

REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

CENTRE UNIVERSITAIRE DE JIJEL  
INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



*De Fin d'Etude en Vue de l'Obtention de Diplôme  
d'Etudes Supérieures en Biologie*

**OPTION: BIOCHIMIE  
THEME**

**CONTRIBUTION A L'ETUDE ELECTROPHORETIQUE ET  
STATISTIQUE D'UNE HEMOGLOBINOPATHIE  
HUMAINE (DREPENOCYTOSE)**

Dirigé par :

Mr: HEMISSI AHMED

Elaboré par :

DJENHIA WIDED  
LATMANE LATIFA

Promotion 2002

## Remerciements

Nous remercions de tout cœur le bon dieu de nous avoir donné force et courage pour surmonter les obstacles.

Nous tenons à remercier vivement notre promoteur, M<sup>er</sup> HEMISSI Ahmed, pour ces précieux conseils, son aide inestimable, sa patience et compréhension afin que nous puissions réaliser notre travail.

Nos remerciements vont aussi à M<sup>er</sup> BOUSSOUF Nabil pour leur accueil dans le laboratoire centrale de Taher.

Nous remercions les membres de jury d'avoir examiné notre travail.

Enfin, nous remercions l'ensemble des enseignants du département de BIOLOGIE, pour nous avoir transmis le savoir durant notre formation universitaire.

*Latifa et Wided*

# SOMMAIRE

<b>Introduction générale.....</b>	<b>01</b>
-----------------------------------	-----------

## PARTIE THEORIQUE

### Chapitre I: Etude Physiologique de l'Hémoglobine

#### I- Généralités sur l'hématopoïèse

I-1- Définition.....	03
I-2 - Le sang.....	03

#### II- L'hémoglobine

II-1- Définition.....	05
II-2- Structure de l'hémoglobine.....	06
II-3- Biosynthèse de l'hémoglobine.....	07
II-4- Fonctions de l'hémoglobine.....	08
II-5- Catabolisme de l'hémoglobine.....	09

#### III- Variétés de l'hémoglobine

III-1- Variétés de l'hémoglobine normale.....	11
III-2- Variétés de l'hémoglobine pathologique.....	12

### Chapitre II : Etude de la Drépanocytose

#### I- Etude biochimique

I-1- Historique.....	14
I-2- Définition.....	14
I-3- Physiopathologie de l'HbS.....	15
I-4- Les déterminants physiologiques de la polymérisation.....	16
I-5- Altérations métaboliques et membranaires des hématies Drépanocytaires.....	16

#### II- Etude génétique de la drépanocytose

Génétique de l'HbS.....	17
-------------------------	----

#### III- Signes cliniques et biologiques

III-1- Signes cliniques.....	19
III-2- Signes biologiques.....	20
<b>IV- Diagnostic</b>	
IV-1- Examen biologique .....	21
IV-2- Examen génétique.....	21
<b>V- Traitement.....</b>	<b>21</b>

## PARTIE PRATIQUE

<b>I- Patients.....</b>	<b>22</b>
<b>II- Matériels</b>	
II-1- Matériel expérimental.....	22
II-2- Verrerie.....	22
II-3- Réactif.....	22
<b>III- Méthodes et techniques utilisées</b>	
III-1- Prélèvement du sang.....	23
III-2- Hémogramme.....	23
III-3- Test de falciformation.....	27
III-4- test de solubilité.....	28
III-5- Frottis sanguin.....	28
III-6- Electrophorèse d'hémoglobine sur acétate de cellulose à PH 8.2 - 8.0.....	30
<b>IV- Résultats</b>	
IV-1- Résultats de l'électrophorèse et de l'hémogramme.....	33
IV-2- Répartition de la drépanocytose.....	39
IV-3- Transmission héréditaire.....	46
IV-4- Comparaison des résultats.....	50
<b>V- Discussion.....</b>	<b>51</b>
<b>VI- Conclusion.....</b>	<b>54</b>
<b>Bibliographie</b>	

## ABREVIATIONS

**CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne hémoglobine.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone.

**2, 3-DPG** : 2,3- Diphospho- glycerate.

**EDTA** : Ethyl diamino thriéthyle amine.

**Fe** : Fer.

**GB** : Globule blanc.

**Glu** : Acide glutamique.

**GR** : Globule rouge.

**Hte** : Hématocrite.

**Hb** : Hémoglobine.

**HbA** : Hémoglobine adulte.

**HbA<sub>2</sub>** : Hémoglobine adulte mineure.

**HbF** : Hémoglobine fœtale.

**HbS** : Hémoglobine de sickle.

**Lys** : Lysine.

**O<sub>2</sub>** :Oxygène.

**PCR** : Protéin – chain recombinant

**Pro**: Proline.

**SNP** : Single nucleotide polymorphism

**TF** : Test de falciformation.

**Val** : Valine.

**VGM** : Volume globulaire moyen.

*Partie*  
*Théorique*

## INTRODUCTION

Le nord Algérien constitue un important foyer d'hémoglobinopathies, et particulièrement les drépanocytoses.

Les hémoglobinopathies, syndromes thalassémiques et drépanocytaires confondus, sont d'une très grande fréquence dans la région de Taher, et constituent aujourd'hui une des causes principales de mortalité infantile.

La drépanocytose est le prototype de la maladie moléculaire et présente un bon modèle d'étude de la génétique moléculaire. Les troubles génétiques atteignant les hémoglobines sont de deux sortes : ponctuels "hémoglobinoses" et absence plus ou moins complète de synthèse d'une chaîne peptidique appelée "thalassémie". Ils dépendent d'anomalies de fonctionnement du système génétique et / ou du système de synthèse protéique dont dépend l'hémoglobine.

Les syndrômes drépanocytaires appartiennent à la famille d'anémie hémolytique chronique qui expose les patients à toute la palette des complications communes à ce genre de maladie : épisode d'anémie aiguë, troubles nutritionnels secondaires, hypersplénisme aigu et chronique, complications lithiasiques des voies biliaires, troubles du métabolisme du fer et atteinte polyviscérale.

Il n'existe actuellement aucun thérapeutique efficace pour la lutte contre cette maladie, hormis quelques transfusions, et l'ablation de la rate (splénotomie) n'est indiquée que si celle-ci atteint un volume considérable.

Les manifestations biologiques et cliniques ne sont que peu spécifiques ; c'est un problème constant que de départager les manifestations imputables à la maladie de celles issues de maladies concurrentes. Il ressort en effet que tout l'intérêt du diagnostic des anomalies drépanocytaires réside dans la recherche des fractions d'hémoglobine par électrophorèse. C'est ainsi que nous sommes intéressés au dépistage de ces hémoglobinopathies par électrophorèse d'hémoglobine afin de démontrer l'intérêt de ce dosage dans la détection de ces anomalies et de permettre alors une surveillance rigoureuse des patients avant qu'ils subissent de graves complications.

Notre étude pratique a été réalisée dans le laboratoire d'hématologie de l'hôpital de Taher. Elle a pour objectif :

- la mise à jour de connaissances sur cette affection à travers des données biochimiques et génétiques récentes.
- la pratique des différentes techniques hématologiques en s'intéressant particulièrement à l'électrophorèse et son rôle dans le dosage et le diagnostic de la maladie.
- la réalisation d'une étude statistique afin d'illustrer la gravité de la drépanocytose en faisant connaître la fréquence, l'âge et le sexe le plus atteint.



**Chapitre I**  
**Etude Physiologique**  
**de l'Hémoglobine**

## **I- GENERALITES SUR L'HEMATOPOÏESE:**

### **I-1-DEFINITION :**

L'hématopoïèse est l'ensemble des phénomènes qui assurent la production continue des cellules sanguines. L'hématopoïèse commence dans les îlots mésenchymateux. Chez le fœtus, elle a lieu principalement au niveau du foie et de la rate. C'est à partir du 7<sup>ème</sup> mois de la vie intra-utérine que les cellules souches migrent du foie vers la moelle osseuse.[11]

### **I-2- LE SANG :**

#### **I-2-1- Le plasma :**

C'est une solution aqueuse d'électrolytes, constituée de différentes substances organiques principalement des protéines 7% en masse, des sels minéraux, des acides aminés et du glucose.

Les protéines plasmatiques sont :

45 g / l d'albumine

30 g / l globuline

4 g / l Fibrinogène

#### **I-2-2- Les globules rouges ou érythrocytes :**

Les globules rouges ou hématies sont des cellules anucléés du sang, hautement différenciées, chargées de maintenir à l'état fonctionnel le pigment respiratoire qui est l'hémoglobine qui représente environ 33% du contenu cellulaire.

Le globule rouge a la forme d'un disque biconcave de 7 à 8  $\mu$  de diamètre [11]. Le sang contient environ 25000 milliards de G.R, soit de 4 à 5 millions par  $\text{mm}^3$ , leur durée de vie est 120 jours. Ils meurent par vieillissement et subissent la destruction dans les cellules macrophagiques du système réticulo-endothélial de la moelle osseuse pour la moitié, le reste dans les cellules de foie et de la rate [12].

#### **I-2-3- Les globules blancs :**

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules nucléés non pigmentées du sang. Ils ont un diamètre de 9 à 14  $\mu$ , leur durée de vie est de 4 à 5 jours [12]. Les G.B sont chargés

principalement de la phagocytose. La présence dans certains d'entre eux de granulations caractéristiques permet de distinguer :

- Les leucocytes hyalins, ils comportent :
  - . Les lymphocytes (25 à 33%)
  - . Les monocytes (04 à 08%)
- Les leucocytes granuleux, ils comportent :
  - . Les granulocytes neutrophiles (4 à 75%)
  - . Les granulocytes éosinophiles (1 à 2%)
  - . Les granulocytes basophiles (1%). [8]

#### **I-2-4- Les plaquettes :**

Les plaquettes ou thrombocytes, correspondent à des fractions de cytoplasme anucléés contenant divers organites cellulaires. Elles se présentent sous une forme aplatie de 1.5 à 2  $\mu$  de diamètre.

Les thrombocytes jouent un rôle important dans l'hémostase, dans la protection des endothéliums vasculaires et dans l'inflammation.

**Tableau n° I : Morphologie et rôle des cellules sanguines  
(Belhani, 1998).[1]**

Cellules sanguines	Globules rouges	Globules blancs	Plaquettes
<b>Paramètres</b>			
Diamètre	7.5 $\mu$	9.00 - 14 $\mu$	1.5 - 2 $\mu$
Forme	disque biconcave	variable	Aplatie
Noyau	Pas de noyau	Polynucléaires	Pas de noyau
Cytoplasme	Pigment rouge	Granulation	Granulation
Durée de vie	120 jours	5 - 6 jours	8 - 12 jours
Lieu de destruction	rate	Tissus de l'organe	Foie et rate
Rôles	Transport d' O <sub>2</sub> et CO <sub>2</sub>	Motilité et phagocytose	Hémostase, rôle dans l'inflammation

## II- L'HEMOGLOBINE :

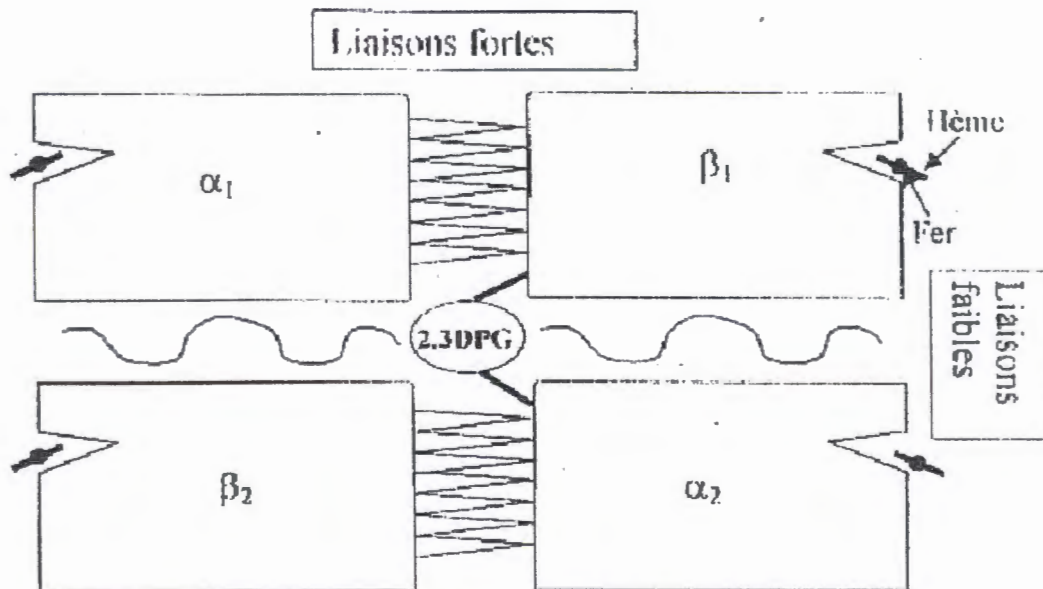
### II-1- DEFINITION :

L'hémoglobine, principal constituant du G.R et responsable de la coloration du sang, est une protéine conjuguée dont la structure est bien connue (**Fig n° 01**). La partie protéique, appelée globine, est constituée de quatre chaînes polypeptidiques, alors que le groupement prosthétique contient un atome de fer et un noyau tétrapyrrolique. L'hémoglobine de poids moléculaire d'environ 67 000Da, constitue à peu près 90% du poids sec de l'érythrocyte [11]. Elle est synthétisée dans le cytoplasme des érythroblastes cellulaires [5].



## II-2-STRUCTURE DE L'HEMOGLOBINE :

L'hémoglobine est constituée de deux parties ; une partie protéique incolore : La globine (96 %) et un pigment porphyrique ; l'hème (4 %) contenant un atome de fer. Une molécule d'hémoglobine est formée de quatre atomes de fer associés à quatre chaînes polypeptidiques semblables (Fig n° 02).



**Figure n° 02: Structure de la molécule complète de l'hémoglobine d'après Jean Bernaro et al,(1981) [2]**

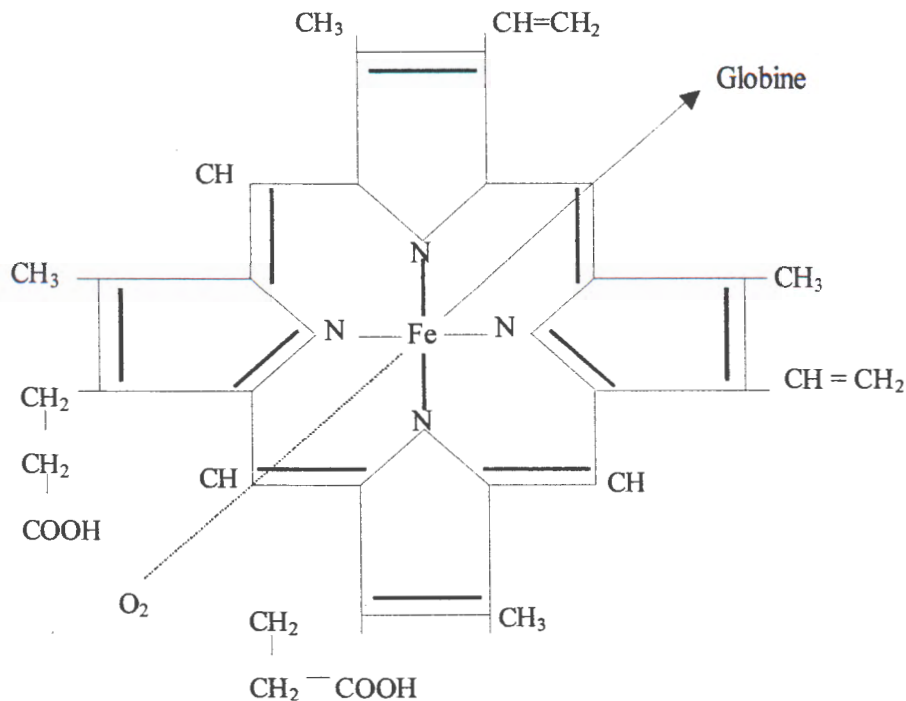
2.3.D.P.G : 2.3 Diphosphoglycerate, fixé sur les chaînes bêta de la globine au niveau de la cavité centrale de l'hémoglobine, joue un rôle important dans la distribution de l'oxygène.

### II-2-1-L'hème :

L'hème est une porphyrine contenant un atome de fer. Elle comprend :

- Quatre noyaux pyrrols à sommets azotés réunis par des radicaux méthylène (-CH=).
- Huit chaînes latérales : 4 méthyls (-CH<sub>3</sub>), 2 vinyls (-CH=CH<sub>2</sub>) et deux propionyls (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COOH).

L'atome de fer est situé au centre, fixé par quatre valences sur les atomes d'azotes du noyau pyrrol et garde deux valences libres, l'une fixe l'oxygène, l'autre pour la globine.



**Figure n° 03: Structure de l'hème d'après Jean Bernaro et al,(1981).[2]**

### II- 2-2- La globine :

C'est la partie protéique de l'hémoglobine. C'est un ensemble de quatre chaînes polypeptidiques avec pour chaque molécule d'hémoglobine, 4 chaînes semblables deux à deux.

L'hémoglobine humaine comporte deux chaînes  $\alpha$  , de 141 acides aminés couplées :

- à deux chaînes  $\beta$  dans l'hémoglobine adulte majeure ( HbA<sub>1</sub> :  $\alpha_2 \beta_2$ ).
- à deux chaînes  $\gamma$  dans l'hémoglobine fœtale (HbF :  $\alpha_2 \gamma_2$ )
- à deux chaînes  $\delta$  dans l'hémoglobine adulte mineure (HbA<sub>2</sub> :  $\alpha_2 \delta_2$ ).

L'union de deux chaînes  $\alpha$  et deux autres chaînes forme une molécule symétrique globulaire.

## II-3- BIOSYNTHESE DE L'HEMOGLOBINE :

### II-3-1- Biosynthèse de l'hème :

La synthèse de l'hème est réalisée dans la mitochondrie des érythroblastes en présence de plusieurs enzymes. A partir de la Glycine et de l'acide succinique, une

série de précurseurs intermédiaires sont synthétisés : les porphyrines, puis le passage du fer dans la protoporphyrine III, donne finalement l'hème.

### II-3-2- Biosynthèse de la globine :

Elle se fait au niveau des polyribosomes des érythroblastes selon le schéma général de la synthèse des protéines. La synthèse des différentes chaînes est gouvernée par plusieurs gènes codants ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ) assurant une synchronisation normale de la synthèse des chaînes  $\alpha$  et non -  $\alpha$ .

L'hème joue donc un rôle clef dans la régulation de la synthèse de l'hémoglobine, elle stimule la synthèse des chaînes de globine et contrôle sa propre synthèse par rétro-inhibition de l'enzyme alanine-synthétase . [12]

### II-4-FONCTIONS DE L'HEMOGLOBINE :

L'hémoglobine peut être assimilée à un véritable poumon moléculaire, elle assure :

#### II-4-1- Transport de l'oxygène :

La fonction essentielle du G.R. est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus, qui se fait grâce à l'hémoglobine. Cette fonction est assurée lorsque l'hémoglobine maintient sa forme réduite où le fer est à l'état ferreux ( $Fe^{+2}$ ). Si l'hémoglobine se transforme à l'état oxydée, c'est à dire que le fer ferreux devient ferrique ( $Fe^{+3}$ ), la molécule ne sera pas apte au transport de l'oxygène .

En générale, chaque molécule d'hémoglobine fixe quatre molécule d' $O_2$  sur l'atome de fer , et la saturation en oxygène en fonction de la pression partielle de l' $O_2$  correspond à une courbe sigmoïde, qui assure un maximum d'efficacité tant pour la fixation dans les poumons que pour la libération dans les tissus.[8]

#### II-4-2- Transport de $CO_2$ :

Outre le transport de l'oxygène, l'hémoglobine est chargé du transport des gaz carboniques des tissus aux poumons. Une partie seulement de  $CO_2$  (environ 40 %) est véhiculée sous cette forme mais sur des groupements aminés latéraux de la globine [8].

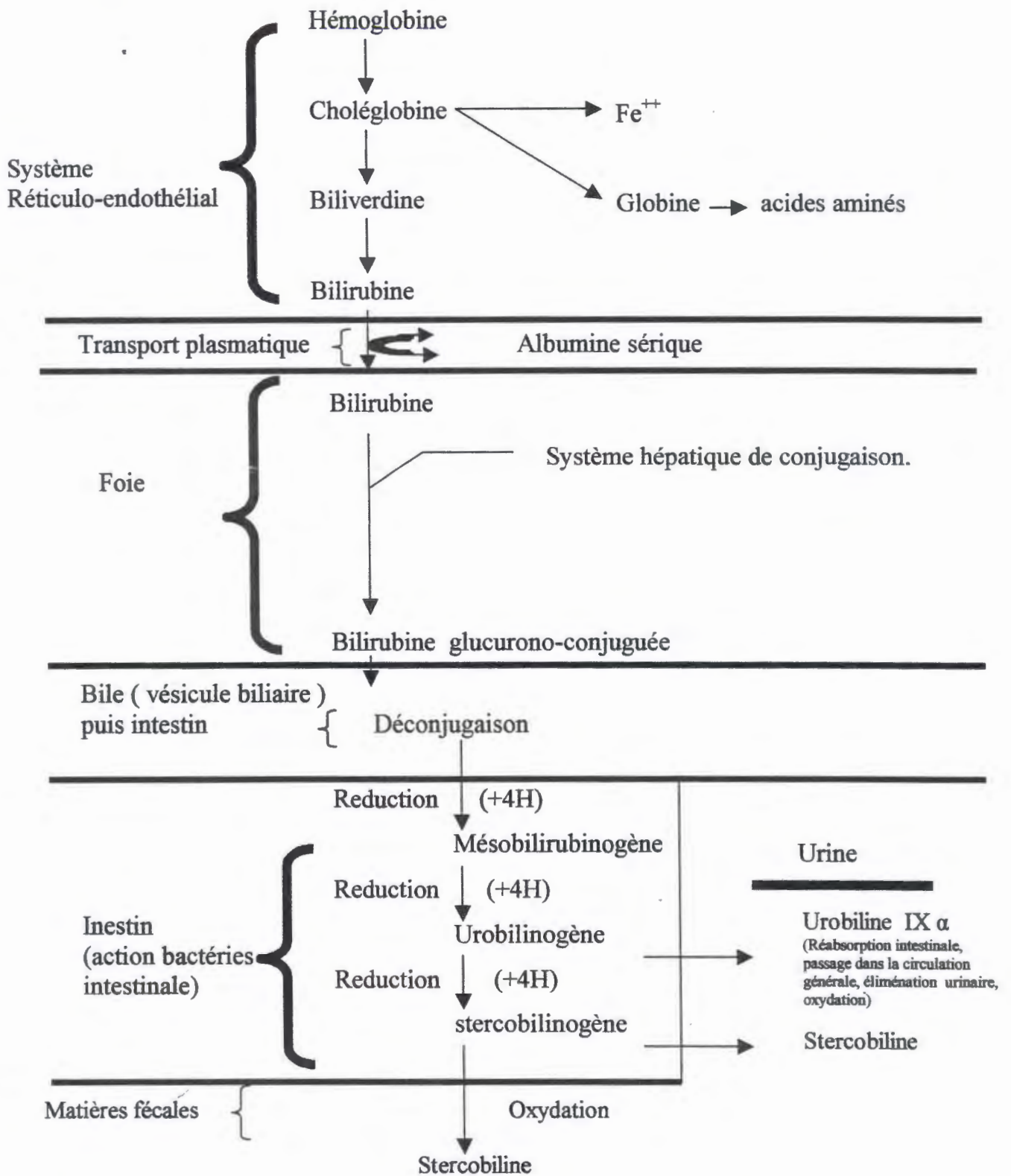
**II-4-3- Effet tampon :**

L'hémoglobine agit comme tampon pour maintenir un PH constant ; les protons  $H^+$  libérés par les tissus sont capturés au niveau de certains sites spécifiques de l'hémoglobine.

**II-5- CATABOLISME DE L'HEMOGLOBINE.**

L'hémoglobine est essentiellement dégradée dans le globule rouge après une durée de vie moyenne de 120 jours [5]. Une partie des hématies meurent dans la circulation (hémolyse intravasculaire), la majorité est détruite par les cellules du système de phagocytose mononuclées de la moelle osseuse du foie et de la rate (hémolyse extravasculaire). Les produits issus de la dégradation de l'Hb sont recyclés, le fer par exemple, est réutilisé pour l'érythropoïèse, tandis que le noyau pyrrol se transforme en biliverdine, puis en bilirubine (Fig n 04) .



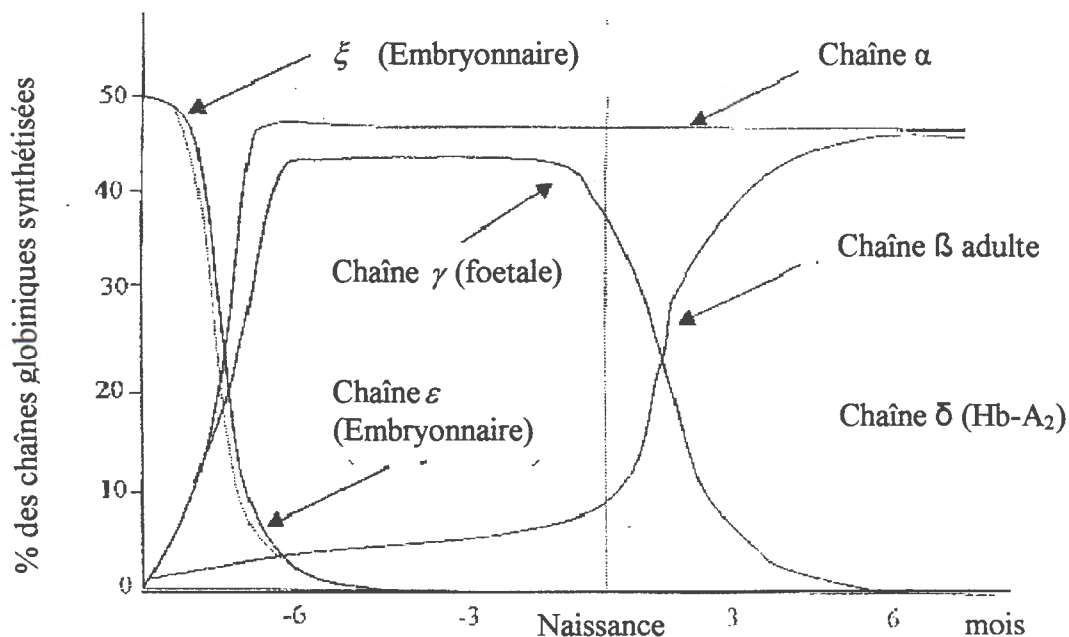


**Figure n° 04: Catabolisme de l'hémoglobine d'après Borel et al.(1984) [4]**

### III. VARIETES DE L'HEMOGLOBINE :

#### III-1- VARIETES DE L'HEMOGLOBINE NORMALE :

L'hémoglobine n'est pas la même à tous les âges : les différentes formes d'Hb se distinguent par la nature des sous-unités qui entrent dans sa constitution (Fig n° 05)



**Figure n° 05: Synthèse des différentes chaînes globiniques au cours de la vie pré et post-natale d'après Wajcman et al ;(1992) [13]**

##### III-1-1-Chez l'embryon :

Il existe les hémoglobines Growers associant des chaînes embryonnaires ( $\xi$ ,  $\epsilon$ ), foetal ( $\gamma$ ) et adulte ( $\alpha$ ), selon l'âge de l'embryon. Ces diverses sous-unités constituent chez l'embryon trois types d'Hb; l'Hb Grower1, l'Hb Grower2 et l'Hb Portland. Elles disparaissent généralement au 3<sup>ème</sup> mois de la vie foetale.[6]

##### III-1-2- Chez le foetus :

L'hémoglobine foetale (HbF) : ( $\alpha_2$ ,  $\gamma_2$ ) dont l'affinité pour l'O<sub>2</sub> est plus forte que celle de l'HbA<sub>1</sub>, représente 75 % de l'hémoglobine totale et disparaît normalement au cours de la 1<sup>ère</sup> année. L'HbF est synthétisée dès les premiers stades de la gestation et peut être détectée à partir de la 5<sup>ème</sup> semaine.

de

**III-1-3- Chez l'adulte :**

Dans les semaines qui précèdent la naissance et celles qui la suivent, la synthèse de l'HbF est progressivement réprimé au profit de l'HbA<sub>1</sub> ( $\alpha_2, \beta_2$ ) qui apparaît en fin de gestation et de l'Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2, \delta_2$ ). Vers l'âge de six mois, on arrive à une formule voisine de celle de l'adulte (voir tableau n°II).

D'autre part, il existe des constituants minoritaires, le plus important est l'HbA glycosylée dont le taux augmente au cours de diabète [5].

**Tableau n°II : Répartition des taux d'hémoglobines chez l'adulte sain. [5]**

HbF ( $\alpha_2, \gamma_2$ ).....	Traces
HbA <sub>1</sub> ( $\alpha_2, \beta_2$ ).....	97 à 99%
HbA <sub>2</sub> ( $\alpha_2, \delta_2$ ).....	1 à 3%

**III-2-VARIETES DE L'HEMOGLOBINE PATHOLOGIQUE :**

Plusieurs types d'Hb anormales ont été décrits. Ces anomalies sont dues soit à un défaut de synthèse d'une chaîne peptidique, soit à des mutations ponctuelles suite à une délétion ou à une fusion de gènes, on distingue :

**III-2-1 L'HbS :**

C'est une substitution portée sur le 6<sup>ème</sup> acide aminé : de l'acide glutamique par la valine au niveau de la chaîne  $\beta$  : ( $\beta^6$  Glu  $\longrightarrow$  Val : GAG  $\longrightarrow$  GTG).

Cette hémoglobine est le plus souvent rencontrée au cours d'une anémie falciforme.

**III-2-2- L'HbC :**

Elle est due à une mutation au niveau de la chaîne  $\beta$  en position 6 également. L'acide glutamique est dans ce cas, remplacé par la lysine :

( $\beta^6$  Glu  $\longrightarrow$  Lys : GAG  $\longrightarrow$  AAG).

**III-2-3- L'HbE :**

Elle résulte de la substitution de l'acide glutamique par la lysine au niveau de la chaîne, mais en position 26 : ( $\beta^{26}$  Glu  $\longrightarrow$  Lys : **GAG**  $\longrightarrow$  **AAG**)

**III-2-4-L'HbD:**

Il s'agit ici d'une mutation au niveau de chaîne  $\beta$  en position 121 ou l'acide glutamique est remplacé par la glutamine.

**III-2-5- L'HbM :**

Il se traduit par une cyanose congénitale apparue dans les premiers jours de la vie (mutation de la chaîne  $\alpha$ ) ou après 3 à 6 mois (mutation de la chaîne  $\beta$ ).

# **Chapitre II**

## **Etude de la Drépanocytose**

## I. ETUDE BIOCHIMIQUE :

### I-1- HISTORIQUE :

Après la découverte par Herrick, en 1910 de l'anomalie morphologique érythrocytaire de la drépanocytose chez un jeune homme noir anémique, les travaux de Pauling ont permis en 1949 de mettre en évidence par électrophorèse la présence d'une hémoglobine anormale chez des patients anémiques. L'identification de l'altération de structure de l'HbS fut définitivement établie en 1959 par Ingram [8].

### I-2-DEFINITION :

La drépanocytose ou " sickle cell disease " (scikle : Faucille) est une hémoglobine congénitale de type qualitatif, transmise sur le mode autosomal récessif, caractérisée par la présence des globules rouges en forme de faucille et d'une hémoglobine anormale "HbS" responsable de la diminution du transfert d'oxygène [11].

Dans ce type d'affection, on distingue plusieurs formes d'anomalies :

#### I.2.1. Drépanocytose homozygote (S/S):

Les sujets homozygote (Hb S/S) ont les deux parents drépanocytaires hétérozygotes et ce sont eux qui sont malades drépanocytaires. Chez eux la maladie s'exprime parfaitement puisqu'il n'y a que des protéines anormales d'hémoglobines produites et qui provoquent une anémie hémolytique sévère.

L'examen des frottis sanguins montre l'existence de cellules falciformes, alors que l'analyse électrophorétique permet de constater la disparition d'Hb A/S normale qui est remplacée par l'Hb S/S [Ferrah 94]. [7]

#### I.2.2. Drépanocytose hétérozygote (A/S):

Dans la forme hétérozygote (Hb A/S), les globules rouges ont une morphologie normale et l'anémie est beaucoup moins importante. La maladie ne s'exprime pas parce que le gène normal présent suffit à contrebalancer l'effet de gène malade : il permet de fabriquer assez d'hémoglobine normale pour empêcher la destruction des globules rouges.

L'électrophorèse de l'hémoglobine montre un pourcentage d'Hb S compris entre 25 et 45 % (Ferrah 1994). [7]

### **I.2.3 Double hétérozygote (S/B Tha) :**

La thalassémie est une anomalie hémoglobinique qui s'exprime par l'absence ou la diminution de production d'une ou plusieurs chaînes d'hémoglobines. Elle s'associe à la drépanocytose en constituant la microdrépanocytose ou la drépano-thalassémie. Un sujet thalasso-drépanocytaire porte un gène B/Tha et un gène drépanocytaire et ses parents sont hétérozygotes, l'un pour la B/Tha et l'autre pour la drépanocytose.

### **I.2.4 Double hétérozygote (S/C) :**

La forme (S/C) est due à la combinaison des deux hémoglobinopathies : L'hémoglobinosose C et la drépanocytose. L'aspect clinique de cette anomalie est moins sévère que celui d'une drépanocytose homozygote. Le malade porte un gène B/S et un gène B/C. Ses parents sont l'un hétérozygote pour drépanocytose et l'autre pour l'HbC.

## **I-3-PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HbS:**

Le remplacement de l'Ac glutamique par la valine entraîne une modification importante de la conformation spatiale de l'HbS. Il se forme un pont entre la valine 1 et la valine 6 aboutissant, à l'état désoxygéné, à une polymérisation des molécules, de long fibres d'Hb rigides et insolubles capables de produire une gélification. Les érythrocytes perdent alors leur propriété essentielle de déformation et de plasticité, et affectent l'aspect en faucille.

### **I-3-1- Mécanisme a l'échelle cellulaire:**

Au cours de cette substitution, une région de l'hémoglobine subit des changements conformationnels minimes entre les états R (oxygéné) et T (désoxygéné) de la molécule. Dans le cas de l'Hb anormale (HbS), seule la conformation T entraîne la polymérisation. Celle-ci survient suite à une désoxygénation lente qui laisse le temps aux polymères de s'organiser et former des cellules allongées responsables d'une diminution considérable de la déformabilité des globules rouge. Une polymérisation prolongée lèse la membrane des hématies qui prennent une forme en faux (falciformation), et libère une quantité variable de matériel membranaire.

Les érythrocytes falciformes deviennent rigides, s'agglutinent et bloquent les vaisseaux les plus étroits (cœur, os, rate, etc...) entraînant des microthromboses avec

microinfractus à l'origine des phénomènes douloureux (crises vaso-occlusives) et fonctionnels (involution splénique avec sensibilité accrue aux infections).

### **I-3-2-Mécanisme A L'échelle Moléculaire :**

Le mécanisme moléculaire est le remplacement par une valine de l'acide glutamique en position 6 de la chaîne  $\beta$  de la globine. L'acide glutamique  $\beta_6$  est un acide aminé de surface participant au caractère de protéine globulaire hydrophile de l'Hb. Il est en situation de répulsion électrostatique avec l'acide glutamique  $\beta_6$  voisin. Donc la substitution par une valine modifie la configuration spatiale de l'hélice A.

L'utilisation de la microscopie électronique et la diffraction des rayons X a permis de déduire la forme des polymères de l'HbS qui apparaissent sous forme de structure en bâtonnet composé de 6 à 12 brins monomoléculaires d'HbS enroulés en spirale.

## **I-4- LES DETERMINANTS PHYSIOLOGIQUES DE LA POLYMERISATION:**

### **I-4-1- Concentration en $O_2$ :**

C'est le paramètre le plus important de la polymérisation. La désoxygénation provoque une forte diminution de l'affinité de l'HbS pour l'oxygène et stabilise la molécule sous forme désoxy. Le 2,3 diphosphoglycérate et le pH interviennent également sur la gélification par l'intermédiaire de leur influence sur l'affinité de l'hémoglobine pour l' $O_2$ ; une augmentation du 2,3 DPG diminue cette affinité et augmente la gélification, de même une diminution du pH diminue l'affinité pour l' $O_2$ .

### **I-4-2- LA Concentration en HbS :**

Il existe une corrélation entre la concentration en HbS et la gélification. Dans les conditions expérimentales, la gélification s'observe lorsque la concentration de désoxy HbS dépasse 20.8 g/dl. [14]

## **I-5- ALTERATIONS METABOLIQUES ET MEMBRANAIRES DES HEMATIES DREPANOCYTAIRES :**

La falciformation érythrocytaire est souvent associée à des modifications réversibles de la membrane. Au cours de la falciformation, les érythrocytes perdent du



potassium  $K^+$  et gagnent du sodium  $Na^+$ . Ce phénomène est lié à une anomalie partielle de fonctionnement de la pompe à sodium / potassium (ATPase).

La concentration intracellulaire de calcium augmente au cours de la falciformation, d'une part à cause de l'augmentation de la perméabilité membranaire au calcium et d'autre part à cause de la diminution de l'activité de la pompe à calcium ATPase dépendante. [14]

## II- ETUDE GENETIQUE DE LA DREPANOCYTOSE :

### II-1- GENETIQUE DE L'HbS:

#### II-1-1- Définition :

La drépanocytose ou hémoglobine S est une maladie autosomique récessive due à une mutation unique, ponctuelle responsable de la modification d'un seul triplet de bases dans la séquence polynucléotidique du cistron  $\beta$  situé sur le chromosome 11, ce qui entraîne la modification de la chaîne polypeptidique  $\beta$ , par le changement d'un seul acide aminé.

- Les sujets sains de génotype  $\beta/\beta$  ont une hémoglobine  $A_1$  normale ( $\alpha_2, \beta_2$ ) et des globules rouges normaux.
- Les sujets hétérozygotes  $\beta/\beta_s$  sont en situation de codominance, leurs globules rouges contiennent simultanément de l'HbA normale ( $\alpha_2, \beta_2$ ), de l'HbS pathologique ( $\alpha_2, \beta_s, \beta_s$ ) et des molécules "hybrides" de type ( $\alpha_2, \beta, \beta_s$ ) sensibles aux conditions d'oxygénation.
- Les sujets homozygotes  $\beta_s/\beta_s$  sont malades, leurs globules rouges ne contiennent que la seule hémoglobine HbS ( $\alpha_2, \beta_s, \beta_s$ ). L'hémoglobine S est très peu soluble sous sa forme désoxygénée.

#### II-1-2- Contrôle génétique de la biosynthèse de l'Hb:

La biosynthèse des différentes chaînes polypeptidiques de l'Hb est contrôlée par 4 paires de gènes de structure  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ . Ces gènes sont repartis en deux groupes sur différents chromosomes dans le génome.

- Chez l'homme le cistron  $\alpha$  est dupliqué et porté par le chromosome 16, dont deux gènes  $\zeta$  embryonnaires et 4 gènes  $\alpha$  définitifs.

- Les cistrons  $\beta$  sur le chromosome 11 dont 2 gènes  $\epsilon$  embryonnaires ; 4 gènes  $\gamma$  foetaux et 2 gènes  $\delta$  et 2 gènes  $\beta$  matures.

Tous les gènes de la globine sont constitués de 03 exons (parties codantes) et 02 introns (parties non codantes). [3]

**II-1-3 Mode de transmission :**

Les gènes  $\beta$  mutés, localisés sur le brin court du chromosome 11, sont transmis selon le mode Mendélien (voir tableau n° III). Lorsque les gènes  $\beta_s$  sont localisés sur les deux chromosomes, la maladie se manifeste sous forme homozygote. Lorsque les gènes  $\beta_s$  sont localisés sur un seul chromosome, la maladie se manifeste sous forme hétérozygote, l'hématie renferme l'hémoglobine anormale HbS avec les autres fractions de l'Hb normale. Quand le gène  $\beta_s$  au niveau d'un chromosome est associé à un autre gène muté (soit  $\beta_c$  :  $\beta$  thal), on parle de la double hétérozygote, l'hématie ne renferme que l'Hb anormale.

**Tableau n° III: Transmission génétique de la drépanocytose [14]**

		Père ou mère AS	
		A	S
Père ou mère AS	A	AA Enfant AA (normal)	SA Enfant AS (normal, porteur)
	S	SA Enfant AS (normal, porteur)	SS Enfant SS (malade)

**II-1-4 Bases moléculaires de la maladie :**

La mutation  $\beta_s$  est due à une transversion d'une base purine (Adénine) par une base pyrimidine (Thymine) au niveau du codon 6 du gène  $\beta$  de la globine. Donc, il y a une modification de la séquence normale.

CCT – GAG – GAG      en      CCT – GTG – GAG

Cette anomalie détruit le site de reconnaissance de l'enzyme de restriction MSt II qui reconnaît et clive spécifiquement une séquence comportant le 6<sup>ème</sup> codon du gène  $\beta$  dans sa version normale. [9]

### II-1-5 Polymorphisme génétique de la maladie :

La variabilité clinique de la maladie drépanocytaire a été partiellement expliquée par des conditions d'environnement (climat, mode de vie, conditions socioéconomiques culturelles, environnement médical et pathologique associé). Mais aussi incontestablement par des facteurs génétiques qui ont fait l'objet de nombreuses études attestant une origine multiple de la mutation drépanocytaire.

## III- SIGNES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DE LA DREPANOCYTOSE:

### III-1- SIGNES CLINIQUES:

#### III-1-1-Drépanocytose hétérozygote :

Peu symptomatique dans les conditions de vie normale. Le trait drépanocytaire est dans ce cas un état bénin sans symptomatologie clinique dans les conditions habituelles d'oxygénation.

#### III-1-2-Drépanocytose homozygote :

Seule la forme homozygote est symptomatique. Il peut y avoir ainsi plusieurs signes cliniques.

#### ➤ Signes généraux d'anémie hémolytique chronique :

- Syndrome anémique associé à un ictère.
- Accidents vasculaires cérébraux ischémiques.
- Splénomégalie.
- Lithiases vésiculaires (pigmentaires).
- Retard de croissance.
- Signes osseux radiologiques constants.

#### ➤ Accidents vaso-occlusifs graves :

- Accidents vasculaires cérébraux ischémiques (Hémiplégie ... etc.).



- Accidents vasculaires hémorragiques.
- **Syndrômes thoraciques aigu.**
- **Crises douloureuses :**
  - Parfois déclenchées à l'occasion d'épisodes infectieux, de stress ou déshydratation.
  - Touchant plus souvent le dos, la poitrine, les extrémités (Hand foot syndrome).
- **Complication chroniques :**
  - Infarctus splénique pouvant aboutir à une fibrose de la rate.
  - Cardiaques (myocardiopathies ... etc.), insuffisance rénale **et insuffisance** respiratoire.
  - Ostéonécroses.
  - Infections différentes (septicémie, méningites, pneumonies, **ostéomyélites**, infections urinaires ... etc.). [14]

### III-2- SIGNES BIOLOGIQUES :

Chez les sujets hétérozygotes, l'hémogramme est normal. Cependant, les signes biologiques de la forme homozygotes sont multiples :

- **Anémie :**
  - Anémie hémolytique chronique.
  - Crises aplasiques par érythroblastopénies (syndrome d'OWREN – GASSER).
  - Anémie macrocytaire normochrome et arégénérative (carence en acide folique, hyperconsommation de l'érythropoïèse compensatrice).
- **Leucocytes :**
  - Hyperleucocytose fréquente et modérée.
  - Polynucléose neutrophile.
  - Myélémie modérée.
  - Erythroblastose discrète.

*Partie*

*Pratique*

➤ **Plaquettes :**

Taux normal ou augmenté.

➤ **Bilan d'hémolyse :**

- Hyperbilirubinémie indirecte.
- Elevation des LDH.
- Hypersidérémie avec augmentation du coefficient de saturation. [14]

#### **IV- DIAGNOSTIC:**

##### **IV-1- EXAMEN BIOLOGIQUE:**

Il n'est possible qu'après 6 mois à un an, lorsque toute l'HbF est remplacée par l'HbS. Les frottis sanguins montre des cellules falciformes, les drépanocytes. Le taux de l'Hb est de 7 à 9 g/dl.

La recherche d'Hb peut se faire par électrophorèse en s'appuyant sur les propriétés de cette molécule: différence de charge, solubilité plus faible.

##### **IV-2- EXAMEN GENETIQUE:**

Mise en évidence de la mutation par séquençage direct de l'ADN, soit par la technique de Southern blot, soit par différentes techniques permettant une identification rapide et simultanée chez plusieurs individus (exemple PCR, SNP).

#### **V- TRAITEMENTS:**

Il n'existe aucun traitement des causes pour cette maladie. C'est pourquoi l'essentiel de traitement consiste à la prise en charge des symptômes résultants des crises.

La transfusion simple reste le seul traitement d'urgence en cas d'anémie profonde. La greffe de moelle est réservée aux cas les plus graves. [14]

Cependant, les travaux publiés récemment par une équipe de recherche Franco-Américaine [14] viennent marquer une étape importante vers une thérapie génique chez des souris drépanocytaires. Cela consiste à transférer le gène thérapeutique (globine) dans les cellules souches hématopoïétiques des souris drépanocytaires et à l'intégrer dans l'ADN cellulaire. L'hémoglobine produite a une fonction normale et empêche également la formation des fibres d'HbS.

## **I- PATIENTS :**

Notre étude a été réalisée au niveau du secteur sanitaire du Taher, sur 28 patients, 18 internes et 10 externes âgés entre trois jours et 46 ans. Cette étude a duré quatre mois (Mai 2002 - Août 2002).

## **II- MATERIELS :**

### **II-1-MATERIEL EXPERIMENTAL :**

- Compteur (coulter counter).
- Microscope.
- Spectrophotomètre.
- Centrifugeuse (javan).
- Pipette réglable eppendorf.
- Bac à électrophorèse.
- Densimètre.
- Kit portoire et support avec tube.
- Applicateur à huit dents (Hélène).
- Bain-marie (clinicon).

### **II-2-VERREURIE :**

- Lames et lamelles.
- Eprouvette de 100 ml.
- Tubes à hémolyse.
- Pipettes.
- Cellule de Malassez.

### **II-3- REACTIFS:**

- Anticoagulant.
- Diluant (réactif A).
- Agent de nettoyage.
- Agent de lyse.
- Liquide de Hayems.

- Colorant de May Grundwold Giemsa.
- Huile de cèdre.
- Métabisulfite de sodium à 2 %.
- Vaseline.
- Bleue de crésyl brillant.
- Solution saline physiologique.
- Eau distillée.
- Tampon EDTA a pH = 8.2 - 8.6.
- Bandes d'acétate de cellulose.
- Papier absorbant.
- Réactifs hémolysant.
- Rouge de panceau.
- Acide acétique.
- Solution clarifiante.
- Méthanol.
- Réactif de Drabkin.

### **III- METHODES ET TECHNIQUES UTILISEES :**

#### **III-1-PRELEVEMENT DU SANG :**

Le sang est prélevé dans la veine au pli du bras à l'aide d'aiguille ou de seringue stérile, puis il est transvasé dans un tube hépariné ou contenant un anticoagulant spécifique EDTA .

#### **III-2-HEMOGRAMME :**

##### **III-2-1-Formule de la numération sanguine (F.N.S) :**

Ces analyses sont effectuées soit par la méthode classique, soit à l'aide d'un compteur qui effectue automatiquement les manipulations.

La numération des particules sanguines va permettre de déterminer :

- Le taux des globules rouges (GR).
- Le taux d'hémoglobine (Hb).
- L'hématocrite (Hte).
- Le volume globulaire moyen (VGM).



- La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

### III-2-2-Méthode Classique :

#### III-2-2-1-Taux des globules rouges :

##### A- Principe :

Il s'agit d'une technique basée sur le comptage des globules rouges au microscope, après dilution dans le liquide de Hayems (Lyse des GR).

##### B- Mode Opératoire:

- Diluer 0.02 ml du sang avec 1.4 ml de liquide de Hayems.
- Agiter pour mélanger.
- Déposer une goutte de sang dilué au centre d'un hématimètre (cellule de malassez).
- Appliquer une lamelle, attendre cinq minutes la sédimentation puis compter à l'objectif 40.
- Le nombre x de globules rouges par millimètre cube est donné par la formule suivante :

$$Nb GR / mm^3 = \bar{X}.10.200$$

Avec 200: facteur de dilution.

##### **\* Valeurs normales des globules rouges:**

- Homme..... 4.5 à 6.2.10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>.
- Femme ..... 4.0 à 5.4.10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>.
- Nouveau-né ..... 5.0 à 6.0.10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>.
- Enfant (1 an) ..... 3.6 à 5.0. 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>.

#### III-2-2-2- Taux d'hémoglobine:

##### A- principe:

Sous l'action du ferricyanure de potassium et du cyanure de potassium constituant le réactif de Drabkin, l'hémoglobine sanguine est transformée en cyanométhémoglobine de couleur rouge orange mesurable au spectrophotomètre.

**B- Mode opératoire:**

• On prélève 10 ml de sang et on les introduit dans 2.5 ml de solution de Drabkin. On mélange soigneusement et on attend au moins 3 minutes la lyse totale des globules rouges.

La lecture se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

**\* Valeurs normales du taux d'hémoglobine:**

- Homme.....13 à 18 g/100ml.
- Femme .....12 à 16 g/100ml.
- Enfant plus de 12 ans .....12 à 16 g/100ml.
- Nouveau-né .....14 à 20 g/100ml.

**III-2-2-3- L'hématocrite:**

**A- Principe:**

Il consiste à séparer les globules rouges du plasma et à faire le rapport du volume globulaire au volume sanguin total, exprimé en pourcentage (%).

**B- Mode Opératoire:**

- Prendre 3/4 du sang prélevé dans un tube capillaire.
- Centrifuger le sang à une vitesse de 10.000 tours/minute pendant 5 minutes.
- On obtient deux fractions:
  - \* Un culot cellulaire constitué essentiellement d'éléments figurés.
  - \* Un surnageant.
- La lecture se fait sur une échelle graduée de 0 à 100.
- Le nombre de graduations pour cent occupées par les éléments figurés correspond à l'hématocrite.

**\* Valeurs normales de l'hématocrite:**

- Homme..... 40 à 54 %.
- Femme .....35 à 47 %.
- Enfant (1 an) .....36 à 44 %.
- Nouveau né .....44 à 62 %.

**III-2-2-4- Volume globulaire moyen (VGM):**

Il permet d'apprécier le caractère normocytaire (hématies de taille normale), microcytaire (hématies de petite taille), macrocytaire (hématies de grande taille) d'une

population d'hématies.

· Le VGM est calculé comme suit:

$$VGM (\mu^3) = \frac{Hte}{Nb GR} \cdot 100$$

La norme se situe entre  $85 \mu^3$  et  $95 \mu^3$ . Au dessous de  $85 \mu^3$ , on parlera de microcytose, au dessus de  $95 \mu^3$  de macrocytose, dans la limite normale, de normocytose.

### III-2-2-5- Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH):

Elle permet d'apprécier le caractère normochrome (hématies de couleur normale) ou hypochrome (manque de couleur dans les hématies) d'une population d'hématies.

La CCMH est calculée de la manière suivante:

$$CCMH (\%) = \frac{Taux d'Hb}{Hte}$$

Le résultat normal est compris entre 32 et 36 %. Au dessus de 32 %, on parlera d'hypochromie, entre 32 et 36 % il s'agit de normochromie.

### III-2-3- Méthode automatique:

La numération des particules sanguines est réalisée automatiquement à l'aide d'un compteur, qui est un analyseur sanguin automatisé, pour échantillon de sang entier.

Les réactifs recommandés pour ce type d'appareil sont:

- Un diluant (réactif A).
- Un agent de nettoyage.
- Un agent de lyse (réactif C).
- La température des réactifs doit être d'environ 20°C.
- L'anticoagulant recommandé est  $Na_2$  EDTA ou  $K_3$  EDTA.

Le couteur permet de déterminer rapidement les taux suivants:

érythrocytes, hémoglobine, hématocrite, VGM, CCMH.

### Mode Opérateur:

L'analyse au compteur est complètement automatisée.

L'appareil aspire 100 ml du sang total prélevé sur EDTA, présenté dans un tube puis le sang est dilué automatiquement après lyse au 1/6 250ème pour érythrocytes et plaquettes, et au 1/251 pour leucocytes.

Le sang passe dans deux orifices de l'appareil:

- 1<sup>er</sup> orifice: pour le comptage des globules rouges et des plaquettes sanguines.
- 2<sup>ème</sup> orifice: pour la détermination du nombre de leucocytes et de taux d'hémoglobine par spectrophotométrie (mesure l'Hb: avec lyse par une solution qui libéré l'hémoglobine à une longueur d'onde de 525 nm.

Le résultat est converti en chiffres. Après trois lectures successives, l'appareil transmet une moyenne des trois lectures sur une imprimante qui récapitule les résultats sur une fiche.

### III-3- TEST DE FALCIFORMATION:

#### A- But et Principe:

Le test de falciformation ou test d'Emmel consiste à mettre les globules rouges dans un milieu anaérobie strict avec un réducteur (métabisulfite de sodium) pour voir la gélification de l'hémoglobine intra-érythrocytaire avec falciformation.

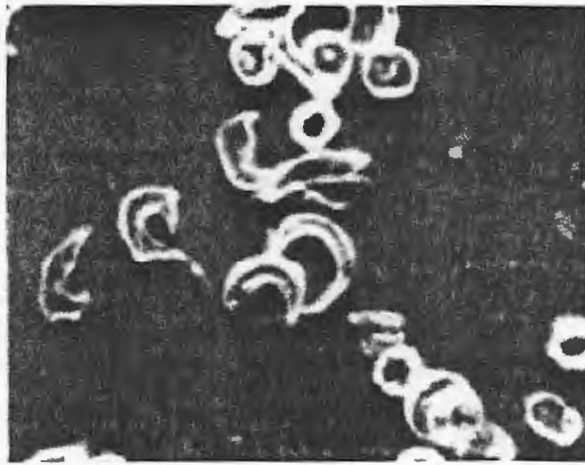
#### B- Mode Opérateur:

- Prélèvement du sang.
- Mélanger une goutte de métabisulfite de sodium à 2 % à une goutte de sang sur une lame.
- Couvrir avec une lamelle dont les bords sont obstrués avec de la vaseline.
- Examiner au microscope à l'objectif 40.
- Si le test est négatif pendant les 15 premières minutes, on répète la lecture après 2 heures puis après 24 heures.

#### **Résultats du Test:**

- **Test négatif:** les hématies gardent leur forme, malgré une absence d'O<sub>2</sub>.
- **Test positif:** les hématies prennent la forme d'une faucille.





**Figure n° 06: Résultats d'un test positif de falciformation**

#### **III-4- TEST DE SOLUBILITE:**

##### **A- Principe:**

L'hémoglobine S réduite par le tithionate de sodium précipite dans un tampon phosphate, seul l'hémoglobine "H" précipite dans les mêmes conditions mais celle-ci se différencie de l'hémoglobine S par sa mobilité électrophorétique sur acétate de cellulose à pH alcalin. Ce test est utilisé pour différencier l'hémoglobine homozygote d'une hémoglobine normale ou anormale.

**N.B:** Ce test ne se fait pas au laboratoire central de Taher par manque de réactif.

#### **III-5- FROTTIS SANGUIN :**

##### **A- But et Principe:**

Il permet d'étudier la morphologie des hématies et de vérifier les indices après coloration au May Grunwald Giemsa (MGG).

On peut déterminer différents types d'anomalies:

➤ De taille: les anisocytoses (variation de la taille des GR), microcytoses et macrocytoses.

➤ De couleur: hypochromie, polychromophilie (variation de la couleur des GR).

De forme: Poikilocytose (déformation d'une partie du GR en forme de

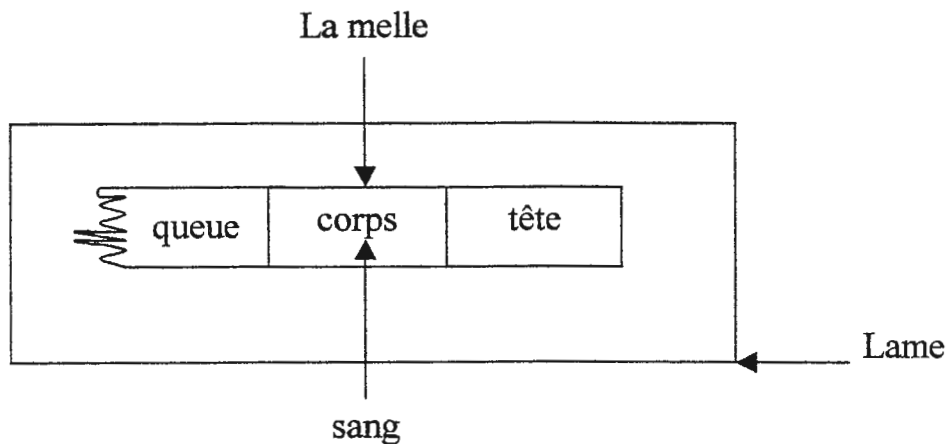
poire), globules rouges falciformes.

**B- Mode opératoire:**

- Faire un étalement d'une goutte de sang sur une lame, le frottis ne doit pas être trop mince, ni trop épais.
- Fixer et colorer au May Grunwald pendant 3 à 5 minutes.
- Laver le frottis à l'eau courante et laisser sécher à l'air ambiant.
- Colorer ensuite au Giesma dilué au 1/10 avec de l'eau distillée pendant 20 minutes pour le Giemsa rapide.
- Laver abondamment le frottis à l'eau courante.
- Observer au microscope à l'objectif 100 (à immersion).

Le frottis sanguin doit avoir:

- Une tête pour montrer la richesse en cellules.
- Un corps pour déterminer les différentes cellules.
- Une queue pour la morphologie et les anomalies des hématies.



**Figure n<sup>o</sup>07: Frottis sanguin**

### **III-6- ELECTROPHORESE D'HEMOGLOBINE SUR ACETATE DE**

#### **CELLULOSE A pH = 8,2 – 8,0:**

##### **A- But et Principe:**

L'électrophorèse sur acétate de cellulose est une technique généralement satisfaisante pour séparer les différentes fractions d'hémoglobine électrique.

Il s'agit d'une méthode d'analyse qui met à profit les différentes vitesses des particules chargées se déplaçant sous l'influence d'un champ électrique.

La vitesse de migration dépend de la charge du poids moléculaire et la composition des diverses hémoglobines en acides aminés.

Il est possible de distinguer par électrophorèse à pH alcalin (8,4), les différentes hémoglobines telles que: (HbA<sub>2</sub>, HbA<sub>1</sub>, HbF, S, C, .....etc).

##### **B- Mode Opérateur:**

###### **□ Prélèvement:**

On prélève le sang dans un tube contenant un anticoagulant spécifique (K<sub>3</sub> EDTA).

L'EDTA a l'avantage de maintenir la morphologie intacte des érythrocytes, leucocytes et plaquettes sanguines.

###### **□ Lavage:**

- Centrifuger l'échantillon du sang et éliminer le plasma.
- Laver les hématies 3 fois de suite à l'eau physiologique à l'aide d'une centrifugeuse pendant 5 minutes à 2000 tours/ minutes, jusqu'à obtention d'un surnageant bien clair.

###### **□ Préparation :**

Les hématies dépourvues de plasma, grâce aux lavages successifs avec de l'eau physiologique sont additionnées d'un réactif hémolysant.

Un volume d'hématies lavées plus trois volumes de solution d'hémolysant, vigoureusement et laisser agir 05 minutes.

###### **□ Manipulation :**

- Verser 50 ml de tampon dans chacun des compartiments de la chambre.
- Mouiller une mèche de papier par le tampon pour mettre en contact les deux compartiments.

- La chambre est prête à l'emploi mais elle doit être maintenue couverte jusqu'à utilisation.
- Immerger la bande de cellulose pendant 15 minutes dans un petit bac contenant la solution tamponnée.
- Avant de mouiller les bandes, elles sont identifiées.
- Faire sortir la plaque d'acétate de cellulose du tampon, la sécher contre deux buvards. Les plaquettes à puits doivent être remplies de 08 échantillons.
- Appliquer l'échantillon sur la bande.
- Placer rapidement la bande d'acétate de cellulose en bas de la chambre, en disposant l'application près de la cathode.
- Placer un poids sur la bande.
- Recouvrir la chambre afin d'éviter l'évaporation.
- Le courant s'arrête automatiquement à la fin du temps de migration.
- **Coloration :**  
Laver la bande dans trois bains successifs d'acide acétique à 5 % pendant 2 minutes pour chaque bain.
- **Fixation :**  
Tremper la bande dans un bain de méthanol pendant 5 minutes.
- **Clarification :**  
Plonger la bande entre 5 à 10 minutes dans un mélange composé de :
  - 71 ml de méthanol.
  - 25 ml d'acide acétique.
  - 04 ml de solution clarifiante.
- **Lecture :**  
Lire sur un densitomètre à 525 nm avec l'auto - scanner.



**Pour une bonne manipulation, il faut :**

- Contrôler le pH de la solution tampon avant tout emploi, il doit être de 8,6 à 9,2 pour favoriser la migration des particules d'hémoglobine.
- Les bandes acétate de cellulose doivent être délicatement trempées dans la solution tampon, car leur surface est constituée de 80 % d'espace d'air qui pourra, par défaut de manipulation, donner une surface non homogène gênant ainsi la migration.
- Pour la préparation de l'hémolysat, il faut de préférence recueillir le culot globulaire (laisser sédimenter le sang puis séparer le sérum) sur lequel seront ajoutés 6 volumes de réactif hémolysant.
- Au sein de la chambre de migration, se développe un dégagement de chaleur qui a pour effet l'évaporation du solvant. C'est pour quoi en y place des éponges mouillées et congelées.
- L'utilisation d'un contrôle normale ou pathologique est nécessaire pour une bonne interprétation des résultats.

## **IV- RESULTATS**

### **IV-1-RESULTATS DE L' ELECTROPHORESE ET DE L'HEMOGRAMME :**

Les résultats de l'électrophorèse et de l'hémogramme de l'hémoglobine durant la période expérimentale, sont donnés dans le tableau n°=IV.

Nous avons enregistré 64 patients dans la période étalée du 18 Mai 2002 au 20 Août 2002, parmi lesquels nous avons dénombré vingt-huit (28) cas positifs.

**Tableau n° IV : Résultats de l'électrophorèse et de l'hémogramme de l'hémoglobine. Résultats prélevés à l'hôpital de Taher du  
18 Mai au 20 Août 2002.**

N°	Sexe	Age	Hte (%)	Hb (g/dl)	GB (mm <sup>3</sup> )	GR (mm <sup>3</sup> )	VGM (μ <sup>3</sup> )	CCMH	T F	Frottis sanguin	Résultats d'électrophorèse	Observations
01	M	02 ans	24	8	6500	2 780 000	86	33,3	+	Amisopoikilocytose Macrocytose Cellules cibles Cellules en faucille	HbS → 99,0 % HbA <sub>2</sub> → trace	S/S
02	M	03 ans	16,8	5,6	7500	1 900 000	86,2	33,3	+	Hématies en faucille	HbF → 04,2 % HbS → 95,8 %	S/S
03	M	03 ans	24	8	12 000	2 780 000	86	33,3	+	Amisopoikilocytose Macrocytose Cellules cibles Cellules en faucille	HbS → 96,7 % HbA <sub>2</sub> → 03,3 %	S/S
04	M	38 ans	41	13	82 000	3 840 000	106	31,1	+	Anisocytose Macrocytose Cellules cibles	HbA <sub>1</sub> → 64,2 % HbS → 35,6 % HbA <sub>2</sub> → 01,2 %	A/S
05	M	20 ans	28	14	7 000	2 460 000	92	33,0	+	Amisopoikilocytose Cellules en faucille Macrocytose	HbS → 98,3 % HbA <sub>2</sub> → 01,7 %	S/S
06	M	23 ans	46	15	9 200	5 320 000	86	32,0	+	Macrocytose Normocyte	HbA <sub>1</sub> → 46,5 % HbS → 51,5 %	A/S

										Normochrome	HbA <sub>2</sub> → 02,0 %	
07	M	07 ans	24	8	7 200	4 800 000	50	32,0	+	Amisopoikilocytose Macrocytose Anisocytose hypochromie	HbA <sub>1</sub> → 41,5 % HbS → 51,5 % HbA <sub>2</sub> → 04,0 %	A/S
08	M	48 ans	33	11	8 000	4 500 000	87	30,6	+	Anisocytose Macrocytose Microcytose Cellules cibles Poikilocytose Hypochrome	HbA <sub>1</sub> → 50,0 % HbS → 49,0 % HbA <sub>2</sub> → 01,0 %	A/S
09	M	35 ans	33	11,5	7 600	3 600 000	92	35	+	Erythroblastose Hématies en faucille	HbA <sub>1</sub> → 57,61% HbS → 28,80% HbA <sub>2</sub> → 13,59 %	A/S
10	M	09	30	8,6	7 600	4 000 000	75	28,3		microcytose	HbA <sub>1</sub> → 70,0 % HbF → 25,0 % HbA <sub>2</sub> → 05 %	S/B
11	M	35	21,9	8,7	19 300	1 800 000	116	39,7	+	Amisopoikilocytose	HbS → 100 %	S/S
12	M	58	25	8,4	7 600	3 600 000	90,1	35	+	Hématies en	HbA <sub>1</sub> → 57,6 %	A/S

										faucille	HbS → 39,8 % HbA <sub>2</sub> → 02,6 %	
13	M	30	19	5,9	8 200	2 200 000	86	31	+	Hématies en faucille Amisopoikilocytose	HbA <sub>1</sub> → 42,4 % HbS → 54,0 % HbA <sub>2</sub> → 03,6 %	A/S
14	F	08	28	10,5	8 400	2 400 000	90,5	32,9	+	Hématies en faucille Amisopoikilocytose	HbS → 98,0 % HbA <sub>2</sub> → 02,0 %	S/S
15	F	31	20	7,7	6 100	2 400 000	83	38	+	Hématies en faucille	HbA <sub>1</sub> → 64,0 % HbS → 34,0 % HbF → 02,0 %	A/S
16	F	19	28	9	5 500	3 400 000	82	32	+	Cellules en faucille	HbA <sub>1</sub> → 49,0 % HbS → 50,0 % HbA <sub>2</sub> → 01,0 %	A/S
17	F	29	47	15,3	9 500	5 000 000	94	32,55	+	Érythroblastose Hématies en faucille	HbA <sub>1</sub> → 57,6 % HbS → 28,8 % HbA <sub>2</sub> → 13,59 %	A/S

18	F	20	19	8	12 600	1 660 000	114	30	+	Presence des cellules cibles, macrocytose Cellule en faucille avec hypochromie	HbS → 96,8 % HbA <sub>2</sub> → 3,2 %	S/S
19	F	6	21	6	6 600	2 600 000	69,2	28,5	+	Cellules en faucilles Poikilocytose microcytose	HbS → 100 %	S/S
20	F	50	36	12	8 000	4 000 000	90	33	-	Presence des hématies en cible	HbA <sub>1</sub> → 56,0 % HbC → 44,0 %	S/C
21	F	08	20	9	5 000	3 200 000	86	36	+	Macrocytose, anisocytose	HbA <sub>1</sub> → 58,7 % HbS → 40,3 % HbA <sub>2</sub> → 01,0 %	A/S
22	F	50	22	7,2	7 400	2 400 000	91,66	32,6		Cellules en faucilles polychromatophilie	HbS → 92,0 % HbA <sub>1</sub> → 08,0 %	A/S
23	F	13	29	9,3	5 400	3 900 000	87,6	30,2	+	érythroplastose Astose – hématies en faucilles	HbA <sub>1</sub> → 50,8 % HbS → 49,2 %	A/S

24	F	24	21	12	7 600	2 400 000	87	36	+	Anisocytose Macrocytose poikilocytose	HbA <sub>1</sub> → 56,1 % HbS → 42,4 % HbA <sub>2</sub> → 01,5 %	A/S
25	F	16	21	6	6 600	2 600 000	69,2	28,5	+	Microcytose Hématies en faucilles	HbF → 21,5 % HbS → 78,5 %	S/B <sup>+</sup>
26	F	19	31	10	7 400	3 280 000	96	32	+	Anisopoikilocytose Microcytose, cellules cibles	HbS → 46,5 % HbC → 53,5 %	S/C
27	F	09	11	3,7	12 600	1 200 000	91,6	33,63	+	Amisopoikilocytose polychromatolo- philie Hématies en faucile	HbF → 21,5 % HbS → 78,5 %	S/S
28	F	08	36	12	8 200	4 100 000	87	33,30	+	Cellules cibles Anisocytose macrocytose	HbA <sub>1</sub> → 64,7 % HbS → 35,2 % HbA <sub>2</sub> → trace	A/S

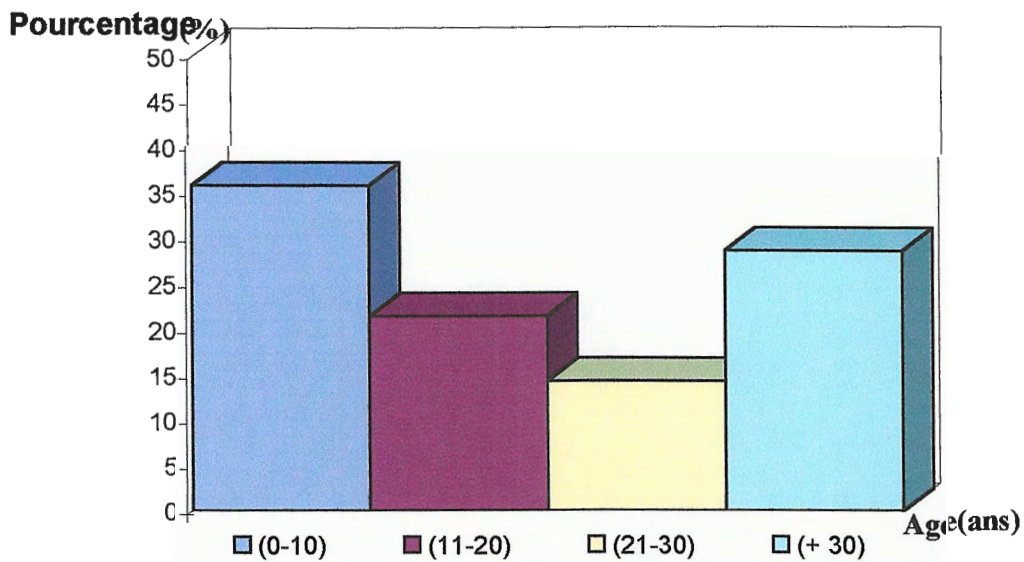
**IV-2 -REPARTITION DE LA DREPANOCYTOSE :**

**IV -2 -1 -Selon l'âge :**

La répartition de la drépanocytose selon l'âge est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau n°V: Répartition de la drépanocytose selon l'âge durant la période du 18 Mai au 20 Août 2002.**

Age	0 - 10	11 - 20	21 - 30	+ 31	Total
Nombre (Nbr)	10	6	4	8	28
Pourcentage (%)	35,71	21,42	14,28	28,57	100 %



**Histogramme n° 01 : Répartition de la drépanocytose selon l'âge .**



D'après le tableau n°V, on remarque que parmi les 28 sujets malades, la drépanocytose touche 35,71 % des individus âgés moins de dix ans. Pour cette tranche d'âge, la drépanocytose homozygote (S/S) est l'affection la plus répandue.

La seconde catégorie de malades âgés de 11 à 20 ans présente une proportion de 21,42 %, avec les mêmes proportions de drépanocytose hétérozygote ou homozygote.

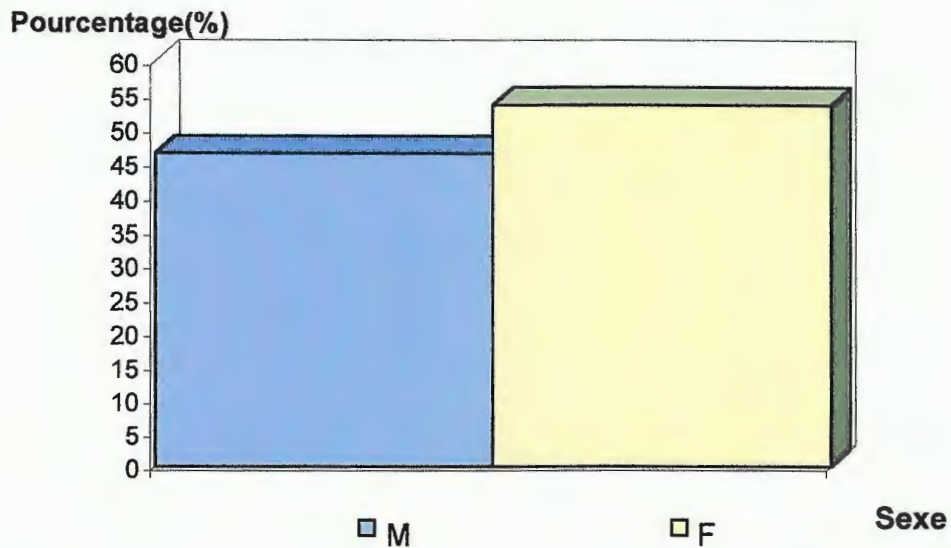
Par ailleurs, la tranche d'âge entre 21 à 30 ans est la moins affectée, avec une proportion de 14,28 %. Dans cette catégorie de malades, la maladie la plus courante étant la drépanocytose hétérozygote (A/S).

Enfin, 28,75 % des cas drépanocytaires sont des sujets âgés de plus de 32 ans, avec une proportion assez importante de la drépanocytose hétérozygote.

**IV -2 -2 -Selon le sexe :**

**Tableau n°VI : Répartition de la drépanocytose selon le sexe durant la période du 18 Mai au 20 Août 2002.**

Sexe	Masculin	Féminin	Total
<b>Nombre (Nbr)</b>	13	15	28
<b>Pourcentage (%)</b>	46,42	53,57	100 %



**Histogramme n° (02): Répartition de la drépanocytose selon le sexe .**

D'après le tableau n°VI , on remarque que 15 malades sont du sexe féminin, soit 53,57% du total, est 13 sont du sexe masculin, soit 46,42 %. Ceci montre que les hémoglobinopathies sont légèrement supérieurs chez la femme, dans la région d'étude.

**IV -2.Selon le type de l'hémoglobinoase :**

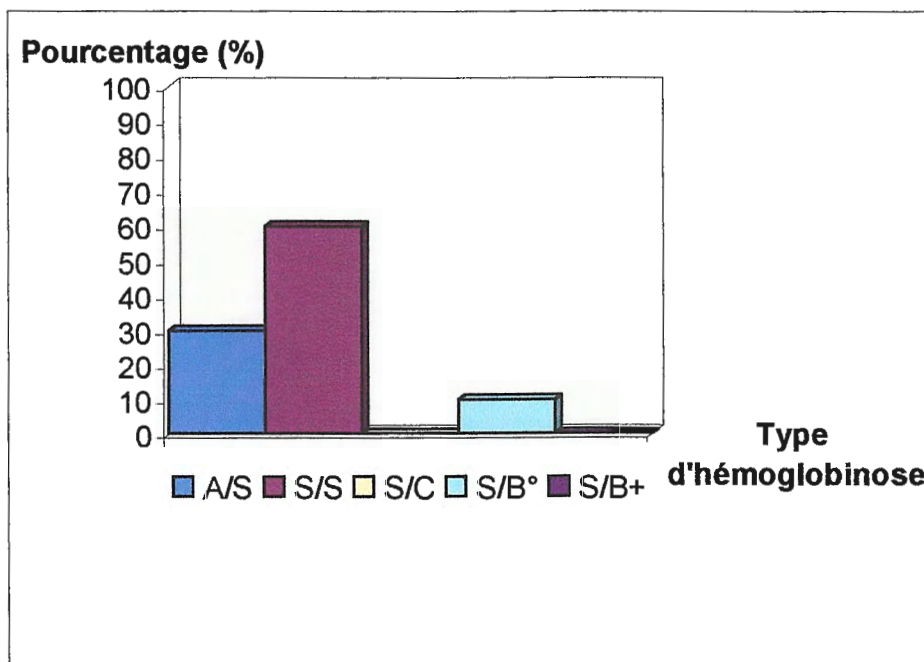
**A - Tranche d'âge de 0 -10 ans :**

**Tableau n°VII : Répartition de la drépanocytose selon le type d'hémoglobinoase pour la tranche d'âge 0 -10 ans durant la période du 18 Mai au 20 Août.**

Type d'Hb	A/S	S/S	S/C	S/B°	S/B <sup>+</sup>
Nombre	03	06	00	01	00
Pourcentage (%)	30 %	60 %	00 %	10 %	00 %

D'après le tableau n°VII, pour les patients de la tranche d'âge de 0 à 10 ans, on remarque que, parmi les différents types d'hémoglobinopathies, la drépanocytose homozygote (S/S) occupe la première place avec une importante proportion (60 %) et que la drépanocytose hétérozygote (A/S) arrive en deuxième position avec un taux de 30 % tandis que la drépanocytose (S/B°) thalassémie vient en troisième place avec un taux de 10 %. Aucun cas d'anomalie drépanocytaire de type S/C ou S/B<sup>+</sup> n'a cependant été détecté au sein de cette catégorie d'âge.

A partir du même tableau, on peut par ailleurs constater que les deux sexes féminin et masculin sont de même proportion pour cette tranche d'âge.



**Histogramme n03 : Répartition de la drépanocytose selon le type d'hémoglobine pour la tranche d'âge de 0 à 10 ans.**

A/S: drépanocytose hétérozygote

S/S: drépanozygote homozygote

S/B° : drépanocytose -B thalassémie mineure

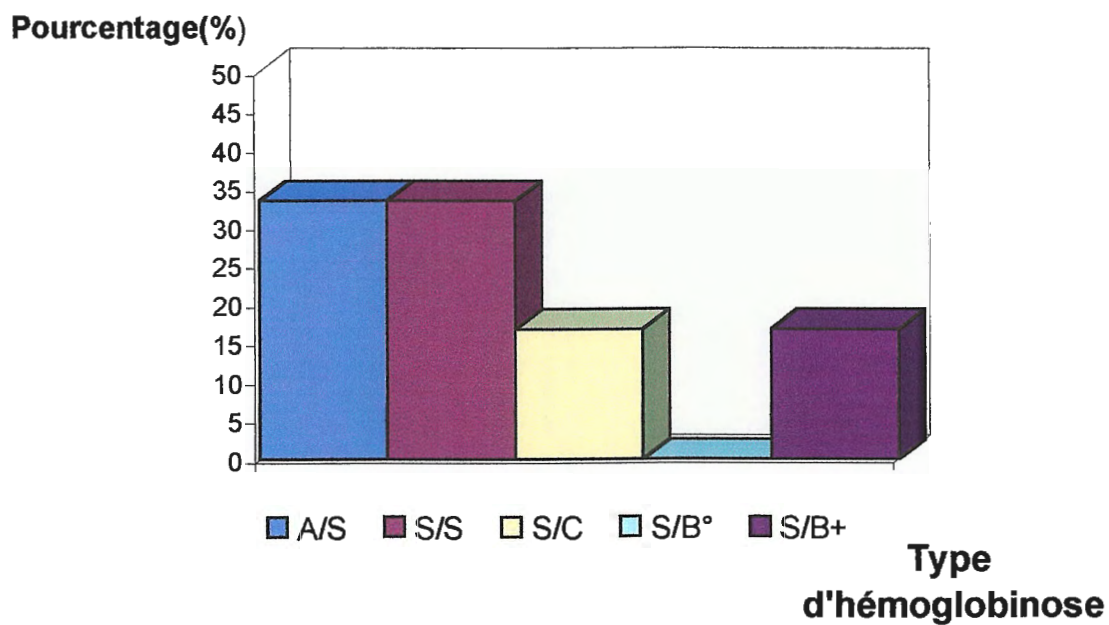
S/B<sup>+</sup> : drépanocytose -B thalassémie majeure

S/C : drépanocytose double hétérozygote

**B -Tranche d'âge de 11 - 20 ans :**

**Tableau n°VIII : Répartition de la drépanocytose selon le type d'hémoglobinopathie pour la tranche d'âge 11 - 20 ans durant la période du 18 Mai -20 Août.**

Type d'Hb	A/S	S/S	S/C	S/B°	S/B <sup>+</sup>
<b>Nombre</b>	02	02	01	00	01
<b>pourcentage (%)</b>	33,33	33,33	16,66	00,00	16,66



**Histogramme n°04: Répartition de la drépanocytose selon le type d'hémoglobino-se pour la tranche d'âge de 11 à 20 ans.**

Pour ce lot de 11 à 20 ans, on peut se rendre compte que la drépanocytose hétérozygote (A/S) et la drépanocytose homozygote (S/S) sont de même proportion (33,33 %). Puis vient la double hétérozygote et (S/B<sup>+</sup>) thalassémie majeure avec la même proportion (16,66 %).

Parmi l'ensemble de malades, on constate que le sexe féminin était plus affecté (83,33 %) que le sexe masculin (16,66 %).

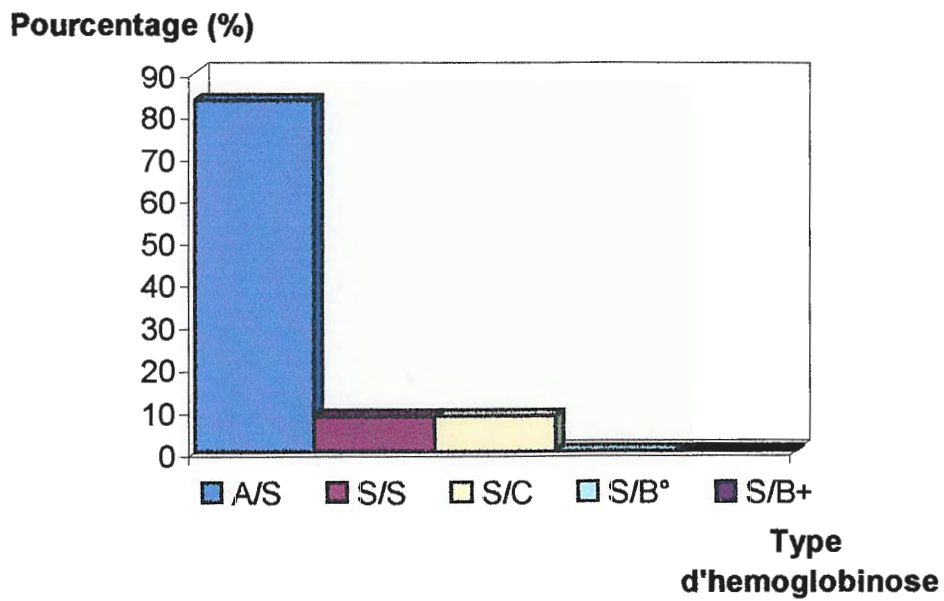
**C - Tranche d'âge de plus de 21 ans :**

**Tableau n°IX : Répartition de la drépanocytose selon le type de l'hémoglobino-  
se pour la tranche d'âge de plus de 21 ans.**

Type d'Hb	A/S	S/S	S/C	S/B <sup>o</sup>	S/B <sup>+</sup>
Nombre	10	01	01	00	00
pourcentage (%)	83,33	08,33	08,33	00,00	00,00

Il apparaît de ce tableau que l'affection la plus rencontrée est la drépanocytose hétérozygote (A/S) avec un taux de 83,33 %, puis vient la drépanocytose homozygote (S/S) et double hétérozygote (S/C) avec des proportions identiques (8,33 %).

Parmis l'ensemble des malades, on constate que le sexe masculin est plus affecté (58,33 %) que le sexe féminin (41,66 %).



**Histogramme n°05 : Répartition de la drépanocytose selon le type d'hémoglobinoses pour la tranche d'âge de plus de 21 ans.**

### IV-3-TRANSMISSION HEREDITAIRE :

A l'aide d'une enquête familiale, on peut déceler la transmission héréditaire avec son volume dans la famille.

L'enquête familiale s'effectue après la remise des résultats d'électrophorèse d'hémoglobines.

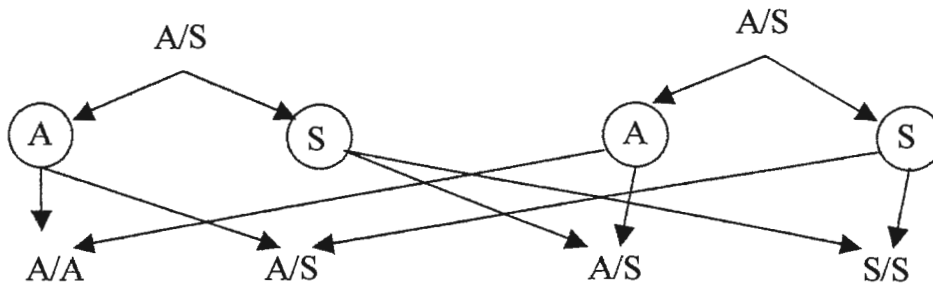
D'après l'importance et la fréquence de la drépanocytose, que ce soit homozygote ou hétérozygote, on a basé notre étude sur trois enquêtes au choix :

#### Première enquête : cas n°19: le malade est une fille (06 ans)

(originaire: Taher).

	Sujet	Age	Résultats
<b>Le couple</b>	Le père	40 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 60 % HbS = 38 % HbA <sub>2</sub> = 02 %
	La mère	35 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 58,3 % HbS = 41,7 % HbA <sub>2</sub> = 00 %
<b>Nombre d'enfants (04)</b>	1 <sup>er</sup> garçon	16 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 64 % HbS = 34 % HbA <sub>2</sub> = 02 %
	2 <sup>eme</sup> garçon	13 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 65,4 % HbS = 34,6 % HbA <sub>2</sub> = traces
	3 <sup>eme</sup> garçon	09 ans	Sujet normal
	4 <sup>eme</sup> fille	06 ans	Drépanocytaire homozygote (S/S) HbS = 100 %

Les deux parents sont porteurs du trait drépanocytaire.



**Commentaire :**

- Le couple est drépanocytaire hétérozygote.
- Deux enfants atteints de drépanocytose hétérozygote.
- Un enfant atteint de drépanocytose homozygote.
- Un seul enfant sain (sujet normal).

Donc, le taux de la transmission héréditaire :

- 1/4 S/S → 25 % sujets malades.
- 1/4 A/A → 25 % sujets sains.
- 1/2 A/S → 50 % sujets atteints.

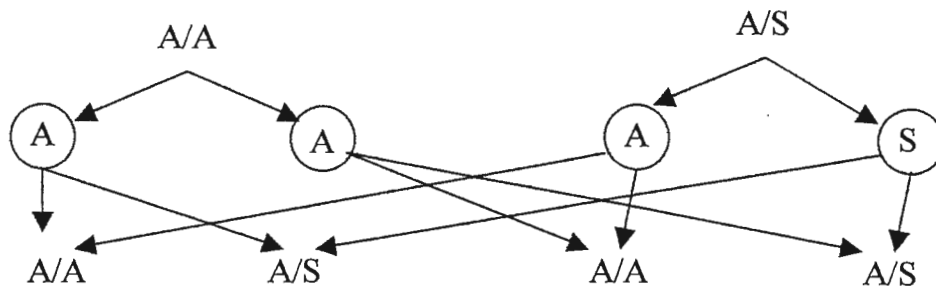
**Deuxième enquête : Cas n°24: le malade est une femme (24 ans)**

**(Originaire: Taher).**

	Sujet	Age	Résultats
<b>Le couple</b>	Le père	30 ans	Sujet normal
	La mère	24 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 56,1 % HbS = 42,4 % HbA <sub>2</sub> = 1,5 %
<b>Nombre d'enfants (03)</b>	1 <sup>ère</sup> fille	5 ans	Sujet normal
	2 <sup>ème</sup> fille	3 ans	Sujet normal
	3 <sup>ème</sup> fille	1 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 30 % HbS = 10 % HbF = 60 %



L'un des parents est sain, l'autre est porteur du trait drépanocytaire.



**Commentaire:**

- Seulement la mère qui est drépanocytaire hétérozygote.
- Deux enfants sains.
- Un enfant atteint de la drépanocytose hétérozygote.

Le taux de la transmission héréditaire:

1/2 A/A —————> 50 % sujets sains.

1/2 A/S —————> 50 % sujets atteints.

Dans notre cas: 67 % sujets sains.

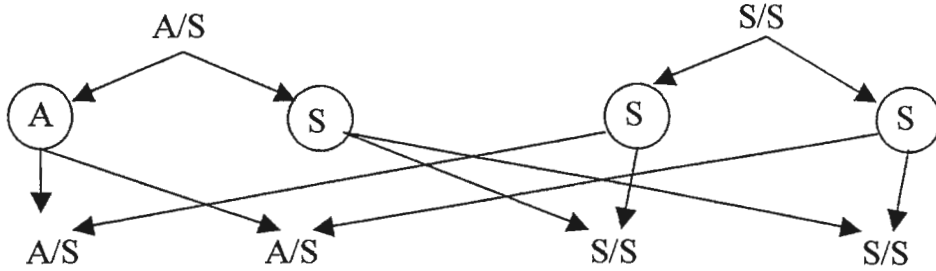
33 % sujets atteints.

**Troisième enquête : Cas n°11: le malade est une fille (09 ans)**

**(Originaire: Taher).**

	Sujet	Age	Résultats
<b>Le couple</b>	Le père	35 ans	Drépanocytaire homozygote (S/S) HbS = 100 %
	La mère	31 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 64 % HbS = 35 % HbA <sub>2</sub> = 1 %
<b>Nombre d'enfants (02)</b>	1 <sup>ere</sup> garçon	12 ans	Drépanocytaire hétérozygote (A/S) HbA <sub>1</sub> = 65 % HbS = 34,7 % HbA <sub>2</sub> = traces
	2 <sup>eme</sup> fille	9 ans	Drépanocytaire homozygote (S/S) HbS = 98,4 % HbA <sub>2</sub> = 1,6 %

L'un des parents est homozygote, l'autre porteur du trait drépanocytaire.



**Commentaire:**

- Le père est drépanocytaire homozygote.
- La mère est drépanocytaire hétérozygote.
- L'un des enfants est drépanocytaire hétérozygote.
- L'autre est drépanocytaire homozygote.

Le taux de la transmission héréditaire:

1/2 A/S —————> 50 % sujets atteints.

1/2 S/S —————> 50 % sujets malades.

**IV-4- COMPARAISON DES RESULTATS:****Tableau n°X : Comparaison des résultats entre l'année 2001 et 2002:**

	<b>2001</b>	<b>2002</b>
<b>Nombre de malades</b>	13	28
<b>Sexe masculin</b>	06	13
<b>Sexe féminin</b>	07	15
<b>0 à 10 ans</b>	05	10
<b>11 à 20 ans</b>	05	06
<b>21 à 30 ans</b>	03	04
<b>&gt; 32 ans</b>	00	08
<b>Résultats les plus fréquents</b>	A/S	A/S

D'après le tableau n° X, on constate que le nombre des malades est plus important pour l'année 2002 (28 malades) par rapport à celui de l'année 2001 (13 malades), pour une même période de travail. Le sexe féminin est par ailleurs le plus atteint durant les deux années.

On remarque également que la tranche d'âge de 0 à 10 ans est la plus affectée pour les deux années.

Les résultats montrent aussi que la drépanocytose hétérozygote A/S est la plus fréquente.

## **V-DISCUSSION:**

La drépanocytose, maladie héréditaire très fréquente autour du bassin méditerranéen, elle est identifiée par plusieurs méthodes (Classiques ou automatisées), ainsi que par des tests spécifiques permettant de diagnostiquer facilement les hémoglobinopathies.

L'hémogramme, les frottis sanguins, le test de falciformation et la détermination du taux de réticulocytes apparaissent d'une importance primordiale dans le diagnostic biologique des anomalies drépanocytaires. A cela s'ajoute l'électrophorèse de l'hémoglobine sur acétate de cellulose qui reste un examen clé, largement employé dans tous les services d'analyses médicales pour une détection simple des différentes fractions d'hémoglobine. Ces techniques sont utilisées dans le but de dépister les foyers de la drépanocytose dans différentes régions et de permettre ainsi une meilleure prise en charge des sujets qui en souffrent.

L'interprétation des résultats de l'électrophorèse d'hémoglobine repose sur les principes suivants :

- a) L'existence d'une hémoglobine anormale (S, C, E, ou autres) traduit forcément une anomalie qualitative.
- b) L'existence simultanée d'HbS et HbA<sub>1</sub> (hémoglobine A/S) caractérise la drépanocytose hétérozygote. Les homozygotes auront au contraire une absence totale d'HbA<sub>1</sub> (hémoglobine S/S). Deux hémoglobines anormales peuvent coexister (exemple hémoglobinoïde S/C) mais, dans de ce cas, il n'y a pas du tout hémoglobine A<sub>2</sub>.
- c) L'association d'une anomalie qualitative d'Hb et d'une anomalie quantitative (thalassémie) entraînera des modifications complexes d'électrophorèse.

Donc l'électrophorèse est un examen qui est très souvent prescrit par excès en dehors des enquêtes systématiques à la recherche d'Hb anormale. Le diagnostic de l'électrophorèse n'est justifié que devant une anémie hémolytique, si seulement s'il y a :

- Des drépanocytes spontanés sur le frottis.
- Une grande hypochromie ou des cellules cibles sur le frottis.

Notre travail, qui s'est étalé sur la période du 18 Mai au 20 Août 2002, a permis de montrer que la région de Taher est aussi atteinte de cette anomalie avec des

proportions alarmantes nécessitant des mesures urgentes de dépistage et de prise en charge. Dans la région de Taher, la drépanocytose de type hétérozygote s'est avéré d'une fréquence élevée par rapport à d'autres types drépanocytaires. Il est important d'indiquer quelques cas d'associations, drépanocytose -B-thalassémie ou drépanocytose - hémoglobino-C qui sont favorisés par la pratique des mariages consanguins. Dans tous les cas, la prévention est fondamentale mais difficile à mettre en oeuvre dans ce genre de pathologie.

Il apparaît d'autre part que l'anomalie concerne aussi bien les femmes que les hommes avec des proportions très proches, 53,57 % féminin et 46,42 % masculin. D'autre part, on constate que la tranche d'âge la plus affectée est celle de 0 à 10 ans (35,71 %), c'est-à-dire que les enfants sont les plus exposés à cette maladie.

D'après les résultats obtenus à partir des trois enquêtes familiales, on peut dire que la drépanocytose est une maladie héréditaire dont la transmission est du mode génétique autosomique récessif, qui se transmet conjointement par le père et la mère, et concerne aussi bien les filles que les garçons.

Avec une simple analyse génotypique des différents croisements, on s'aperçoit aisément pour qu'un enfant soit malade, il faut que ses parents soient porteurs du gène de la drépanocytose (S) et qu'il ait hérité des gènes drépanocytaires de chacun de ses parents.

Par ailleurs, on peut remarqué, à partir du tableau n°X. de la comparaison des résultats entre l'année 2001 (13 malades) et l'année 2002 ( 28 malades), que le taux des malades est en nette augmentation.

Ces résultats est en concordance avec ceux réalisés au niveau de l'hôpital DORBAN (Annaba), par des étudiants de fin d'étude, et ce pour une même période de travail [10], ce qui confirme que la drépanocytose à une aire de répartition très vaste, au moins dans les régions Est de l'Algérie, et que la maladie sévit avec une fréquence qui ne cesse d'augmenter d'une manière évolutive, d'une année à une autre.

Cela suppose donc une stratégie de prise en charge totale des malades ainsi que le maintien d'actes de soutien aux familles concernées par ce fléau afin de lutter contre l'évolution de cette anomalie au sein des autres populations encore saines.

Face à cette maladie dangereuse, beaucoup de suggestions et de propositions

doivent être prises en considération, à savoir :

- Eviter les mariages entre les hétérozygotes, au moins déconseiller les grossesses dans les couples hétérozygotes.
- L'enquête familiale est essentielle aux malades venant à l'hôpital dans le cadre d'un dépistage de ces hémoglobinopathies.
- Il faut faire un groupage et phénotyper tous les hémoglobinopathes donnant du sang sous forme de culôt globulaire, de préférence, pour éviter l'immunisation des malades aux antigènes érythrocytaires.
- Création d'une association des hémoglobinopathes qui s'en charge dans un but éducatif, et travaille en collaboration avec les associations de donneurs du sang au niveau de la wilaya.
- Prise en charge des hémoglobinopathes par l'Etat.

*Conclusion  
Générale*

## **VI- CONCLUSION :**

La drépanocytose est une maladie hémolytique chronique, touchant les globules rouges du sang en induisant la formation d'une protéine d'Hb anormale capable de détruire les globules rouges.

Elle affecte les deux sexes et se manifeste seulement lorsqu'on hérite de deux exemplaires du gène muté. Les personnes n'en possédant qu'un seul sont en bonne santé.

La drépanocytose touche chaque année 300 000 nouveaux enfants dans le monde et pose de ce fait un véritable problème de santé publique mondiale.

Actuellement, plusieurs techniques sont utilisées au niveau des laboratoires spécialisés permettant un diagnostic fiable de la maladie. L'électrophorèse, simple technique de routine pratiquée au niveau des laboratoires médicaux bien qu'elle ne permette pas de mettre en évidence tous les types drépanocytaires, elle nous a servi d'outil efficace pour doser avec précision l'HbS.

Outre les moyens de dépistage très sophistiqués, effectués à l'échelle moléculaire telles que les techniques d'hybridation moléculaire qui cherchent directement anomalie au niveau du gène au lieu de chercher l'anomalie au niveau de la protéine, doit s'ajouter le rôle des associations et les structures indispensables à la prise en charge des malades.

Les programmes de prévention par le dépistage prénatal sont en effet des moyens efficaces pour permettre aux couples à risque pour les hémoglobinopathies d'avoir uniquement des enfants indemnes.

Par ailleurs, des progrès concernant le diagnostic prénatal sur les cellules embryonnaires circulant dans le sang maternel pourraient permettre dans un futur proche de s'affranchir des contraintes et des risques des prélèvements foetaux et d'offrir de nouvelles alternatives aux familles opposées à l'interruption de grossesses. Nous espérons enfin que ces techniques de dépistage génétique soient introduites dans nos laboratoires médicaux afin de mieux comprendre cette anomalie encore incurable, et établir un diagnostic plus fiable. Notre pays est alors interpellé à répondre par la création de centres capables de promouvoir les recherches dans ce domaine.



## **BIBLIOGRAPHIE**

- 1- BELHANI M, (1989). "Hématologie", Tome 1. Office des publications universitaire (OPU). Page : 15.
- 2- BERNARD J, (1981). "Abrégés d'hématologie" ; Edition Masson, Paris. pp :61.
- 3- BERNARD J, (1990). "Abrégés d'hématologie" ; 7<sup>ème</sup> = édition. pp :49 – 51.
- 4-BOREL J, CARON J, CHANARD J, GAUGEON J, LEUTNEGGER M, MAQUART F, PORTRON, (1984). "Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie". pp :144 – 154.
- 5- BOUZID K, BELABAS S ET SMAILI F, (1993). "Hématologie S<sub>4</sub> clinique", Tome 1. pp :47 – 48.
- 6- ERIC S ET BELON JP, (1999). "Hématologie". Office des publications universitaire. pp :25.
- 7-FERRAH M.R, (1994). "L'étude des hémoglobinoses anormales, l'électrophorèse de l'hémoglobine, les tests complémentaires". Mémoire de fin d'étude DEUA. Institut de biologie, Université de Annaba. pp : 30.
- 8- GALACTEROS F, BOUZARD Y, (1989). "Hématologie". Flammarion Sciences. pp :269-274.
- 9- MAXWELLEN W. «Hématologie clinique».vol 6. Piccin.pp :945.
- 10-MAIZI A, KHACHA I, (2001) "Contribution à l'étude des drépanocytoses" Mémoire de fin d'étude DEUA, faculté des sciences, université d'Annaba. pp: 35
- 11- SMAILI F, (1999). «Abrégés d'hématologie». Office des publications universitaires, Alger. pp :32.
- 12- UNIVERSITE D'ALGER. Institut des sciences médicales, (1980). «Eléments d'hématologie».2<sup>ème</sup> édition, N°=76.pp:19 – 28.
- 13- WAJCMAN H, BRIGITTE L, ROBERT G, (1992). «Les Maladies des globules rouges».Edition Iserm, Paris. pp :31.

14- INTERNET:

«<http://www.IM3.Inesm.Fr/Campus/i/dossier.html>»

«<http://www.IM3.Insem.Fr/hémoglobine>»

«<http://www.Pediadol.09/Lettre ped/drepano.html>».

«<http://www.Primadoctor.com/globalnews media.html>»

«<http://www.arrachosia.univ-lille2.Fr/recherché/labos/hemato/drepanotextre.html>».

**Présenté par:**  
DJENHIA Wided  
LATMANE Latifa

**Thème:**  
Contribution à l'étude électrophorétique et statistique  
d'une hémoglobinopathie humaine ( Drépanocytose)

**Résumé:**

Notre étude a été portée sur une anomalie héréditaire grave qui touche à l'origine les populations du pourtour méditerranéen, il s'agit de la drépanocytose.

La technique de l'électrophorèse reste le seul moyen de diagnostic efficace, appliqué à la détection rapide de certaines anomalies drépanocytaires, cette technique nous a permis de dépister aisément plusieurs cas drépanocytaires au niveau de l'hôpital de Taher, ce qui nous a permis de déterminer son ampleur dans cette région. Notre étude statistique appuyée sur une enquête familiale a montré que cette anomalie affecte une large catégorie de personnes des deux sexes.

Ainsi, dans une population de (28) malades, on a trouvé un pourcentage de (53,57 %) pour l'année 2002, ont une drépanocytose de type hétérozygote.

Aussi, les enfants dont la tranche d'âge varie entre un ans et dix ans sont les plus exposés à ce type d'anomalie drépanocytair, avec (35,71 %) sur l'effectif total.

**Summary:**

Our survey has been carried on a serious hereditary anomaly that touches to the origin populations of the Mediterranean partour, it is about the drépanocytose.

The technique of the électrophorèse remains the only middle of efficient diagnosis, applied to the fast detection of certain anomalies drépanocytaireses, this technique permitted us to track down several cases drépanocytaireses comfortably to the level of the hospital of Taher, what permitted us to determine his/her/its ampleness in this region. Our statistical survey pushed on a domestic investigation showed that this anomaly affects a large category of two sex people.

Thus, in a population of (28) sick, one found a percentage of (53,57%) for the year 2002, have a drépanocytose of type hétérozygote.

Also, children of which the slice of age varies between one years and ten years, the more expositions to this type of anomaly drépanocytair, with (35,71%) on the total strength.

**ملخص:**

إن الدراسة المقدمة تعالج تشوه وراثي خطير، يصيب سكان البحر الأبيض المتوسط يتمثل في مرض فقر الدم المنجلي.

تبقى تقنيات الهجرة في المجال الكهربائي الوسيلة الوحيدة للتشخيص السريع لبعض تشوهات فقر الدم المنجلي، هذه التقنية سمحت لنا بدراسة عدة حالات بمستشفى الطاهير. مما سمح لنا بتحديد مدى انتشارها. هذا البحث المعتمد على دراسة إحصائية لبعض العائلات بين أن هذه التشوهات تلمس فئة كبيرة من الجنسين.

إن دراسة عينة سكانية تتكون من 28 مصاب سمحت لنا بتشخيص نسبة 53.57% لسنة 2002 مصابون بفقر الدم المنجلي من النوع الهجين.

كذلك الأطفال التي تتراوح أعمارهم بين سنة و عشر سنوات هم الأكثر تعرضا لهذا النوع من المرض بنسبة 35.71% من النسبة الكلية.

**Mots clés :** Drépanocytose, Electrophorèse, Hémoglobine, Sang, Biochimie

**Encadré par :**

Mr : HEMISSI Almed