

REPUBLIQUE ALGERIENNE
DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية
الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي
و البحث العلمي

CENTRE UNIVERSITAIRE DE JIJEL
INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE
DEPARTEMENT BIOCHIMIE

المركز الجامعي - جيجل -
معهد العلوم الطبيعية
دائرة الكيمياء الحيوية

MEMOIRE :

De fin d'études en vue de l'obtention de diplôme
d'études Supérieur en biologie moléculaire et cellulaire

OPTION: BIOCHIMIE

THEME:

03/03

**L'INTÊRET DE L'ELECTROPHORESE
DE L'HEMOGLOBINE DANS LE DIAGNOSTIQUE
BIOLOGIQUE DE LA DREPANOCYTOSE**

Jury composé par :

Présenté par :

Président : HENDIS M^{ed} ESSADEK

BOUDAB Louiza

Examineur : LEGHOUCHI ESSAÏD

BOUREKOUA Saïda

Encadreur : MAIZA M'HAMED

FADEL Radia

N°d'ordre :

Promotion : 2000/2001



بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

"...ربہ اوز غنی ان اشکر نعمتک الّتی أنعمت علیّ
وعلیّ والحبیب وأن أعمل صالحا ترضاه (15) " الأعمش

صدق الله العظيم

وقال رسول الله صلى الله عليه وسلم:

" من سلك طريقا يبتيغي فيه علما سهل الله له
طريقا إلى الجنة وإن الملائكة لتضع أجنحتها لطالب
العلم رضا بما يصنع "

حديث شريف

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mr. MAIZA M'hamed, d'avoir accepté de diriger ce travail; vos critiques ainsi que vos conseils nous ont permis de trouver constamment l'aide dont nous avons besoins.

Veillez trouver dans ce mémoire le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Nous remercions également Mr. LAHOUEL Mesbah, Mr. BOUSSOUF Nabil pour son aide en pratique.

Aussi nous remercions tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin lors de la réalisation de ce mémoire.

Saida, Radia, Louiza

PLAN

Introduction générale (préface) :	1
I- l'électrophorèse	
A. Généralité.....	3
B. Différentes méthodes électrophorétiques.....	9
C. Electrophorèse de zone.....	11
1- Généralité.....	11
2- Principe.....	11
3- Différents supports.....	11
4- Facteurs régissent la migration électrophorétique.....	13
5- Différentes applications.....	14
II- Etude théorique de l'hémoglobine	
A- Rappel sur les globules rouge.....	18
B- Structure de l'hémoglobine.....	18
C- Propriétés physico-chimiques.....	21
D- Métabolisme de l'hémoglobine.....	22
1- Biosynthèse.....	22
2- Dégradation.....	24
E- Fonction de l'hémoglobine.....	26
F- Méthodologie d'analyse de l'hémoglobine.....	28
G- Séparation électrophorétique des différentes hémoglobines.....	30
III- Critères biologiques de diagnostique de la drépanocytose	
A- Historique.....	37
B- Diagnostique positif.....	38
C- Diagnostique différentiel.....	39

IV- L'hérédité de la drépanocytose.	44
V- Matériel et méthodes.	
A- Introduction.....	45
B- Prélèvement.....	45
C- Elément de dépistage des anomalies de l'hémoglobine.....	45
1- Dosage de l'Hb.....	45
2-Test de falciformation.....	46
3- L'électrophorèse de l'Hb.....	47
a- Accessoires nécessaires	47
b- Réactifs et consommables.....	47
c- Technique.....	47
d- Colorations.....	48
VI- Résultats.....	49
VII- Etude statistique.....	54
VIII- Discussions.....	57
Conclusion.....	61
Bibliographie	

ABREVIATION

2,3-DPG : 2,3-Disphoglycrate.

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne d'Hb.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

EDTA : Ethylène diamine tétra acétate de sodium.

Fl : Femtolitre (10⁻¹⁵l).

Glu : Glutamate.

GR : Globule rouge.

HbA : Hémoglobine adulte.

HbA₂ : Hémoglobine adulte mineure.

Hb : Hémoglobine.

HbF : Hémoglobine fœtale.

HbS : Hémoglobine de SAKI (instable.)

Lys : Lysine.

MetHb : Méthémoglobine.

O₂ : Oxygène.

Pro : Proline.

TCMH : Teneur corpusculaire moyenne d'hémoglobine.

Val : Valine.

VGM : Valeur globulaire moyenne.

INTRODUCTION GENERALE

Affection hématologique, la drépanocytose est une anémie hémolytique due à la présence d'une hémoglobine anormale, l'HBS où l'acide aminé, l'acide glutamique en position 6 de la chaîne β est remplacée par de la valine.

Son caractère familial a été évoqué en 1917. Sa transmission héréditaire se fait selon un mode mendélien autosomique récessif aussi bien dans sa forme homozygote (s/s) que dans sa forme hétérozygote (A/s). [25]

Il existe un nombre considérable de drépanocytaires, dans le nombre environ 45%. Touchant surtout l'Afrique Noire, de bassin méditerranéen, l'Amérique centrale, le Sud de l'Inde et les Autilles. [8]

En Algérie les porteurs du trait drépanocitaire constituent 1.5% à 3% de la population particulièrement les régions d'Annaba, El Akhdaria..., et la région de Jijel où la plus grande fréquence se trouve dans la daïra de Taher. [4]

Les lourdes conséquences, engendrées par les complications de la drépanocytose entraînent de gros problèmes de prise en charge de la tare aussi bien sa propre famille qui finira par ne plus pouvoir supporter les dépenses engagées, que pour le système de santé lui-même dont les capacités sont limitées.

D'où la nécessité d'effectuer un dépistage de la drépanocytose chez tout, patient consultant pour une anémie.

Ce dépistage se fait par l'électrophorèse de l'hémoglobine qui permet de rechercher et d'identifier les anomalies de l'hémoglobine dans le sang des patients présumés drépanocytaires.

Ce dépistage peut également être réaliser chez tous les membres de la famille du patient (ascendants, descendants, la fratrie, et les collatéraux) dans le cadre d'une enquête familiale.

Dans notre travail nous avons choisi la technique d'électrophorèse de zone sur bande d'acétate de cellulose largement utilisée dans le domaine biomédical pour :

- Séparer et identifier les différentes fractions de l'hémoglobine sanguine (HbA, HbS, HbF) pouvant être sous forme isolée ou associée selon le cas.
- Déterminer leurs pourcentages respectifs d'une grande valeur diagnostique.

Analyse
Bibliographique

CHAPITRE I

L'ELECTROPHORESE



I- L'ELECTROPHORESE:

A- Généralités:

A- 1- Historique:

Le terme "électrophorèse", fut induit en 1907 par Michaelis, pour caractériser la migration de particules colloïdales dans un champ électrique, cette technique a connu son premier développement en 1937, grâce à l'appareillage électrophorèse mis au point par Tiselius. [6]

A- 2- Mobilité Électrophorétique En Milieu Liquide :

Sous l'action d'un champ électrique \vec{E} , la macromolécule se déplace avec une vitesse \vec{V}_e proportionnelle au champ :

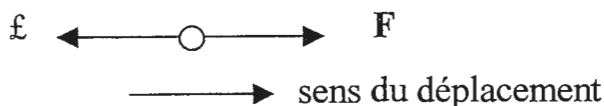
$$\vec{V}_e = \mu \vec{E}$$

Le scalaire μ est appelé mobilité électrophorétique, la mobilité électrophorétique d'une particule est représentée par sa vitesse de migration dans un champ unitaire :

$$\mu = \frac{|\vec{V}_e|}{|E|} \quad \begin{array}{l} |V_e| \text{ en m. s}^{-1} \\ |E| \text{ en V. m}^{-1} \end{array}$$

La mobilité μ s'exprime en m. s⁻¹ par convention, μ est précédé du signe de la charge portée par la particule portant une charge q . Soumise à un champ électrique \vec{E} , elle subit une force de coulomb égale à : $\vec{F} = q \vec{E}$. Elle se déplace et serait animé d'un mouvement linéaire uniformément accéléré, sans une force de frottement \vec{f} . De même direction mais de sens inverse à \vec{F} . Pour simplifier le raisonnement ou admettra que seules ses deux forces interviennent :

E, particule de charge +q



Lorsque les modules des deux forces \mathbf{f} et \mathbf{F} s'égalisent leur résultante est nulle, la particule est alors animée d'un mouvement uniforme dont la vitesse est :

$|\vec{V_e}|$ et lorsque l'on parle de vitesse à l'état stationnaire dont il s'agit.

Si l'on assimile la protéine à une sphère, la force de frottement \mathbf{f} est donnée par la loi de Stokes :

$$\mathbf{f} = 6 \pi \eta V r.$$

η = coefficient de viscosité du milieu.

V = vitesse de la particule.

r = rayon de la sphère.

Lorsque l'on a $F = \mathbf{f}$, on peut écrire :

$$q E = 6 \pi V e r$$

soit:

$$\mu = \frac{|V_e|}{|E|} = \frac{1}{6 \pi \eta} \frac{q}{r}$$

De cette relation, on peut déduire que la mobilité d'une particule migrant en milieu liquide sous l'influence d'un champ électrique uniforme dépend de trois facteurs :

- Elle est proportionnelle à sa charge, ce qui implique qu'une électrophorèse doit être pratiquée à pH constant, puisque pour les ampholytes, la charge dépend du **pH**.
- Elle est inversement proportionnelle à son rayon, quand on peut l'assimiler à une sphère, sinon on dit qu'elle dépend de sa taille et de sa forme.
- Elle est inversement proportionnelle au coefficient de viscosité du tampon, lequel augmente avec la concentration et diminue quand la température augmente.

A- 3- Mobilité apparente d'une macromolécule en électrophorèse sur support :

En électrophorèse sur support, la macromolécule migre dans une veine liquide contenue dans un canalicule, en pore, du support, l'influence du support modifie la mobilité de la macromolécule de façon très importante, on parle alors de **mobilité apparente**.

Mobilité apparente d'une macromolécule comme en électrophorèse sur support dépend :

- De sa charge : elle ne lui est plus proportionnelle comme en électrophorèse libre.

- **De sa taille et sa forme.**
- **De la viscosité du tampon.**

Il ne lui est plus inversement proportionnel.

- **Du courant d'électroendosmose :**

Le courant d'électroendosmose résulte de la présence de charge négative portée par la matrice du support :

Charge des résidus galactose 6 sulfates de l'ogaropectine de l'agar-agar ou charge des groupements silanols dissociés de la silice, ces charges attirant des petits ions de signe contraire, en solution dans la phase liquide dispersante qui l'entoure. Il en résulte d'une couronne d'ions disposés en couche et dont le premier modèle fut proposé par **Helmholtz** en 1879 sous le nom de double couche électrique.

Si l'on considère que la surface **S** du solide matrice porte des charges électriques fortement liées, les petits ions positifs antagonistes attirés par la couche de charge négative se disposent en une surface d'échange positivement et partiellement à **S**.

Cette théorie permet d'exprimer le phénomène d'électroendosmose.

Si le modèle de **Helmholtz**, reste valable, en première approximation, on doit y apporter une précision en ce qui concerne la préparation des charges au voisinage de **S**. les charges ne forment pas une couche assimilable à une surface mais, attire selon les forces de coulomb, d'une part, elles se distribuent en une couche diffuse résultant de l'équilibre de ces deux phénomènes. Cette conception ne modifie en rien le phénomène d'électroendosome. (Fig 2)

Deux autres courants liquidiens peuvent influencer sur mobilité apparente d'une macromolécule chargée :

- **Le courant d'évaporation (ou rhéophorèse) :**

L'eau s'évapore au niveau de la surface d'une bande ou d'une lame électrophorèse, comme les extrémités plongent dans le tampon il s'établit depuis chacune d'elle un courant de liquide qui tend à compenser cette évaporation. Les effets du courant d'évaporation sont évités en plaçant un couvercle sur la cuve.

- **Le courant de l'électrolyse :**

Le courant de liquide s'établit lorsque à la suite de la décharge des ions sur les électrodes, il y a modification de la composition du tampon dans les compartiments d'électrode, les effets du courant d'électrolyse sont supprimés si l'on inverse la polarité des électrodes à chaque électrophorèse.

Enfin intervient :

- **Les facteurs liés au support :**

Les propriétés absorbantes du support se manifestent à l'égard des macromolécules à séparer et vont plus ou moins en freiner la migration, la texture et la réticulation du support jouent également un rôle. Le support présente des canaux sinueux dans lesquels la migration mesurée est inférieure au déplacement réel.

La taille des mailles du réseau exerce un effet de tamis moléculaire qui, pour certaines techniques électrophorétiques, améliore leur pouvoir de résolution [1].

A- 4- Facteurs qui régissent la migration :

Le déplacement dépend de plusieurs facteurs :

a- temps :-

La particule se déplace à une vitesse qui est constante ; le déplacement sera donc d'autant plus grand qu'électrophorèse durera plus longtemps, la durée de l'électrophorèse est cependant plus limitée par plusieurs facteurs : diffusion des substances sur le support, dégradation du produit, etc...

b- Forces ionique du tampon :

La force ionique du tampon μ se définit comme la demi-somme des produits de concentration molaires des ions, C_i , par le carré valence V_i .

Cette valeur représente donc la charge électrique globale d'un tampon.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C_i V_i^2 .$$

exemple : solution molaire d'acétate de sodium, il existe deux ions :

CH_3COO^- et Na^+ de molarité 1 et de valence 1.

$$\text{Donc : } \mu = \frac{1}{2}[(1 \times 1)^2 + (1 \times 1)^2]$$

$$\mu = 1$$

Autre exemple : solution molaire de Na_2PO_4H Ici

Les ions molaires sont HPO_4^{2-} et Na^+ et les concentrations molaires respectivement 1 et 2.

$$\text{Donc la force ionique est } \frac{1}{2}[(1 \times (2)^2) + (2 \times (1)^2)] = 3$$

Les forces ioniques des tampons utilisés en électrophorèse varient habituellement de 0.05 à 0.10.

Le déplacement de la particule augmente lorsque la force ionique diminue, elle est en fait plus exactement, inversement proportionnelle à la conductivité du tampon utilisé, donc proportionnelle à la résistance.

C. Température :

La conductivité du tampon croît rapidement avec la température : il faut donc la maintenir constante.

Or il se produit dans le bac d'électrophorèse un échauffement dû à la libération de chaleur par effet Joule : Cette quantité de chaleur est proportionnelle à la conductivité et surtout au carré de l'intensité du courant électrique utilisé pour

éviter cette dissipation de chaleur, il faut utiliser des courants de faible intensité (de l'ordre d'une ~~divisie~~ de milliampère).

Un autre inconvénient dû à la libération de chaleur par effet Joule est l'évaporation du solvant qui augmente la conductivité et provoque une augmentation d'intensité du courant qui accélère encore le processus.

D. Courant électrique continu :

Le déplacement d'une particule chargée croît avec l'augmentation de l'intensité du courant ; mais des considérations pratiques limitent l'utilisation de cet effet. Cependant on peut augmenter l'intensité du courant dans la mesure où un refroidissement très efficace est utilisé pour combattre l'effet – Joule. Ceci est indispensable par exemple pour l'électrophorèse haute tension (différence de potentiel ~~égale~~ : 1000 volts ou plus).

En fait le déplacement dépend essentiellement de l'intensité du champ électrique qui est égale au rapport de la différence de potentiel existant entre les électrodes par la distance séparent ces électrodes : il s'explique donc en volts/cm. (Fig 1)

E. PH du tampon :

Le PH du tampon est particulièrement important à considérer lorsque les substances que l'on veut séparer par électrophorèse sont amphotères. En solution dans l'eau, un acide carboxylique par exemple possède une charge négative ($R-COO^-$) et migre donc en électrophorèse vers le pôle positif c'est à dire vers l'anode, une amine ($R-NH_3^+$) est chargée positivement et migre donc vers la cathode.

Pour les substances amphotères c'est à dire pour les substances possédant à la fois une ou plusieurs fonctions acides et basiques, le PH joue un rôle déterminant dans l'ionisation de la molécule donc dans la définition de sa charge électrique.

Pour toute substance amphotère existe un PH dit PH isoélectrique ou PH_i pour lequel la substance possède une charge nulle et ne migre donc pas en électrophorèses.

Si le PH_i du tampon choisi pour électrophorèse est égal au PH_i de la substance, il n'y aura pas la migration alors que toutes les substances dont le PH_i est différent migreront vers l'anode ou vers la cathode.

On peut ainsi prévoir les sens de la migration d'une substance :

PH de tampon inférieur au PH_i → charge positive

→ Migration vers la cathode.

PH de tampon supérieur au PH_i → charge négative

→ Migration vers l'anode.

Ces propriétés sont largement utilisées pour la séparation des acides aminés et surtout pour celle des protéines.[19]

B. Différent méthodes électrophorétiques :

B.1 Electrophorèse de zone à PH alcalin :

C'est en utilisant l'électrophorèse en veine liquide, sur un appareil de Tiselius, qu'en 1949 Pauling et ses collaborateurs ont montré qu'il existait une différence de charge entre l'hémoglobine d'un sujet drépanocytaire et celle d'un adulte normale. Cette technique lourde et délicate a rapidement été remplacée par l'électrophorèse de zone à PH alcalin, qui jusqu'à ces dernières années était considérée comme étant la technique de référence d'abord pratiquée sur des supports tels que le papier ou le gel d'amidon elle s'effectue aujourd'hui sur des bandes ou, mieux sur des plaques rigides d'acétate de cellulose.

La nomenclature des hémoglobines à l'électrophorèse à PH alcalin est historique à cotés des hémoglobines physiologique (HbA, HbA₂, HbF) on a distingué d'abord des phénotypes électrophorétiques fréquents (HbS,HbC, HbE) qui correspondent à des modifications structurales bien précises.

B.2 Electrophorèse sur un gel d'Agar :

La migration des hémoglobines sur gel d'agar en citrate à $\text{pH}=6$ n'est pas à proprement parler une électrophorèse puisque la migration n'y est pas en rapport avec la charge. Dans ces conditions l'hémoglobine se lie de façon réversible à l'agaropectine, et le complexe formé migre vers l'anode, d'autre part un phénomène d'électroendosmose provoque une diffusion continue vers la cathode. Ces deux mouvements de directions opposées séparent donc les hémoglobines en fonction de leur affinité pour l'agaropectine.

Cette électrophorèse sur gel d'agar en citrate est donc l'un des tests classiques de diagnostic positif de l'HbS. Quelques mutants rares peuvent présenter dans ce système des caractères de migration particuliers.

Ainsi, alors les Hb_S, E, O(arabe) présentent toutes trois le même type de substitution, Glu \longrightarrow lys et des pH_i très proches, leur discrimination ne pose aucun problème sur ce support.

B.3 Focalisation isoélectrique :

La focalisation isoélectrique est la technique actuelle de référence.

Sa résolution est supérieure à celle de l'électrophorèse à pH alcalin.

La focalisation diffère de l'électrophorèse classique par le fait que la migration sous l'effet du champ électrique ne s'effectue plus dans un tampon de pH fixe mais dans un milieu constitué par un mélange d'un grand nombre de petites molécules amphotères, dispersées dans un gel sous l'effet du champ électrique, ces molécules vont s'organiser en un gradient continu de pH où chaque protéine va migrer pour focaliser ou une bande très fine dans la zone où le pH est égal à son point isoélectrique (pH_i). (Fig 7)

B.4 Techniques électrophorétiques d'étude des chaînes de globine en milieu dissociant :

B.4.1 Electrophorèses en milieu urée à pH 6 et 9 :

Les techniques électrophorétiques précédentes ne tiennent compte que des charges exposées vers le milieu aqueux environnant. Les charges dirigées vers

l'intérieur de la molécule ne sont pas prises compte. Pour que toutes les charges de la protéine soient exposées l'analyse doit être effectuée dans un milieu chaotropique, comme l'urée à très forte concentration, qui va détruire la structure quaternaire et tertiaire de la protéine et la déplier.

La comparaison des migrations entre PH acide et alcalin permet de soupçonner certains types de mutation comme par exemple celles impliquent une histidine qui est positivement chargée à PH = 6 et neutre à PH = 9

B.4.2 Electrophorèse en milieu urée 6M et en présence de détergent

(Triton × -100)

L'électrophorèse en présence de détergent permet de reconnaître si un résidu basique est impliqué dans la mutation où s'il existe une différence d'hydrophobicité. Cette technique est particulièrement utile pour l'analyse des chaînes Y.[14]

C. Electrophorèse de zone :

1. Généralité :

La migration se fait dans une phase liquide imprégnant un solide poreux ou un gel. Les fractions protéiques se séparent sous forme de zones distinctes.

Le support doit être homogène ; poreux ; physiquement et chimiquement inactif (polycrylamide ; la silice ; l'agar-agar..)

2. Principe :

Sous l'influence d'un champ électrique, les différentes fonctions migrent à des vitesses différentes.

3. Différents supports :

3.a Electrophorèse sur papier :

3.a.1 A basse tension (100 à 200 volts) :

Elle est utilisée pour les protéines.

La révélation est réalisée grâce à des colorants (noire amide-rouge ponceau) qui se fixent sur les protéines et y restent fixés après lavage de la bande de papier

des appareils spéciaux permettent de mesurer l'intensité de la coloration et de déterminer ainsi le pourcentage de chaque zone de migration. (fig 3)

3.a.2 A haute tension (1000 à 3000 volts) :

Elle est utilisée pour les petites molécules (acides aminés, peptide...) elle nécessite un refroidissement suffisamment efficace pour absorber l'énergie calorifique dégagée par effet Joule, la révélation varie suivant les cas.

3.b Electrophorèse sur acétate de cellulose :

Elle utilise le même principe que l'électrophorèse sur papier ; mais les migrations sont plus rapides et les résolutions sont meilleures. (fig 8, fig 9)

3.c Electrophorèse sur gel d'amidon ou de polyacrylamide :

Les gels sont préparés extemporanément et coulés dans support. Les gels forment en effet une sorte de filet dont les mailles retardent les molécules dont la taille est élevée. Avec le gel de polyacrylamide la dimension de ces mailles peut être choisie à une variation du degré de polymérisation du gel. Plusieurs électrophorèses peuvent être réalisées simultanément dans une série de tubes. Après révélation le contenu des tubes peut être « transparaïsé » et l'intensité de coloration de bande lue au photomètre. (fig 4, fig 10)

3.d Electrophorèse sur gel d'agarose :

Des gels de grande porosité peuvent être constitués ; en utilisant des concentrations faibles d'agarose. Cette grande porosité permet la migration de molécule de poids moléculaire élevé et même de complexes supra moléculaires.

Ces gels se prêtent aux expériences d'immunoélectrophorétique et de focalisation électrique. [15] (fig 5)

4. Facteurs régissant la migration électrophorétique :

4.a. la mobilité :

La migration proportionnelle à la mobilité μ , en électrophorèse de zone la migration apparente n'est plus proportionnelle à la mobilité μ .

4.b. Le champ électrique :

En électrophorèse de zones ; le déplacement d'une protéine dépend du champ électrique. Il doit être maintenu constant durant la migration.

4.c. La durée de la migration :

La migration est proportionnelle au temps ($d = u.E.t$), le support poreux favorise la diffusion des protéines ; Une trop grande durée aboutirait à l'étalement des zones ; Celles-ci se superposent et le pouvoir de résolution de l'électrophorèse diminue.

4.d. Les facteurs liés au support :

Les propriétés absorbantes de support se manifestent à l'égard des protéines et vont freiner leur migration.

La distance de migration mesurée et par conséquent nettement inférieure au déplacement réel ; ce qui explique qu'en électrophorèse de zones ; on ne mesure qu'une mobilité apparente.

4.e. Les courants liquidiens :

Ils sont particuliers à l'électrophorèse sur support, la relation de migration $d = \mu.E.t$ n'est plus vérifiée. Ils existent des courants liquidiens :

- Le courant d'électroendosmose ;
- Le courant d'évaporation ;
- Le courant d'électrolyse.

5/ Les Différentes applications :

Les applications des différents types d'électrophorèse sont innombrables, aussi bien en conditions préparatives, dans l'industrie ou au laboratoire de recherche, qu'en conditions analytiques. En biochimie médicale courante, les applications concernent essentiellement les protéines, sériques et urinaires, ou provenant d'autres liquides biologiques. La migration des protéines dépend de leur taille (rayon) et de leur point isoélectrique (valeur de PH pour lequel elles possèdent autant de charges positives que de charges négatives). [15]

CHAPITRE I : ELECTROPHORESE

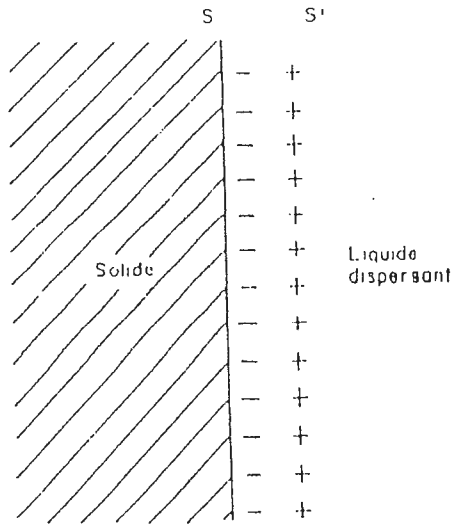


Figure1: Double couche électrique Selon Helmholtz[1]

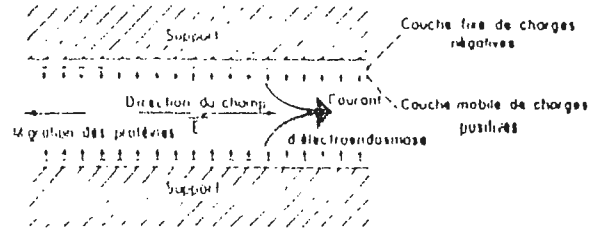


Figure2: Le courant d'électroosmose[1]

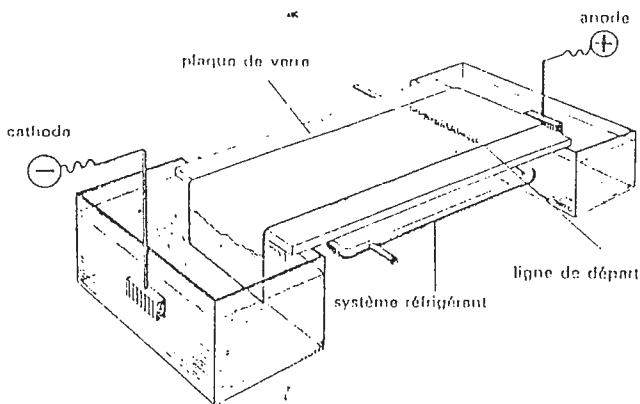


Figure3: Electrophorèse sur papier[17]

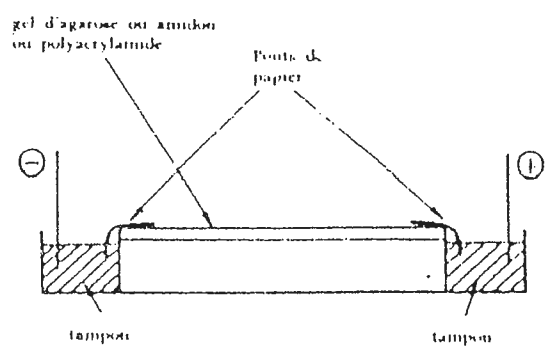


Figure4: Coupe d'un bac pour électrophorèse sur amidon ou acrylamide [16]

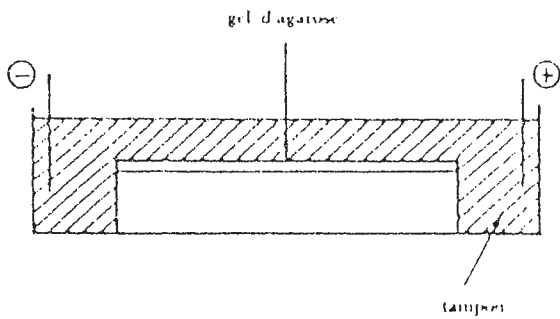


Figure 5: Coupe d'un bac pour électrophorèse en agarose : Migration soumarine [16]

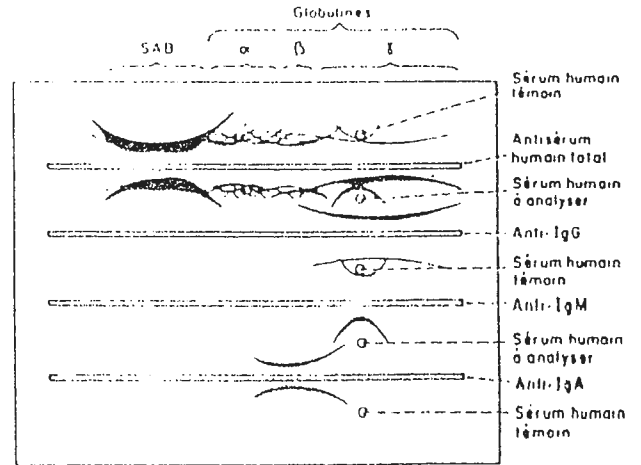


Figure 6: Immunoélectrophorèse comparées d'un sérum à analyser et d'un sérum humain normal [1]

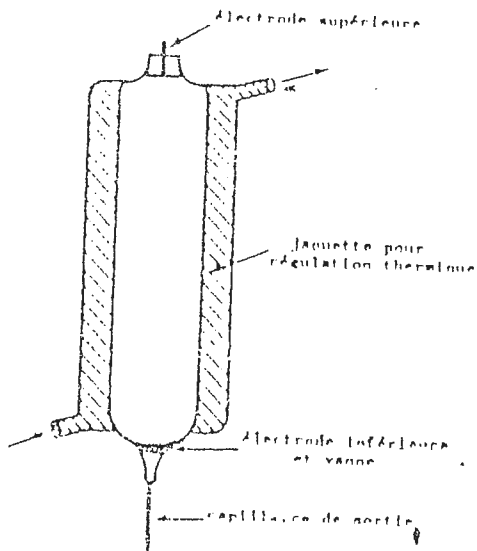


Figure 7: Représentation simplifiée d'une colonne pour électrofocalisation [16]

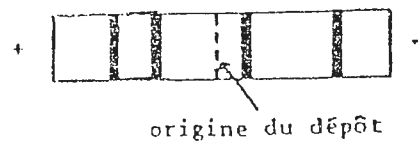


Figure 8: Électrophorèse de zones sur bande d'acétate de cellulose [12]

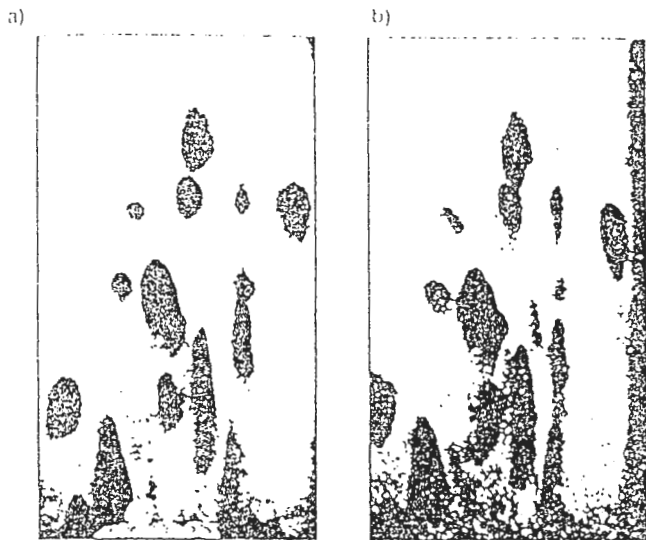


Figure 10 : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide chromatographie de β globine humaine
 a) normale et b) provenant d'un patient drépanocytaire [11]

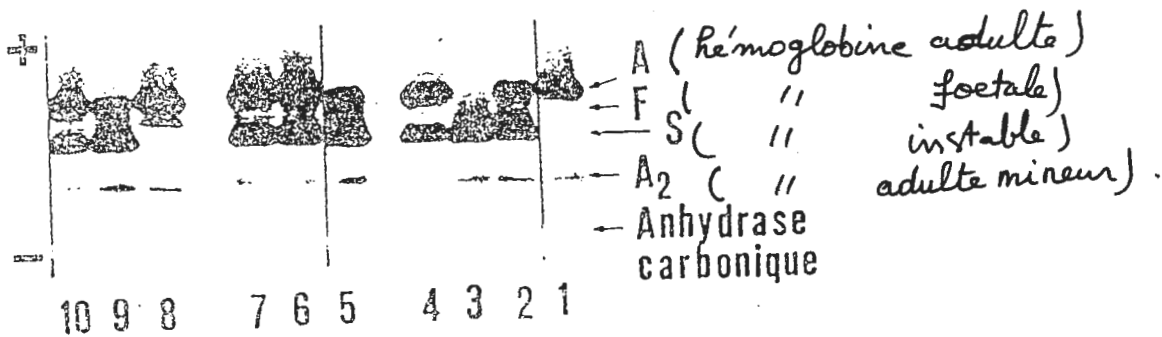
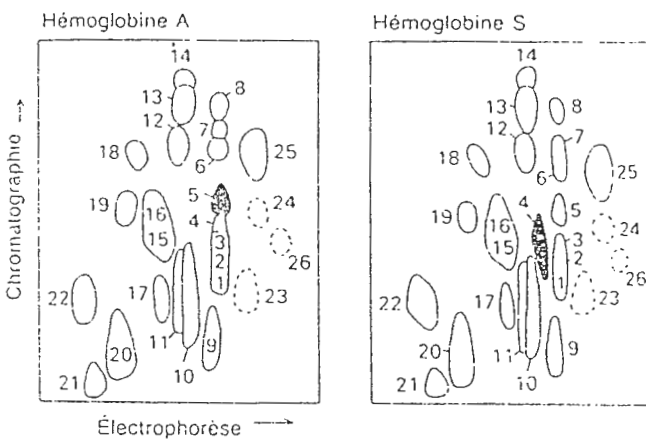


Figure 09 : Electrophorèse de l'hémoglobine sur acétate de cellulose dans différentes variétés d'hémoglobinopathie. 1. Adulte ; 2. Double hétérozygote s/hémoglobine SAKI (instable) ; 3. Homozygote S ; 4. Hétérozygote A/S ; 5. Homozygote S transfusé ; 7. Hétérozygote A/S. [25]

CHAPITRE III
ETUDE THEORIQUE
DE L'HEMOGLOBINE (HB)

II – ETUDE THENIQUE DE L'HEMOGLOBINE (HB) :

A-Rappel sur les globules rouges :

Les globules rouges ou hématies, ou érythrocytes, sont des cellules modifiées qui ont perdu plusieurs constituants cellulaires habituels : Noyau, mitochondries.

Il reste une membrane ou stroma entourant un cytoplasme dont le constituant prédominant est une protéine, l'hémoglobine, pigment respiratoire chargé de transporter l'oxygène et une partie de CO_2 sanguin.

Les globules rouges dérivent de cellules souche de la moelle osseuse par une série de transformations. La durée de vie pour ces globules est de 120 jours.[7]

- **Erythropoïèses :**

L'origine du globule rouge est la cellule souche médullaire.

En cas de pertes importantes :

- La production médullaire peut augmenter jusqu'à 8 fois la normales.
- La maturation intramédullaire peut ne durée que 3 à 4 jours avec augmentation de la réticulocytose (et passage dans le sang d'érythroblastes acidophiles.
- La régulation de l'érythropoïèse est sous la dépendance d'une hormone, l'érythropoïtine.[2]

B- Structure de l'hémoglobine :

Les hémoglobines forment une famille très ancienne de molécules, apparue simultanément à la vie aérobie dans l'évolution des espèces. Chez tous les vertébrés, l'hémoglobine est un tétramère dont les sous-unités sont identiques deux à deux et se distinguent en type alpha et Béta. [14]

- **L'Hème :**

C'est une molécule associant un atome de fer à l'état ferreux et une protoporphyrine. La protoporphyrine est un anneau tetrapyrolyque comportant des radicaux méthyles ($-\text{CH}_3$) en position 1,3,5,8 ; Deux radicaux vinyles ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) en 2,4 ; deux radicaux propanoïques ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) en 6 et 7.le fer est relié par quatre valences à l'azote des noyaux pyroles. [20] ,

- **La globine :**

Toutes les hémoglobines (Hb) humaines adultes comportent deux chaînes couplées :

- A deux chaînes β dans l'Hb adulte majeure A (HbA : $\alpha_2\beta_2$)
- A deux chaînes γ dans l'Hb fœtale F, d'ailleurs hétérogène γ gly et γ ala (HbF : $\alpha_2\gamma_2$)
- Ou à deux chaînes δ dans l'Hb adulte mineure A₂ (HbA₂ : $\alpha_2\delta_2$)

Ces chaînes ont une homologie structurale : la chaîne α est constituée de 141 acides aminés, les trois autres de 146 acides aminés, différents de 36 acides aminés entre β et γ , de 10 entre β et δ . Cette homologie évoque une origine phylogénique commune à partir d'un même gène, proche de celui de la myoglobine, analogue monomérique. [24]

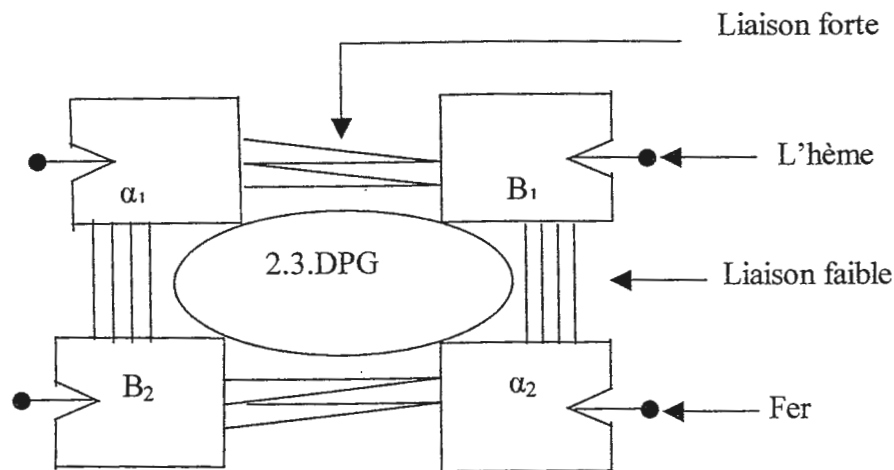


Figure N° 11 : Molécule d'hémoglobine

2.3.D.P.G : 2.3diphosphoglycerate, fixé sur les chaînes β de la globine au niveau de la cavité centrale de l'Hémoglobine joue un rôle important dans la distribution de l'oxygène. [2]

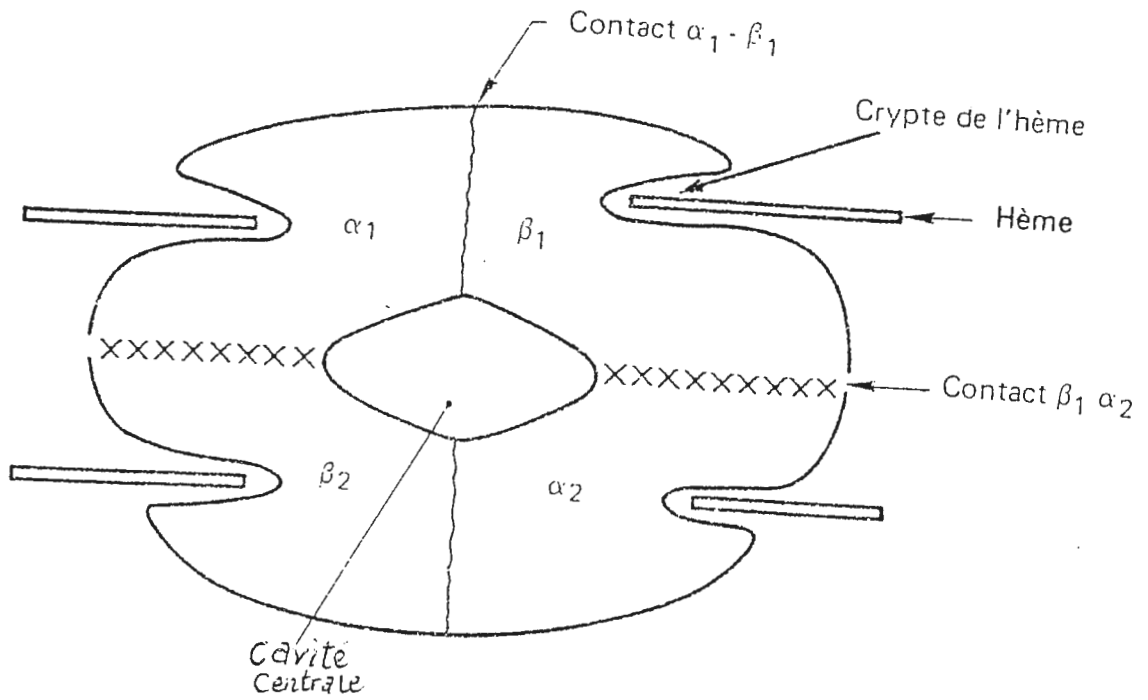


Figure N°12-configuration générale d'une molécule d'hémoglobine. [7]

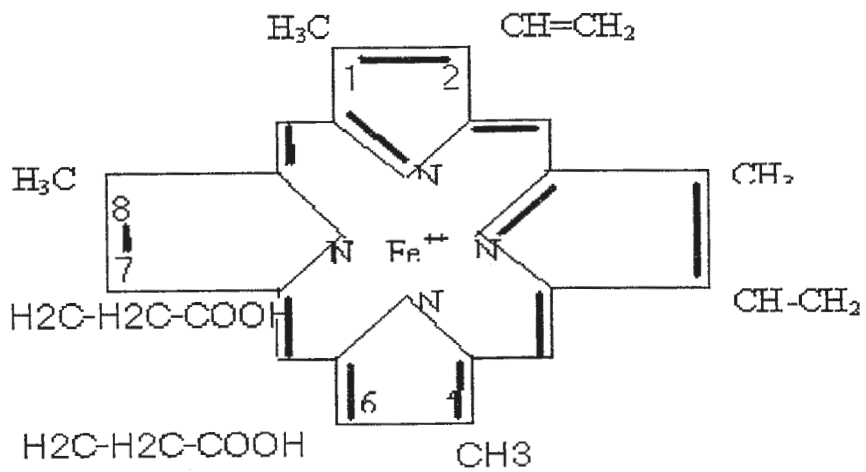


Figure N°13 : structure de l'hème.[20]

C- Propriétés physico-chimiques :

C'est une substance colorée en rouge, elle cristallise facilement. On obtient des cristaux caractéristiques de chaque espèce. En effet, la globine change d'une espèce à l'autre et peut aussi changer dans la même espèce. On a constaté une différence entre l'hémoglobine foetale (qui disparaît quelque mois après la naissance) et l'hémoglobine adulte. La structure et les propriétés sont différents : L'hémoglobine foetale est plus stable à l'action de la soude. [21]

L'hémoglobine et ses dérivés (l'oxyhémoglobine, la carboxyhémoglobine et la méthémoglobine) possède du fait de leur couleur un spectre d'absorption dans le visible caractéristique HbO_2 . présente une bande d'absorption dans le vert et une bande dans le jaune. $HbCO$ présente des bandes d'absorption semblable mais légèrement décalées vers les petites longueurs d'ondes. Hb ne présente qu'une seule bande large intermédiaire entre les précédentes, la bande de stock..

La méthémoglobine, H^+ et Hb, présente des bandes très différentes, dans l'ensemble peu visible, sauf la bande d'absorption dans le rouge.

Le spectre de l'Hb et de ses dérivés est important à connaître pour la mise en évidence de l'Hb (en médecine légale par exemple), pour détecter l'intoxication par le CO, par les agents méthémoglobinaisants.

Le poids moléculaire des Hbs sanguines est de 64500. la molécule d'Hb se présente comme un ellipsoïde de révolution de dimension égale à 6,4.5,5.5 mm. Environ 10.000 atomes participent à l'édification de cette molécule parmi eux, le fer représente 0.35% de la molécule, alors que la teneur en soufre varie selon les espèces entre 0.5 et 1%. Un rapport constant a été déterminé : il y'a un atome de fer pour une structure de poids moléculaire 16.000. [17]

D- Métabolisme de l'Hb.**1. Biosynthèse :****- L'Hème :**

La synthèse de l'Hème est réalisée à partir de la glycine et de l'acide succinique. La combinaison d'une molécule de glycine et d'une molécule d'acide delta-amino-lévulinique (ALA) sous l'action d'une enzyme. La ALA-synthétase, en présence de vitamine B₆. La condensation de 2 molécules d'ALA aboutit à la formation d'une molécule cyclique pentagonale, le porphobilinogène. quatre molécules porphobilinogène s'unissent pour constituer l'anneau de porphyrine sur le quel l'atome de fer sera fixé sous l'action d'une enzyme, l'Hème-synthétase. [20]

- La globine :

Elle se situe au niveau des polyribosomes des érythroblastes et s'achève dans les réticulocytes. Elle est codée par des gènes différents pour quatre chaînes :

- Les deux paires de gènes α résultant d'une duplication sont situées sur le chromosome 16.
- Les gènes β et δ proches l'une de l'autre, et les gènes γ sont portés par le chromosome 11.

La synthèse des chaînes de globine est parfaitement régulière : il y'a autant de chaînes α que non α . Elle est activée en outre par l'Hème, lui même déprimant sa propre synthèse par retro-inhibition de l'ALA synthèse. [24]

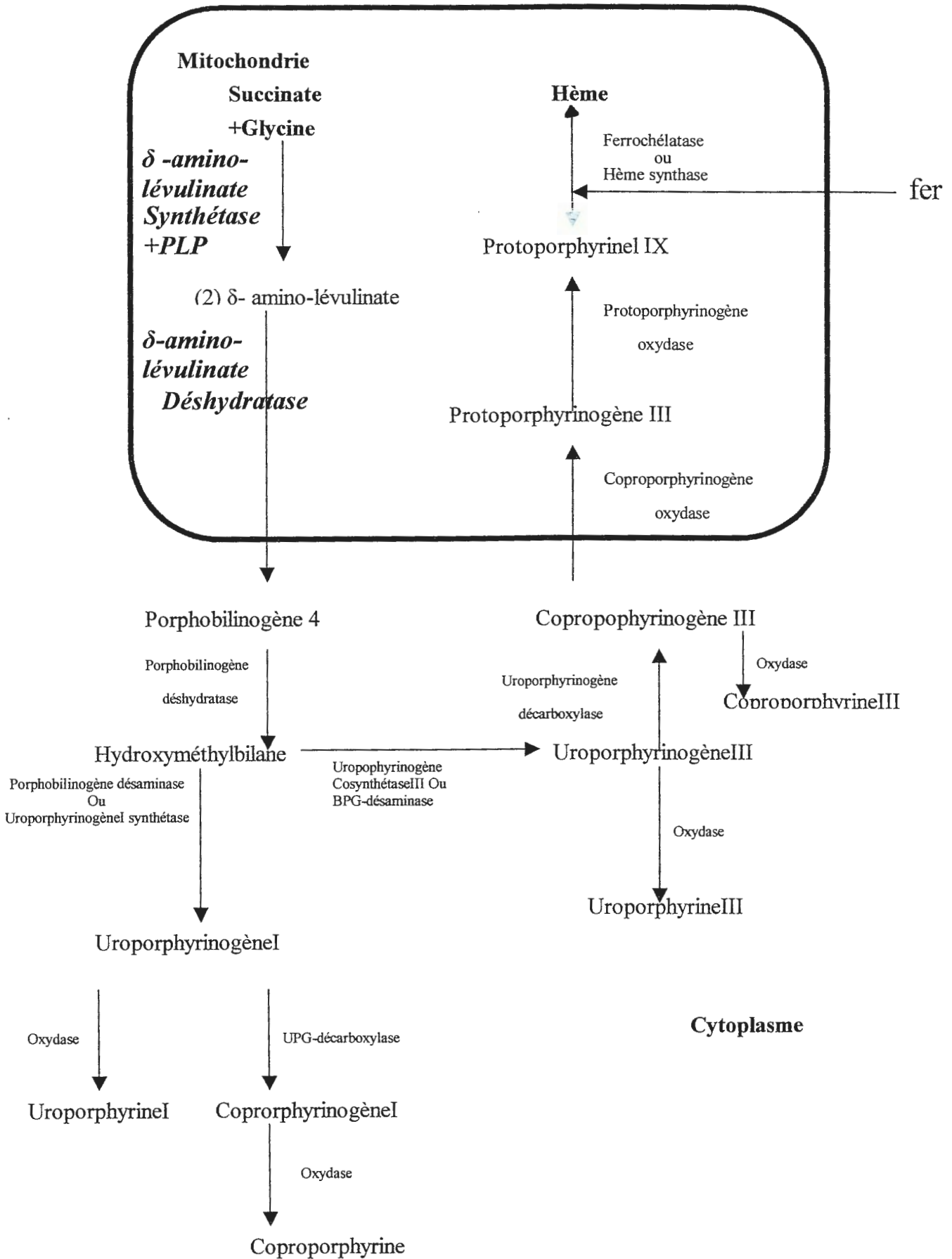


Figure 14 : Biosynthèse de l'hème. [23]

2- Dégradation :

L'hémoglobine est essentiellement dégradée dans le globule rouge après une vie moyenne de 120 jours.

- **Hémolyse :** l'absence de synthèse d'ADN et de protéine entraîne vers le 120^{ème} jour un manque de formabilité de globule rouge et sa phagocytose essentiellement dans la moelle, la rate et le foie.
- Le fer est réutilisé pour l'erythropoïèse (transport par sidérophiline).
- La globine redonne des acides aminés.
- Le noyau tétra pyrrolique de l'hémoglobine se dégrade en biliverdine puis en bilirubine (qui sera conjuguée par les cellules hépatiques) dont 20% sera éliminé dans les urines (urobiline) et 86 % dans les selles (stercobiline).[2]

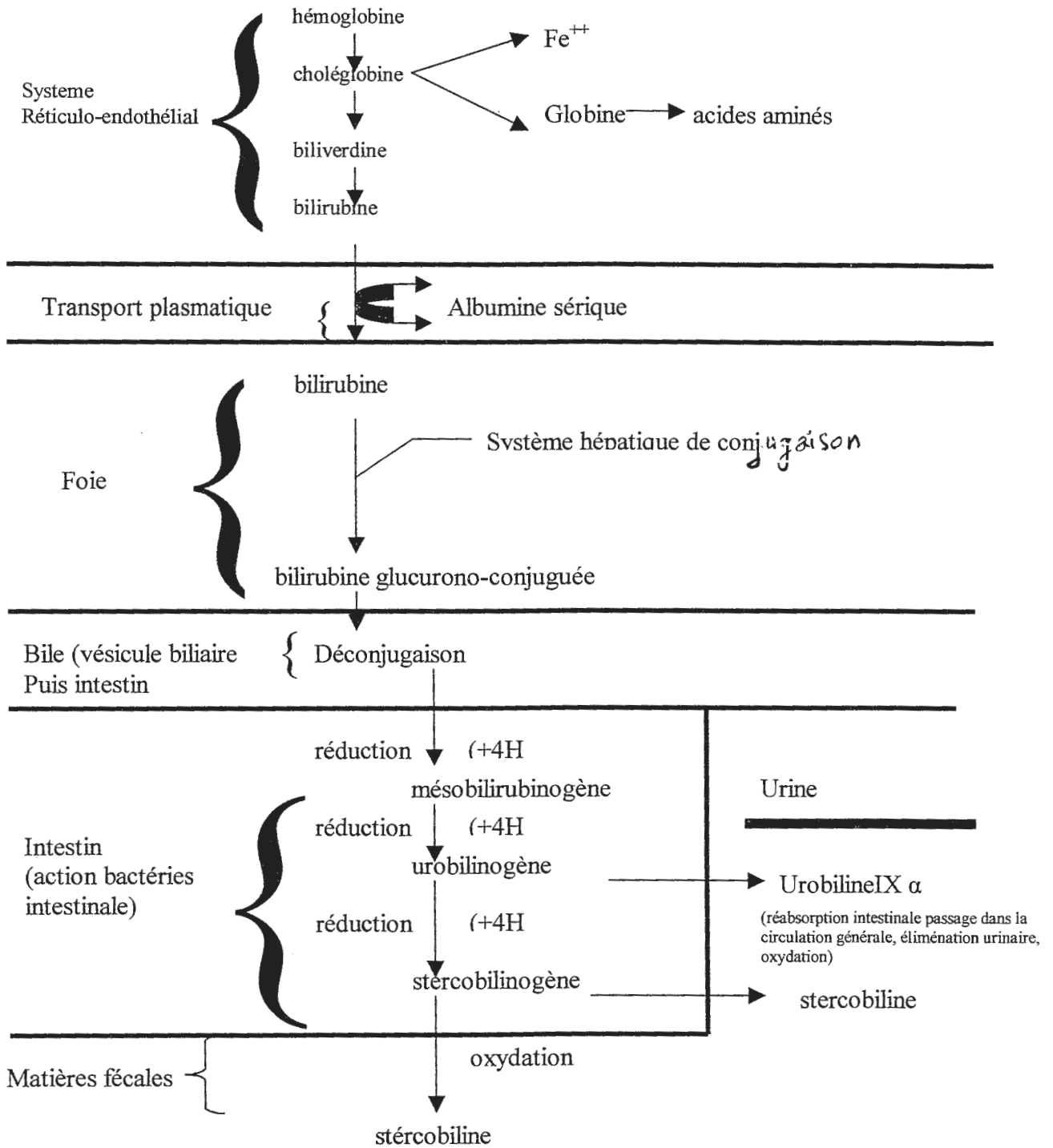


Fig.15 catabolisme de l'hémoglobine. [7]

E- Fonction de l'hémoglobine :

L'hémoglobine a un rôle physiologique : Assurer le transport de l'oxygène des poumons aux tissus et faciliter l'élimination du gaz carbonique (CO₂). [14]

- Agit aussi comme tampon pour maintenir un PH neutre.
- **Fixation de O₂** : L'Hb peut fixer O₂ pour donner de l'oxyhémoglobine.



O₂ se fixe au niveau de Fe : Il se fixe une molécule de O₂ par Fe.

La formation de HbO₂ dépend de la pression de O₂ au niveau du milieu.

Dans les poumons : Formation de HbO₂.

Dans les tissus : dissociation de HbO₂.

Quand il n'y a pas dans le milieu du CO₂, la dissociation est plus importante, c'est le cas dans les tissus.

- **Fixation de CO :**



L'oxyde de carbone possède une affinité pour l'hémoglobine plus grande que l'oxygène.



Ceci explique la grande toxicité de ce gaz, la réaction étant toutefois réversible, on peut chasser le CO en plaçant le malade dans une atmosphère riche en oxygène. Le gaz carbonique se combine réversiblement à l'hémoglobine, mais alors que O₂ et CO se combinent à l'hème, CO₂ se combine à la globine. [17]

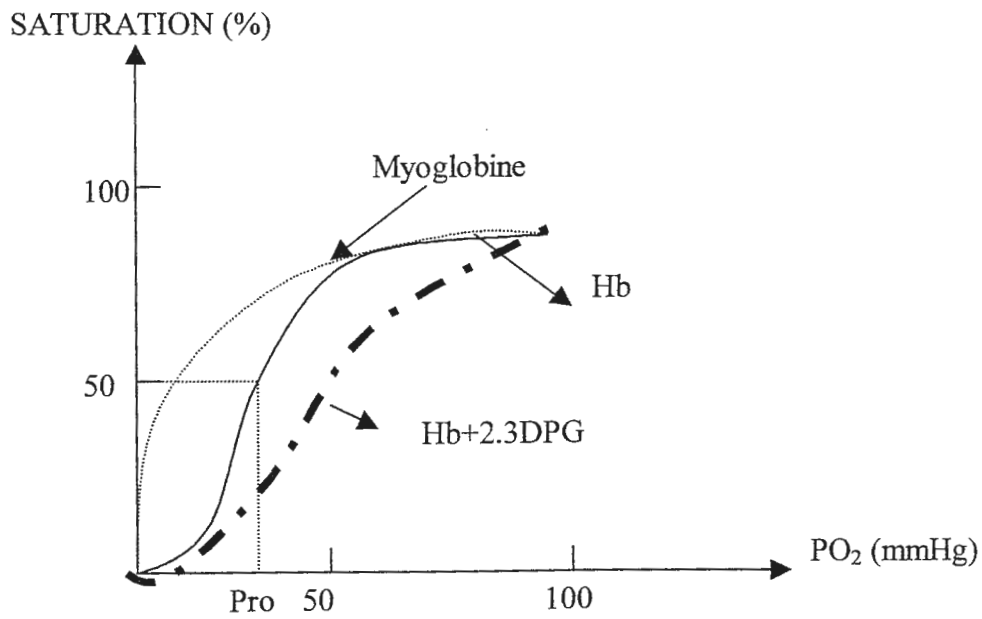


Fig16 : Courbe de dissociation de l'oxymyoglobine.
 - . - . 2,3 DPG déplace la courbe vers la droite.
 _____ Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine. [20]

F. Méthodologie d'analyse de l'hémoglobine :

1. Dosage de l' Hb total :

Le sang est prélevé par ponction veineuse sur EDTA. Un volume très exactement mesuré (général 20 μ l), est dilué dans 10ml de réactif de drabkin, qui lyse les hématies, libère l'hémoglobine et la transforme en cyan méthémoglobine dont le spectre d'absorption est stable. Elle est alors dosée par spectrophotométrie.

Les valeurs de références, qui varient avec l'âge sont indiquées dans le tableau suivant :

(Tableau N° :I)

Age de sujet	Concentration en Hb m mol/litre		Nombre d'hématies $\times 10^{-12}$ par litre	Volume globulaire (μ)	Concentration corpusculaire en Hb picogramme/litre	Teneur globulaire en Hb%
1 ^{ère} jour	11.6	195	5	105	38	36
8 ^{ème} jour	10.7	180	5	100	36	35
2 ^{ème} mois	8.3	140	4.5	90	30	33
1 an	6.6	112	4.2	78	25	32
5ans	7.4	125	4.5	80	27	33
Adultes						
Homme	8.9 \pm 1	150 \pm 20	5.2 \pm 0.8	90	30	33
jeune	8.3 \pm 1	140 \pm 20	4.8 \pm 0.6	90	30	33

Variation des paramètres érythrocytaires sanguins en fonction de l'âge (ces valeurs moyennes sont données à titre indicatif car elles peuvent être influencées nettement par l'alimentation).

2. Hématocrite :

Le sang veineux est prélevé sur EDTA et centrifugé dans un tube capillaire, on mesure le pourcentage de hauteur occupé par les globules rouges par rapport à la hauteur 100. Qu'atteignait le sang total avant centrifugation on exprime ce résultat en litre de globules par litre de sang total. L'hématocrite vrai est inférieur de 1,5% au résultat trouvée, les valeurs de référence sont 0,44 \pm 0,041/l chez l'homme et 0,39 \pm 0,041/l chez la femme.

2. Numération globulaire :

Elle est effectuée dans les laboratoires d'hématologie Par des appareillages automatiques qui évaluent en même temps l'ensemble des paramètres érythrocytaire il est recommandé de prélever le sang en vue de ces dosages à la veine du pli du coude avec l'EDTA comme anticoagulant.

Les résultats sont exprimées en térahématies par litre du sang (1térahématie = 10^{12} hématies). Les valeurs de référence qui varient avec l'âge, sont indiquées sur le tableau N°1.

4. ~~Concentration~~ Concentration en hémoglobine par globule rouge :

Cette intéressante valeur, qui peut être déduite du rapport entre les deux précédents paramètres. C'est une forme d'expression qui devrait se généraliser pour tous les constituants tissulaires. Pour l'obtenir, on établit le rapport :

Hb eng.par L/ nombre de GR par litre. Les résultats pour les populations de référence sont indiqués sur le même tableau (N°1).

5. Dimensions des hématies :

divers dispositifs automatiques permettent d'obtenir à partir du rapport. Hématocrite / nombre de GR, le volume des hématies normalement voisin de $90\mu^3$. il y a microcytose quand ce volume est inférieur à $80\mu^3$ et macrocytose pour les valeurs de l'ordre de 95 à $100\mu^3$.

6. Test falciformation :

Permet la mise en évidence l'hémoglobine S. lorsque la pression de l'oxygène baisse au-dessous d'un niveau déterminé en présence d'un réducteur, les hématies contenant l'hémoglobine S permet des aspects en faucilles ou en croissants.

7. L'électrophorèse d'hémoglobine :

L'électrophorèse d'hémoglobine est l'examen de base dans les examens diagnostics des hémoglobinopathies. Cette technique est confirmative. Car elle permet d'individualiser la plus part des hémoglobines anormales.[7]

G – Séparation Électrophoretique Des Différentes Hémoglobines :

Les hémoglobines anormales et normales peuvent être différenciées les une des autres par électrophorèse sur acétate de cellulose ou électrofocalisation. [19]

G – 1 : Hémoglobines Normales :

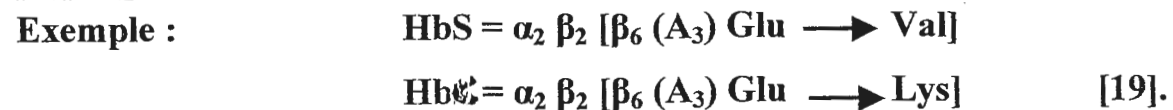
L'électrophorèse permet de séparer un certains nombre de variétés moléculaire normales de l'Hb.

A la naissance, 80% d'Hb fœtale F et 20% d'Hb adulte A, l'Hb A₂ étant encore absent. Au cours de la première année, la synthèse des chaînes γ est réprimée celle des chaînes β et δ dé réprimé. A partire d'un an, il y a 97% d'Hb A, 2 à 3% d'Hb A₂, < 1% d'Hb F. [14]

G – 2 : Hémoglobines Anormale :

Elles sont nombreuse et résultent d'une mutation génétique au niveau d'une chaîne polypeptidique. De ce fait, leurs propriétés physico-chimiques sont différentes de celles de l'Hb normale. Ce qui permet de les distinguer les une des autres par migration électrophoretique.

Leur hydrolyse et l'étude des peptides obtenus, permet de préciser le site moléculaire de la mutation.



Lors de la réalisation de l'étude électrophorétique, il est nécessaire de comparer l'Hb suspect avec des hemolysates de sujet sain ou des contrôles adaptés à la technique. [9] (fig 17)

□ normal
 ■ pathologie

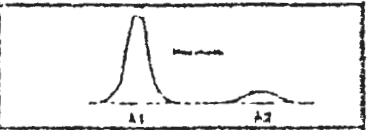
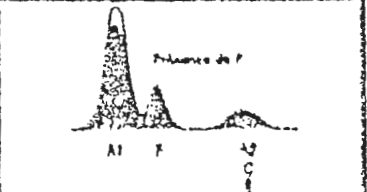
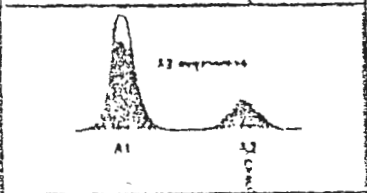
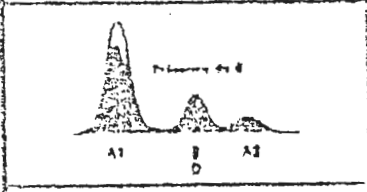
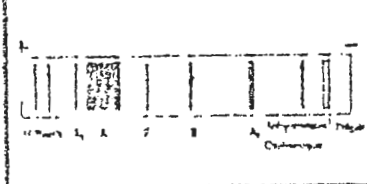
	A1	F	S	A2
 <p>Normales</p>	96,5%	-	-	< 3,5%
 <p>Enfant < 2 ans</p>	91,5%	< 5%	-	< 3,5%
 <p>B-Thalassémie mineure</p>	< 93,5%	-	-	3,7 à 6,5%
 <p>Hétérozygote AS</p>	43 à 63%	-	37 à 43%	2 à 3,5%
 <p>Homozygote SS</p>		0 - 20%	80 à 100%	2 à 3,5%

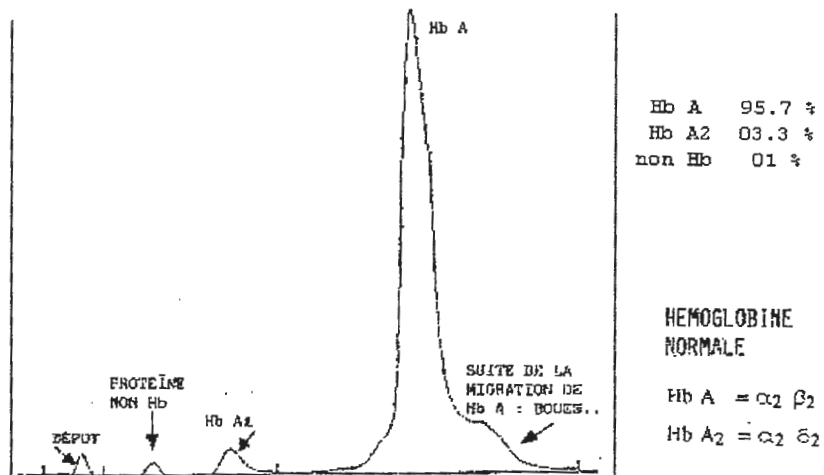
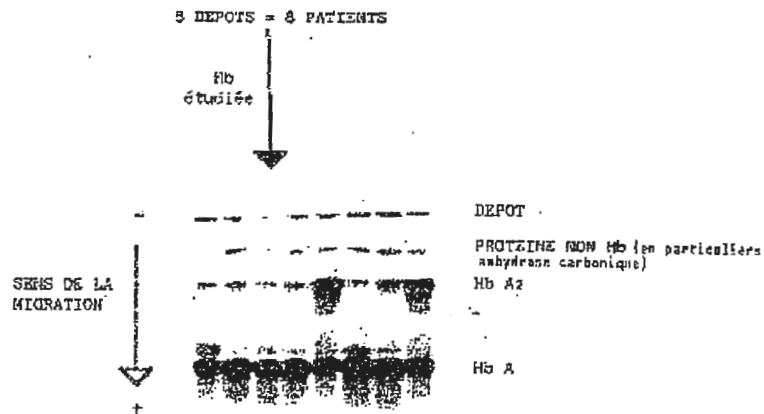
Figure 17 : L'illustration Par Les Traces Des Principaux Cas Pathologiques En Electrophorèse Des Hémoglobines.

Tableau N° II : Les Différentes Hémoglobines Humaines [3]

L'adulte	L'Hémoglobine adulte (Hb A ₁)	Représente 95 à 99% du totale de l'Hémoglobine de l'adulte et formé de 2 chaînes α couplé de 2 chaînes β ($\alpha_2 \beta_2$).
	L'Hémoglobine adulte (Hb A ₂)	Représente 2 à 3% et formé de 2 chaînes α couplé à 2 chaînes δ ($\alpha_2 \delta_2$).
	L'Hémoglobine foetal (Hb F)	Représente 0 à 2% et formé de 2 chaînes α couplé à 2 chaînes γ ($\alpha_2 \gamma_2$).
Fœtus	L'Hémoglobine foetal (Hb F)	Représente 80 à 100% à la naissance et quittent vers 0% dans les 6 mois qui suivent la naissance, l'Hb F fixe plus facilement que l'Hb A l'oxygène (car se lie moins bien au 2,3 DPG).
L'embryon	Hb GOWER 1	(ζ_2, ϵ_2) est la première hémoglobine synthétisée.
	Hb GOWER 2	Le démarrage de la production des chaînes α conduit à l'Hb GOWER ₂ (α_2, ϵ_2).
	L'Hémoglobine portland	La synthèse des chaînes ζ décroît rapidement avec cependant jusqu'au terme de la gestation persistance d'une très faible production de chaînes ζ , ce qui donnera avec les chaînes γ l'hémoglobine portland (ζ_2, γ_2) présente en très petite quantités dans le sang du cordon.

Hémoglobine Humaine Adulte

- piste d'électrophorèse
- profil densitométrique
- aspects génétiques



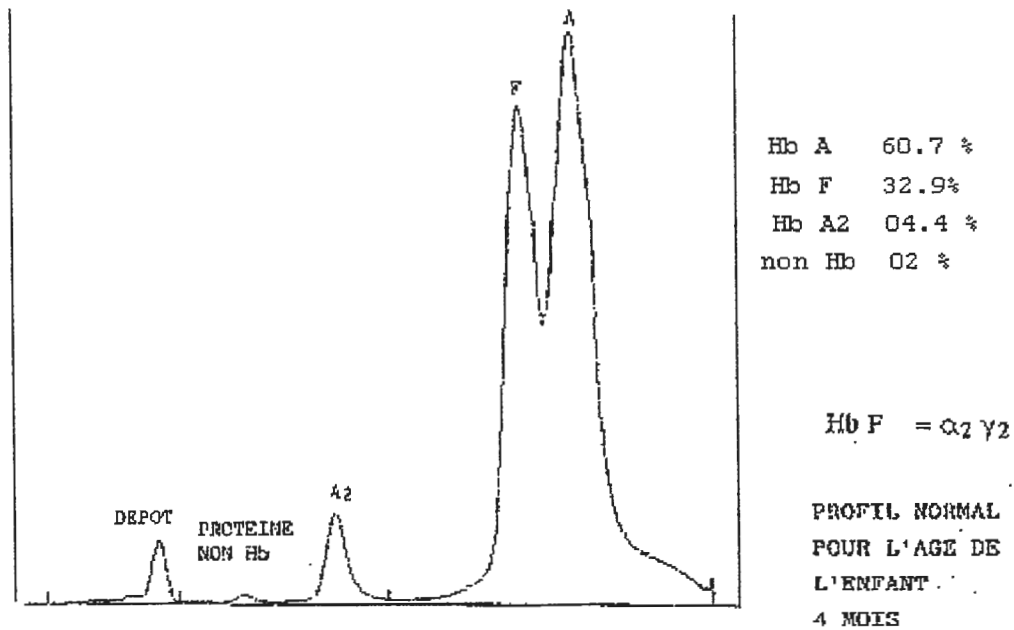
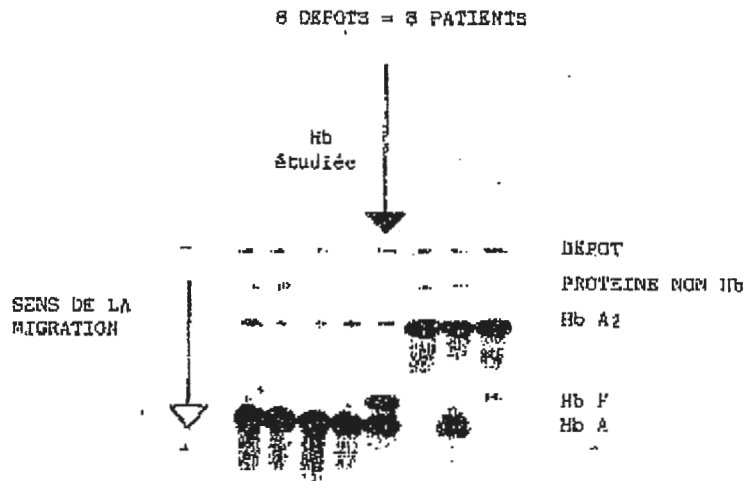
ASPECTS GENETIQUES

Activité normale des gènes alpha, bêta, delta donnant 2 types de Hb ($\alpha_2 \beta_2$) et Hb A2 ($\alpha_2 \delta_2$)

Rq: le gène bêta est 40 fois plus actif que le gène delta ce qui se traduit par un taux de Hb A très supérieur à celui de Hb A2. [14]

Hémoglobine chez un enfant de 4 mois

- piste d'électrophorèse
- profil densitométrique
- aspects génétiques



ASPECTS GENETIQUES

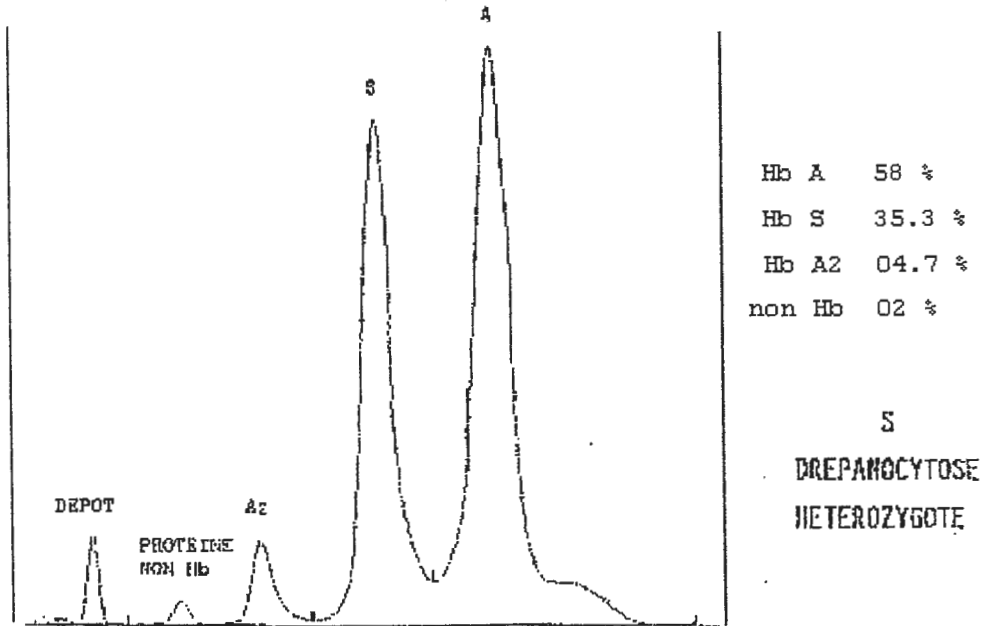
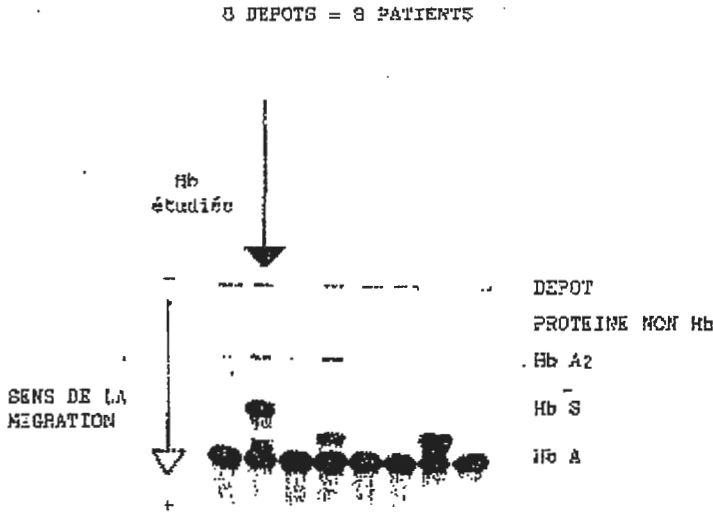
Activité normale des gènes alpha, béta,delta, gamma donnant 3 types de Hb: Hb A, Hb A2 et Hb F (alpha2 gamma2)

Rqe: durant la vie foetale prédomine l'Hb F alors que l'Hb A n'est que peu synthétisée.

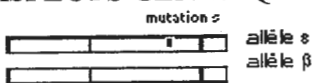
Quelques semaines avant la naissance survient un phénomène crucial qui est la commutation des gènes adultes et foetaux aboutissant au quasi remplacement de l'Hb foetale par l'Hb adulte vers l'âge de 4 à 6 mois. [14]

Drépanocytose hétérozygote

- piste d'électrophorèse
- profil densitométrique
- aspects génétiques

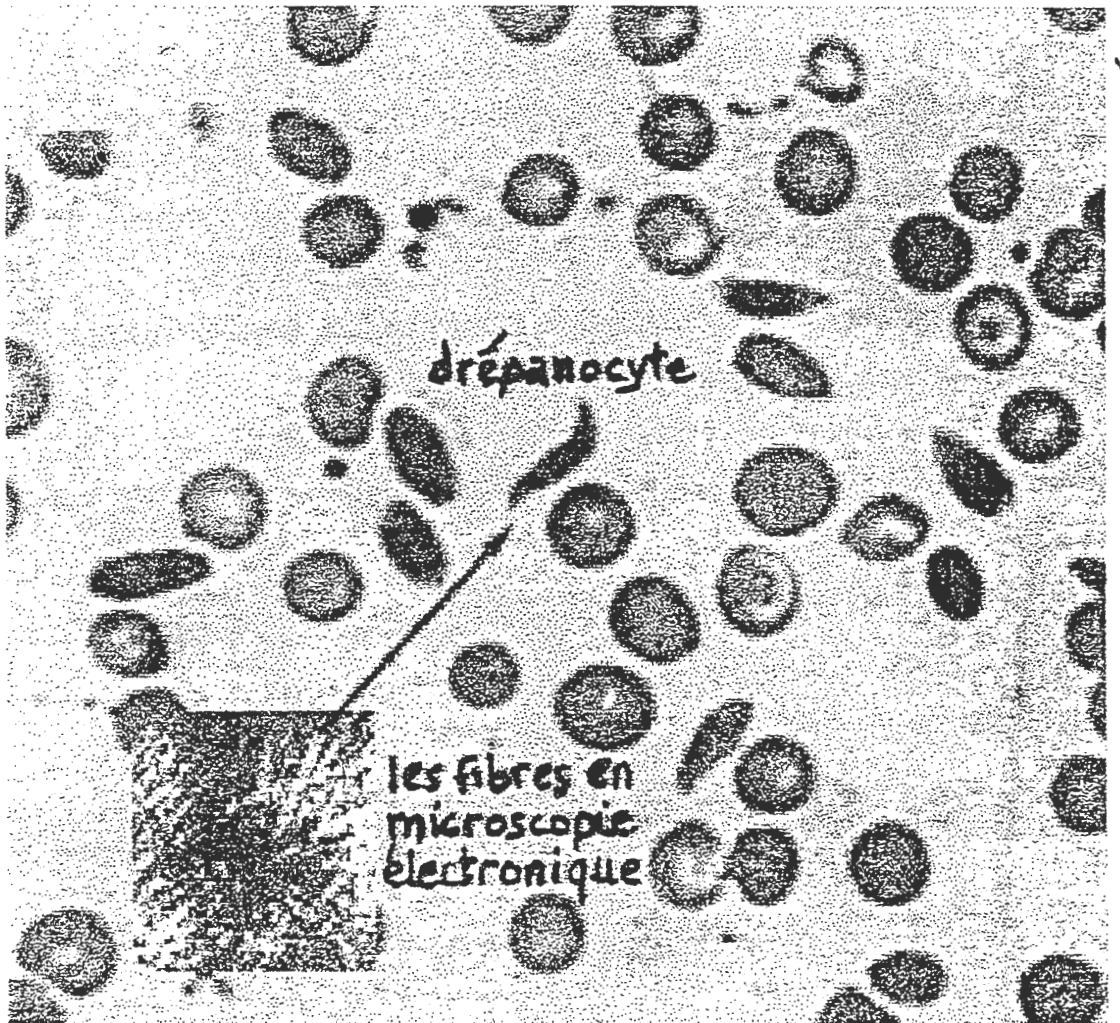


ASPECTS GÉNÉTIQUES



Taux de Hb A supérieur au taux de Hb S
 car l'activité du gène β S est inférieure à l'activité du gène β A.
 Le taux de Hb A2 est légèrement augmenté. [14]

CHAPITRE III
CRITERES BIOLOGIQUES
DE DIAGNOSTIQUE DE LA DREPANOCYTOSE



frottes sanguines chez les patients
atteint Drépanocytose. [14]

III. CRITERES BIOLOGIQUES DE DIAGNOSTIQUE DE LA DREPANOCYTOSE :

1. Historique :

La drépanocytose (du grec drépano : faucille) est l'hémoglobinose la plus fréquents qui caractérise par la présence d'une hémoglobine pathologique « hémoglobine S » et par une anomalie morphologique particulière des globules rouges. L'anomalie des hématies est un aspect en faucille.

La fraction pathologique représente la totalité dans les formes homozygotes, tandis que les formes hétérozygotes associent une fraction normale A1 et une fraction S.

La drépanocytose est l'hémoglobinose la plus anciennement connue dans la tradition médicale africaine. La maladie drépanocytaire n'a été étudiée qu'au vingtième siècle.

- En 1910 **Herrick** observe chez un étudiant Jamaïcain, la présence d'hématies déformées en faucille et le caractère familial n'est évoqué que plus tard.
- En 1924 une autre découverte importante est faite par **Hahn** et **Gillespie** que la déformation cellulaire n'apparaît qu'à basse tension d'oxygène (PO₂ inférieur à 50 mm Hg) et est réversible.
- En 1949 la mise en évidence par **Pauling, Itano, Singer et Wells** d'une différence électrophorétique entre l'hémoglobine drépanocytaire S et l'hémoglobine A de l'adulte normale.
- En 1956 – 1959 la lésion moléculaire est analysée par **Ingram** la différence positive de charge observe en électrophorèse est due à la substitution en position de la chaîne B d'un acide glutamique par la valine.

- En 1960 a été démontré que cette substitution d'acide amine était due au remplacement dans le codon 6 d'une Adénine par une Thymine, GAG devient GTA.

L'anomalie drépanocytaire est la plus fréquente, touchant l'Afrique noire où le taux eux varier de 1 à 45 p 100 selon les régions, atteint aussi le bassin méditerranéen, l'Amérique centrale, le sud de l'Inde, le Proche Orient, les Antilles. [8]

2. diagnostic positif :

cliniquement, le diagnostic est soupçonné sur l'association de :

- Une ~~anémie~~ ^{anémie} plus au moins sévère, remplaçable de signe fonctionnels et de pâlour cutanéomuqueuse.
- Un subictère ~~conjunctival~~ ^{conjunctival}, ou un ictère fronc cutanéomuqueuse avec urines orangées et selles non décolorées.
- Une splénomégalie souvent modérée.

Le diagnostic doit obligatoirement être confirmé biologiquement par la mise en évidence de la coexistence de :

- Signes d'hyperdestruction :

- L'hyperbilirubinémie libre est le critère biologique majeur.
- La baisse de l'haptoglobine plasmatique est constante dans toute hyperhémolyse et a une grande valeur diagnostique.

Le fer sérique est plus ou moins élevé. [4]

3. Diagnostic différentiel

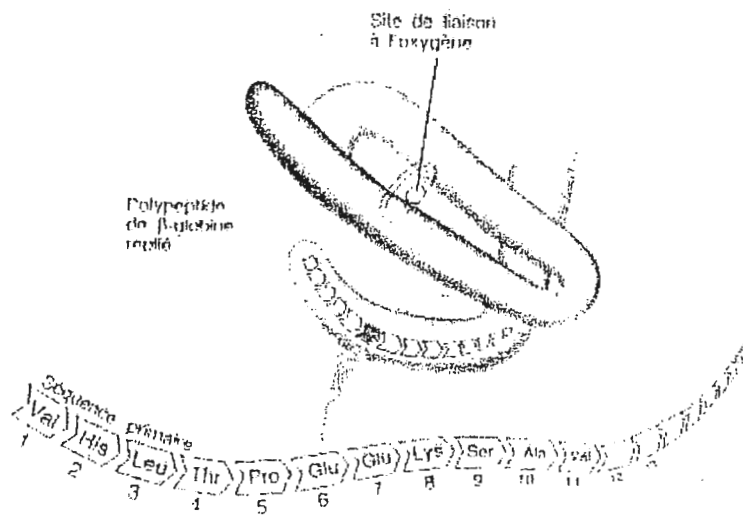
Tableau N° III : [4].

	Normale	Drépanocytose		thalassémie		Hémoglobinoses C		Hémoglobinoses E	
Hémoglobine g/dl	12 - 16	< 12		< 7		Normale			
VGM Fl ou μ^3	80 - 100	90 - 100		< 80		Normale			
Réticulocyte ($\times 10^3$) mm^3	50 - 100	200 - 800		120 - 150					
Électrophorèse de l'Hb (%)		homo	hétéro	homo	hétéro	homo	hétéro	homo	hétéro
A									
S	97- 98	00	60	(--)	(-)	00	(++)	00	60-70
F	00	100	40	00	00	00	00	00	00
A ₂	<1	00	0	40-90	<1	00	00	5	00
C	2.5-3.5	00	<3.5	+	>3.5	00	00	00	00
O (arab)	00	00	00	00	00	100%	(+)	00	00
E	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	00	00	00	00	00	00	00	95	30-40
Particularité clinique	normale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ crise vaso-occlusive. ▪ Infarctus splénique. ▪ Ulcère de jambes. ▪ Lésions pulmonaires. ▪ Hématurie. ▪ Atteinte tubulaire rénale. 		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les fractus osseuses. ▪ Pâleur discrète. ▪ Spléno-mégalie. ▪ Asymptomatique. ▪ Les infections à répétition. 		<ul style="list-style-type: none"> ▪ La rétibopathie. ▪ La nécrose de la tête fémorale. ▪ La décompensation au cours de la grossesse. 		Généralement asymptomatique.	

Tableau n° IV : Caractéristiques hématologiques des syndromes drépanocytaire [23]

	normal e	A/S	S/S	S/C	S/β ⁰	S/β ⁺	S/O(arab)
Hémoglobine g/dl	12 - 16	normale	07 -09	10 -12	07 - 09	09 -12	6.1 - 9.9
VGM Fl ou μ ³	80- 100	normale	normale	75	70	70	65
Réticulocyte (x 10 ³) mm ³	50 - 100	normale	200 - 600	100 - 200	200 - 400	200-300	60 - 600
Sévérité	+++	+++	+++	+	+++	+ à ++	+++
Fréquence relative	Normal e	+++	+++	++	+	+	rare
Électrophor èse de l'Hb (%)	97-98	55 - 60	00	00	00	00 -25	00
A	00	40 - 45	77 - 96	50 - 55	80 - 90	55 -90	55
S	<1	< 2	02 - 20	<5	5 - 15	5 - 15	-
F	2.5 -	2.5 - 3.5	2.5 - 05	-	04 - 06	04 - 06	-
A ₂	3.5	00	00	50	00	00	00
C	00	00	00	00	00	00	45
O (arab)	00						
Particularité clinique	Normale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atteinte tubulaire rénale. ▪ Infarctus splénique. ▪ Manifestation vaso-occlusive ▪ Hématurie. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ crise vaso-occlusive ▪ Infarctus cardiaque ▪ Lithiase biliaire. ▪ Lésions pulmonaires ▪ Ulcère de jambes 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atteinte rétinienne ▪ Splénomégalie. ▪ La nécrose de la tête fémorale. ▪ Viscosité sanguine. 	Splénomégalie responsable d'hyersplénisme		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atteinte rétinienne ▪ Ulcère de jambes ▪ Dactylites. ▪ Nécrose vasculaires ▪ Ostéomyélite ▪ Accident cérébro-vasculaire

CHAPITRE IV
L'HEREDITE DE LA DREPANOCYTOSE



Dans l'hémoglobine propre à l'anémie falciforme, Glu en position 6 est remplacé par Val

Fig 19 : portion de la structure primaire du polypeptide de β globine et sa localisation dans le polypeptide replié complet, l'acide aminé modifié dans le polypeptide de β globine associé à l'anémie falciforme est également indiqué [5]

2- Mode de transmission :

la drépanocytose est une maladie héréditaire, dont la transmission se fait selon un mode intermédiaire ont la dominance et la récessivité (hérédite semi-dominante ou intermédiaire).

Ce mécanisme explique les différences dans l'expression clinique, selon que le sujet est porteur du gène pathologique sur un seul chromosome ou sur les deux chromosomes.

- un sujet porteur hétérozygote d'une anomalie hémoglobinique transmet l'anomalie à la moitié de ses enfants, quand il est marié avec un sujet sain.

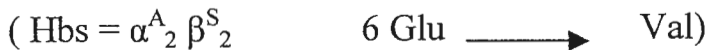
En cas de mariage entre deux hétérozygotes, on a les pourcentages suivants :

- 25 P100 des enfants homozygotes.
- 50 P100 des enfants hétérozygotes.
- 25 P100 des enfants indemnes.[20]

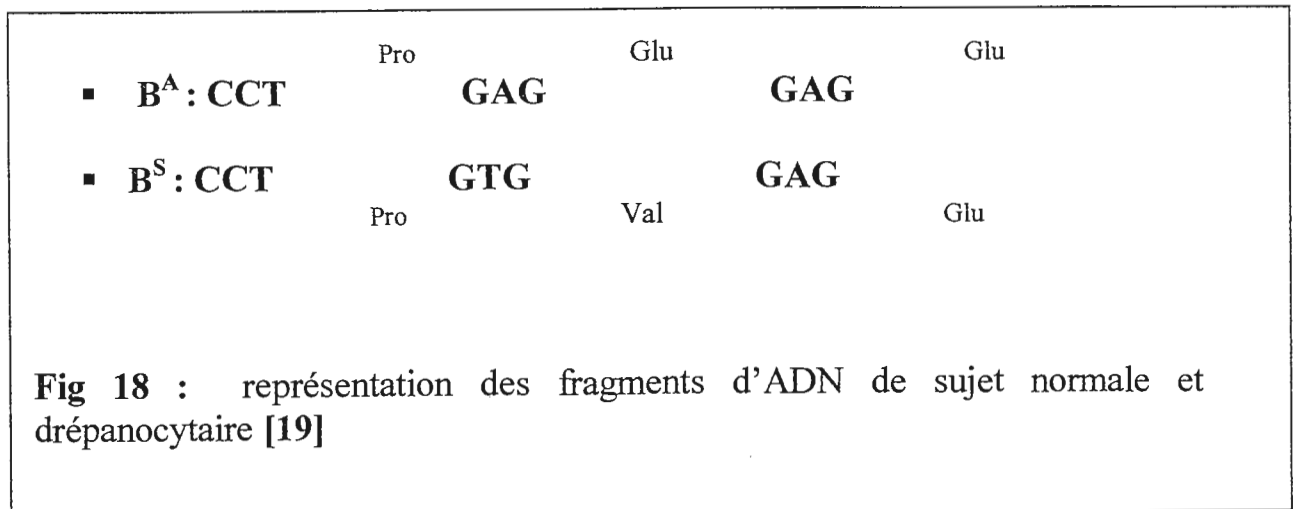
IV- L'HEREDITE DE LA DREPANOCYTOSE

1. La génétique :

La maladie drépanocytaire est conditionnée génétiquement par une mutation ponctuelle qui se produit sur une paire de bases dans le gène B. Cette mutation est caractérisée par le remplacement du 6^{ème} acide amine de la B globine, qui est le glutamate par la valine. [13].



cette substitution d'acide aminé est conditionnée par une modification du triplet de nucléotide. Codant pour l'acide glutamique (GAG) dans ce triplet la 2^{ème} base azotée l'Adénine est remplacée par le Thymine est le triplet devient (GTG) qui code la valine. [22]



Les fractions pathologiques représentent la totalité du pigment dans la forme homozygote (100% S), tandis que les formes hétérozygotes associent une fraction normale A₁, est une fraction S.

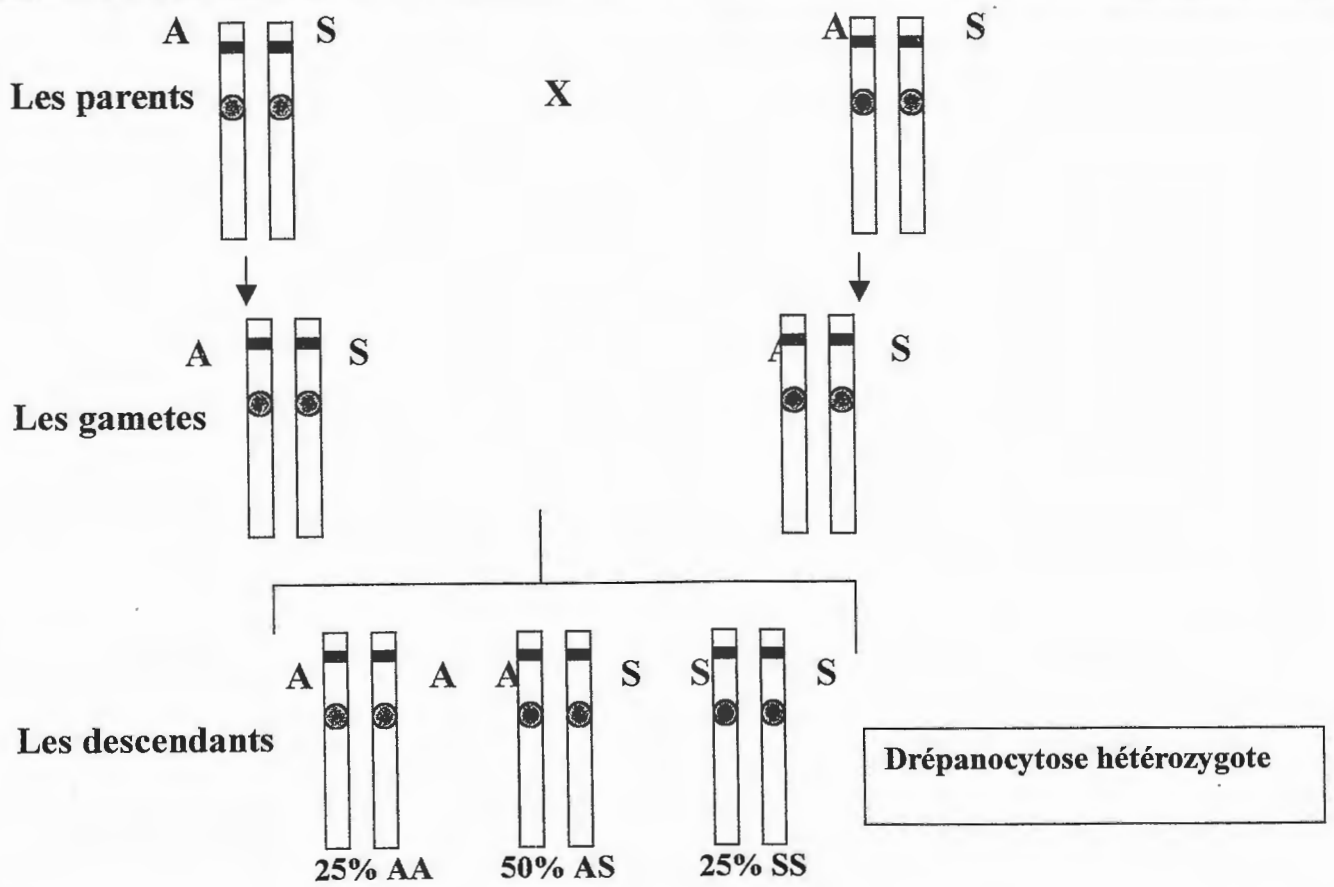
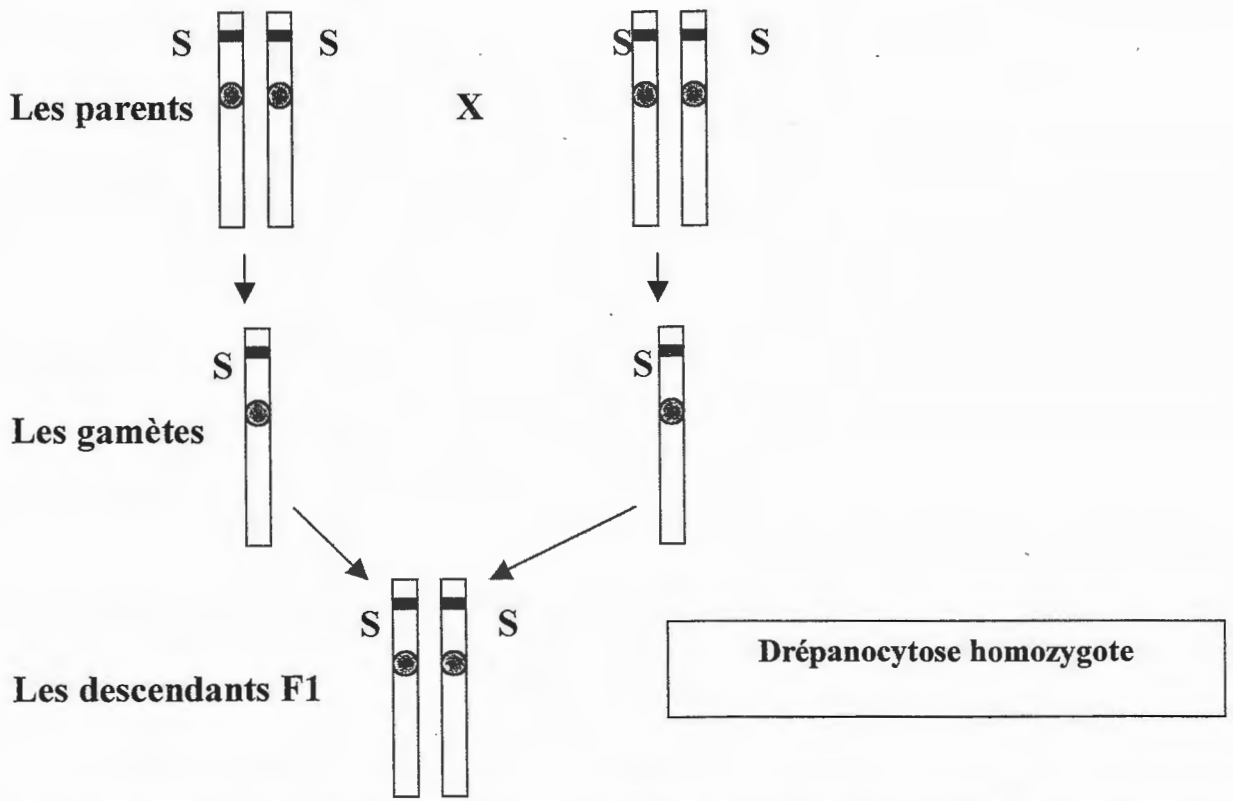


Fig 21 : la transmission génique de la drépanocytose homozygote et hétérozygote [10]

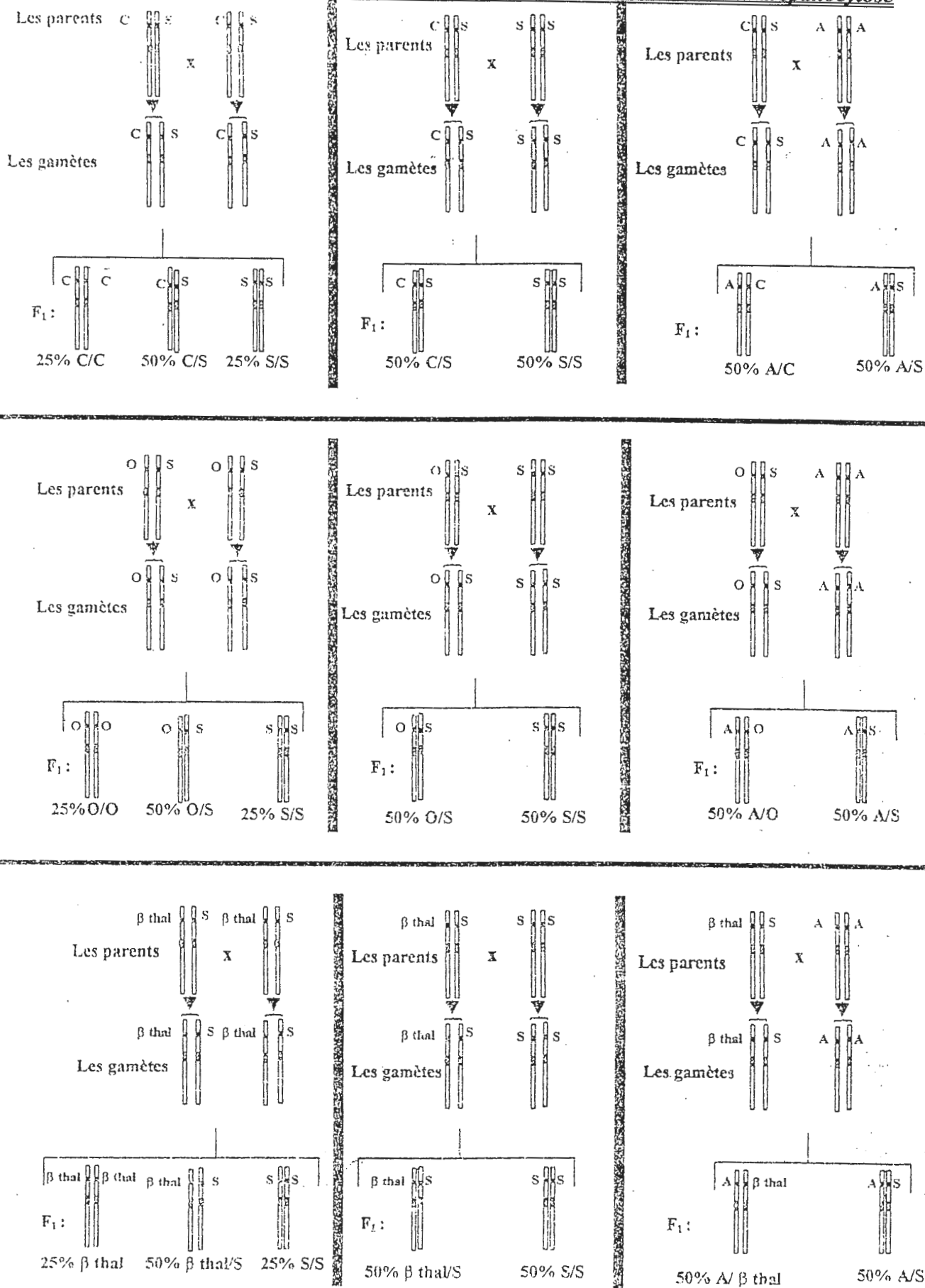


Fig. 20 La transmission génique de la drépanocytose composite. [10]

CHAPITRE V
MATERIEL ET METHODES

I- INTRODUCTION :

Ce travail a été réalisé au niveau du secteur sanitaire de TAHER. Il repose sur la recherche des anomalies de l'Hb chez certaines anémiques.

II/ PRELEVEMENT :

On utilise généralement un prélèvement de sang veineux rendu incoagulable par un puissant chélateur du calcium l'EDTA(Ethylène Diamine Tétracétate de Sodium) dont le rapport anticoagulant impérativement respecté sang et : 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang total prélevé.

Chez l'adulte ; en prélève 4,5 de sang.

III/ ELEMENTS DE DEPISTAGE DES ANOMALIES DE L'HEMOGLOBINE :**1- Dosage de l'Hb : (méthode de DRABKIN)**

Sous l'action de ferricyanure de potassium et de cyanure de potassium, l'Hb est transformé en cyanémé-thémoglobine qui mesure coloumétriquement à une longueur d'onde = 540 nm, l'intensité de la coloration et proportionnelle à la concentration d'hémoglobine.

Valeurs normales :

La femme : 13-16 g/dl

L'homme : 13-16 g/dl

L'enfant : 10-12 g/dl

Nouveau né : 22 g/dl

Résultat des taux d'hémoglobine peut être confirmé et complété par :

➤ Le taux d'hématocrite (Ht) :

Est le rapport entre le volume occupé par les globules rouges et le volume de sang total.

Valeurs normales :

L'homme : 45 ± 5%

La femme : 42 ± 5%

Nourisson : 37 %

Nouveau né : 55%

➤ **Le comptage du taux de globule rouge :**

On compte au microscope (calcule) le nombre de globule rouge d'un sang rendu incoagulable avec une dilution connue dans un volume déterminé (cellule de malassez).

Valeurs normales :

L'homme : $(4,5 \text{ à } 5,5) \cdot 10^6 \text{ GR/mm}^3$

La femme : $(4,2 \text{ à } 5) \cdot 10^6 \text{ GR/mm}^3$

L'enfant : $(4,2 \text{ à } 5,2) \cdot 10^6 \text{ GR/mm}^3$

Nourrisson : $(3,8 \text{ à } 5,2) \cdot 10^6 \text{ GR/mm}^3$

Nouveau né : $(5 \text{ à } 6) \cdot 10^6 \text{ GR/mm}^3$

➤ **VGM : (volume globulaire moyen) :**

Exprimé en microns cube (μ^3) ou mieux en femtolitres ($\text{fl} = 10^{-15}$ litres), et calculé selon la formule :

$$\text{VGM} = \frac{\text{Ht} \times 10}{\text{Nombre de GR en millions}}$$

Valeurs normales : $87 \pm 5 \mu^3$

Un VGM définit : 1- normocytose VGM. normal.

2- microcytose VGM abaissé.

3-macrocytose VGM augmenté.

2/ Test de falciformation :

Permet la mise en évidence l'Hbs

Lorsque la pression de l'oxygène baisse au-dessous d'un niveau déterminé en présence d'un réducteur métabisulfite de sodium les hématies contenant l'Hbs prennent un aspect en faucilles ou en croissants.

Résultats : Quand les hématies contiennent l'Hbs se déforment, sauf s'il existe un taux important l'Hbf.

Chez les hétérozygotes (AS) les hématies ont une forme trapuée.

Chez les homozygotes (SS) la forme des hématies est effilée en faucilles avec un prolongement.

3/ L'électrophorèse de l'Hb :

L'électrophorèse de l'hémoglobine c'est le test essentiel qui nous permet de diagnostiquer la drépanocytose.

Principe : la technique nécessite une hémolyse de l'échantillon de sang prélevé sur anticoagulant (EDTA) pour libérer l'Hb, ensuite cet hémolysat est placé dans un champ électrique continue ce qui permettra la migration et la séparation des différentes fractions de l'Hb et individualiser l'Hb anormale.

3-a : Accessoire nécessaire :

- Alimentation.
- Chambre de migration.
- KIT applicateur.
- Micro pipette 0 à 10 µl .
- Micro pipette 10 à 100 µl.
- Bacs de coloration et portoirs.
- Etuve "IOD".

3-b : Réactifs Et Consommables :

- Bandes acétates titan III-H.
- Tampon "supre heme " (1 sachet dilué dans 100ml eau distillée) .
- Solution clarifiante (clear aid).
- Contrôle A1,A2 (a utiliser pur cas déjà hémolyse).
- Réactif hémolysant.
- Papier buvard.
- Ponts papiers.
- Méthanol pur.
- Acide acétique pur.

3-c / Technique :

- Trempages des bandes 15 mn dans le tampon.
- Préparation de l'hémolysat :
 1. 1 Volume pack globules + 6 volumes hémolysat.

2. 1 volume sang total + 3 volumes hémolysat.

- Laisser reposer 5mn.
- Volume échantillon = 5 μ l hémolysat.
- Une application cathodique.
- Migrations 20 minutes à 350 volts.

3-d / Coloration :

- Rouge ponceau : 3mn.
- Décoloration : 3 mn dans 3 bains successifs acide acétique à 5 %.
- Déshydratation : 2 mn dans 2 bains successifs de méthanol pur.
- Transparisation : entre 5 et 10 mn dans un mélange composé de :
 1. 71% méthanol pur.
 2. 25%acide acétique pur.
 3. 4% solution clarifiante.
- Après le bain de solution clarifiante, bien égoutter la bande (placée verticalement sur un coin) pendant environ 1mn.
- Mettre à l'étuve pendant 10 mn entre 50°C et 60°C.
- Essayer parfaitement les 2 faces de la bande.

3-e / Lecture :

- Lire avec densitomètre à 525 nm. [9]

CHAPITRE VI

Résultats

VI : Résultats :

D'après les résultats d'étude de l'électrophorèse de l'Hb nous avons classé les différentes populations de patients.

Population I : On prend cette population comme témoin. comporte d'un sujet normale.

Population II : cette population est constituée de 5 patients drépanocytaires homozygotes : 4 enfants hospitalisés au service de pédiatrie (Age : 1,4,6,11 ans) et un homme de 23 ans qui a consulté en ambulatoire

Population III : est constituée de 5 malades drépanocytaires hétérozygotes : un enfant de 6 ans hospitalier au service de pédiatrie, 2 femmes : La 1^{ère} de 29 ans extra hospitalier, la 2^{ème} de 28 ans hospitalier au service de maternité, et 2 hommes extra hospitalier (Age : 28,36ans).

Population IV : est constituée de 4 malades B-thalaso-drépanocytaires : 2 enfants hospitalisés au service pédiatrie (Age : 5,9 ans), -une femme de 46 ans, et un homme de 20 ans extra hospitalier.

Population I : Sujet témoin

Tableau N° V :

Sexe	Age	Motif de consultation	GR/mm³	GB/mm³	Hb g/dl	HT %	PL /mm³	VGM μ³	CCMH %	TGMH pg	Frotis sanguin	Test de falciformation	Profilé électrophorétique
Homme	26 ans		4,4.10 ⁶	7200	14,8	37,7	196000	85,6	29,7	34,7		-	A1=100%

Population II: Drépanocytose Homozygote.

Tableau N°VI

N°	Sexe	Age	Motif de consultation	GR/mm ³	GB/mm ³	Hb g/dl	HT %	PL /mm ³	VGM μ ³	CCMH %	TGMH pg	Frotis sanguin	Test de falciformat-ion	Profilé électrophorétique
1	Enfant (garçon)	1 ans	-admis pour une transfusion sanguine -Fièvre	1,9.10 ⁶	7500	5,6	16,8	194000	85,0	33,3	28,3	-Présence des hématies en faucilles	+	F = 4,2% S = 95,8%
2	Enfant (filie)	6 ans	-admis pour une transfusion sanguine. -douleurs des membres supérieurs et inférieurs.	1,0.10 ⁶	3300	4,0	8,9	222000	86,2	211,9	38,8	-Amiso-poikilocytose -polycromatophilie	+	S=100%
3	Homme	23 ans	- fièvre.	1,8.10 ⁶	19300	8,7	21,9	203000	116	39,7	46	- Amiso-poikilocytose	+	S=100%
4	Enfant (garçon)	4 ans	-Fièvre. -Douleur articulaire.	1,7.10 ⁶	11900	6,0	17,5	201000	10,3	34,3	35,3	-Présence des hématies en faucilles -Amiso-poikilocytose	+	S=100%
5	Enfant (filie)	11 ans	- Fièvre. -Douleur abdominale	1,7.10 ⁶	9500	7,5	19,5	546000	114	38,3	43,6	-Amiso-poikilocytose - polychromatophilie -hématies en faucilles.	+	S=96,8% F=3,2%

5A

Population III : drépanocytose hétérozygote :

Tableau N° :VII

N°	Sexe	Age	Motif de consultation	GR/mm ³	GB/mm ³	Hb g/dl	HT %	PL /mm ³	VGM μ ³	CCMH %	TGMH pg	Frotis sanguin	Test de falciformat-ion	Profilé électrophorétique
1	Homme	28 ans	-Asthenie -Douleurs articulaires prédominant aux membres inférieurs	2,3.10 ⁶	3690	8,9	22,8	220000	95,6	39	37,2	-Présence des cellules en faucilles	+	A1= 61,6% S = 38,4%
2	Femme	29 ans	-Asthénié.	2,9.10 ⁶	3600	8,6	20,5	177000	82	34,9	35,9	-hématies en faucilles	+	A1= 62,5% S = 37,5%
3	Homme	36 ans	-Douleurs articulaires -Dispnée.	3,9.10 ⁶	5400	9,3	29	215000	87,9	30,2	30,1	-Érythrobl- -astose -Hématies en faucilles	+	A1= 50,8% S = 49,2%
4	femme	28 ans	-Rares douleurs articulaires et lombaires.	3,6.10 ⁶	7600	8,4	25	240000 0	90,1	35	34	- Érythrobl- -astose -Hématies en faucilles	+	A1= 57,6% S = 39,8% A2=2,5%
5	Enfant (garçon)	6 ans	- Fièvre. -un point de splénomégalie	2,2.10 ⁶	8200	5,9	19	300000	86	31	32	-présence des hématies en faucilles -amiso-poikilocy- -se.	+	A1= 39,4% S = 54,3% A2=3,6%

AS

Population VI : B Thalasso-drépanocytose :
Tableau N° :VIII

N°	Sexe	Age	Motif de consultation	GR/mm ³	GB/mm ³	Hb g/dl	HT %	PL /mm ³	VGM μ ³	CCMH %	TGMH pg	Frotis sanguin	Test de falciformat-ion	Profil électrophorétique
1	Femme	46 ans	-Paleurs cutameomuque-se.	2,6.10 ⁶	6600	6	21	140000	69,2	28,5	22,6	- cellules en faucilles. -poikilocytose. -Microcyt-se.	+	F= 21,5% S = 78,5%
2	Enfant (fille)	5 ans	Splénomégalie.	2,8.10 ⁶	8800	6	21	150000	75	28,5	21,4	Cellules en faucilles. -poikilocytose. -Cellules en cibles.	+	F=33,6% S = 66,4%
3	Homme	20 ans	-Crises douloureuses des membres.	3,6.10 ⁶	7000	7,2	25	120000	69,4	28,8	20	Cellules en faucilles. -Microcyt-se.	+	F= 29,3% S = 64,1%
4	Enfant (garçon)	9 ans		3,2.10 ⁶	15800	6,7	23	140000	71,8	29	20,9	Cellules en cibles.	+	F= 45,6% S = 54,4%

53

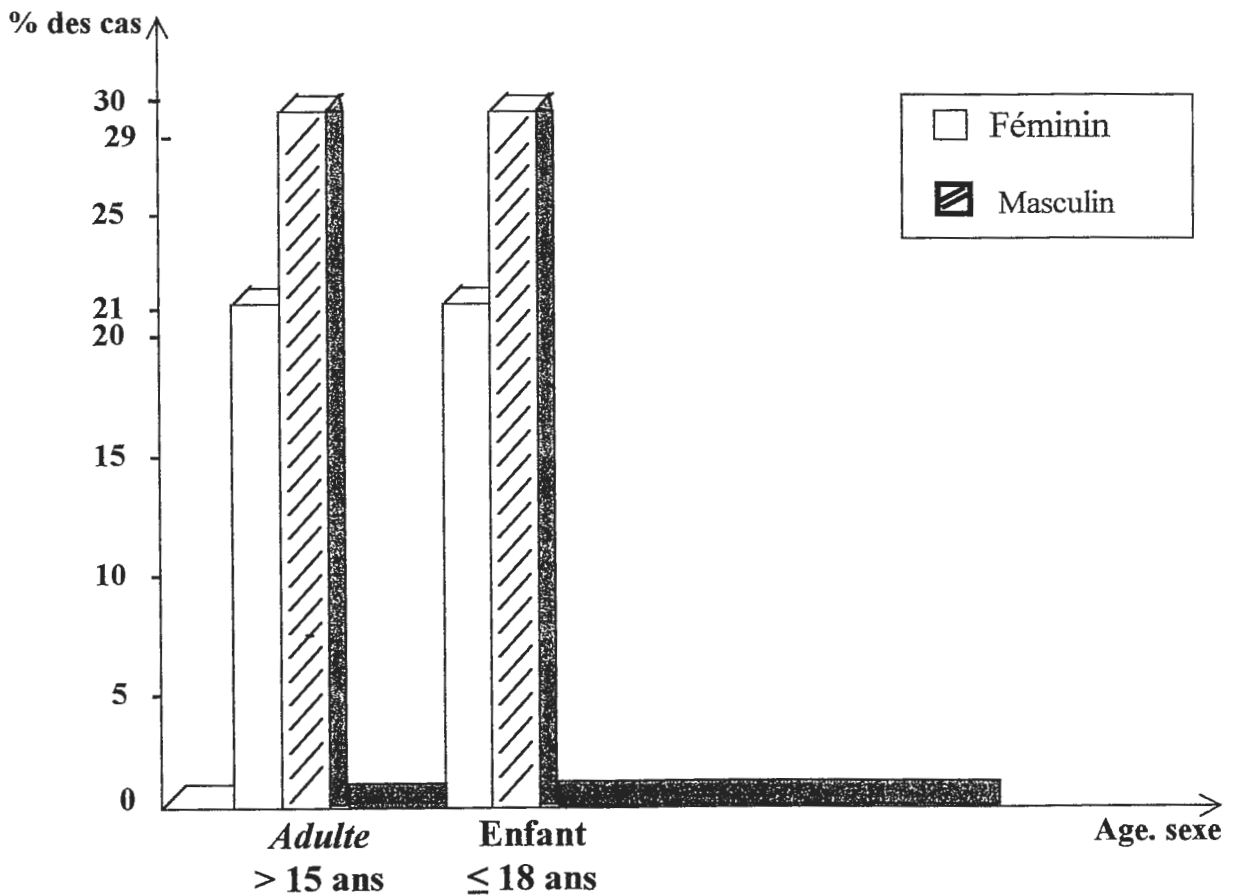
CHAPITRE VII
ETUDE STATISTIQUE

ETUDE STATISTIQUE :

Répartition des cas selon le sexe et l'âge :

Age	sexe	Nombre de sujet atteint	Pourcentage
Adulte >18 ans	Féminin	3	21 %
	masculin	4	29 %
Enfant ≤15 ans	Féminin	3	21 %
	masculin	4	29 %

Tableau N° XIII : la répartition des patients atteints par la drépanocytose selon l'âge et le sexe.



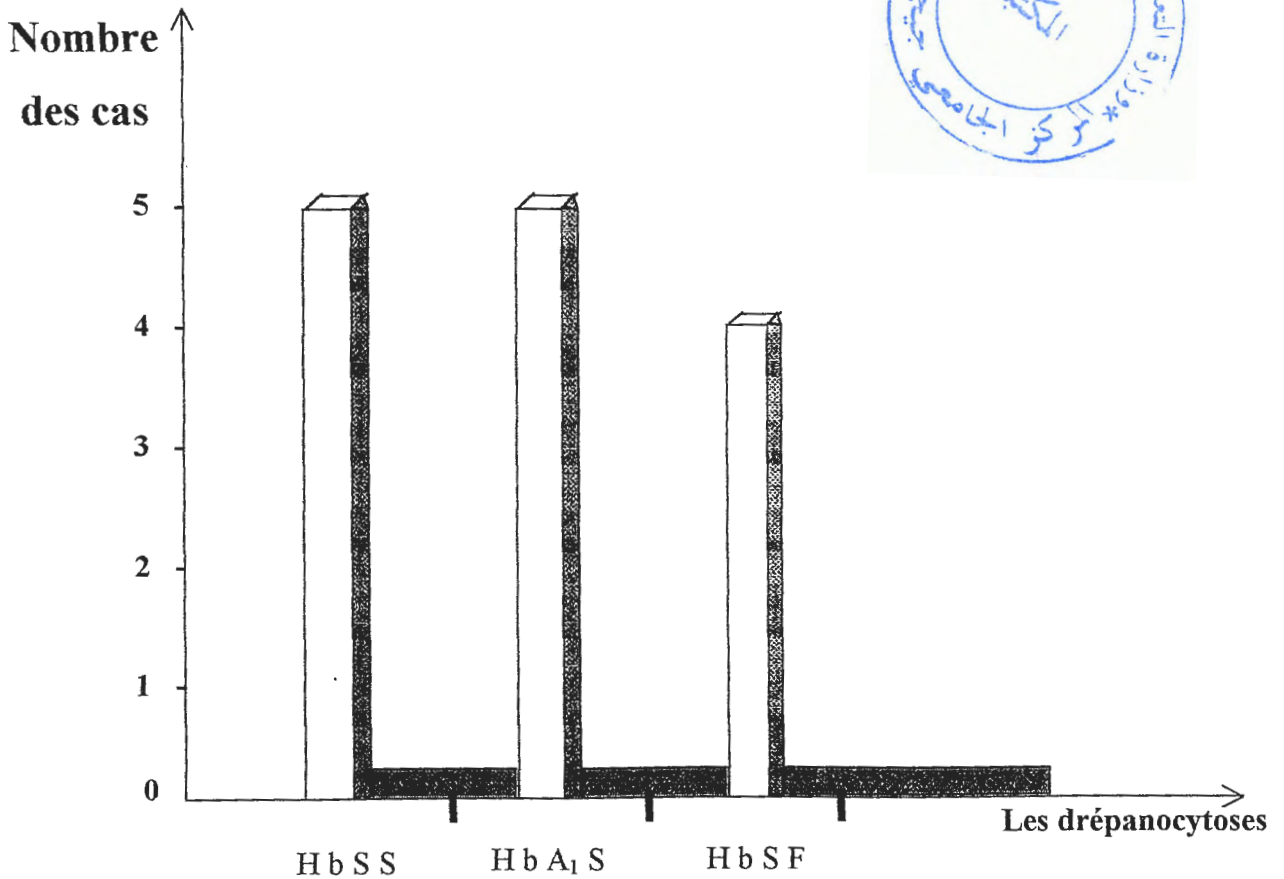
Histogramme N°1 : la répartition des cas selon l'âge et le sexe.

Répartition des cas selon le type de drépanocytose :

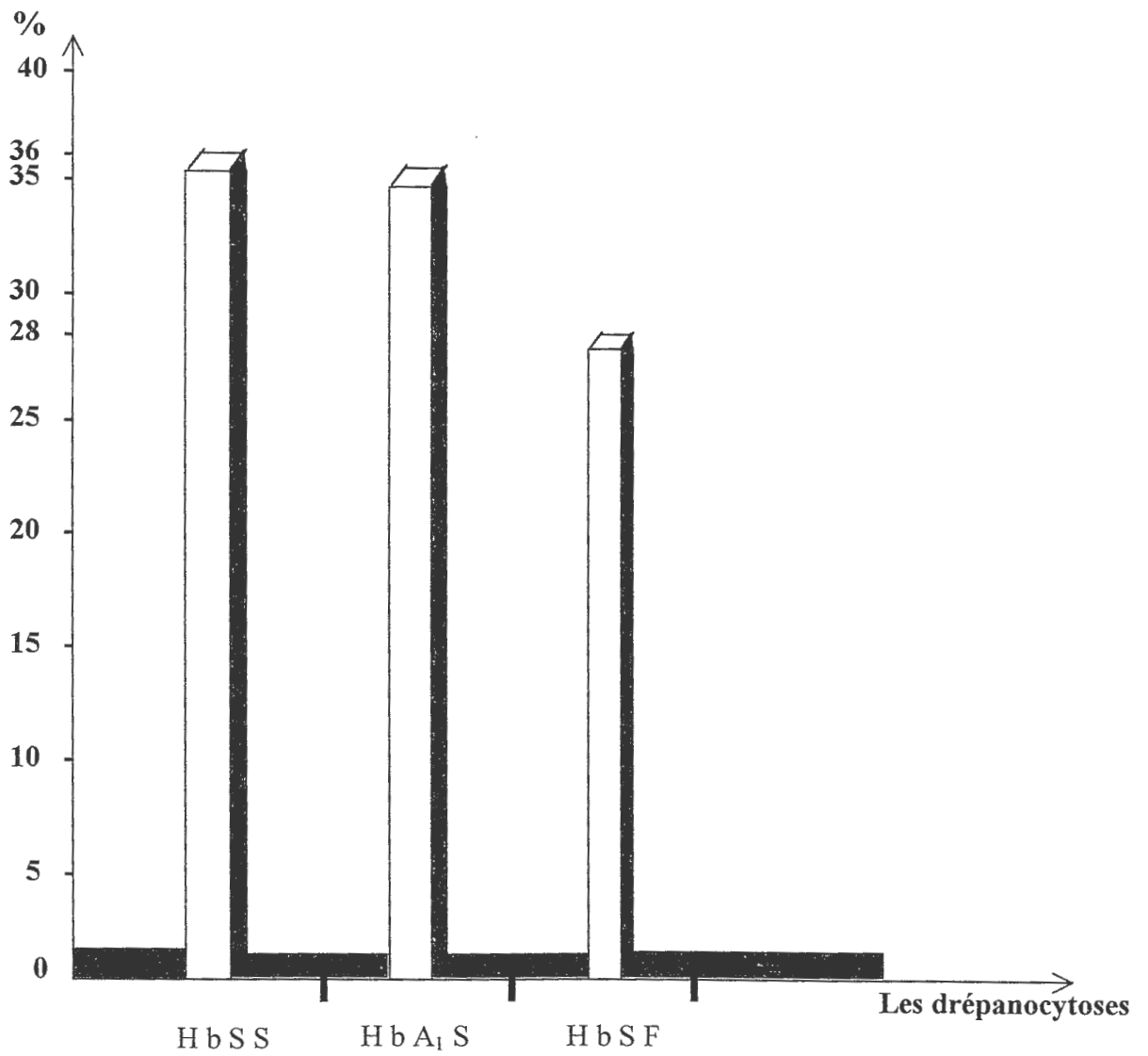
A l'aide de l'électrophorèse d'hémoglobine ont a pu révéler les différents types de drépanocytose qui sont classés dans le tableau suivant :

	Population I	Population II	Population III
	Drépanocytose homozygote Hb SS	Drépanocytose hétérozygote Hb A ₁ S	B-thalasso-Drépanocytose Hb SF
Nombre du sujet atteint	5	5	4
Pourcentage du sujet atteint	36 %	36 %	28 %

Tableau N° XIV : le pourcentage de l'atteint par drépanocytose chez les différents patients.



Histogramme N° 2 : la répartition des différents patients selon le type de drépanocytose.



Histogramme N° 3 : le pourcentage des différents patients selon le type de drépanocytose.

CHAPITRE VIII

Discussion

Discussion:**Population I: (témoin)**

L'hémoglobine normale présente seulement une bande Hb A1 importante avec une petite bande HbF chez les enfants moins de 2 ans.

Population II : La drépanocytose S ; état homozygote se manifeste par :

- Large prédominance de l'Hb S chez les 5 patients, dont 3 présentent 100% d'Hb S, chez les 2 autres patients on retrouve la fraction Hb F (3,2%, 4,2%).
- Test de falciformation est positif chez tous les patients.
- Le reste des résultats biologiques est presque identique.

Population III : La drépanocytose S état hétérozygote se manifeste à la fois par : La présence de l'Hb S et de l'Hb A1 ; Cette dernière est quantitativement plus importante.

- On retrouve des petites fractions Hb A2 chez les 2 derniers patients (2,5%, 2,6%).
- Test de falciformation est positif chez tous les patients.

Population IV : La B -thalasso-drépanocytose se manifeste à la fois par : la présence de l'Hb F et de Hb S ; Cette dernière état quantitativement est plus importante.

- Test de falciformation est positif.
- Diminution de taux de l'Hb et le taux d'hématocrite.
- VGM inférieur à la normale.

Tableau N°IX :

Piste d'électrophorèse	Tracés	HbS totales	HbA1 %	HbF %	HbA2 %	HbS %	Pathologie
<p>Sens de migration</p> <p>DEPOT</p> <p>HbA₂</p> <p>HbS</p> <p>HbA</p>	<p>LABORATOIRE CENTRAL S.S Taher</p> <p>HEMOGLOBINE TOTAL : 14,8g/dl</p> <p>A₁ : 100%</p>	Normal	100%	0	0	0	Normal
<p>DEPOT</p> <p>HbA₂</p> <p>HbS</p> <p>HbF</p> <p>HbA</p>	<p>LABORATOIRE CENTRAL S.S Taher</p> <p>HEMOGLOBINE TOTAL : 8,7g/dl</p> <p>S : 100%</p>	↓ ↓	0	0	0	100%	Drépanocytose Homozygote
	<p>LABORATOIRE CENTRAL S.S Taher</p> <p>HEMOGLOBINE TOTAL : 5,6g/dl</p> <p>S : 95,8%</p> <p>F : 4,2%</p>	↓ ↓	0	4,2%	0	95,8%	Drépanocytose homozygote
<p>DEPOT</p> <p>HbA₂</p> <p>HbS</p> <p>HbA</p>	<p>LABORATOIRE CENTRAL S.S Taher</p> <p>HEMOGLOBINE TOTAL 8,6g/dl</p> <p>A : 62,5</p> <p>S : 37,5</p>	↓ ↓	62,5%	0	0	37,5%	Drépanocytose hétérozygote
<p>DEPOT</p> <p>HbA₂</p> <p>HbS</p> <p>HbF</p> <p>HbA</p>	<p>LABORATOIRE CENTRAL S.S Taher</p> <p>HEMOGLOBINE TOTAL: 7,2g/dl</p> <p>F: 29,3%</p> <p>S: 64,1%</p>	↓ ↓	0	29,3%	0	64,1%	B-Thalasso- Drépanocytose

Nous avons choisi deux patients pour la population II et un seul patient pour les autre population (III et IV).

Transmission héréditaire :

Son étude est basée sur l'enquête familiale par :

- Interrogatoire qui recherche les antécédents médicaux des parents, grand parents et de la fratrie (frère et sœur).
- Exploration biologique (teste de falciformation, l'électrophorèse de l'Hb, FNS) de chacun d'eux.

Les résultats trouvées nous aiderons énormément pour l'étude de la transmission héréditaire.

1^{ère} Enquêtes : Population II : Cas N°1

Drépanocytose homozygote :

Le malade est un garçon (originaire TAHER)

Tableau N° : X

	Sujet	Age	Résultats
Le couple	Le père	36 ans	Drépanocytose hétérozygote : A1=50,8% S=49,2 %
	La mère	27 ans	Drépanocytose hétérozygote : A1=56,9% S=43,1 %
Nombre d'enfants 2	1 ^{ER} garçons	4 ans	Drépanocytose homozygote: S=100 %
	2 ^{ème} garçon	1 ans	Drépanocytose homozygote: F=4,2% S=95,8 %

Explication :

- Le couple est drépanocytaire hétérozygote.
- Deux enfants atteint de la drépanocytose homozygote.

Donc : les résultats qu'on a obtenus prouvent la transmission des caractères héréditaires de parents à leurs enfants, cela conforme à la 1^{ère} loi de Mendel.

2^{ème} Enquête : Population III : Cas N° 4 :

Drépanocytose Hétérozygote :

Le malade est une femme de 28 ans (originaire : Taher).

Tableau N°XI :

	Sujet	âge	Résultats
<i>Le couple</i>	Le père	38ans	Sujet normal HbA1
	La mère	28ans	Drépanocytaire hétérozygote $A_1=57,6\%$ $S=39,8\%$ $A_2=2,5\%$
Nombre d'enfants « 3 »	1 ^{ère} fille	9ans	Sujet normal HbA1
	2 ^{ème} fille	7ans	Sujet normal HbA1
	3 ^{ème} fille	3jours	Drépanocytaire hétérozygote $A_1=20\%$ $S =10\%$ $F =69\%$

Explication :- Seulement la mère qui est drépanocytaire hétérozygote. Le père est sain.

- Deux enfants sains.
- Un enfant atteint de la drépanocytose hétérozygote.

Donc : les résultats qu'on a obtenus prouvent l'apparition d'un nouveau caractère chez un enfant ($F=69\%$) en réalité présence dans la vie foetale.

3^{ème} Enquête : population IV : Cas N°2

B- Thalasso-Drépanocytose:

Le malade est une fille (originaire : Taher).

Tableau N° XII :

	Sujet	âge	Résultat
<i>Le couple</i>	Le père	32ans	Drépanocytaire hétérozygote $A_1=49\%$ $S=50\%$ $A_2=1\%$
	La mère	25ans	Drépanocytaire hétérozygote $A_1=60\%$ $S=40\%$
Nombre d'enfants « 2 »	1 ^{ère} fille	5ans	β Thalasso-Drépanocytaire $F=33,6\%$ $S=66,4\%$
	2 ^{ème} garçon	3ans	Thalassémique homozygote $F=100\%$

Explication : - Le couple est drépanocytaire hétérozygote.
- Un enfant de β Thalasso-Drépanocytaire.
- Un enfant atteint de la thalassémie.

Donc : Les résultats qu'on a obtenus prouvent l'apparition des nouveaux caractères chez deux enfants qui étaient récessif chez les parents.

Conclusion

Conclusion

Les complications à type de crise hémolytique aigue avec anémie franche rencontrée chez les patients drépanocytaires particulièrement homozygotes nécessitant des hospitalisations et des transfusions répétées on données des risques infectieux (surtout et immunohémolyse).

Les problèmes de prise en charge et des dépenses engagées par la famille du malade et par le système de santé publique de plus en plus alourdi par le poids des maladies chroniques.

La hantise de transmettre la tare à plusieurs générations avec toutes les conséquences que cela entraîne sur la descendance.

Pour toutes ces raisons, une profonde réflexion doit être engagée pour dépister et ralentir la multiplication des cas homozygotes.

Dans tous les cas, la prévention est fondamentale mais difficile à mettre en œuvre dans ce genre de pathologie et pourtant nécessaires.

Nous pourrions peut être suggérer :

- D'éviter les mariages entre drépanocytaires même hétérozygotes ou encourager l'adoption d'enfants chez les couples drépanocytaires.
- Une enquête familiale pour tout cas dépisté.

BIBLIOGRAPHIE

1. AUDIJIE CI, DUPOUT G et ZONSGAIN F, 1995, Principe des méthodes d'analyse biochimique, Tome 1, P. 165-178.
2. AUCHERC G et KHYAT D, 1990, Révision accélérée, 2^{ème} ed, Maloine, France, P. 78-83 , P. 110-120 .
3. BERG P et SINGER M, 1993, Le langage de l'hérédité, Comprendre et maîtriser les gènes, Vigot, P. 1122-1130.
4. BELHANI M, 1989, Hématologie, P. 159-163.
5. BERHAD E , 1997, Atlas de poche génétique, Luçon, P. 123-125, 156-160.
6. BOUCHEGRA T, 1990, Analyse instrumentale en biochimie, OPU, P. 129-140 .
7. BOREL J, CARON J, CHANARD J, GAUGEON J, LEUTNEGGER M, MAQUART F, PORTRON, G RANDOUXA et ZEITOUN P, 1984, Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie, P. 844 – 854.
8. DIEUSAERT P, 1996, Guide pratique des analyses médicales, P. 10-15, P. 30-46.
9. LABORATOIRE Hélène France. (*fiche technique*) .
10. HARISON T, 1993, Principe de médecine interne, Hématologie et oncologie, 5^{ème} ed, Flammarion, Paris, P. 184.
11. HARVEY L, JAMES D et DAVID B, 1989, La cellule, ed, Dacarie, Canada, P. 59-69.
12. HERBET E, 1982, Biochimie, P. 20-25.
13. HOC, WILLIS B, SHEN T, DASHEN N et SUN D, 1996, Rol of alpha 114 and B87 amino-acide of hémoglobine S, implication for gène therapy, P. 236
14. Internet 2001, <http://www.Im30inserm.fr/hémoglobine>
15. KAMOOUN P, 1975, Appareils et méthodes en biochimie, P 29-35.
16. KAMOOUN P, 1987, Appareils et méthodes en biochimie, P 89-93.
17. KRUIH J, 1982, Biologie cellulaire et moléculaire, P. 178-180.

18. LOUISOT P, 1983, Biochimie générale et médicale, P. 60-63.
19. MCHNES R, THOMPSON W et WILLARD F, 1995, Génétique médicale, Flammarion, Paris, P. 17-18.
20. ORSINI A, PERVIMOND H et MATTEI M, 1988, Hématologie pédiatrique, P. 53-60.
21. Professeur BOLONOVSKI, 1987, Biochimie, les protides, OPU, P. 90.
22. SULTAN C , GAUALTHEILMAN M et INBERT M, 1994, Aide mémoire d'hématologie, 4^{ème} ed, Flammarion, Paris, P. 260- 264.
23. WAJCMAN H, RANTZ B et GIROT R, 1992, Les maladies des globules rouges, Flammarion, Paris, P. 200-203.
24. ZITTOUN R, BERNARDOU A et SAMAMA M, 1982, Manuel d'hématologie, P. 81-82.
25. ZITTOUN R, SAMAR M et MARIE JP, 1992, Manuel d'hématologie, 4^{ème} ed, Maloin, Paris, P. 79-80.

PRESENTE PAR : - BOUDAB Louiza - BOUREKOUA Saïda - FADEL Radia	THEME L'intérêt de l'électrophorèse de l'hémoglobine dans le diagnostic biologique de la drépanocytose	D. F. E. : ..octobre 2001
--	--	-------------------------------------

Résumé :

L'électrophorèse de l'hémoglobine est un examen biologique largement prescrit par les praticiens médicaux aussi bien en milieu hospitalier. Qu'en milieu extra-hospitalier pour rechercher les patients porteurs d'anomalies de l'hémoglobine génétiquement transmissibles (hémoglobinoses), drépanocytoses et thalassémies :

C'est une technique simple n'engageant pas de grands moyens et à la portée de tous les laboratoires de biologie médicale.

La plus utilisée est l'électrophorèse de zone sur bande d'acétate de cellulose pour :

- Séparer et identifier les différentes fractions de l'hémoglobine sanguine
- Déterminer leur pourcentage relatif.
- Détecter toutes anomalies de l'hémoglobine nécessitant une prise en charge immédiate.

Summary :

The hemoglobin electrophoresis's is as well an extensively prescribed biologic exam by the medical practitioners in hospitable middle. That in extra-hospitable middle in search for the patient carriers of anomalies of the genetically transferable hemoglobin (hemoglobinoses), drépanocytoses and thalassémies :

It is has simple technique not hiring any big means and to reach of all medical biology laboratories.

The used more is the electrophorèse of zone on strip of cellulose acetate for:

- To separate and to identify the different fractions of the blood hemoglobin.
- To determine their relative percentage.
- To detect all anomaly of hemoglobin requiring a hold in charge immediate.

ملخص :

يعتبر إلكتروفوراز الهيموغلوبين فحص بيولوجي مفروض من طرف المتهنيين في مجال الطب بشكل أوسع داخل المستشفيات و المصالح الطبية عن غيره خارجها، كسبب الإحتمال عن المرضى الحاملين لشذوذ في الهيموغلوبين المتقال وراثيا.

و هو عبارة عن تقنية بسيطة لا تتطلب إمكانيات كبيرة و هي في متناول كل المختبر البيولوجية الطبية. يعتبر الإكتروفوراز على شريط الأمينات الميثيلوزي الأكثر استعمالا:

- فحص و تسيخيص مخنات نسب هيدوغلوبين الدم.
- تحديد نسبة.
- كشف كل شذوذ للهيموغلوبين المتقال لكفاءة طبية عالية.

Mots - clés : L'hémoglobine - Drépanocytose - Electrophorèse de zone sur bande d'acétate de cellulose.

معدادر par :

.. MACZA M'HAWIED