des différents phénotypes hémoglobiniques ;
- Etudier les caractéristiques socio-épidémiologiques des patients ayant une hémoglobine anormale.

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I :

L'hémoglobine

1. Définition

En 1862, le physiologiste allemand Hoppe-Seyler a donné le terme « hémoglobine » pour désigner le pigment respiratoire transportant l'oxygène, contenu dans les globules rouges [4].

Les hémoglobines constituent une famille très ancienne de molécules, il y a quelque 400 millions d'années, la duplication d'un gène ancestral codant pour une hémoprotéine transporteuse d'oxygène a donné naissance à deux molécules : d'une part la myoglobine destinée au stockage d'oxygène dans les organes à proximité de son lieu de consommation, et d'autre part l'hémoglobine spécialisée dans le transport d'oxygène de la périphérie vers les tissus, leur caractère commun affirmant leur appartenance à la superfamille des globines, est une structure tridimensionnelle constituée par six à huit hélices enroulées autour de l'hème selon un même repliement caractéristique [4, 5].

2. Structure

L'hémoglobine humaine est une protéine tétramérique (Figure 01) constituée de deux parties :

- Une partie protéique : Chaînes de globine, au nombre de quatre et identiques deux à deux : deux chaînes de type α et deux chaînes de type non α (bêta pour l'hémoglobine adulte A, gamma pour l'hémoglobine fœtale et delta pour l'hémoglobine A2), unies par des liaisons non covalentes [6, 7].
- Une partie non protéique : l'hème qui est identique dans toutes les hémoglobines [6].

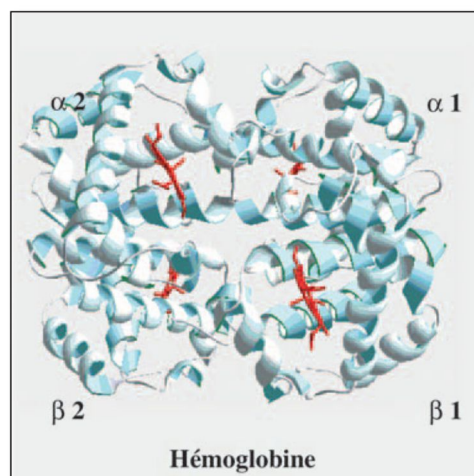


Figure 01: Représentation tridimensionnelle d'un tétramère d'hémoglobine [4].

L'hémoglobine présente une structure primaire définie par la séquence en acides aminés des chaînes de globine, une structure secondaire (alternance d'hélices alpha et non-alpha), une structure tertiaire définie par l'arrangement tridimensionnel du monomère de globine délimitant une poche à hème et une structure quaternaire définie par les interactions entre les monomères au sein du tétramère [8].

2.1. La globine

Dans les sous-unités d'Hb, on distingue de l'extrémité N-terminale vers la C-terminale :

- Huit segments hélicoïdaux, désignés par une lettre de A à H,
- Des zones inter hélicoïdales portant le nom des deux hélices qui leur sont adjacentes.

À l'intérieur de chacun de ces segments, les résidus sont numérotés d'après leur position (Figure 02).

Les huit hélices repliées sur elles-mêmes, réalisent une structure globulaire compacte avec, près de la surface, une poche hydrophobe où est enfouie la molécule d'hème.

La surface externe de la sous-unité est tapissée par les chaînes latérales de résidus hydrophiles, les régions internes sont au contraire occupées par des résidus hydrophobes, qui en échangeant entre eux un très grand nombre de liaisons de faible énergie stabilisent l'édifice moléculaire [4].

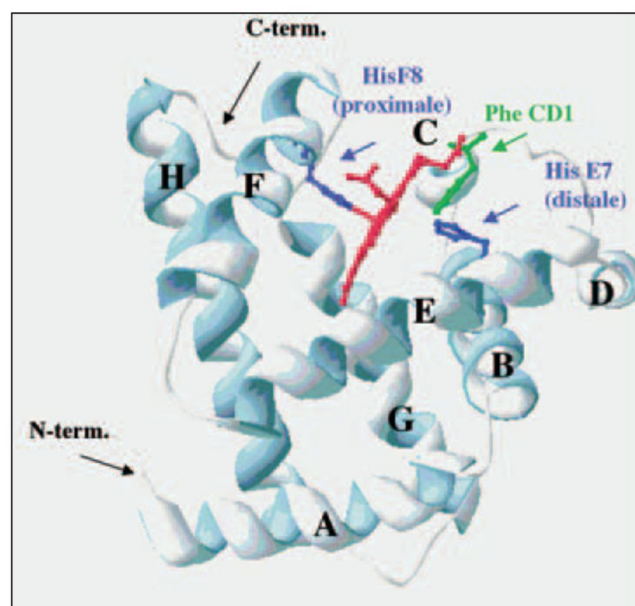


Figure 02 : Représentation des hélices de la chaîne de globine [4].

2.2. L'hème

L'hème est l'association d'un noyau porphyrinique (protoporphyrine) et d'un atome de fer divalent, c'est le site de fixation de l'oxygène (Figure 03). En effet, dans la forme oxygénée de l'hémoglobine, le fer à l'état Fe^{2+} présente six liaisons de coordination : quatre interviennent dans la structure de l'hème, la cinquième amarre l'hème à la globine et la sixième fixe la molécule d'oxygène. Cette 6^e liaison disparaît dans la structure désoxygénée où le degré de coordination du fer est de 5 [5, 9].

La forme oxydée (Fe^{+++}) est, quant à elle, impropre au transport de l'oxygène car la sixième position de coordination de l'ion ferrique est occupée de façon stable par une molécule d'eau à pH acide, ou par un radical hydroxyle à pH plus alcalin caractérisant la méthémoglobine dont le taux doit être maintenu < à 1 % par le cytochrome b₅ réductase (méthémoglobine réductase) [5, 9].

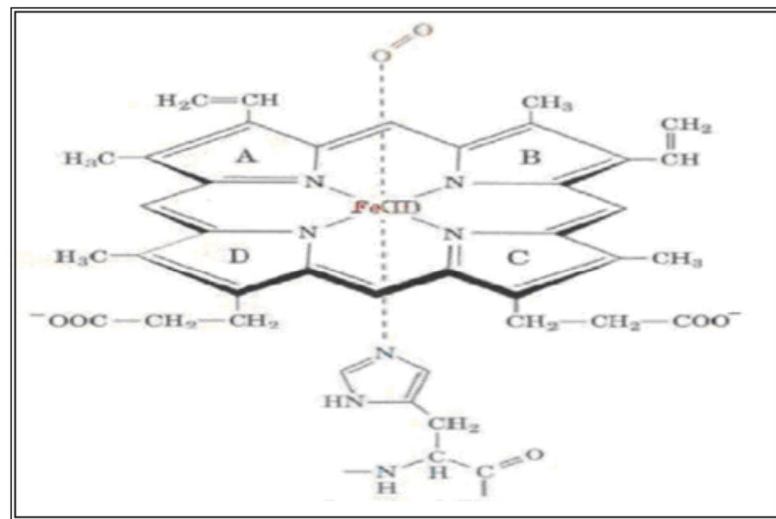


Figure03 : Structure de l'hème [10].

2.3. Tétramère hémoglobinique

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 chaînes latérales de résidus appartenant aux sous-unités non homologues. À l'inverse, il n'existe qu'un très petit nombre de contacts entre sous-unités identiques.

Dans le tétramère d'hémoglobine humaine adulte (Hb A), trois zones de contact sont à distinguer :

- **Les contacts $\alpha^1\beta^1$ (ou $\alpha^2\beta^2$)** de faible énergie mais en grand nombre, sont solides et rigides, grâce à une trentaine d'acides aminés polaires. Ils ne changent pas lors de la fixation de l'oxygène [1].
- **Les contacts $\alpha_1\beta_2$ ou ($\alpha_2\beta_1$)** : qui s'étendent entre les sous-unités non homologues de deux dimères différents, sont moins nombreux, solides mais souples, présentent un intérêt dans le fonctionnement, c'est à ce niveau que s'effectue des mouvements de rotation et de glissement accompagnant la transconformation de la structure oxygénée vers la structure désoxygénée. Dix-neuf résidus sont impliqués, ils font intervenir des liaisons hydrophobes ou des ponts hydrogènes [1, 5].
- **Les contacts entre chaînes homologues** : sont peu nombreux et pour l'essentiel résumés à des ponts salins faisant intervenir les résidus C-terminaux [5].

Le contact entre les chaînes β , au niveau de la cavité centrale, est établi par l'intermédiaire de 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) et stabilise la configuration désoxygénée. Le 2,3-DPG est expulsé lors de la transition de cet état [6].

3. Evolution ontogénique des hémoglobines humaines

Plusieurs hémoglobines se succèdent au cours de la vie et, à tout moment, il en existe plusieurs simultanément, se distinguent par la nature des sous-unités qui les constituent.

Au cours de l'évolution ontogénique, le profil des hémoglobines change deux fois. La première de ces commutations « Switch » coïncide avec le passage de la vie embryonnaire à la vie fœtale, la seconde avec celui de la vie fœtale à la vie adulte [4].

La proportion relative des diverses Hb évolue 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 04) [3].

Durant la vie embryonnaire, deux chaînes de type α coexistent : ζ qui apparaît la première puis α et deux de type β : ϵ et les chaînes γ . Ces diverses sous unités permettent de réaliser les trois hémoglobines de l'embryon :

- l'Hb Gower 1 ($\zeta 2 \epsilon 2$) ;
- l'Hb Gower 2 ($\alpha 2 \epsilon 2$) ;
- l'Hb Portland ($\zeta 2 \gamma 2$).

L'hémoglobine fœtale (Hb F) de structure ($\alpha 2 \gamma 2$) est détectable à partir de la 5^e semaine de la vie intra-utérine. Sa synthèse débute dès les stades précoces de la gestation et s'élève entre les 8^e et 10^e semaines, à un taux de 90 %, qui restera à peu près constant jusqu'à la naissance. Durant la vie fœtale l'Hb A ($\alpha 2 \beta 2$), est également synthétisée, mais un taux très faible (5 à 10%).

Peu avant la naissance, entre la 32^e et la 36^e semaine de gestation, l'Hb F commence à décliner au profit de l'Hb A. À la naissance, le pourcentage d'Hb A est de 15 à 30 % [3, 4].

Le Switch $\gamma \rightarrow \beta$ est effectué à 90 % à 6 mois, et à 95 % à 1 an. Il est terminé vers 5-6ans. L'Hb A représente donc plus de 95 % de la totalité des Hb, l'Hb F ne subsiste plus qu'à l'état de traces < 1 % [3].

Il existe un constituant mineur, l'HbA2 ($\alpha 2 \delta 2$), dont la synthèse débute pendant la période néonatale et qui est exprimée à un taux d'environ 2,5 % [3].

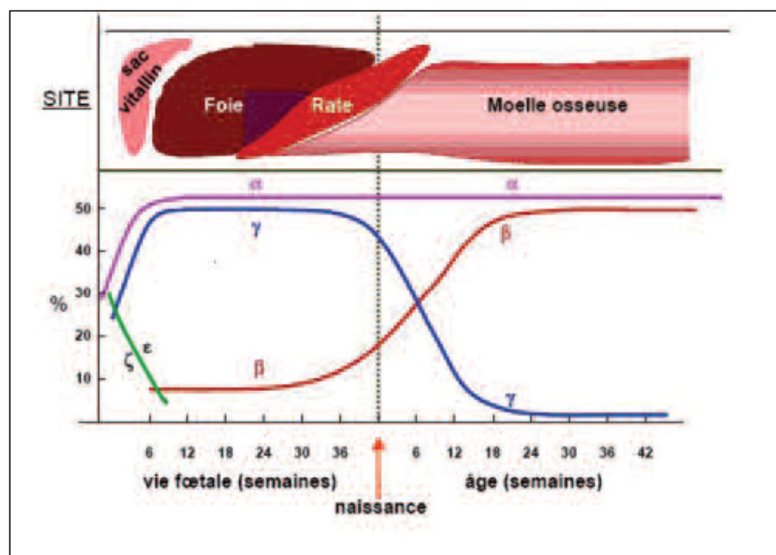


Figure 04 : Expression des différentes hémoglobines au cours du développement [8].

✓ **Valeurs de références**

Chez l'adulte, l'Hb normale majoritaire est l'Hb A, les valeurs normales des fractions hémoglobiniques mineures HbA2 et Hb F, mesurées avec précision par Chromatographie liquide haute performance(HPLC), varient en fonction de l'âge :

Tableau 01 : Les valeurs normales de l'Hb A2 et l'Hb F [11].

Age	HbA2	Hb F
Nouveau-né	<1%	>70%
15 jours	0,5-1%	60-70%
1 mois	0,8-2,4%	20-40%
6 mois	2,4-3,0%	5-10%
1 an	2,8-3,3%	<3,0%
Adulte	<3,3%	<1,0%

4. Les gènes de globine

4.1. Organisation des gènes de globines en famille

Les gènes fonctionnels codant les différentes chaînes protéiques de la globine sont regroupés en famille α et β [12].

4.1.1. La famille des gènes des α -globines

Les gènes α sont localisés sur la partie distale du bras court du chromosome 16. Comportant 3 gènes fonctionnels :

- Gène ζ embryonnaire, le plus télomérique ;
- Gènes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ (Figure 05) [12].

4.1.2. La famille des gènes des β -globines

Les gènes β sont localisés à l'extrémité distale du bras court du chromosome 11.

Cette famille comporte :

- Le gène ϵ embryonnaire ;
- Les gènes γ -Gly et γ -Ala fœtaux ;
- Les gènes δ et β adultes (Figure 05) [13, 14].

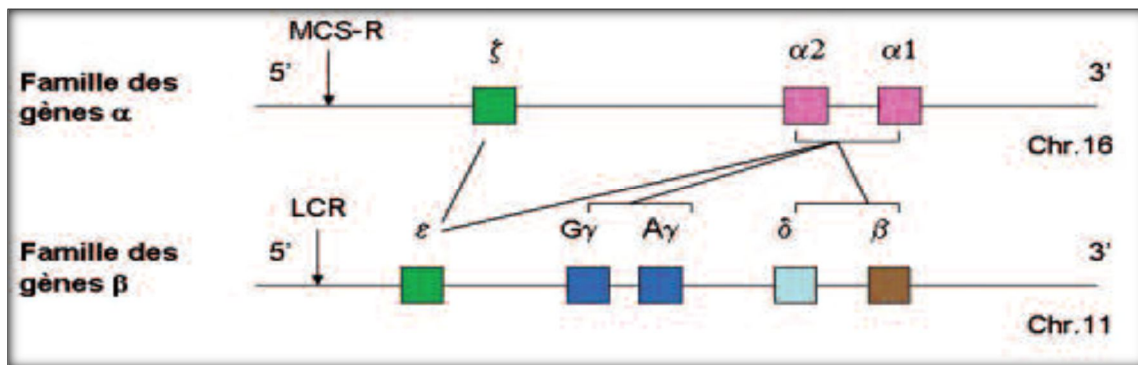


Figure 05 : Structure et organisation des deux familles de gènes-globines [8].

5. Synthèse de l'hémoglobine

La biosynthèse de l'hémoglobine est réalisée chez l'adulte dans les érythroblastes de la moelle osseuse et dans les réticulocytes circulants [1].

5.1. Synthèse de la globine

Comme toute protéine, la globine est synthétisée par :

- Transcription ;
- Activation des acides aminés ;
- Traduction [1].

5.2. Synthèse de l'hème

Elle se fait dans les mitochondries des érythroblastes où tous les enzymes nécessaires sont réunies. A partir de la Gly et de l'acide succinique, une série de précurseurs intermédiaires sont synthétisés ; les porphyrines. L'importation du fer dans la protoporphyrine III réalise l'hème [13].

6. Fonction de l'hémoglobine

L'hémoglobine est le pigment respiratoire des globules rouges, assurant plusieurs fonctions :

La fonction principale est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus. Chaque molécule d'hémoglobine fixe 4 molécules d'oxygène sur le fer et constitue l'oxyhémoglobine [1, 13].

La saturation en O₂ en fonction de la pression partielle d'O₂ se fait selon une courbe sigmoïde très particulière qui assure un maximum d'efficacité tant pour la fixation dans les

poumons que pour la libération dans les tissus (Figure 06) [13]. On la caractérise souvent par la mesure de la P50 érythrocytaire, qui est la pression partielle de l'oxygène pour 50 % de saturation du sang. D'un point de vue moléculaire ce type de courbe est dû au caractère allostérique de l'hémoglobine et de la coopérativité des globines dans la cinétique de fixation de l'O₂ (la fixation d'une molécule d'O₂ stimule la fixation de molécules additionnelles).

Selon le modèle allostérique de Monod, Wyman et Changeux, l'hémoglobine existe sous deux formes en équilibre : l'une relâchée ou forme R à forte affinité pour l'O₂ et l'autre contrainte ou forme T à affinité plus faible. La fixation d'oxygène sur une des sous-unités de la molécule entraîne la transition concertée des autres sous-unités du tétramère vers la forme R [7].

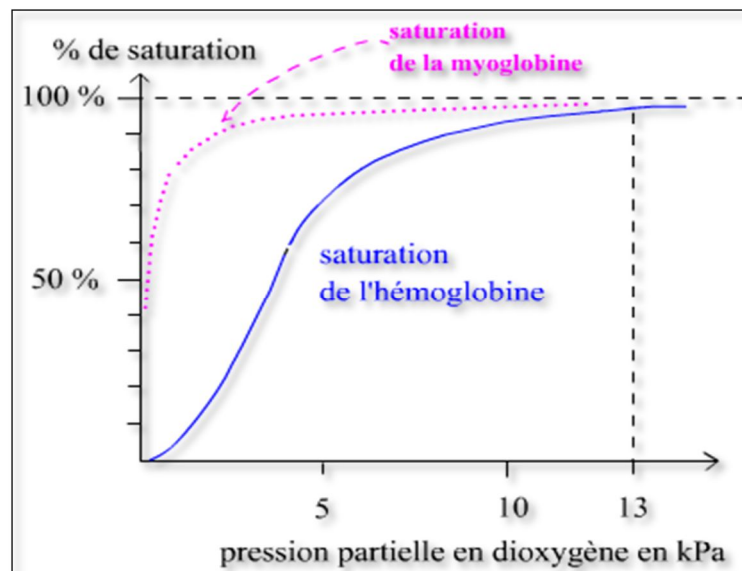


Figure06 : Courbe de saturation en O₂ de l'hémoglobine [15].

Plusieurs facteurs influencent l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène ; la baisse du pH, l'augmentation de la température ou l'augmentation du 2,3DPG, auront pour effet une baisse de cette affinité [1].

Une autre fonction est le transport du gaz carbonique CO₂, des tissus vers les poumons. L'Hb fixe le gaz carbonique sur les groupements aminés latéraux de la globine, pour constituer la carbhémoglobine ou carbaminohémoglobine [13].

CHAPITRE II :
Les hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont des maladies génétiques de l'Hb qui touchent la partie protéique (résultant d'anomalies sur les chaînes de la globine).

Ces hémoglobinopathies se subdivisent en deux groupes :

- **Anomalie de synthèse (quantitative)** : défaut de synthèse partiel ou totale des chaînes α et/ou β qui s'exprime dans le cadre d'un groupe très hétérogène des thalassémies.
- **Anomalie de structure (qualitative)** : synthèse de variants de l'hémoglobine ; présence d'hémoglobine anormale entraînant ou non des signes fonctionnels [1, 3].

1. Anomalies de synthèse de chaîne de globine : Syndromes thalassémiques

Les thalassémies sont des désordres héréditaires de transmission autosomique récessive qui se caractérisent par un défaut de synthèse partiel ou total d'une ou plusieurs chaînes de l'Hb. Des conséquences au niveau de l'érythropoïèse et de l'hémolyse s'observent dans toutes les thalassémies ; elles sont cependant variables selon qu'il s'agit de α ou β -thalassémies [14].

Les syndromes thalassémiques sont classés en : α -thal, β -thal, δ et γ -thal et les $\delta\beta$ -thal. Selon que le défaut de synthèse soit partiel ou total, on distingue :

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

Les troubles cliniques et hématologiques observés lors des thalassémies varient selon l'importance du déficit et permettent de les classer en formes : mineures (trait thalassémique), intermédiaire, et forme majeure [1,3].

1.1. Les β -thalassémies

Les β -thal correspondent à un déficit de synthèse de la chaîne β de l'Hb, observées dans toutes les ethnies, mais sont particulièrement fréquentes dans le pourtour du bassin méditerranéen, au Moyen-Orient et en Extrême-Orient.

On distingue :

- La β -thal hétérozygote (trait thalassémique) ;
- La β -thal intermédiaire ;
- La β -thal homozygote : thalassémie majeure ; Maladie de Cooley [16, 17].

1.2. Les α -thalassémies

Elles sont dues à une anomalie quantitative de la synthèse des chaînes α , conséquence de la délétion d'un ou plusieurs gènes α qui aboutit à plusieurs phénotypes, on distingue :

- la forme silencieuse : un gène atteint ;
- la forme mineure : 2 gènes atteints ;
- L'hémoglobine H : α -thalassémie majeure, 3 gènes atteints, Les chaînes non- α en excès s'apparient, sous forme d'Hb Bart's à la naissance et de tétramères β_4 (hémoglobine H) au fur et à mesure que les chaînes β_4 se substituent aux chaînes γ .
- la forme létale avec anasarque fœtale : 4 gènes atteints [18].

Elles sont très fréquentes dans le Sud et l'Est de l'Asie, l'Afrique Noire et dans le Bassin Méditerranéen [3].

2. Anomalies de structure des chaînes de globine : les variants qualitatifs

Les Hb anormales sont dues à une mutation généralement ponctuelle dans l'un des gènes codant une chaîne spécifique, caractérisée le plus souvent par la substitution d'un acide aminé d'une chaîne de la globine par un autre, se traduisant par la synthèse d'une protéine de structure altérée.

Il existe plusieurs variétés de l'Hb (environ mille deux cent variants ont été répertoriés). On les classe en variants fréquents ou relativement fréquents (Hb S, Hb C, Hb E...) et en variants moins fréquents ou moins rares allant de la simple curiosité génétique jusqu'à des tableaux cliniques sévères (Hb instables, Hb à affinité modifiée, Hb M...) [2, 7].

2.1. Les hémoglobines anormales les plus fréquentes

2.1.1. Hémoglobine S

✓ Définition

La drépanocytose également appelée anémie falciforme, est une anémie hémolytique corpusculaire constitutionnelle. Il s'agit d'un mutant de la chaîne β globine qui, en milieu

désoxygéné, a la propriété de se polymériser et de provoquer la déformation caractéristique du globule rouge en faucille : le drépanocyte. Cette hémoglobine porte le nom d'hémoglobine S (Hb S), du terme anglais *sickle* (faucille) [19,20].

Elle est très répandue dans le monde, particulièrement en Afrique subsaharienne, Inde, Arabie saoudite et les pays méditerranéens, en Amérique et dans les Antilles. Cette répartition reflète le fait que le trait drépanocytaire confère un avantage en termes de survie face au paludisme [19].

✓ **Transmission**

Elle est transmise selon le mode mendélien autosomique récessif. Il existe d'autres anomalies génétiques fréquentes de l'hémoglobine pouvant s'associer à la drépanocytose : l'Hb C, la β -thal, O-Arab, D-Punjab et plus rarement l'Hb E et Hb Lepore, transmises aussi sur le mode autosomique récessif. Lorsqu'un sujet drépanocytaire hétérozygote contracte une union avec un hétérozygote AC ou un β -thal hétérozygote, ils peuvent donner naissance à des enfants doubles hétérozygotes (hétérozygotes composites), S/C ou S/ β -thal conduisant à un syndrome drépanocytaire symptomatique [8, 19, 20].

✓ **Physiopathologie et bases moléculaires**

La drépanocytose est une mutation ponctuelle faux-sens sur le gène β de l'Hb qui consiste à l'inversion d'une paire de base (A=T→T=A), qui modifie le codon correspondant au sixième 6^{ème} codon de la chaîne β ([GAA] devient [GTA]), entraînant la substitution d'un acide glutamique hydrophile par la valine hydrophobe rendant sa surface plus hydrophobe. Une série de modifications structurales qui rend en compte la diminution de la solubilité et de la polymérisation de sa forme désoxygénée suite à la synthèse d'une Hb S au lieu d'une Hb A normale [20-22].

En effet, il va se créer au cours de la désoxygénation des liaisons hydrophobes entre la Valine 6 et les deux sites hydrophobes constitués par la phénylalanine en position 85 et la leucine en position 88. Des baguettes moléculaires apparaissent alors dans le cytoplasme du globule rouge, qui le déforme et lui confère l'aspect en faucille caractéristique (Figure 07) [22].

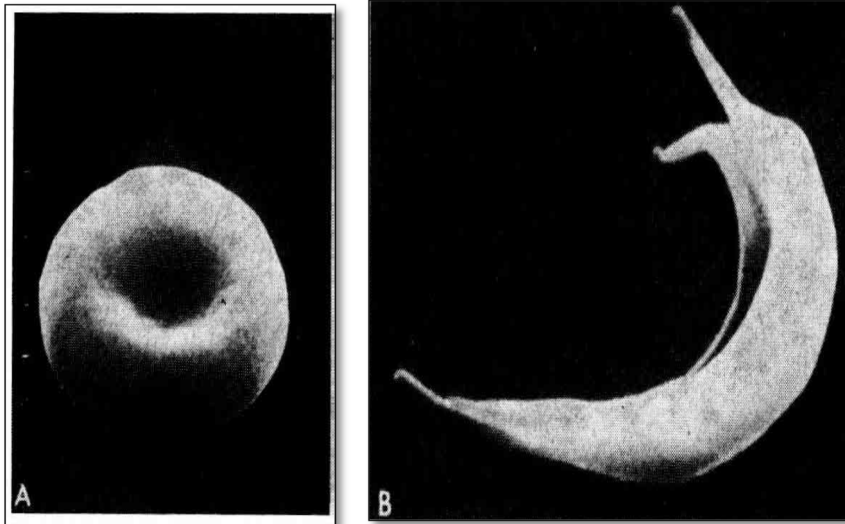


Figure 07 : Scanning d'un globule rouge d'un sujet drépanocytaire [23].

A : en présence d'oxygène B : en l'absence d'oxygène

Tout facteur favorisant la désoxygénation, soit la baisse de la pO_2 , la baisse du pH, l'augmentation de la CCMH, de la température ou du 2,3-DPG, aggrave ce phénomène de falciformation [9]. Cette dernière est réversible pendant plusieurs cycles, avant de devenir irréversible (perte de plasticité des hématies) à l'origine d'hémolyse chronique et accidents vaso-occlusifs qui diminuent l'apport en oxygène dans les organes en cause accompagnée d'une hypoxie et d'une acidose, ce qui accentue encore le trouble initial c'est-à-dire la polymérisation : c'est un cycle vicieux qui s'auto-entretient [6, 19, 21, 24].

L'Hb F joue aussi un rôle biologique important à considérer car cette molécule ne copolymérise pas avec l'Hb S, en effet elle s'intercale entre les molécules d'Hb S et gêne l'établissement des liaisons hydrogènes ; les patients ayant des concentrations élevées d'Hb F sont effectivement habituellement moins symptomatiques [19, 22].

❖ Conséquences de la polymérisation

La formation de polymères d'Hb S a plusieurs conséquences :

1) Diminution de la déformabilité des hématies

La polymérisation des molécules d'Hb S à l'état désoxygéné provoque la formation intracellulaire de longues fibres allongées entraînant la modification de la forme du GR qui acquiert un aspect de drépanocyte. Les cellules falciformes sont hétérogènes, tant en ce qui

concerne leur aspect morphologique que leur densité.

Les principales anomalies rhéologiques caractérisant la drépanocytose sont une augmentation constante de la viscosité du sang et une diminution de la déformabilité cellulaire [19, 22].

2) Déshydratation cellulaire

Elle est la conséquence d'une dysrégulation de deux canaux ioniques aboutissant à une perte d'eau (lorsque la teneur en eau diminue, la concentration en Hb augmente) et de potassium.

Le premier concerne le cotransport K /Cl, le second est le canal Gardos, canal potassique activé par le Ca^{++} ; La falciformation augmente temporairement la concentration intracellulaire de calcium, avec en conséquence une perte de potassium qui s'accompagne d'un transfert d'eau du milieu intra vers le milieu extracellulaire, donc d'une déshydratation intracellulaire [14, 19, 22].

3) Sénescence

Il y'a une dénaturation de l'Hb où les phénomènes d'oxydation sont importants, conduisant à la formation de méthémoglobine puis d'hémichromes qui forment des complexes avec les protéines membranaires, en particulier la bande 3 et participent aux mécanismes responsables de l'hémolyse. Ce processus s'accompagne de la perte d'hème et de la libération de Fe^{3+} , qui favorise l'existence d'un microenvironnement oxydant (oxydation et dépôt d'autres hémichromes)[25].

4) Altération de la membrane érythrocytaire : Hémolyse

L'instabilité de l'hémoglobine S et les cycles de falciformation répétés augmentent la fragilité mécanique des GR notamment dans le flux circulatoire (hémolyse **intravasculaire**).

Les drépanocytes devenus rigides et recouverts d'immunoglobulines type Ig G et de compléments à la suite de lésions oxydatives, sont éliminés par le système réticulo-endothélial (hémolyse **extravasculaire**).

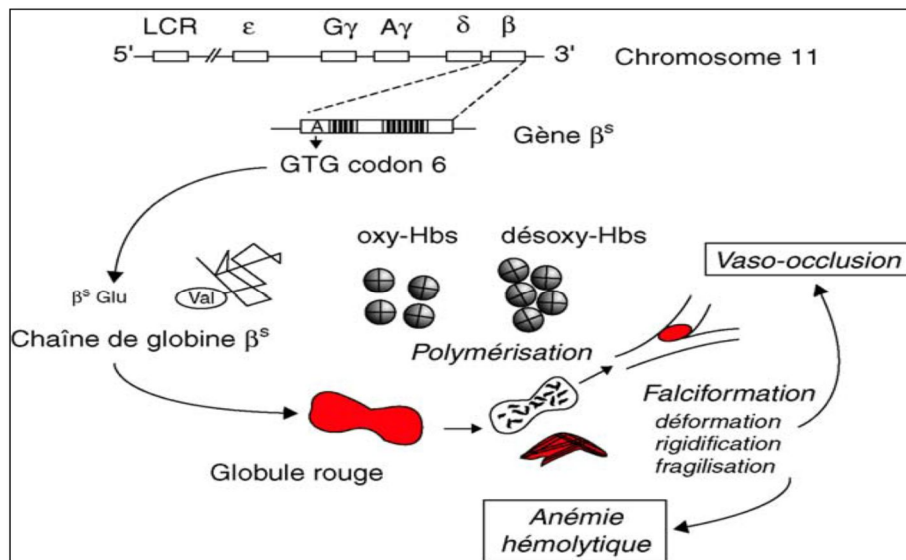


Figure 08 : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose [14].

Les caractéristiques du globule rouge drépanocytaire décrites ci-dessus rendent compte de l'hyperviscosité du sang drépanocytaire à laquelle s'ajoutent deux phénomènes qui concourent au ralentissement du flux sanguin dans la microcirculation, les phénomènes d'adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium vasculaire et les anomalies du tonus vasculaire favorisant la vasoconstriction.

- **Anomalies du tonus vasculaire**

Les anomalies du tonus vasculaire sont de description plus récente. Elles se fondent sur les propriétés vasoconstrictrices de l'endothéline-1 (ET-1) et sur l'inhibition des propriétés vasodilatatrices du monoxyde d'azote (NO) produit par la NO-synthase endothéliale. Il existe, à l'état normal, un équilibre entre la captation et la production de NO. Cet équilibre est détruit dans la drépanocytose par l'effet de l'hémolyse intra vasculaire et la capture du NO par l'hémoglobine libérée par la destruction des globules rouges. De plus, l'ET-1 se trouve à un taux élevé chez le patient drépanocytaire. Il en résulte comme effet global une vasoconstriction de la micro vascularisation à l'origine d'un défaut de perfusion des tissus [19].

- **L'adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium**

Les GR drépanocytaires adhèrent anormalement à l'endothélium vasculaire favorisant ainsi l'occlusion vasculaire. Les réticulocytes drépanocytaires dits «< réticulocytes de stress >> ont la propriété de conserver certains caractéristiques des érythroblastes notamment l'expression de molécules d'adhésion membranaires (VLA-4 et CD36, pourraient initier ce phénomène qui serait amplifié par des drépanocytes peu déformables) [20].

- ✓ **Traitement**

Les traitements utilisés dans la drépanocytose ont pour la plupart une action symptomatique.

- ❖ **la transfusion**

La transfusion sanguine est rarement proposée dans le but de remonter l'hémoglobine, l'anémie des patients drépanocytaires étant chronique et le plus souvent bien tolérée. De même, la crise vaso-occlusive osseuse non compliquée ne représente pas une indication à la transfusion. L'intérêt de la transfusion dans la drépanocytose est de diminuer rapidement la proportion des globules rouges contenant de l'hémoglobine S, et donc d'enrayer la cascade physiopathologique délétère [26].

- ❖ **L'hydroxyurée**

C'est le seul traitement de fond de la drépanocytose par voie orale. Il est susceptible d'augmenter le pourcentage d'Hb F au sein de l'hématie drépanocytaire [26].

- ❖ **Echange transfusionnel :**

Il s'agit d'un acte transfusionnel associant une saignée et une transfusion dont le but est de :

- Remplacer les hématies drépanocytaires par des hématies contenant de l'Hb A ;
- Corriger une anémie mal tolérée.

Il existe deux techniques possibles :

- Echange manuel qui associe une saignée et une transfusion ;
- Echange par érythraphérèse à l'aide d'un séparateur de cellules [27].

2.1.2. Hémoglobine C

✓ Définition

L'Hb C est l'un des variants les plus courants de l'Hb structurelle de transmission autosomique récessive, cette Hb a une solubilité diminuée et ainsi une tendance d'agrégation augmentée (précipite dans les G.R sous forme de cristaux) [28-29].

Elle est trouvée sur la cote Ouest de l'Afrique, au sud et centre d'Amérique et l'Europe du sud [30].

✓ Physiopathologie et bases moléculaires

L'hémoglobinopathie C [$\beta 6(\text{Glu} \rightarrow \text{Lys})$] est la conséquence d'une mutation unique ponctuelle GAG \rightarrow AAG dans le 6^{ème} codon du gène β globine dont résulte une substitution de l'acide glutamique de la chaîne β par une lysine (Glu \rightarrow Lys) [28, 29].

L'Hb C est moins soluble que l'Hb A dans les GR. Sa solubilité relative peut être expliquée par des interactions électrostatiques entre les groupes de $\beta 6\text{-Lys}$ chargés positivement et des groupes chargés négativement sur des molécules adjacentes.

Contrairement à la drépanocytose, l'Hb C ne provoque pas de polymérisation. En revanche, on a mis en évidence la formation de cristaux intra érythrocytaires responsables de l'augmentation de la viscosité sanguine, l'augmentation de la densité du GR, de sa déshydratation et sa liaison à la membrane (Figure 09) [30, 31].

L'ensemble de ces phénomènes entraîne une anémie modérée chez les sujets homozygotes [14].

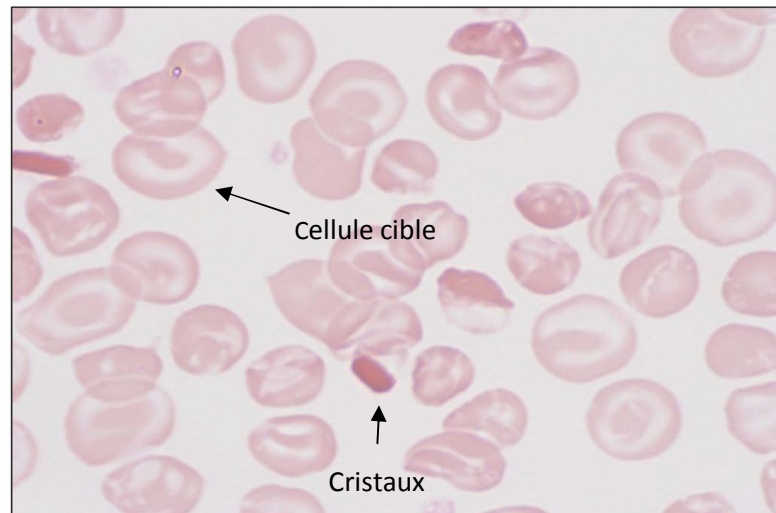


Figure 09 : Aspect des hématies très en faveur d'une hémoglobinose C (Frottis sanguin) [32].

2.1.3. Hémoglobine E

✓ Définition

L'hémoglobine E est un mutant de la chaîne β présentant à la fois une anomalie de structure et un défaut de synthèse, c'est un exemple d'hémoglobine thalassémique [2]. Elle est localisée dans le Sud-est asiatique [3].

✓ Physiopathologie et bases moléculaires

La mutation [$\beta 26$ (Glu \rightarrow Lys)] se situe dans le codon 26, une partie de l'acide ribonucléique messenger (ARNm) est traduit en une protéine de taille normale avec une lysine à la place d'un acide glutamique. En parallèle, un tiers de l'ARNm est incorrectement épissé, ce qui conduit rapidement à un codon de terminaison prématuré et à l'avortement de la synthèse protéique [2].

Tableau 02 : Les principaux variants et leurs caractéristiques clinico-biologiques.

Statut génétique	Expression clinique	Diagnostic biologique							
		Hémogramme	Frottis	Etude de l'Hb					
				Hb A%	Hb F%	HbA ₂ %	Hb S %	Hb C%	Hb E%
S hétérozygote A/S	Asymptomatique	Normal	Normal	60-65	<1	V	35-40	-	-
S homozygote S/S	Syndrome drépanocytaire majeur : Anémie hémolytique chronique, crises vaso-occlusives, susceptibilité aux infections	Hb:6-10 g/dl VGM (fl) : N	Drépanocytes	0	5-20	V	80-95	-	-
Hétérozygotie composite S/C		Hb : 10-12 g/dl VGM ↓	cellules cibles++ Drépanocytes +	0	5-15	V	50	45	-
Hétérozygotie composite S-β thal		Hb : 7-12 g/dL VGM : 60-95 fL		0-25	1-7	V	55-90	-	-
C Hétérozygote A/C	Asymptomatique	Normal	Normal	60-65	<1	<3%	-	35-40	-
C homozygote C/C	Anémie hémolytique chronique modérée	Hb>8g/dl CCMH ↑ VGM ↓	Cellules cibles++ Cristaux Microspherocyte	0	< 3%	<3%	-	>90%	-
C/α thal	microcytose sans carence en fer associée	/	Microcytes	60-75	< 1%	<3%	-	25-35	-
Hétérozygotie A / E	Asymptomatique	N(ou discrète microcytose)	Normal	70-75	<1	-	-	-	25-30
Homozygotie E / E	d'anémie hémolytique modérée bien supportée	Hb : 10-13 g/dl VGM : 65-75fl	Cellules cibles	0	<15	-	-	-	>85
Hétérozygotie composite E-β thal	Thalassémie intermédiaire	Hb : 7-10 g/dl	Cellules cibles Microsphérocytes	0-10	30-60	-	-	-	40-60

[3, 6].

2.2. Les hémoglobines anormales rares

2.2.1. Les Hémoglobines instables

✓ Définition

Le 1er cas d'anémie hémolytique due à une hémoglobine instable dont la structure fut identifiée est l'hémoglobine Köln, la transmission est autosomique dominante [7, 33].

À l'heure actuelle, plus de 100 mutants instables cliniquement significatifs ont été décrits. Certaines détruites précocement dans l'érythrocyte, correspondent à des thalassémies [6, 7].

✓ Physiopathologie et bases moléculaires

Il existe de très nombreuses anomalies moléculaires différentes entraînant une modification de la structure primaire de la globine et provoquent une instabilité de la globine ou du tétramère. Plusieurs mécanismes sont à l'origine :

- une fragilisation des interactions hème-globine ;
- mutations interférant avec la structure secondaire, tertiaire ou quaternaire de l'hémoglobine ;
- Formation d'hémichromes qui sont des dérivés de la méthémoglobine instable qui se précipitent sous forme de corps de Heinz intra érythrocytaires. Les globules rouges ainsi modifiés perdent leur élasticité et sont sélectivement détruits dans la rate, entraînant une hémolyse d'intensité variable ;
- Conséquence sur la fonction oxyphorique : en cas de mutation se situant près de la poche de l'hème, une altération de la fonction oxyphorique peut s'ajouter à l'instabilité : c'est ainsi que l'affinité de la chaîne mutée pour l'oxygène peut être augmentée (Hb Köln [β 98 (Val \rightarrow Met)]) ou diminuée (Hb Hammersmith) [7].

2.2.2. Les hémoglobines anormales à fonction oxyphorique altérée

Des mutations dans certains résidus modifient l'affinité de la molécule de l'hémoglobine pour l'oxygène. On obtient ainsi une courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine qui dévie vers la droite ou vers la gauche, selon que l'affinité pour l'oxygène est diminuée ou au contraire augmentée. Dans les deux cas, le diagnostic est fait par l'étude de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine et la mesure de la P50 [34].

2.2.2.1. Les hémoglobines anormales à haute affinité (Hémoglobines hyper affines)

Plus de deux cent Hb anormales hyper affines pour l'oxygène ont été décrites dont le premier exemple a été rapporté en 1966 par Characke ; Hb Chesapeake ($\alpha 92 \text{ Arg} \rightarrow \text{Leu}$) [35].

Quelques variants sont décrits dans un tableau ci-dessous.

Tableau 03 : Exemple des hémoglobines anormales à haute affinité pour l'O₂

Nom du variant	La substitution incriminée	Site dans la molécule affectée	P 50 * (mm Hg)
Hb Chesapeake	$\alpha 92 (\text{Arg} \rightarrow \text{Leu})$	$\alpha 1\beta 2$ contact	19.0
Hb J Capetown	$\alpha 92 (\text{Arg} \rightarrow \text{Gln})$	$\alpha 1\beta 2$ contact	↓
Hb Yakima	$\beta 99 (\text{Asp} \rightarrow \text{His})$	$\alpha 1\beta 2$ contact	12.0
Hb San Diego	$\beta 109 (\text{Val} \rightarrow \text{Met})$	$\alpha 1\beta 1$ contact	16.4
Hb Rahere	$\beta 82 (\text{Lys} \rightarrow \text{Thr})$	Le 2,3 DPG contact (↓ de l'affinité pour)	22.0
Hb Helsinki	$\beta 82 (\text{Lys} \rightarrow \text{Met})$		↓
Hb Providence	$\beta 82 (\text{Lys} \rightarrow \text{Asn/Asp})$		↓
Hb Rainer	$\beta 145 (\text{Tyr} \rightarrow \text{Cys})$	C-terminal	12.9
Hb Bethesda	$\beta 145 (\text{Tyr} \rightarrow \text{His})$		12.8
Hb Porto Alegre	$\beta 9 (\text{Ser} \rightarrow \text{Cys})$	Polymérisation limitée de la molécule	↓

[7, 36, 37, 38].

✓ Physiopathologie

D'un point de vue physiopathologique, l'hyper affinité s'explique par une anomalie structurale localisée de façon spécifique à certaines zones de la molécule d'hémoglobine [39]. Le plus souvent, elle porte sur le contact $\alpha 1\beta 2$ du tétramère hémoglobinique où se situe l'essentiel du mouvement accompagnant la transition R→T. Cependant, il peut y avoir d'autres mutations impliquant les résidus C-terminaux d'une des chaînes de globines ou les

sites de liaison de la 2-3 DPG. Toutes ces substitutions favorisent la conformation oxygénée (en stabilisant la forme R ou déstabilisant la forme T) et provoquent un décalage vers la gauche de la courbe de dissociation de l'O₂ [36].

Toute fois, il en résulte que les GR de ces patients libèrent moins d'oxygène aux tissus. L'anoxie relative augmente la production d'érythropoïétine et provoque une polyglobulie [36]. Ces mutations n'ont été décrites qu'à l'état hétérozygote, la forme homozygote étant probablement létale. Les patients porteurs montrent une polyglobulie sans augmentation des GB ou des plaquettes et sans splénomégalie [5, 7, 39].

Outre la polyglobulie, il existe fréquemment une carence martiale associée, s'expliquant par l'augmentation des besoins en fer, induits par l'augmentation de l'érythropoïèse. On peut ainsi observer une anémie hémolytique due au caractère instable de certaines de ces Hb hyperaffines ce qui peut masquer la polyglobulie et rendre le diagnostic difficile [39, 40].

2.2.2.2. Hémoglobines anormales à affinité diminuée (Hémoglobines hypoaffines)

Peu de variants de ce type ont été décrits (2% du total des variants). Ces mutants engendrent une cyanose et une légère anémie, le plus souvent bien tolérées [2,7].

Dans ce cas, la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine est déviée vers la droite.

Tableau 04: Exemple des Hémoglobines anormales à affinité diminuée pour l'O₂

Nom du variant	La substitution incriminée	P50 *(mmHg)
Hb Kansas	β102 (Asn→Thr)	70
HbYoshizuka	β108 (Asn→Asp)	↑
HbAgenogi	β90 (Gln→Lys)	↑

[36].

*Gamme de référence de la p50 (adulte) : 24-28 mmHg (3,2-3,8 kPa)

2.2.3. Hémoglobine M

✓ Définition

Les méthémoglobinémies héréditaires dominantes sont ubiquitaires, notamment à la région Iwate au Japon, dues à une anomalie structurale de la globine et liées à des mutations ponctuelles entraînant la substitution d'un acide aminé (le plus souvent une histidine par une tyrosine), sur l'une des chaînes α ou β de la globine [41-43].

Les principaux variants d'Hb M et d'Hb F- M sont répertoriés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Les différentes variétés d'Hb M et Hb F-M

Nom du variant	Substitution
Hb M Boston	α 58 His→Tyr
Hb M Iwate	α 87 His→Tyr
Hb M Saskatoon	β 63 His→Tyr
Hb M Hyde Park	β 92 His→Tyr
Hb M Milwaukee	β 67 Val→Glu
Hb F-M Fort Ripley	γ 92 His→Tyr
Hb F-M Osaka	γ 63 His→Tyr
Hb F-Circleville	γ 63(His→Leu)
Hb F-Cincinnati	γ 41(Phe→Ser)

[41, 44].

✓ Physiopathologie

La mutation entraîne une oxydation de l'atome de fer conduisant à une méthémoglobine anormale dont le spectre d'absorption est différent de la méthémoglobine A non mutée, et correspondant à un tétramère hybride où un type de chaîne est à l'état Fe^{3+} , et l'autre à l'état normal Fe^{2+} , entravant la fixation et le transport de l' O_2 . La mutation peut toucher la chaîne α de globine comme la chaîne β d'autres touchent même la chaîne γ , entraînant une cyanose néonatale, des indices cliniques incluent des antécédents familiaux avec réduction de la saturation de l'Hb en oxygène sans hypoxémie artérielle chez un nourrisson qui semble être

en très bonne santé et n'a pas de signes de maladies cardiaques ou pulmonaires, qui disparaissent spontanément avec le remplacement progressif de l'Hb F par de l'Hb A [7, 44].

2.3. Autres

2.3.1. Hémoglobine D- Punjab

L'hémoglobine D-Punjab ou D-Los Angeles ($\beta 121$ (Glu→Gln) est due à une mutation ponctuelle GAA→CAA dans le 121^{ème} codon du gène β globine.

Selon « The Globin Gene Server data base » outre l'Hb D-Punjab, il existe sept autres types de l'Hb D : Hb D-Agri, Hb D-Bushman, Hb D-Ouled Rabah, Hb D-Iran, Hb D-Granada, Hb D-Ibadan et Hb D-Neath [45].

On la rencontre dans le sud de l'Asie, le Nord-Ouest de l'Inde (région du Punjab), au Pakistan et en Iran [46]. Ce variant est sans effet clinique aussi bien chez les porteurs hétérozygotes qu'homozygotes. Toutefois, chez l'hétérozygote composite (Hb S/Hb D-Los Angeles se présentent comme atteints de syndrome drépanocytaire majeur, dont la prévention justifie un conseil génétique [2].

2.3.2. Hémoglobine O-Arab

L'Hb O-Arab est un variant rare décrit en Arabie Saoudite, Iran, aux Etats Unis, en Jamaïque, Bulgarie, Turquie, Cote d'Ivoire, Afrique du Nord et tout le bassin méditerranéen, elle correspond à une substitution de l'acide glutamique par une lysine à la 12^{ème} position de la chaîne β -globine. Les homozygotes sont asymptomatiques, l'anémie hémolytique qu'ils présentent est très bien compensée. Mais la forme hétérozygote composite Hb S/Hb O-Arabe est très sévère responsable d'un syndrome drépanocytaire majeur en stabilisant la polymérisation intracellulaire de l'Hb S et conduisant à une falciformation irréversible des globules rouges [47, 48].

2.3.3. Les variants de la chaîne delta

On connaît aujourd'hui plus d'une centaine de mutants affectant le gène *HBD*. Une atteinte hétérozygote, voire homozygote, de ce gène est sans conséquence hématologique. Toutefois, ces mutants entraînent un abaissement du taux de l'HbA2 avec une NFS normale. Leur association, en cis ou en trans, avec un gène β -thalassémique a pour conséquence la non élévation du taux d'HbA2, ce qui peut faire masquer une β thalassémie mineure ou de porter à tort le diagnostic [2,3, 49].

2.3.4. Les variants de la chaîne alpha

L'Hb Sétif [α 94 Asp \rightarrow Tyr] est l'un des variants rares due à une mutation de la chaîne α avec une mobilité électro phorétique similaire à l'Hb S à pH alcalin. L'Hb Sétif est moins soluble que l'Hb A et induit une pseudo-falciformation (en raison de la cristallisation intracellulaire de l'Hb insoluble) des GR in vitro lorsqu'elles sont incubées dans une solution saline normale contenant de l'iode ou du tampon. In vivo, elle ne produit pas de troubles clinique. Ce variant a été décrit dans une famille algérienne, et depuis, d'autres cas ont été trouvés en Iran et en Australie [50, 51].

CHAPITRE III :
Diagnostic biologique des
hémoglobines anormales

1. Circonstances de découverte

Plusieurs situations peuvent conduire à la recherche d'une anomalie de l'hémoglobine dont :

- Le diagnostic étiologique d'anomalies biologiques évocatrices : hémogramme anormal (anémie, microcytose, polyglobulie) et/ou des anomalies du frottis sanguin (hématies cibles, drépanocytes...), ou encore signes d'hémolyse (bilirubine libre augmentée, haptoglobine effondrée) ;
- Des signes cliniques : pâleur cutanéomuqueuse, ictère, une hépatosplénomégalie, une asthénie, cyanose ou polyglobulie (céphalées, acouphènes, vertiges).
- Etude systématique de l'Hb chez un sujet originaire d'un pays à risque. L'intérêt de leur dépistage se justifie en particulier chez les femmes enceintes et lors d'un bilan préopératoire ;
- L'enquête familiale suite à la découverte d'une hémoglobinopathie ;
- Dépistage néonatal dans les populations originaires de pays à risque ; permettant une prise en charge précoce des enfants atteints, en particulier de SDM (syndrome drépanocytaire majeur) ;
- Découverte fortuite lors du dosage de l'hémoglobine glyquée Hb A_{1c} [8, 11, 52, 53].

2. Anamnèse

Certains renseignements peuvent aider à élaborer le raisonnement diagnostique comme l'âge du patient, l'origine géographique, ses antécédents personnels (transfusion, grossesse...) et familiaux.

3. Prélèvement des échantillons

Une étude de l'Hb par les méthodes classiques nécessite 5 ml de sang recueilli sur anticoagulant, ACD (adénine-citrate-dextrose) de préférence ou EDTA ; à + 4°C l'échantillon de sang total se conserve au maximum 8 jours en raison d'apparition de fractions dénaturées ou à l'augmentation possible de la méthémoglobine dans les prélèvements vieillissants. En cas de recherche d'une hémoglobine instable l'échantillon est à traiter dans les 2 à 3 heures qui suivent le prélèvement. L'analyse doit être effectuée au moins 03 mois après toute transfusion sanguine [2, 9, 19].

4. Examens biologiques

L'étude de l'Hb afin de diagnostiquer au mieux une Hb anormale, nécessite d'avoir recours à des méthodes de séparation et de quantification de ses différentes fractions.

La Nomenclature des Actes de Biologie Médicale NABM (septembre 2014) précise : <<**Recherche d'une anomalie de l'hémoglobine** par au moins une technique d'électrophorèse, et deux autres tests adaptés selon les besoins pour un résultat diagnostique d'orientation. Un commentaire et une conclusion accompagnent le compte rendu. >>**N° 1120 (B 120) chapitre d'hématologie.**

D'autre part, la pratique d'une seule technique n'est pas recommandée pour deux raisons principales:

- Un profil normal, quelque soit le système utilisé ne permet pas d'éliminer un variant de l'Hb ;
- Plusieurs variants peuvent se comporter de la même façon dans un système selon la **S.F.B.C** (Société Française de Biologie Clinique) [3, 54].

4.1. Hémogramme

Il reprend les paramètres de base qui sont :

- Hémoglobine en g /dl ;
- Nombre d'hématies en T/l ;
- Volume globulaire moyen en fl ;
- La CCMH ou concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine en g/dl ;
- La TCMH ou teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine en pg ;
- Les numérations leucocytaire et plaquettaire ;
- La numération des réticulocytes ;
- Morphologie érythrocytaire : cellules cibles, drépanocytes, poïkilocytose, inclusions érythrocytaires : corps de Jolly, ponctuations basophiles, corps de Heinz.

En plus on effectue :

- Un bilan d'anémie : le dosage de la vitamine B12 et des folates érythrocytaires et sériques peut être utile.
- Bilan martial : fer sérique, coefficient de saturation de la transferrine, ferritine

- Bilan d'hémolyse : bilirubine libre et conjuguée, haptoglobine, la quantification de la LDH [6,9].

4.2. Techniques d'étude séparatives

4.2.1 Electrophorèse

4.2.1.1. Electrophorèse à pH alcalin : sur acétate de cellulose

A pH alcalin (pH=8.5), l'Hb est chargée négativement et migre vers l'anode (chargé positivement) sous l'influence d'une tension de 350 V appliquée pendant 25 minutes. La différence de charge des variants d'Hb permet ainsi de les séparer, l'observation des bandes se fait après coloration au rouge ponceau. C'est une méthode simple et rapide. Mais sa principale limitation est l'incapacité de différencier l'Hb C, E, O (migration dans la même zone selon la même vitesse), de même pour l'Hb S et D, G et Lepore (Figure 10). Il s'agit d'un test de dépistage pour certains types de variants, qui est toujours complété par d'autres techniques [53,55, 56].

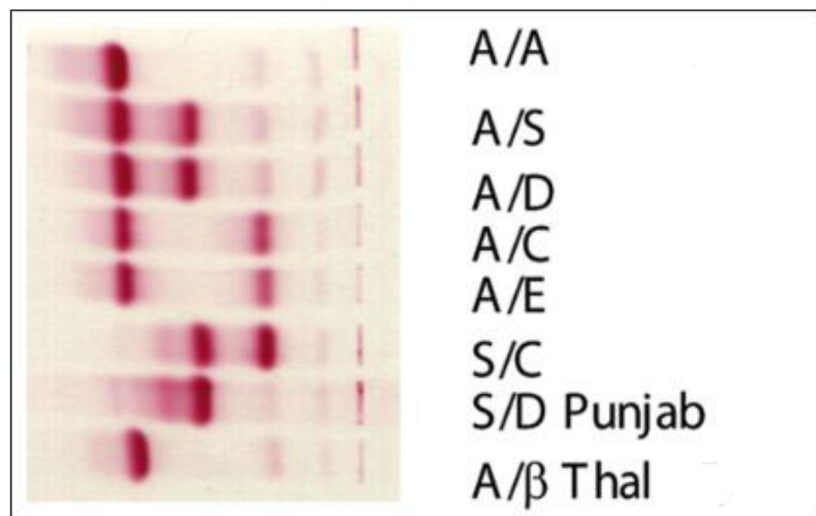


Figure 10 : Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin [2].

4.2.1.2. Electrophorèse à pH acide

C'est une électrophorèse classique réalisée sur support solide (citrate agar ou agarose) à pH 6, La mobilité de la molécule d'hémoglobine dépend des modifications structurales induites par la mutation dans certaines régions positivement chargées de la protéine. Son principal avantage est l'identification des Hb anormales préalablement identifiées par l'électrophorèse à pH alcalin ou la focalisation isoélectrique, l'Hb C, l'Hb E et l'Hb O Arab seront ainsi

différenciés de même que les Hb S et l'Hb D (Figure 11). Cependant elle est extrêmement sensible aux conditions expérimentales [3, 8].

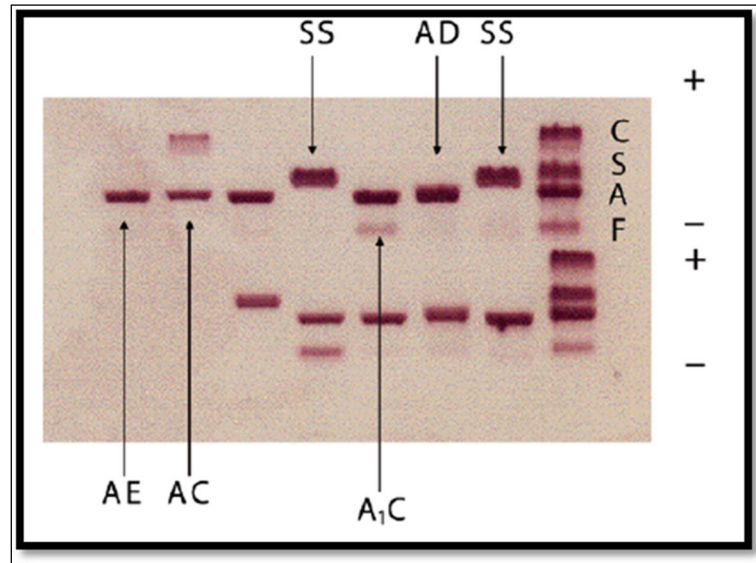


Figure 11 : Electrophorèse sue gel d'agar à pH 6 [2].

4.2.1.3. Isoélectrofocalisation

L'Isoélectrofocalisation est une technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient de pH, sous voltage élevé. Les différentes fractions d'hémoglobines soumises à un champ électrique migrent jusqu'au niveau du pH correspondant à leur point isoélectrique (PI), où elles s'immobiliseront puisque leur charge nette sera alors nulle. La visualisation définitive des fractions hémoglobiniques est réalisée par une brève fixation par l'acide trichloracétique [6, 8, 53].

Le pouvoir de résolution de cette technique est proche de celui des meilleures techniques chromatographiques, Elle permet d'identifier les hémoglobines anormales chez l'adulte par comparaison de la position isoélectrique du mutant inconnu avec celle d'un mutant de référence. Elle ne requiert, de plus, qu'une faible quantité de prélèvement, si bien qu'elle est très utilisée pour le dépistage néonatal de la drépanocytose (Figure 12). Cependant, cette technique elle ne permet pas d'apprécier une augmentation discrète de l'Hb A2 ou de l'Hb F, d'autre part elle a un coût relativement élevé, n'est pas quantitative et nécessite une certaine expertise [8, 53].

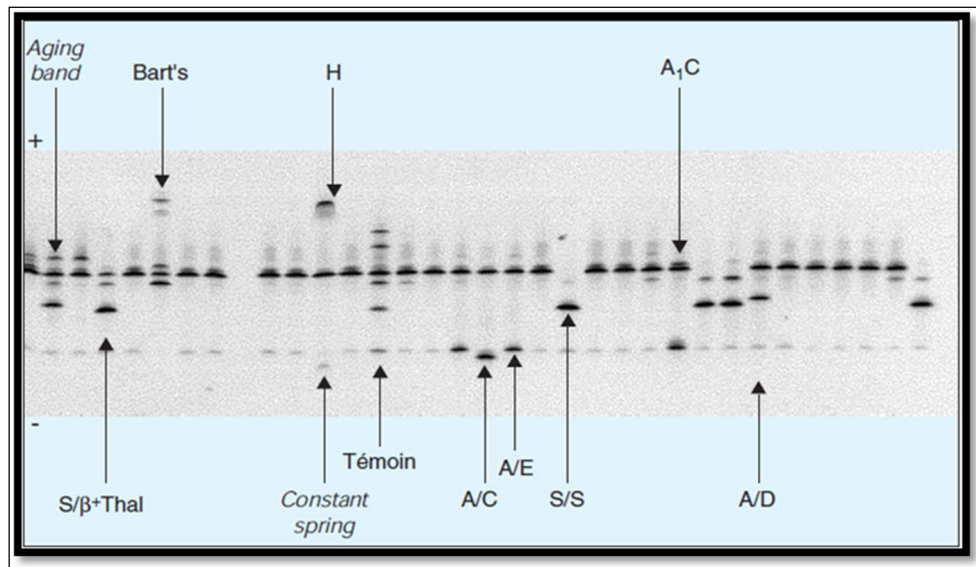


Figure 12 : Isoélectrofocalisation [54].

4.2.1.4. Electrophorèse capillaire (EC)

Cette technique implique la séparation de fractions chargées sous l'influence d'un champ électrique, généralement sur la base de leur rapport charge/masse.

Classiquement, l'électrophorèse capillaire est pratiquée dans un tube de silice fondue recouvert d'une couche de polyacrylamide de 20 à 200 cm de longueur pour un diamètre interne de 20 à 200 μ m. Le capillaire est rempli de tampon et plonge dans deux réservoirs contenant cette même solution. Chaque réservoir est connecté à une électrode reliée à un générateur de courant et le détecteur est le plus souvent un spectrophotomètre UV-visible (Figure 13).

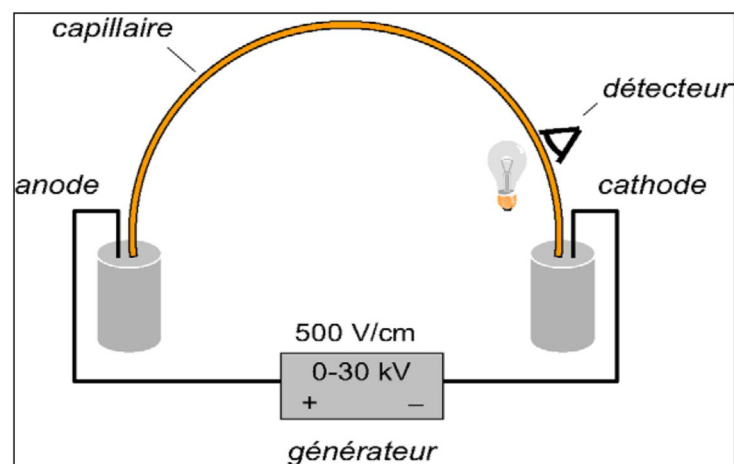


Figure 13 : Représentation schématique d'un appareillage d'électrophorèse capillaire [57].

L'échantillon est introduit dans la plupart du temps à l'anode et en quantité très faible mais sa concentration doit être relativement importante pour permettre la détection.

Une fois que l'échantillon est injecté et le champ électrique appliqué, les solutés se séparent en fonction de leur différence de mobilité (c'est-à-dire sur la différence de vitesse). Ce champ électrique est en fonction du voltage appliqué et de la longueur du capillaire [58].

La paroi interne du capillaire de silice est tapissée de groupements silanols qui s'ionisent en fonction du pH, lui conférant des charges négatives. Les cations d'électrolytes viennent se placer à la surface de la silice et forment une double couche diffuse (Figure 14). Dès qu'on applique un champ électrique, ces cations se mettent en mouvement vers la cathode et entraînent les différentes fractions d'Hb, c'est le flux électro-osmotique (EOF) [57, 58].

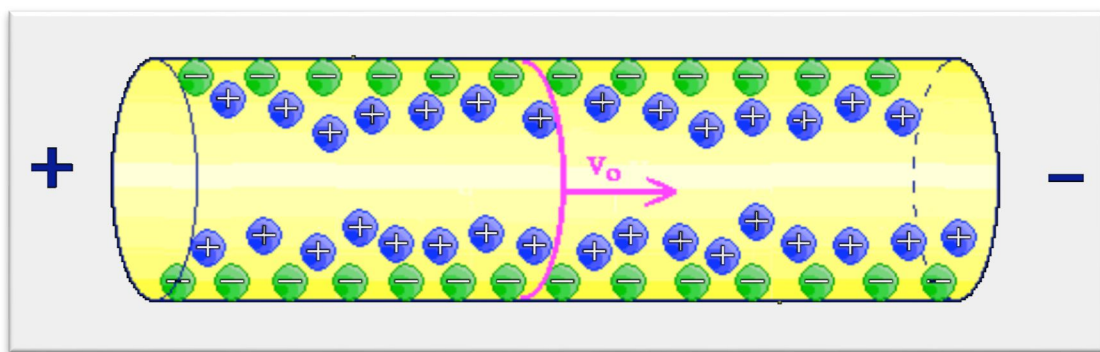


Figure 14 : Le flux endo-osmotique [69].

D'une manière générale, tous les solutés sont transportés vers la cathode par le flux électro osmotique, mais la vitesse (et l'ordre donc) à laquelle ils migrent varie selon leur charge.

Il se trouve que :

- Les cations migrent dans la même direction que l'EOF ;
- Les neutres migrent à une vitesse intermédiaire entre les anions et les cations et ne seront pas bien séparés ;
- Les anions sont attirés vers l'anode [58].

Remarque : quelques exemples de profil obtenus par l'EC, sont envisagés dans l'Annexe I.

4.2.2. Chromatographie liquide haute performance

La HPLC (chromatographie liquide haute performance) est une méthode sensible et rapide pour séparer mais aussi quantifier les variants d'Hb. La chromatographie d'échange d'ions est essentiellement utilisée dans les études analytiques alors que la chromatographie en phase inversée l'est dans la séparation et l'identification des hémoglobines anormales rares (séparation des sous-unités, séparation des peptides, détermination de la composition en acides aminés), ainsi la caractérisation des Hb fœtales (diagnostic de PHHF) [3,9, 53].

Le principe de l'HPLC repose sur la séparation des différentes fractions d'hémoglobines en fonction de la force de leurs interactions ioniques sur une colonne échangeuse de cations. Les molécules d'Hb chargées positivement dans le tampon utilisé interagissent avec la colonne chargée négativement (résidu carboxyle greffé sur une résine). Suite à l'injection d'un gradient de tampon de haute force ionique, les différentes fractions d'hémoglobines sont éluées au fur et à mesure que la force ionique du tampon devient supérieure à leur interaction avec la colonne. Les différentes fractions d'hémoglobines sont éluées à un temps donné qui est caractéristique : c'est le temps de rétention. La détection est spectrophotométrique et s'effectue à 415 nm. Les différents pics obtenus sont donc reconnus en fonction du temps de rétention [8].

Cette technique a l'avantage d'être automatisée, reproductible, facile d'utilisation et de permettre une quantification précise de l'Hb A2 et de l'Hb F. Elle permet également l'identification présomptive de certains variants (Hb S ou l'Hb C), l'hémoglobine E étant quant à elle coéluée avec l'Hb A2. Cependant elle présente un investissement non négligeable, et nécessite toujours des méthodes complémentaires pour l'identification précise des variants suspectés [3,9].

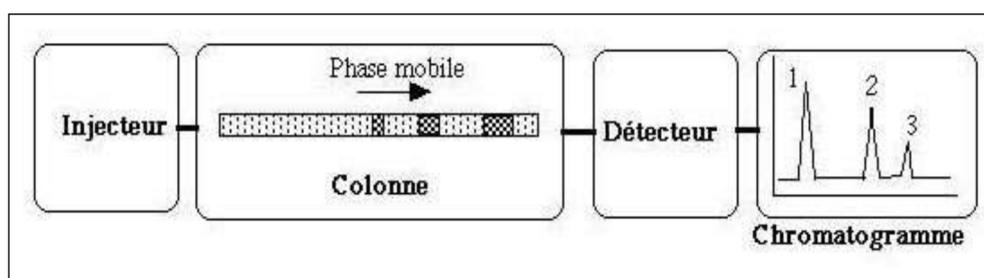


Figure 15: Schéma simplifié de la chromatographie [60].

4.3. Techniques d'étude non séparatives

4.3.1. Test d'Emmel

Le test d'Emmel (ou de falciformation) est une alternative au test d'Itano, il permet de mettre en évidence les drépanocytes après incubation d'une goutte de sang entre lame et lamelle en présence d'une solution de métabisulfite de sodium (agent réducteur qui accélère la désoxygénation), on observe en quelques minutes l'apparition d'hématies en faucilles lors de la présence d'Hb S. Cependant il manque de sensibilité et de spécificité, il est négatif en présence d'un taux élevé d'Hb F, de plus certains Hb autres que l'Hb S, peuvent donner une falciformation [3, 61].

4.3.2. Test d'Etano

Ce test de solubilité est essentiel pour confirmer la présence de l'Hb S et, est basé sur la propriété de HbS désoxygénée de se polymériser et se précipiter par la dithionite (hydro sulfite de sodium) en milieu salin concentré (Figure 16) [3, 53].

Elle est utilisée pour différencier l'Hb S d'autres mutants (par ex Hb D) ayant la même mobilité électrophorétique à pH alcalin par contre, d'autre Hb (Hb H, Hb C) précipitent dans ces mêmes conditions, ce qui amène à un faux positif. Il existe également un risque de faux négatif surtout concernant le nouveau-né ou des sujets porteurs de faibles concentrations en HbS [3, 52, 53].

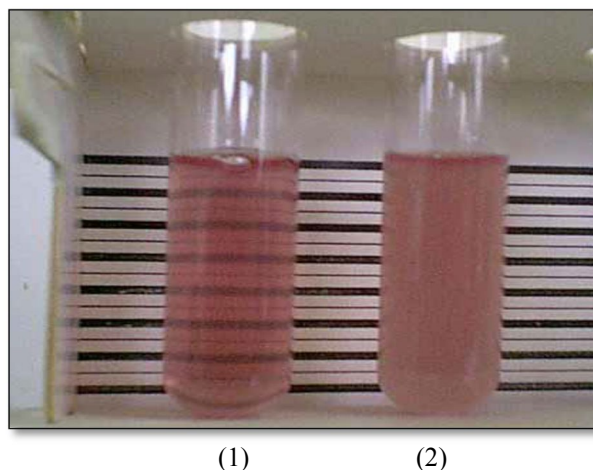


Figure 16 : Test de solubilité de l'hémoglobine S [62].
(1) Témoin normal, (2) Présence d'Hb S

4.3.3. Recherche des corps de Heinz

La recherche des corps de Heinz s'effectue lorsqu'on suspecte la présence d'une hémoglobine instable. Leur mise en évidence sur frottis sanguin, requiert une incubation des érythrocytes à 37 °C, en l'absence de glucose, avec un agent oxydant comme le bleu de crésyl brillant (ou le violet de méthyl). Les corps de Heinz apparaissent comme des inclusions souvent accrochés au niveau de la membrane du G.R [7, 8].

4.3.4. Test de stabilité à l'isopropanol

Ce test permet de mettre en évidence la présence d'hémoglobines instables. Il utilise la propriété de l'isopropanol de diminuer les forces de cohésion internes de la molécule d'hémoglobine dans un milieu apolaire ; il doit être pratiqué sur un échantillon frais ou conservé à + 4 °C depuis moins de 6 heures avec un témoin prélevé dans les mêmes conditions. Dans les conditions opératoires, l'hémoglobine A précipite après 50 à 60 minutes à 37 °C. L'instabilité d'une hémoglobine se manifeste par une précipitation précoce (en 5 à 20 minutes). Les hémoglobines F, S, C, et E précipitent légèrement à partir de 25 minutes. Ce test peut s'avérer faussement négatif dans le cas d'hémoglobine hyper-instable [8, 53, 54].

4.3.5. La mise en évidence de la méthémoglobine

Le diagnostic repose sur la mise en évidence de la méthémoglobinémie qui dépasse rarement 25 à 30 %, la présence de sang brun dans le tube de prélèvement est déjà un indice consistant de la présence d'une Hb M. L'adjonction à l'hémolysat de KCN permet de différencier une Hb M d'une méthémoglobine normale : dans ce cas l'hémolysat redevient rouge, alors que le produit n'a que peu d'effet en présence d'une Hb M [7,41].

L'étude spectrophotométrique d'un hémolysat qui révèle le déplacement caractéristique des pics d'absorption entre 600 et 625 nm, au lieu du pic maximal de 630 nm de la méthémoglobine normale [41].

4.3.6. Mesure de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène

La mesure de la P50 par Co oxymétrie sur sang veineux et du 2,3 DPG intra-érythrocytaire, nécessite un équipement particulier (réservé à des laboratoires spécialisés) [6].

5. Place de la biologie moléculaire

La transmission des mutants de l'Hb se fait généralement selon un mode autosomique récessif. La caractérisation moléculaire a pour but de dépister les couples à risque, pour confirmer ou simplement préciser le phénotype des cas index, de façon sporadique, pour caractériser des mutants. Après identification des sujets porteurs, un conseil génétique doit être prévu afin d'expliquer au couple les risques relatifs à l'anomalie dépistée et, le cas échéant, de réaliser un dépistage prénatal.

Les techniques utilisées pour la caractérisation moléculaire des anomalies de l'Hb sont les mêmes que pour l'étude de n'importe quel autre gène, la plupart des méthodes sont basées sur la mise en évidence de la mutation par **séquençage** des gènes α et β -globine. Différentes techniques de PCR (Polymerase Chain Reaction) peuvent aussi être utilisées pour la recherche d'une mutation connue, comme la **PCR-RFLP** (en alternative au séquençage), la **PCR en temps réel** avec révélation par sondes fluorescentes spécifiques ou encore la technique de **reverse dot-blot**. L'étude du profil de dénaturation d'un amplicon par **HRM** (High resolution melting) permet aussi le génotypage de mutations ponctuelles [52, 63].

D'autres techniques comme la QMPSF (quantitative multiplex PCR of short fragments), la PCR semi-quantitative et la MLPA (multiplex ligation probe amplification) sont actuellement de plus en plus utilisées pour le criblage des délétions rares ou non encore décrites [63].

Les principes de ce type de recherche doivent être connus. Il s'agira d'abord d'extraire l'ADN des cellules nucléées, sang périphérique, trophoblastes, ou bien à partir de l'ADN fœtal isolé des cellules amniotiques, de biopsies de villosités choriales, de biopsies de placenta (ces dernières permettent d'obtenir des quantités d'ADN plus importantes et sont réalisées plus précocement 10 ou 11^e semaine pour réaliser un diagnostic prénatal) [54, 64].

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I :

Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective des paramètres biologiques des variants de l'hémoglobine chez les patients diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou durant une période de deux ans (2014-2015).

1. Matériel

1.1. Population d'étude

Tous les patients adressés par les différents services du CHU de Tizi-Ouzou (hématologie, pédiatrie ...), à titre externe ou dans le cadre d'une enquête familiale au laboratoire d'hémobiologie, unité de Biochimie Hématologie du CHU de Tizi-Ouzou.

➤ **Les critères d'inclusion**

- Exploration d'une anémie hémolytique et/ou microcytaire qui ne répond pas au traitement martial ;
- Sujets ayant réalisés un examen d'électrophorèse capillaire de l'hémoglobine au laboratoire d'hémobiologie pour la recherche des variants qualitatifs de l'hémoglobine ;
- Dépistage des variants de l'Hb dans le cadre d'une enquête familiale.

➤ **Les critères d'exclusion**

- Sujets dont l'étude de l'Hb a été effectuée par l'HPLC ;
- Sujets ayant été transfusés dans les 3 mois qui précèdent le prélèvement ;
- Sujets suivis pour une hémoglobinopathie connue.

1.2. Echantillon biologique

Le prélèvement sanguin recueilli dans des tubes EDTA (Ethyl Diamine Tri Acétate) en respectant les proportions exactes anticoagulant-sang.

2. Méthodes biologiques

2.1. La phase pré analytique

2.1.1. Anamnèse

Les malades et éventuellement les membres de leurs familles qui sont venus au niveau du laboratoire d'hémobiologie de CHU TO avec une demande d'exploration établie par le médecin traitant ont été reçus tous les jours ouvrables de la semaine.

Après lecture de la lettre d'orientation et consultation de tous les documents médicaux en leur possession, une fiche de renseignements (Annexe II) est remplie qui comporte outre

l'identification du malade, toutes les données qui concernent sa maladie et ses antécédents personnels et familiaux, à la fin de l'entretien un numéro d'identification lui sera attribué, et un rendez-vous sera fixé pour le prélèvement.

2.1.2. Le prélèvement du patient

Pour chaque patient, deux tubes ont été prélevés :

- Un tube sec (N°1) destiné aux analyses biochimiques : bilan d'hémolyse (bilirubine libre et totale, LDH et l'haptoglobine) et bilan martial (fer sérique et ferritinémie).
- Un tube (N°2) contenant de l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) : destiné à l'hémogramme complet, TCD et l'électrophorèse de l'Hb.

2.1.3. La conservation

A la température du laboratoire soit 18 à 22°C. Le sang total destiné à l'électrophorèse est conservé 24 à 48 heures (H) à +4°C.

2.1.4. Délais de traitement des échantillons

- Le tube N°1 est immédiatement envoyé au laboratoire de biochimie.
- Le tube N°2 est immédiatement acheminé à l'unité de cytologie où il est utilisé pour la réalisation d'un hémogramme complet, le reste est conservé à + 4°C pour faire l'électrophorèse de l'hémoglobine selon le programme réservé à cette analyse.

2.2. La phase analytique

2.2.1. Hémogramme

Il comporte deux types d'analyses distinctes. L'analyse quantitative et l'examen morphologique des cellules.

2.2.1.1. Numération sanguine

✓ Principe

Consiste à dénombrer les éléments figurés du sang et à calculer les indices hématimétriques.

✓ Appareil

Les paramètres de l'hémogramme ont été déterminés avec l'automate ADVIA® 2120 (Siemens). Il s'agit d'un système automatisé comprenant trois modules (l'ADVIA® 2120, la station de travail informatique et l'imprimante laser) qui peut exécuter 5 types d'analyses sanguines (Figure 17) :

- Numération complète (érythrocytes, leucocytes, plaquettes) ;
- Numération/formule (avec différenciation des leucocytes) ;
- Numération/formule/réticulocytes ;
- Numération/réticulocytes ;
- Réticulocytes seuls.

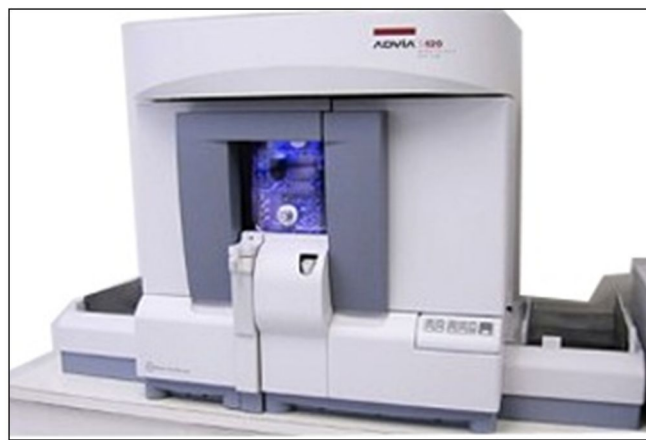


Figure 17 : L'automate ADVIA® 2120 (Siemens).

L'ADVIA®2120 est un cytomètre de flux qui utilise la diffraction lumineuse sous deux angles, la lyse différentielle des leucocytes et la coloration de la myéloperoxydase pour caractériser les cellules. L'appareil utilise 5 canaux d'analyse :

- Hb ;
- Erythrocytes et plaquettes ;
- Peroxydase ;
- Densité nucléaire ;
- Réticulocytes.

Avec cet automate, les GR sont analysés par diffraction laser en deux angles. La mesure de la diffraction laser grand angle permet d'obtenir la concentration en Hb.

✓ **Mode opératoire**

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

- Automatique en rack (15 racks universels de 10 tubes) ;
- Manuelle en tube fermé (pour les prélèvements urgents ou à risque) ;
- Manuelle en tube ouvert (pour les prélèvements d'urgence).

Le volume prélevé est de 175 µl et qui est indépendant des analyses demandées et du mode d'échantillonnage.

✓ **Valeurs normales [65]**

Tableau 06: Normes internationales du 22-06-2004 de la numération formule sanguine.

	1-3 ans	3-6 ans	7-10 ans	homme	femme
Erythrocytes (T/l)	3,7- 5	4-5,2	4-5,4	4,5-5,5	4-5
Hémoglobine (g/dl)	11-13	12-14	12-14,5	13-17	11,5-15
VGM (fl)	70-86	74-88	77-91	82-98	82-98
TCMH (pg)	24-30	24-30	24-27	27-32	27-32
Réticulocytes (%)	0,3-0,8	0,2-0,8	0,2-0,8	0,5-1,5	0,5-1,5
Réticulocytes G/L	25-75	25-75	25-75	25-75	25-75

2.2.1.2. Le Frottis sanguin

✓ **Principe**

Le principe de confection d'un frottis consiste à étaler une goutte de sang uniformément sur une lame de verre, de manière à obtenir une seule couche de cellules, qui après coloration et fixation, pourra permettre d'effectuer l'étude morphologique des éléments figurés du sang, et de déterminer s'il y a présence d'anomalies, d'aspect ou de nombre de cellules.

✓ **Mode opératoire**

- **Préparation**

Les étapes suivies sont les suivantes :

- Nettoyage de deux lames à l'alcool (faces et tranches) et séchage ;
- Prélèvement d'une goutte de sang à l'aide d'une pipette ;
- Dépôt de la goutte de sang à l'extrémité d'une lame ;

- Application d'une autre lame inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon à ce que le sang s'étale sous la lame par capillarité ;
- Glissement de la lame inclinée à 45° pour étaler uniformément la goutte.
- Séchage du frottis à l'air libre ;
- Identification sur la face de l'étalement du sang (Figure 18).

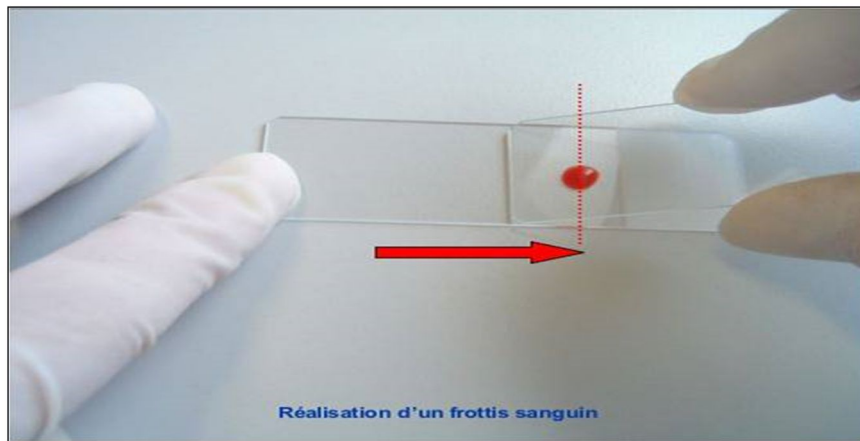


Figure 18 : Confection d'un frottis sanguin.

- Coloration

Réalisée par un automate HEMA-TEC 2000 qui utilise la coloration de Wright et assure le séchage de la lame par ventilation d'air chaud. Le colorant de Wright est un mélange de Bleu de méthylène, d'Eosine 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 (Figure 19).



Figure 19 : Automate HEMA-TEC 2000.

2.2.1.3. Numération des réticulocytes

✓ Principe

Le bleu de crésyl brillant est un colorant vital qui a la propriété de précipiter les restes de ribosomes, de mitochondries et d'ARN érythrocytaire sous forme d'une substance granulo-filamenteuse colorée en bleu. Cet aspect de réticulum donne à l'hématie jeune sa dénomination de réticulocyte.

✓ Réactif

Bleu de crésyl dont la composition est :

- Bleu de crésyl brillant (BCB).....1 g
- Citrate de sodium.....60 mg
- Chlorure de sodium.....720 mg
- Eau distillée q.s.p.....100 ml.

Dissoudre le mélange et filtrer.

✓ Mode opératoire

- Mettre dans un tube à hémolyse 100 µl de solution de bleu de crésyl et 100 µl de sang total et le faire incuber pendant 15 minutes à 37°C ou 30 minutes à température ambiante ;
- Confection d'un frottis sur lame et séchage ;
- Examen à l'objectif x100 en immersion. Les réticulocytes contiennent des filaments (bleu- violet foncé) disposés en filet ;
- On examine 1000 hématies et on compte soigneusement le nombre total des hématies et le nombre de réticulocytes ;
- Calcul : On calcule le pourcentage en divisant le nombre de réticulocytes par 5 ;
- Le nombre de réticulocytes en valeur absolue est (le seul à avoir une signification interprétable) est obtenu en multipliant le pourcentage de réticulocytes par le nombre de globules rouges/mm³.

✓ Valeurs normales

- Sujet normal : 20 000 à 80 000 réticulocytes/mm³ (0,2 - 2%) pour un taux d'hémoglobine compris entre 12 à 16 g/100 ml.
- En cas d'anémie : > 120 000 réticulocytes/mm³, l'anémie est dite régénérative
<120 000 réticulocytes/mm³, l'anémie est dite arégénérative.

2.2.2. Test de coombs direct (TCD)

✓ Principe

Permet de mettre en évidence la sensibilisation *in vivo* des hématies par des globulines : des immunoglobulines G (Ig G) ou des fractions du complément (C3d).

✓ Réactifs

- Sang frais du sujet prélevé sur EDTA ;
- Hématies de groupe O rhésus positif sensibilisées par un sérum anti D ;
- Hématies de groupe O rhésus négatif ;
- Sérum antiglobuline humaine polyspécifique (AGH) ;
- Sérum antiglobuline humaine mono spécifique anti Ig G et anti C3d ;
- Soluté physiologique.

✓ Technique

- Faire six lavages des hématies du sujet avec du soluté physiologique à 37° C. Après le dernier lavage, éliminer complètement l'eau de lavage résiduelle.
- Préparer une suspension saline de 5% des hématies lavées ;
- Dans des tubes identifiés numéro du sujet, témoin positif et témoin négatif, déposer respectivement : 1 goutte de la suspension des hématies du sujet, 1 goutte de la suspension des hématies D positif sensibilisées et une goutte de la suspension des hématies D négatif ;
- Ajouter 2 gouttes de sérum AGH à chacun des tubes ;
- Mélanger, centrifuger immédiatement à 3400 tr/min pendant 15secondes ;
- Rechercher macroscopiquement la présence d'hémolyse. S'il n'y a pas d'hémolyse, agiter légèrement les hématies tassées et observer la présence d'agglutination ;
- Si la réaction est apparemment négative, laisser le tube à la température du laboratoire pendant 5 minutes ;
- Recentrifuger et lire de nouveau, cela favorise la détection de la sensibilisation par des fractions du complément ;
- Ajouter une goutte de GR sensibilisées à l'Ig G à tous tubes donnant une réaction négative. Centrifuger et lire :
- Si l'agglutination n'est pas observée, cela indique très probablement que l'AGH a été neutralisée. Les lavages n'ont pas été correctement effectués. Il faut refaire le test.

- L'observation d'agglutinations indique par contre que l'AGH est disponible, et que le test négatif observé est bien négatif.

✓ **Interprétation**

Le TCD est positif quand l'agglutination est observée après centrifugation immédiate ou après incubation à la température du laboratoire.

L'agglutination après centrifugation immédiate indique un TCD positif de type Ig G, alors que le TCD positif de type complément se révèle mieux après incubation ; Cependant on doit utiliser les antiglobulines mono spécifiques anti Ig G et anti C3d pour bien confirmer le type de globulines sensibilisantes : Ig G ou C3d.

2.2.3. L'électrophorèse capillaire

Les hémoglobines de notre échantillon ont été analysées par l'électrophorèse capillaire.

✓ **Principe du test**

Le système CAPILLARYS utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre. Avec cette technique, les molécules chargées sont séparées dans un champ électrique (haute tension) selon leur mobilité dans un tampon alcalin et selon le flux électro osmotique.

Le système CAPILLARYS possède des capillaires montés en parallèle permettant sept analyses simultanées. L'échantillon est dilué dans la solution hémolysante puis injecté par aspiration à l'extrémité anodique du capillaire. Les protéines sont séparées par application d'une haute tension puis les hémoglobines sont détectées directement à 415 nm côté cathodique. Avant chaque test, les capillaires sont lavés avec une solution de lavage puis remplis de tampon pour l'analyse suivante.

En tampon alcalin, les hémoglobines normales et anormales (ou variants) sont détectées dans l'ordre suivant, de la cathode vers l'anode : δA^2 (variant A2), C, A2/O-Arab, E, S, D, G-Philadelphia, F, A, Hope, Bart, J, N-Baltimore et H. A 415 nm l'anhydrase carbonique n'est pas visualisée sur le profil électrophorétique, ce qui permet d'identifier les variants de l'hémoglobine A2 qui migrent dans cette zone (Figure 20).



Figure 20 : Automate Capillarys 2 Sebia.

✓ **Mode opératoire**

Préparation de l'échantillon

- Laisser sédimenter les globules rouges pendant plusieurs heures (jusqu'à ce que les globules rouges se séparent du plasma et que le plasma devienne limpide, temps optimum : 1 nuit) à 2 – 8 °C ou centrifuger l'échantillon de sang à 5 000 rpm pendant 5 minutes;
- Eliminer délicatement le maximum de volume de plasma (laisser moins de 3 mm de plasma);
- Vortexer pendant 5 secondes.

Remarque

Les échantillons à éviter :

- Echantillon de sang non sédimenté. Seuls les globules rouges doivent être analysés;
- les échantillons vieillis (plus de 7 jours), ou stockés improprement; la présence d'agrégats visqueux ainsi générés pourrait affecter l'hémolyse automatique des échantillons. Les produits de dégradation peuvent en effet interférer sur le profil électrophorétique;
- Les échantillons hémolysés.

Analyse des échantillons d'Hémoglobine sur CAPILLARYS

Chargement des échantillons d'hémoglobine sur le portoir échantillons

- Placer sept (7) tubes sans leurs bouchons contenant les échantillons d'hémoglobine (après élimination du plasma) en position 1 à 7 sur le portoir échantillons. Si le nombre d'échantillons à analyser est inférieur à sept (7) placer des tubes contenant de l'eau distillée ou désionisée dans les positions vides du portoir;
- S'assurer que le code barre de chaque tube soit positionné dans la fenêtre du portoir;
- Remplir un tube avec 4 ml de solution hémolysante CAPILLARYS HEMOGLOBIN(E) que l'on placera en position N°8 sur le portoir échantillons;
- Insérer une barrette de dilution verte neuve sur le portoir échantillons;
- Introduire le (ou les) portoir(s) échantillons dans le CAPILLARYS par l'orifice d'entrée situé sur la face avant du CAPILLARYS. Il est possible d'introduire jusqu'à 13 portoirs échantillons au début de l'analyse;
- Lorsque l'analyse est terminée, retirer le (ou les) portoir(s) échantillons du plateau de sortie situé sur le côté gauche de l'instrument. Jeter les segments de dilution usagés selon les précautions d'usage.

✓ **Interprétation des résultats**

Le système Capillarys calcule le pourcentage de chaque fraction hémoglobine :

- Les hémoglobines normales et anormales (ou variants) sont détectées dans l'ordre suivant, de la cathode vers l'anode : delta A² (variant A2), C, A2/ O Arab, E, S, D, G-Philadelphia, F, A, Hope, Bart, J, N-Baltimore et H.
- En présence d'Hb A :
 - Si présence d'HbA2, le profil est recentré sur l'Hb A et les Hb A, F et A2 sont identifiées.
 - Si absence d'HbA2, le système recherche l'Hb F. En présence d'Hb F, le profil est recentré sur l'Hb F et la fraction F est identifiée. Il n'y a ni zones ni triangle jaune.
 - Si absence d'Hb A2 et F, le recentrage est effectué par rapport à la position de la fraction Hb A du profil électrophorétique précédent obtenu sur le même capillaire. Il n'y a pas de zones mais présence d'un triangle jaune.
 - Lorsque le recentrage n'est pas possible, un triangle rouge apparaît.

- En absence d'Hb A, le recentrage est effectué par rapport à la position de la fraction Hb A du profil électrophorétique précédent obtenu sur le même capillaire. Il y a un triangle jaune mais absence de zones. Si l'Hb F est détectée, le profil est recentré sur l'Hb F et la fraction F est identifiée. Il n'y a dans ce cas ni zones ni triangle jaune.

Au terme de l'analyse, la quantification relative des différentes fractions d'hémoglobine est réalisée automatiquement et les profils peuvent être analysés ; la fraction Hb A est recentrée et les fractions Hb A, Hb F et Hb A2 sont automatiquement identifiées. Les électrophorégrammes générés sont examinés visuellement pour détecter des anomalies de l'hémoglobine.

✓ **Remarque**

L'Hb O Arab se superpose à l'Hb A2. Dans ce cas, les zones sont affichées mais le pic est identifié comme Hb A2 + Hb anormale (seuil d'identification de l'HbA2 < 9 %).

La position potentielle des différents variants de l'hémoglobine (proposée dans les zones Z1 à Z15) est affichée à l'écran et les zones sont indiquées sur le rendu résultat. Le tableau 07 montre des variants confirmés à ce jour sur Capillarys qui sont présents dans les différentes zones.

✓ **Valeurs normales obtenues sur Capillarys, en absence de variant**

- Hb A: 96.8 – 97.8% ;
- Hb F: <0.5% ;
- Hb A2: 2.2-3.2.

Tableau07: Fractions Hb et variants en fonction des zones.

ZONE	Hémoglobines (Hb)
Z1	Hb $\delta A'2$ Variant Hb A2 "Hasharon" Hb $\alpha A'2$ Variant Hb A2 "Winnipeg" Autres variants Hb A2 Variant Hb A2 "Q-Thailand"
Z2	Hb C Variant Hb A2 "Setif" Hb Constant Spring
Z3	Hb A2 Hb O-Arab
Z4	Hb E Hb Köln Variants Hb A2 (et Hb C dégradée)
Z5	Hb S Hb Hasharon (et Hb O-Arab dégradée)
Z6	Hb D-Punjab Hb OsuChristiansborg Hb D-OuledRabah Variant Hb A2 "J-Toronto" Hb Lepore Variant Hb A2 "J-Rovigo" Hb G-Philadelphia Hb G-Taipei Hb Korle-Bu Hb Koln Hb Winnipeg Hb Setif (et Hb E dégradée)
Z7	Hb F Hb G-San José Hb Phnom Penh Hb Porto-Alegre Hb Raleigh Hb Richmond Hb Hekinan (et Hb S dégradée)
Z8	Hb F acétylée Hb Atlanta
Z9	Hb A Hb Okayama Hb Camperdown Hb Fontainebleau Hb Toulon
Z10	Hb Hope
Z11	Hb J-Kaohsiung (et Hb A dégradée)
Z12	Hb Bart Hb J-Providence Hb J-Broussais Hb J-Mexico Hb J-Toronto Hb J-Baltimore Hb J-Meinung (J-Bangkok)
Z13	Hb N-Baltimore Hb J-Rovigo
Z15	Hb H

3. Méthodes statistiques

3.1. Déroulement de l'étude

Les données concernant ces patients ont été fournis par des fiches de renseignements ainsi que les registres existant au niveau du laboratoire sur la base d'une fiche préétablie qui comporte deux volets (voir annexe III) :

- Volet descriptif : âge, sexe, origine géographique, antécédents familiaux...
- Volet paramètres biologiques : numération formule sanguine, frottis sanguin, numération des réticulocytes ...

3.2. Analyse statistique

Nos données ont été saisies sur Microsoft Excel, elles ont été traitées et analysées sur les logiciels Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 21 et Epi-info version .6.

Les paramètres utilisés : calcul de moyenne, écart type, pourcentage, intervalle de confiance et test statistique avec un $\alpha = 0,05$ (risque d'erreur).

CHAPITRE II :

Résultats

Au terme de notre étude, 79 patients ayants une hémoglobine anormale sur un total de 687 patients, soit une prévalence hospitalière de **12%**.

1. Répartition des différents sujets étudiés selon leur profil

Un tiers des sujets ont un profil normal soit un taux de 33%, un quart (24%) présentent une β -thalassémie, 23% une anémie d'origines diverses et 8% ont d'autres profils (PHHF, α -thalassémie...) (Figure 21).

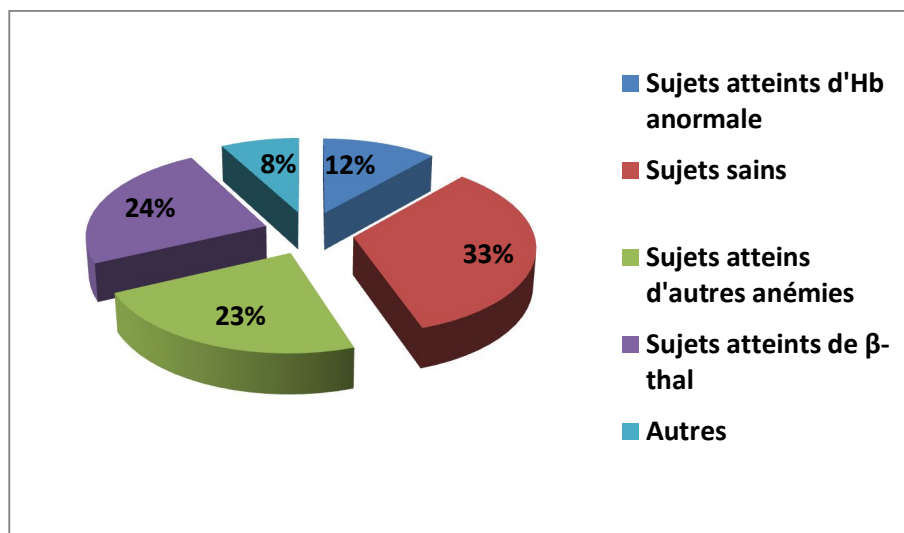


Figure 21 : Répartition des différents sujets enquêtés selon leur profil hématologique au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015).

2. Description de la population atteinte d'hémoglobine anormale

2.1. Selon le sexe

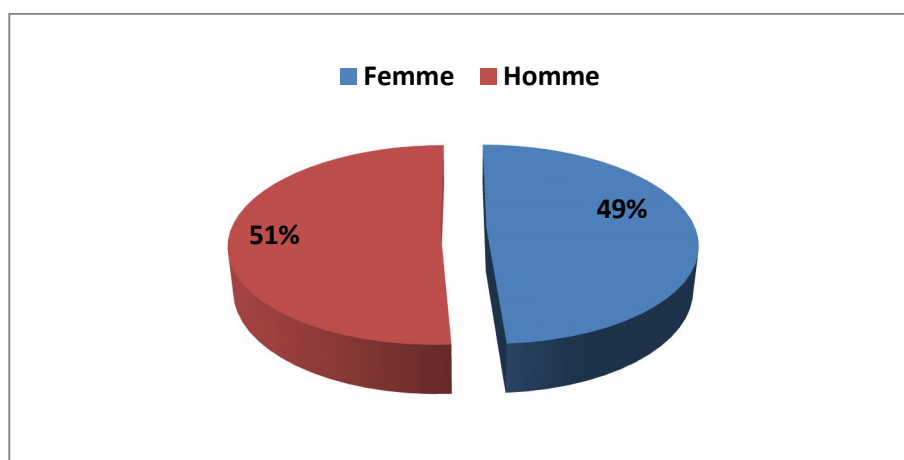


Figure 22 : Répartition des sujets ayant une hémoglobine anormale diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon le sexe.

Le pourcentage des hommes et des femmes est pratiquement identique soit un sex-ratio de 1.04 (Figure 22).

2.2. Selon l'âge

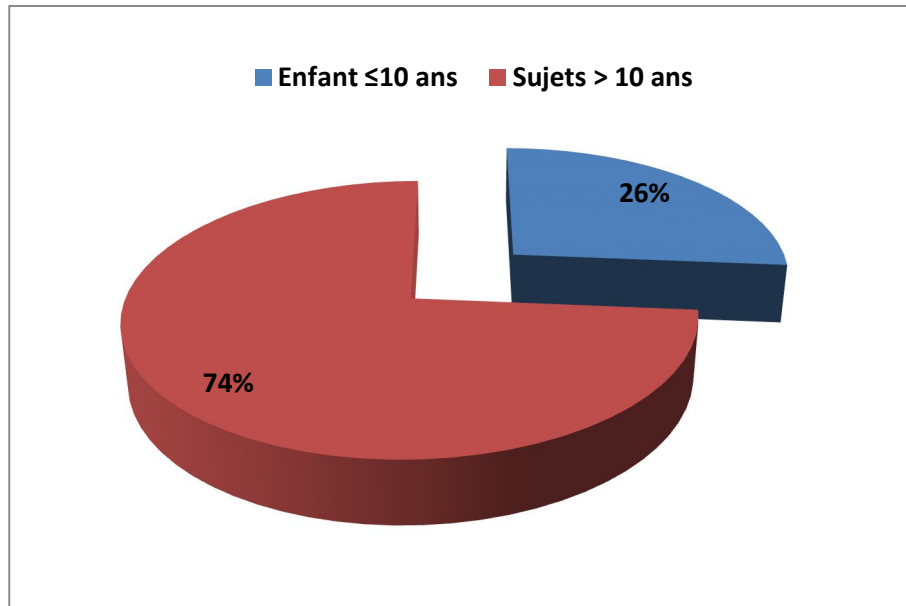


Figure 23 : Répartition des sujets ayant une hémoglobine anormale diagnostiqués au laboratoire d'hémo-biologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge.

Trois quart (74%) des sujets sont âgés de plus de 10 ans versus 26% sont des enfants d'âgés moins de 10 ans (Figure 23).

L'âge moyen global est de 25,78 ans \pm 19.35 avec un âge minimum d'un an et un maximal de 70 ans.

L'âge moyen des enfants est de 5,87 ans \pm 2,39 allant d'un an à 10 ans. Pour les sujets âgés de plus de 10 ans, leurs âge moyen est de 33,86 ans \pm 16,75 avec un minimum de 11 ans et maximum de 70 ans.

2.3. Selon le type de variant

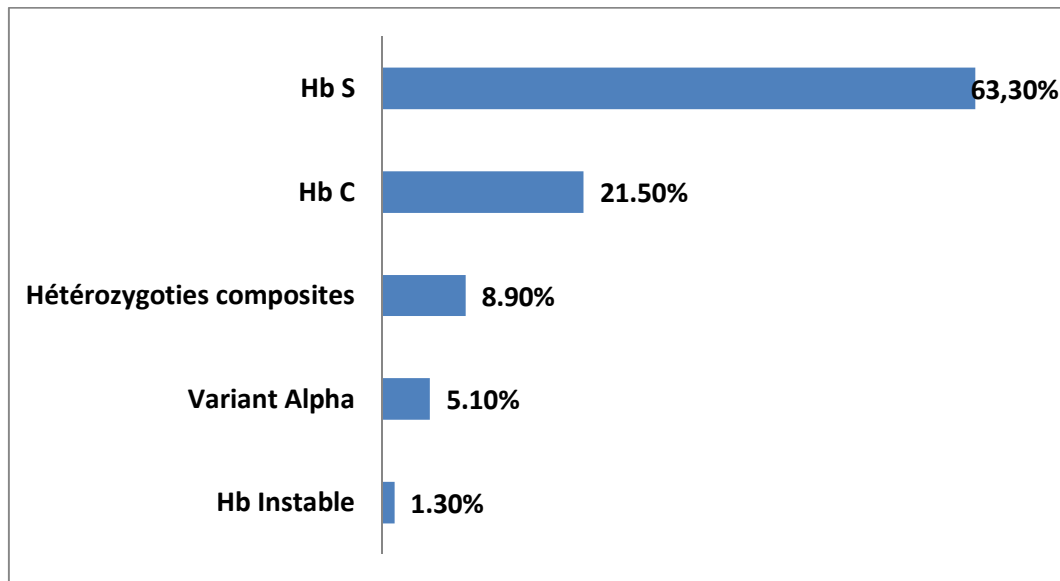


Figure 24 : Répartition des sujets ayant une hémoglobine anormale selon les types de variant diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou (2014-2015).

La drépanocytose est la plus fréquente des variants qualitatifs dans notre population soit 63,3%, suivie par l'hémoglobinose C avec 21,5%.

En troisième position, on retrouve les hétérozygoties composites avec un pourcentage de 8,9% dont 3,8 % hétérozygoties S/ β , 3,8% hétérozygoties S/C et 1,3% S/variant α .

Le variant α et l'Hb instable représentent les variants les plus rares avec des proportions respectives de 5,1% et 1,3% (Figure 24).

3. Description des patients selon les différents variants

3.1. Description de la Drépanocytose

Sur les 79 patients ayant des variants de l'Hb, on a trouvé 50 sont atteints de drépanocytose soit un pourcentage de 63.3%.

3.1.1. Selon l'âge

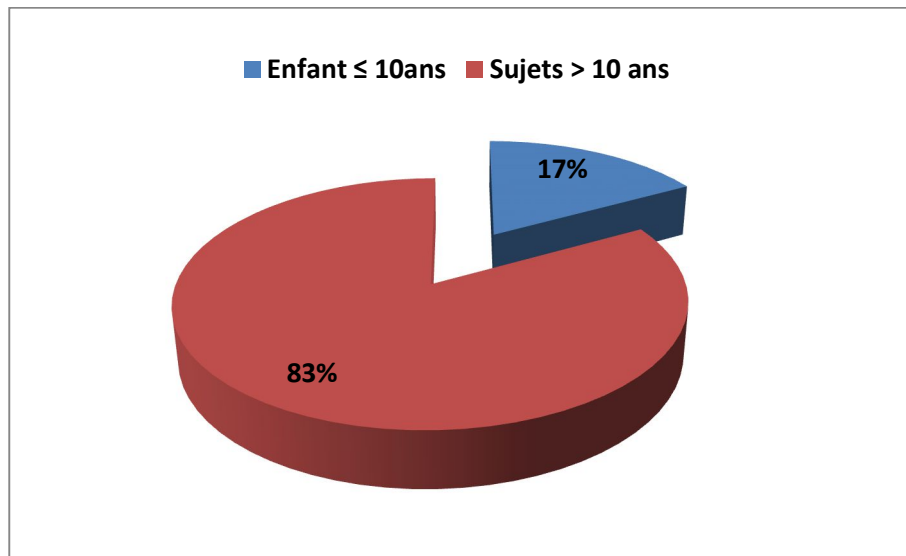


Figure 25 : Répartition des sujets drépanocytaires diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge.

La part des enfants âgés de moins de 10 ans est de 17% contre 83% sujets sont âgés de plus de 10 ans (Figure 25).

L'âge moyen global des sujets drépanocytaires est de 21,17ans \pm 19,85 avec des extrêmes d'âge allant de 4 ans à 70 ans.

3.1.2. Selon le sexe

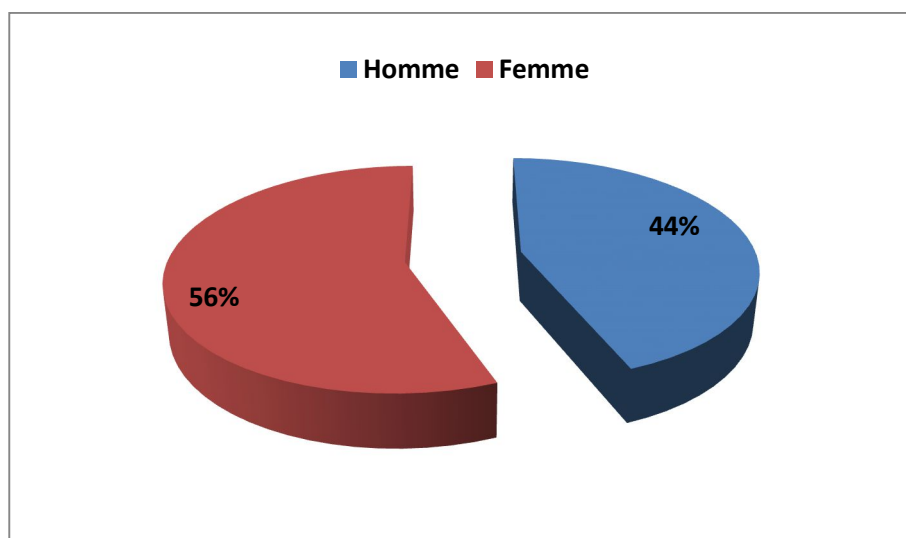


Figure 26 : Répartition des sujets drépanocytaires diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon le sexe.

Plus de la moitié des drépanocytaires (56%) sont de sexe féminin versus 44% de sexe masculin (Figure 26).

3.1.3. Selon le génotype

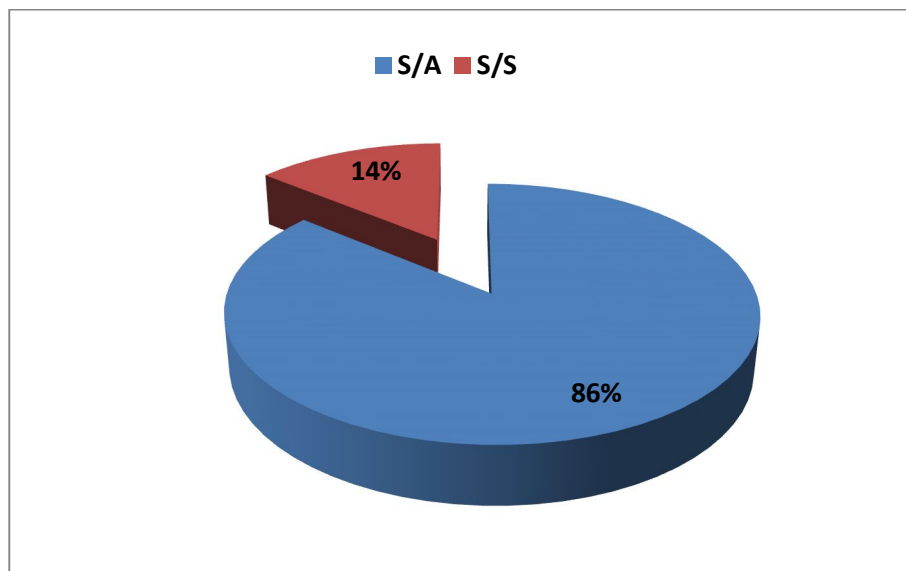


Figure 27 : Répartition des sujets drépanocytaires diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon le génotype.

On constate que la majorité de ces sujets atteints de drépanocytose (86%) sont des hétérozygotes (Figure 27).

3.1.4. Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes selon l'âge

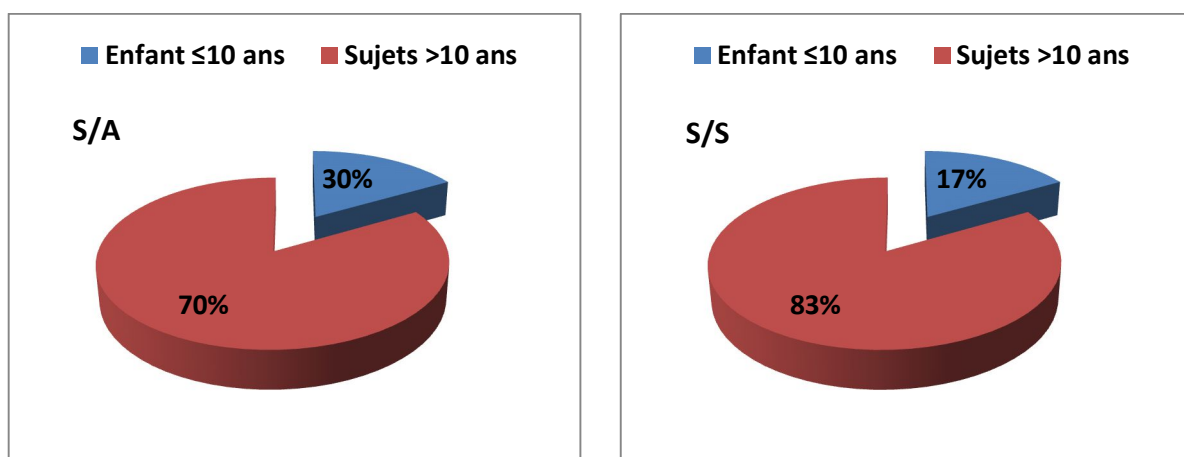


Figure 28 : Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon l'âge.

Chez les hétérozygotes (43 cas), l'enfant âgé de moins de 10 ans représente 30% des sujets drépanocytaires hétérozygotes versus 70% sont âgés de plus de 10 ans, avec un âge moyen global de $28.96\text{ans} \pm 21.02$ (Figure 28).

Chez les malades homozygotes (7 cas), un seul enfant est âgé de 5 ans (17%) et 83% sont âgés de plus de 10 ans avec un âge moyen de $18.16\text{ans} \pm 8.81$ (Figure 28).

3.1.5. Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes selon le sexe

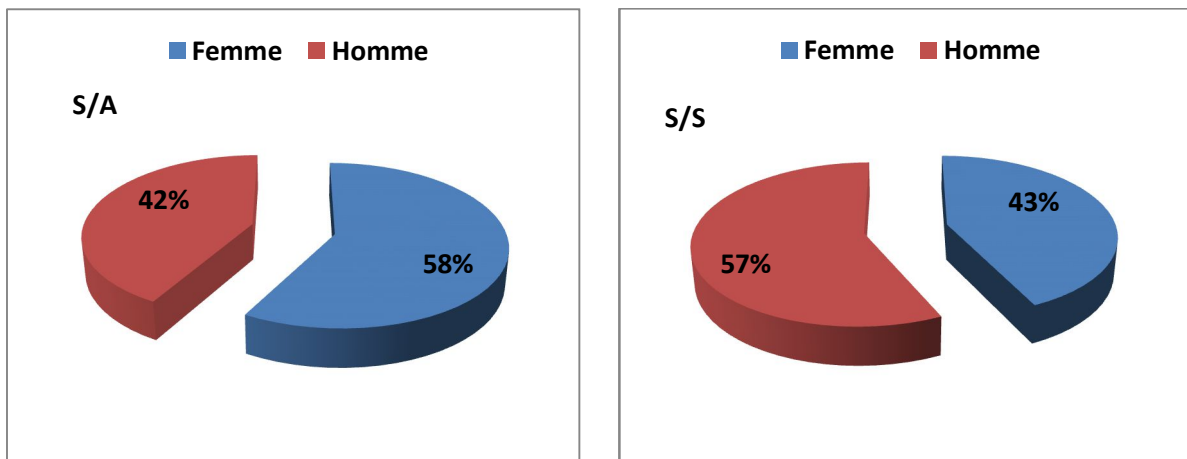


Figure 29 : Répartition des drépanocytaires hétérozygotes et homozygotes diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon le sexe.

Sur un total de 43 sujets hétérozygotes 58% sont de sexe féminin avec un sex-ratio de 0.72 contrairement chez les homozygotes (7cas) ou le sex-ratio est de 1.33 soit 57% d'homme et 43% des femmes (Figure 29).

3.1.6. Les paramètres biologiques des drépanocytaires hétérozygotes

Sur les 43 patients hétérozygotes S/A diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie du CHU de TO, 60,5% ont été adressés dans le cadre d'une enquête familiale.

- Les résultats des différents paramètres de l'hémogramme concernant ces patients varient comme suit :

Tableau 08: Les valeurs moyennes de l'hémogramme des drépanocytaires hétérozygotes.

Effectif		Taux moyen de l'Hb (g/dl)	VGM moyen (fl)	TCMH moyenne (pg)	Taux de GR moyen ($10^{12}/l$)	Taux de Rétic moyen (%)
Enfant (≤ 10 ans)		11,14	78,04	25,44	4,37	1,98
Sujets (>10 ans)	Homme	13,01	80,69	26,53	4,91	2,39
	Femme	11,78	77,55	24,89	4,76	3,65

A l'hémogramme :

- La plupart de ces patients présentent une formule sanguine normale.
- Certains patients présentent une microcytose à une (+) et hypochromie sur le frottis sanguin.
- L'électrophorèse capillaire montre :

Tableau 09: Profil hémoglobinique des drépanocytaires hétérozygotes.

Effectif		Taux moyen de l'Hb A2 (%)	Taux moyen de l'Hb F (%)	Taux moyen de l'Hb A (%)	Taux moyen du variant (Hb S) (%)
Enfant (≤ 10 ans)		3,60	1,20	56,36	39,08
Sujets (>10 ans)	Homme	3,54	0,62	56,75	39,00
	Femme	3,25	0,92	59,15	37,25

Le taux moyen global d'Hb S est de 38,3% avec un intervalle de confiance à 95% (IC_{95%}) de [37,19- 39,40].

Le taux moyen d'Hb S chez l'enfant est de 39,08% avec un intervalle de confiance à 95% (IC_{95%}) de [38,38-40,02].

Chez la femme âgée de plus de 10 ans, le taux moyen d'Hb S est 39% avec un intervalle de confiance à 95% de [27,10-41,20]. Alors que chez l'homme, il est de 37,25% avec IC_{95%} [35,20-47,70].

3.1.7. Les paramètres biologiques des drépanocytaires homozygotes

Parmi les 7 malades atteints d'une drépanocytose homozygote, on a rapporté qu'un seul patient âgé de 5 ans.

Ces patients ont été adressés au laboratoire pour faire une électrophorèse de l'Hb afin d'explorer une anémie sévère.

- Les résultats de l'hémogramme sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : L'hémogramme d'un drépanocytaire homozygote.

Effectif	Taux moyen de l'Hb (g/dl)	VGM moyen (fl)	TCMH moyenne (pg)	Taux de GR moyen ($10^{12}/l$)	Taux de Rétic moyen (%)
Enfant*	7,9	96,4	31,3	2,52	/
Sujets (>10ans)	Homme	8,4	95,15	31,40	4,80
	Femme	9,2	89,93	29,17	3,30

*il y a un seul enfant homozygotes âgé de 5 ans pour cette raison les valeurs calculées ne sont pas des moyennes.

L'hémogramme révèle une anémie sévère, normocytaire normochrome et régénérative.

Sur le frottis sanguin, on note une polychromatophilie et la présence constante de drépanocytes.

- L'électrophorèse capillaire de ces patients donne les valeurs ci dessous :

Tableau 11: Profil hémoglobinique des drépanocytaires homozygotes.

Effectif	Taux moyen de l'Hb A2 (%)	Taux moyen de l'Hb F (%)	Taux moyen de l'Hb A (%)	Taux moyen du variant (Hb S) (%)	
Enfant *	3,3	7,6	0	89,1	
Sujets (>10ans)	Homme	3,30	13,10	0	81,7
	Femme	3,83	17,67	0	78,5

*il y a un seul enfant homozygotes âgé de 5 ans pour cette raison les valeurs calculées ne sont pas des moyennes.

Le taux moyen d'Hb S est de 76,05% avec un intervalle de confiance de [67,66-84,35].

On a constaté que l'Hb A est nulle pour tous les patients homozygotes, alors que l'Hb F est élevé.

3.2. Description de l'hémoglobine C

Sur les 79 patients ayant des variants de l'Hb, 17 patients présentant une Hb C soit un pourcentage de 21.5%.

3.2.1. Répartition des sujets atteints de l'hémoglobine C selon l'âge et le sexe

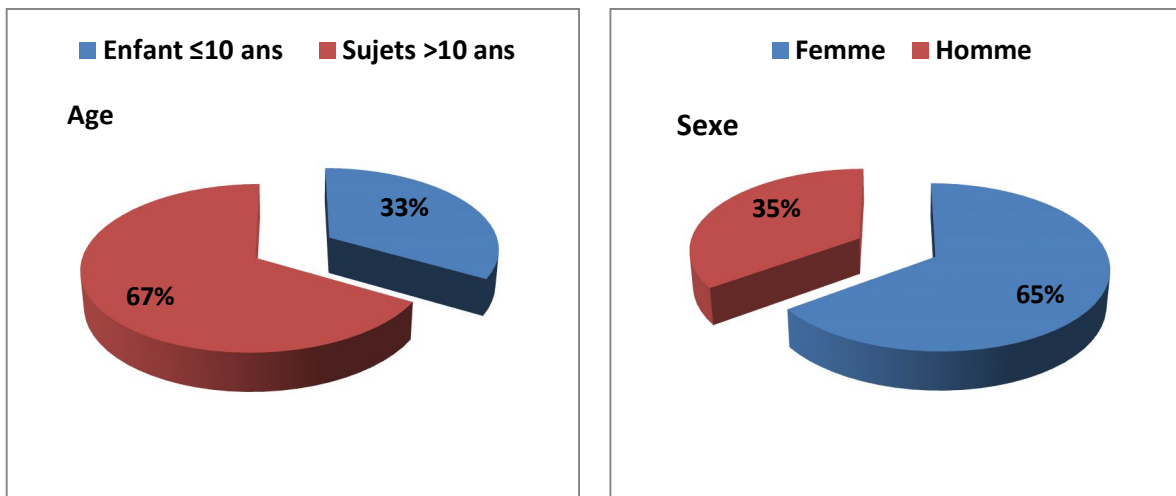


Figure 30 : Répartition des sujets atteints d'une hémoglobine C diagnostiqués au laboratoire d'hémo-biologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.

Deux tiers des sujets (67%) ont plus de 10 ans avec une prédominance féminine (65%), le sex-ratio est de 0.54 (Figure 30).

La moyenne d'âge globale est de 21.83 ans \pm 15.43 avec un âge minimum de 3 ans et maximum de 46 ans.

3.2.2. Répartition des sujets atteints de l'hémoglobinose C selon le génotype

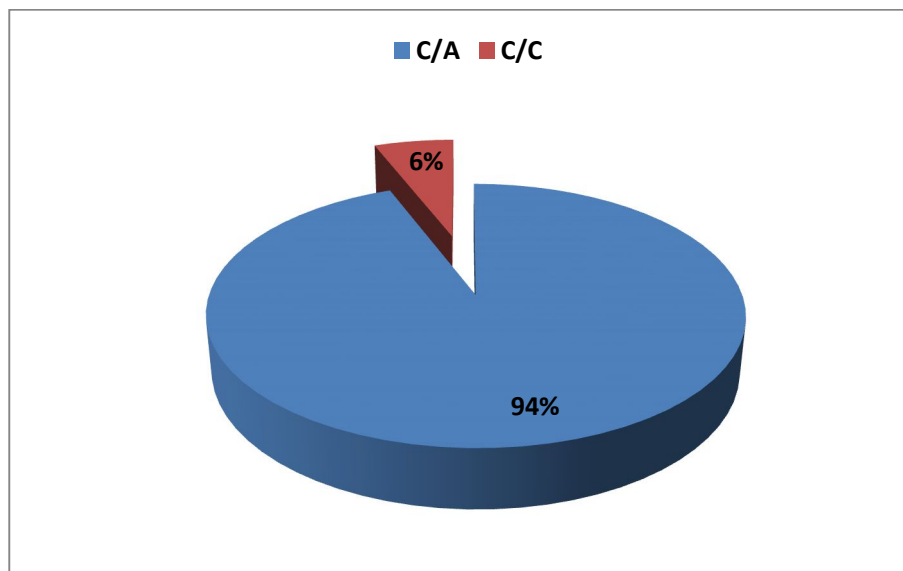


Figure 31 : Répartition des sujets atteints d'hémoglobinose C diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou, selon le génotype.

La quasi-totalité des sujets atteints d'hémoglobinose C sont des hétérozygotes C/A soit 94% (Figure 31).

3.2.3. Description de l'hémoglobinose C homozygote

Parmi les 17 sujets atteints d'hémoglobinose C, un seul cas est homozygote de sexe féminin dont l'âge est supérieur à 10 ans.

- L'hémogramme de la patiente était comme suit :

Tableau 12: Hémogramme d'un sujet atteint d'hémoglobinose C homozygote.

Effectif	HB (g/dl)	VGM (fl)	TCMH (pg)	Taux de GR ($10^{12}/l$)	Taux de rétic. (%)
Sujet atteint d'Hb C/C	11,3	72,2	24,7	4,57	/

L'hémogramme de cette patiente révèle une anémie microcytaire hypochrome.

Le frottis sanguin a montré une anisocytose à tendance normocytaire et microcytaire à une (+), avec une hypochromie à (+ +), poikilocytose (cellules cibles, cellules Hyperdenses) qui sont en faveur d'une hémoglobinose C.

- L'électrophorèse capillaire donne un taux quantitatif de 95,3% d'Hb C.

Tableau 13 : Profil hémoglobinique d'un sujet atteint d'hémoglobinosse C homozygote.

Effectif	Hb A2 (%)	Hb F (%)	Hb A(%)	Taux du variant (Hb C) (%)
Sujet atteint d'HB C	4.7	0	0	95.3

3.2.4. Description de l'hémoglobinosse C hétérozygote

3.2.4.1. Répartition des sujets atteints d'hémoglobinosse C hétérozygote selon l'âge et le sexe

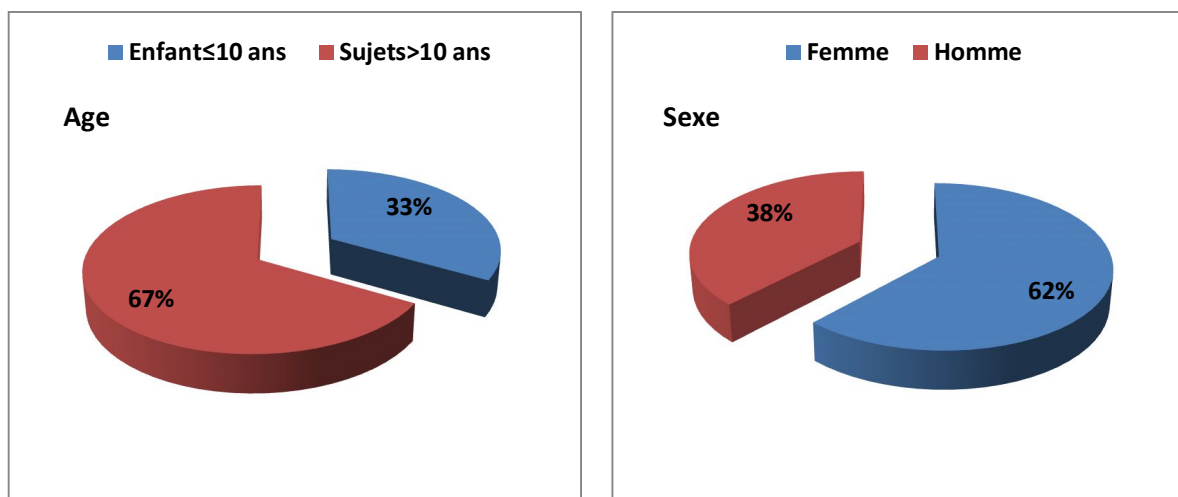


Figure 32 : Répartition des sujets atteints d'hémoglobinosse C hétérozygotes diagnostiqués au laboratoire d'hémodiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.

Sur les 17 patients atteints d'hémoglobinosse C, 94 % sont des hétérozygotes (C/A) dont 67 % sont âgés de plus de 10 ans et 33 % sont des enfants âgés de moins de 10 ans (Figure 32).

Près de deux tiers des cas (62%) sont de sexe féminin avec un sex-ratio de 0.61 (Figure 32).

3.2.4.2. Les paramètres biologiques des sujets atteints d'hémoglobinose C hétérozygote

Parmi les 16 patients ayant une hémoglobinose C hétérozygote, 25% ont été diagnostiqués dans le cadre d'une enquête familiale.

- L'hémogramme de ces patients était comme suit :

Tableau 14: Les valeurs moyennes de l'hémogramme des patients atteints d'hémoglobinose C hétérozygotes

L'effectif	Taux d'Hb moyen (g/dl)	Taux de VGM moyen (fl)	Taux de TCMH moyen (pg)	Taux de GR moyen ($10^{12}/l$)	Taux de rétic moyen (%)
Enfants (≤ 10ans)	11,55	69,5	24,43	4,73	1
Sujets (>10ans)					
Hommes	14,25	72,6	24,6	6,58	1,65
Femmes	12,08	74,85	25,35	4,78	1,65

L'hémogramme révèle une légère anémie microcytaire chez les enfants âgés de moins de 10 ans.

Une microcytose et une hypochromie sont constatées chez les sujets âgés de plus de 10 ans, alors que le taux d'Hb semble être normal.

Les frottis sanguins de l'ensemble de ces patients ont montrés des variations de la morphologie des hématies communes parmi lesquelles on retrouve : anisocytose à tendance microcytaire, hypochromie et la présence de cellules cibles et de cellules hyper denses.

- L'électrophorèse capillaire de ces patients a donné un profil hémoglobinique comme suit:

Tableau 15 : Profil hémoglobinique des patients atteints d'hémoglobinose C hétérozygote.

L'effectif	Taux moyen d'Hb A2	Taux moyen d'Hb F	Taux moyen d'Hb A	Taux moyen du variant (Hb C) (%)
Enfants (≤ 10ans)	3,37	0,68	61,00	35,45
Sujets (>10ans)				
Hommes	2,8	0,35	64,15	32,7
Femmes	3,5	0,13	61,15	35,22

Le taux moyen d'Hb C est de 35,15% avec un IC à 95% de [34,06-36,23].

Le taux moyen du variant d'Hb C est de 35,45% avec un intervalle de confiance à 95% de [34,25-37,47] pour les enfants âgés de moins de 10 ans.

Le taux moyen du variant chez les femmes âgées plus de 10 ans est de 35.21% avec un IC à 95% de [33.53- 37.33].

Chez l'homme âgé plus de 10 ans, cette moyenne est de 32.7% avec un IC à 95% de [30.7 – 34.7].

3.3. Les hétérozygotes composites

Parmi les 79 patients présentant une Hb anormale, on a 7 cas qui sont doubles hétérozygotes ; S/C, S/β, S/α.

3.3.1. Répartition des hétérozygotes composites selon l'âge et le sexe

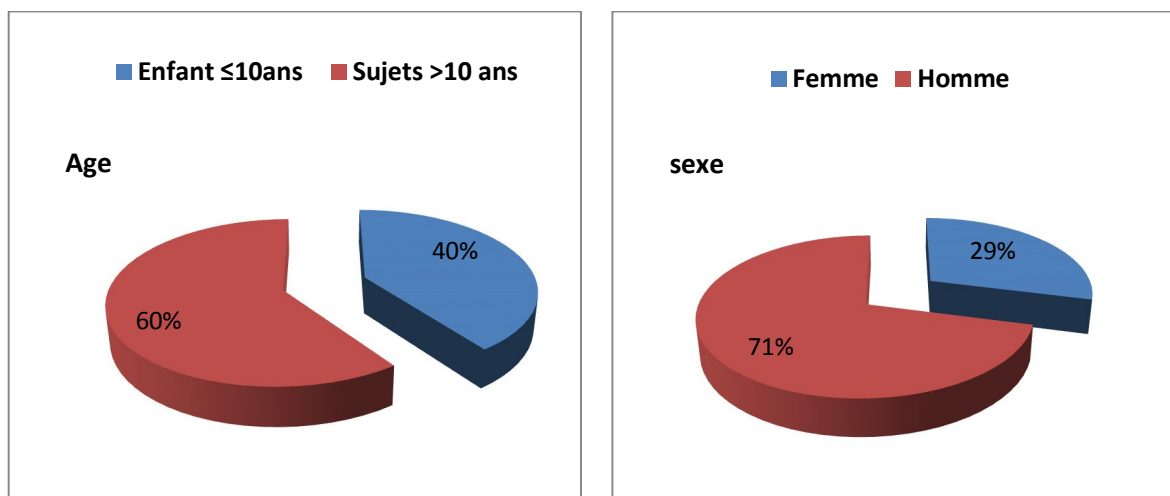


Figure 33 : Répartition des hétérozygotes composites diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.

Le pourcentage des enfants âgés de moins de 10 ans est de 40% versus 60% chez les patients âgés plus de 10 ans (Figure 33) avec un âge moyen global est de 23,25 ans ±17.6 avec une prédominance masculine (71%).

3.3.2. Répartition des hétérozygotes composites selon le génotype

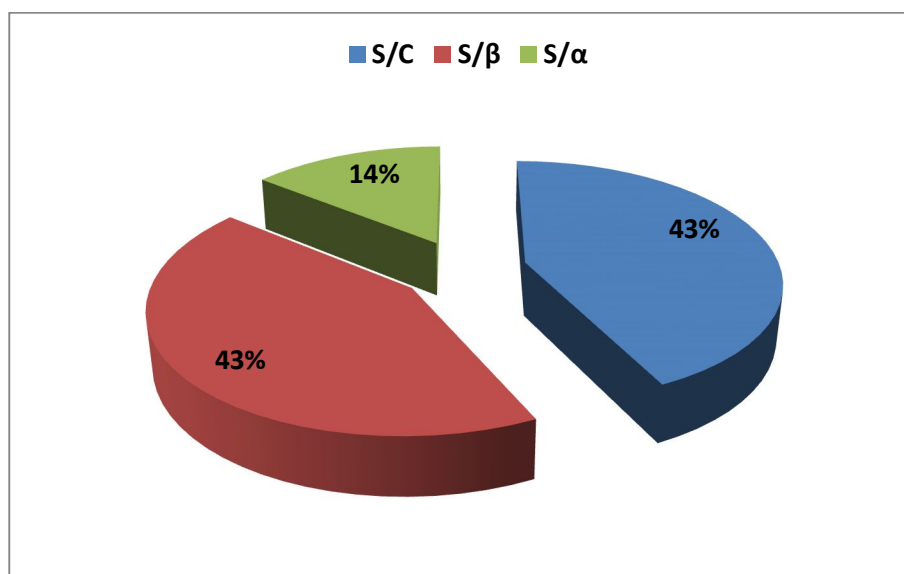


Figure 34 : Répartition des hétérozygotes composites diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon le génotype.

Chez les 7 cas hétérozygotes composites, 43% présentent une S/C, 43% une S/β et 14% une S/α (Figure 34).

3.3.3. Description des hétérozygotes composites S/C

3.3.3.1. Répartition des hétérozygotes composites S/C selon le sexe et l'âge

Tableau 16 : Répartition des hétérozygotes composites S/C selon le sexe et l'âge.

Age	Sexe	Enfant (≤ 10 ans)	Sujets (> 10 ans)
		Sexe féminin	0
Sexe masculin		01	0

Sur les 3 cas, 67% sont de sexe féminin et 33% sont de sexe masculin.

Deux tiers des doubles hétérozygotes S/C ont consulté pour faire une électrophorèse de l'Hb dans le but d'explorer une anémie, et un tiers dans le cadre d'une enquête familiale.

- Les résultats de l'hémogramme sont présentés ci-dessous :

Tableau 17: les résultats de l'hémogramme des sujets atteints d'une S/C.

Effectif	HB (g/dl)	VGM (fl)	TCMH (pg)	Taux de GR (10 ¹² /l)	Taux de rétic. (%)	
Enfant (≤10ans)	10,6	79,4	28,0	3,79	5,8	
Sujets	Femme 01	10,6	69	24,1	4,39	5,30
(>10ans)	Femme 02	8,8	72,9	25,1	3,59	/

Chez l'enfant :

- L'hémogramme révèle une anémie modérée régénérative ;
- Le frottis sanguin révèle la présence des microcytes, une hypochromie et des cellules cibles.

- L'électrophorèse capillaire de l'Hb montre les résultats suivant :

Tableau 18 : Profil hémoglobinique des sujets atteints d'une S/C.

Effectif	Hb A2(%)	Hb F(%)	Hb A(%)	Taux du variant (%)	
Enfant (≤10 ans)	2,9	10	0	Hb S= 52% Hb C=41,1%	
Sujets	Femme01	4,6	0,6	0	Hb S=51% Hb C=43,8%
(>10ans)	Femme02	4,1	4,1	0	Hb S=47,9% Hb C=43,9%

3.3.4. Description des hétérozygotes composites S/ β -thal

Parmi les 7 patients doubles hétérozygotes, 43 % présentent une drépanocytose associée à une β -thalassémie.

Les 3 patients ayant une S/ β -thal sont tous de sexe masculin, avec un âge moyen de 23 ans \pm 29,7.

Tableau 19 : Répartition des hétérozygotes composites S/ β -thal selon l'âge et le sexe.

Age	Sexe	Enfant (≤ 10 ans)	Sujets (> 10 ans)
	Sexe féminin	0	0
	Sexe masculin	01	02

- Les résultats de l'hémogramme sont :

Tableau 20 : L'hémogramme des patients hétérozygotes composites S/ β -thal.

Effectif	Taux de l'Hb (g/dl)	VGM (fl)	TCMH m (pg)	Taux de GR ($10^{12}/l$)	Taux de Rétic (%)	
Enfant (≤ 10 ans)	8,4	63,3	21,3	3,95	4,4	
(S/ β^0)						
Sujets (> 10 ans)	Homme01	8,0	61,3	20,3	3,95	14
	(S/ β^0)					
	Homme02	7,2	64,6	20,4	3,53	/
	(S/ β^+)					

Les résultats de l'hémogramme révèlent une anémie modérée à sévère microcytaire hypochrome.

Le frottis sanguin des patients montre : une microcytose à (+++), hypochromie à (+++) et une discrète poikilocytose.

- L'électrophorèse capillaire de l'Hb montre les résultats suivants :

Tableau 21 : Profil hémoglobinique des patients hétérozygotes composites S/ β -thal.

Effectif	Hb A2 (%)	Hb F (%)	Hb A(%)	Taux du variant (%)	
Enfant (≤ 10ans) (S/ β^0)	3,6	38,1	0	Hb S=58,3%	
Sujets (>10 ans)	Homme01 (S/ β^0)	6,3	11,3	0	Hb S=82,4%
	Homme02 (S/ β^+)	5,5	12	14,8	Hb S=61,9%

3.3.5. Les hétérozygotes composites S/variant α

Un seul cas a été détecté pendant la période d'étude. Il s'agit d'un jeune homme âgé de 25 ans. Il a été exploré dans le cadre d'une enquête familiale.

- Les résultats de l'hémogramme du patient sont :

Tableau 22 : L'hémogramme d'un sujet hétérozygote composite S/variant α .

effectif	HB (g/dl)	VGM (fl)	TCMH (pg)	Taux de GR (10^{12} /l)	Taux de rétic. (%)
Sujet atteint de S/α	14,2	76,2	25,0	5,67	1,14

L'hémogramme de ce patient révèle une légère microcytose ainsi qu'une hypochromie, confirmées par le frottis sanguin.

- L'électrophorèse de l'Hb effectuée pour ce patient a donné le profil suivant :

Tableau 23: Profil hémoglobinique d'un sujet hétérozygote composite S/variant α .

Effectif	Hb A2(%)	Hb F(%)	Hb A(%)	Taux du variant (%)
Sujet atteint de S/ α	4,1	0	53,9	Hb S= 33,3% Hb X= 8,1% Variant A2=0,6%

3.4. Les sujets atteints d'hémoglobine Sétif (variant Alpha)

3.4.1. Répartition des sujets atteints de l'Hb Sétif selon l'âge et le sexe

On a recensé quatre cas de variant alpha dont 75% sont âgés plus de 10 ans.

L'âge moyen global est de 41,25 ans \pm 22.41 avec un minimum de 8 ans et un maximum de 56 ans avec un sex-ratio de 0.33 soit un pourcentage de femme de 75% (Figure 35).

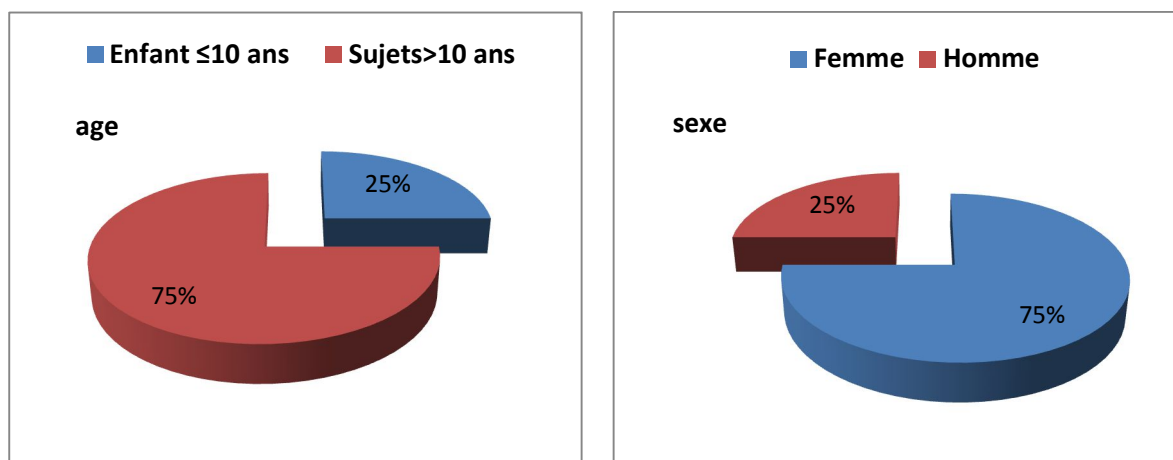


Figure 35: Répartition des sujets atteints de l'Hb Sétif diagnostiqués au laboratoire d'hémobiologie CHU de Tizi Ouzou (2014-2015), selon l'âge et le sexe.

Parmi les quatre patients atteints du variant Alpha, un seul enfant de sexe féminin âgée de 8 ans.

- Les résultats de l'hémogramme et le profil hémoglobinique réalisé sur électrophorèse capillaire sont comme suit :

Tableau 24 : Hémogramme des sujets atteints d'Hb Sétif.

Effectif	Taux de l'Hb (g/dl)	VGM (fl)	TCMH (pg)	Taux de GR ($10^{12}/l$)	Taux de Rétic (%)
Enfant (≤ 10 ans)	11,9	74,1	23,3	5,1	1,3
Sujets (>10ans)					
Homme	15	83,5	27,4	5,47	2
Femme01	12,6	77,0	24,3	5,18	<1
Femme02	11,8	90,1	28,6	4,13	<1

A l'hémogramme on note une légère microcytose ainsi qu'une hypochromie à une (+) chez deux patientes.

Tableau 25 : Profil hémoglobinique des sujets atteints d'Hb Sétif.

Effectif	Hb A2 (%)	Hb F (%)	Hb A(%)	Taux du variant (%)
Enfant (≤ 10 ans)	2	0,8	71,9	Hb X=25,3% Variant A2=0,8%
Sujets (>10ans)				
Homme	2,3	0	81,3	Hb X=15,8% Variant A2=0,6%
Femme	2	0,8	71,9	Hb X= 24,4% Variant A2=0,8%
01				
Femme	2,1	0	82,5	Hb X= 14,9% Variant A2=0,5%
02				

Le taux du variant varie entre 14,9 % et 24,4% chez l'adulte avec apparition d'une faible fraction A2.

3.5. Les sujets atteints d'hémoglobine instable (Hémoglobine Köln)

Pendant la période d'étude, un seul cas a été détecté, il est de sexe masculin âgé de 12ans.

- L'hémogramme était comme suit:

Tableau 26 : L'hémogramme d'un sujet atteint d'Hb instable.

Effectif	HB (g/dl)	VGM (fl)	TGMH (pg)	Taux de GR (10^{12} /l)	Taux de rétic. (%)
Sujet atteint d'Hb instable	10,6	90,5	24,5	4,32	7,4

L'hémogramme révèle une anémie régénérative, une microcytose et une hypochromie sur le frottis sanguin.

- L'électrophorèse capillaire a donné un profil hémoglobinique comme suit:

Tableau 27 : Profil hémoglobinique d'un sujet atteint d'Hb instable.

Effectif	Hb A2 (%)	Hb F (%)	Hb A (%)	Taux du variant (%)
Sujet atteint d'Hb instable	3,8	/	92,4	Hb Köln= 3,8

CHAPITRE III :
Discussion

1. Biais et limites de l'étude

Au cours de la réalisation de notre travail, on a rencontré certaines difficultés :

- L'absence d'informations complètes dans les registres ;
- L'âge des patients ne figurait pas toujours dans les registres soit parce qu'il n'existait pas sur les bulletins d'examen, soit par oubli lors de l'enregistrement au laboratoire ;
- La variable "ethnie" n'a pu être prise en compte car ne figurant ni dans les registres ni sur les bulletins d'examen ;
- La taille de l'échantillon a été un facteur limitant dans l'analyse des données; en effet les faibles effectifs obtenus dans la répartition des malades par tranche d'âge ne permettaient pas d'avoir une distribution en vue d'une analyse fiable.

2. Discussion

Notre étude a porté sur 687 patients adressés au laboratoire d'hémo-biologie afin de réaliser un examen d'électrophorèse capillaire de l'Hb.

La prévalence hospitalière des patients atteints d'Hb anormale trouvée dans notre étude est de 12% soit 79 patients, dont 40.5% (32 cas) diagnostiqués dans le cadre d'une enquête familiale.

Cette prévalence est identique à celle obtenue par une étude faite par Dr Khadijetou BA à Nouakchott, avec une différence non significative (DNS) [66].

L'âge moyen de nos patients est de $25,8 \pm 19,35$ ans, allant d'un an à 70 ans.

Au sein de notre étude, nous avons observé sensiblement les mêmes fréquences des hémoglobinoses aussi bien chez les femmes que chez les hommes soit un sex-ratio de 1,04 ; ceci est expliqué de point de vue génétique par la transmission de la tare qui se fait indépendamment du sexe.

L'analyse de nos résultats retrouve différents types de variants de l'Hb à savoir l'Hb S qui est de 63.3% versus 32% retrouvé dans l'étude réalisée par Mme BELHADI Kamilia à Batna avec une différence significative ($p < 0.0005$) cette différence pourrait être expliquée par le fait

que son étude incluait les thalassémies (anomalies de synthèse) ce qui n'est pas le cas dans notre étude [67].

Par contre, la proportion de l'Hb C retrouvée dans notre étude ne diffère de celle retrouvée dans l'étude de Mme BELHADI DNS (21.5% vs 20%) [67].

Cependant, le variant α (5.3%) et l'Hb instable (1.3%) sont présents à des taux plus faibles conformément aux données de la littérature [2].

Notre étude a détecté parmi les 63,3% d'Hb S, 86% de sujets drépanocytaires hétérozygotes (Hb S/A) dont 70% sont âgés de plus de 10 ans et ont été diagnostiqués tardivement ; ceci s'explique par le fait que ces formes hétérozygotes soient cliniquement asymptomatiques et leur découverte est soit fortuite ou lors d'une enquête familiale.

Les résultats de l'hémogramme obtenus pour la plupart des patients drépanocytaires hétérozygotes sont normaux ; ceci concorde avec les données de la littérature [3, 6], sauf pour certains patients où on a constaté une microcytose qui est due probablement à une carence martiale.

En revanche, la drépanocytose homozygote est diagnostiquée à l'âge précoce vu sa gravité particulièrement en l'absence de diagnostic précoce et de prise en charge appropriée. Au cours de notre étude, on a constaté 14% de sujets drépanocytaires homozygotes (Hb S/S). Parmi ces sujets S/S, **83% sont âgés de plus de 10 ans.**

Ces patients ont été adressés vers notre laboratoire pour un éventuel problème de diagnostic, non suivis au niveau du CHU et qui n'ont pas bénéficié d'une transfusion sanguine datant de moins de 3 mois.

La présence des formes homozygotes chez nos patients est due aux mariages consanguins dans notre pays, et à l'absence du conseil génétique systématique par les professionnels de santé. **D'où tout l'intérêt d'étudier le profil hémoglobinique à cet âge là.**

Ces patients drépanocytaires homozygotes présentent une anémie sévère, normocytaire, normochrome, très régénérative avec présence de drépanocytes sur le frottis sanguins conformément aux données de la littérature [3, 6].

Dans notre étude les taux moyens de l'Hb S chez les sujets S/A et S/S sont respectivement de 38,3% et 76,05%.

L'étude de Mme BELHADI Kamilia a retrouvé également un taux moyen de l'Hb S chez les S/A de 33.6% et un taux de l'Hb S chez les S/S qui varie entre 77% et 98% [67].

Les résultats de ces deux études correspondent aux données de la littérature [3, 6].

Pour ce qui est de l'hémoglobinoses C, notre étude n'a mis en évidence qu'un seul cas sous forme homozygote (Hb C/C) ; il en est de même pour l'étude effectuée au Burkina-Faso (1 cas), et l'étude du Dr Khadijetou BA (02 cas) [67, 68].

L'hémogramme de cette patiente a révélé une anémie microcytaire hypochrome et présence de cellules cibles sur le frottis, l'électrophorèse capillaire a donné un taux quantitatif de 95,3% d'Hb C, ces résultats correspondent aux données de la littérature [3,6].

Quant à la forme hétérozygote (Hb C/A), elle représente 94% de l'hémoglobinoses C avec un taux moyen du variant C de 35,25%. Les résultats de notre étude concordent avec les données de la littérature [3, 6].

Cependant, chez l'homme âgé plus de 10 ans, cette moyenne est de 32.7%, cette diminution du taux moyen du variant est probablement associée à une carence martiale qui est la cause la plus fréquente cependant le bilan martial n'as pas été fait chez ces patients faute de réactifs.

Dans cette dernière partie, nous citons deux exemples de patients présentant une Hb anormale diagnostiqués au niveau du laboratoire d'hémiologie CHU de Tizi-Ouzou.

Cas N°1 : Hémoglobine Sétif

Il s'agit d'une patiente X âgée de 48 ans diabétique ayant comme antécédents trois enfants décédés à la naissance suite à un ictère néonatal non étiqueté, originaire de Mekla (Tizi-Ouzou) et dont les parents ont un lien de consanguinité (1^{er} degré),

Les examens réalisés pour cette patiente sont :

- Hémogramme (NFS, frottis sanguin, taux de réticulocytes) ;
- Bilan martial ;
- Bilan d'hémolyse ;
- Electrophorèse capillaire (automate CAPILLARYS 2 Sebia) ;
- Chromatographie liquide haute performance (CLHP) sur automate D10 ;
- Electrophorèse à pH alcalin sur gel d'agarose.

L'étude génétique du gène α de l'Hb a été réalisée au laboratoire de biologie médicale du CHU de Lyon.

Les résultats des examens biologiques sont les suivants :

- A l'hémogramme : Absence d'anémie avec une microcytose à + et hypochromie à 2+, le taux de réticulocytes est non augmenté.

Tableau 28 : L'hémogramme de la patiente X.

Technique	Hémogramme				
Les valeurs	Hb (g/dl)	VGM (fl)	TCMH (pg)	GR ($10^{12}/l$)	Taux de rétic. (%)
Patiente X	12,6	77	24,3	5,18	<1%

- Les bilans d'hémolyse et bilan martial sont normaux.
- L'électrophorèse sur gel d'agarose révèle une fraction anormale au niveau S-D-G-Lepore (Figure 36)

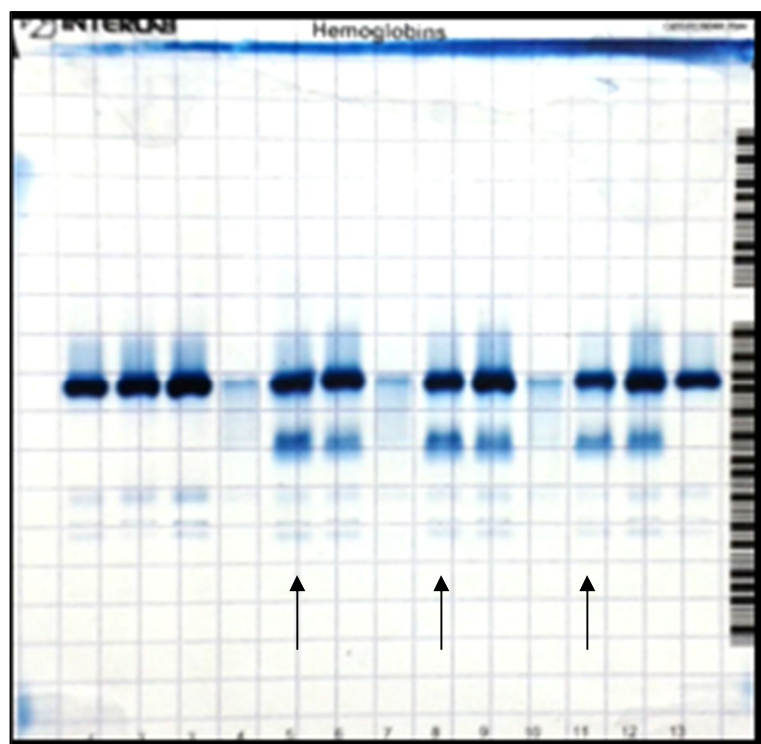


Figure 36 : Electrophorèse à pH alcalin sur gel d'agarose.

- L'électrophorèse capillaire ainsi que l'HPLC montrent :

Tableau 29 : Les résultats de l'électrophorèse capillaire et l'HPLC de la patiente X.

Technique	Electrophorèse capillaire (Figure 37)				HPLC (Figure 38)				
	A2 (%)	F (%)	A (%)	Variant X (%)	A2 (%)	F (%)	A (%)	Variant X (%)	TR (mn)
Patiente X	2	<1	72,8	VariantA = 24,4 VariantA2 = 0,8	2,8	<1	65,3	19,6	4,47

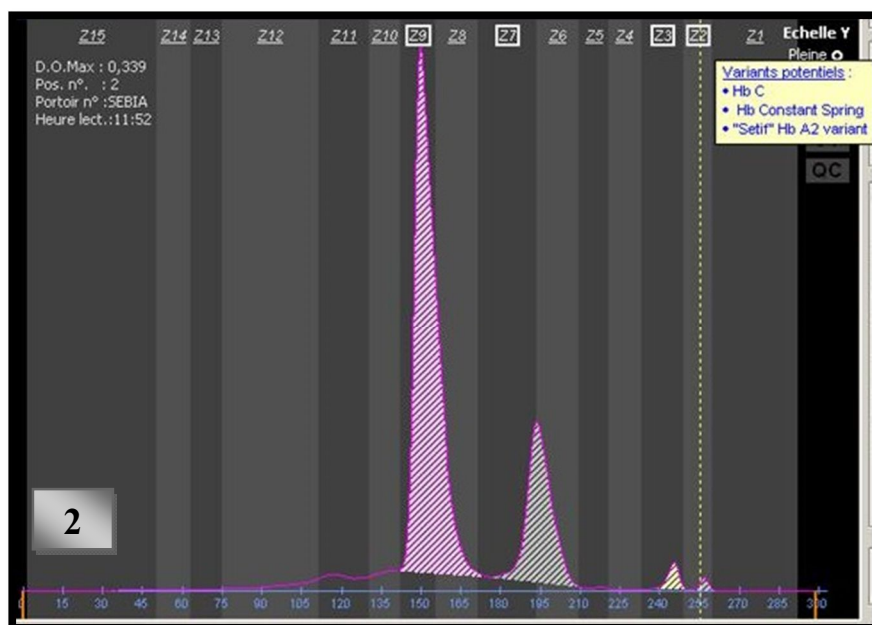
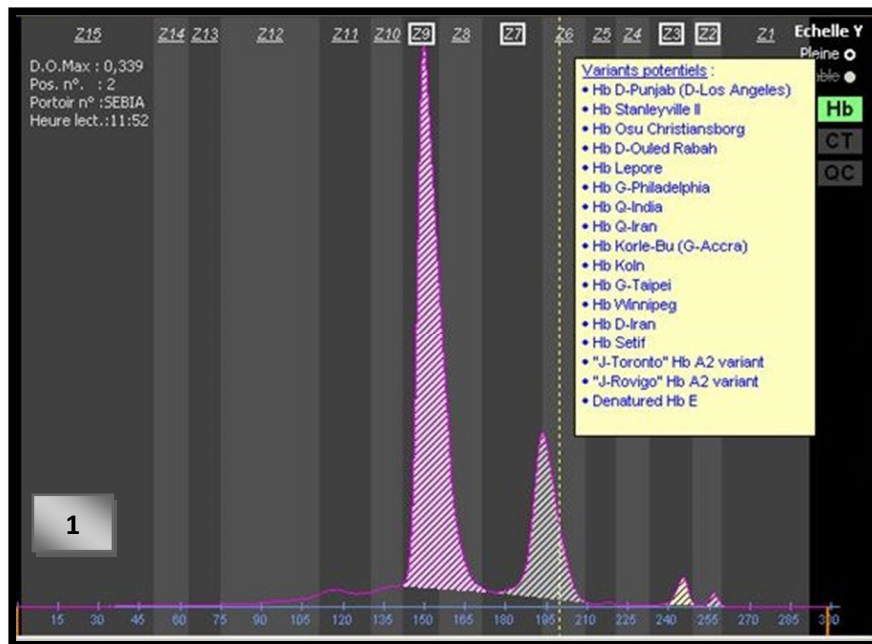


Figure 37 : Profil de migration de l'Hb Sétif (CAPILLARYS).

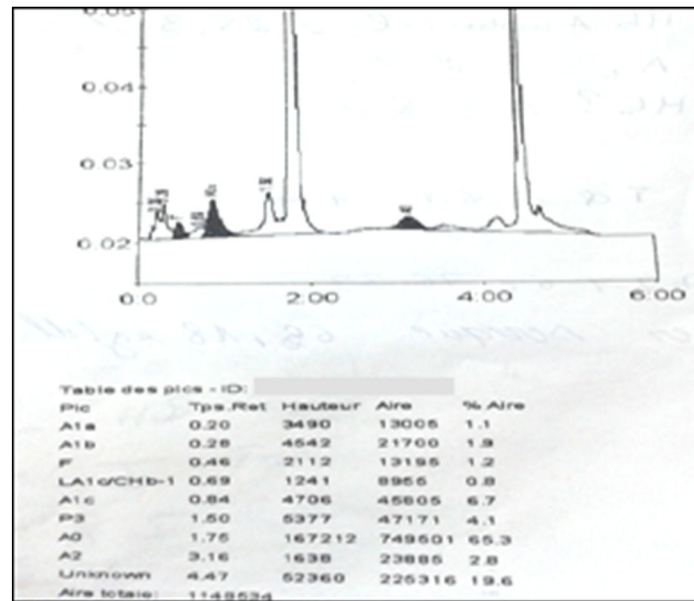


Figure 38 : Profil hémoglobinique obtenu par HPLC

- L'étude génétique a révélé une mutation (HbA2 :c.283 G>T) hétérozygote et qui correspond à une Hb de type Sétif.

Conclusion

- La patiente X présente une hémoglobinose hétérozygote asymptomatique de type Sétif (variant α), confirmée par l'étude génétique.
- Seule l'électrophorèse a permis de suspecter l'existence d'un variant α par l'existence d'une fraction surnuméraire migrant à coté de l'Hb A2.
- L'enquête familiale a révélé la présence de ce type d'hémoglobine chez les autres membres de la famille.

Cas N°2 : Hémoglobine Köln : Hémoglobine instable

Il s'agit d'un enfant de sexe masculin âgé de 13 ans originaire de Bordj Menail (willaya de Boumerdes). Présentant cliniquement une pâleur cutanéomuqueuse ; un ictère ainsi qu'une splénomégalie. Dans ses antécédents, l'enfant a fait une hémolyse aigue suite à une infection par le parvovirus B19 et qui a nécessité une transfusion sanguine.

Les examens effectués pour ce patient sont :

- Hémogramme (NFS, frottis sanguin, taux de réticulocytes) ;
- Bilan martial ;
- Bilan d'hémolyse ;
- Electrophorèse capillaire (automate CAPILLARYS 2 Sebia) ;
- Chromatographie liquide haute performance (CLHP) sur automate D10 ;
- Test de stabilité thermique à température 56°C ;

L'étude génétique du gène β de l'Hb a été réalisée au laboratoire de biologie médicale du CHU de Lyon.

Les résultats des examens biologiques sont :

Tableau 30 : L'hémogramme du patient.

Technique	Hémogramme				
Les valeurs	Hb (g/dl)	VGM (fl)	TCMH (pg)	GR ($10^{12}/l$)	Taux de rétic. (%)
Patiente X	10,6	90,5	24,5	4,32	7,4

- L'hémogramme montre une discrète anémie normocytaire hypochrome; une poikilocytose (sphérocytes, ovalocytes, dacryocytes et quelques schizocytes) ; très régénérative (un taux de réticulocytes à $319680 \text{ éléments}/\text{mm}^3$).
- Le bilan d'hémolyse et le bilan martial sont normaux.
- La présence d'une hémoglobine instable a été suggérée par l'utilisation d'une technique d'électrophorèse capillaire qui donne les taux suivants :

Tableau 31 : Les résultats de l'électrophorèse capillaire et l'HPLC du patient.

Technique	Electrophorèse capillaire (Figure39)				HPLC (Figure 40)				
	A2	F	A	Variant X	A2	F	A	Variant X (%)	TR (mn)
Fractions de l'Hb	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)		
Patient	3,8	<1	92,4	3,8	4,1	<0,8	83	7,6	4,65

- Présence de flocculats après incubation à 56°C
- L'étude génétique a révélé une mutation (HBB : c.295 G>A) hétérozygote correspondant à une Hb de type Köln hétérozygote.

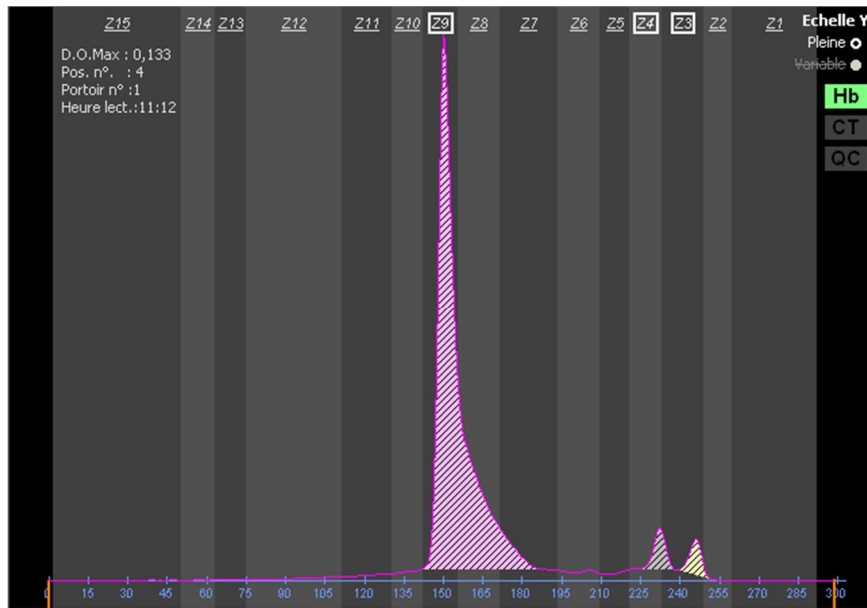


Figure 39 : Profil de migration de l'Hb Köln (CAPILLARYS).

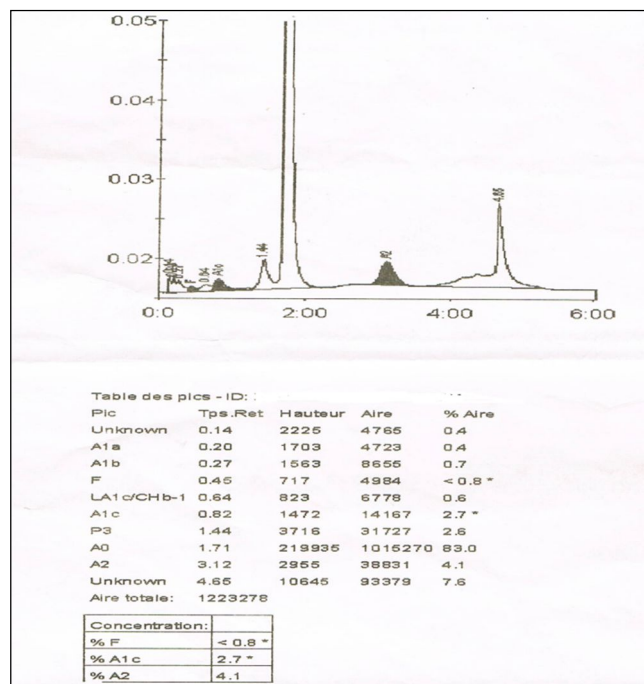


Figure 40 : Profil hémoglobinique obtenu par HPLC.

Conclusion :

L'existence d'une Hb de type Köln a été suspectée à cause de :

- la symptomatologie clinique instable.
- son taux qui était relativement bas.
- absence de cas similaires dans la famille.

L'étude génétique a permis de confirmer le diagnostic, il pourrait s'agir dans notre cas d'une néo-mutation.

Notre patient doit être suivi en hématologie, des recommandations doivent être données chez lui afin d'éviter tout facteur déclenchant l'hémolyse

Conclusion générale

Notre travail s'est focalisé sur l'étude descriptive des paramètres biologiques des variants de l'hémoglobine.

Cette étude a ciblé des patients diagnostiqués au service d'hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou durant une période de deux ans (2014-2015), nous a permis de retrouver une prévalence hospitalière non négligeable de 12% d'hémoglobine anormale.

Nos résultats retrouvent différents types de variants d'Hb : la drépanocytose qui est la plus fréquente avec un pourcentage de 63,3% suivie par l'hémoglobinosose C avec un pourcentage de 21,5%, en 3^{ème} position les hétérozygotes composites avec un pourcentage de 8,9% (S/ β thalassémie, S/C et S/variant α) enfin le variant α et l'hémoglobine instable constituent les variants les plus rares avec des pourcentages respectives de 5,1% et 1,3% ces résultats sont conformes aux données de la littérature.

Notre étude a porté également sur l'exploration des caractéristiques hématologiques (NFS et frottis sanguin) et électrophorétique ce qui a permis d'une part de fixer les valeurs moyennes des différents variants dans notre population d'étude, nous avons donc noté un taux moyen global d'Hb S de 38,3% chez les drépanocytaires hétérozygotes et de 76,05% chez les homozygotes. Un taux quantitatif de 95,3% d'Hb C rapporté chez un patient homozygote pour cette hémoglobinosose et de 35,15% chez les hétérozygotes.

D'autre part, l'utilisation de la technique d'électrophorèse capillaire en vue d'obtention de ces résultats s'avère être d'une grande utilité, et souvent d'une efficacité supérieure à celle de la chromatographie liquide à haute pression [9]. Hormis le fait que son interprétation soit plus aisée, elle permet l'identification précise de nombreux variants notamment le variant α et l'Hb instable dont les taux sont faibles grâce à son découpage en zones et à la précision de son tracé.

L'intérêt de l'étude de ces hémoglobines anormales permet de dépister les couples à risque et de leur proposer un conseil génétique ainsi qu'une prise en charge médicale précoce vu le retentissement clinique d'autant plus que l'introduction de biologie moléculaire dans le laboratoire pourrait dans un avenir proche poser le diagnostic de certitude.

Références bibliographiques

- [1] Annaix V, Pr Thuillier A. Hémoglobine. In : Vaubourdolle M. Biochimie Hématologie. 3^e éd. Alphen-sur-le-Rhin: Wolters Kluwer; 2007. p.757-777.
- [2] Wajcman H. Hémoglobines anormales. EMC-Hématologie. Fev 2015;10(1)13-006-D-15:1-7.
- [3] Vinatier I. Recommandations pour la mise en œuvre et l'interprétation de l'étude de l'hémoglobine. Les CAHIERS CERBA. 1:1-28.
- [4] Wajcman H. Hémoglobines : structure et fonction. EMC-Hématologie. 2005 ; 2 [13-000-R-60] :1-8.
- [5] Rosa J, Wajcman H, Blouquit Y. Hémoglobine. EMC - Hématologie [En ligne].1993Jan [Consulté le 06/02/2016] ; 13-000-S-10 : [23 pages].
Disponible sur : <http://www.em-premium.com>.
- [6] Couprie N. Les Hémoglobinopathies. Laboratoire Marcel Mérieux – Hématologie Spécialisée. 2000 : 1-24.
- [7] Gulbis B, Cotton F, Vertongen F. Hémoglobines anormales rares. EMC-Hématologie. 2004 ; 13-006-D-15 : 1-5.
- [8] Couque N, De Montalembert M. Diagnostic d'une hémoglobinopathie. feuillets de Biologie. Mar 2013 ; 311:5-18.
- [9] Schmidt M. Complémentarité des techniques d'électrophorèse capillaire et de CLHP dans le diagnostic des hémoglobinopathies [Thèse]. Lille : Université Lille 2 Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille; 2012.
- [10] Diakite SAS. Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves de paludisme A. P falciparum : résultats d'études préliminaires in vitro [Thèse]. Bamako : Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie;2005.
- [11] Biomnis. ELECTROPHORESE DE L'HEMOGLOBINE Recherche d'une anomalie de l'hémoglobine. Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées. 2012 : 1-4.
- [12] Charmot-Bensimon D. Les gènes de globines humaines : que nous apprend leur polymorphisme ?. Laboratoire de génétique et physiologique du développement, Centre Universitaire de Marseille : 1-7.
- [13] Bernard J, Levy JP, Varet B, Clauvel JP, Rain JD, Sultan Y. Abrégés d'hématologie. 8^e éd. Paris: Masson; 1996.
- [14] Labie D, Elion J. Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. EMC-Hématol. 2005;2:220-239.
- [15] Perrin JF. Biotechnologies et Bioanalyses [En ligne]. 2013 [mis à jour 2016 ; consulté le 18 Décembre 2015]. Disponible sur : http://www.perrin33.com/enzym/allosterie_2.php.
- [16] Zittoun R, Samama MM, Marie JP. Manuel d'hématologie. 5^e éd. Paris: Doin Editions; 1998.

- [17] Lelong M, Kaddari F, Paulin C, Sancho J, Cailliez M. Intérêt de l'étude du gène bêta globine dans le dépistage des hémoglobinopathies. *Immuno-anal Biol spe.* 2003;18(3): 260–3.
- [18] De Montalembert M. Syndromes thalassémiques. *EMC-Hématologie.* 2008;13-006-D-17:1-9.
- [19] Girot R, Maier-Redelsperger M, Neonato MG. Diagnostic biologique des maladies génétiques de l'hémoglobine. *Revue française des laboratoires.* Jan 2001;2001 N°329 Suppl 1: S11-5.
- [20] Lionnet F, Stankovic K, Girot R. Drépanocytose de l'adulte. *EMC-Hématologie.* 5 Juin 2009; 13-006-D-16:1-19.
- [21] Bachir D. Pathologie constitutionnelle du globule rouge: la Drépanocytose. *Revue française des Laboratoires.* Juin/Juil 2000; 2000(324):29-35.
- [22] Renaudier P. Physiopathologie de la drépanocytose. *Transfusion Clinique et Biologique.* Nov 2014; 21(4-5):178-181.
- [23] Dubart A, Goossens M, Beuzard Y, Monplaisir M, Dumez Y, Dubuisson J, et al. Le diagnostic prénatal dans les hémoglobinopathies humaines. *Reproduction Nutrition Développement.* 1980;20(2):523-537.
- [24] Aucourt J, Spas-Defasque E, Cotten A. Hémoglobinopathies et autres anémies. In: Cotten A. *Imagerie musculosquelettique-Pathologies générales.* 2^e éd. Paris: Elsevier Masson; 2013. p. 713-728.
- [25] Labie D, Elion J. Génétique et physiopathologie de la drépanocytose. In : Girot R, Bégué P, Galacteros F. *La drépanocytose.* Paris : John Libbey Eurotext ; 2003.p.5-10.
- [26] Girot R. maladies génétiques de l'hémoglobine. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture.* 1995; 1 : 10-20.
- [27] Errouane S, Guerrab M, El Mestari A, Zouaoui Z. Syndromes drépanocytaires majeurs et échange transfusionnel. XII^{ème} Congrès de la SAHTS ; 1-3 Oct 2015; Alger, Algérie. Sidi Bel Abbes: SAHTS; 2015.
- [28] Nagaraa M, Alba-Sauviat C, Simeona D, Gaudeau-Toussainta MF, Fontvielle F, Faucher G. L'hémoglobinoase C homozygote : à propos d'un cas de découverte fortuite. *Immuno-anal Biol spe.* 2009;24(4):210-6.
- [29] Bachir D, Galacteros F. Hemoglobin C disease. *Orphanet Encyclopedia.* Nov 2004:1-4.
- [30] Bryan A Mitton. Hemoglobin C disease: Overview, Clinical Presentation, Laboratory Studies. *Medscape.* 2014 Oct 7 ; 53:1-5.
- [31] Charache S, Lockard Conley C, David FW, Richard J, Ugoretz, Richard Spurell J, et al. Pathogenesis of Hemolytic Anemia in Homozygous Hemoglobin C Disease. *The Journal of Clinical Investigation.* 1967; 46(11):1795-1810.
- [32] Galois A, Mayeur Rousse C, Ame S, Christ C, Lancelle D, Sanjari F, et al. Hémoglobine C à propos d'un cas. *Maladie du GR hors thalassémies/drépanocytose ;* 21/Nov/2012 ; Paris, France. Marseille : GFHC ; 2012.

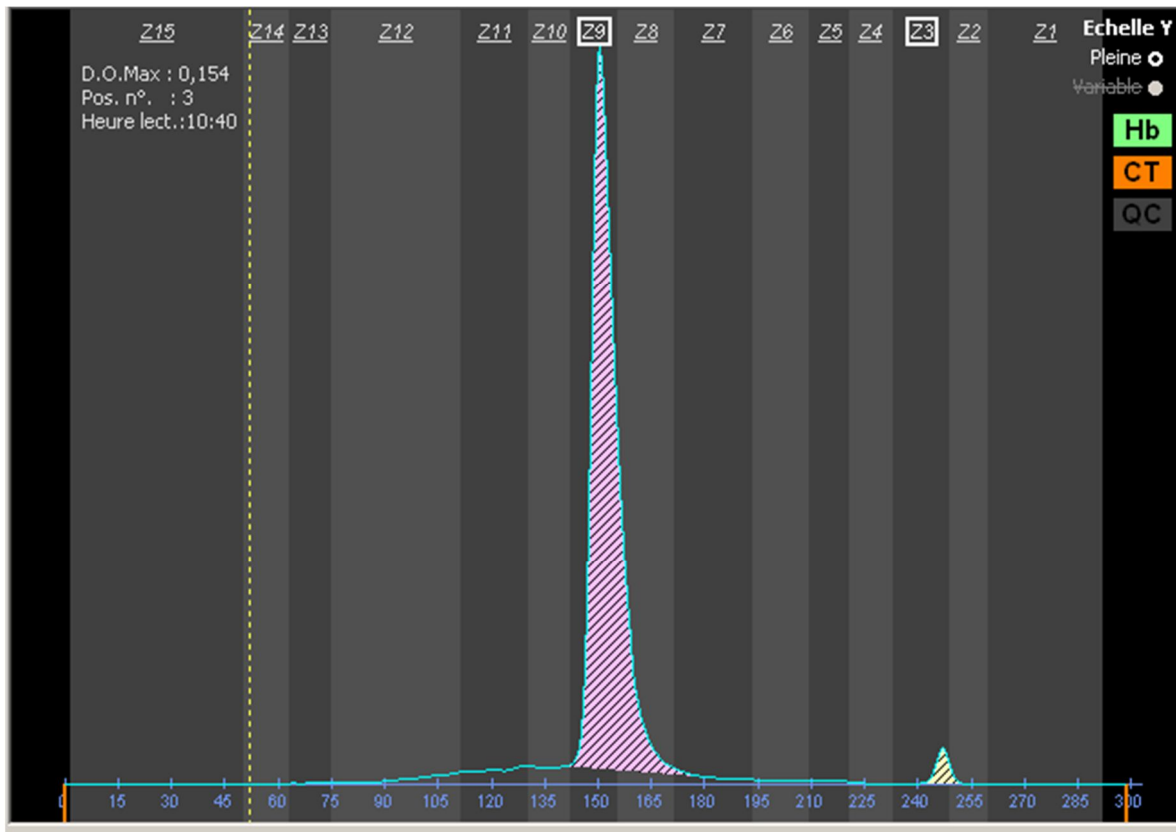
- [33] Steadman JH, Yates A, Huettner ER. Idiopathic Heinz body Anaemia : Hb-Bristol (β 67(E11) Val \rightarrow Asp). Br J Haematol [En ligne]. 1970 [consulté le 17/Fev/2016]; 18(4): [13]. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/>.
- [34] Kutlar A, directeur. Laboratory diagnosis of hemoglobinopathies. Congrès national d'hématologie ; 31 Octobre à 3 Novembre 2012 ; Antalya, Turquie. USA : Sickle Cell Center Georgia Health Sciences University ; 2012.
- [35] Charache S, Weatherall DJ, Clegg JB. Polycythemia associated with a hemoglobinopathy. J Clin Invest. 1966 ; 45(6): 813-822.
- [36] Alain J, Rowe M. Structure-function relations of human hemoglobins. Baylor University Medical Center. 2006 ; 19(3): 239-245.
- [37] Nute P, Stamatoyannopoulos G, Hermodson M, Roth D. Hemoglobinopathic erythrocytosis due to a new electrophoretically silent variant, Hemoglobin San Diego (β 109 [G11] Val \rightarrow Met). J Clin Invest. 1974; 53(1):320-8.
- [38] Sugihara J, Imamura T, Nagafuchi S, Bonaventura J, Bonaventura C, Cashon R. Hemoglobin Rahere, A Human Hemoglobin Variant with Amino Acid Substitution at the 2,3-Diphosphoglycerate Binding Site ; Hemoglobin Rahere Causing Erythrocytosis. J Clin Invest. 1985 Sep ; 76(3) :1169-1173.
- [39] Pavic M, Rousset H. Les polyglobulies héréditaires. La Revue de Médecine Interne. 2003; 24(8): 514-521.
- [40] Cheminel V, Prevosto JM, Dusseau JY, Martinez JY, Francina A, Crevon L. A propos d'un cas original de polyglobulie asymptomatique. Annales de Biologie Clinique [En ligne]. 2000 [Consulté le 02/Fèv/2016] ; 58(5): [2 pages]. Disponible Sur : http://www.jle.com/fr/revues/abc/edocs/a_propos_dun_cas_original_de_polyglobulie_asymptomatique_50419/article.phtml.
- [41] Beauvais P. Les méthémoglobinémies héréditaires. Archives de Pédiatrie. 2000; 7(5):513-8.
- [42] Gerald PS, Efron ML. Chemical studies of several varieties of hemoglobin M. Proc Natl Acad Sci USA. 1961 Nov 15; 47(11): 1758-67.
- [43] Bennaoui F, Draiss G, Bourrous M, Bouskraoui M. La méthémoglobinémie congénitale : à propos d'un cas. Journal de pédiatrie et de puériculture. 2010 ; 23(4) :198-200.
- [44] Moira A, Crowley, Todd L, Mollan, Osheisa Y, Abdulmalik DVM, et al. A Hemoglobin Variant Associated with Neonatal Cyanosis and Anemia. N Engl J Med. 2011 May 12; 364(19):1837-1843.
- [45] Torres L, Okumura Js, Humberto da Silva DG, Domingos CRB. Hemoglobin D-Punjab: origin, distribution and laboratory diagnosis. Rev Bras Hematol Hemoter. 2015; 37(2): 120-6.
- [46] Zaherinia M, Ayatollahi M, Rastegar M, Amanat Sh, Askarinejad AR, Amirghofran S et al. Hemoglobin D (Hb D Punjab/ Los Angeles and Hb D Iran) and Co-Inheritance with Alpha- and Beta- Thalassemia in southern Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2011 July ; 13 (7) : 493-8.

- [47] El Maataoui A, Ouzzif Z. L'hémoglobine C/O_{Arabe} : histoire d'une famille. Pathologie Biologie. 13 Oct 2012; 60(5):320-1.
- [48] Elmachtani Idrissi S, El Omrib N, El Jaoudic R, Damia A, Bouhsaina S, Ouzzifa Z, et al . Hémoglobinopathie O Arab homozygote dans une famille marocaine. Immuno-analyse et biologie spécialisée. 2012 ; 27(5) :268-271.
- [49] Phylipsen M, Gallivan MV, Arkesteijn SG, Harteveld CL, Giordano PC. Occurrence of common and rare δ -globin gene defects in two multiethnic populations: thirteen new mutations and the significance of δ -globin gene defects in β -thalassemia diagnostics. Int J Lab Hematol.2011 [consulté le 26/02/2016];33(1):[7pages].
Disponible sur : <http://onlinelibrary.wiley.com/>.
- [50] Wajcman H, Belkhodja O, Labie D. Hb SETIF: G1 (94) α Asp \rightarrow Tyr. A new α 1 chain hemoglobin variant with substitution of the Residue involved in a hydrogen bond between unlike subunits .FEBS LETTERS. 1972;27(2) : 298-300.
- [51] Nangia A, Sharma S, Sethi N, Puri V, Pujani M, Beniwal A. Pseudo-sikle anemia : Two case reports. Indian J Hematol Blood Transfus. 2014 Sept ; 30(1) : 303-4.
- [52] Guerard V. Mise en place de l'électrophorèse capillaire MINICAP ®(Sebia) pour le diagnostic des hémoglobinopathies au CHU de Nancy [Thèse]. Nancy : Université de Lorraine ; 2014.
- [53] North ML, Piffaut MC, Duwig I. Hémoglobinopathies : actualisation sur le diagnostic. Revue française des laboratoires. Avr/Mai 1995 ; 95(275) :107-116.
- [54] Bardakdjian-Michau J , Dhondt JL, Ducrocq R, Galactéros F, Guyard A, Huchet FX et al . Bonne pratique de l'étude de l'hémoglobine. Ann Biol Clin. 2003 ; 61(4) : 401-9.
- [55] Ou CN, Rognerud CL. Diagnosis of hemoglobinopathies: electrophoresis vs HPLC. Clin Chim Acta. 2001; 313(1-2):187-194.
- [56] Hartwell SK, Srisawang B, Kongtawelert P, Christian GD, Grudpan K. Review on screening and analysis techniques for hemoglobin variants and thalassemia. Talanta. 2005; 65(5): 1149-61.
- [57] Cotton F, Vertongen F, Gulbis B. Électrophorèse capillaire et hémoglobinopathies. Immuno-analyse & Biologie spécialisée. 2006 ; 21(1) :45-50.
- [58] Cerdon C. Apport de l'électrophorèse capillaire à l'étude des flavonoides [Mémoire]. Lyon : Université Claude Bernard Lyon I : 1996 -1997.
- [59] Schmidt M. Docteur. Passage de l'électrophorèse sur gel à l'électrophorèse capillaire ; 03 Octobre 2008 ; Neuchâtel, Suisse. Neuchâtel : ADMED, 2008.
- [60] Faculté des sciences d'Orsay. Généralités sur la chromatographie. 2003 [Consulté le 20/02/2016] Disponible sur :
<http://www.masterchimie1.upsud.fr/Chromatoweb/Generalites%20chromato.html>.

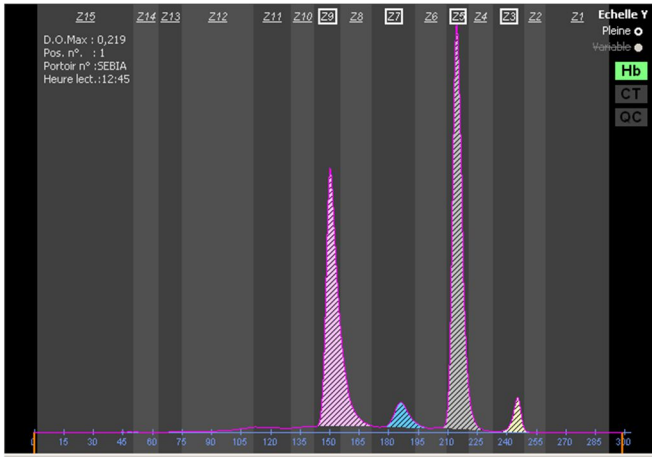
- [61] Siguret V, Andreux JP. Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype. PubMed. 1997 ; 55(2) :1-8.
- [62] Bardakdjian-Michau J, Bachir D. Bonne pratique de l'étude de l'hémoglobine. Congrès Bio-Rad ; 06 Mai 2003 ; Créteil, France. Californie : Biorad ;2003.
- [63] Aguilar-Martinez P, Badens C, Bonello-Palot N, Cadet E, Couque N, Ducrocq R ; Arbres décisionnels pour le diagnostic et la caractérisation moléculaire des hémoglobinopathies. Ann Biol Clin.2010 ; 68 (4) : 455-64.
- [64] Labie D. Analyse génotypique au cours des hémoglobinopathies. Revue française des laboratoires. Avr/Mai 1995;95(275):117-120.
- [65] Organisation mondiale de la santé (OMS) 2004.
- [66] Khadijetou BA. Etude épidémiologique des hémoglobinopathies chez les femmes enceintes en consultation prénatale dans les centres de santé de Sebkha et Teyarett à Nouakchott [Mémoire]. Nouakchott : Université de Nouakchott Faculté de médecine; 2013.
- [67] Belhadi K. Etude des hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna [Mémoire]. Batna : Université El Hadj Lakhder Faculté des sciences Département de Biologie; 2011.
- [68] Beogo R. Hémoglobinoses S,C et transfusion sanguine : Etude de l'évolution dans le temps des constantes érythrocytaires au Centre Hospitalier National Souro De Bobodioulasso (Burkina Faso) [Thèse]. Burkina Faso : Université de Ouagadougou Faculté des sciences de la santé (F.S.S); 1997.

Annexe I

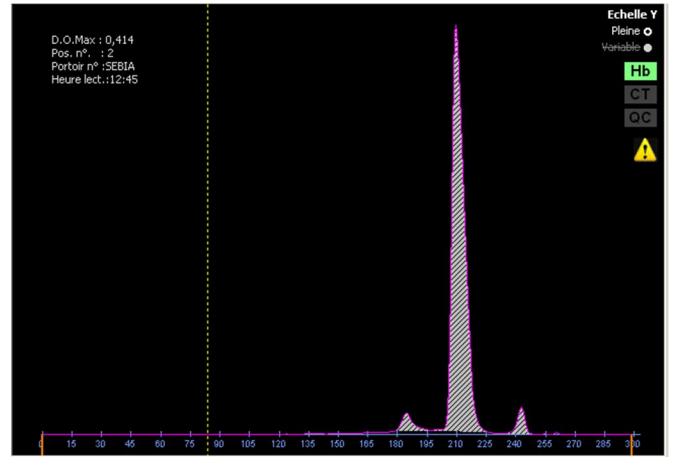
Exemples de profils obtenus par l'électrophorèse capillaire (EC)



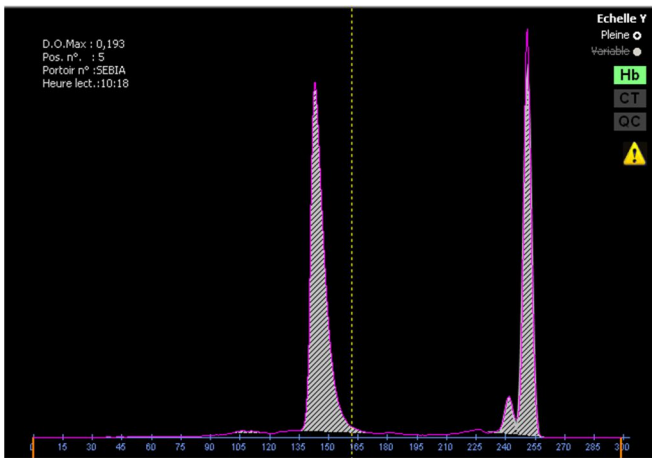
Profil normal obtenu par l'électrophorèse capillaire.



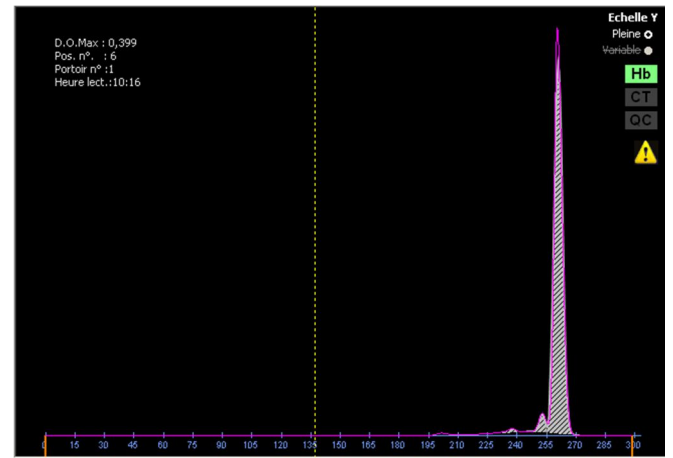
Profil d'un drépanocytaire hétérozygote



Profil d'un drépanocytaire homozygote



Profil d'un sujet atteint d'une hémoglobinose C hétérozygote



Profil d'un sujet atteint d'une hémoglobinose C homozygote

Centre Hospitalo-Universitaire

De Tizi-Ouzou

Hôpital Nedir Mohammed

Service Hémobiologie

Unité de Biochimie Hématologie

Tizi-Ouzou, le :.....

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 :

Bilan biochimique :

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

- Fer sérique :
- Ferritinémie :.....
- CRP :
- VS :.....
- Haptoglobine :
- Bilirubine :.....
- Test de COOMBS :.....

Médecin prescripteur :

Service :

Résumé

Introduction : Les hémoglobines anormales sont le résultat de la mutation d'un gène de globine, qui se traduit par la synthèse d'une protéine altérée.

Objectif : Déterminer les paramètres biologiques des variants de l'hémoglobine diagnostiqués au service d'hémo-biologie CHU de Tizi-Ouzou.

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective des paramètres biologiques des patients atteints d'hémoglobinose.

Résultats : Au terme de notre étude 12% des patients présentent une Hb anormale. La drépanocytose représente le variant le plus répandu (63,3%) avec un taux moyen de l'Hb S de 38,3% chez les hétérozygotes et de 76% chez les homozygotes. Suivie de l'hémoglobinose C (21,5%) avec un taux moyen de l'Hb C de 35% chez les hétérozygotes. Les hétérozygotes composites occupent la 3^e position (8,9%), les variants α (5,1%) et l'Hb instable (1,3%) constituent les variants rares avec des taux plus faibles du variant.

Conclusion : Notre travail nous a permis de constater une fréquence relativement importante des anomalies de l'hémoglobine. La détection de ces variants permet de dépister les couples à risque et de leur proposer un conseil génétique.

Mots clés : Hémoglobine anormale, électrophorèse capillaire de l'Hb.

Abstract

Introduction : Abnormal hemoglobins are the result of the mutation of a globin gene, which results in the synthesis of an altered protein.

Objective : To evaluate the biological parameters of hemoglobin variants diagnosed in hemobiology laboratory CHU of Tizi-Ouzou.

Material and methods : This is a retrospective descriptive study of biological parameters of patients with Hb.

Results: At the end of our study 12% of patients have an abnormal Hb. Sickle cell disease is the most common variant (63.3%) with an average rate of Hb S 38.3% in heterozygous and 76% in homozygous. Followed by hemoglobin C (21.5%) with an average rate of Hb C 35% in heterozygotes. Compound heterozygotes occupy the third position (8.9%), the α variants (5.1%) and the unstable Hb (1.3%) are the rare variants with lower levels of the variant.

Conclusion: Our work has allowed us to see a relatively high frequency of hemoglobin abnormalities. The detection of these variants can detect couples at risk and offer them genetic counseling.

Keywords: Abnormal hemoglobin, Capillary electrophoresis Hb.