الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جـــامعـــة محمد الصديق بن يحيى – جيـــجـــل-
Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel-

Faculté des sciences de la Nature et la Vie
Département de Biologie Moléculaire et cellulaire

كلية عـــلوم الطبيعة و الحـــياة
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie
Option : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

Etude épidémiologique descriptive du déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase dans la wilaya de Mila

Membre de jury :

Présidente : ABBES Arbia
Examinatrice : BENSAM Moufida
Encadreur : BENSEGHIER Salima

Présenté par :

FETOUCI Hanan
KADI Hibat Arrahmane
MENDER Hayat

Année universitaire : 2015–2016

Numéro d'ordre

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier notre encadreur BENSEGHIER Salima son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Merci à nos parents pour avoir toujours cru en nous, merci de nous avoir soutenue dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils et de votre attention, merci pour tous, nous espérons vous rendre le bonheur que vous nous apportez.

Nous remercions vivement le Directeur du Centre Hospitalier de Mila et le Directeur du Centre Hospitalier de de Fedrjioua pour leur accueil chaleureux,

Nous remercions également les chefs de service de pédiatrie du Centre Hospitalier de Mila et du Centre Hospitalier de Fedrjioua pour leurs aides et leurs disponibilités.

Nous remercions tous ceux et celles qui nous ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail : nos familles et nos amies.

A tous un grand Mercie... **Hayat, Hiba, Hanan**

Liste des figures

Partie bibliographique

Figure .1 : Répartition mondiale du déficit en G6PD……..... 4

Figure .2 : Structure tridimensionnelle de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD)…….…. 5

Figure .3 : G6PD régénère le NADPH qui protège le globule rouge contre les peroxydes et les superoxdes apparus en présence de conditions oxydatives……. 6

Figure .4 : La position de gene G6PD sur le bras court du chromosomes X…….. 8

Figure .5 : Voie des pentoses phosphates. Elimination des oxydants (H_2O_2 en H_2O) dans les érythrocytes……. 13

Figure .6 : La production de NADPH par la transformation de G6P en 6-P-gluconate par l'enzyme de G6PD…….. 17

Figure.7 : test de tache fluorescente G6PD "*Beutler*"…….. 18

Figure.8 : Les Spherocytes…… 19

Figure.9 : Corps de Heinz etEccentrocyte……..... 20

Figure.10 : Séquençage automatique sur des séquenceurs 1 et 4 fluorophores……... 21

Partie pratique

Figure.1 : Lieu de l'EPH de Mila et Ferdjioua,……. 23

Figure.2 : la répartition des malades selon la région d'étude……..... 26

Figure.3 : Répartition des malades selon l'âge…….. 28

Figure.4 : Répartition totale des malades selon le sexe…… 29

Figure.5 : La distribution des malades selon le system ABO…… 30

Figure.6 : Les arbres généalogiques des antécédents familiaux de chaque cas…… 31

Liste des tableaux

Partie bibliographique

Tableau 1 **:** Localisation et fonction des 12 régions conservées dans la molécule de G6PD…… 7

Tableau 2 **:** Différents types des mutations…….. 12

Tableau 3 **:** Classification OMS des variantes enzymatiques de la G6PD en 5 classes, dont 3 déficitaires…….. 15

Partie pratique

Tableau 1 **:** Le pourcentage des malades selon les régions…….. 26

Tableau 2 **:** Classificationdes malades selon l'âge …….. 27

Tableau 3 **:** Répartition des malades selon le sexe……... 28

Tableau 4 **:** La répartition des malades selon ABO…….. 29

Tableau 5**:** Répartition des cas du déficit en G6PD selon les antécédents familiaux……. 31

Tableau 6 **:** Signes cliniques lors de l'admission……... 32

Tableau 7 **:** Répartition des paramètres de l'hémogramme…….. 33

Tableau 8 **:** Résultats du dosage de la bilirubine…….. 34

Tableau 9 **:** Répartition des cas en fonction de la valeur de la G6PD……... 36

Sommaire

Introduction.....01

Partie Bibliographique

I. **Généralités de déficit en G6PD**

I.1. Historique 03
I.2. Répartition mondiale..... 03
I.3. Définition et rôle de la G6PD..... 04
I.4. Génétique du déficit en G6PD 07
I.4.1. Mode de transmission..... 07
I.4.2. Lesmutation des G6PD..... 09
I.5. Physiopathologie du déficit enzymatique en G6PD..... 11
I.6. Symptomatologie 13
I.6.1. Les principales manifestations de la maladie 13
I.6.2. Expression clinique du déficit en G6PD 13
I.7. Classification phénotypique de déficits en G6pd 13
I.8. Facteurs déclenchants..... 14
I.9. Différents facteurs influencent le degré de sévérité de l'hémolyse..... 15

II. Diagnostic et traitement

II.1. Techniques de diagnostic.....17
II.1.1. Diagnostic biochimique 17
II.1.1.1. Technique spectrophotométrique de l'activité enzymatique 17
II.1.1.2. Test de fluorescence de dépistage rapide (spot test de Butler).....17
II.1.1.3. Le test de stabilité du glutathion réduit (GSH) 18
II.1.1.4. Test de réduction du NADP 18
II.1.2. Diagnostic hématologique..... 18
II.1.2.1. L'hémogramme 18
II.1.2.2. Le frottis sanguin 18
II.1.2.3. Recherche de corps de Heinz 19
II.1.3. Diagnostic génotypique 20
II.1.3.1. La PCR-RE 20
II.1.3.2. Système d'amplification de mutation réfractaire..... 20
II.1.3.3. Séquençage d'ADN 21

II.2. Prévention……22
II.3. Traitement ……...22

Partie Pratique

Matériels et méthodes……..23
Résultats et discussion…….26
Conclusion…….....37

Références bibliographiques…… 39
Annexes

INTRODUCTION

Depuis une dizaine d'années, l'attention internationale se porte sur les anomalies et les mutations intéressant le glucose-6 phosphate déshydrogénase (G6PD) chez l'homme, à la fois parce qu'elles sont à l'origine de divers troubles hémolytique.

La déficience en glucose-6-phosphate déshydrogénase également appelé favisme, est lié à une anomalie de l'enzyme G6PD qui entraîne des problèmes lors de l'ingestion de certaines substances (fèves en particulier) et certains médicaments. C'est une forme particulière d'hémolyse aigue (destruction des globules rouges) chez des sujets souffrant d'un déficit héréditaire en G6PD dans le globule rouge **(Yves, 2002).**

Le favisme est plutôt le terrain communal particulièrement chez les enfants. Le comportement clinique et épidémiologique du favisme présente plusieurs contradictions apparentes avec ce qui est connu de sa pathogénie**.**

La G6PD est l'anomalie génétique la plus fréquente au monde et concernerait 420 millions de personnes **(Bancarel *et al*., 2010)**. Sa découverte entraîne la nécessité de ne plus consommer d'aliments pouvant contenir des fèves et limite l'utilisation de médicaments et autres agentes notamment d'importants composés antipaludique. Sur le plan moléculaire, il est la conséquence d'une mutation ponctuelle au niveau du gène codant pour la G6PD situé sur le chromosome X.

Le déficit en G6PD est transmis par un gène lié au sexe. Ce gène s'exprime intégralement chez le mâle, et en n'observe pas de transmission de père à fils. Dans chaque cellule de la femme, un seul des deux gènes est actif. Les tissus et les érythrocytes des femmes hétérozygotes représentent ainsi une mosaïque de cellules normales et de cellule mutantes, en proportion très variable. Du fut de sa fréquence relativement élevée dans certaines populations, le gène a été d'une grande aide pour la topographie des chromosomes x ainsi que pour de nombreux autres travaux génétiques **(Megarbane, 2008).**

La G6PD est la première enzyme de la voie des pentoses phosphates, ce qui catalyse la première étape dans la voie de monophosphate d'hexose du métabolisme de glucose **(Kumar *et al*., 2016**). Dont le rôle principal est de fournir le coenzyme NADPH le coenzyme qui protège les globules rouges contre l'effort oxydant, le NADPH reduit le GSSG en GSH qui elle-même permet l'élimination des peroxydes générés dans le globule rouge par l'oxygène lié à l'hémoglobine. Si l'enzyme fait défaut, les agents peuvent dénaturer l'hémoglobine et les lipides membranaires, favorisant la lyse des hématies. La gravité des déficit est due au risque d'hémolyse aiguë intra vasculaire à la naissance **(Monchy *et al*., 2014).**

Le but de notre travail consiste à faire connaitre les paramètres de cette maladies (signes clinique, l'âge, région, sexe, facteurs déclenchant …) pour mieux dépister le G6PD durant les trois dernière années, notant que l'année 2016 n'était pas encore achevée.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

GENERALITES SUR LE DEFICIT EN G6PD

I.1. Historique

C'est en 1926 que Cordes a décrit pour la première fois une anémie hémolytique induite par la primaquine, le seul médicament antipaludique disponible à l'époque, Il aura fallu 20 ans de plus pour que, au cours de la seconde guerre mondiale, de la guerre de Corée et de la guerre d'Indochine, des cas d'hémolyse sous primaquine soient régulièrement rapportés alors que la primaquine était massivement utilisée chez les militaires **(Kaddari et *al*., 2004).**

Dès l'Antiquité, l'ingestion de fèves a été reconnue comme responsable d'anémie et la relation entre une anémie aiguë et la prise de certains médicaments est établie en 1926 par Cordes **(Cordes, 1926).**

La primaquine utilisée en traitement prophylactique du paludisme lors des opérations dans le sud-est asiatique de la seconde guerre mondiale par les militaires américains, a été mise en cause dans la survenue d'anémies aiguës chez les soldats noirs par Hockwald en 1952, et Carson et ses collègues découvert que l'anémie hémolytique a été provoquée par G6PD en 1956 **(Hofmann *et al.*, 2016).**

En 1958 : La détermination du caractère héréditaire et sa transmission par le chromosome X. Depuis, les recherches effectuées ont permis de mieux comprendre les aspects génétiques, moléculaires et physiopathologiques en cause **(Hofmann et *al*., 2016).**

En 1959 : Beutler décrit le mécanisme biochimique de l'anémie hémolytique après la prise de médicaments oxydants **(Xavier ; 2008).**

.

En 1962 : identification d'une analogie biochimique stricte des érythrocytes dans le favisme et dans la sensibilité de primaquin **(Sartori, 1972).**

En 1986 : Le clonage de G6PD par Persico *et al.* Tettakizawan *et al.* et le séquençage du gène de la G6PD **(Cappellini et Fioreli, 2008 ; Hing et *al*., 2005).**

I.2. La répartition mondiale

Le déficit en G6PD est le déficit enzymatique héréditaire le plus fréquent dans le monde, atteignant environ 400 millions d'individus dans le monde ; L'affection est plus fréquente chez les Noirs en Afrique et en Amérique. On la rencontre également dans les pays du pourtour méditerranéen et en Asie, surtout élevée dans les régions tropicales, pouvant toucher jusqu'à 25 % de la population .En Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale, 10–15% de la population en sont atteints; une prévalence similaire est retrouvée chez les Afro-Américains. Les sujets caucasiens

présentent principalement le variant G6PD méditerranéen, avec une fréquence accrue dans les régions côtières de Sardaigne et de Grèce (20–35%), ainsi qu'au Moyen-Orient (juifs kurdes 60–70%). En Asie du Sud-Est également, la fréquence est variable (Fig.1) **(Hofmann et *al*., 2016).**

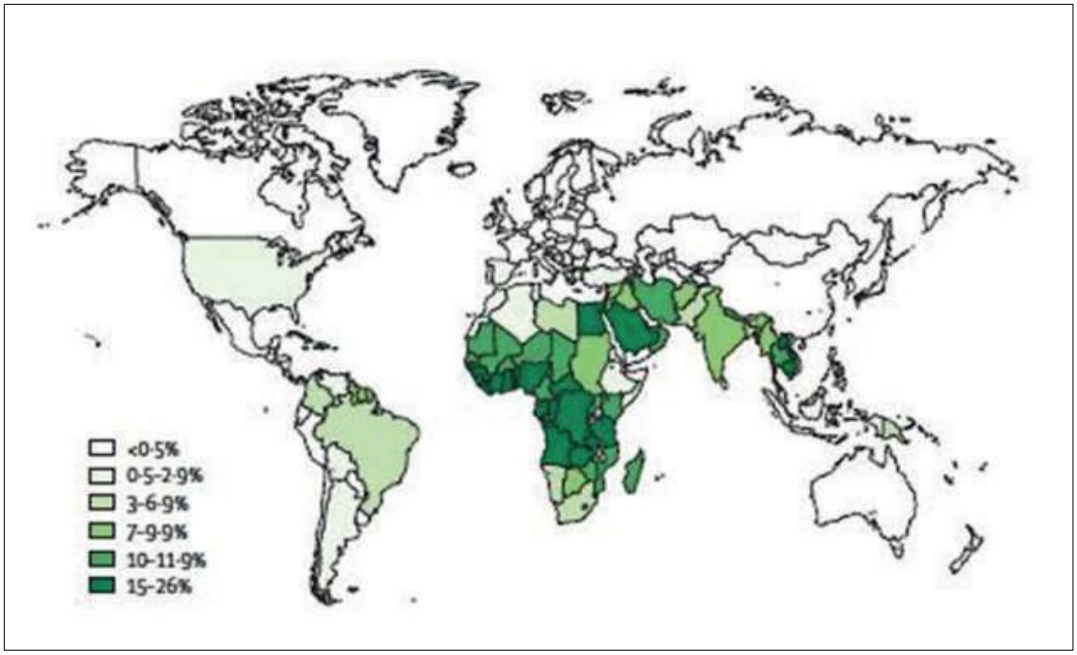


Fig.1: La prévalence mondiale du déficit en G6PD **(Hofmann et *al*., 2016).**

I.3. Définition et rôle de la G6PD

La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du glucose. La de G6PD est vraisemblablement l'un des la plupart lieux polymorphes parmi des humains avec presque 300 variantes allélomorphes rapportées **(Kaddari et *al*., 2004).**

Il était rapporté que la forme enzymatiquement active de G6PD est l'une ou l'autre d'un dimère ou d'un tétramère de s'accorder simple de sous-unité de polypeptide **(Biscaglia et *al*., 2015)**

Le monomère d'enzymes de G6PD se compose de 515 résidus avec une masse moléculaire de plus de 59 kDa **(Kaddari et *al*., 2004 ; Biscaglia et *al*., 2015),** l'un de son substrat, NADP+, est nécessaire pour l'activation de l'enzyme. L'activation a lieu par la formation d'un dimère ou un tétramère qui contient NADP+ étroitement liés (Fig.2) **(Peter et *al*., 2013).**

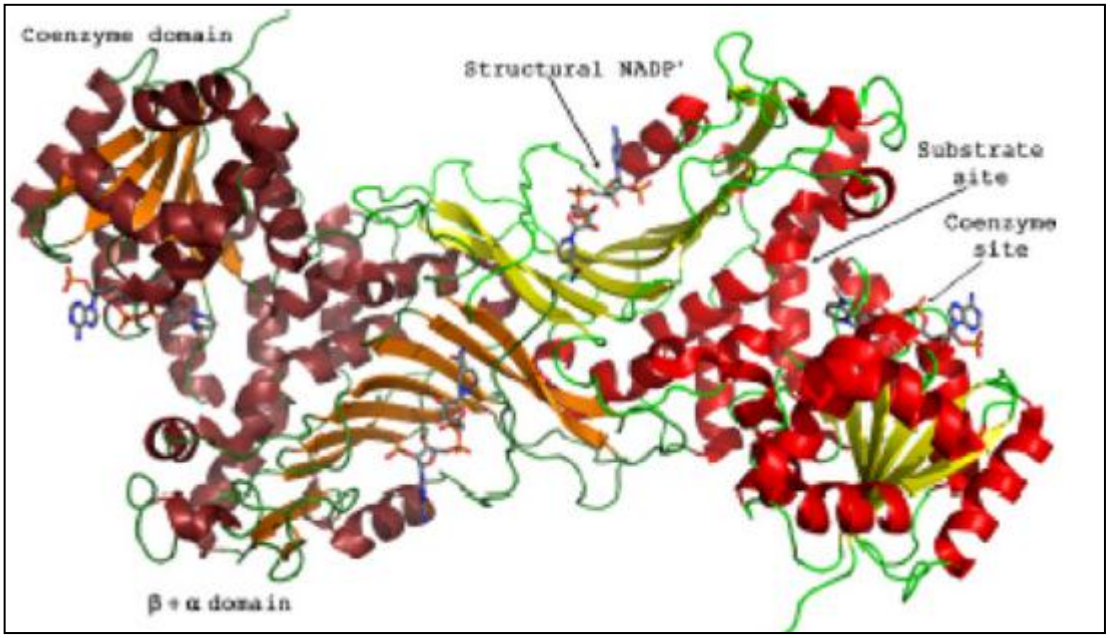


Fig. 2: Structure tridimensionnelle de la glucose-6-phosphate déshydrogénase **(Mégarbane, 2008)**

La G6PD est un tétramère formé de la réunion de deux homodimères dont la représentation ci-dessous montre la localisation du site actif et du sited'interaction avec la molécule de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite (NADPH). Le monomère de G6PDest une protéine de 514 acides aminés codée sur le locus Xq28 **(Mégarbane, 2008)**. Son rôle dans le globule rouge est de régénérer les systèmes de protection contre les agents oxydants (glutathion réduit et methémoglobine réductase) ainsi que les systèmes producteurs d'énergie. L'hématie, ne possédant pas de noyau, utilise pour son métabolisme le stock des enzymes qui ont été synthétisées au stade érythroblaste **(André, 1999).**

Enzyme G6PD catalyse l'étape dans la voie de phosphate de pentose qui permettant la réduction du NAP en NADPH par récupération d'atome H du G6PD cette oxydoréduction cyclique est entretenue grâce au retour à l'état NADP du NADPH par l'abondons de son H au profit GSSG en glutathion réduit donc NADPH réduit le GSSG en glutathion réduit (Fig 3) (**Wang et Paul, 2009).** La G6PD fournit NADPH, essentiel, entre autres rôles, en cellules protectrices contre effort oxydant **(Boonyuen *et al*., 2016).** Le NADPH sert principalement à réduire des équivalents pour de nombreuses réactions biochimiques telles que la biosynthèse, la réduction de glutathion, la désintoxication, et la production de superoxyde oxydase par NADPH **(Kumar *et al*., 2016)**.

La G6PD est la première enzyme de la voie des pentoses qui génère le NADPH coenzyme de la glutathion-réductase qui elle-même permet l'élimination des peroxydes générés dans le globule rouge par l'oxygène lié à l'hémoglobine .Si l'enzyme fait défaut, les agents oxydants

peuvent dénaturer l'hémoglobine et les lipides membranaires, favorisant la lyse des hématies. L'intérêt de cette enzymopathie est liée à sa fréquence et à sa gravité potentielle **(Monchy *et al.*, 2004).**

Le glucose-6-phosphatedéshydrogénase est une enzyme constitutive des cellules, indispensable à la vie de chacune d'elles, l'absence totale de l'enzyme est inconnue dans l'espace humaine **(OMS, 1990)**. La G6PD sous sa forme active se présente sous forme de tétramère ou de dimère, composé de sous unités identiques entre elles. La proportion de ces deux formes est pH dépendent **(Vigifavism, 2009).**

La G6PD occupe une place particulièrement importante dans le métabolisme rudimentaire du globule rouge .C'est une enzyme clef qui intervient au début de la voie de pentose phosphate, elle catalyse la première étape de la voie des hexoses monophosphates qui transformer le glucose 6 phosphate en 6 phosphogluconolactone et réduit le coenzyme, la NADP (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate) en NADPH (Nicotinamide Adénine dinucléotide Phosphate réduit) (Fig. 3) **(Elyassi et Rowshan, 2009).**

Dans l'hématie, la G6PD est la seule source de production du $NADPH^{+}$, H^{+}. Le NADPH réduit permet la régénération du glutathion, dont le rôle est la neutralisation des peroxydes, très toxiques pour le globule rouge. Le maintien du pool de glutathion réduit à un niveau normal est nécessaire à la lutte contre le stress oxydatif **(Yves, 2002).**

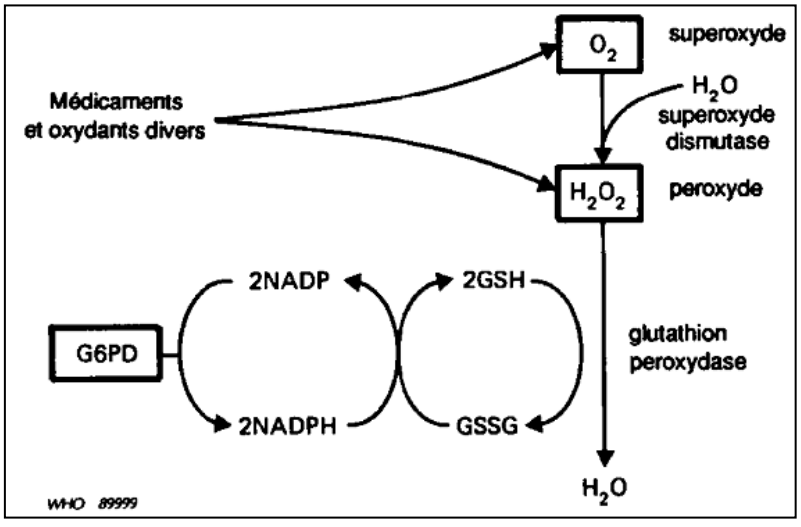


Fig. 3 : G6PD régénère le NADPH qui protège le globule rouge contre les peroxydes et les super oxydes apparus en présence de conditions oxydatives (**OMS, 1990).**

En comparant les séquences d'une cinquantaine d'espèce, Notaro, Afolayan et Luzzatto ont identifié 12 régions conservées dans la molécule de G6PD qui ont sans doute un rôle dans la fonction et la structure de la molécule. (Tableau 1) (**Minucci *et al*., 2009).**

Tableau 1 : Localisation et fonction des 12 régions conservées dans la molécule de G6PD **(Anna et Cornelis, 2009).**

Régions	Résidus	Exons	Rôle
Région I	34-53	Exons 2 et 3	site de liaison du coenzyme
Région II	137-148	Exon 5	core hydrophobe de la protéine
Région III	166-180	Exon 6	zone conservée faisant face au centre actif
Région IV	193-218	Exon 6	site catalytique
Région V	240-274	Exon 7-8	zone conservée faisant face au centre actif
Région VI	284-292	Exon 9	hélices alpha amphipatiques
Région VII	333-339	Exon 9	core hydrophobe de la protéine
Région VIII	347-362	Exon 9-10	core hydrophobe de la protéine
Région IX	365-376	Exon 10	core hydrophobe de la protéine
Région X	388-404	Exon10	contact entre sous-unités
Région XI	433-443	Exon 11	core hydrophobe de la protéine
Région XII	451-464	Exon 12	hélices alpha amphipatiques

I.4. Génétique du déficit en G6PD

I.4.1. Mode de transmission

Le déficit en G6PD est le deuxième déficit enzymatique héréditaire par ordre de fréquence **(Verrelli *et al*., 2002 et Pierre Aubry *et al*., 2016).** Le gène humain de G6PD, qui contient 13 exons et de 12 introns est porté par le bras long du chromosome X, en position Xq28, localisé sur la région télomérique près du gène codant pour le facteur VIII (Fig. 4) (**Minucci et *al*., 2009).**

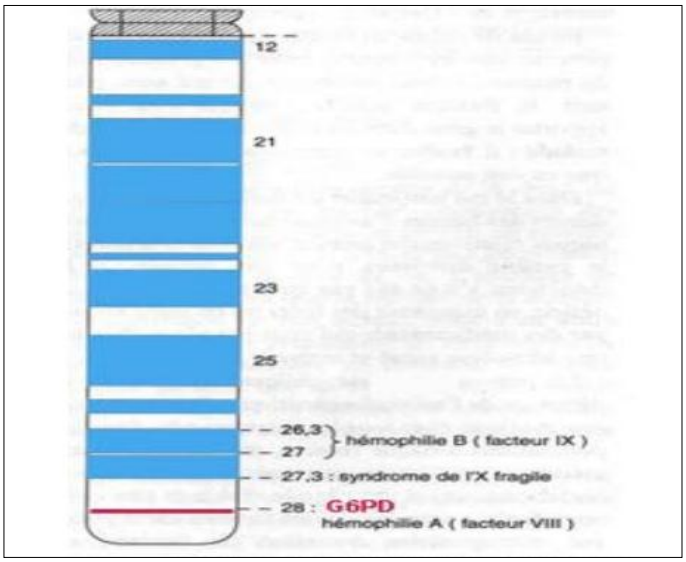


Fig. 4: La position de gene G6PD surbras court du chromosomes X (**Minucci *et al*., 2009).**

Le déficit en G6PD est le deuxième déficit enzymatique héréditaire par ordre de fréquence. Les hommes hémizygotes sont toujours symptomatiques et les femmes, qui transmettent l'anomalie,sont en général cliniquement indemnes ,Toutefois, le déficit peut être symptomatique chez les femmes, soit homozygotes dans les populations où la fréquence génique est élevée, soit hétérozygotes en fonction de l'inactivation de l'un ou l'autre des deux chromosomes X :

-les hommes sont atteints (X*Y) (hémizygotes)

- les femmes transmetteuses (X*X) mais non atteintes (hétérozygotes)

- sauf les rares femmes (X*X*) (homozygotes)

Chez les femmes hétérozygotes, les études sur le gène codant pour la G6PD ont permis de vérifier la théorie de l'inactivation de l'X ; il a en effet été démontré que chez la femme, seul l'un des chromosomes X est actif dans chaque cellule . Cette théorie permet d'expliquer le fait que chez les individus normaux, l'activité de la G6PD montre une valeur identique chez l'homme et la femme, alors qu'elle devait être double chez cette dernière, puisque les cellules de la femme possèdent deux chromosomes X **(Cordes, 1926)** .Cette même théorie permet de comprendre la variation des taux d'activité de la G6PD chez une femme hétérozygote qui peuvent être modérément diminués de 50à75 % du taux normal,parfois plus bas ou plus élevés voire normaux. En effet, le processus del'inactivation se faisant au hasard, il peut ya voir plus de cellules déficientes ou plus de cellules normales qui échappent à l'inactivation entraînant cette grande dispersion des taux. Toutefois, le diagnostic peut être symptomatique chez les femmes, soit homozygotes, soit hétérozygotes en fonction de l'inactivation de l'un ou l'autre des deux chromosomes. Les filles hétérozygotes

présentent une forme variable, en général très modeste, du déficit du fait de l'inactivation par lyonisation du X déficitaire. Le Mécanisme décrit par Lyon en 1961 , ils'agit d'un processus de compensation génique propre au chromosome X qui aboutit à l'inactivation aléatoire de l'un des deux chromosomes dans chacune des cellules. Pour la majorité des gènes portés par l'X, l'expression d'un seul allèle suffit. Le fonctionnement de cette régulation génique n'est que partiellement compris.

La maladie touche donc essentiellement le sexe masculin et sa transmission se fait par le sexe féminin en général "porteur sain"(**Hofmann *et al.*, 2016)**.

I.4.2. Les mutation du géne G6PD

L'atteinte génétique provient habituellement d'une transmission familiale du gène (mutation transmise), mais parfois d'une altération nouvelle du gène de la G6PD, chez une personne dont les parents n'étaient pas porteurs du déficit (mutation de novou). Différentes mutations sont trouvées dans différents groupes ethniques **(Notaro *et al.*, 2000)**.

L'étude des mutations génétiques par analyse de l'ADN est un test coûteux, réservé à certains laboratoires spécialisés et agréés. La biologie moléculaire permet de caractériser le défaut responsable du déficit et de prédire ledegré de sévérité clinique encouru par le patient, si la mutation est déjà connue et étudiée **(Mura *et al.*, 2009)**

L'analyse moléculaire par enzyme de restriction nécessite de connaitre précisément la mutation recherchée. Si la mutation causant le déficit n'est pas connue, il est alors nécessaire d'effectuer un séquençage des treize exons du gène . La majorité de mutations causant l'insuffisance de G6PD sont mutations de nulle faux-sens et évidente des (mutations non-sens tôt, destruction de mutations armature de lecture, mutations dans l'attache de substrat ou les régions obligatoires de coenzyme) **(Monteiro *et al.*, 2014)**.

À l'aide de la biologie moléculaire 400 à 500 variantes de la G6PD ont été identifiés par la mise en évidence de mutations au niveau du gène **(Monteiro *et al.*, 2014)**. Avec une répartition géographique caractéristique, Les trois principaux sont : le variant"A -"retrouvé chez les sujets noirs, le variant "méditerranéen" associé à des manifestations cliniques généralement sévères et le variant "canton" des asiatiques **(Cordes, 1926)**.

La majorité des mutations entraîne un déficit en G6PD du globule rouge en réduisant la stabilité de l'enzyme. Ces mutations touchent principalement la zone d'interface nécessaire pour former le dimère ou la zone d'interaction de l'enzyme avec NADPH **(Cordes, 1926)**.

Plusieurs variantes de la G6PD ont été caractérisées selon leur activité et leurs propriétés physicochimiques comme la mobilité électrophorétique, la stabilité thermique, le pH optimal d'activité ou la concentration nécessaire en substrat .La G6PD d'activité normale la plus répandue est celle de type B avec une activité légèrement plus basse et une mobilité électrophorétique plus rapide, conséquences de la substitution d'un acide aminé ,les défauts moléculaires résultent généralement d'une mutation ponctuelle exonique, à l'origine d'une substitution d'un acide aminé. Parmi ces variantes, on distingue les non déficitaires ayant une activité normale et les déficitaires ayant une activité réduite (**Pierre *et al.*, 2016).**

Les variants non déficitaires sont représentés par le variant B + correspondant à l'enzyme normale observé chez la majorité des individus de toutes races et le variant A + observé chez 30 % des Africains **(Pierre *et al.*, 2016)**. Ce variant diffère du B + par une mutation ponctuelle (mutation A-G en 376) entraînant une mobilité électrophorétique différente. D'autres variantes non déficitaires existent mais ils sont plus rares. Parmi les variants déficitaires sont particulièrement répandus sont le variant B- et le variant A- obtenus par des mutations supplémentaires sur les gènes des enzymes normales B+ et A+. Le variant B- est surtout fréquent dans les populations méditerranéennes ; l'enzyme synthétisée a une activité réduite dans les hématies (de l'ordre de 1 %) (tableau 2) (**Monchy *et al.*, 2004)**. La G6PD méditerranéen est la variante la plus commune trouvée dans les populations du sud Europeen, le Moyen-Orient et le sous-continent indien **(Ministère de la Santé de France, 2008).**

La G6PD méditerranéennes est le variant principalement responsables de l'occurrence des événements hémolytiques **(Mura *et al.*, 2009).** C'est un variant de la classe 2 caractérisée par une activité enzymatique très basse (plus moins de 10% de normale), due à une mutation transition de T en C ou A, au nucléotide 563, entraînant le remplacement de l'acide aminé 188 Ser par Phe d'acide aminé **(Cherepnalkovski *et al.*, 2015).**

D'autres types sont aussi souvent rencontrés. Les variants Canton (forme sévère) et Mahidol (forme modérée) sont répandus dans le Sud-Est asiatique. Le variant Oklahoma montre une affinité réduite pour la G6PD et la NADP. Les types Manchester ou Tripler sont anormalement sensibles à l'effet inhibiteur de la NADPH. Le variant dit Hektoen a été décrit avec une activité plus élevée que la normale et une mobilité électrophorétique plus grande **(Pierre *et al.*, 2016).**

Les mutations impliquées portent très souvent sur les parties codantes plutôt que sur les parties non codantes des gènes. La forme A+ dérivé de B+ est due au remplacement d'une asparagine par un acide aspartique en position sur l'exon une série de mutants est résumée dans le

tableau 2 dans ce tableau , qui pourrait connaître une extension rapide se dégagent quelques éléments essentiels : les deux grands groupes, A et B, dérivent bien l'u de l'autre par une seule mutation, Asn parAsp, qui augmente la charge négative de la protéine-enzyme et rend compte de la migration électrophorétique plus anodique de la forme A, Chaque mutant présente une mutation unique dans la séquence des acides aminés de B+, à l'exception de A-: celui-ci possède en effet à la fois la mutation caractéristique de A+ et une mutation supplémentaire Val -Met. Elle s'est donc, à l'origine, greffée sur une population A+; certains mutants, comme Seattle, ont été trouvés en plusieurs endroits (États-Unis, Grèce, Sardaigne) (**Hofmann *et al.*, 2016)**

Toutes les variantes ont l'activité enzymatique et la nulle résiduelles les mutations sont mortelles **(Verrelli *et al.*, 2012).** Des mutations de la G6PD qui ont comme conséquence l'activité enzymatique réduite ont été impliquées dans la résistance malarique et constituent un des meilleurs exemples du choix dans le génome humain **(Mégarbane, 2008).**

Tableau 2 : différents types des mutations observées dans différents variantes en indiquant la position et la nature des changements des acides aminés **(Anna et Cornelis, 2009).**

Variant	**Position**	**Changement**
A+	126	Asn→Asp
A-	68	Val→Met
Metaponto	58	Asp→Asn
IIesha	156	Glu→Lys
Chatham	335	Ala→Thr
Santiago de Cuba	447	Gly→Arg
Seattle	288	Asp→His
Méditerranéen	188	Ser→Phe
Sassari	188	Ser→Phe
Cagliari	188	Ser→Phe

I.5. Physiopathologie du déficit enzymatique en G6PD

La déficience en G6PD altéré le fonctionnement de la voie des pentoses, une des quatre voies principales du métabolisme énergétique **(Bancarel *et al.*, 2016).** Le déficit en G6PD bloque la première réaction d'oxydation de la voie des pentoses phosphates ce qui réduit les capacités cellulaires à lutter contre le stress oxydant **(Cappellini et Fiorelli, 2008).** Les érythrocytes

possèdent une quantité finie de G6PD. Selon la profondeur de l'anomalie génétique, la G6PD érythrocytaire peut avoir une durée de vie limitée, parfois très inferieure a la durée de vie normale de l'hématie qui est de 120 jours (**Bancarel *et al.*, 2010).** Tout au long de sa vie, le globule rouge est soumis à des agents oxydants menaçant l'intégrité de sa membrane et de l'hémoglobine. Des agents oxydants tels queO_2 ou H_2O_2 sont produits suite au contact avec certains xénobiotiques ou organismes infectieux, voire même à l'occasion de l'interaction répétée entre O_2 et hémoglobine **(Mégarbane, 2008).** En l'absence de NADPH, toute agression oxydative entraîne une altération des principaux constituants des globules rouges. L'hémoglobine dénaturée précipite à l'intérieur de la cellule pour former des corpuscules appelés corps de Heinz, eux-mêmes générateurs de radicaux oxygénés libres toxiques. Cette dénaturation de l'hémoglobine et l'oxydation des constituants membranaires conduisent à une hémolyse (**Affsaps, 2008).**

Suite à l'hémolyse, les globules rouges sont dégradés dans le foie qui transforme l'hémoglobine en bilirubine. La bilirubine peut alors former des calculs biliaires qui obstruent la vésicule biliaire et peuvent être à l'origine d'un ictère. Dans certains cas, l'hémoglobine peut aussi être éliminée dans les urines et provoquer une hémoglobinurie. Lorsque cette hémolyse est importante, elle entraîne une anémie, se traduisant par un état défaillant de l'organisme **(Affsaps, 2008).**

Enfin, la glutathion peroxydase convertit H_2O_2 en H_2O dans une réaction de GSH-dépendante .Les hématies des sujets présentant un déficit de l'activité G6PD produisent moins de NADPH, H+ nécessaire à la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme **(Mura *et al.*, 2009).** Un rôle majeur de NADPH dans les globules rouges est la régénération de la réduction du glutathion qui empêche la dénaturation de l'hémoglobine; il préserve l'intégrité des globules rouges du sang sulfhydryle de la membrane et détoxifie l'hydrogène peroxyde et d'oxygène radicaux dans et sur les globules rouges. Une diminution de G6PD résultats d'une carence en glutathion dans les globules rouges qui provoque l'hémolyse des érythrocytes dans la rate, l'activité G6PD diminue avec le vieillissement **(Ciftc, 2004 ; Mason *et al.*, 2007 et Gentilin, 2012).**

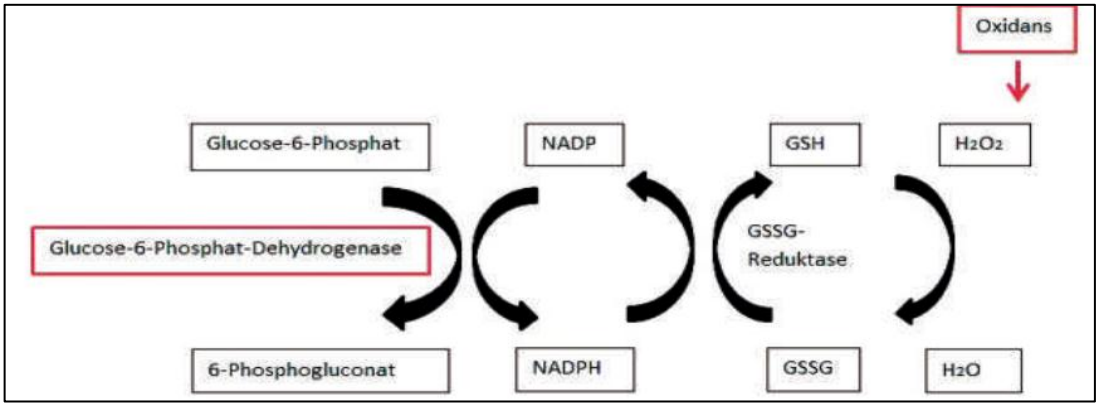


Fig. 5: Voie des pentoses phosphates. **(Hofmann *et al* ., 2016).**

NADP = nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, NADPH = nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit, GSH = glutathion réduit, GSSG = glutathion oxydé.

I.6. Symptomatologie

I.6.1. Les principales manifestations de la maladie

A la naissance, de rares cas, une jaunisse (ictère) peut déjà s'observer quelques jours après la naissance et se manifestant par une coloration jaune de la peau et des yeux, et une pâleur. Chez l'enfant et l'adulte, le plus souvent, il n'y a pas de manifestation de la maladie dans la vie quotidienne, le risque principal est la survenue d'accidents graves dus à l'apparition d'une anémie hémolytique aiguë, favorisés par la prise de certains médicaments ou de produits et des aliments contre-indiques en cas de déficit en G6PD (**Ministère de la Santé et des Solidarités de la France. 2008)**. Les principales manifestations sont :

• fièvre, pâleur, céphalées.

• douleurs abdominales et lombaires

• émissions d'urines foncées.

• fatigue ou anorexie inexpliquée.

• ictère.

I.6.2. Expression clinique du déficit en G6PD

L'intensité des manifestations cliniques dépend de la variante enzymatique et des facteurs déclenchant, La plus grande manifestation clinique associée au déficit en G6PD est l'anémie hémolytique **(Dembol, 2008 ; Dlawara, 2015).**

I.7. Classification phénotypique de déficits en G6PD

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une classification phénotypique de ces déficits en fonction de l'activité enzymatique résiduelle qui conditionne le risque d'hémolyse et donc la sévérité de la maladie :

La classe I : l'OMS comprend les déficits responsables d'une anémie non spherocytair hémolytique chronique (AHNSC) (**OMS, 1990 ; Mura *et al*., 2009).** Ces déficits sont rarement retrouvés et n'ont pas de spécificité de population. Les défauts cette classe sont probablement causées par des mutations dans la région de l'enzyme où NADP ou G6P lie. Le fond génétique des autres classes est inconnu. Les déficiences sont rares et peuvent être assez grave pour causer la dépendance transfusionnelle **(Anna et Cornelis, 2009).**

La classe II : OMS rassemble les déficits sévères dans lesquels l'activité enzymatique est inférieure à 10 % de l'activité enzymatique normale.

La classe III : OMS regroupe les variantes dont l'activité enzymatique est comprise entre 10 et 60 % de la normale.

Les classes IV et V regroupent des variantes non pathogéniques. Dans la Classe IV, le déficit en G6PD est asymptomatique (activité 60%-150 %) ni déficience enzymatique, ni hémolyse et la Classe V, l'activité enzymatique dans ces variantes est élevée (tableau3) **(Noêla, 2004 ; Mazza, 2012 et Seidlein *et al*., 2013).**

Tableau 3: Classification OMS des variantes enzymatiques de la G6PD en 5 classes, dont 3 déficitaires **(Bancarel *et al*., 2010).**

Type	Intensité du déficit	Activité enzymatique	Expression clinique	Variantes G6PD fréquents
Classe I	sévère	< 10 % de l'activité normale	Hémolyse chronique	Rare
Classe II	sévère	< 10 % de l'activité normale	Hémolyse intermittente	G6PD B- ou méditerranéen ; Mahidol ; Canton
Classe III	modérée	10 à 60 % de l'activité normale	Hémolyse suite à un stress oxydatif	G6PD Classe-
Classe I V	pas de déficit	60 à 150 % de l'activité normale	/	G6PD B ; G6PD A
Classe V	activité accrue	> 150 % de l'activité normale	/	Rare

I.4. Facteurs déclenchants

Le facteur déclenchant d'une hémolyse peut être l'ingestion de fèves ou l'inhalation de pollen de fèves légume qui a donné à la maladie le nom de favisme. Dans ce cas, l'hémolyse et l'anémie peuvent survenir quelques heures après l'ingestion. Elles peuvent être très sévères, avec une insuffisance rénale aiguë associée, et demandent un traitement d'urgence par transfusion ou par exsanguino-transfusion. Elles surviennent à tous les âges de la vie **(Affsaps, 2008).**

Trois substances alimentaires sont contre indiquées :

- **Les fèves** : plusieurs espèces végétales du genre Vicia sont concernées. Les plus petites (*Viciafaba var. minor, Vicia faba var. equina*) sont généralement consommées sous forme de graines sèches ou de farines. Les plus grosses (*Vicia faba var. major*), communément appelées «fèves » sont consommées fraîches (crues ou cuites) ou sous forme de légume sec. Toutes ces espèces contiennent une forte proportion de vicine et de convicine, substances nocives pour le déficitaire en G6PD **(Xavier Bertho, 2008).**

-**La quinine :** cette substance est également présente dans des boissons et a été décrite comme étant à l'origine d'accidents hémolytiques chez des déficitaires en G6PD **(Xavier Bertho, 2008).**

- **La vitamine C :** a été décrit chez des patients déficitaires en G6PD des cas d'hémolyse modérée après ingestion de doses quotidiennes de 1,5g de vitamine C. Ainsi, l'AFSSA et l'AFSSAPS ont retenu le seuil de sécurité de 1g de vitamine C par jour à ne pas dépasser par les patients atteints de déficit en G6PD. À titre de comparaison, chez l'adulte, les Apports Nutritionnels Conseillés sont de 110 mg/j de vitamine C **(Xavier Bertho, 2008).**

Certains médicaments peuvent aussi être responsables d'une hémolyse chez les sujets déficitaires en G6PD. L'influence de ces produits est variable selon l'individu et le type de déficit **(Mura *et al.*, 2009).**

- Les infections : L'infection est probablement une cause sous-estimée d'hémolyse chez le sujet déficient en G6PD[8],Les agents infectieux les plus fréquemment associés aux crises hémolytiques sont *Escherichiacoli,* le streptocoque bêta hémolytique, les rickettsies et les hépatites virales **(Mura *et al.*, 2009).**

I.9. Différents facteurs influencent le degré de sévérité de l'hémolyse

I.9.1. Age des érythrocytes:

L'enzyme G6PD fonctionnant normalement a une demi-vie de 62 jours. Les jeunes érythrocytes présentent une activité encore quasi normale de la G6PD. Les patients porteurs d'un variant G6PD A ont normalement une hémolyse légère (classe III de l'OMS) qui se limite aux érythrocytes plus âges car, chez ces patients, la demi-vie de la G6PD est réduite à 13 jours. Le variant G6PD méditerranéen est plus instable, avec une demi-vie de la G 6PD s'élevant à quelques heures et ainsi une hémolyse plus prononcée (classe II de l'OMS).

I.9.2. **Dose médicamenteuse***:* Lorsqu'un médicament est le déclencheur du stress oxydatif, la dose de ce médicament est coresponsable de la sévérité de l'hémolyse. Par exemple, la prise de 45 mg de primaquine peut être à l' origine d'une hémolyse sévère, alors qu'une dose de 15 mg peut donner lieu à une hémolyse qui n'est guère pertinente sur le plan clinique **(Hofmann, 2016).**

I.9.3. Les mutations : Il existe 187 mutations connues du gène de la G6PD et au moins 35 des allèles mutes sont poly morphes. Le mode de transmission héréditaire récessif lie au chromosome X entraine lui aussi une variabilité du degré de sévérité, selon qu'un déficit enzymatique homozygote ou hétérozygote est représenté chez la femme ou chez l'homme **(Hofmann, 2016).**

I.9.4. Le sexe: l'hémolyse est plus sévère chez l'homme. En effet, la maladie étant récessive liée au chromosome X, les femmes conductrices conservent 50% de l'activité enzymatique **(Hofmann, 2016).**

DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT

II.1. Techniques de diagnostic

II.1.1. Diagnostic biochimique

II.1.1.1. Technique spectrophotométrique quantitative de l'activité enzymatique

La positivité du test de diagnostic doit toujours être confirmée par la mesure de l'activité enzymatique, technique de référence. L'hémolysat est mis en incubation avec du glucose-6-phosphate et un mélange réactionnel contenant du NADP. En présence de NADP, le G6P est oxydé en 6 Phosphogluconolactone par la G6PD (Fig.6). Il y a production concomitante de NADPH, H+ qui absorbe à 340 nm, contrairement au NADP. La variation d'absorbance en fonction du temps est proportionnelle à l'activité G6PD. Dans les globules rouges normaux, l'activité G6PD mesurée à 37°C est de 7 à 10 UI/g d'hémoglobine **(OMS, 1967 et Mura *et al*., 2009).**

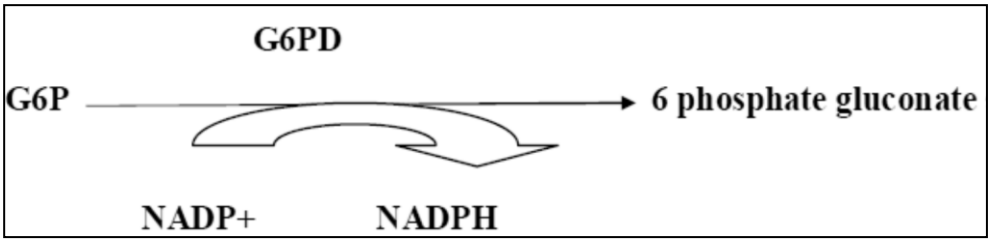


Fig.6 : La production de NADPH par la transformation de G6P en 6-P-gluconate par l'enzyme de G6PD **(Waal, 2013)**.

II.1.1.2. Test de fluorescence de diagnostic rapide (spot test de Butler)

La pratique d'un test de diagnostic qualitatif faisant appel au "fluorescent spot test"nécessite peu de moyens. Il est facile àréaliser, nécessite une goutte de sang sur un papier absorbant, une lampe à ultra-violet et quelques gouttes de réactifs **(Bancarel *et al*., 2010).**

Le Test de fluorescence, consiste à faire incuber un hémolysat en présence de glucose-6-phosphate (G6P) et de NADP, puis à en déposer une goutte sur un papier filtre et à l'examiner à la lumière ultra-violette (UV). La production de NADPH est testée par l'apparition d'une tâche fluorescente. Il s'agit donc d'un test visuel permettant une distinction fiable entre les sujets fortement déficitaires ne présentant pas de fluorescence en lumière UV, et les sujets normaux présentant une fluorescence (Fig.7) **(Mason, 2007 ; Mura *et al*., 2009 et Kawthalka, 2012).**

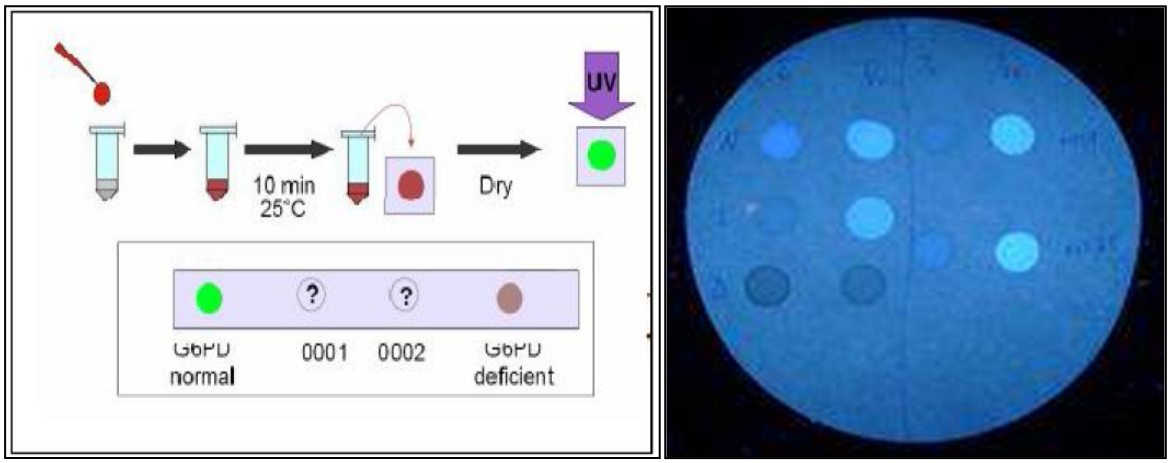


Fig. 7 : Test de tache fluorescente de G6PD "*Beutler*"**(Seidlein *et al*., 1962 ; Waal, 2013).**

Les échantillons ayant une activité enzymatique sont fluorescents alors que les échantillons ayant une activité enzymatique réduite ne produisent aucune fluorescence

II.1.1.3. Le test de stabilité du glutathion réduit (GSH)

Il se pratique en faisant incuber le sang avec de l'acetyl-phenylhydrazine. Dans le sang du sujet normal, le taux du glutathion réduit s'abaisse peu, alors que l'on observe une chute importante dans le sang des sujets présentant le déficit enzymatique. Ce test mesure le taux de formation de glutathion réduit dans les globules rouges **(Dembol, 2008).**

II.1.1.4. Test de réduction du NADP

Repose sur la mesure du temps de décoloration de bleu de crésyl brillant. Aboutissant à la décoloration qui est retardée chez les sujets déficients en G6PD. C'est une méthode colorimétrique **(Dembol, 2008 ; Imbert et Minodier, 2012).** L'hémolysat est incubé avec un mélange tamponné d'un colorant G6PD et NADP. Si G6PD existe dans l'hémolysat, il convertit NADP en NADPH. NADPH réduit le colorant à un composé incolore. En présence d'un déficit en G6PD, le temps pris pour la teinture décoloration est plus longue **(Kawthalka, 2012).**

II.1.2. Diagnostic hématologique

II.1.2.1. L'hémogramme

L'hémogrammepeut montrer une leucocytose avec myélémie discrète. Les globules rouges diminue et les plaquettes sont normales parfois élevées (**Arocket *et al*., 2008 ; Waal, 2013)**

II.1.2.2. Le frottis sanguin

Un déficit en G6PD peut d'une part être confirmé par un frottis sanguin révélant une cristallisation typique (corps de Heinz, hématies mortes ''bite cells'') **(Hofmann *et al*., 2016).**

La morphologie des GR est souvent normale. Des sphérocytes et des GR fantômes peuvent se voir dans les cas sévères (**Arock *et al*., 2008 et Waal, 2013).**

Les sphérocytes sont des érythrocytes de petit diamètre qui apparaissent plus foncés et sans pâleur centrale, comparés à ceux de la couche mince. Les érythrocytes en tête de frottis sanguin sont naturellement plus denses et sans pâleur centrale, et peuvent être confondus avec des sphérocytes (Fig.8) **(Pouletty, 2010).**

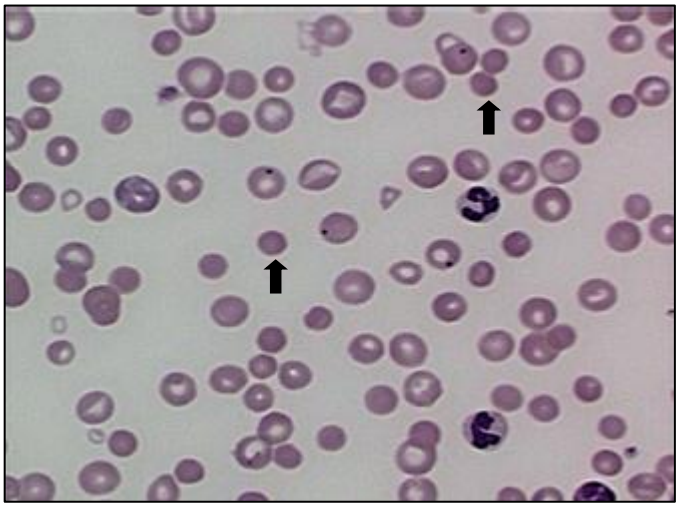


Fig.8 : Spherocytes **(Pouletty, 2010)**.

II.1.2.3. Recherche de corps de Heinz

Un diagnostic biologique du déficit en G6PD peut être obtenu par la recherche de corps de Heinz sur les frottis sanguins après coloration supra vitale **(Monchy *et al*., 2004).**

L'examen des hématies au microscope ne révèle habituellement aucune anomalie morphologique. L'apparition de corps de Heinz peut être provoquée par incubation des globules rouges en présence d'un oxydant **(André, 1999).**

En dehors de la crise hémolytique, le frottis est strictement normal. Pendant l'épisode hémolytique, la dénaturation oxydative de l'hémoglobine (Hb) apparaît sous forme de petites masses collées à la membrane, visibles après coloration spéciale (bleu de crésyl ou cristal violet) ce sont les corps de Heinz intra- érythrocytaires (hémoglobine non réduite ayant précipité). Ainsi que des hématies dont le contenu en Hb est confiné dans une partie de la cellule, appelées eccentrocytes. Ils ne sont généralement plus retrouvés le lendemain de la crise, car les hématies sont rapidement détruites par la rate (Fig.9) **(Cotton, 2013 et Benoist, 2014).**

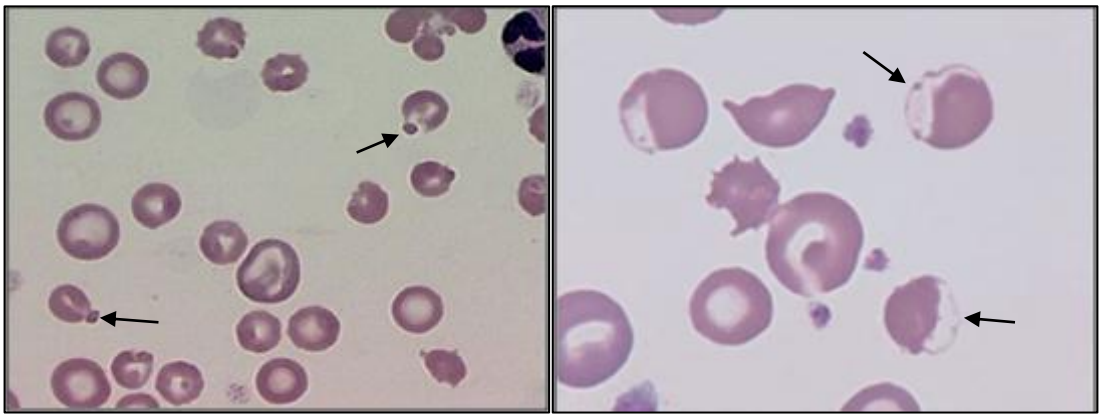


Fig.9 : a. Corps de Heinz **- b.** Eccentrocyte **(André, 1999).**

II.1.3. Diagnostic génotypique

II.1.3.1. La PCR-Digestion ou PCR-RE (Polymerase Chain Reaction-Restriction Enzyme)

L'amplification en chaine par polymérase est utilisée pour amplifier une séquence d'ADN en utilisant une paire d'amorces d'oligonucleotides, chacune complémentaire à une extrémité de la séquence d'ADN cible. Celles-ci subissent une élongation l'une vers l'autre par une ADN polymérase thermostable, dans un cycle de réaction à trios étapes : dénaturation, appariement de l'amorce (hybridation) et polymérisation **(Bates *et al*., 2000).**

La détection de mutations G6PD PCR-RE est basée sur l'amplification de la région appropriée du gène par PCR suivie d'une digestion (clivage) par des endonucléases de restriction appropriées (enzymes de restriction ER) qui reconnaissent des séquences particulières au niveau de l'ADN qui correspondent à des variantes de mutation **(Gentilin, 2012 ; Sulaiman, 2013 et Cherepnalkovski *et al*., 2015,).**

II.1.3.2. Système d'amplification de mutation réfractaire (ARMS)

Le système de mutation amplification réfractaire (ARMS ou Amplification refractory mutation system) est une méthode simple pour détecter toute mutation impliquant des changements de base simples ou de petites délétions au niveau de gène G6PD. ARMS est basée sur l'utilisation d'amorces de PCR spécifiques des séquences qui permettent l'amplification d'ADN d'essai seulement lorsque l'allèle cible codante du gène G6PD est contenu dans l'échantillon **(Little, 2001 et Waal, 2013).**

À la suite d'une réaction ARMS la présence ou l'absence d'un produit PCR est un diagnostic pour détecter la présence ou l'absence de l'allèle cible, c'est-à-dire elle est basée sur le principe que la mutation d'une base à l'extrémité 3' d'une amorce ne permet aucune amplification par PCR. Selon les fragments amplifiés lors de la PCR, on pourra identifier quelles amorces qui s'hybrident

mal à l'ADN au niveau de sa dernière base et donc la présence à ce niveau d'une éventuelle mutation sur l'ADN testé **(Little, 2001 et Waal, 2013).**

II.3.3. Séquençage d'ADN

Le séquençage direct du gène de la G6PD est la méthode de référence pour la caractérisation moléculaire précise de la mutation en cause. Si le dosage enzymatique de la G6PD montre une valeur effondrée et que la recherche de les deux variants "A" et "B" (Méditerranéenne) s'avère négative, cela signifie qu'on se trouve a priori en présence d'un variant 'rare' de la G6PD. Il sera donc nécessaire de séquencer tous les exons du gène, les uns après les autres, jusqu'à mise en évidence de la mutation en cause **(Joly *et al*., 2009).**

Cette méthode basée sur le système avidine-biotine a été utilisé pour obtenir de l'ADN simple brin. La réaction de la séquence a été réalisée selon la méthode enzymatique (aux di-déoxynucléotides) de Sanger avec un kit de séquençage "Auto Read" par utilisation d'un laser **(Di Montemuros *et al*., 1997).**

Deux méthodologies cohabitent actuellement, reposant sur l'utilisation d'un fluorophore unique ou bien sur celle de quatre traceurs fluorescents possédant des spectres d'émission distincts. Dans le premier cas, les quatre mélanges correspondant à chacun des quatre ddNTP sont déposés sur des puits distincts du gel. L'analyse se fait sur la migration comparée des fragments dans les quatre pistes résultantes. Dans l'autre système, on utilise un fluorophore différent dans chacune des quatre réactions de séquençage. Une solution consiste à utiliser des ddNTP modifies chacun par un traceur spécifique. Apres avoir effectué les quatre réactions de polymérisation, on les mélange et on dépose dans le même puit sur le gel **(Dardel *et al*., 2006)**.

La reconnaissance des nucléotides se fait alors sur la base des propriétés d'émission du traceur qui passe devant le faisceau laser, au moyen de filtres colores sélectifs. L'analyse est alors effectuée sur une seule piste du gel (Fig.10) **(Dardel *et al*., 2006).**

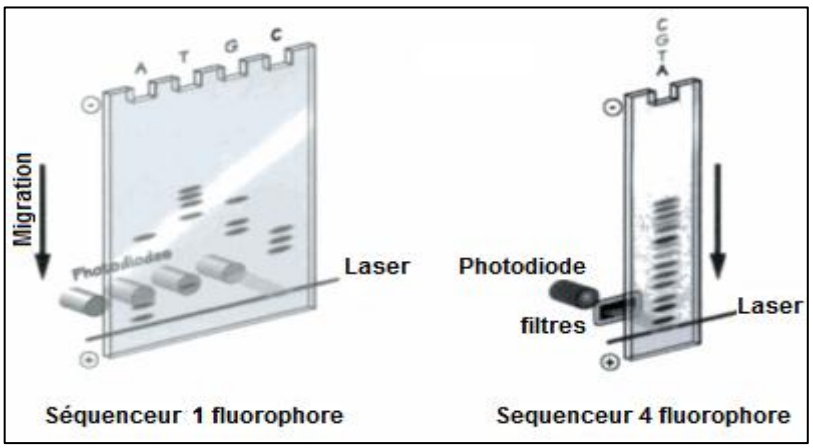


Fig. 10 : Séquençage automatique sur des séquenceurs 1 et 4 fluorophores **(Dardel *et al*., 2006).**

II.2. Prévention

La prise en charge repose essentiellement sur la prévention en excluant quelques aliments et en évitant, dans la mesure du possible, la prise de certains médicaments dangereux et porte de leur liste par le patient (les facteurs déclenchant) et une condition préalable importante de la prévention de l'hémolyse est de connaitre la fréquence du déficit en G6PD au cours le générations (l'histoire familiale) par dépisté dans la famille les déficits méconnus **(Siebert et Sérandour, 2006 ; Lefrère, 2008 ; ANSM, 2014 et OMS, 1975).**

Chez la femme allaitante mère d'un enfant porteur ou suspecté de déficit en G6PD, la prise de tout traitement ou aliment susceptible d'exposer à un risque d'hémolyse doit être évitée.

Chez la femme enceinte hétérozygote ou ayant eu un enfant diagnostiqué déficitaire en G6PD, les interdits et précautions de ce référentiel s'appliquent par mesure de précaution puisque le fœtus peut être déficitaire en G6PD (**Siebert et Sérandour, 2006).**

II.3. Traitement

Le déficitaire en G6PD n'a pas besoin de traitement, en dehors d'un épisodehémolytique aigu qui nécessitera des transfusions. Il s'agit au contraire d'un problème de prévention **(Arock, 2012),** L'accident hémolytique lié au déficit en G6PD guérit habituellement spontanément et la transfusion n'est nécessaire que dans les cas graves. Cependant, dans les formes les plus sévères, il peut être nécessaire d'avoir recours à l'exsanguino-transfusion en complément des soins intensifs. En cas d'hémolyse chronique, aucun traitement n'est utile, y compris la splénectomie (ablation chirurgicale de la rate) **(Sérandour et Siebert, 2006**. **Gentilin, 2012 et Kawthalka, 2012)** L'ictère néonatal modéré est traité par photothérapie (traitement par exposition à des rayons lumineux) ; une exsanguino-transfusion peut être parfois nécessaire dans certaines formes sévères. Il est à noter que le don du sang de la part d'un sujet déficitaire est interdit (**Kawthalka, 2012)**.

PARTIE PRATIQUE

MATERIEL ET METHODES

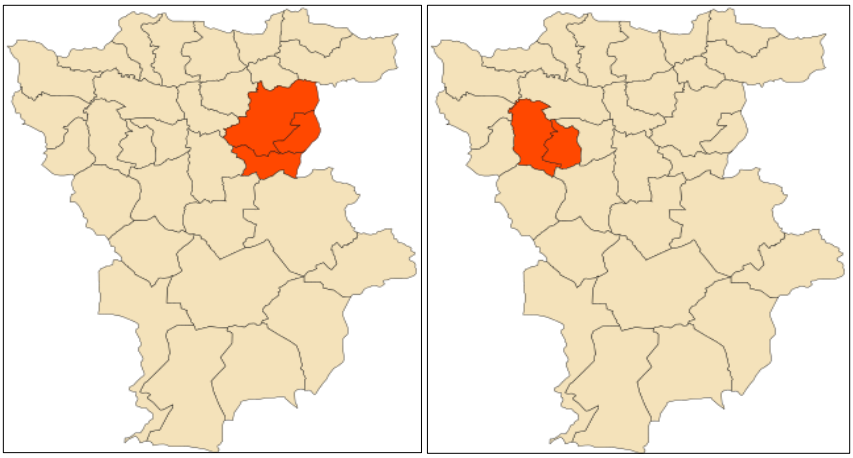
1. Matériel utilisé

C'est une étude des dossiers des malades archivé depuis Mars 2014 jusqu'au Mai 2016 dans le service de pédiatrie.

Notre recherche a été élaborée pendant une période de 15 jours du 15 Mai au 1 juin 2016.

2. Cadre d'étude

Notre étude a été réalisé dans le service de pédiatre du l'établissement publique hospitalier des Frères Maghlaoui de Mila et l'établissement publique hospitalier Mohamed Medah de Ferdjioua.



a **b**

Fig.1: Lieu de l'EPH de Mila et Ferdjioua,
a: frères Maghlaoui, **b:** Mohamed MEDAHI

3. La population étudiée

Notre étude a porté sur des enfants malades âgés entre 11 mois et 12 ans hospitalisés pour une anémie hémolytique au sein du service de pédiatrie. Cette étude portant sur 48 cas (16 à Ferdjioua et 32 à Mila) pendant une période de trois ans, allant du 2014 au 2016, sachant que la consultation continue durant cette année.

4. Type d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective du déficit en G6PD dans la Wilaya de Mila.

5. Collecte des étudiés

Pour chaque patient ont a pris en considération :

- L'année de recrutement.
- Les données épidémiologiques :

-Région

- Age
- Sexe
- System ABO.
- Facteurs déclenchant la crise d'hémolyse.

- Les données cliniques :

- Antécédents personnels.
- Antécédents familiaux.
- Signes cliniques en faveur d'une anémie hémolytique: pâleur, ictère, douleurs abdominales

- Les données biologiques mentionne dans les dossiers sont :

a- L'hémogramme précisant

- Le taux d'hémoglobine (Hb)
- La valeur de l'hématocrite (Hte)
- le taux de globules rouges (GR) et blanc (GB)

b- Taux de bilirubine totale et directe

c- Electrophorèse de l'hémoglobine

d-Test de Coombs direct et indirect

e- Dosage enzymatique de la G6PD

6. Méthodes d'analyse

6.1. La numération de la formule sanguine (FNS)

C'est un examen du sang qui permet de compter les cellules du sang et de mesurer leur proportion dans le liquide qui les baigne (le plasma). Ces cellules sont les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes. Pour prélève le sang, lui fait subir éventuellement un traitement adapté à l'automate qui fera la lecture, puis le fait passer dans cet appareil qui mesure de façon électronique les différents composants du sang.

6.2. Dosage de l'activité de G6PD

Le dosage L'activité enzymatique est déterminée par la mesure de la variation de l'absorbance à 340 nm due à la réduction du NADP en NADPH par l'utilisation de la spectrophotométrie, Chez les individus atteints de la déficience, cette réaction se fera de laps de temps étant donné que moins de $NADPH^{+}$ est formé en cause du manque de l'enzyme G6PD.

6.3. Electrophorèse de l'Hb

a) Milieu alcalin

L'électrophorèse de l'Hb est une technique très simple qui permet de détecter les anomalies de l'hémoglobine :

- qualitatives (Hb anormales : S-C-D-E)
- quantitatives (augmentation des HbF ou A2).

La séparation des Hb est fondée sur les propriétés de la charge électrique de la globine (hétéroprotéine associée au groupement prosthétique appelé "hème" et contenant le fer.

La globine présente une charge globale positive ou négative résultant de la somme des charges des acides aminés constituant la protéine.

Des mutations ponctuelles sur la chaîne de globine introduisant des modifications de charges, donc des différences de migration permettent de détecter les anomalies.

b) Milieu acide

L'électrophorèse de l'Hb à pH acide est complémentaire de l'électrophorèse à pH basique. Elle permet la séparation de fractions non ou mal différenciées en électrophorèse à pH basique **(Andre, 1999)**.

7. Etude statistique

Les analyses statistiques ont été obtenues à l'aide de logiciel informatique le logiciel SPSS version 17.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. La Distribution des malades selon les paramètres épidémiologiques

1.1. La répartition des patients selon la région d'étude

Les malades distribuent en deux régions Mila et Ferdjioua, en remarque que les malades se retrouvent beaucoup plus dans l'EPH de Mila (66,7%) par rapport àl'EPH de Ferdjioua (33,3%), (tableau 1 et 2). Les résultats de la répartition pour chaque année sont représentés dans la figure 2.

Tableau 1 : Le pourcentage des malades selon les régions

Région	Effectifs	Pourcentage %
Mila	32	66,7
Ferdjioua	16	33,3
Total	48	100,0

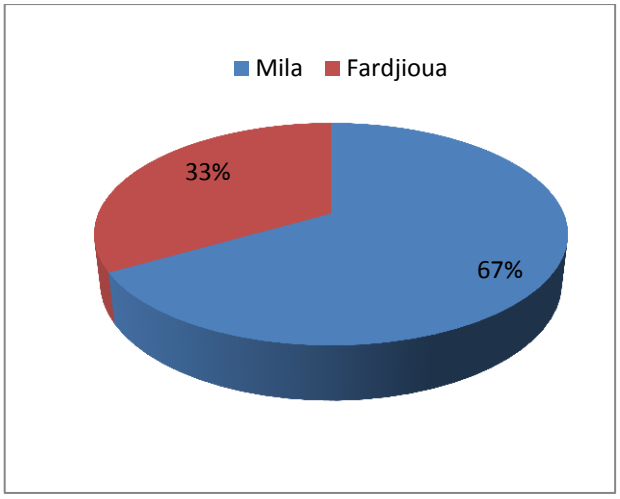


Fig. 2: Répartition des malades selon les régions d'études.

L'EPH des frères Maghlaoui est le seul hôpital qui contient le service de pédiatrie dans cette région. Tous les malades de la Daïra d'Elguerarame qui est une grande ville et de la Daïra de Mila sont envoyés à ce service, pour cette raison le nombre des malades est plus important par rapport à l'EPH de Fardjiouaou le nombre est moins important. Ainsi laconsommation des fèves a un rôle majeur dans cette distribution parce que le fève contient les produit oxydant (vicine et convicine), si l'enzyme fait défaut ou bien déficit chez les malades les agents oxydants peuvent dénaturer l'hémoglobine et les lipides membranaire favorisant la lyse des hématies est due donc risque hémolyse aigüe en absence de glutathion qui former par le coenzyme NADPH génère à partir de l'enzyme G6PD.

1.2. Répartition des malades en fonction de l'âge

Dans notre étude, nous avons trouvé un seule cas à un âge inférieur à 12 mois en 2015. Les autres malades ont un âge entre 1 et 12 ans. Nous avons 34 malades ont un 'âge varie entre 1 et 3 ans, 11 malades entre 3 et 7 ans et 2 malades entre 7-12 ans (tableau 1).

Tableau 2 : Classification des malades selon tranche d'âge.

Année / Age	Effectifs
<12mois	1
1-3 ans	34
3-7 ans	11
7-12 ans	2
Total	48

Le tranche âge < 12 une seul cas parce que sont des nourrissons a une relation étroit avec la nutrition les nourrissons ne s'alimentent que de lait par l'ingestion de fève qui favorisants l'apparition de la maladie, dans les cas des malades âgés de 1-3 ans et 3-7 plusieurs cas des malades par rapport la tranche âge < 12 ans qui pendant leur croissance leur alimentation se basent sur la consommation des fèves qui favorisent l'apparition de la maladie, donc il y a une variation de nourriture eu les fèves font parties. De même, il faut savoir que la consommation des fèves par la maman peut induire une hémolyse chez le nouveau-né et le nourrisson allaité au sein. La tranche d'enfants de 7-12 ans ne représente que deux cas un des deux âgé de 12 ans a eu déjà le d'hémolyse à l'âge de 2 ans mais malgré qu'il conscient de son problème sans régime il a consommé des fèves ce qui a provoqué l'apparition encore des symptômes à cet âge, donc non représente que 2 cas vu que les malades est suivis le traitement approprié.

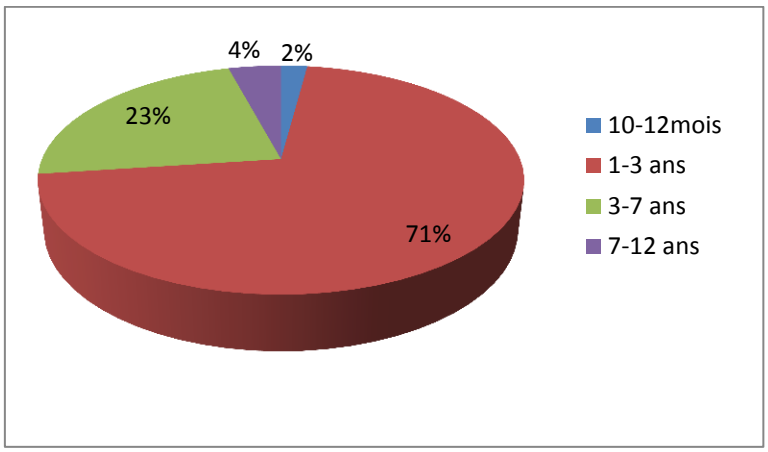


Fig. 3 : La répartition des malades selon l'âge en trois ans.

1.3. Répartition des malades selon le sexe

Nous avons trouvé que la majorité de la population sont de sexes masculins avec une fréquence de 89,6 % des fils et 10,4 % de sexe féminin (tableau 3, figure 4. Une autre étude élaborée correspond à notre analyse montre que 85,3% des garçons et 14,7 des filles **(Dembol, 2008).** Aussi d'autre étude de bancarel découvert que la maladie touche essentiellement le sexe masculin (90%) et sa transmission se fait par le sexe féminin (**Bancarel.,2010).**

Taleau3 : Répartition des malades selon le sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentage %
Fille	05	10,4
Garçon	43	89,6
Total	48	100

Le déficit en G6PD étant une affection récessif liée à l'X donc alors la probabilité de trouver des malades masculins par rapport les femmes est plus élevé (tableau 3). Le déficit en G6PD est héréditaire, il est lié à une anomalie du gène de la G6PD situé sur le chromosome X et se transmet selon les lois de la génétique. Une mère (XX) transmet un X à chacun de ses enfants et un père (XY) transmet un X à chacune de ses filles, et un Y à chacun de ses garçons. Lorsque la mère est atteint tous les garçons seront malade parce qu'ils héritent le X muté de sa mère.

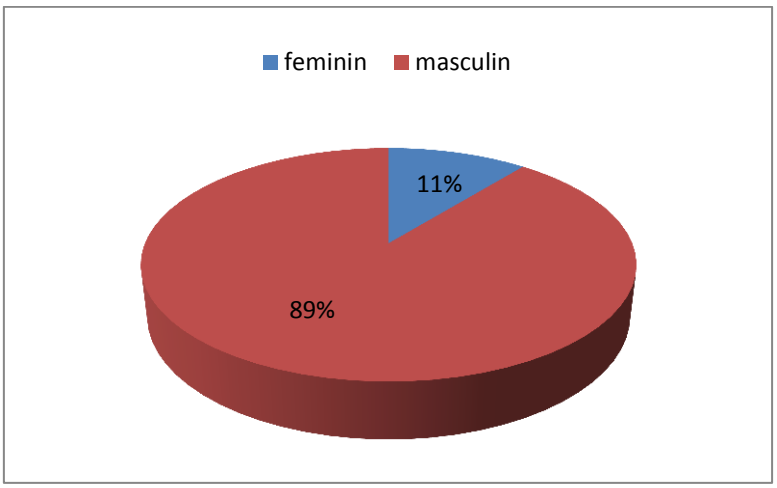


Fig. 4 : Répartition total des malades selon le sexe.

1.4. Distribution des malades selon le System ABO

Dans notre étude sur le déficit est plus fréquent dans le groupe O+ suivi de groupe A+ puis de groupe B et le groupe AB+.

Le test de comptabilité est nécessaire pour faire la transfusion sanguine, Il n'y a pas de lien entre le déficit en G6PD et le polymorphisme sanguin dans le système ABO le déficit touchait plus les donneurs du groupe O que les autres groupes.

La différence dans la répartition du groupe sanguin dans le système ABO quant à la présence du déficit n'est pas statistiquement significative. En effet le groupe O prédomine que les autres groupes à Mila.

Tableau 4 : La répartition des malades selon le système ABO.

Groupage	Effectifs	Pourcentage
A+	14	29,2
AB+	3	6,3
B+	8	16,7
O-	1	2,1
O+	20	41,7
Total	**46**	**95,8**

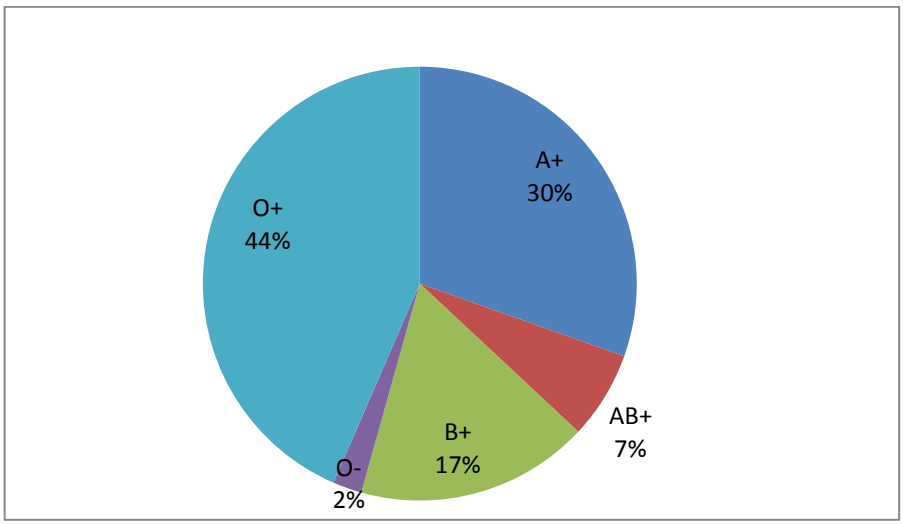


Fig.5 : La distribution des malades selon le system ABO.

1.5. Facteurs déclenchants

Dans notre étude, nous avons constaté que le principal facteur déclenchant de l'hémolyse chez tous les malades est l'ingestion de fèves, ce dernier est très consommé en vertu d'une région agricole par excellence. D'autres études ont montré qu'il ya d'autres facteurs déclenchant tels que les médicaments et les infections **(Benyachou, 2008).**

2. Etude clinique

2.1. Antécédents personnels et antécédents familiaux

Pour les antécédents personnels, nous avons le cas 9(voisannex quia déjà subi une hémolyse à l'âge de deux ans. Pour les antécédents familiaux nous avons trois cas qui ont une histoire familiale.

Dans l'annexe 01 tableau 6, le cas20, le grand-père maternel est atteint du déficit en G6PD, le grand père du cas N°20 âgé de 70 ans a eu un problème d'ictère suite à une ingestion importante des fèves au période coloniale à l'âge de 7 ans, l'enfant malade en question a hérité le X muté de sa mère, cette dernière a reçu ce X de son père(Fig.6).

D'autre part, le cas 24, sa mère âgée de 37 ans est malade aussi.Toutefois, le déficit peut être symptomatique chez les femmes, soit homozygotes, soit hétérozygotes en fonction de l'inactivation (le phénomène de lyonisation)de l'un ou l'autre des deux chromosomes X. En effet, le processus de l'inactivation se faisant au hasard au stade embryonnaire précoce (stade morula), il peut y avoirplus de cellules déficientes donc les cellules normales peu abondantes cela explique l'apparition de la maladie de sa mère. Elle a un seul des deux chromosomes X qui est actif, l'autre étant inactif sous la forme d'une masse chromatinienne et formant le corpuscule de Barr. L'apparition de la maladie traduite par les signes cliniques suivant une crise hémolytique avec des urines rouge et une fièvre et

une faiblesse donc l'enfant est obligatoirement malade. Le dernier cas c'est le cas 44 les deux frères atteint de favisme parce que reçu le X muté de la mère malade transmit a cet enfant (Fig.6).

Tableau 5 : Répartition des cas du déficit en G6PD selon les antécédents familiaux.

N°d'observation	Antécédent d'ictère	Antécédent d'hémolyse
20	grand-père maternel	/
24	/	la mère
44	/	2 frères

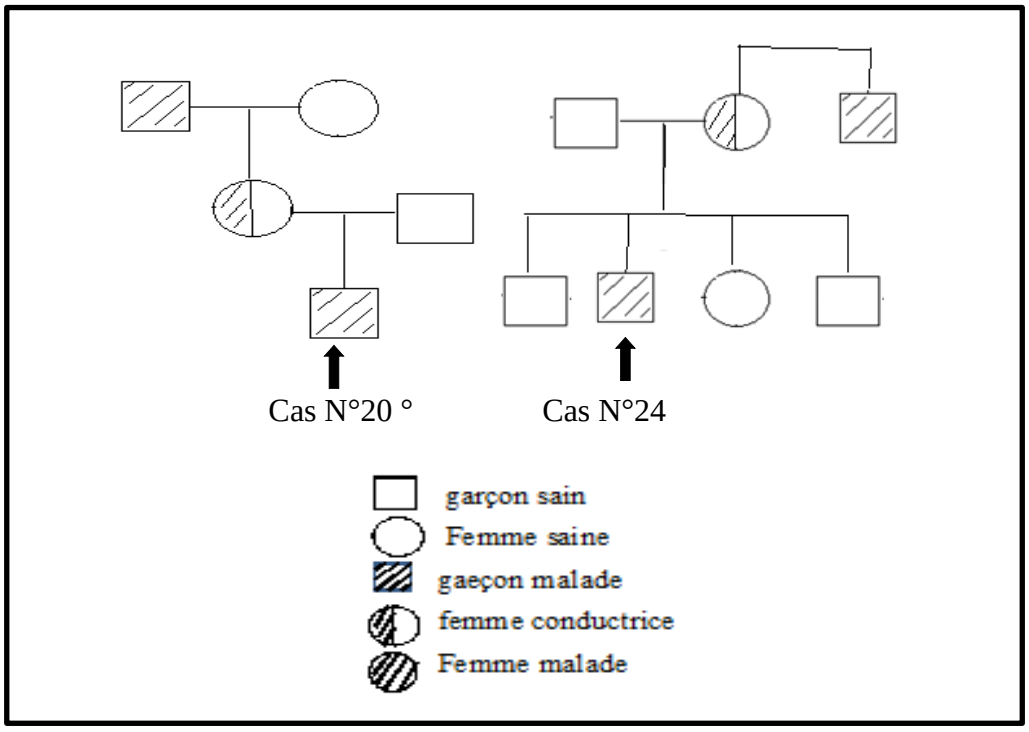


Fig. 6: Les arbres généalogiques des cas N°20 et 24.

2.2. Répartition des malades selon les Signes cliniques

En cas de déficit en G6PD, les globules rouges s'éclatent lors d'une oxydation. Si les personnes atteintes de ce déficit ingèrent des produits qui provoquent une oxydation, il se produit une destruction rapide des globules rouges ; ce phénomène est appelé anémie hémolytique, il se manifeste par divers symptômes : pâleur, fièvre, fatigue, douleurs dans les articulations douleurs dans l'abdomen, urines foncées, ictère, essoufflement (dyspnée), tachycardie (accélération du rythme cardiaque), passage d'hémoglobine dans les urines (hémoglobinurie) et passage de la bilirubine dans les tissus (ictère) (**Ministère de la Santé et des Solidarités de la France, 2008).**

Selon les données des dossiers la plupart des enfants ont présenté durant les deux années 2014,2015 précédents jusqu'au Mai 2016 : la pâleur cutané-muqueuse chez 12 cas, les urines foncées 6 cas, l'ictère cutané muqueux chez 10 cas, mais deux cas fièvre et dyspnées, seulement un cas douleur abdominale et la splénomégalie n'a été retrouvée chez aucun cas, un cas douleur abdominale et 2 cas la fièvre et dyspnées (Tableau 6).

Nos résultats correspondent à ce qui ont été décrit dans la littérature par Beutler, 1991 et 1994**(Beutler, 1991 et Beutler, 1994).**

Tableau 6: Signes cliniques lors de l'admission.

Signes cliniques	**Fréquences**
Urines foncées	7
Pâleur cutanéo-muqueuse	13
Ictère conjonctival	3
Ictère cutanéo-muqueux	9
Douleur abdominale	1
Fièvre	2
dyspnées	2
Céphalées	1
Hépato-splénomégalie	0

Les hémolyses, dans le cas de déficit en G6PD, sont le plus souvent aiguës, parfois sévères, et même mortelles, suite à une ingestion de fèves, ces dernière contiennent deux glycosides, la vicine et la convicine, dont l'hydrolyse conduit à la divicine et à l'isouramil, composés dont les propriétés oxydantes sont voisines de celles de la quinine, ces composant oxydant des fèves favorisant la destruction des globules rouges est donc la gravité dans hémolyse.

L'ictère est dû à la destruction de l'hémoglobine tout à coup de façon massive et rapide, qui donne une couleur jaune sous forme d'un composé appelé bilirubine. L'épuration du foie est surchargée, avec augmentation de la bilirubine non conjuguée pouvant aller jusqu'à l'apparition d'une jaunisse ou ictère.

3. Etudes biologique:

3.1. Hémogramme

La valeur de l'hémoglobine varie de 2,9 à 11.1 g/dl avec une moyenne de 7 g /dl.
Le taux de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine oscillait (CCMH) entre 21,1 et38,2 avec une moyenne de 29,65. Sur les hémogrammes effectués, les moyennes de GB sont des valeurs élevées ainsi le taux des GR est en moyenne de 222950m^3 inférieur au taux normal. Notre résultat est semblable à d'autres études **(Monchy *et al*., 2004 ; Hofemann, 2016).**

Tableau 7: Répartition des paramètres de l'hémogramme.

Elément de l'hémogramme	Valeurs normaux	Valeur mesurable	Moyenne	Fréquences
HB(g/dl)	11-14	2, 9 -11.1	7	38
CCMH (g/dl)	32-36	21,1-38,2	29,65	33
GB (m^3)	5,5-17	8,9-37	22,9	35
GR (10^{12}/l)	3,9-5,3	1,53-4,1	2,82	32

En cas de déficit en G6PD, les globules rouges du sang s'éclatent lors d'une oxydation, mais en compensation l'organisme fabrique plus vite de nouveaux globules rouges; c'est ce qui explique que certains garçons ayant ce déficit ont parfois des accidents aigus qui se réparent spontanément.En effet, l'oxydation est très dangereuse pour la cellule, détruisant de nombreux composants sur la membrane, dans le cytoplasme, atteignant l'hémoglobine elle-même. S'il n'existe pas de G6PD, la cascade de réaction protecteur par le glutathion réduit n'existe pas; l'oxydation peut faire des ravages dans la cellule sans contrôle et le globule rouge éclate provoquera une anémie hémolytique. Tous ces GR sont alors phagocytés par les macrophages ce qui signifie le taux élevé des GB.

3.2. Taux de bilirubine

Le taux de bilirubine totale varie de 0.1 à 101 mg/l avec une moyenne de 50 mg/l et le taux de bilirubine directe variant entre 0,25et 41 mg/l avec une moyenne de 20,62 mg/l. Sur 19 enfants ayant bénéficié du dosage de la bilirubine total, 17 avaient une hyperbilirubinémie soit 89,47%, les deux autres cas 2 et 32 (10,53%) avaient une valeur normale de la bilirubine (Tableau8).

Tableau 8: Résultats du dosage de la bilirubine.

Nombresdes observations (cas)	Bilirubine Total mg/l (Valeur normale 1-10)	Bilirubine Direct mg/l (Valeur normale <3)
2	0,1	0,25
3	47,7	24,8
5	56,5	15,4
9	42	21
10	10,5	4,7
12	101	41
13	10,7	5
16	21	5,78
19	94	24
22	70,6	32.3
23	13,4	-
26	82	0,5
30	40,01	-
31	30,26	5,14
32	7,88	-
39	11,2	Quantité insuffisante
40	61	7
45	53	-
48	10,02	0,73

En cas de carence en G6PD, les globules rouges sont détruits et l'hémoglobine s'évacue en grande partie sous forme de bilirubine, par l'intermédiaire du foie. Typiquement, il s'agit d'une anémie aigüe, avec un taux d'hémoglobine diminue et une augmentation de la bilirubine. Dans la littérature, l'anémie hémolytique par déficit en G6PD s'accompagne d'une augmentation de la bilirubinémie pouvant atteindre dans certains cas 700µmol/l. ces résultats sont compatibles avec ceux décrits par **Raupp et al., 2001**.

3.3. L'électrophorèse de l'hémoglobine

Elle ne constitue pas un élément de diagnostic du déficit en G6PD, mais elle nous permet d'éliminer une hémoglobinopathie qui représente une autre cause d'hémolyse.

Les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine effectuée chez 5 patients seulement ont révélé un profil électrophorétique normal. Il s'agit de l'observation des cas N°1,11, 22,24,42 et un seul patient montre un profil anormal cas N°17 avec un HbF=1.8%,HbA = 92.1% et HbA2 = 6.1% parapport le profil normal (HbF= < 0.5 %,HbA= 96.8 - 97.8%, HbA2= 2.2-3.2 %)

Le diagnostic est assuré par l'électrophorèse de l'hémoglobine et le dosage de l'HbA2, et accessoirement par dosage de l'HbF. L'électrophorèse de l'hémoglobine montre un pourcentage d'HbF constamment augmenté et majoritaire tandis que le pourcentage de l'HbA2 est normal ou élevé.

Dans la littérature, des cas d'association de déficit en G6PD et d'hémoglobinopathies notamment de thalassémie sont décrits. Dans notre étude, l'électrophorèse de l'hémoglobine réalisée chez 6 malades, il y a 5 malades ont un profil normale cela confirme que le déficit en G6PD est la cause de l'hémolyse, et un seul cas (N°17)anormal qui peut être expliqué par la coexistence du déficit en G6PD et la thalassémie.

3.4. Test de Coombs direct

Ce test a été réalisé chez 4 malades admis, il était négatif pour tous ces enfants.

Le test de Coombs direct, ou test direct à l'antiglobuline (T.D.A.), dénomination actuelle, grâce à l'action de l'antiglobuline, révèle, par une agglutination, la présence d'anticorps incomplets liés aux érythrocytes. Il est direct car les érythrocytes sont directement mis en contact avec l'antiglobuline. Ce test est utilisé pour le diagnostic d'une anémie hémolytique immunologique (auto ou allo-immune, normocytaire régénérative).

3.5. Dosage de la G6PD

Les résultats du dosage de l'activité enzymatique en G6PD ont révélé des valeurs diminuées (tableau 9). La valeur varie de 0,1 et 10 UI/g Hb avec un moyenne de 4.22 UI/g Hb (la valeur normale 6-20 UI/ g Hb).

Tableau 9 : Répartition des cas en fonction de la valeur de la G6PD.

Dosage de G6PD	Nombre de cas
< 1 UI / g Hb	3
[1 – 4] UI / g Hb	1
[6 – 10] UI / g Hb	4

La confirmation du déficit a été basée sur le dosage de l'activité enzymatique de la G6PD réalisé deux mois après la période d'hémolyse. Ce dosage est devenu obligatoire dans certains pays tels que la France. L'activité en G6PD est évaluée chez les patients pour lesquels les autres causes d'anémie ou d'ictère ont été éliminées. Dans notre étude huit malade seulement ont bénéficies du dosage de l'activité enzymatique, les autre ont peut-être dosé l'activité de l'enzyme mais le résultat n'est pas mentionné dans leur dossiers. Soit ils n'ont pas fait le dosage à cause du cout de ce paramètre et l'enfant support bien après la transfusion.

Nous avons révélé une activité très faible chez 3 cas (14-20-24) étudiés ou la valeur varie entre 0,1 et 0,2UI/g Hb, cela est interprète par la localisation de mutation par rapport au site actif de l'enzyme qui marque une faible activité. Un malade montre une activité faible de 1 à 4 et 4 cas ont une valeur normale entre 6 à 10 UI/g d'Hb et l'activité dépondant le type des variantes. Plusieurs mutations du gène G6PD ont été décrites. S'il y a diminution de la concentration G6PD, il est vraisemblable que le patient va présenter des symptômes.

Toutefois, ces résultats ne peuvent pas être utilisés pour prédire la réaction du patient dans de telles circonstances. La sévérité des symptômes peut varier d'un patient à l'autre et d'un épisode à l'autre. Si un individu masculin à une concentration normale en G6PD, généralement il n'a pas le déficit soit le dosage a été fait juste après la transfusion. Toutefois, si le test a été effectué durant un épisode d'anémie hémolytique, il doit être répété quelques semaines plus tard, quand la répartition des globules rouges se sera rééquilibrée en forme mature.

L'interprétation des résultats est en générale difficile, car il peut exister une grande hétérogénéité des activités dans le globule rouge, entre autres l'hétérogénéité d'âge des cellules. En effet, le globule rouge en survie voit ses activités diminuer au cours de son vieillissement.

4. Traitement

Dans la plupart des cas, le déficit en G6PD ne pose pas de problème pour un individu, à moins qu'il soit exposé aux agents oxydants qui peuvent endommager ses globules rouges.

La plupart des personnes atteintes n'ont pas besoin de traitement régulier, l'anomalie génétique ne peut pas être traitée. Si une crise hémolytique se produit, les transfusions sanguines sont toujours nécessaires ainsi l'arrêt des facteurs potentiellement hémolysants.

CONCLUSION

Le déficit en glucose-6-phosphate (G6DP) est une enzymopathie héréditaire encore appelée « favisme » en raison du risque de survenue d'accident hémolytique après ingestion de fèves par les personnes déficitaires. Cette pathologie touche plus de 400 millions de personnes dans le monde, ce qui en fait le déficit enzymatique le plus répandu,Ces anémies sont dues à un trouble intrinsèque de l'hématie mais ne sont le plus souvent révélées que par l'intervention d'un facteur exogène, fève, médicaments, infections, autres Plusieurs listes d'agents pharmacologiques susceptibles de déclencher une crise d'hémolyse chez les déficients en G6PD ont été publiées.

Le diagnostic de ce déficit était fortement suspecté devant le déclenchement d'une crise d'hémolyse aigue dans les 24 à 48 h après ingestion de fèves, et confirmé biologiquement par le dosage de l'activité enzymatique de la G6PD.

Au cours de notre étude effectuée au service de pédiatrie du l'EPH de frères Mahglaoui et de Mohamed Maddahde Ferdjioua sur une période portant sur trois ans (2014-2016), nous avons relevé 48 cas de déficit en G6PD, 43 cas de sexe masculin et 5 filles, au terme de ce travail.

Le diagnostic de cette affection se base sur le type de nutriment ingéré la veille de l'hémolyse, la présence des antécédents personnels ou familiales ainsi des analyses biologiques tel que : FNS, le dosage enzymatique de G6PD, l'électrophorèse de l'hémoglobine, et le dosage de la bilirubine, Pour déterminer la mutation en cause du déficit enzymatique il faut faire appel à la technique moléculaire

Le meilleur traitement du favisme qu'est une maladie génétique, la prévention qui reste le meilleur traitement et ça consiste à écarter tous les produits dangereux dont la liste est remise aux parents de l'enfant à sa sortie de l'hôpital.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Affsaps L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. (2008). Médicaments et déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD).

Al-Allawi N., Eissa A., Jubrael J., Shakir AR Jamal S. et Hamamy H. (2010). Prevalence and molecular characterization of Glucose-6-Phosphate dehydrogenase deficient variants among the Kurdish population of Northern Iraq Hamamy. *Blood Disorders*. 10: 6.

André César Ernest Sene. (1999). Déficit en G-6-PD chez les drépanocytaires : Prévalence et influence sur le profil évolutif. Université Cheikh Anfa Diop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie. Thèse de doctorat en pharmacie. Sénégal.

Anna L. et Cornelis J. (2009). Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency and Malaria: Cytochemical Detection of Heterozygous G6PD Deficiency in Women. *Histochem Cytochem*. 57: 1003-1011.

ANSM L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. (2014). Médicaments et déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD).

Arock M., Chemla G. et Chemla J. (2008). Autoformation et aide au diagnostic en hématologie avec logiciel ADH. Pp 59.

Bancarel J., Causse-Le-Dorze P. et Traccard C. (2010). Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase : intérêt du dépistage systématique dans les forces armées. *Médecine et armées*. 38: 125-130.

Bates A., Mclennan A. et White T. (2000). L'Essentiel en Biologie moléculaire. Pp 192.

Benoist G. et Bourrillon A. (2014). Pédiatrie.Pp 55.

Benyachou B. (2008). L'Anémie par déficit en G6PD chez l'enfant.Universite Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté de médecine et de pharmacie de Fès. Thèse de doctorat.Maroco.

Beutler E. (1991). Glucose 6 phosphat dehydrogenase deficiency. *The New England journal of medicine*. 324: 169-174.

Beutler E. (1994). G6PD Deficiency.*Blood*.84: 3613-3636.

Biscaglia S., Ferri A., pavasini R., Campo G., Firrari R. (2015). Dual antiplatelet therapy in patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase (g6pd) difeciency undergoing pc with drung-eluting stents.*Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. Italy. 22: 535-541.

Boonyuen U., Chamchoy K., Saralamba N., Day N. et Imwong M. (2016). Detailed functional analysis of two clinical glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants, G6PD Viangchanand G6PD Viangchan + Mahidol Decreased stability and catalytic efficiency contribute to the clinical phenotype. *Molecular Genetics and Metabolism Journal*. 118: 84-91.

Cappellini M., Fiorelli G. (2008). Glucose 6 phosphate deshydrogenase deficiency.*Lancet*. 371: 64-74.

Cherepnalkovski A., Zemunik T., Glamocanin S., Piperkova K., Gunjaca I., Kocheva S., Jovanova B. et Krzelj V. (2015). Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in families from the republic of macedonia and genotype-phenotype correlation. *Journal of the academy of medical sciences in Bosnia and Herzegovina.* Croatia. 69: 284–288.

Ciftci M., Ciltas A., Erdogan O. (2004). Purification and characterization of glucose 6-phosphate dehydrogenase from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Vet Med*. 327–333.

Cordes W. (1926). Experience with plasmochinin malaria (preliminary reports). *United Fruits Company Medical Dept.* 15:66-71.

Cotton F. (2013). Contribution au diagnostic biochimique des anémies hémolytiques héréditaires. Université libre de Bruxelles. Faculté de Pharmacie. Thèse de doctorat en Pharmacie. Allemand.

Dardel F. et François Képès F. (2006). Bioinformatics: Genomics and post-genomics. Pp 13-14.

Dembol S I. (2008).Fréquence du déficit en glucose 6-phosphate déshydrogénase a la naissance dans 3 communes du district de Bamako. Universite De Bamako. Faculté de médecine de pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Thèse de doctorat en médecine. Mali.

Di Montemuros F., Dotti C., Tavazzi D., Fiorelli G. et Cappellini M. (1997). Molecular heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Italy. *Haematologica*. 82: 440-445.

Diawara A. (2015). Le déficit en g6pd chez les donneurs de sang du C.N.T.S. de Bamako. Université de Bamako. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie. Thèse de doctorat en pharmacie. Mali.

Elyassi C R. et Rowshan M H. (2009). Perioperative management of the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patient: a review of literature. *AnesthProg*. 56: 86–91.

Joly P., Bon C., Francina A., Gelineau M., Lacan P. et Orfeuvre H. (2009). Un déficit sévère en G6PD découvert au décours d'une chimiothérapie avec utilisation de rasburicase. *Ann Biol Clin*. 67: 432-6.

Hofmann S., Buser A. et Taegtmeyer A. (2016). Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. *Forum médical suisse*. 16:241–244.

Hung Yao. Cheng M-L. et Chiu D-T-Yee. (2005). G6pd-an old bottle with new wine. *Chang Gung Med J*. 28:19-30.

Imbert P. et Minodier P. (2012). Pediatre tropical et des voyages.

Izem A., Mabrouk K**., Zenasni** N**., Khayat** S. **et Medkouri** G. (2014). Déficit en G6PD révélé par une insuffisance rénale aiguë : à propos d'un cas et revue de la littérature. Pp 349.

Gentilin M.(2012). Médecine tropicale. Pp 829.

Kaddari F., Sawadogo M., Sancho J., Lelong M., Jaby D., Paulin C., Nkana K. et Cailliez M. (2004). Dépistage néonatal du déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) sur sang de cordon. *Annales de Biologie*. 62.

Kawthalka S. (2012). Essentials of Haematology. Pp 190.

Kumar P., Yadav U., Vandana Rai V. (2016).Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in India: An updated meta-analysis.The Egyptian Journal of Medical Human Genetics.

Lefrère F. (2008). Hématologie et transfusion. Pp 96.

Little S. (2001). Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutations. *CurrProtoc Hum Genet.*

Mason P., Bautista J. et Gilsanz F. (2007). G6PD deficiency: the genotype-phenotype association.*Elsevier*. 21: 267–283.

Mazza J. (2002). Manual of clinical hematology therd Edition. 461-2002

Mégarbane B. (2008). Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase : quand y penser et quelles précautions prendre ? Glucose-6-phosphate déshydrogénase deficiency. *Elsevier Masson*. 17: 399-406.

Ministère de la Santé et des Solidarités de la France. (2008). Déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD) ou favisme.

Minucci A.,Giardina B., Zuppi C. et Ettore Capoluongo E. (2009). Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Laboratory Assay: How, When, and Why? *Critical Review Iubmblif*. 61:27–34.

Monchy D.,Babin F., Srey C., Ing P., S Von Xylander., Ly V., et Busch Hallen J. (2004). Déficit en G6PD, fréquence dans un groupe d'enfants d'âge préscolaire d'une région centrale du Cambodge. *Médecine Tropicale*. 64: 355-358.

Monteiro W.,Val F., Siqueira A., Franca G., Vanderson S S., Gisely C M., Anne CG A., Marcelo AM B., Henry M P., Douglas F., Quique B., Gustavo AS R., Maria R F O. et Marcus V G L. (2014). G6PD deficiency in Latin America: systematic review on prevalence and variants. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 109: 553-568.

Mura M., Saidi R, Wolf A., Moalic JL. et Oliver M. (2009). Anémie hémolytique congénitale par déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase. *Médecine Tropicale*. 69: 551-555.

Naylor C., Rowland P., Basak A., Gover S., Mason P., Bautista J., Vulliamy T., Luzzatto L. et Adams M. (1996). Glucose 6 phosphate dehydrogenase mutations causing enzyme deficiency in a model of thetertiary structure of the human enzyme. *Blood*. 87:2974-82.

Noêla E. (2004). Prévalence du déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (g6pd) et de l'association drépanocytose et déficit en g6pd chez les nouveau-nés dans la ville Ouagadougou.Universitéd'Ouagadougou. Section pharmacie. Thèse de doctorat en pharmacie. Burkina-Faso.

Notaro R., Afolayan A. et Luzatto L. (2000). Human mutations in glucose 6-phosphate dehydrogenase reflect evolutionary history.*FASEB J*. 14: 485-94.

OMS l'Organisation mondiale de la Sante. (1967). Normalisation des techniques d'études des la glucose-6-phosphate-déshydrogénase.

OMS l'Organisation mondiale de la Sante. (1972). Traitement des hémoglobinopathies et des troubles apparentes.

OMS l'Organisation mondiale de la Sante. (1990). Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. 68: 13-24.

Peter A., Jane A., Sachin A., Fabio A. et William C. (2013). Impact of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency on the pathophysiology of cardiovascular disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 4: 491-500.

Pierre Aubry **P. et Bernard-Alex Gaüzère B**. (2016). Déficits enzymatiques héréditaires du globule rouge Enzymopathies héréditaires. *Médecine Tropicale*.

Pouletty N. (2010). Frottis sanguin : évaluation des érythrocytes. *Le Point Vétérinaire*. N° 305.29-33. Canada.

Raupp P., Hassan J A, Varughese M. et Kristiansson B. (2001). Henna causes life threatening haemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Arch Dis Child*. 85:411-412.

Richard O., Francis S., Jhang H., Pham E., Hod J. et Steven L. (2013). Glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficiency in transfusion medicine: the unknown risks.*Vox Sang*. 105: 271-282.

Rodak B., Fritsma G. et Doig K. (2007). Hematology: clinical principles and applications.898.

Samuel H., Boyer I H., Porter et Robert G. (1962). Electrophoretic heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and its relationship to enzyme deficiency in man. *Genetics: Boyer, Porter, And Weilbacher*. 1868-1876.

Sartori E. (1971). On the pathogenesis of favism. *Journal of Medical Genetics*. Italy. 8: 462–467.

Seidlein L., Auburn S., Espino F., Shanks D., Cheng Q., Carthy J., Baird K., Moyes K., Howes R., Ménard D., Bancone G., Satyahraha A., Vestergaard L., Green J., Domingo G., Yeung S. et Price R.(2013). Review of key knowledge gaps in glucose-6- phosphate dehydrogenase deficiency detection with regard to the safe clinical deployment of 8-aminoquinoline treatment regimens: a workshop report. *Malaria Journal* .12:112.

Siebert C. et Sérandour C. (2006). S'entraîner en hématologie-cancérologie. Pp 9.

Sulaiman A., Saghir S., Faisal M., Al-Hassan F., Yusof N. et Zaki A. (2013). Molecularcharacterization of glucose-6-phosphate dehydrogenasedeficiency in a university community in Malaysia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 3: 363-367.

Verrelli B., Donald J., Argyropoulos G., Destro-Bisol G., Alain Froment A., Anthi Drousiotou A., Lefranc G., Helal A., Loiselet J. et Tishkoff S. (2002). Evidence for balancing selection from nucleotide sequence analyses of human G6PD. *Am. J. Hum. Genet.* 71:1112-1128.

VigifavismAssociation française des personnes atteintes du déficit en G6PD. (2009). Déficit en G6PD.

Waal N. (2013). Les hyper-hémolyses. Université Mohammed-V Souissi. Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat.Thèse de doctorat en pharmacie.Marco.

Wang X.,et Paul C. (2009). Clinical mutants of human glucose 6-phosphate dehydrogenase :Impairment of NADP binding affects both folding and stability.*BiochimicaEtBiophysicaActa* 1792: 804-809.

Wu Y., Yee Chiu D., Lin H., Yu Tang H., Ling Cheng M. et Yao Ho H. (2015).Glucose-6-phosphate dehydrogenase enhances antiviral response through down regulation of NADPH sensor HSCARG and supregulation of NF-KB signaling. *Viruses*. 7: 6689-6706.

Xavier B M. (2008). Déficit en g6pd : le rôle du médecin généraliste dans le dépistage de la maladie et la prévention des crises. Université de la méditerranée. Faculté de médecine de Marseille. France.

Yan J., Xu H., Xiong C., Ren Z., Tian G., Zeng F. et Huang S. (2010). Rapid and Reliable Detection of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Gene Mutations in Han Chinese Using High-Resolution Melting Analysis.*Journal of Molecular Diagnostics, American.*12: 305-311.

Yves M. (2002). Petit Larousse de la médecine. Pp 345.

ANEXES

Annexes 01 : Les données biologiques des malades.

N°	sexe	ABO	Age (ans)	Hb(HGB)g/dl	RBc 109 /l	Billirubin T	Billirubin D mg/l	dosage G6PD UI Hg/g	electrophorese de Hb	
1	M	O+	2	5,7	1,84				HbA= 97,6	HbA2= 2,4
2	M	O+	2	7,4	2,34	0,1	0,25			
3	F	A+	2	11,1	3,87	47,7	24,8			
4	M	O+	5	4,3						
5	M	A+	5	5,8		56,5	15,4			
6	M	B+	2	4,9	1,53					
7	M	A+	5	5,21						
8	M	O+	3	6,9	2,38					
9	M	B+	12	8,2	2,75	42	21	7,6		
10	F	O+	27 Moins	6,2	2,82	10,5	4,7			
11	M	A+	2. 1/2		3,71				Hba = 97,1	HbA2 = 2,9
12	M	B+	2	6,2	2,01	101	41			
13	M	A+	15 moins	5,7	_	10,7	5			
14	M		2	5,8	1,91			< 0,1		
15	M	AB+	4							
16	M	O+	2	4	1,53	21 ml/l	5,78 mg/l			
17	M	A+	3	6,1	2,87				HbA= 92,1	HbA2= 6,1
18	M	A+	25 moins	1	3,32			1,44		
19	M	O+	2	6,9	1,44	94	24	3,4		
20	M	O+	2. 1/2	4,7	2,6			0,2		
21	M	O+	18 moins	7,6	2,49					
22	M	AB+	11 moins	5,2		70,6	32.3		HbA=96,7	HbA2=3,3
23	M	O+	3	6,4	2	13,4		6,1		

24	M	A+	3	8,2	2,98			0,2	HbA= 96,7	HbA2=2,9
25	M	A+	17 moins	4,6	1,99					
26	M	B+	17 moins	6,8	2,26	82	0,5			
27	M	O+	2	4,1	2,66					
28	F	AB+	18 moins	4,8	1,79					
29	M	O+	2	4,5						
30	M	O+	3.1/2	5	2,08	40,01				
31	M	O+	3	4,3	1,71	30,26	5,14			
32	M	O-	4	6,3	2,08	7,88				
33	M	O+	33 mois					9,02		
34	M	B+	4							
35	M	O+	4							
36	M		6							
37	M	O+	16 moins							
38	M	A+	2. 1/2		1,77			10		
39	F	A+	3	8,1	3,56	11,2	Quantité insuffisante			
40	M	O+	2	10,7	3,5	61	7			
41	M	O+	23 mois							
42	F	O+	2	3,9	1,51				HbA=96,7	HbA2=2,9
43	M	A+	8							
44	M	B+	2	2,9		53				
45	M	B+	2	4,3						
46	M	B+		6,1	2,27					
47	M	A+	6	8	2,48					
48	M	A+	18 mois	4,7	4,1	10,02	0,73			

Réalisé par : H.FETOUCI, H.KADI, H.MENDER

Encadre par : S. BENSEGHIER

Etude épidémiologique descriptive du déficit en G6PD dans la Wilaya de Mila

Résumé

Le déficit en G6PD est l'enzymopathie érythrocytaire la plus répandue dans le monde. C'est une maladie héréditaire liée au sexe, portée par le chromosome X. L'objectif de ce travail est d'étudier les paramètres épidémiologiques de favisme. Le résultat final de l'étude épidémiologique du déficit en G6PD, dans le service de pédiatrie des hôpitaux Frères Maghlaoui de Mila et Mohamed Meddah de Ferdjioua, Wilaya de Mila depuis Mars 2014 jusqu'à Mai 2016, est porté 48 dossier d'enfant malades (10 mois au 12 ans), sachant que la consultation continue durant cette année 2016. Nous avons remarqué dans ce constat que les malades atteins de sexe masculin est de nombre 43 et seulement 5 cas de sexe féminin cela démontre la théorie de la maladie récessive lie a sexe. La transfusion isotypique a été réalisée chez tous les enfants. Au terme de ce travail, nous insistons sur le traitement préventif qui reste un volet thérapeutique important et consiste à proscrire tous les produits dangereux figurant sur une liste remise aux parents des enfants à leur sortie de l'hôpital.

Les mots clés : G6PD, Favisme, Chromosome X, Etude épidémiologique.

Abstract

The glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficit is the most widespread erythrocytic enzymopathy in the world. It is an inherited diseaserelated to sex, carried by X chromosome. The objective of this work is study the epidemiologic parameters of favism. The end result of the epidemiologic survey of deficit in G6PD in the service pediatry of the hospitals Brothers Maghlaoui of Mila and Mohamed Meddah of Ferdjioua, Wilaya of Mila since March 2014 up to Mai 2016, is 48 file of child patients (10 months to 12 years), knowing that the consultation continues during this year 2016, one notices in this report that the patients reach male sex is of number 43 and only 5 cases of female sex that show the theory of the recessive disease binds has sex. Isotype transfusion was performed in all children. After this work, we emphasize preventive treatment remains an important therapeutic component and is to outlaw all dangerous products on a list given to parents of children in their hospital discharge.

Key words: G6PD, Favisme, Chromosome X, Study epidemiological.

ملخص

مرض نقص إنزيم G6PD يعتبر أكثر أمراض الكريات الحمراء انتشارا في العالم . هو مرض وراثي جنسي محمول على الصبغي X الهدف من هدا العمل هو دراسة المؤشرات الوبائية لمرض التفول. الحصيلة النهائية للدراسة الوبائية لهذا المرض مند مارس 2014 إلي غاية ماي 2016 هي 48 ملف للأطفال المرضي (10 أشهر حتى 12 عام) مع العلم أن الدراسة ما زالت متواصلة لعام 2016 و النتيجة أغلبية المرضي المصابون بهذا المرض ذكور 45 و 3 حالات فقط إناث و هذا يوافق نضرية المرض الجيني المختفي المرتبط بالكروموزوم X. تشخيص المرض لذي مرضانا يرتكز على التحليل البيولوجي كذلك الاستبيان عن الأغذية المستهلكة قبل الانحلال و السوابق الفردية و العائلية. نقل الدم تم عند جميع الأطفال. بعد هذا العمل فإننا نؤكد تبقي المعالجة الوقائية عنصرا علاجيا هاما وهو حظر كل المنتجات الخطرة ممثلة على قائمة تقدم لآباء الأطفال عند الخروج بهم من المستشفى.

الكلمات المفتاحية : G6PD، التفول، الكروموزوم X، دراسة وبائية.