

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire : Biologie Moléculaire des
Procaryotes

Département: Biologie

**Thème : Etude épidémiologique des hémoglobinopathies dans la région
de**

Guelma pendant la période 2010-2016

Présenté par :

- Bousensla Fatima Zohra
- Grini Leyla
- Kantas Nora

Devant le jury composé de :

Président	: Benouareth Djamel Eddine	Professeur	Université de Guelma
Examineur	: Zidi Sorour	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur	: Abdaoui Wissem	M.A.B	Université de Guelma

Juin 2016

Remerciement

Remerciement

Au nom de Dieu le clément et le miséricorde, Dieu le grand merci lui revient, pour son aide et la volonté qu'il nous a donné pour surmonter toutes les obstacles et les difficultés durant nos années d'études et de nous avoir éclairé le chemin afin de réaliser ce modeste travail.

Nos remerciements les plus vifs et profonds vont en premier lieu a la personne qui nous a dirigé, orienté et conseillé, tout au long de ce travail avec compétence et gentillesse, Mme Abdaoui Wissem sincèrement merci.

Nous remerciements vont aussi pour les membres du jury :

Mr : Benouareth D.E d'avoir bien voulu présider le jury d'examination.

Mme : Zaidi Sourour d'avoir bien voulu examiner ce modeste travail.

Enfin nous adressons nos remerciements à tous les personnes qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce fruit de mes années d'études les plus chère au monde a :

A la personne la plus chère pour moi dans ce monde ma mère qui est la fleur de ma vie, le symbole de l'amour et la tendresse qui s'es sacrifier Pour mon bonheur et ma réussite.

A mon père qui a fais de moi, ce que je suis aujourd'hui.

A mon très chers frères : Djamel et son épouse Warda et leurs petite enfant Zakaria

A mon ange frère Kamal : les mots ne suffise guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma sœur nassira et son mari Djamel et leur enfants Yacine, Oussama, Nasreddine, Hanen.

A ma sœur Razika et son mari Hassen

A ma sœur Sana et son mari Ahmed et ses enfants Haythem, Ayoub, Lina

A mes chers collègues de biologie moléculaire et surtout mes chères binôme Zahra et Nora.

Un profond respect et un remerciement particulier pour Mr Benouareth Djamel Eddine et Mme khellaf mesouda pour Vos sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués.

A notre Encadreur Abdaoui Wissem Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute le respecte.

Dédicace

Merci a Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire, de réfléchir, d'avoir la force d'en croire en lui est surtout d'avoir la patience de persévérer jusqu'à la réalisation de mon rêve et de mon bonheur.

Je dédie ce travail aux deux personnes les plus tendres au monde, qui ont veillé à ce que j'arrive là où j'en suis, qui m'ont apportés leur soutien, et qui ont été les jours et nuits pour que je réussisse. Qu'Allah vous protège et vous garde pour moi mes chers parents "ma mère Fatima et mon père Ibrahîm".

A ma chère sœur Nesrine : Merci pour tes encouragements, tu as toujours su trouver les mots qui conviennent pour me remonter la morale dans les moments pénibles, grâce à toi j'ai pu surmonter toutes les difficultés.

A mon frère Chahine : sache que votre absence aujourd'hui laisse un grand vide dans mon cœur.

A mon fiancé Sami : merci pour votre encouragement dans mes études, Ta présence m'inspire la sérénité et la tranquillité de l'âme.

A ma chère amie Hanane : ma fidèle compagne dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse, Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur.

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A mes chères amies : Jasmine, Yasmina, Amina, Mouna, Zahra, Fatima, Ismahane.

A mes chers collègues de biologie moléculaire et surtout mes chères binômes Leyla et Nora.

Un profond respect et un remerciement particulier pour Mr Benouareth Djamel Eddine et Mme Kheïlaf Mesouda pour vos sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués.

A notre Encadreur Abdaoui Wissem Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute le respect.

Je dédie ce travail :

A tous ma vie, la lumière de mes yeux, à ma chérie ma mère et mon chérie mon père

A mon oiseau Rokaya j'aime beaucoup

A mes chères sœurs : Karima, Rabiha, zahia, Abba, Selma, Nassira et son mari Kamel et ses enfants qui ma aidé a tous la période de mon travail

A mes frères : Rabah et Khaled

A mon amie Radia et mon amie intime moufida

A mes chers collègues de biologie moléculaire et surtout mes chères binôme Leyla et Zahra.

Un profond respect et un remerciement particulier pour Mr Benouareth Djamel Eddine et Mme khellaf mesouda et Mme Grara pour Vos sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués.

A notre Encadreur Abdaoui Wissem Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute le respecte.

Table de matière

Glossaire

Liste des signes et abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre 01 : L'hémoglobine

1. Définition de l'hémoglobine.....	3
2. Structure	3
3. Composition de l'hémoglobine	4
3.1. L'hème	4
3.2. La globine	5
4. Fonctions de l'hémoglobine	6
4.1. Le transport de l'oxygène	6
4.2. Le transport de CO ₂	7
4.3. Les pouvoir tampon	7
5. Variétés de l'hémoglobine humaine	7
5.1. L'hémoglobine normale.....	7
5.2. L'hémoglobine anormale	8
6. Contrôle génétique de la synthèse de l'hémoglobine	10

Chapitre 02 : Les hémoglobinopathies

1. Définition.....	12
2. Génétique des hémoglobinopathies	12
3. Le mode de transmission des hémoglobinopathies	12
4. Classification	13
4.1. Anomalie qualitative : la drépanocytose	13
4.1.1. Définition	13
4.1.2. Physiopathologie	13
4.1.3. Les différents types de la drépanocytose.....	14
A. La drépanocytose hétérozygote AS	15
B. La drépanocytose homozygote SS	15

4.1.4. Clinique	15
4.1.5. Traitement	15
4.2. Anomalie quantitative : les thalassémies	16
4.2.1. Définition	16
4.2.2. Physiopathologie	16
4.2.2. Différents types de la thalassémie.....	17
A. α thalassémies	17
B. β thalassémie	19
4.2.4 Clinique	21
4.2.5 Traitement	21

Chapitre 03 : Diagnostic biologique des hémoglobinopathies

1. Diagnostic biologique de l'hémoglobinopathie	22
1.1. L'hémogramme.....	22
1.2. L'électrophorèse de l'hémoglobine	22
1.2.1. L'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin (pH=8,5) sur Hydrasys.....	22
1.2.2. L'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin sur Capillarys	23
1.2.3. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH acide (pH = 6,0).....	23
2. Autre techniques	24
2.1. Chromatographie liquide à haute pression ou CLHP	24
2.2. Isoélectrofocalisation	24
2.3. Frottis Sanguin	25
2.4. Test de falciformation / Test d'Emmel	25
3. Examens biochimiques	25
3.1. Protéinogramme.....	25
3.2. Evaluation du fer sérique	26
3.3. Evaluation de la bilirubine	26

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

1. Matériels et méthodes.....	27
1.1. Type d'étude	27
1.2. Choix de la région d'étude.....	27

1.3. Techniques utilisées pour l'étude	27
1.3.1. Technique Numération Formule Sanguin	28
A. Numération des globules rouges.....	28
B. Volume globulaire moyen (VGM).....	29
C. L'hématocrite (HT).....	29
D. Le taux d'hémoglobine (Hb).....	29
E. Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)	29
1.3.2. Frottis sanguin.....	29
1.3.3. Electrophorèse capillaire d'hémoglobine Capillarys	29
A .Principe de l'électrophorèse	30
B. Echantillons utilisés	31

Chapitre 02 : Résultats et discussion

1. Répartition des malades selon le type des hémoglobinopathies.....	32
2. Etude des profils électrophorétiques des malades selon les différents types des hémoglobinopathies.....	33
1.1. Les β thalassémies mineurs.....	34
1.2. Les drépanocytoses homozygotes (S/S)	35
1.3. Les drépanocytoses hétérozygotes A/S.....	36
1.4. L' hémoglobinosose C hétérozygote	37
3. Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma.....	38
4. Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon le sexe	40
5. Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon l'âge	41

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Glossaire

Cyanose : désigne un symptôme clinique consistant en la coloration bleutée que prennent la peau et les muqueuses lorsque le sang contient plus de 5 grammes par décilitre d'hémoglobine désoxygénée.

Erythroblaste : Cellule possédant un noyau et se trouvant dans la moelle osseuse dont la maturation, par perte du noyau et charge en hémoglobine, aboutira à un globule rouge. Il en existe de différentes tailles (microblastes, normoblastes, mégalo-blastes). L'érythroblaste est un globule rouge immature.

Hétérozygote : est un individu qui porte deux allèles différents d'un même gène.

Hétérozygote composite : Personne qui est hétérozygote pour deux différents allèles mutants du même locus

Homozygote : Se dit d'un individu dont les allèles (gènes de même fonction, situés au même niveau et portés sur les chromosomes d'une même paire) sont identiques.

Méthémoglobinémie : est une diminution héréditaire ou acquise de la capacité des globules rouges à transporter l'oxygène.

Protoporphyrines : sont les précurseurs des porphyrines, protéines extrêmement répandues et nécessaires à un grand nombre d'espèces, jouant un rôle majeur de transport de l'oxygène dans le sang ou en matière de photosynthèse chez les plantes.

Pyrrroles : sont les composants les plus importants parmi ceux possédant un cycle aromatique. Ils entrent dans la structure des porphyrines telles que l'hème, des chlorines telles que la chlorophylle et du noyau corrine de la vitamine B₁₂.

Réticulocyte : est un jeune globule rouge. Il est fabriqué par la moëlle osseuse, en remplacement des globules rouges en fin de vie.

succinyl-coenzyme A : usuellement abrégée en succinyl-CoA, est l'un des intermédiaires du Cycle de Krebs.

Liste des signes et abréviations

Hb : Hémoglobine.

PM : Poids Moléculaire

EDTA : Ethylène-diamine-tétra-acétate

GR : Globule Rouge

VGM : Volume Globulaire Moyen

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

PHHF : persistance héréditaire de l'hémoglobine.

Hb A: Hemoglobine Adulte

HB A2: Hemoglobine Adulte 2

Hb F: Hemoglobine foetale

Hb S: Hemoglobine S

Htc: Hematocrite

GB : Globule blanc

Glu : Acide glutamique

Lys : lysine

Val: valine

GR : Globule rouge

G6PD : Glucose 6 phosphate deshydrogenase

CVO : Crises Vaso-Occlusives

α: alpha

β : beta

γ : gamma

ε : epsilon

δ : delta

ζ : xi

θ : theta

ψ : psi

Liste des figures

Numéro de figure	Titre de figure	Numéro de page
1	Molécule d'hémoglobine	03
2	Structure quaternaire de l'hémoglobine	04
3	Structure biochimique de l'hème	05
4	Structure de l'hémoglobine : tétramère constitué de quatre chaînes de globine identique deux α deux et d'hème oxydé	05
5	formes des gènes de l'hémoglobine	06
6	Localisation des gènes de la globine humaine	11
7	Transmission autosomique récessive des hémoglobinopathies	13
8	Phénomène de falciformation	14
9	Photo de l'Automate médonique CA 620	29
10	Principe d'un système d'électrophorèse capillaire	31
11	Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies	33
12	Profil électrophorétique d'un sang normal	34
13	Profil électrophorétique d'un sang β -thalassémique mineur	34
14	Profil électrophorétique d'un sang avec variant homozygote	35
15	Profil électrophorétique d'un sang avec variant hétérozygote HbS	36

16	Profil électrophorétique d'un sang avec hémoglobine C hétérozygotes	37
17	Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma	39
18	Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon le sexe	40
19	Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon l'âge	42

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre de tableau	Numéro de page
1	Hémoglobines normales exprimées au cours de la vie	08
2	Nomenclature des principales hémoglobines anormales par ordre alphabétique	10
3	Classification génique et phénotypique des principales α -thalassémies	18
4	Classification clinique et génétique des β -thalassémies	20
5	Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies.	32
6	Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma	39
7	Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la région de Guelma selon le sexe	40
8	Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la région de Guelma selon l'âge	41

Introduction

L'hémoglobine est un pigment respiratoire de couleur rougeâtre, contenue à l'intérieur des hématies et représentant 33 % de la masse de la cellule. C'est un métallo-protéine globulaire qui se trouve pratiquement chez tous les vertébrés. Elle est constituée par l'association d'un groupement non protéique qui est l'élément fonctionnel, l'hème, et d'un groupement protéique, la globine, leur rôle essentiel est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus et de l'anhydride carbonique des tissus aux des poumons (Belhani, 1987).

Les conséquences pathologiques d'un événement mutationnel sur les gènes qui codent pour les chaînes de l'hémoglobine sont habituellement de deux types. Ils peuvent affecter soit la structure de l'hémoglobine (et aussi sa fonction) soit les mécanismes de sa synthèse. Dans le premier cas on parle d'hémoglobine anormale comme c'est le cas pour l'hémoglobine S qui est responsable de la drépanocytose. Dans le deuxième cas, on parle de thalassémie, terme qui englobe un groupe hétérogène de désordres au niveau hématologique, caractérisé par l'absence ou la diminution de synthèse de l'une ou plusieurs chaînes de l'hémoglobine. Il existe aussi des anomalies mixtes et des associations (Rochette J et Charbit Y, 1990).

Il existe plusieurs techniques utilisées dans le diagnostic des hémoglobinopathies. Le diagnostic biologique repose sur 3 examens clés qui sont : l'hémoграмme, l'électrophorèse de l'Hb et le test de falciformation. Il ya d'autres tests biochimiques affirmant le caractère hémolytique de l'anémie qui peuvent être faites.

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

Dans le cadre d'un conseil génétique, lorsqu'est détectée une anomalie de l'hémoglobine chez un parent, il est important que l'autre parent soit examiné. D'où la nécessité d'introduire l'électrophorèse de l'hémoglobine dans le bilan pré-nuptial pour dépister dès le départ les couples à risque d'avoir une descendance malade.

L'objectif de notre travail consiste à rechercher les hémoglobinopathies les plus fréquentes dans la population de la région de Guelma et à rapporter les principaux aspects physiopathologiques, moléculaires et thérapeutiques des hémoglobines instables décrites dans la littérature scientifique en soulignant l'intérêt du diagnostic génotypique.

Dans un premier temps, nous présentons un bref rappel sur l'hémoglobine, les hémoglobinopathies et leur diagnostic. La seconde partie rapporte les techniques utilisées et les résultats obtenus sur un groupe de patients diagnostiqués avec les hémoglobinopathies dans le service d'hématologie de l'hôpital Ibn Zohr dans la région de Guelma.

Partie I
Etude bibliographique

Chapitre 1

l'hémoglobine

1. Définition de l'hémoglobine

L'hémoglobine est une des protéines les mieux connues, stables et facile à obtenir. Elle constitue 33% du poids d'un globule rouge.

La synthèse de l'hémoglobine s'effectue dans le cytoplasme (mitochondries) des érythroblastes médullaires jusqu'au réticulocyte (Fig1) (Belhani M et al, 1985).

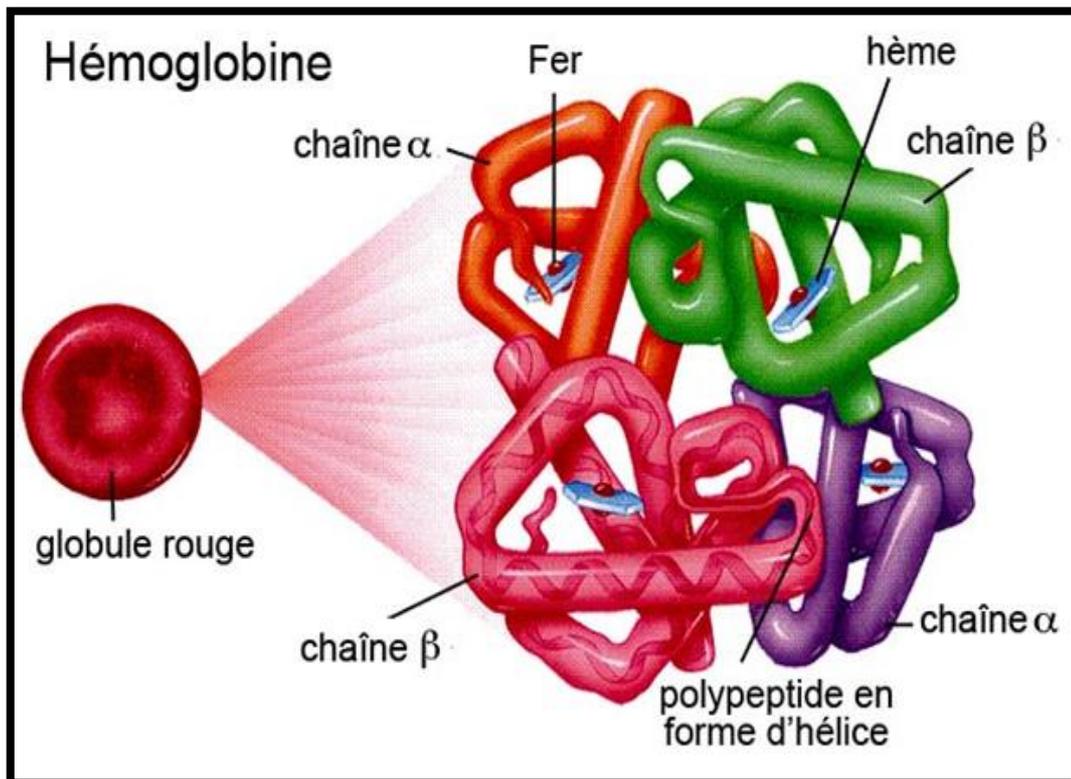


Figure 01: Molécule d'hémoglobine (Koury M ,2009).

2. Structure

La molécule d'Hb a pour fonction d'assurer le transport de l'oxygène dans l'organisme c'est une protéine tétramérique constituée de 4 sous unités de globine semblable 2 à 2 (Fig 2).

Les chaînes de globine appartiennent, pour les unes à la famille α , et pour les autres à la famille β .

Chaque globine a une structure globulaire compacte ménageant une poche dans la quelle vient se nicher une molécule d'hème il s'agit d'une protoporphyrine maintenant en son centre un atome de **Fer** sous forme réduite (Fe^{++}) qui permet de fixer l'oxygène (Bain BJ, 2006).

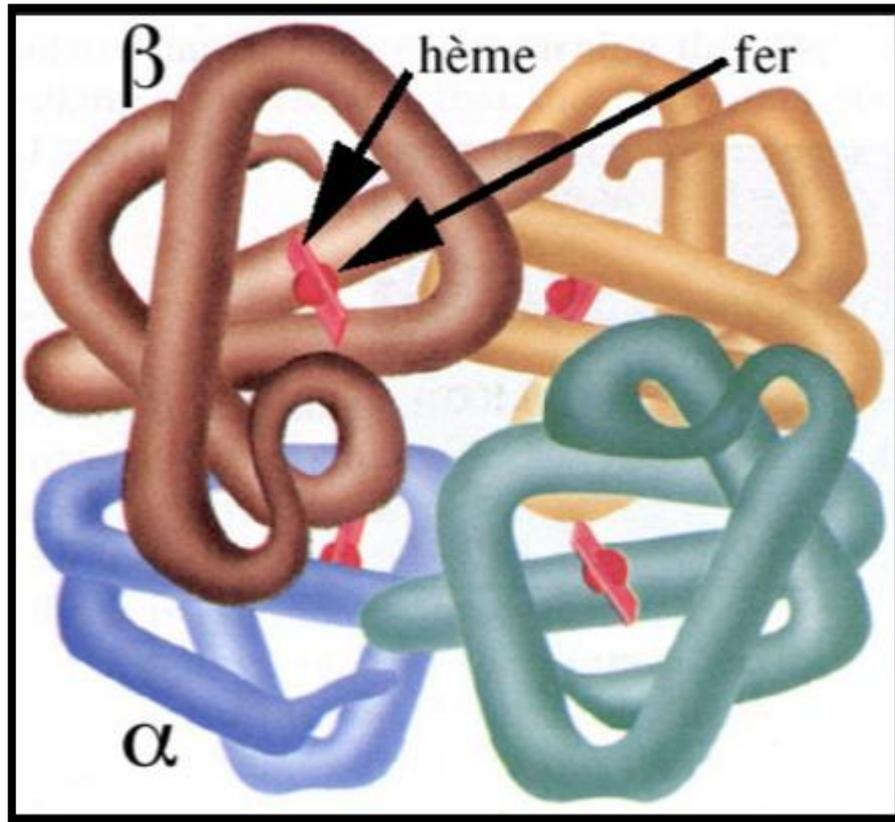


Figure 02: Structure quaternaire de l'hémoglobine (Bain BJ, 2006).

3. Les composants de l'hémoglobine

3.1. L'hème

C'est une porphyrine contenant de Fer (Fe^{2+}) lié par 4 valences aux 4 atomes d'azotes, 4 noyaux pyroles unis par des radicaux méthylènes. ($CH \equiv$), 8 chaînes latérales (4 méthyles (CH_3)), deux vinyles ($CH=CH_2$) et deux propionyles (Fig 3).

L'hème est synthétisé dans le cytoplasme des érythroblastes par 3 étapes biochimiques peuvent être schématisées :

- ❖ formation d'acide delta- aminolévulinique (ALA) : à partir du succinyl coenzyme A (produit par le cycle de Krebs dans la mitochondrie qui s'unit à la glycine grâce à l'ALA synthétase dont le facteur est le Vit B⁶).
- ❖ formation de la protoporphyrine : elle nécessite la présence d'une isomérase.
- ❖ incorporation du Fer : l'hème synthétase permet la formation définitive de l'hème (Pasternak J, 2003).

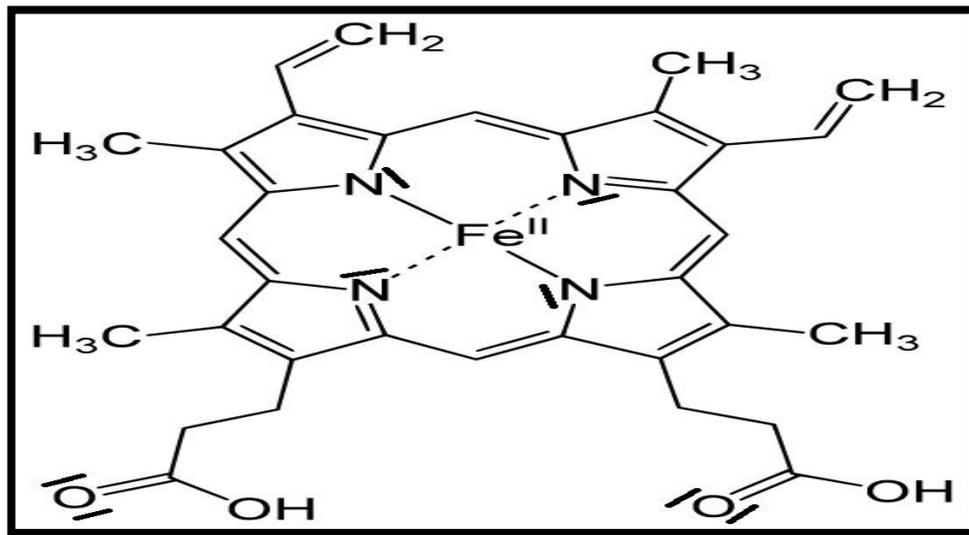


Figure 03: Structure biochimique de l'hème (Pasternak J, 2003).

3.2. La globine

La globine comporte 4 chaînes polypeptidique identique deux a deux, deux chaîne α avec 141 acide amine et deux chaîne non α (β, δ, γ) avec 146 acide amines. Chacune est reliée avec un groupement himnique par un atome de fer.

La molécule complète d'hémoglobine comporte donc 4 chaînes globiniques et quatre groupements hème avec quatre noyaux de fer et peut fixer quatre molécules d'oxygène (Fig 4) (Pasternak J, 2003).

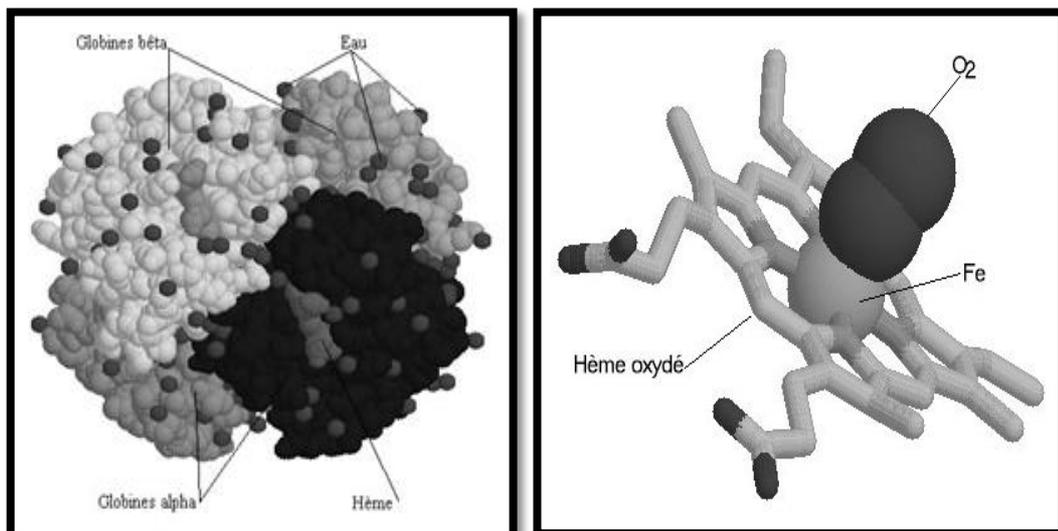


Figure 04: Structure de l'hémoglobine : tétramère constitué de quatre chaînes de globine identique deux a deux et d'hème oxydé (Pasternak J, 2003).

Plusieurs formes d'hémoglobine existent différant par la composition de leur chaîne de globine :

L'hémoglobine A :

C'est la forme principale chez un adulte représente **95 % a 99%** du totale de l'hémoglobine de l'adulte, elle est former de deux α et deux β .

L'hémoglobine adulte A2 :

C'est une forme moins importante chez l'adulte représente **2% a 3%**, elle est former de deux chaîne α couplées a deux chaîne δ .

L'hémoglobine F ou l'hémoglobine fœtale :

Représente 0% à 2 %, elle est former de deux chaîne α couplées a deux chaîne γ : elle représente 80% à 100% d'hémoglobine a la naissance, le reste étant constituée par l'hémoglobine A (Fig 5) (Autier J, 2004).

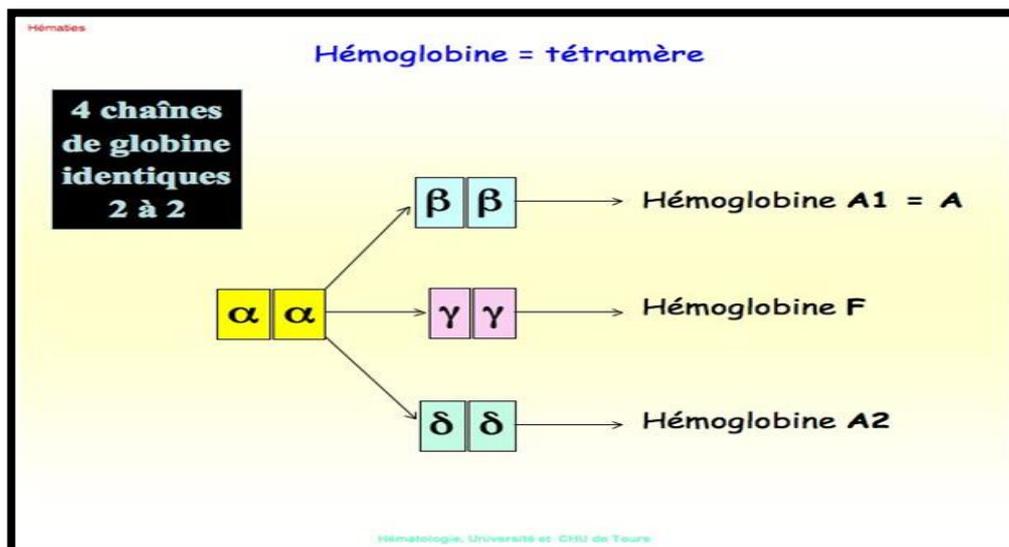


Figure 05: Formes des gènes de l'hémoglobine (Autier J, 2004).

4. Fonction de l'hémoglobine

4.1. Le transport de l'oxygène

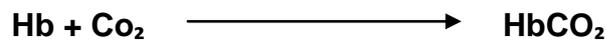
L'hémoglobine n'est pas seulement un simple réservoir à O_2 , c'est plutôt un système sophistiqué de distribution d' O_2 qui fournit la quantité requise aux tissus dans les conditions variées, chaque chaîne d'hémoglobine fixe une molécule d'oxygène donc elle transport quatre molécules d' O_2 sur son fer qui devient oxydé après fixation d' O_2 et donne l'oxyhémoglobine :



A l'état ferrique du fer (Fe^{+3}) l'hémoglobine se transforme en met l'hémoglobine qui serait incapable de transporter l' O_2 (Voet D et Voet JG, 2005).

4.2. Le transport de CO_2

Tout en étant un transporteur d' O_2 de l'hémoglobine joue un rôle important dans le transport de **40% du CO_2** , dans le sang celui à est fixé sur le groupement de la globine et on la carboxyhémoglobine :



La fixation du CO_2 favorise la libération d' O_2 , physiologiquement celui-ci est bénéfice par le fait qu'il augmente la libération d' O_2 dans les tissus tel que les muscles (Voet D et Voet JG, 2005).

4.3. Le pouvoir tampon

L'hémoglobine agit comme un tampon pour maintenir un PH neutre à cause de la faible tension de CO_2 dans les poumons, l'équilibre se déplace dans le sens de production du CO_2 qui est éliminé continuellement dans l'air



Dans les tissus ou la tension d' O_2 est réduite, l'oxyhémoglobine se dissocie ce qui fournit l' O_2 aux cellules et forme l'hémoglobine réduite en même temps (Voet D et Voet JG, 2005).

5. variétés de l'hémoglobine humaine

5.1. L'hémoglobine normale

L'homme normal au cours de sa vie possède plusieurs types d'hémoglobines contenant toute deux chaînes α qui sont couplées à deux chaînes soit β , δ soit ϵ , la structure de l'hémoglobine varie en fonction des stades de développement.

Chez l'embryon dans les trois mois de vie fœtale, l'hémoglobine est formé de :

- 2 chaînes ϵ et 2 chaînes ζ : Hb GOWER I
- 2 chaînes ζ et 2 chaînes γ : Hb PORTLAND
- 2 chaînes α et 2 chaînes ϵ : Hb GOWER II

A la naissance, Le nouveau-né synthétisé en majorité l'hémoglobine fœtale.

Au cours de premiers mois de la vie l'HbF est remplacé progressivement par l'HbA.

A deux mois l'HbF présente 50%, à 5 mois 10% et chez l'adulte il est de 2%.

Chez l'adulte plu de 95%. L'HbF est de type A ($\alpha_2 \beta_2$) ainsi qu'une fraction mineure de 3% d'HbA2 ($\alpha_2 \delta_2$) et HbF ($\alpha_2 \gamma_2$) (Tableau 01) (Max Well ,1990).

Tableau 01: Hémoglobines normales exprimées au cours de la vie (Godart C, 2007).

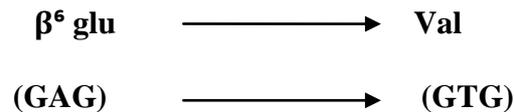
Age	Type d'hémoglobines rencontrées	Proportoin des différentes hémoglobines	Chaines de globine
Adulte	HbA	97%	$\alpha_2 \beta_2$
	HbA2	2,2-3,2%	$\alpha_2 \delta_2$
	HbF	<1%	$\alpha_2 \gamma_2$
Foetus	HbF	80-95%	$\alpha_2 \gamma_2$
	HbA	5-20%	$\alpha_2 \beta_2$
Embryon	Hb Gower I		$\zeta_2 \epsilon_2$
	Hb Gower II		$\alpha_2 \epsilon_2$
	Hb Portland		$\zeta_2 \gamma_2$

5.2. L'hémoglobine anormale

Près de 500 Hb anormal ont été décrites, ces anomalies sont dues soit à des mutations ponctuelles qui peut être des délétions ou des fusions des gènes, on distingue :

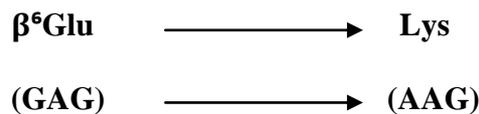
HbS :

C'est une substitution porté sur le 6^{ème} AA de l'acide glutamique par la valine au niveau de la chaine β :



HbC:

Elle due à une mutation au niveau de la glutamique est remplacé par la lysine

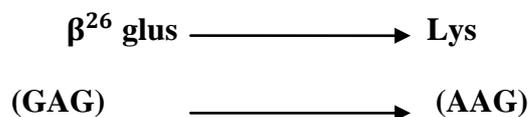


HbD :

Elle n'a d'intérêt clinique qu'en association avec l'HbS, les doubles hétérozygotes HbsD étant symptomatiquement avec une forme plus atténuée que l'HbS C.

HbE :

Elle est due à une mutation au niveau de la chaine β en position 26 ou l'acide glutamique est remplacé par la lysine



HbM :

Elle se traduit par une cyanose congénitale apparue dans le premier jour de la vie (mutation de la chaine α) ou après 3 ou 6 mois (mutation de la chaine β)

Hb instable :

Il s'agit à la différence de précédentes, d'une anomalie rare ; beaucoup résultante, d'une mutation récente, le tableau clinique est celui d'une hémolyse de gravité variable selon la mutation (Tableau 2) (Max Well, 1990).

Tableau 02 : Nomenclature des principales hémoglobines anormales par ordre alphabétique (Godart C, 2007).

Nom de l'hémoglobine	Mutation decrites ou caractéristique
HbA	Hb adult (A, A1, A1C, A2...)
HbC	$\beta^6\text{Glu} \longrightarrow \text{Lys}$
HbD	Mutation β du group +1
HbE	$\beta^{26} \text{Glu} \longrightarrow \text{Lys}$
HbM	Variants responsable de méthémoglobinémies
HbS	$\beta^6\text{Glu} \longrightarrow \text{Val}$

6. Contrôle génétique de la synthèse de l'hémoglobine

Les chaînes de globine α ; β et δ entrant dans la constitution des hémoglobines A, A2 et F sont codées par deux groupes de gènes, l'un est le complexe α présent sur le bras court du chromosome 16, Le complexe non α regroupent en particulier les gènes γ , δ et β présent sur le bras court du chromosome 11 (Fig 6).

Chaque gène de ce complexe, à une structure parfaitement élucidée au niveau moléculaire et comprend notamment 3 exons, codons pour les acides aminées constituant les chaînes de globine et deux introns qui seront éliminés au cours de la maturation de l'ARN messager.

L'expression des gènes de l' α globine passe de la globine ξ à la globine α , les gènes de la β globine passent de la globine ϵ à la globine γ pour former l'HbF ($\alpha 2 \beta 2$). La synthèse de la chaîne δ commence tardivement au cours de la vie fœtale et continuées après la naissance (Barrère J, 2005).

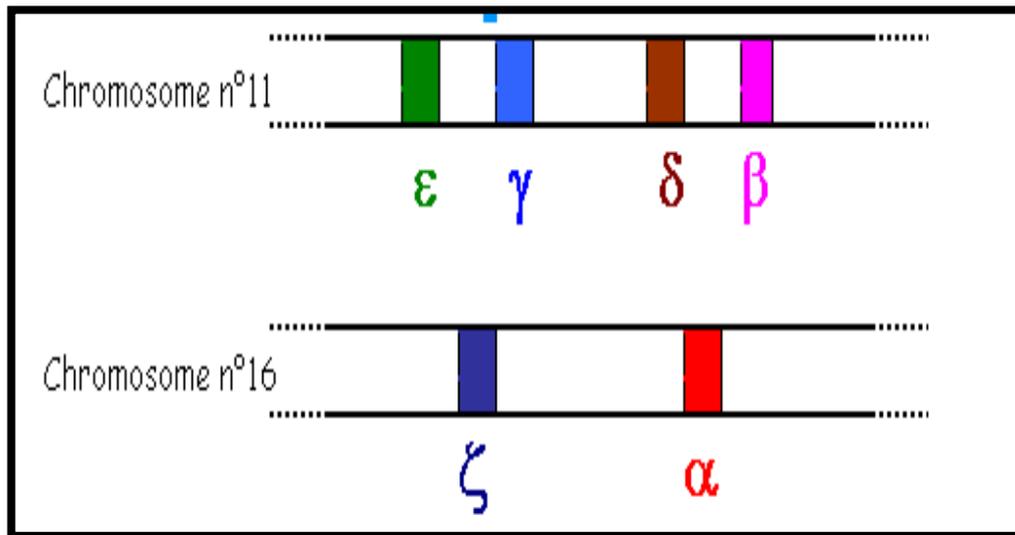


Figure 06: Localisation des gènes de la globine humaine (Barrère J, 2005).

Chapitre 2

l'hémoglobinopathie

1. Définition

Les hémoglobinopathies sont responsables de la grande majorité des anémies hémolytique corpusculaires familiales. Elles constituent un sérieux problème de santé publique dans des vastes parties du monde car elles sont par leurs fréquences les premières maladies génétiquement déterminées (Vaubourdolle M, 2007).

2. Génétique des hémoglobinopathies

La synthèse des chaînes de la globine obéit aux règles générales de synthèse des protéines. Alors que les gènes codant pour les acides aminés de la chaîne α sont situés sur le bras court du chromosome 16, ceux codant pour les acides aminés de la chaîne β sont situés sur le bras court du chromosome 11.

Le gène de la chaîne β de la globine comporte trois exons et deux introns.

➤ Le premier exon est divisé en deux parties :

Une première partie de 54b non traduite et une deuxième de 93b traduite en les 30 premiers acides aminés.

➤ Le deuxième exon mesure 222b et code pour le 31^{ème} au 104^{ème} acides aminés.

➤ Le dernier exon dont la première partie seule est traduite (126b) code pour

le 105^{ème} au 146^{ème} acide aminé, la deuxième partie de 135b n'est pas traduite.

Les hémoglobinopathies sont donc des affections génétiques héréditaires à transmission autosomique (Vaubourdolle M, 2007).

3. Le mode de transmission des hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont une maladie monogénique transmise selon un mode **autosomal récessif** (Fig7).

Une maladie autosomale récessive atteint aussi bien les hommes que les femmes puisqu'elle est portée par un autosome, c'est-à-dire pas par un chromosome déterminant le sexe de l'enfant. Le fait qu'elle soit récessive signifie que l'enfant n'est malade que si ses deux parents lui ont transmis l'anomalie déterminant le développement de sa thalassémie majeure. Les personnes qui reçoivent un gène anormal à la fois de leur père et de leur mère sont appelés **homozygotes**. Ces personnes développent les symptômes de la maladie.

Les personnes qui reçoivent un gène normal d'un parent et un gène anormal de l'autre sont appelés **hétérozygotes**. Ces personnes ne développeront pas les symptômes de la maladie mais peuvent transmettre le gène anormal à leurs enfants (Bouzard Y, 1999).

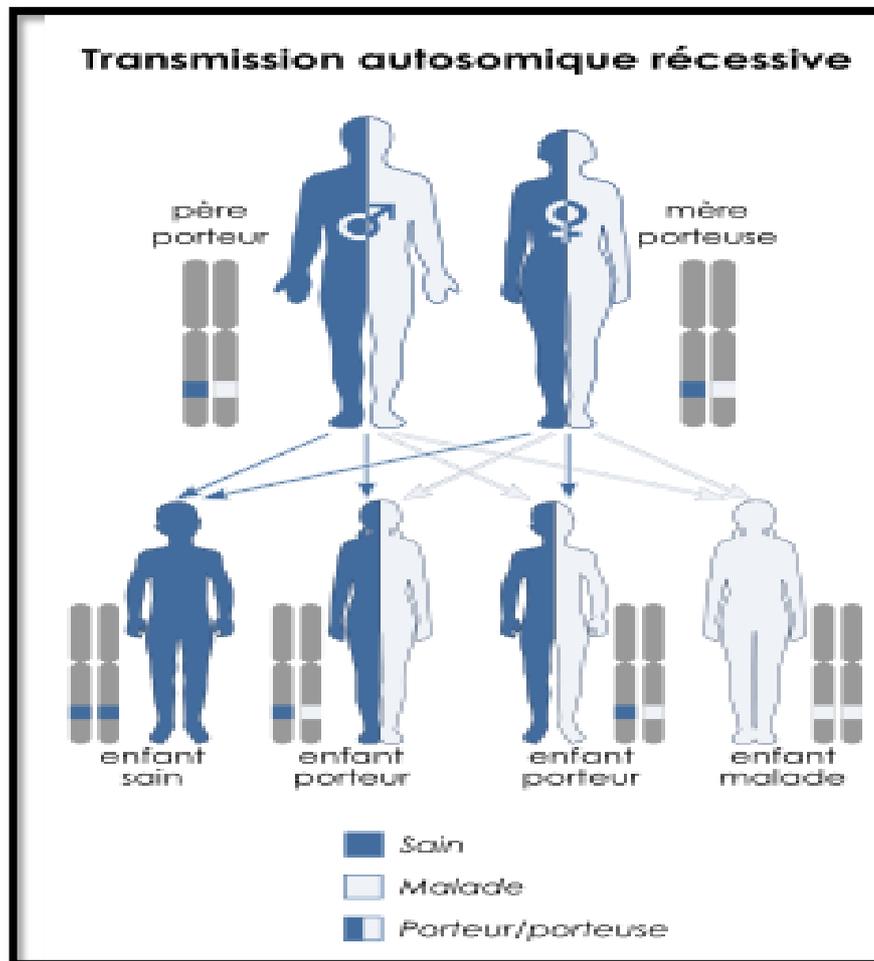


Figure 07 : Transmission autosomique récessive des hémoglobinopathies (Bouzard Y, 1995).

4. Classification

Il faut distinguer deux grands sous-groupes d'anémies dues à des anomalies de l'hémoglobine.

4.1. Anomalie qualitative : La drépanocytose

4.1.1. Définition

La drépanocytose, encore appelée anémie falciforme, est une maladie du sang liée à une anomalie de la structure de l'hémoglobine. Elle est due à la production d'une hémoglobine

anormale, liée à une mutation du gène codant la synthèse de la chaîne β -globine, et transmise à la fois par le père et la mère (transmission autosomique récessive). Cette caractéristique conduit à la fabrication d'hémoglobine S (HbS), anormale, qui provoque une déformation des globules rouges et des troubles à l'origine d'obstruction des vaisseaux (Stryer L, 1985).

4.1.2. Physiopathologie

La maladie est liée à une mutation ponctuelle responsable d'une substitution, sur la chaîne β de la globine, d'un acide glutamique (porteur d'une charge électrique négative) par une valine (non chargée électriquement) :

L'hémoglobine S qui en résulte ne diffère donc de l'hémoglobine A que par un acide amine en position 6 de la chaîne β (Fig 8).

Les chaînes α normales se combinent avec les chaînes β S pour former l'hémoglobine S, dont la charge électrique diffère de celle de l'hémoglobine A : la différence de migration en électrophorèse permet de les différencier.

Quand la pression en oxygène baisse, l'hémoglobine S désoxygénée, très peu soluble, se polymérise avec d'autres molécules d'hémoglobine S et précipite dans le globule rouge qui se déforme alors en une cellule falciforme encore appelée « drépanocyte » (Lefrère F, 2008).

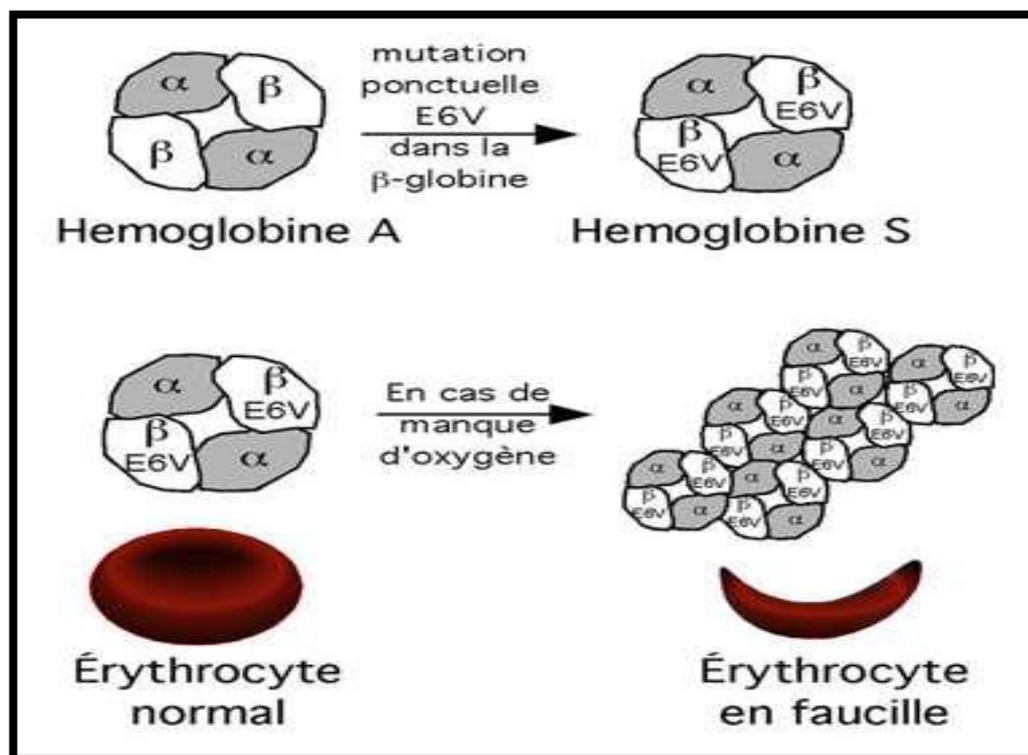


Figure 08: Phénomène de falciformation (Galacteros F, 1999).

4.1.3. Les différents types de la drépanocytose

A. La drépanocytose hétérozygote AS

Encore appelée trait drépanocytaire est la plus souvent asymptomatique, les AS sont des transmetteurs sains, chez eux la maladie ne s'exprime pas parce que le gène normale présent suffit à contrebalancer l'effet du gène malade, il permet de fabriquer assez l'Hb normale pour empêchez la destruction des GR.

L'électrophorèse révèle la présence de Hbs qui représente 30 à 40 % (Sityer L, 1985).

B. La drépanocytose homozygote SS

La forme homozygote débute entre 1 an et 2 ans avec 50% de falciformation, caractérisée par une altération de l'état général, une sévère anémie, une déformation osseuse, ulcère des jambes, thrombose, hémolyse à cause de la perte des caractéristiques d'élasticité des GR et les accidents viscéraux due à la formation des caillots sanguins (Smaili F, 1999).

4.1.4. Clinique

Les hématies falciformes rigides sont à l'origine d'occlusions vasculaires au niveau des vaisseaux de petit calibre. Ces crises vaso-occlusives (CVO) peuvent avoir des divers facteurs déclenchant: l'hypoxémie, la fièvre, l'acidose, la déshydratation cellulaire, l'effort physique ou encore le stress. On entre alors dans un cercle vicieux : hypoxie-falciformation-thrombose.

Ces crises répétées entraînent généralement une atrophie splénique (par succession de micro-infarctus à l'origine d'une fibrose), conférant au patient une fragilité particulière aux infections (Bachir D, 2008).

4.1.5. Traitement

Depuis sa caractérisation, la drépanocytose fait l'objet de nombreuses recherches visant à en développer un traitement. Plusieurs méthodes de traitement ont été mises au point et sont utilisées, mais aucune thérapeutique ne s'avère parfaitement efficace, ni parfaitement tolérée, ni universelle.

Les principaux traitements utilisés sont la transfusion sanguine, la greffe de la moelle osseuse, et les traitements pharmacologique. (Azacytidine, hydroxyurée, 5-fluoro-uracile) (Giot R, 2006).

4.2. Anomalie quantitative : Les thalassémies

4.2.1. Définition

Le terme thalassémie (en grec : **Thalassa** : mer, **Hémia** : sang), en appelant aussi syndrome thalassémique. En effet, ces maladies sont un groupe d'anémies hémolytiques chroniques et microcytaires, sont surtout fréquentes chez les sujets originaires du porteur du bassin méditerranéen.

La thalassémie est une forme d'anémie infantile héréditaire, le plus souvent transmises sur le mode récessif autosomique, due à des délétions ou substitutions de gène qui entraînent l'absence ou la diminution de la synthèse d'une ou plusieurs chaînes de globine constituant de l'hémoglobine si le défaut de synthèse porte sur les chaîne α , la forme est : α -thalassémies, s'il porte sur les chaîne β , la forme est β -thalassémie (Orsini A, 1982).

4.2.2. Physiopathologie :

La transmission est le plus souvent de type autosomique récessif. Selon la chaîne de globine insuffisamment synthétisée, on distingue les α et β -thalassémies. Les syndromes thalassémiques sont la conséquence du déséquilibre de synthèse entre les chaînes α et non α : une α -thalassémie est caractérisée par un rapport α /non α inférieur à 1, une β -thalassémie par un rapport α /non α supérieur à 1. Dans les formes symptomatiques de thalassémie, l'excès relatif de chaînes « célibataires » forme des polymères peu solubles dans l'érythroblaste, responsables d'une érythropoïèse inefficace.

Il en résulte une hypersécrétion d'érythropoïétine qui stimule l'érythropoïèse et suscite une hyperplasie avec expansion érythroblastique caractéristique des thalassémies. L'anémie est la résultante de deux mécanismes : une dysérythropoïèse et une hyper hémolyse. L'importance de ces manifestations est très variable suivant les patients, conséquence tant de l'anémie chronique (Pâleur, asthénie) que de l'hyperplasie érythroïde compensatrice (hépatosplénomégalie, déformations osseuses...).

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

4.2.2. Les différents types de la thalassémie

A. α thalassémies

C'est un déficit génétique dans la synthèse des chaînes α de la globine qui interviennent dans toutes les variétés d'hémoglobine. Dans la majorité des cas, la lésion responsable de cette pathologie est une délétion du chromosome 16. A cause de l'existence de quatre gènes α globine on distingue quatre types d' α thalassémies :

✓ La forme hétérozygote :

Elle se traduit par une anémie hypochrome microcytaire

- α^+ thalassémies hétérozygote

Elle caractérisée par une seule délétion on peut l'appeler également "thalassémies type 2"

- α^0 thalassémies hétérozygote :

Caractérisée par deux délétions en cis, elle représente les thalassémies mineures.

- Association d'une α^+ thalassémie et α^0 thalassémie hétérozygote :

La délétion s'effectue sur trois gènes, cette forme est appelée hémoglobines H.

✓ Forme homozygote:

N'est pas viable et la mort survient vers la trente deuxième semaine de grossesse (hydrops fœtal).

L'hémoglobine du fœtus est constituée de tétramère gamma γ_4 , c'est l'Hb Bart's

- α^+ thalassémie homozygote : Elle est caractérisée par deux délétions en trans se présentant sous la forme d'une thalassémie mineure elle est dite "thalassémies type 1"

- α^0 thalassémie homozygote: C'est la forme caractérisée par quatre délétions en trans celle-ci est appelée "l'hydrops fœtal" (Tableau 3) (Ingram V, 1959).

Tableau 03 : Classification génique et phénotypique des principales α –thalassémies (Godart C, 2007).

Nombre de gènes α atteints	Dénomination génotypique	Dénomination phénotypique	Retentissement Clinique
1	$-\alpha/\alpha\alpha$ α^+ -hétérozygote	α - thalassémie de type 2	Aucun:clinique « Silencieuse »
2	$--/\alpha\alpha$ α° - hétérozygote	α - thalassémie de type 1 hétérozygote	Mineur
	$-\alpha/-\alpha$ α^+ - homozygote	α - thalassémie de type 1 homozygote	
3	$--/-\alpha$ Hémoglobino- se H délétionnelle	α - thalassémie majeure	Anémie hémolytique microcytaire hypo- chrome: clinique très variable selon la nature génétique de la malade
	Exemple: $--/\alpha\alpha^{Constant-Sprig}$ Hémoglobino- se H non délétionnelle		Atteinte clinique sévère
4	$--/--$	Hydrops foetalis	Mort in utéro ou la période néo-natale

B. β thalassémie

Le déséquilibre dans la production des chaînes de globine affecte la chaîne β . L'excès de synthèse des chaînes α va avoir des conséquences biologiques et cliniques, les deux mécanismes principaux à l'origine de l'anémie sont l'hémolyse et l'érythropoïèse inefficace.

Les β - thalassémies peuvent être isolées ou associées à d'autres anomalies qualitatives de l'hémoglobine hémoglobinocytose C drépanocytose (Mettais P, 1985).

✓ **β thalassémie majeure : (homozygote) ou maladie de COOLEY :**

Le tétramère $\alpha_2 \beta_2$ est synthétisé en quantité extrêmement réduite ou nulle, au cours de β thalassémies majeure et proportionnellement au déficit de synthèse de la globine β en conséquence les hématies sont très hypochromes et microcytaires, anisocytaires, poikilocytaire, cellule cible et l'HbF comprise entre 60 et 98 % avec une HbA2 variable (Thomas D et al.1992).

✓ **β thalassémie intermédiaire:**

Ce terme a été utilisé en clinique pour désigner les patients anémiques avec un retentissement symptomatique mais qui n'ont cependant pas un besoin absolu de transfusion. Cette entité purement clinique peut résulter de plusieurs mécanismes moléculaires. Ces sujets ont leurs deux allèles de β globine mutés. Cependant au moins l'un de ces allèles porte une mutation dont le retentissement est peu sévère de sorte qu'une production significative de β globine est encore assurée (Thomas D et al, 1992).

✓ **Thalassémie mineure:**

L'appellation "thalassémie mineure" a été utilisée pour les sujets hétérozygotes pour un allèle **β thalassémique**. Ces sujets ont une affection cliniquement asymptomatique et généralement un gène de β globine normal et l'autre gène porteur d'une mutation qui diminue ou abolit son fonctionnement (Ingram V et al, 1959).

✓ **Les doubles hétérozygotes**

- **L'association de la forme S/ β thalassémie**

C'est l'association du gène drépanocytose et un gène thalassémique il ya deux types :

-S / β^0 ; absence de synthèse de la chaîne β

-S / β^+ ; diminution plus ou moins importante de la chaîne β

- L'association de la forme C/ β thalassémie : il ya deux formes

- ✓ C/ β° thalassémie
- ✓ C/ β^{+} thalassémies

L'enquête familiale montre que l'un des parents est hétérozygote pour l'**HbC** et l'autre est hétérozygote pour la thalassémie les signes clinique et biologique sont plus marqués avec une hémolyse chronique ou complète, la splénomégalie est prédominante, microcytose, hypochromie, aniso-poikilocytose ou on retrouve plus de 50% de cellules cible (Tableau 04) (Ingram V et al, 1959).

Tableau 04 : Classification clinique et génétique des β -thalassémies

(Godart C, 2007).

Phenotype		Nombre de gène atteints(un gène β De la globine sur chaque chromosome 11)		clinique
Sujet normal		Aucun gene atteint $\beta\beta$		Sujet sain
β -thalassémie hétérozygote		1gene atteint $\beta^{\circ}\beta$ ou $\beta^{+}\beta$		Asymptomatique= β -thalassémie mineure ou silencieuse
Heterozygotes composites		2gene atteint $\beta^{+}\beta^{\circ}$		β -thalassemie intermediaire
β -thalasemie Homozygote	β° -thalasemie	2gene atteints	$\beta^{\circ}\beta^{\circ}$	Anemie de cooley= β -thalassemie majeure
	β^{+} -thalasemie		$\beta^{+}\beta^{+}$	β -thalassemie intermediaire

4.2.4 Clinique

Les anomalies anatomopathologiques sont la conséquence de la production accrue de globules rouges qui tente de compenser leur destruction. ces anomalies sont :

- Une hématopoïèse médullaire augmentée provoquant des déformations osseuses
- Un accroissement de l'hématopoïèse extra médullaire provoquant une hépatosplénomégalie.
- Des dépôts de fer dans les tissus (cœur, foie et pancréas) (Stevens A et al, 2001).

4.2.5 Traitement

La base du traitement de la forme majeure repose sur les transfusions répétées afin de maintenir le taux d'hémoglobine à des valeurs subnormales mais également pour réduire l'hypersécrétion d'érythropoïétine et les conséquences de l'hyperplasie érythroblastique.

On y associe un traitement chélateur de fer. Cette association permet de conférer à ces patients une espérance de vie de plus de 30 ans. Le seul « traitement » curatif demeure l'allogreffe de moelle osseuse.

Des essais pour des molécules réactivant la synthèse d'hémoglobine F (azacytidine, hydrox urée, 5-fluoro-uracile) sont en cours. On place également de grands espoirs sur la thérapie génique (Lefrère F, 2008).

Chapitre 3

diagnostic biologique d'hémoglobinopathie

1. Diagnostic biologique des hémoglobinopathies

Il repose sur 3 examens clés : l'hémogramme, l'électrophorèse de Hb et le test de falciformation et des tests biochimique complémentaires affirmant le caractère hémolytique de l'anémie qui peuvent être faites.

1.1. L'hémogramme

Il est le premier examen biologique utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies. Ses indication sont très nombreuses et dépassent largement le cadre des pathologies hématologique.

L'hémogramme ou numération formule sanguine (**NFS**) consiste en une étude quantitative (numération) et qualitative (formule) des cellules sanguines : globules rouges, globules blancs et plaquettes. Il renseigne également sur les constantes érythrocytaires, notamment le VGM, la CCMH et la TCMH ainsi que sur le taux des réticulocytes. C'est le premier examen donnant des renseignements utiles permettant de suspecter une anomalie hémoglobinique (Belhadi K, 2011).

1.2. L'électrophorèse de l'hémoglobine

L'électrophorèse désigne l'ensemble des méthodes visant à séparer et à identifier les constituants d'une phase solide et chargée, suspendue dans une phase liquide tamponnée quand on leur applique un champ électrique continu. Il existe différentes variantes techniques :

1.2.1. L'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin (pH=8,5) sur Hydrasys

Elles sont des gels d'agarose permettant la séparation des hémoglobines normales (A, A2, F) et la détection des principales hémoglobines anormales par électrophorèse dans le système semi-automatique HYDRASYS .Ce dernier permet de réaliser toutes les séquences jusqu'à l'obtention du gel prêt pour l'identification des différentes hémoglobines (Sebia , 2006).

Les Hb sont séparées en tampon alcalin (pH 8,5) et colorées par une solution d'amidon Schwarz. L'analyse qualitative des Hb normales et anormales peut alors être réalisée. La lecture à 570 nm par densitomètre donne une estimation relative de chaque zone individualisée (Sebia, 2008).

1.2.2. L'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin sur Capillarys

C'est une technique de séparation électrocinétique rapide et d'excellente résolution. Son principe est celui d'une électrophorèse capillaire en solution libre permettant la séparation de molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétique propre dans un tampon alcalin, et selon le flux électro-osmotique.

Le système capillarys automatisé comprend une série de capillaire en silice fondue en parallèle, permettant l'analyse de sept échantillons simultanés.

Ces échantillons (hémolysates de globules rouges sédimentés, centrifugés et lavés sans être préalablement dilués dans une solution hémolysante) seront ensuite injectés dans les capillaires au niveau de l'anode par aspiration.

Ensuite, en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts, les hémoglobines vont être séparées, puis détectées directement au niveau d'une cellule par spectrophotométrie d'absorbance à 415 nm. Aucune coloration n'est nécessaire, ce qui constitue un gain de temps et de réactifs par rapport à une électrophorèse « traditionnelle ».

Les profils électrophorétiques obtenus permettent d'effectuer une analyse qualitative et quantitative des différentes hémoglobines retrouvées. La bonne séparation des différentes fractions permet de confirmer l'identification de l'hémoglobine, en particulier, de différencier l'hémoglobine S de l'hémoglobine D, et l'hémoglobine E de l'hémoglobine C.

La quantification de l'hémoglobine A2 est également possible en présence d'hémoglobine E. La détection directe sur capillaire à 415 nm permet de déterminer les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction (Schmidt M, 2010).

1.2.3. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH acide (pH = 6,0)

Elle est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que l'électrophorèse à Ph alcalin, à l'exception du tampon de migration dont le Ph est acide, à 6,2. Cette technique permet de séparer les variantes de l'Hb ayant la même mobilité en électrophorèse Ph alcalin, notamment S et D, C et E qui migrent différemment dans ce système (Frédéric G et al, 2010).

2. Autre techniques

2.1. Chromatographie liquide à haute pression ou CLHP

La CLHP est une méthode de séparation rapide et sensible mais aussi de quantification des Hb normales ainsi que des variantes de l'Hb. Elle est appliquée sur le Variant II de Bio-Rad.

La colonne analytique (« CLHP A2 ») est une colonne contenant une résine échangeuse de cations (150 x 4 mm). Cette colonne est placée dans une enceinte thermo statée maintenue à 34 °C, et montée en parallèle de la colonne destinée au dosage de l'HbA1C.

Les réactifs utilisés (réactif hémolysant, tampons d'éluion phosphates de force ionique croissante et de pH différents 1, 2 et 3, solution de lavage, étalon) sont contenus dans le kit Bio-Rad A2. La densité optique de l'éluât sera déterminée par un spectrophotomètre intégré à l'appareil, qui lira à 2 longueurs d'onde différentes (415 nm et 690 nm), la longueur d'onde de 415 nm étant la longueur d'onde d'absorption spécifique des hémoglobines et la seconde longueur d'onde permettant de corriger l'absorbance non spécifique ou bruit de fond. Un microprocesseur intègre les données et rend un profil avec des pics permettant la quantification de l'Hb A2 et de l'Hb F, ainsi qu'une identification présomptive de certaines variantes, basées sur leur temps de rétention (Vinatier I, 2009).

2.2. Isoélectrofocalisation

L'isoélectrofocalisation ou focalisation isoélectrique est une technique d'électrophorèse sur gel utilisant un gradient de pH 6 à pH 8, sous voltage élevé.

La migration et donc la séparation des variantes d'hémoglobine se feront en fonction de leur pH ou point isoélectrique. Pour rappel, le point isoélectrique (ou potentiel hydrogène isoélectrique pHi) d'une molécule est le pH pour lequel la charge globale de la molécule est nulle, on dit alors qu'elle est sous forme zwitterionique. Les différentes hémoglobines vont donc migrer dans ce gradient de pH jusqu'à ce que celui-ci atteigne leur pH.

L'identification d'un mutant inconnu se fera par comparaison de son pH avec celui d'un mutant de référence. Pour exemple, les pH de l'HbA1 et de l'Hb A2 sont respectivement de 6,98 et de 7,42 alors que celui de l'Hb S est de 7,20. Cette technique est applicable aussi bien chez l'adulte que chez le nouveau-né.

Elle bénéficie d'un pouvoir de résolution exceptionnel, les bandes obtenues étant plus fines que celles obtenues en électrophorèse à pH alcalin, alors que l'ordre de migration reste

inchangé Sa résolution, mais aussi la possibilité de travailler directement sur sang total, et de réaliser un screening pour un grand nombre d'échantillons simultanément sont des avantages indéniables.

Les seuls écueils restent la qualité de l'interprétation, qui nécessite une certaine maîtrise, ainsi que le fait que cette technique ne soit pas adaptée à la quantification des variants mais soit seulement une méthode qualitative (Vinatier I, 2009).

2.3. Frottis Sanguin

La réalisation du frottis sanguin permet d'étudier la morphologie des éléments figurés du sang et de déterminer s'il y a anomalies de présence, d'aspect ou de nombre de cellules (Vinatier I, 2009).

2.4. Test de falciformation / Test d'Emmel

Le test de falciformation consiste à sceller une goutte de sang entre lame et lamelle et attendre que les processus oxydatifs aient suffisamment réduit la tension en oxygène pour induire une falciformation visible au microscope.

Sa variante, le test d'Emmel est une technique basée sur le principe de la falciformation des hématies drépanocytaires en présence d'un agent réducteur qui accélère la désoxygénation tel que le métabisulfite de sodium à 2% (Vinatier I, 2009).

3. Examens biochimiques

3.1. Protéinogramme

C'est le fractionnement des protéines sériques par des méthodes électro phorétiques. En pratique courante, trois techniques électro phorétiques sont mises en jeu pour le fractionnement:

Il s'agit de l'électrophorèse simple, avec ses nombreuses variantes, selon la spécificité du révélateur; de l'immunoélectrophorèse et de l'électro immun diffusion. Dans les deux dernières techniques, on associe la migration électro phorétique à la diffusion des protéines en milieu gélifié.

L'électrophorèse simple standard sur gel d'agarose est la technique plus utilisée en routine. Elle sépare le contenu protéique global du sérum en cinq grandes familles: l'albumine, les α 1-globulines, les α 2-globulines, les β globulines et les γ -globulines (Bernard S, 1998).

3.2. Evaluation du fer sérique

Parmi les métaux de transport indispensable à la vie, le fer est le plus abondant et le plus important et participe à un grand nombre de réactions biochimiques. Quand il est complexé à la porphyrine et inséré dans une protéine appropriée, non seulement le fer se lie à l'oxygène de façon réversible, mais il participe aussi à des réactions vitales d'oxydoréduction. Le fer inorganique est hautement toxique et les procédés permettant son assimilation, son transport et son stockage ont évolués.

Dans les circonstances normales, l'homéostasie du fer est maintenue, mais elle peut dévier dans certaines situations cliniques, aboutissant soit à un état de carence, soit à une surcharge (Kenneth R, 1992).

3.3. Evaluation de la bilirubine

Le premier stigmate biologique de l'hémolyse est la libération de la bilirubine. Dans l'organisme, la fraction la plus importante de la bilirubine est produite par le catabolisme de l'hémoglobine des hématies sénescents. Les hématies peuvent être prématurément détruites par deux types de mécanismes:

Les globules rouges sont lysés dans la circulation et leur contenu déversé directement dans le plasma (hémolyse intra vasculaire).

Les érythrocytes sont phagocytés par les macrophages dans la rate et le foie, à l'intérieur desquels ils sont détruits et digérés (lyse extravasculaire), c'est le mécanisme le plus fréquent (Kenneth R, 1992).

Partie II

Etude expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1 Type d'étude

L'étude des hémoglobinopathies dans ce travail repose sur une méthode rétrospective descriptive basée sur des données biologiques des patients atteints de ce groupe de maladies. La collecte des informations a été effectuée grâce à l'utilisation d'une fiche de renseignements conçue avec le médecin hématologue traitant (annexe 01).

1.2 Choix de la région d'étude

Le choix de la wilaya de Guelma comme région d'étude a été instauré vue la prévalence élevée des hémoglobinopathies. La durée de l'étude est une période de 5 ans (**2010-2016**).

Afin d'estimer la prévalence de l'hémoglobinopathie et son interrelations entre les individus, donc il est nécessaire d'établir des enquêtes au niveau de l'hôpital **Ibn Zohr**. Pour mener ce travail, nous avons utilisé les registres médicaux dans le service d'hématologie, de l'hôpital **Ibn Zohr**. Ces registres ont été utilisés pour obtenir toutes les informations nécessaires pour la réalisation de la partie pratique.

1.3 Techniques utilisées pour l'étude

Le point de départ du diagnostic biologique des hémoglobinopathies repose sur des tests hématologiques et biochimiques:

❖ Tests hématologiques : l'hémogramme avec calcul des constantes érythrocytaires :

- Volume globulaire moyen (**VGM**).
- Teneur corpusculaire moyen en hémoglobine (**TCMH**).
- La mesure des taux d'hémoglobine (**Hb**).

Examen des hématies sur le frottis

❖ Tests biochimique : Electrophorèse Capillarys d'hémoglobine

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

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

1.3.1. Technique Numération Formule Sanguin

C'est le principal examen en hématologie, on regroupe sous ce nom la mesure des taux d'hémoglobine et différents éléments figurés du sang, réalisée sur un échantillon du sang. Il comporte une étude quantitative des cellules : numération **des globules rouges**, des globules blancs et des plaquettes, mesure ou calcul de l'hématocrite, dosage de l'hémoglobine, étude des constantes ou indices érythrocytaires (VGM et TCMH) et plaquettaires. La réalisation de l'hémogramme, qui a longtemps reposé sur un dénombrement en microscope optique après dilution manuelle, a été révolutionnée par le développement d'automates.

Les automates permettent l'analyse d'un grand nombre de cellules et fournissent ainsi des résultats précis et reproductibles. Ils doivent cependant être quotidiennement vérifiés et calibrés pour éviter qu'ils ne s'écartent pas des seuils de normalité et les résultats doivent être contrôlés dans toutes les situations pouvant favoriser des artefacts. (Vinatier I, 2009).

A. Numération des globules rouges

L'appareil que nous avons utilisé est le Coulter (Fig 9) (l'automate médonique CA cell analyseur.620). 4,5 ml de sang veineux est prélevé directement dans des tubes spéciaux contenant 0,5 ml d'EDTA (éthylène-diamine-tétra-acétate) dans une température ambiante varie de 20 à 22°C.

Un tube est placé en contact avec l'aiguille de l'appareil qui va absorber 100 µl de sang destiné à l'analyse, le résultat s'affiché par la suite sur l'écran du Coulter (Samama et al, 1970).



Figure 09: Photo de l'Automate médonique CA 620.

B. Volume globulaire moyen (VGM)

Le paramètre VGM est dérivé de la courbe de distribution des GR. Il est calculé par la division du volume globulaire compris dans un mm³ de sang (fourni par l'hématocrite) par le nombre des hématies contenu dans le même volume. (Vinatier I, 2009).

C. Hématocrite (HT)

L'hématocrite est défini comme étant le volume emballé de globules rouges dans le sang total. Il est calculé par le produit du VGM par le nombre des GR. Si aucune VGM n'est tirée d'un échantillon en raison de trop faible nombre des érythrocytes, aucune HT n'est calculée. (Vinatier I, 2009).

D. Taux d'hémoglobine (Hb)

L'hémoglobine est déterminée à partir de la dilution 1 :400. Pour chaque échantillon, un vide est mesuré comme une référence, cela signifie que toute dérive dans le réactif et de la cuvette absorption ou de la lampe est éliminé.

Le système se compose d'un photomètre lampe au tungstène, une cuve avec une longueur de 15 mm et un filtre à une longueur d'onde de 535 nm (bande passante de 20 nm). Les lectures sont légèrement corrigées les taux d'hémoglobine pour la turbidité. (Vinatier I, 2009).

E. Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

La TCMH est calculée par taux d'Hb / nombre des GR donnant la concentration moyenne d'hémoglobine dans chaque hématie (Samama et al, 1970).

1.3.2. Frottis sanguin

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

Normalement toutes les hématies ont approximativement même forme, même coloration et même diamètre. Toute modification des ces données traduit un état pathologique (Samama et al, 1970).

1.3.3. Electrophorèse capillaire d'hémoglobine Capillarys

L'électrophorèse des hémoglobines du sang humain est une analyse très utile en laboratoire d'analyse clinique pour rechercher les anomalies qualitatives et quantitatives de l'hémoglobine. Parallèlement aux techniques d'électrophorèses sur différents supports, dont le

gel d'agarose, la technique d'électrophorèse capillaire s'est développée car elle offre l'avantage d'une automatisation complète de l'analyse, de séparations rapides et d'une bonne résolution (Wending A, 1986).

A. Principe de l'électrophorèse

Elle se définit comme une technique de séparation électrocinétique effectuée dans un tube de diamètre interne inférieur à 100 μm rempli d'un tampon composé d'électrolytes. Par nombreux aspects, elle se présente comme un intermédiaire entre l'électrophorèse classique de zone sur support et la chromatographie liquide.

Le système capillarys utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre, qui représente la forme la plus courante de l'électrophorèse capillaire. Il permet la séparation des molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétique propre dans un tampon de pH donné, et, selon le pH de l'électrolyte, d'un flux électro-osmotique plus ou moins important (Fig 10).

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

La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes de chaque capillaire. La détection directe des hémoglobines est effectuée à 415 nm côté cathode.

Les capillaires sont lavés avant chaque analyse par une solution de lavage, puis par le tampon d'analyse. Avec le tampon utilisé à pH basique, l'ordre de migration des principales hémoglobines normales et anormales est le suivant, de la cathode vers l'anode (Landers JP, 1995).

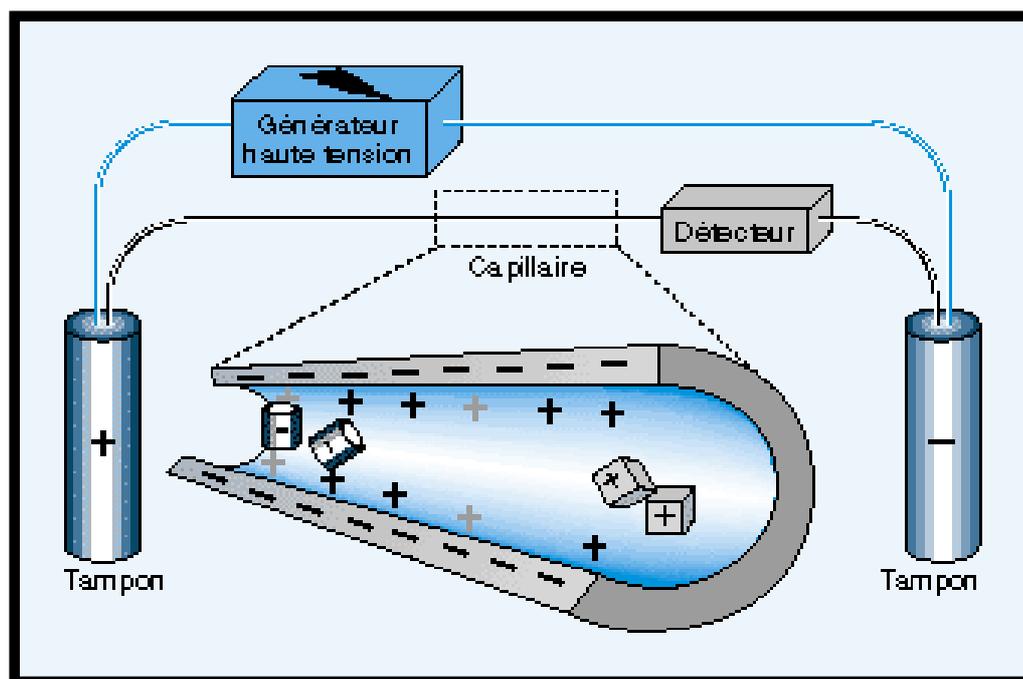


Figure 10: principe d'un système d'électrophorèse capillaire (Landers JP, 1995).

B. Echantillons utilisés

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

Les sangs peuvent être conservés au maximum sept jours au réfrigérateur (entre 2 et 8 C°). Pour la préparation des échantillons :

On agite le tube avant de prélever le volume de sang total à traiter, puis on centrifuge le sang totale, pendant 5 minutes à 5000tr /min, on élimine le plasma et on lave 2 fois les globules rouges par 10 volumes d'eau physiologique.

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

Le système capillarys est un instrument multiparamétrique automatique qui assure l'analyse des hémoglobines sur 7 capillaires en parallèles. Dès la fin de l'analyse, la quantification relative des fractions est automatiquement effectuée et les profils peuvent être

interprétés. Les pics d'hémoglobine **A (HbA)**, **F (Hb F)** et **A2 (HbA2)** sont identifiés de façon automatique et le pic d'Hb A est positionné au centre de la fenêtre de reprise.

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

Les profils sont automatiquement recentrés par rapport au pic d'Hb A afin de faciliter leur interprétation (Landers JP, 1995).

Résultat et discussion

1. Répartition des malades selon le type des hémoglobinopathies

Les résultats de l'étude confirment l'existence de différents types d'hémoglobinopathies dans la population de la région de Guelma.

Le nombre de cas suspects totaux durant la période 2010-2016 est 2263 sujets. Parmi ces derniers, un nombre de 355 cas ont été malades avec un diagnostic clairement établi. On note la présence de 298 sujets β -thalassémiques mineur, 19 sont atteints d'une drépanocytose hétérozygote (A/S), 16 malades drépanocytaires homozygotes (S/S), 10 malades doubles hétérozygotes (S/B), et 12 malades d'une hétérozygote C.

Le tableau 5 montre une nette prédominance de la β thalassémie mineur ou encore appelée le trait thalassémique. Ce qui peut être expliquée par le fait que le service d'hématologie est un service de consultations externes qui ne peut pas réalisé la prise en charge les formes homozygotes.

Tableau 5: Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies.

Type de la maladie	Effectif	Pourcentage
β-thalassémie mineur	298	83 ,94%
Drépanocytose hétérozygotes (A/S)	19	5,35%
Drépanocytose homozygotes (S/S)	16	4,50%
Double hétérozygotes (S/B)	10	2,81%
Hétérozygotes C	12	3,38%
Totale	355	100%

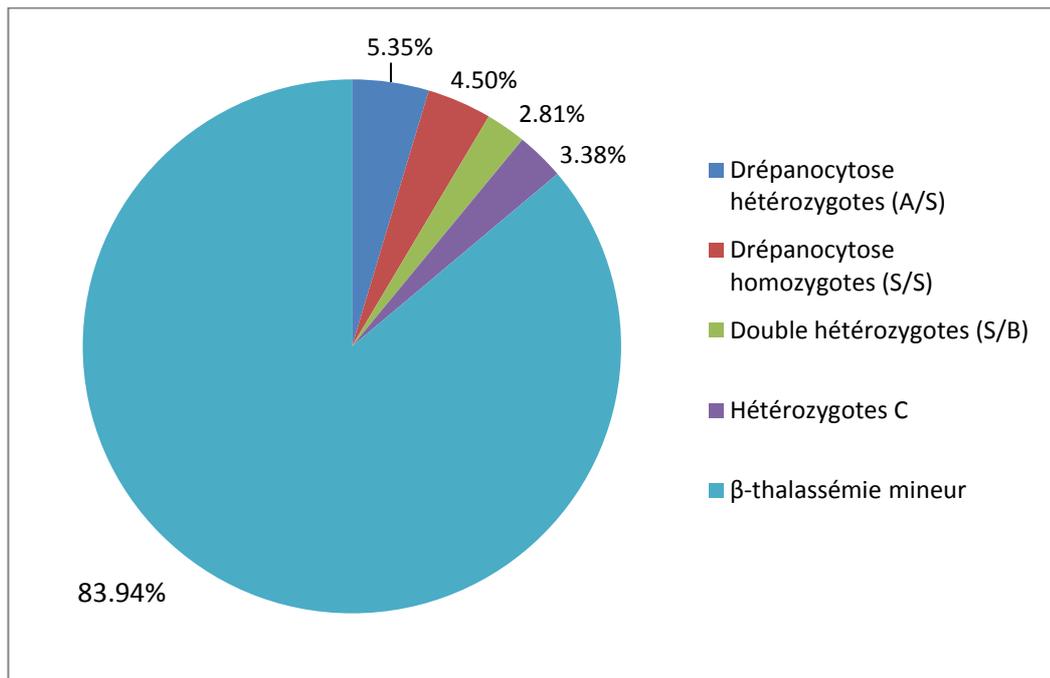


Figure 11: Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies

2. Etude des profils électrophorétiques des malades selon les différents types des hémoglobinopathies

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

1.1. Les β thalassémies mineurs

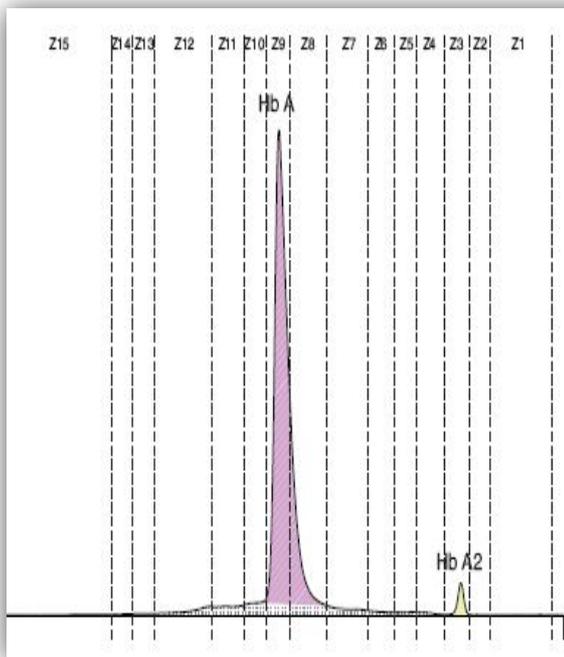


Figure12: Profil électrophorétique d'un sang normal

Hb A = 94, 5 %

Hb F < 0, 5 %

Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

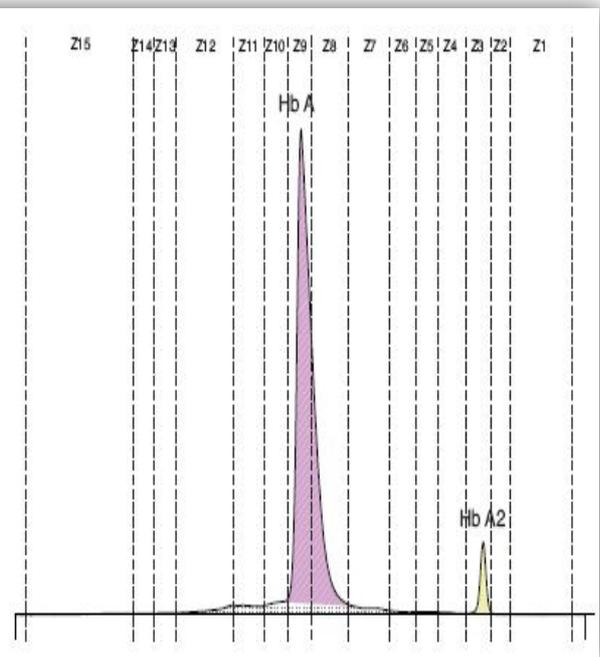


Figure13: Profil électrophorétique d'un d'un sang β - thalassémique mineur

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %

Hb A2 = 5, 5 %

Dans la technique capillarys hémoglobine, les valeurs des différentes hémoglobines normales obtenues permettent de détecter les cas de l'hémoglobinopathie (**figure12**). Un taux d'Hb A2 supérieur à 3,5 %, généralement entre 4 et 8 %, est le plus souvent associé à une β – thalassémie mineur (**figure13**) (Elion et Ducrocq, 1991), alors que chez le sujet normal, il est entre 2,2 et 3,2 %. Il faut savoir que la majorité des β –thalassémies mineur ne présentent pratiquement aucune des anomalies habituelles (un pseudo polyglobulie microcytaire), y compris l'élévation de l'Hb A2 (Cao et al, 1995). Par ailleurs, l'Hb A2 peut s'élever modérément au cours d'anémies mégalo-blastiques, d'hyperthyroïdies ou d'érythro-leucémies (Steinberg et Adams, 1991).

1.2. Les drépanocytoses homozygotes (S/S) :

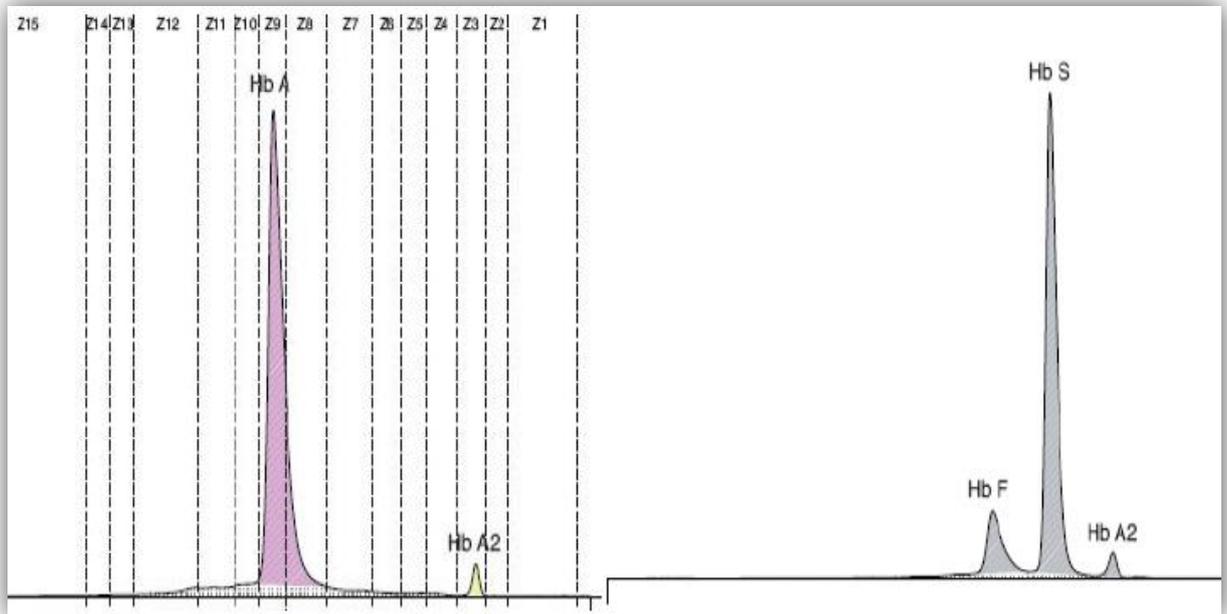


Figure12: Profil électrophorétique

d'un sang normal

HbA = 96, 8 à 97, 8 %

HbF < 0, 5 %

HbA2 = 2,2 à 3,2 %

Figure14: Profil électrophorétique

d'un sang avec variant homozygote

HbS = 77 à 98 %

HbF = 2 à 20 %

HbA2 = 2 à 3 %

La drépanocytose est due à une mutation d'un acide glutamique de la chaîne β (acide aminé n°6) par une valine (acide aminé neutre) (Basset P, 1978) : elle présente ainsi un point isoélectrique augmenté par rapport à l'hémoglobine A (Bardakjian MJ et *al*, 2003). Sa charge négative globale est donc diminuée au pH de l'analyse: cette hémoglobine migre plus rapidement que l'hémoglobine A.

Dans la technique capillaires hémoglobine, en tampon alcalin, l'hémoglobine S migre entre les fractions A et A2, à environ 1/3 de la distance A-A2, coté A2 (**figure 14**).

Il existe une absence d'HbA, deux cas peuvent se présenter : soit l'Hb S est nettement majoritaire et elle est en général associée à une bande minoritaire d'Hb F, soit l'Hb S est associée à une autre hémoglobine anormale (Vovan L, 1985).

Dans le premier cas de figure, un taux d'Hb S en moyenne entre 77 et 98 % permet d'évoquer une drépanocytose homozygote SS associée ou non à une α -thalassémie, ou un syndrome drépanocytaire $S\beta^0$, en cas de trait α -thalassémique associé, il peut y avoir atteinte d'un seul gène (sujets SS $\alpha^-/\alpha\alpha$) ou de deux gènes (SS α^-/α^-). Chez tous ces sujets, une bande F de faible intensité (de 5 à 10 % en moyenne) est visible (Galactéros, 1995).

Dans le cas de PHHF associée à de l'Hb S (sujets S PHHF), le taux d'Hb F est de l'ordre de 30 % et ces sujets ne sont pas anémiques. Enfin, rappelons qu'un traitement des drépanocytaires par hydroxy urée fait augmenter le taux d'Hb F, qui peut alors s'élever jusqu'à 25 % (Lubin BH et al, 1991).

1.3. Les drépanocytoses hétérozygotes A/S

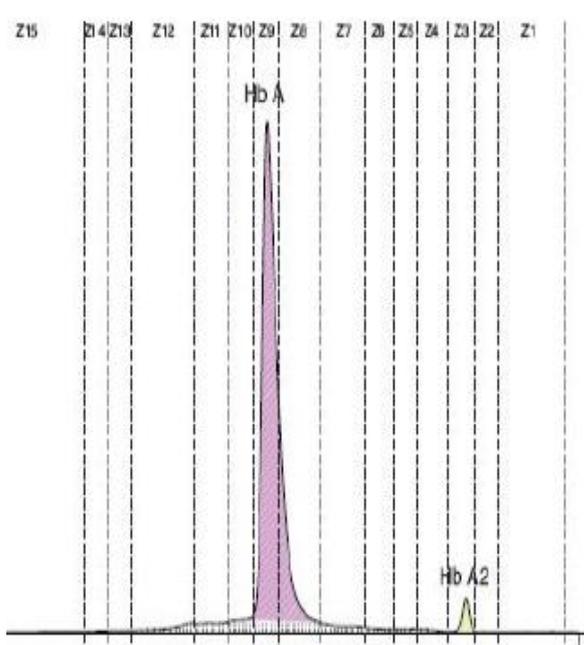


Figure12:Profil électrophorétique normal

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %

Hb F < 0, 5%

Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

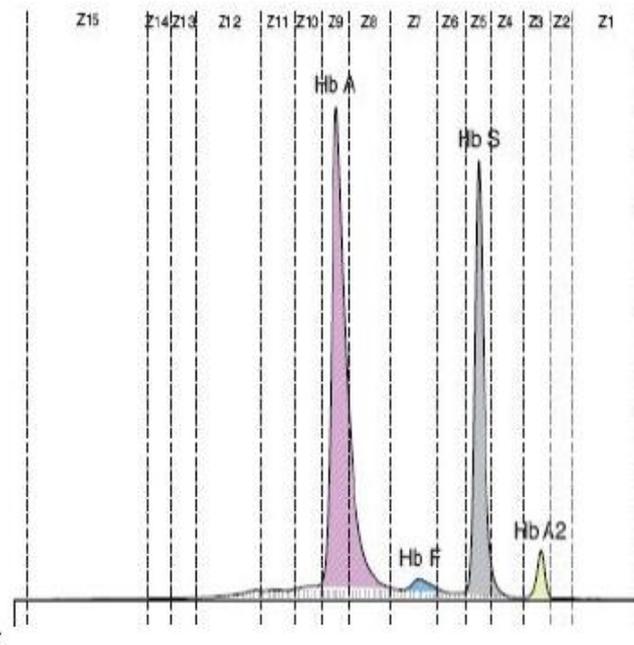


Figure15:Profil électrophorétique d'un sang avec variant hétérozygote HbS

Hb A = 61, 6 %

Hb F = 1, 8 %

Hb A2 = 3, 0 %

Hb S = 33, 6 %

La drépanocytose hétérozygote est caractérisée par la présence d'Hb A (Cao A et al, 1996). Il est alors important de quantifier les différentes fractions A, A2 et S (Joutovsky A et al, 2004) (**figure15**).

En l'absence de trait thalassémique associé, l'HbS représente une fraction de l'ordre de 33,6 % de l'hémoglobine totale. Les sujets AS ont un hémogramme normal et sont cliniquement asymptomatiques (Galactéros F, 1995).

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

1.4. L'hémoglobinosose C hétérozygote

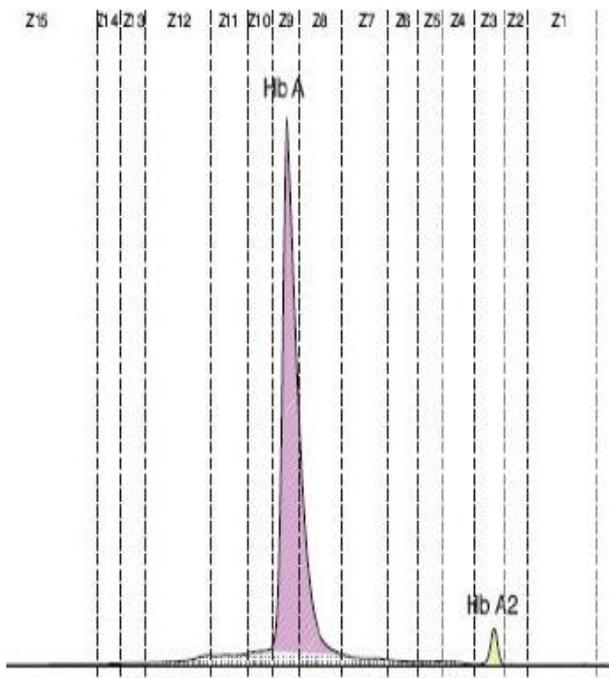


Figure12 : Profil électrophorétique sang normal

Hb A = 96,8 à 97,8 %

Hb F < 0,5 %

Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

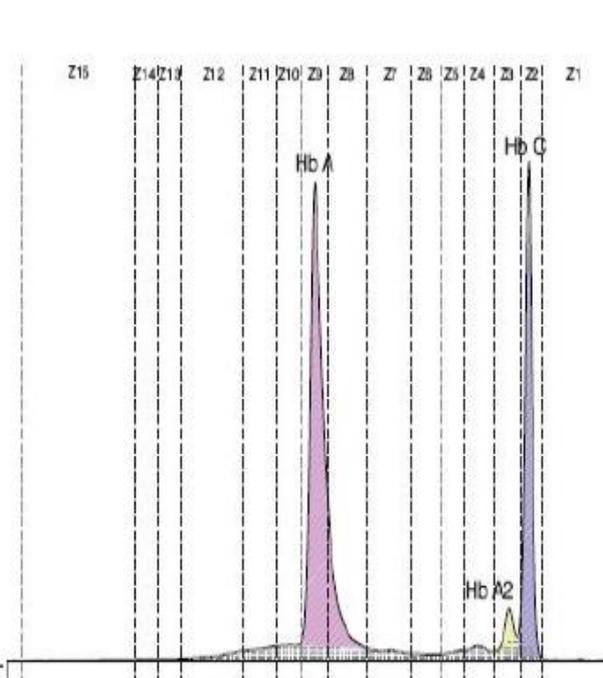


Figure16 : Profil électrophorétique d'un sang avec hémoglobinosose C hétérozygotes

HbA = 66,5 %

Hb A2 = 2,5 %

Hb C = 31,0 %

L'hémoglobinosose C est due à une substitution d'un acide glutamique de la chaîne β par une lysine (acide aminé basique n°6). Elle présente ainsi un point isoélectrique augmenté par

rapport à l'hémoglobine A. Sa charge négative globale est donc diminuée au pH de l'analyse : cette hémoglobine migre plus rapidement que les hémoglobines A et A₂, dont elle est partiellement séparée, ce qui améliore nettement le diagnostic médical (**figure16**) (Krauss JS et al, 1986).

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

3. Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma

D'après les résultats du tableau 6, la répartition géographique de différents types des patients chez la population de la région de Guelma et qui sont distribués de façon irrégulière. Les hémoglobinopathies identifiées sont classées par ordre décroissant de fréquence comme suit : les β -thalassémies mineures, Les drépanocytoses hétérozygotes A/S, puis drépanocytose homozygotes S/S, l'hémoglobinoase C et en fin l'hétérozygote composite S/B.

La région de Guelma représente la zone géographique la plus touchée par les hémoglobinopathies, ceci est expliqué par la richesse démographique de la région.

Tous ces syndromes coexistent souvent dans les mêmes populations et les formes combinées sont loin d'être rare, leurs diffusions, posent des problèmes de santé publique. Aujourd'hui, les mouvements de populations, les métissages et surtout les mariages consanguins conduisent à une diffusion de plus en plus large de ces anomalies.

Tableau 6 : Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma

Effectif Region	β - Thalassémie mineur	Drépanocytoses A/S	Drépanocytose S/S	Double hétérozygote S/B	Hétérozygote c
Mdjaz Ammar	3	3	1	0	0
Oued zenati	2	0	0	0	0
Héliopolis	4	0	0	0	0
Boumahra	4	3	0	0	1
Guelma	276	13	15	10	10
Hammam Dbagh	9	0	0	0	1
Totale	298	19	16	10	12

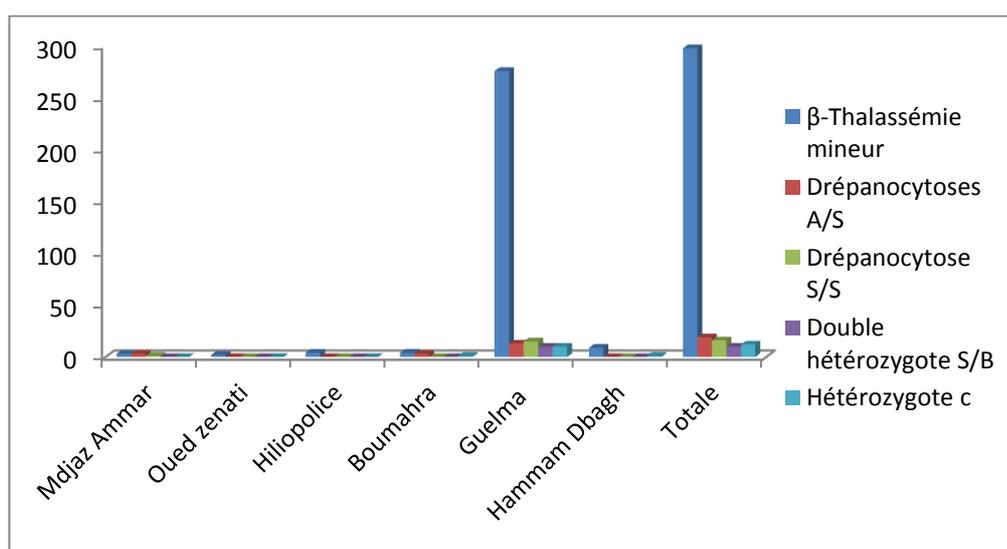


Figure 17: Distribution géographique des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma

4. Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon le sexe

D'après nos résultats (**tableau 7**), il existe une prédominance féminine de toutes les formes des hémoglobinopathies étudiée avec un sexe ratio (Homme/Femme) égal à 2,5 (Fig18). Cette prédominance est en concordance avec des études précédentes qui portent sur le même sujet dans d'autres pays (Sif I, 2013).

Tableau 07: Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la région de Guelma selon le sexe

Sexe	Femme	Homme
β-Thalassémie mineur	151	46
Drépanocytose hétérozygotes A/S	11	8
Drépanocytose homozygotes S/S	8	8
Double hétérozygote S/B	5	6
Hétérozygote C	9	3
Totale	184	71

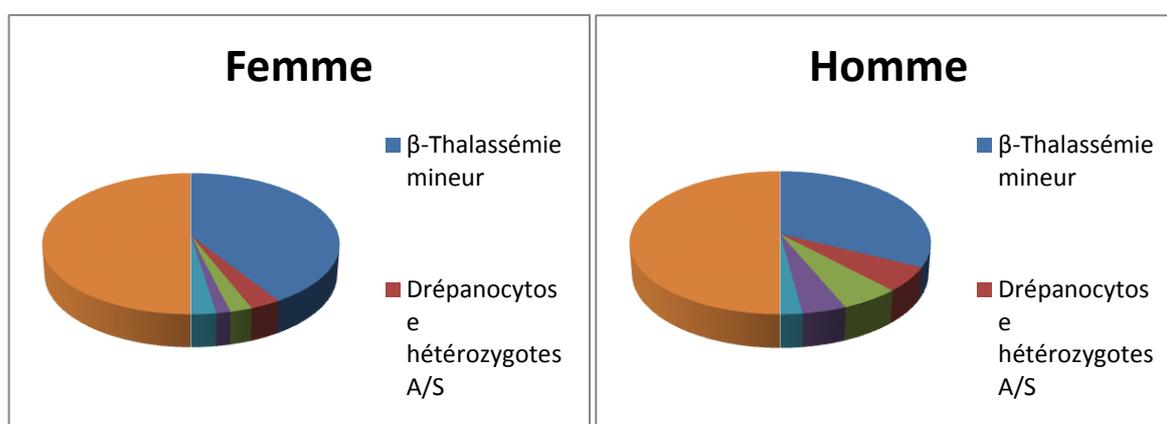


Figure 18: Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon le sexe

5. Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population de la région de Guelma selon l'âge

A partir de ces résultats du tableau 8, on constate que la β -Thalassémie mineur est la maladie la plus fréquente que les autres formes des hémoglobinopathies. Plus de 140 personnes ont été identifiées dans la tranche d'âge de [40-60] ans, 84 personnes se trouvent dans la tranche d'âge de [20-40] ans. Et enfin, 46 personnes ont été identifiées dans la tranche d'âge de [60-70] ans et 28 personnes entre les années [0-20] ans (Fig 19).

Tableau 08 : Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population selon l'âge

âge \ Effectif	[0-20]	[20-40]	[40-60]	[60-70]
β-Thalassémie mineur	28	84	140	46
Drépanocytose hétérozygotes A/S	3	9	6	1
Drépanocytose homozygotes S/S	10	5	1	0
Double hétérozygotes S/B	8	2	0	0
Hétérozygotes A/C	4	2	5	1

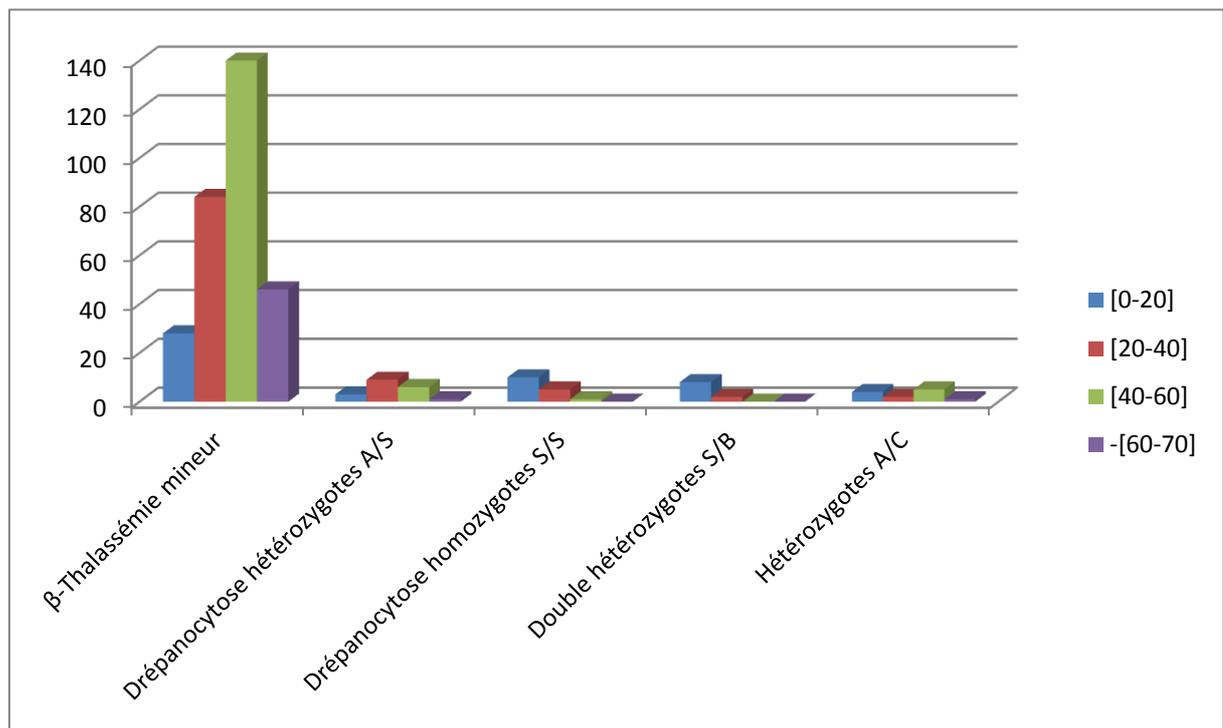


Figure 19 : Répartition des hémoglobinopathies identifiées dans la population selon l'âge

Conclusion

Conclusion

Notre travail a porté sur une maladie génétiquement transmissible connue sous le nom d'hémoglobinopathie. Au cours de notre enquête effectuée au niveau du service d'hématologie de l'hôpital Ibn Zohr, on a pu ressortir avec les points clés suivants:

La prédominance de la thalassémie mineure ou encore appelée le trait thalassémique dans la région de Guelma. Le sexe féminin étant le plus touché par ce groupe de maladies et la majorité des patients recensés sont âgée de plus de 20 ans.

On a révélé aussi que les syndromes drépanocytaires sont l'anomalie la moins fréquente (drépanocytose homozygote : 4.50% et drépanocytose hétérozygote : 5.35%).

La connaissance des mécanismes des hémoglobinopathies permet d'expliquer et de justifier les signes biologiques de ces états pathologiques. Un homozygotisme (β -thalassémie homozygote) se traduit par une pathologie grave avec des répercussions mortelles. Alors que l'hétérozygotisme (β -thalassémie hétérozygote) est en générale mieux supporté, puisqu'il existe des formes clinicobiologiques muettes (pseudo polyglobulie avec un taux d'hémoglobine normale).

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

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

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

Références bibliographique

Références Bibliographique

Autier J ; Buyse S ; carmantrant R ; Deffieux X ; Gyan E. orientation diagnostic d'hémoglobinopathie. (2004). 2eme éd. ESTEM ; France .p 879. ISBN : 978-2-84371-235-7

Bachir D ; Galactoros F ; Tehernia G.Oral magnesium pidolate : effects of long-term administration in patients with sickle cell disease. (2000) .Br J Haematol.p858

Badens C; North ML; Lena-Russo D. Les β -thalassémies en France métropolitaine. (2003). Presse Med. p1016-21

Bain BJ. Haemoglobinopathy diagnosis. (2006).2nd edition.Oxford : Blackwell Publishing.p 313

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

Basset P; Beuzard Y; Garel MC; Rosa. J.Isoelectric Focusing of Human Hemoglobin : its application to screening, to the characterization of 70 variants, and to the study of modified fractions of normal hemoglobins. (1978). Blood. p 82-971

Belhani M ; Morle F. α globine gene triplication in severe heterozygous β thalassemia. (1985).Blood. p 236-239

Belhadi K. Etude des hémoglobinopathies dans la population de la région de Batna. Mémoire de Magister en Biologie. (2011).université Batna.p 89

Beuzard Y ; Lubin B ; Rosa J.Sickle cell disease thalassaemias : new trends in therapy. (1995). Clooqe INSERM. John Libbey Eurotext Ltd.p 234

Bernard S. biochimie clinique: instruments et techniques de laboratoire, Diagnostics médico-chirurgicaux. (1989). 2eme éd afa/aïne. Paris

Barrère J. La famille multigénique des globines ; Les mécanismes de l'évolution(en ligne). (2005). (Consulté le 13-05-2016) disponible sue url : [http:// acces. Enslyon .fr/biotic /evolut/ mecanismes/globines/html/synthese.htm](http://acces.Enslyon.fr/biotic/evolut/mecanismes/globines/html/synthese.htm)

Cao A ; Galanello R ; Rosatelli MC. Pathologie moléculaire et diagnostic de la beta-thalassémie intermédiaire. (1995). Hématologie.1er éd. Pradel. p 289-94

- Clombat plt ; Binet CH ; Desbois J et Jangnére JP .Hématologie pratique. (1991). éd Pradel paris .
- Cooley TB ; lee T. Aseries of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. (1925).transaction of the American pediatric society. 37(5) :p 29-30
- Capillarys Hemoglobine. (2008). Notice d'utilisation Sebia; p 18
- Frédéric G ; Micheline M.R ; Neonato M.G. Diagnostic biologique des pathologies génétiques de l'hémoglobine. (2010). Docstoc.
- Galactéros F .Drépanocytose. Physiopathologie et diagnostic. (1995). Rev Prat.p 45-351
- Girot R ; Galacteros F. La drépanocytose en France en 2006: acquis et défis. Archives de Pédiatrie. (2006). Docstoc .p1191
- Godart C ; Riou J.Place de l'HPLC dans le diagnostic des hémoglobinopathies. (2007). BIO-RAD
- Hydragel 7 Hemoglobine. (2006). Notice d'utilisation Sebia ; p10
- Ingram V. M ; stretton AOW. A specific chemical difference between the globins of normale human and sickle cell anemia hemoglobine-nature. (1959). Transaction of the American pediatric. 5(1) : p 184- 190
- Jellum E ;Stokke . Diagnostic applications of chromathgraphy and capillary electrophoresis. (1997).F A Davis companyp155-164
- Joutovsky A; Hadzi-Nesic J and Nardi MA.HPLC retention time as a diagnostic tool for hemoglobin variants and hemoglobinopathies : a study of 60 000 samples in a clinical diagnostic laboratories. (2004). Cli Chem. p 1736-1747
- Kenneth R ; Bridges H ; Franklln Bunn H. Anémies avec modification du métabolisme du fer In: Harrison T.R. (1992). Eds: Principes de médecine interne.Médecine-Sciences Flammarion, 5eme éd, Paris. p 1518-1523
- Koury M ; Mahmud M.origin and development of blood cells.(2009). Clin.Chem .P 79-105
- Krauss JS; Drew PA; Jonah MH; Trinh M; Shell S; Black L and Baisden CR.Densitometry and microchromathgraphy compared for determination of the hemoglobin C and A2 Proportion in hemoglobin C and hemoglobin SC disease and in hemoglobin C traitment. (1986) .Clin Chem. p860-863
- Landers JP. Clinical capillary electrophoresis. (1995). ClinChem. p 495-509

Lefrère F. Hématologie et transfusion.(2008).6^{eme} ed.ESTEM.DE Boek.ISBN :978-2-84371-418-4

Lubin BH; Witkowska HE; Kleman K. Laboratory diagnosis of Hémoglobinopathies. (1991). ClinBiochem. p 363-74

Maier-Redelsberger M ; Girot R. Diagnostic biologique des maladies de L'hémoglobine. (1989). Feuilles de biologie.p 170

Maxwell M ; Lee G R . Hématologie Clinique. (1990). 3^{ème} ed. medicales internationales. Italie. ISBN : 88-299-0586-0

Mettais P ; Agneray J ; Ferard G ; Fruchart JC ; Jardiller JC ; Revol A ; Siest G et Stahl A .Biochimie Clinique. (1985).Tome 2^{ème} édition. simep SA ; France. p140-145

Oda RP.Spelsberg TC.Nolan JA. Capillary electrophoresis as a clinical tool for the analysis of protein in serum and other body fluids.Electrophoresis. CRC Press. (1997).Taylor&francis group.18(6), p1715-1723

Orsini A ; Perrimond H ;Vovan L ;Mattei M.Hématologie pédiatrique. (1982). ed Flammarion. Paris. p 442

Pasternak JJ.Génétique moléculaire humaine: Une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires. (2003). De Boeck Supérieur.p 587

Rochette J ; Charbit Y. Deux maladies genetiques : la drepanocytose et les thalassémies. Enquetes en region parisienne. (1990). Revue européenne des migrations internationales . Vol 6(3).P 145-166

Stevens A ; Lowe J. Anatomie pathologique générale et spéciale. (2001).1^{ère} éd. Claude Gompel .De Boeck. p 286-289

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

Schmidt M. Complémentarité des techniques d'électrophorèse capillaire et de CLHP dans le diagnostic des hémoglobinopathies. (2012). Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie; université de lorraine.

Schneider RG. Methods for detection of hemoglobin variants and hemoglobinopathies in the routine clinical laboratory. CRC Crit Rev Clin Lab. (1978). SCi9.p 243-271

Sif I. Diagnostic des hémoglobinopathies par électrophorèse capillaire : expérience d'un laboratoire d'analyses médicales privé. (2013), thèse pour l'obtention d'un doctorat en pharmacie, Maroc.

Sityer L. une maladie moléculaire : l'anémies drépanocytaire ; biochimie de lurbet stryer. (1985). 1ere éd. Flammarion .p 91-105

Smaili F .les anémies hémolytiques congénitales ; abrège d'hématologie. (1999). ed O P U. p 68-81

Steinberg MH ; Adams JG.Hemoglobin A2; origin, evolution, and aftermath. (1991). Blood. p 21-65-77

Stephen J ; Lippard J ; Mark Berg.Principes de biochimie minérale.(1997). De Boeck & Larcier s.a .ISBN:2-8041-2517-3

Thomas D ; Gelehrerter ;Francis S Collins. Moléculaire et médicale. (1992). éd Pradel ; paris.

Vaubourdolle M. Biochimie Hématologie. (2007). Le moniteur.tome 02.3eme ed. p 1116

Verdy E .La consultation d'hémostase en cas de syndrome hémorragique.hematologie par A.Najman. (1994).2 eme ed .Ellipses .

Vinatier I. Recommandations pour la mise en oeuvre et l'interprétation de l'étude de l'hémoglobine. (2009). Les cahiers Cerba;p 28

Vovan L ; Lara-Russo D ; Orsini A.Diagnostic biologique des hémoglobinoses. (1985). Ann .Pédiat.32.p780-798

Voet D ; Voet G .Biochimie. (2005).2nd ed.DE Boeck & Larcier s.a.ISBN :2-8041-4795-9

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

Annexe

Fiche de renseignement des données

1. Identité du patient :

-Nom et prénom :

-Age :-Sexe : M F

-Origine géographique : Wilaya :Commune :

-Origine ethnique : Père :Mère :

2. Diagnostic Clinique :

1. Drépanocytose :

2. Thalassémie :

➤ Alpha :

➤ Beta :

✓ Majeure

✓ Intermédiaire

✓ Mineure

Autre type :

الملخص

الملخص

من اجل التشخيص البيولوجي لامراض خضاب الدم عند فئة من سكان ولاية قالمة في مستشفى ابن زهر على مستوى مصلحة امراض الدم , قمنا باجراء الدراسة من 2010الى 2016على 2263 حالة مشكوك فيها تعاني من فقر الدم ,حيث استفاد هؤلاء المرضى من اختبارات دموية (حساب عدد الكريات الحمراء ,معايرة خضاب الدم ,فحص كريات الدم الحمراء) واختبار بيوكيميائي المتمثل في الفصل الكهربائي Capillarys

ولقد تحصلنا على النتائج التالية:

من بين 2263 حالة مشكوك فيها منها 355; حالة تعاني من فقر الدم ;منها 298 شخص مصاب ب β ثلاسيميا صغرى , 19 شخص مصابون بفقر الدم المنجلي مختلف اللواقح A/S و 16 مصابون بفقر الدم المنجلي متمائل اللواقح S/S و 10 منهم مصابون بمضاعف مختلف اللواقح S/B , و 12 شخص مصاب بمختلف اللواقح C.

ان امراض خضاب الدم هي اكثر انواع فقر الدم الاكثر انتشارا وتوزيعها الجغرافي غير متساو ويتركز خاصة في بلدية قالمة ,حمام دباغ و بومهرة.

ان الهدف من هذه الدراسة هو عرض كيفية تشخيص امراض خضاب الدم واثبات اهمية التشخيص المبكر للافراد الحاملين للمرض بالاضافة الى ابراز أهم امراض خضاب الدم المتواجدة على مستوى ولاية قالمة.

الكلمات المفتاحية:

خضاب الدم,امراض خضاب الدم , مرض خضاب الدم S, β ثلاسيميا , التشخيص البيولوجي.

Résumé

Résumé:

Pour connaître la prévalence des maladies de l'hémoglobine chez la population de la wilaya de Guelma, notre étude a été effectuée au niveau du service d'hématologie de l'hôpital Ibn Zohr.

La population globale recensée lors de notre enquête durant les années (2010-2016) est 2263 cas suspects d'hémoglobinopathies. Parmi eux, 355 cas sont malades dont 298 personnes atteints par la β -thalassémie mineur, 19 personnes par la drépanocytose hétérozygote A/S, 16 personnes par la drépanocytose homozygote S/S, 10 par la double hétérozygote S/B et 12 par l'hétérozygote C.

La prédominance féminine est clairement établie au cours de notre étude. La répartition géographique des ces anémies hémolytiques est irrégulière. Elles sont fréquentes dans les communes de Guelma, Hammam Dbagh et Boumahra.

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

Mots clés: hémoglobinopathies, syndrome drépanocytaires, β -thalassémie, diagnostic biologique.

Abstract

Abstract:

In order to evaluate the frequency of hemoglobin diseases in the population of Guelma, the study was conducted in the hematology unit of Ibn zohr hospital.

2263 suspected cases of hemoglobinopathies was found and among these cases, there are 355 sick patients. 298 person was affected by minor beta-thalassemia; 19 people heterozygous A / S; 16 person homozygous sickle cell disease S / S, and 10 by the double heterozygote S / B, and 12 heterozygous C.

The geographical distribution of this hemolytic anemia is irregular. They are frequent in the towns of Guelma, Hammame Dbagh and Boumahra.

The goal of the study of these diseases is the screening of carriers and prevention of hemoglobinopathies.

Keywords: hemoglobinopathies, sickle cell syndrome, β -thalassemia, biological diagnosis.