

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

DEKKICHE Fatima Zohra et BOUMEDIENE Fatima Zohra

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée.

THÈME

**Drépanocytose chez l'enfant : Etude de 4
cas au niveau de l'Etablissement Public
Hospitalier de Ain Tedles (Mostaganem)**

Soutenue le 13/07/2021

DEVANT LE JURY

| | | | |
|-----------|-----------------|------------|--------------------------|
| Président | Mme DALACHE F | Professeur | Université de Mostaganem |
| Examineur | Mr GUEDOUAR Y | M.C.A. | Université de Mostaganem |
| Encadreur | Mme ABBASSENE F | M.C.A. | Université de Mostaganem |

2020-2021

Remerciement

*En préambule à ce rapport nous remercions **ALLAH** qui nous a aidés et nous a donnés la patience et le courage durant toutes nos années d'étude.*

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Mostaganem, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

*Nous tenons à remercier Madame **ABBASSENE Fatima**, notre encadrant de mémoire, pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, ainsi que pour ses encouragements lors de la réalisation de ce travail.*

*Je remercie sincèrement Professeur **DALACHE. F** et **MCA***

***Guedouar. Y** qui a accepté de présider le jury de ce mémoire.*

Nous remercions tous les enseignants qui m'ont guidé durant les cinq années de formation surtout les enseignants de la spécialité de génétique.

Et nous n'oublions pas toutes les personnes du corps médical de l'EPH de Ain Tedeles Mostaganem

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très chère mère

La mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon très cher père

Le père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.

Mes chers frères

Abdellmadjide, Omar, Hamza et Hadje qui n'ont cessé d'être pour nous des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Ma chère sœur

Fatiha, Souhila, Dhaiba et Samia

Mes chères petites

Khalil, Iyad, Maram, les jumeaux Anis & Ines et nouveau né Rimes

Ma binôme Fatima Zohra et toute sa famille

A tous mes amis qui me sont chers

Tous mes collègues de la promotion : 2020/2021

Toutes les personnes que j'aime et que je le respecte

DEKKICHE Fatima Zohra

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents

*pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et
leurs prières tout au long de mes études,*

A mes chers frères

*Hadj , Hamid , Mohammed et mon petit Mostapha
pour leur appui et leur encouragement,*

A ma chère binôme Fatima zohra

Pour sa entente et sa sympathie.

A ma chère cousine Amira

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A tous mes amis qui me sont chers

Tous mes collègues de la promotion : 2020/2021

A toute ma famille BOUMEDIENE

*pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,
Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le
fruit de votre soutien infaillible,
Merci d'être toujours là pour moi.*

BOUMEDIENE F

Résumé:

La drépanocytose est une maladie génétique qui se transmet sur le mode autosomique récessif et qui résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène β globine, caractérisée par la synthèse d'une hémoglobine anormale S qui diffère de l'hémoglobine A normale (HbA) par le fait de former des polymères quand elle est désoxygénée, ce qui induit la falciformation des globules rouges. Notre étude a été réalisée au niveau de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Ain Tedeles (wilaya de Mostaganem). Nous avons fait une enquête rétrospective à partir des archives des patients qui ont une hémoglobinopathie, au sein du service de pédiatrie de l'établissement. Parmi les 39 dossiers d'hémoglobinopathies traitées, nous avons trouvé 4 cas de drépanocytose (prévalence = 10,25%). Tous les cas étaient de sexe masculin et ils étaient âgés de 1 an (2 cas) et 6 ans (2 cas). Nous avons également effectué un hémogramme et un frottis sanguin d'un patient drépanocytaire au niveau du laboratoire d'analyses médicales (section d'Hématologie). Le frottis sanguin nous a permis d'observer des hématies falciformes caractéristiques. L'hémogramme des 4 patients a montré que le taux moyen des globules rouges était de $4,4 \cdot 10^9/l$, le taux moyen d'hémoglobine de 11,07 g/dl, le volume globulaire moyenne estimé à 92,25 fl, l'hématocrite à 34,75% et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine à 28,25 pg.

Les mots clés : Drépanocytose, prévalence, hématies falciformes, hémoglobine A, hémoglobine S.

Abstract:

Sickle cell disease is an autosomal recessive genetic disease that results from a point mutation of the sixth codon of the β globin gene, characterized by the synthesis of abnormal hemoglobin S which differs from normal hemoglobin A (HbA) by forming polymers when it is deoxygenated, which induces sickling of red blood cells. Our study was carried out at the Public Hospital Establishment (EPH) of Ain Tedeles (wilaya of Mostaganem). We made a retrospective survey of the archives of patients with hemoglobinopathy, in the pediatric department of the establishment. Among the 39 files of hemoglobinopathies treated, we found 4 cases of sickle cell disease (prevalence = 10.25%). All cases were male and were aged 1 year (2 cases) and 6 years (2 cases). We also performed a complete blood count and smear of a sickle cell patient at the medical laboratory (Hematology section). The blood smear allowed us to observe characteristic sickle cells. The complete blood count of the 4 patients showed that the average red blood cell count was $4.4 \times 10^9 / l$, the average hemoglobin level of 11.07 g / dl, the average blood volume estimated at 92.25 fl. hematocrit at 34.75% and the mean corpuscular hemoglobin content at 28.25 pg.

Key words: Sickle cell disease, prevalence, sickle cells, hemoglobin A, hemoglobin S.

ملخص:

مرض الخلايا المنجلية هو مرض وراثي وراثي متنحي ينتج عن طفرة نقطية في الكودون السادس لجين β globin ، والذي يتميز بتركيب الهيموجلوبين S غير الطبيعي الذي يختلف عن الهيموجلوبين الطبيعي (HbA) عن طريق تكوين البوليمرات عندما يكون غير مؤكسج ، الذي يحفز منجل خلايا الدم الحمراء. أجريت دراستنا في مؤسسة المستشفيات العامة (EPH) في عين تيدليس (ولاية مستغانم). قمنا بإجراء مسح بأثر رجعي لأرشفيات المرضى الذين يعانون من اعتلال الهيموجلوبين في قسم طب الأطفال في المؤسسة. من بين 39 ملفاً تم علاجها من اعتلالات الهيموجلوبين ، وجدنا 4 حالات من مرض فقر الدم المنجلي (الانتشار = 10.25%). جميع الحالات كانت من الذكور وأعمارهم سنة (حالتان) و 6 سنوات (حالتان). كما قمنا بإجراء تعداد دم كامل ومسحة لمريض مصاب بفقر الدم المنجلي في المختبر الطبي (قسم أمراض الدم). سمحت لنا مسحة الدم بمراقبة الخلايا المنجلية المميزة. أظهر تعداد الدم الكامل للمرضى الأربعة أن متوسط عدد خلايا الدم الحمراء كان 4.4×10^9 / لتر ، ومتوسط مستوى الهيموجلوبين 11.07 جم / ديسيلتر ، ومتوسط حجم الدم المقدر بـ 92.25 فلوريدا. الهيماتوكريت بنسبة 34.75% ومتوسط محتوى الهيموجلوبين العضلي عند 28.25 جزء من الغرام.

الكلمات المفتاحية: مرض فقر الدم المنجلي ، الانتشار ، الخلايا المنجلية ، الهيموجلوبين أ ، الهيموجلوبين س.

Liste des abréviations:

2, 3 DPG: Diphosphoglycérate.

A γ : A gamma.

A: Adénine.

ADN: Acide Désoxy riboNucléique.

ARNm : Acide Ribonucléique messenger.

AVC : accident vasculo-cérébral

Cl⁻ : Chlore.

CO₂: Gaz carbonique

CSH: Cellules Souches Hématopoïétiques

CVO: Crises douloureuses vaso-occlusives.

DN: Dépistage neonatal

EDTA: Ethylène-diamine-tétra-acétate.

FNS: Numération Formule Sanguine.

G γ : G gamma.

g / l :gramme par litre

G: Guanine.

g·mol⁻¹ : gramme par mole.

Glu: Acide Glutamique

Gly: Glycine.

Hb A: Hémoglobine Adulte majeur.

Hb co₂ : carbamino hémoglobine

Hb F: Hémoglobine Foetale.

Hb S: Hémoglobine drépanocytaire.

Hb: Hémoglobine.

HbA₂: Hémoglobine Adulte mineure.

HbC: Hémoglobine C.

HLA: Human Leucocyte Antigen (les antigens des leucocytes humains)

HT: Hématocrite

HU: Hydroxyurée.

K Da: Kilo Dalton.

K⁺: Potassium.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PCR: Polymérase Chain Réaction.

Pg: Picogramme.

pH: Potentiel Hydrogène.

STA: Syndrome Thoracique Aigu.

T: Thymine

TCMH: teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

TE: test d'Emmel .

Thr: Thréonine.

Val: Valine.

VGM: Volume Globulaire Moyen.

α : Alpha.

β : Beta

δ : delta.

ϵ : epsilon.

ζ : Zeta.

Liste des figures :

| | |
|---|----|
| Figure 1: Mutation au niveau du gène de la β – globine..... | 4 |
| Figure 2: Structure de l'hémoglobine | 5 |
| Figure 3: Structure moléculaire de l'hème..... | 5 |
| Figure 4: les Sous-unités d'hémoglobines | 6 |
| Figure 5: Schéma de la molécule d'hémoglobine adulte A..... | 6 |
| Figure 6: la structure du 2,3 Diphosphoglycérate..... | 7 |
| Figure 7: Structure des gènes de globine ; les carrés noirs correspondent aux exons..... | 8 |
| Figure 8: Structure et organisation des deux familles de gènes-globine..... | 9 |
| Figure 9: Expression des gènes-globine au cours du développement ontogénique..... | 10 |
| Figure 10: Phénomène de falciformation | 16 |
| Figure 11 : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose..... | 18 |
| Figure 12 : Détection de la mutation HbS par l'enzyme de restriction BsuI..... | 22 |
| Figure 13 : Principe de la détection..... | 23 |
| Figure 14 : Les trois types de complications aiguës..... | 26 |
| Figure 15 : Syndrome pied-main..... | 28 |
| Figure 16 : Mécanismes de la vaso-occlusion..... | 28 |
| Figure 17 : Réalisation d'un frottis sanguin..... | 36 |
| Figure 18 : Observation microscopique d'un frottis sanguin coloré par MGG chez un garçon drépanocytaire SS. | 37 |
| Figure 19: L'automate de coloration des lames hématologiques HEME-TEK 2000 (photo personnelle)..... | 38 |
| Figure 20 : Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl)..... | 41 |
| Figure 21 : Variation de nombre des globules rouges ($10^9/l$)..... | 41 |
| Figure 22 : Variation de nombre des globules blancs ($10^9/l$)..... | 41 |
| Figure 23: Variation du volume globulaire moyenne (VGM) (fl)..... | 42 |
| Figure 24: Variation du la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH (pg)..... | 42 |
| Figure 25: Variation de l'hématocrite (%)..... | 42 |
| Figure 26: Frottis sanguin coloré par MGG d'un garçon drépanocytaire SS âgé de 1 an..... | 43 |
| Figure 27: Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire SS âgé de 1 an..... | 43 |

| | |
|--|----|
| Figure 28: Profil électrophorétique d'un sang normal (témoin, hémoglobine A)..... | 44 |
| Figure 29: Profil électrophorétique d'un sang avec variant HbS..... | 44 |
| Figure 30: Profil électrophorétique d'un sang avec variants HbS et HbA..... | 45 |

Liste des tableaux:

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Valeurs normales de l'hémoglobine selon l'âge | 11 |
| Tableau 2: Formules moléculaires des hémoglobines humaines | 11 |
| Tableau 3: Risques de transmission de la drépanocytose..... | 19 |
| Tableau 4: Caractéristiques biologiques des syndromes drépanocytaires majeurs | 24 |
| Tableau 5: Résultats de notre enquête rétrospective : caractéristique des patients drépanocytaire | 40 |
| Tableau 6: Résultats de l'hémogramme (moyennes des 4 cas étudiés) | 43 |
| Tableau 7: Valeur physiologique de l'hémogramme chez l'enfant avec âge de 1 an et ans..... | 46 |

Table des matières :

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Les hémoglobines.

| | | |
|-------------|---|----|
| I.1 | Définition | 3 |
| I.2 | Génétique des hémoglobines..... | 3 |
| I.3 | Structure de l'hémoglobine..... | 4 |
| | I.3.1 Hème..... | 4 |
| | I.3.2 Sous-unités d'hémoglobines..... | 5 |
| | I.3.3 2,3 Diphosphoglycérate..... | 6 |
| I.4 | Biosynthèse de l'hème..... | 7 |
| I.5 | Structure des chaines de globine..... | 8 |
| I.6 | Gènes de l'hémoglobine..... | 8 |
| | I.6.1 Famille des gènes des chaines α -globine..... | 9 |
| | I.6.2 Famille des gènes des chaines β -globine..... | 9 |
| I.7 | Evolution ontogénique des hémoglobines humaines..... | 9 |
| I.8 | Taux normale du l'hémoglobine..... | 10 |
| I.9 | Fonction de l'hémoglobine..... | 11 |
| I.10 | Catabolisme de l'hémoglobine..... | 12 |
| I.11 | Hémoglobinopathies..... | 12 |
| | I.11.1 Types d'hémoglobinopathies..... | 12 |
| | I.11.2 Variantes fréquents..... | 12 |
| | I.11.3 Hémoglobinopathies qualitatives et quantitatives..... | 13 |

Chapitre II : la drépanocytose

| | | |
|--------------|--|----|
| I.1 | Origine de la drépanocytose..... | 14 |
| | II.1.1 Historique..... | 14 |
| | II.1.2 Apparitions de la mutation et paludisme..... | 14 |
| II.2 | Hémoglobinoses S ou drépanocytose..... | 15 |
| II.3 | Epidémiologie..... | 16 |
| II.4 | Physiopathologie..... | 16 |
| II.5 | Drépanocytose et génétique..... | 18 |
| | II.5.1 Transmission de la drépanocytose..... | 18 |
| | II.5.2 Détection de la drépanocytose par analyse génétique..... | 21 |
| II.6 | Diagnostic biologique..... | 23 |
| II.7 | Symptômes et signes cliniques de la drépanocytose..... | 25 |
| | II.7.1 Drépanocytose hétérozygote..... | 25 |
| | II.7.2 Drépanocytose homozygote..... | 25 |
| II.8 | Les complications..... | 26 |
| | II.8.1 Complications aiguës..... | 26 |
| | II.8.2 Complications chroniques..... | 30 |
| II.9 | Dépistage néonatal..... | 31 |
| II.10 | Traitement de la drépanocytose..... | 32 |

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthode

| | | |
|--------------|---|----|
| III.1 | Objectif de l'étude | 34 |
| III.2 | Cadre (lieu de stage)..... | 34 |
| III.3 | Période | 34 |
| III.4 | Population d'étude..... | 34 |
| III.5 | Paramètres étudiés..... | 34 |
| III.6 | Prélèvement sanguin..... | 34 |
| III.7 | Hémogramme | 35 |
| | III.7.1 Hémogramme normal..... | 35 |
| III.8 | Etude morphologique d'éléments figurés du sang..... | 35 |
| | III.8.1 Réalisation d'un frottis sanguin | 35 |

| | | |
|---------|--|----|
| III.8.2 | Préparation variante de la coloration de MGG..... | 36 |
| III.8.3 | Description générale de l'appareil de coloration automatique de frottis sanguin..... | 37 |
| III.9 | Electrophorèse de l'hémoglobine..... | 38 |
| III.9.1 | Principe de la technique :..... | 38 |

Chapitre IV : Résultats et discussion

| | | |
|------------------------|---|-----------|
| IV.1 | Résultats..... | 40 |
| IV.1.1 | Etude des paramètres érythrocytaire FNS | 40 |
| IV.1.2 | Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire | 43 |
| IV.1.3 | Électrophorèse d'hémoglobine | 44 |
| IV.2 | Discussion | 45 |
| Conclusion..... | | 50 |

Introduction :

La drépanocytose est un problème de santé qu'on observe de plus en plus au niveau mondial à cause de l'immigration des populations atteintes venant d'Afrique, du bassin méditerranéen, du Moyen-Orient et de l'Inde vers d'autres régions du monde. La drépanocytose fait partie de la famille des hémoglobinopathies d'origine génétique, à transmission autosomique récessive, caractérisée sur le plan biochimique par la substitution de l'acide glutamique par la valine, en position 6 de la chaîne Béta de la globine. Les hématies drépanocytaires présentent la propriété de prendre une forme particulière, évoquant une faucille ou un croissant de lune, lorsqu'elles sont privées d'oxygène.

Cette maladie a été décrite pour la première fois en 1910 chez un étudiant noir Jamaïcain. Selon l'OMS, environ 100 millions d'individus portent le trait drépanocytaire hétérozygote AS et il naît chaque année 100.000 enfants drépanocytaires homozygotes SS dans le monde. En Afrique, les porteurs du trait drépanocytaire ont une prévalence qui varie jusqu'à 30%, voire plus de la population de certaines régions. En revanche, les sujets ayant le gène de la drépanocytose en double (homozygotes SS) ou associé à une autre hémoglobinopathie (doubles hétérozygotes A/S, S/ β - thalassémiques), souffrent de complications de la maladie (**Serjeant et Serjeant, 2001**). Selon le génotype, les facteurs épigénétiques et environnementaux, le début de ces complications se situe dans la grande majorité des cas entre quelques mois et 5 ans après la naissance. La physiopathologie des complications est assez bien connue ; elle fait intervenir essentiellement, la falciformation du globule rouge qui est la conséquence d'une gélification de l'HbS en situation d'hypoxie tissulaire, et une adhésion accrue des drépanocytes à la paroi des vaisseaux et donc, des phénomènes d'obstruction vasculaire. (**Elind et Labie, 1996 ; Rosse et al, 2000**).

L'objectif de notre travail était de déterminer la prévalence de la drépanocytose parmi les hémoglobinopathies enregistrées dans le service de pédiatrie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de l'hôpital de Ain Tedeles (wilaya de Mostaganem), d'étudier les aspects épidémiologiques de la drépanocytose et de s'initier aux techniques hématologiques permettant le diagnostic de cette maladie.

Ce mémoire comporte deux parties: partie bibliographique et partie expérimentale.

La partie bibliographique comporte :

Chapitre 1 : L'hémoglobine.

Chapitre 2 : La drépanocytose.

La partie expérimentale comporte :
Chapitre 3 : Matériel et Méthodes ;
Chapitre 4 : Résultats et Discussion.
La dernière partie Conclusion.

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Les hémoglobines

II.1 Définition :

Hémoglobine (Hb) est le pigment coloré qui confère la couleur rouge aux hématies. Elle est le transporteur d'oxygène du sang. C'est une macromolécule d'un poids moléculaire de 64500 Da constituée de 4 chaînes polypeptidiques de globine, identiques deux à deux, liées chacune à une molécule d'hème ; l'ensemble formant une structure cyclique organique complexe. (**Lena-Russo et al., 2000**).

I.2 La génétique des hémoglobines

Pour le génome humain, deux loci α et non α sont responsables de la synthèse des chaînes de globine. Le locus α est situé sur le chromosome 16 tandis que le locus non α est localisé sur le bras court du chromosome 11 (**Lubert et al, 1992**). La drépanocytose est une maladie causée par une hémoglobine HbA anormale appelée HbS. L'anomalie moléculaire responsable de la formation de l'HbS est le remplacement sur la chaîne polypeptidique β de l'HbA, de l'Acide glutamique (hydrophile) en position $\beta 6$ par la valine (hydrophobe). Cette substitution d'une chaîne latérale apolaire à une chaîne polaire modifie la configuration spatiale de la molécule d'Hb et induit les propriétés physicochimiques spécifiques de l'HbS telles la diminution de la solubilité, la polymérisation de la forme désoxygénée de cette Hb. Ces propriétés anormales conduisent à la formation des précipités fibreux qui déforment les globules rouges et leur donnent la forme de faucille ou de croissant. La destruction des hématies qui en résulte produit une anémie hémolytique chronique. (**Essono et Nkoa, 2004**).

La substitution de l'acide glutamique (Glu) par la valine (Val) est provoquée par une mutation portant sur un gène codant pour la chaîne β de l'Hb situé sur le chromosome 11 : Il y a remplacement du 2ème nucléotide du codon de GLU (GAG) qui est l'adénine (A) par la thymine (T), transformant ce dernier en (GTG) réalisant ainsi la mutation : (GAG \rightarrow GTG) qui détermine le gène de la drépanocytose βS (**Figure 1**)(**Lubert et al. , 1992**). C'est une maladie génétique transmise selon le mode autosomique codominant ou récessif (**Marc et al, 1993**). Les individus homozygotes pour le gène βS sont désignés SS. Ils sont : ($\alpha 2\beta S 2$). Les hétérozygotes sont AS ($\alpha 2\beta A\beta S$). La maladie drépanocytaire n'apparaît que lorsqu'un individu est homozygote pour le gène drépanocytaire. L'état hétérozygote appelé encore trait drépanocytaire est presque cliniquement muet (**Bunn et al., 1988**).

| | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Val | His | Leu | Thr | Pro | Glu | Glu | | HbA |
| ATG | GTG | CAC | CTG | ACT | CCT | GAG | GAG | ... | |
| | | | | | | | | | |
| ATG | GTG | CAC | CTG | ACT | CCT | GTG | GAG | ... | |
| Met | Val | His | Leu | Thr | Pro | Val | Glu | | HbS |

Figure 1: Mutation au niveau du gène de la β -globine (El Barjraji *et al*, 2004).

I.3 La structure de l'hémoglobine :

L'hémoglobine est un tétramère qui possède une structure quaternaire caractéristique de nombreuses protéines à sous -unités globulaires. La plupart de ses résidus d'acides aminés sont engagés dans des hélices α reliées entre elles par des segments non hélicoïdaux. Les sections hélicoïdales sont stabilisées par des liaisons hydrogène qui confèrent à la protéine sa structure tridimensionnelle caractéristique, appelée repliement globine, car on le retrouve également dans d'autres globines à groupe prosthétique héminique telles que la myoglobine. Ce repliement caractéristique présente une cavité dans laquelle est étroitement insérée une molécule d'hème constituant le groupe prosthétique de la protéine. L'hémoglobine contient donc une molécule d'hème par sous-unité. Chez l'homme adulte, le type d'hémoglobine le plus courant est l'hémoglobine A, constitué e de deux sous-unités α et deux sous -unités β , formées chacune de 141 et 146 résidus d'acides aminés respectivement. Cette structure est symbolisée par $\alpha_2 \beta_2$. Chacune a une masse moléculaire d'environ 16 k Da, soit 64 k Da ($64\,458 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) pour la protéine complète. Chez l'enfant, l'hémoglobine principale est dite hémoglobine F (fœtale), de formule $\alpha_2 \gamma_2$, les chaînes γ étant progressivement remplacée par des chaînes β au cours de la croissance (Figure 2) (Baudin, 2016).

I.3.1 L'hème :

L'hème est constitué d'une partie organique et d'un atome de fer. La partie organique, la protoporphirine, est formée de quatre cycles pyrrol. Les quatre pyrroponts méthane sont unis par des ponts et fixés sur le cycle tétrapyrrole. L'atome du fer de l'hème se lie aux quatre azotes au centre du cycle protoporphirine (Figure 3) (Diakité, 2005).

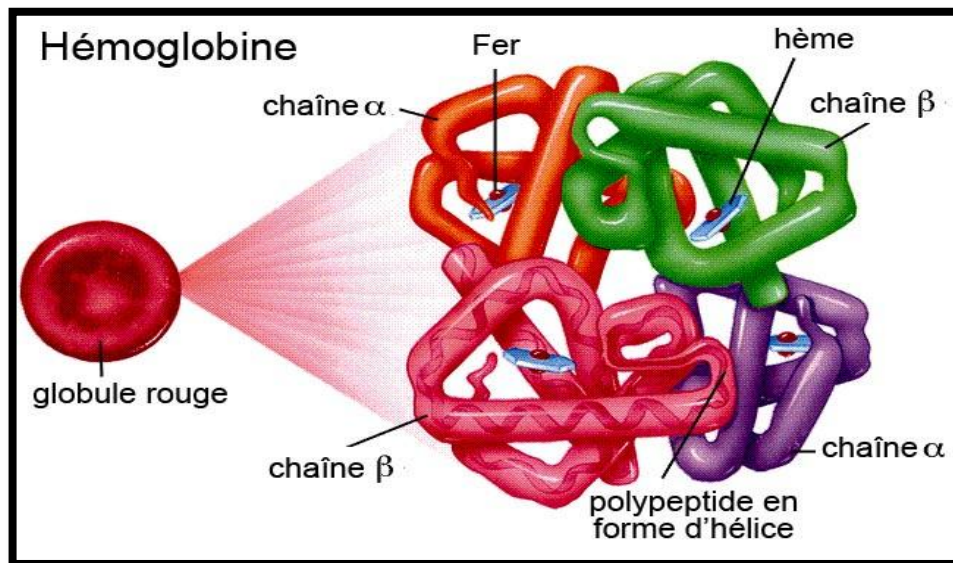


Figure 2 : Structure de l'hémoglobine (El kamah *et al*, 2015).

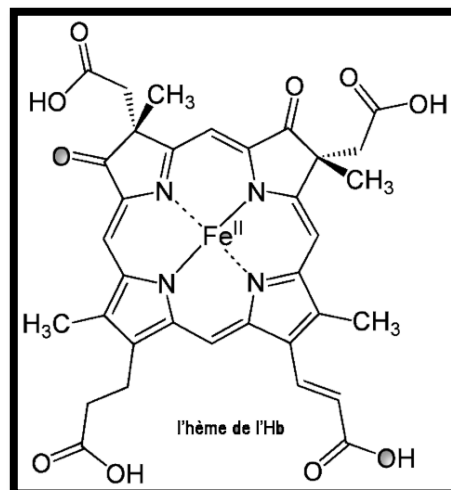


Figure 3 : Structure moléculaire de l'hème (Menguel, 2012).

I.3.2 Sous-unités d'hémoglobines :

L'hémoglobine est constituée de 4 protomères presque identiques. Ces derniers sont formés d'une seule sous-unité chacun, mais ces sous unités sont exprimées à partir de neuf gènes différents, aboutissant à des formes différentes du tétramère.

- **Chez l'embryon :** l'hémoglobine est formée de deux fois deux chaînes associées : Gower 1 ($\zeta 2\varepsilon 2$), Portland ($\zeta 2\gamma 2$) ou Gower 2 ($\alpha 2\varepsilon 2$).
- **Durant la vie fœtale :** l'hémoglobine F est formée de deux chaînes α avec deux chaînes γ (γ Ala ou γ Gly). Selon les individus, le gène γ Gly est exprimé avec une Ile ou une Thr en position 75.

- **Chez l'adulte :** plus de 95% de l'hémoglobine est de type A1 ($\alpha_2\beta_2$). L'hémoglobine A2 ($\alpha_2\delta_2$) ne dépasse pas 3% (**Figure 4**) (**Raisonnier, 2002**).

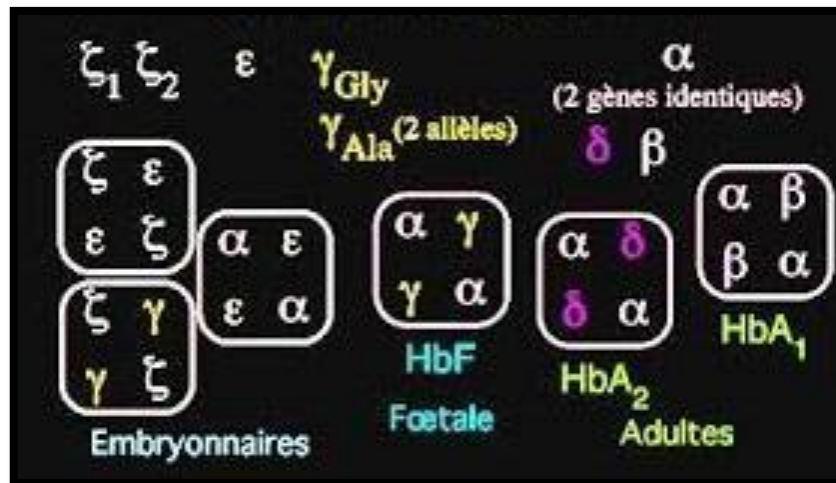


Figure 4 : les Sous-unités d'hémoglobines (**Raisonnier, 2002**).

I.3.3 Le 2,3 Diphosphoglycérate

Le contact entre les chaînes de globine, au niveau de la cavité centrale, est établi par l'intermédiaire d'une molécule de 2,3-DPG stabilisante (**Figure 5**) (**Beutler, 2001**).

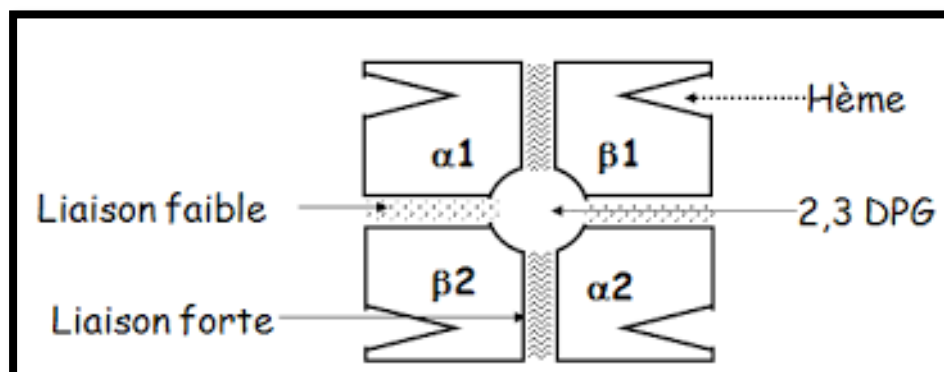


Figure 5 : Schéma de la molécule d'hémoglobine adulte A (**Guyard et al., 2011**).

Le 2,3 DPG est un ligand de l'hémoglobine. C'est un anion fort, dont les trois fonctions acides sont ionisées au pH des globules rouges, est aussi un coenzyme de la phosphoglycérate mutase, une enzyme de la glycolyse.

Il est le principal cofacteur intraérythrocytaire de la libération de l'oxygène par l'hémoglobine, donc il intervient dans la régulation du transport de l'oxygène dans le sang, en stabilisant la forme désoxy de l'hémoglobine.

La liaison 2,3-DPG — hémoglobine est maximum à pH neutre. Elle décroît lorsque la concentration d'hémoglobine augmente, en présence d'oxygène ou de gaz carbonique (**Figure 6**) (**Raisonnier, 2002**).

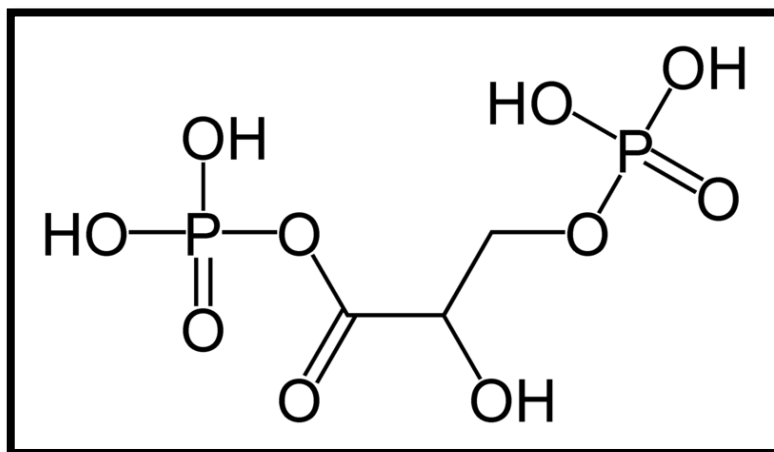


Figure 6 : la structure du 2,3 Diphosphoglycérate (**Raisonnier, 2002**).

I.4 Biosynthèse de l'hème

La synthèse de l'hème s'effectue indépendamment de celle de la globine. L'hème ne vient que secondairement s'accrocher aux chaînes néo-synthétisées pour réaliser la sous unité d'Hb.

L'hème est fabriqué dans les mêmes cellules que la globine, certaines étapes de sa synthèse sont localisées dans les mitochondries, d'autres dans le cytosol. La première réaction qui conduit à la formation d'acide δ -amino-lévulinique (ALA), se déroule à l'intérieur de la mitochondrie. Les réactions conduisant au porphobilinogène, à l'uroporphyrinogène et au coproporphyrinogène s'effectuent dans le cytosol. Les réactions suivantes sont à nouveau intramitochondriales, elles conduisent au protoporphyrinogène, à la protoporphyrine et, finalement après incorporation d'un atome de fer, à l'hème.

Le fer représente 0,34 % de la masse de l'hémoglobine, c'est au total 3 grammes de fer, soit 75 % de l'ensemble du capital martial de l'organisme qui est ainsi stocké dans l'hémoglobine circulante.

La régulation de la synthèse est assurée par le produit final : l'hème libre exerce une rétro-inhibition de sa synthèse lorsqu'il se trouve en excès par rapport aux chaînes de globine (**Deisserothet al., 1989 ; Annaix et Thuillier, 2000**).

I.5 Structures des chaînes de globine

La globine est un ensemble de 4 chaînes polypeptidiques :

- **Structure primaire** : possède deux chaînes (alpha et non alpha)
 - 4 types principaux : α , β , γ , δ
 - 2 types accessoires : ϵ , ζ
- **Structure secondaire** : possède 8 segments hélicoïdaux, nommés de A à H.
- **Structure tertiaire** : possède des liaisons intra-chaînes permet une stabilité qui va donner une structure globulaire (liaisons faibles), ainsi que la création d'une poche hydrophobe.
- **Structure quaternaire** : Molécule associant les deux dimères (pour HbA)
 - La chaîne α et la chaîne non α sont liées par des liaisons fortes.
 - Les dimères sont liés par des liaisons faibles (**Guyard *et al*, 2011**).

I.6 Les gènes de l'hémoglobine :

Les gènes de la globine humaine sont regroupés en familles multigéniques (cluster ou « agrégat ») : le cluster α (ζ , $\alpha 2$, $\alpha 1$) et le cluster β (ϵ , $G\gamma$, $A\gamma$, δ , β). Ces gènes sont organisés sur un même modèle à 3 exons et dérivent de duplications successives d'un ancêtre commun. L'ordre des gènes, de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3', au sein de chaque complexe, reflète l'ordre de leur expression séquentielle au cours de l'ontogénèse (**Figure 7**) (**Kazazian et Antonarakis, 1997**).

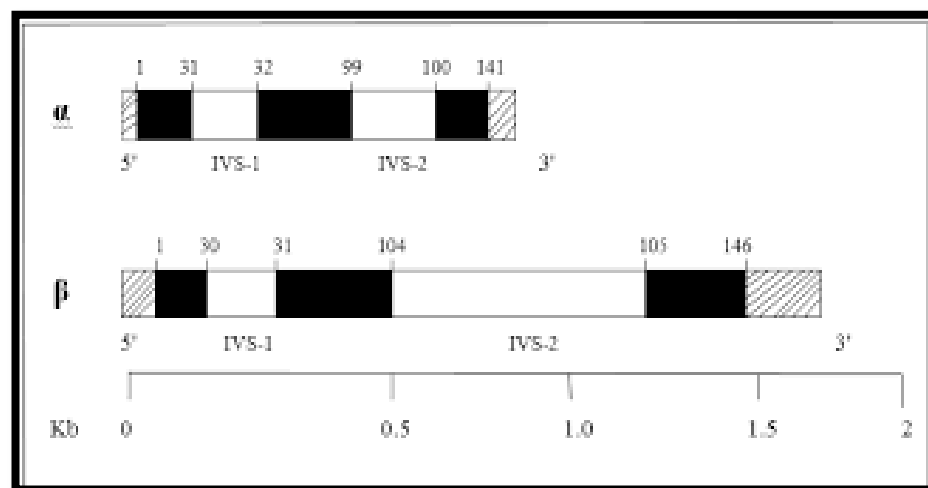


Figure 7 : Structure des gènes de globine ; les carrés noirs correspondent aux exons. Les carrés hachurés sont les séquences non traduites et les carrés blancs les introns (IVS).

I. 6.1 La famille des gènes des chaînes α - globine :

Cette famille est localisée sur la partie distale du bras court du chromosome 16 où elle occupe environ 30 kb (Libbey, 2014). La famille α comporte 3 gènes fonctionnels : le gène ζ code pour la chaîne embryonnaire ζ , et précède les deux gènes des chaînes α : $\alpha 1$ et $\alpha 2$ (Figure 8) (Kaplan et Delpech, 2007).

I.6.2 La famille des gènes des chaînes β -globine

La famille des gènes des chaînes β -globines s'étend, elle, sur environ 50 kb à l'extrémité distale du bras court du chromosome 11 (11p15.5) (Deisseroth *et al*, 1978 ; Lebo *et al*, 1979 ; Fritsch *et al*, 1980). La famille β compte 5 gènes fonctionnels : le gène de la chaîne embryonnaire ϵ , qui est suivi par les deux gènes des chaînes fœtales γ ($G \gamma$ et $A \gamma$), puis par les deux gènes des chaînes adultes δ et β (Figure 8) (Kaplan et Delpech, 2007).

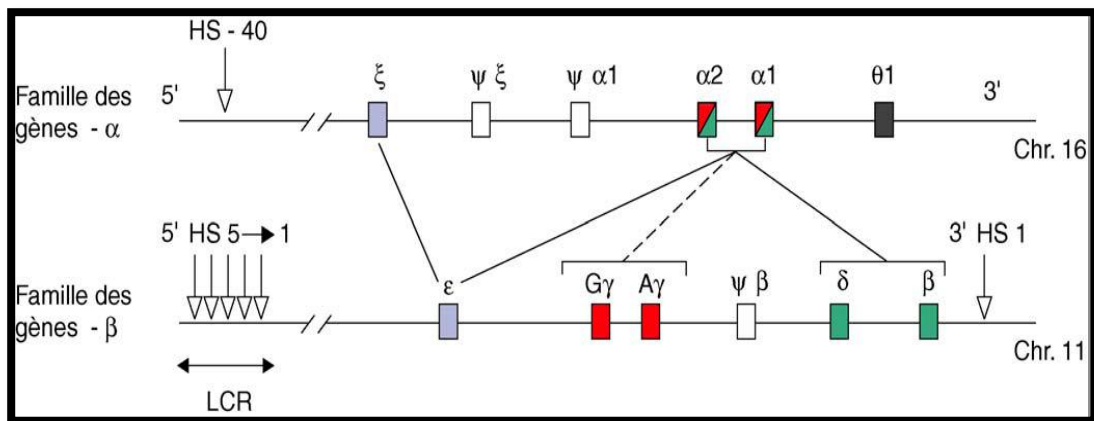


Figure 8 : Structure et organisation des deux familles de gènes-globine (Labbie *et al*, 2005).

I.7 Evolution ontogénique des hémoglobines humaines :

Différentes hémoglobines (Hb) se trouvent successivement mises en évidence au cours du développement humain. Pendant la période embryonnaire, différents types de chaînes vont être synthétisés, ζ, ϵ , puis, progressivement, α et γ (Tchernia, 1989; Rosa *et al.*, 1993).

- Chez l'homme, au cours de l'évolution ontogénique, le profil des hémoglobines change deux fois. La première de ces commutations, ou 'Switch', coïncide avec le passage de la vie embryonnaire à la vie foetale, la seconde avec celui de la vie foetale à la vie adulte.
- Durant la vie embryonnaire : deux chaînes de la famille alpha coexistent: ζ qui apparaît la première, puis α . de même, il existe deux chaînes de type β : ϵ spécifique à cette période initiale de la vie et les chaînes γ (ou fœtales). Ces diverses sous-unités

permettent de réaliser les trois Hb de l'embryon, l'Hb Gower1 ($\zeta_2\varepsilon_2$), L'Hb Gower 2($\alpha_2\varepsilon_2$) et L'Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$).

- L'hémoglobine fœtale (Hb F) de structure $\alpha_2 \gamma_2$ est détectable à partir de la 5ème semaine de la vie intra-utérine. Parallèlement à cette modification de la nature des sous-unités de globine, il ya un changement du lieu où s'effectue l'érythropoïèse: sac vitellin dans la vie embryonnaire, puis foie et rate dans la vie fœtale et en fin moelle osseuse chez l'adulte (**Figure 9**) (**Wajcman, 2005**)

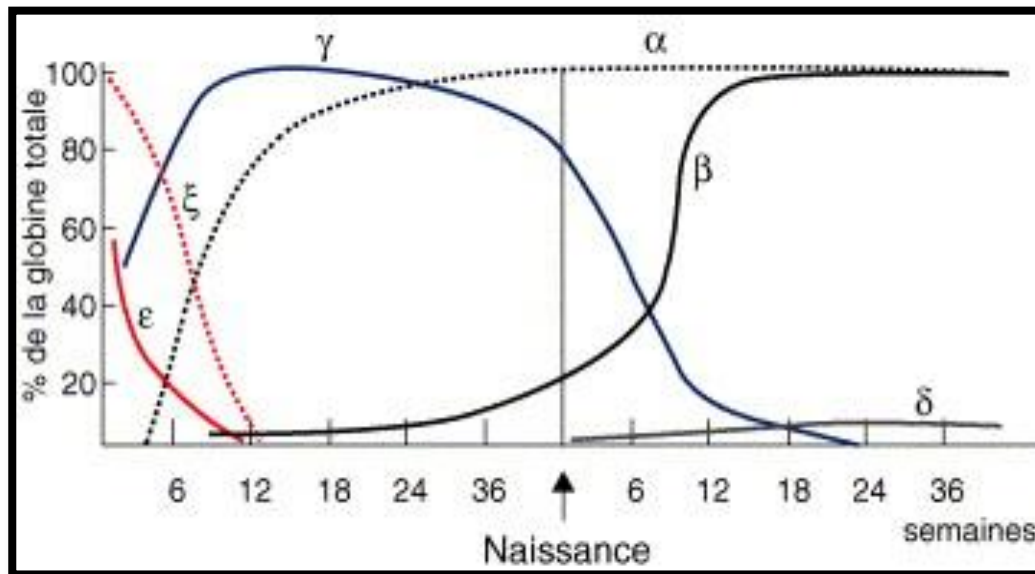


Figure 9 : Expression des gènes-globine au cours du développement ontogénique (**Labie et al ,2005**).

I.8 Le taux normal de l'hémoglobine :

Les taux normaux d'hémoglobine varient en fonction de l'âge et du sexe de l'individu. Les valeurs de référence varient selon les tranches d'âge (**Tableau 1**).

Remarque:

Le taux de l'hémoglobine chez une femme enceinte est 110 g/l (**Vianney et al., 2014**).

- Il existe plusieurs types d'Hb différents par la nature des deux chaînes de type β . Ainsi nous avons : HbA1 ($\alpha_2\beta_2$), HbA2 ($\alpha_2\delta_2$), HbF ($\alpha_2\gamma_2$), HbE ($\delta_2\varepsilon_2$) (**Dunod, 2009**).

Tableau 1 : Valeurs normales de l'hémoglobine selon l'âge (Armari, 2004; Jutras, 2014).

| Le taux normale du l'Hb | Age | Valeur d'Hb (g/l) |
|-------------------------|----------|-------------------|
| Chez les nouveaux nés | 1 jour | 170-200 |
| | 7 jours | 170-210 |
| | 21 jours | 130-180 |
| | 3 mois | 100-130 |
| | 6 mois | 110-140 |
| | 1 mois | 110-150 |
| Chez les enfants | 6 ans | 125-150 |
| | 10ans | 135-150 |
| Chez l'adulte | Femme | 120-160 |
| | Homme | 140-180 |

Tableau 2 : Formules moléculaires des hémoglobines humaines (Dunod J. (2009)

| | | ADULTE | NOUVEAU-NE |
|-------------|--------------------|---------|------------|
| Hb A | $\alpha_2\beta_2$ | 97 % | 15 - 30 % |
| HbA2 | $\alpha_2\delta_2$ | 2 - 3 % | Traces |
| Hb F | $\alpha_2\gamma_2$ | < 1 % | 70 - 85 % |

I.9 Fonction de l'hémoglobine

La principale fonction de l'hémoglobine est la fonction respiratoire. L'Hb assure donc la fixation de l'oxygène au niveau des poumons puis sa libération au niveau des tissus. Au cours de la fixation ou de la libération de l'oxygène, les sous unités α et β se déplacent les unes par rapport aux autres avec dilatation de la molécule à l'état désoxygéné et contraction à l'état oxygéné ce qui fait comparer la molécule d'Hb à un poumon à l'échelle moléculaire. Elle assure également le transport du dioxyde (CO₂) de carbone des tissus aux poumons, ce gaz se combine aux groupements aminés de la globine pour former la carbaminohémoglobine (HbCO₂) (Couque et Montalembert, 2013).

I.10 Le catabolisme de l'hémoglobine :

Les globules rouges ont une durée de vie de 100 à 120 jours dans le sang, Dépourvus de noyau ils sont incapables de fabriquer des protéines au de se diviser. Les érythrocytes vieux ou endommagés sont détruits par les macrophages, les cellules phagocytaires de la rate et du foie. Le fer et les protéines libérés sont recyclés, tandis que l'hème a un métabolisme particulier. La dégradation de l'hème produit des pigments : la bilirubine et la biliverdine qui sont liés ou conjugués à l'acide glycuronique dans le foie, puis passent dans l'intestin par l'intermédiaire de la bile (**Brooker, 2000**).

I.11 Hémoglobinopathies :

Ce sont des maladies génétiquement déterminées qui constituent un problème de santé publique dans de vastes parties du monde (**Coupric, 2000**).

I.11.1 Types d'hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont de deux types :

- le premier correspond à la présence d'une Hb de structure anormale, entraînant ou non des signes fonctionnels ;
- le second a un défaut de synthèse, partiel ou total des chaînes α et/ou β , qui s'exprime dans le groupe très hétérogène des thalassémies. Ce sont des pathologies différentes dans leur expression clinique et leur physiopathologie. Néanmoins, il existe en réalité un certain chevauchement entre ces deux groupes, puisque certaines Hb de structure anormale se comportent comme des variants thalassémiques. D'autre part, il n'est pas rare que les deux types d'anomalies soient présents chez un même individu (**Bain, 2006**).

I.11.2 Variants fréquents :

Plus de 1 000 mutations des gènes codant les chaînes de l'Hb ont été décrites. La plupart d'entre elles n'ont pas d'implications cliniques. Trois Hb anormales occupent une place prépondérante de par leur fréquence et leur caractère pathogène : HbS, HbE et HbC. Les Hb anormales peuvent être classées en 4 groupes :

1. les variants à l'origine de problèmes de santé publique majeurs. Il s'agit surtout des HbS dans la population africaine et des HbE dans les populations du Sud-Est asiatique ;
2. les variants plus rares, mais présents dans les populations où l'HbS a une forte prévalence : HbC, OArab et DPunjab, qui, par elles-mêmes, n'ont pas d'effet pathogène majeur, mais qui, associées à l'HbS, conduisent à des syndromes drépanocytaires majeurs. La substitution du 6^e acide aminé sur la chaîne β , l'acide glutamique, par une

valine, caractérise la variante HbS, alors qu'une substitution du même acide aminé par une lysine caractérise la variante HbC ;

3. les polymorphismes, habituellement silencieux sur le plan clinique (leur caractérisation et leur suivi dans des bases de données contribuent à éviter les confusions avec les variants aux conséquences cliniques sévères) ;
4. les variants exceptionnels à l'origine de désordres hématologiques variés (ex. Hb instables, cause d'anémies hémolytiques chroniques) (Vinatier., 2010).

I.11.3 Les hémoglobinopathies qualitatives et quantitatives :

On distingue deux types d'anomalies de l'hémoglobine:

Les hémoglobinopathies qualitatives :

- Elles peuvent être **qualitatives**: une mutation ponctuelle entraînant le remplacement d'un acide aminé par un autre, réalisant le remplacement d'un acide aminé par autre, réalisant **les hémoglobinose**; la plus fréquente et la plus grave est la drépanocytose ou hémoglobines S.

Les hémoglobinopathies quantitatives :

- Elles peuvent être **quantitatives** : par défaut de synthèse d'une chaîne, réalisant les *syndromes thalassémiques*.

Chapitre II : la drépanocytose

II.1 L'origine de la drépanocytose

II.1.1 Historique :

Maladie génétique, et héréditaire, la drépanocytose est l'hémoglobinopathie la plus fréquente dans le monde. Connue depuis très longtemps dans la tradition médicale africaine la drépanocytose n'a été étudiée qu'au 20^{ème} siècle ;

En 1910 : La première description de la drépanocytose est faite par Herrick, médecin à Chicago. Il note, chez un patient Jamaïcain, la présence d'hématies déformées, en forme de faucilles.

En 1923 : Hahn et Gillespie découvrent que la déformation cellulaire n'apparaît qu'à basse tension d'oxygène [P02 inférieure à 50mm de mercure].

En 1949: Pauling, Singer et Wells mettent en évidence une différence électro phorétique entre l'hémoglobine S (SICKLE : Faucille en anglais) et l'hémoglobine A de l'adulte normal. Ceci sera le premier exemple démontré d'une maladie moléculaire.

En 1950: Harris observa la formation d'un gel tactoïde par désoxygénation d'une solution d'hémoglobine S.

En 1956 - 1960 : la lésion moléculaire est analysée par Ingram, la différence positive de charge observée de l'électrophorèse est due à la substitution en position 6 de la chaîne bêta d'un acide glutamique par une valine.

En 1966 : Robinson attire l'attention sur la susceptibilité particulière de ces sujets vis-à-vis du pneumocoque.

En 1969 : Pearson individualise le concept d'asplénie fonctionnelle.

Et à partir de 1972 le diagnostic prénatal de la maladie a été envisagé par Kan et Valenti et Southern en 1978 par l'étude de l'ADN.

Au cours des années 1980, il a été démontré que cette substitution qu'Ingram avait découverte est due à la mutation d'une base du triplet codant GAG en GTG. (**Diallo, 2009**).

II.1.2 Apparitions de la mutation et paludisme

Les premières observations remontent à 1949 et à l'hypothèse formulée par Haldane (1949). La drépanocytose est l'un des facteurs génétiques qui peuvent protéger contre le paludisme en général les individus porteurs de gènes normaux (HbA / HbA) mourraient davantage du paludisme que les porteurs de la mutation (HbA/ HbS). Au fil des générations, les porteurs des gènes (HbA / HbS) seraient plus tolérants aux substances

toxiques émises par le plasmodium (germe responsable du paludisme) et transmis à leur descendance. Ainsi, la mutation HbS à l'origine de la maladie de la drépanocytose permet une protection d'une autre maladie le paludisme. On va donc avoir une proportion de « AS » qui va augmenter progressivement dans la population. C'est pour cela que le lien entre le paludisme et la drépanocytose permet d'expliquer la prédilection de la race noire avec cette maladie (**Sergegrah, 2008**).

II.2 L'hémoglobine S ou drépanocytose :

La drépanocytose ou anémie falciforme (Sickle Cell Disease) est une maladie génétique, autosomique récessive, due à une mutation unique, ponctuelle, du 6^{ème} codon du gène de la bêta globine, située sur le chromosome 11, responsable d'une substitution d'un seul acide aminé dans la chaîne de globine (glutamate => valine) (**Steinberg, 1984**). Cette mutation est responsable d'une modification structurale et fonctionnelle de l'hémoglobine : changement de conformation, polymérisation et modification des propriétés de transport de l'oxygène (**Scott et Gilbert, 1978 ; Driscoll, 2007**) (**Figure 10**).

La drépanocytose associe trois grandes catégories de manifestations cliniques :

- anémie hémolytique chronique,
- phénomènes vaso-occlusifs,
- susceptibilité extrême à l'infection (**Giroto et al, 2003**).

Sous le terme de syndrome drépanocytaire majeur sont regroupées les manifestations cliniques observées en cas :

- d'homozygotie SS ;
- de double hétérozygotie SC, SD Punjab, S β thalassémique, SO Arab.

Les porteurs du trait S (patients hétérozygotes AS) sont asymptomatiques. Les génotypes CC et AC sont également des formes mineures (**Giroto et al, 2003**).

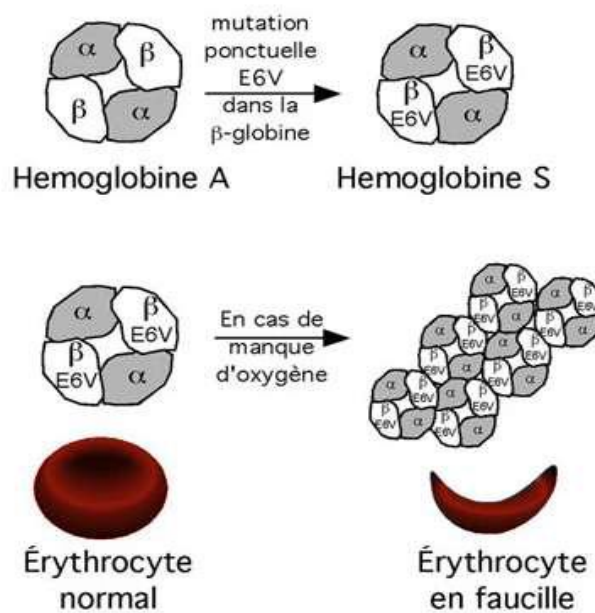


Figure 10: Phénomène de falciformation (Bettina, 2010).

II.3 Épidémiologie :

Il n'y a pas de données mondiales précises, mais on estime que 20 à 25 millions de personnes sont atteintes de drépanocytose, dont 12 à 15 millions en Afrique subsaharienne et 5 à 10 millions en Inde. Le Nigeria, l'Inde et la République démocratique du Congo abritent à eux seuls plus de 60 % des patients. Chaque année, environ 312 000 nouveau-nés naissent drépanocytaires, dont 80 % en Afrique. En France, le nombre de patients atteints de drépanocytose est estimé entre 20 000 et 25 000. Du fait de l'origine géographique de la mutation préférentiellement répartie dans les régions endémiques pour le paludisme, associée aux migrations, on la retrouve également au Moyen-Orient, en Amérique dont le Brésil (aux États-Unis, 8 % des Afro-Américains sont porteurs sains [AS]), dans les Caraïbes et en Europe, principalement au Royaume-Uni et en France. (Griot, Montalembert, 2006).

II.4 Physiopathologie :

La mutation de la chaîne β de globine (β 6val) est la cause de la drépanocytose. Les molécules d'hémoglobine S (HbS) diffèrent de l'hémoglobine A normale (HbA) par une nouvelle propriété, celle de former des polymères quand elles sont désoxygénées, ce qui induit la falciformation (Morris et al, 2005). La falciformation et la polymérisation de l'HbS sont réversibles lors de la réoxygénation, les hématies reprenant une forme normale.

Des études de la polymérisation de l'hémoglobine S, par une désoxygénation brusque, ont montré un rôle essentiel de la concentration intracellulaire de l'hémoglobine S dans le délai de survenue de la polymérisation de l'HbS, qui est d'un ordre exponentiel élevé de la concentration de l'hémoglobine S (**Solovey et al, 2001**).

La polymérisation de l'hémoglobine S induit une déshydratation cellulaire par perte d'ions et d'eau. Elle augmente ainsi la densité cellulaire, la concentration de l'Hb et accélère la formation des polymères en cas de désoxygénation des globules rouges drépanocytaires.

Les globules rouges déshydratés et denses sont capables de contenir des polymères dans des conditions d'hypoxie modérée et même dans le sang artériel, en raison de la concentration intracellulaire particulièrement élevée de l'HbS, jusqu'à 50. La proportion des hématies déshydratées joue un rôle important sur le pourcentage de globules rouges rigides et déformés dans les capillaires et les veinules post-capillaires où la viscosité accrue et le ralentissement circulatoire favorisent leurs interactions avec l'endothélium qui peut être activé (**Figure 11**) (**Labie et Elion, 2005**).

Les études de la physiopathologie ont montré que les globules rouges denses et déshydratés jouent un rôle central dans les manifestations aiguës et chroniques de la maladie drépanocytaire, basées sur les vaso-occlusions et la réduction du flux sanguin dans les vaisseaux, conséquence de la falciformation dans les petits vaisseaux (**Figure 11**) (**Labie et Elion, 2005**).

Les altérations membranaires secondaires à la polymérisation de l'hémoglobine S favorisent également la génération de globules rouges rigides et déformés en permanence. Ceci contribue à des événements vaso-occlusifs additionnels et à la destruction des globules rouges dans la circulation (**Solovey et al, 2001**).

Ces globules rouges altérés ont également une perte de l'asymétrie des phospholipides avec l'externalisation de la phosphatidylsérine, qui joue un rôle significatif dans leur reconnaissance par les macrophages et leur élimination prématurée, l'apoptose cellulaire et l'activation de la coagulation (**Solovey et al, 2001**).

Les événements vaso-occlusifs dans la microcirculation résultent d'un scénario complexe impliquant les interactions entre différents types cellulaires incluant les globules déshydratés et denses, les réticulocytes, les cellules endothéliales anormalement activées, les leucocytes, les plaquettes et des facteurs plasmatiques (**Ataga et al, 2004**).

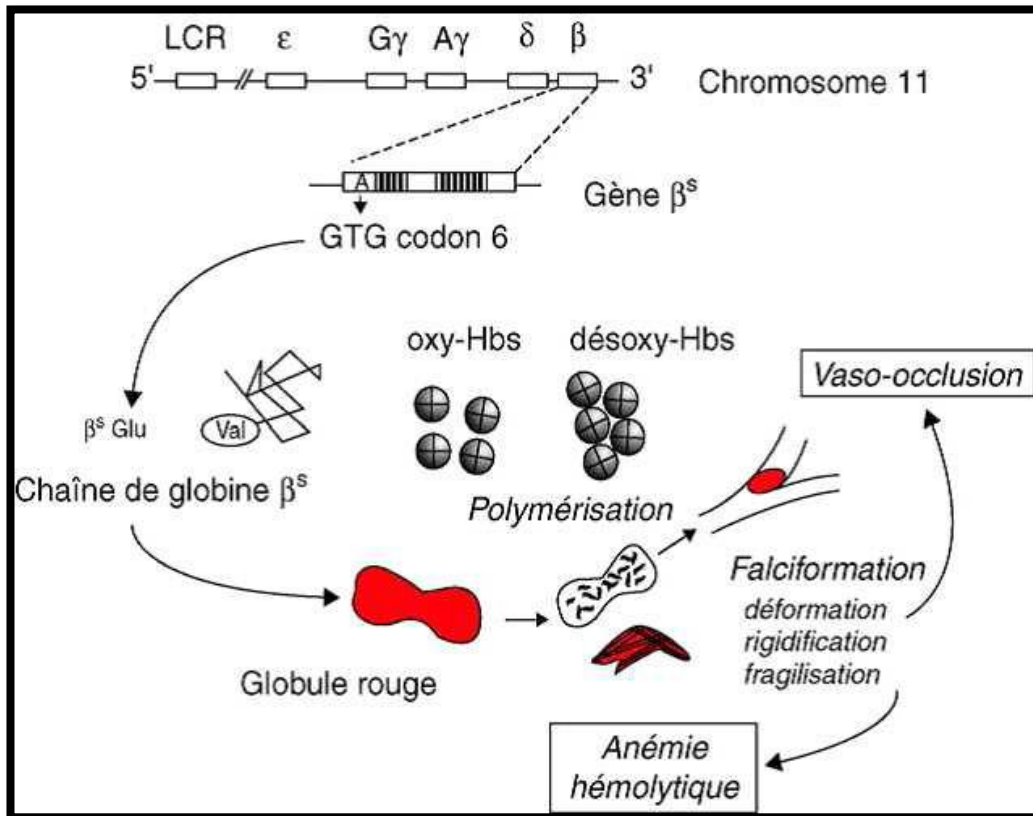


Figure 11 : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose. (La mutation au 6^e codon du gène b-globine conduit à la substitution d'un acide glutamique par une valine et à une hémoglobine anormale : l'HbS. Basse pression en oxygène, la désoxy-HbS polymérise et entraîne une déformation, une rigidification et une fragilisation cellulaires, responsables de l'anémie hémolytique et de la vaso-occlusion) (Labbé et Elion, 2005).

II.5 Drépanocytose et génétique :

II.5.1 Transmission de la drépanocytose :

Cette maladie héréditaire de l'hémoglobine est transmise de façon autosomale récessive, c'est-à-dire qu'elle atteint indifféremment les filles et les garçons. Elle s'exprime lorsque les deux chromosomes transmis par les parents aux enfants sont porteurs du gène de la maladie. Ainsi, les deux gènes bêta-globine s'expriment à égalité, l'un d'origine paternelle, l'autre d'origine maternelle.

- Lorsqu'un seul chromosome est porteur du gène de l'HbS (transmis par la mère ou par le père), le malade est dit hétérozygote (porteur sain).
- Lorsque les deux chromosomes sont porteurs du gène HbS (transmis par la mère et par le père), le malade est dit homozygote (porteur malade).

On distingue ainsi 3 génotypes :

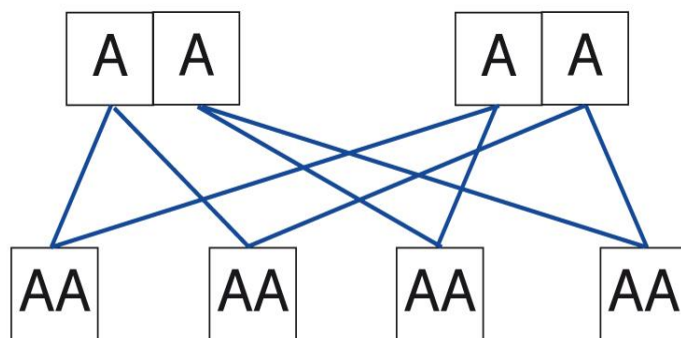
- **AA** = homozygote normal,
- **AS** = hétérozygote porteur sain,
- **SS** = homozygote drépanocytaire malade.

Il est donc possible de prévoir le risque d'atteinte des enfants en fonction du génotype des parents (**Tableau 3**):

Tableau 3: Risques de transmission de la drépanocytose.

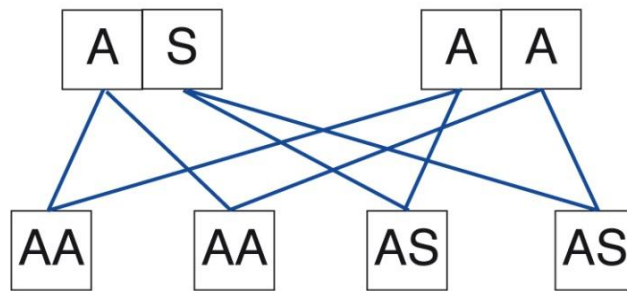
| Père \ Mère | AA | AS | SS |
|-------------|------------------|----------------------------|------------------|
| AA | AA = 100 | AA= 50 AS= 50 | AS= 100 |
| AS | AA= 50 AS= 50 | AA= 25 SS= 25 AS= 50 | AS= 50 SS= 50 |
| SS | AS= 100 | AS= 50 SS= 50 | SS= 100 |

- Si les deux parents ne sont porteurs d'aucun gène drépanocytaire (**AA X AA**), le risque est nul, les enfants seront tous AA.



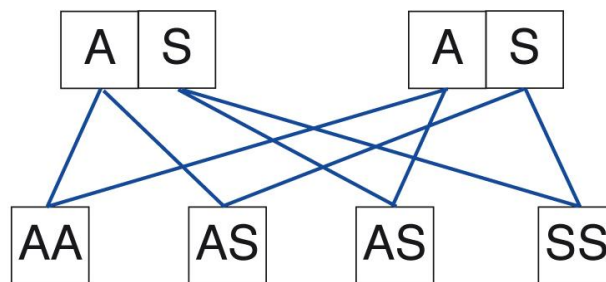
Tous les enfants sont sains

- Si l'un des parents est hétérozygote AS et l'autre parent normal (AS X AA), le risque de transmission du gène est de 50 %, les enfants porteurs étant alors tous hétérozygotes AS.



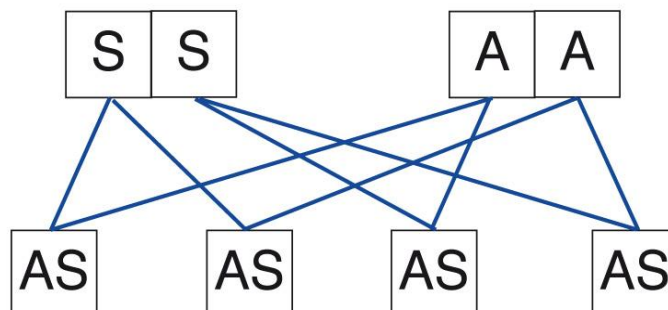
Deux enfants sur quatre sont sains
 Deux enfants sur quatre sont porteurs sains AS

- Si les deux parents sont hétérozygotes (AS X AS), le risque de transmission du gène est de 75% (risque AS = 50% et risque SS = 25%).



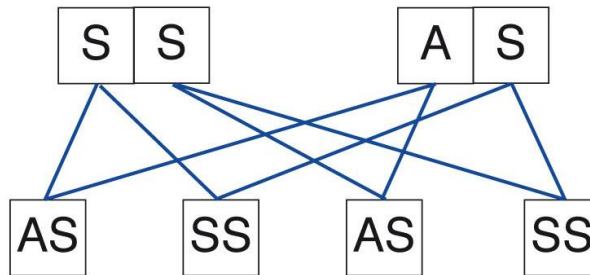
Un enfant sur quatre est sain
 Deux enfants sur quatre sont porteurs sains AS
 Un enfant sur quatre est SS donc malade

- Si l'un des parents est normal AA et l'autre homozygote SS (AA X SS), le risque de transmission est de 100 %, tous les enfants seront AS (hétérozygotes).



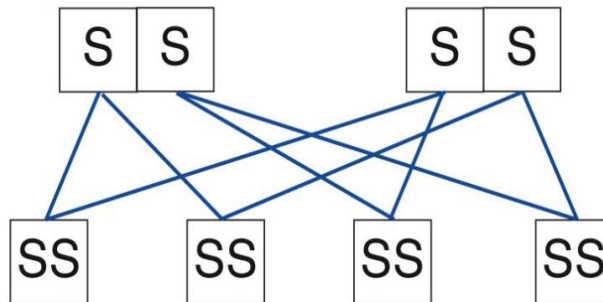
Tous les enfants sont porteurs sains AS

- Si l'un des parents est hétérozygote et l'autre parent homozygote (AS X SS), le risque de transmission du gène est de 100 % (risque SS = 50% et risque AS = 50%).



Deux enfants sur quatre sont porteurs sains AS
Deux enfants sur quatre sont SS donc malades

- Si les deux parents sont homozygotes (SS X SS), le risque de transmission est de 100 %, tous les enfants seront homozygotes SS.



Tous les enfants sont SS donc malades

II.5.2 Détection de la drépanocytose par analyse génétique :

II.5.2.1 Principe de la détection :

La mutation responsable de la maladie drépanocytose est située au niveau d'une séquence reconnue par l'enzyme de restriction BsuI. L'ADN muté ne peut plus être coupé par l'enzyme à cet endroit. (El Barjraji *et al.*, 2004).

Séquence reconnue par l'enzyme : CCTNAGG (N: A, C, G ou T)

ADN normal : CCTGAGG Reconnu et clivé par l'enzyme BsuI

ADN muté : CCTGTGG Non reconnu et donc non clivé par l'enzyme BsuI.

II.5.2.2 Analyse génétique :

Après extraction d'ADN génomique à partir des lymphocytes contenus dans le sang, un fragment d'ADN contenant la région susceptible d'être mutée est amplifiée par PCR à l'aide d'amorces spécifiques.

Le fragment amplifié de 442 pb contient 2 sites de restriction pour l'enzyme BsuI s'il correspond à un gène normal; il n'en contient qu'un seul s'il correspond à un gène muté.

La digestion du fragment amplifié donne donc naissance à trois fragments de 201, 143 et 98 pb pour un gène normal. En présence de la mutation, un des sites disparaît, la digestion produit alors deux fragments de 344 et 98 pb (**Figure 12**)(El Barjraji et al, 2004).

La taille des fragments d'ADN formés est mesurée par électrophorèse en gel d'agarose (**Figure 13**).

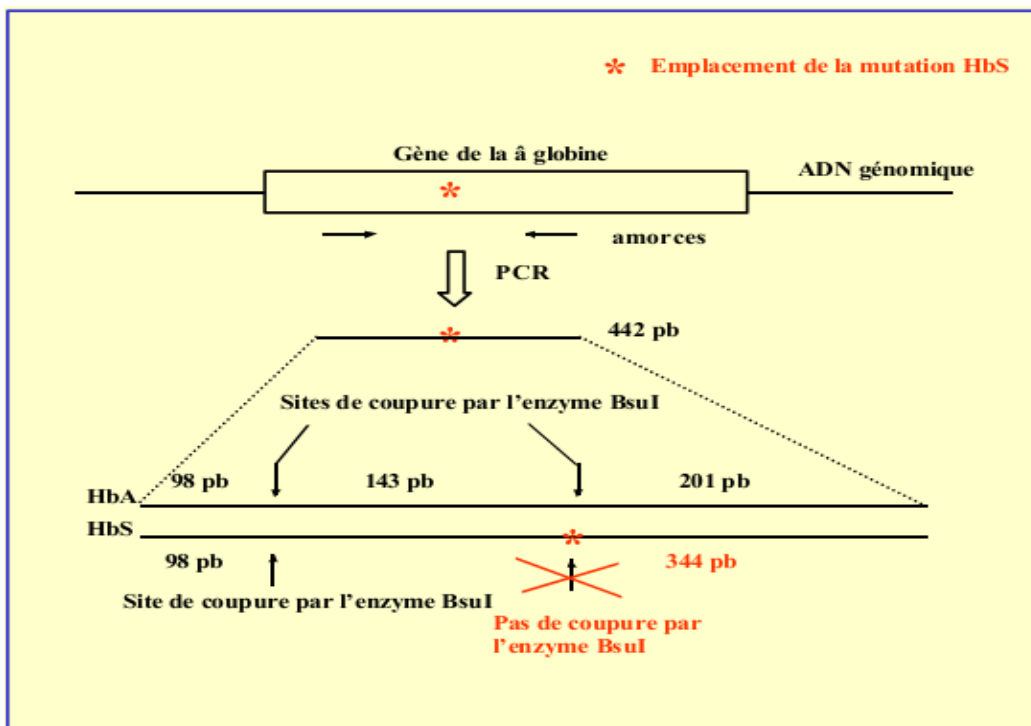


Figure 12 : Détection de la mutation HbS par l'enzyme de restriction BsuI (El Barjraji et al. 2004).

Chaque individu possède 2 copies du gène de la β -globine, l'une héritée de son père, l'autre héritée de sa mère. Il y a donc 3 cas possibles:

- soit les 2 copies sont normales (2x HbA ou « AA »)
- soit une seule des 2 copies est mutée (1x HbA et 1x HbS ou « AS »)
- soit les 2 copies sont mutées (2x HbS ou « SS »)

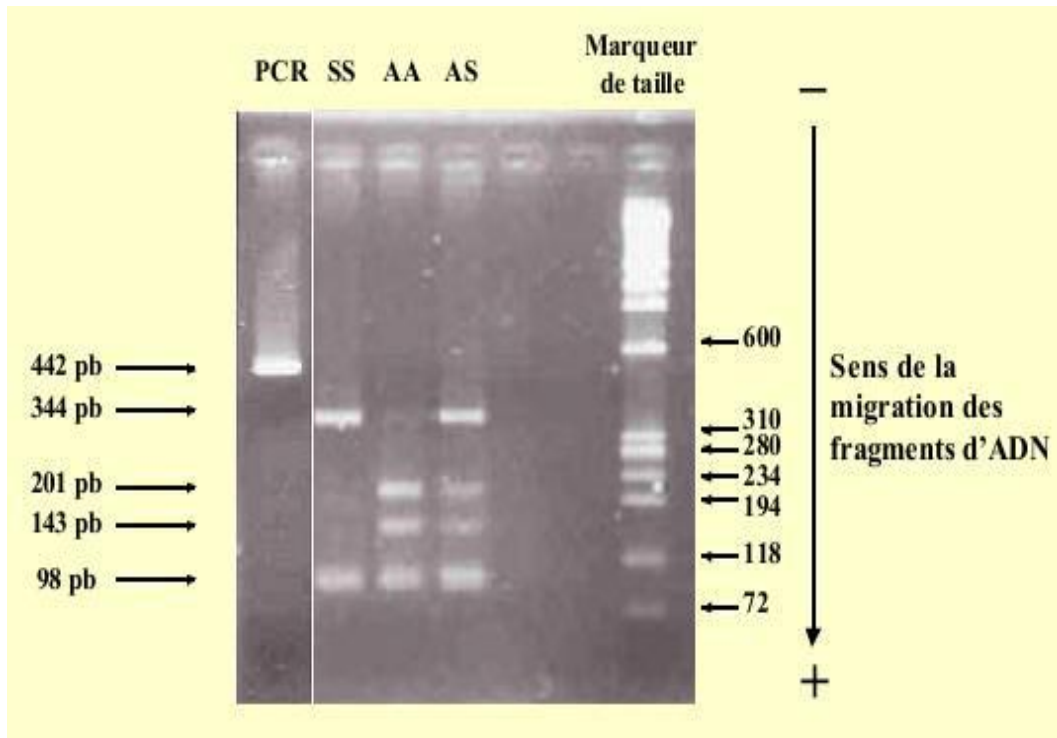


Figure 13 : Principe de la détection (El Barjraji *et al*, 2004).

II.6 Diagnostic biologique :

Le diagnostic biologique de la drépanocytose s'effectue à travers plusieurs techniques nous ne citerons que celles qui sont les plus couramment utilisées :

- **L'hémogramme** (examen hématologique complet) repose sur :
 - la numération des globules rouges en $10^9/l$
 - l'hémoglobine en g/dl
 - le VGM ou volume globulaire moyen en fl
 - la CCMH ou concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine en g/dl
 - la TCMH ou teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine en pg

Tableau 4 : Caractéristiques biologiques des syndromes drépanocytaires majeurs (Wajcman *et al.*, 1992 ; Gulbis *et al.*, 2005).

| | | Normale (N) | SS | SC | S/β0 Thal | S/β+ Thal |
|--|----------------------|-------------|---------|------------|-----------|-----------|
| Hémoglobine (g/dl) | | 12–16 | 7–9 | 10–12 | 7–9 | 9–12 |
| Volume globulaire moyen (fl) | | 80–100 | N | N | 70–90 | 70–90 |
| Réticulocytes (×103/mm3) | | 50–100 | 200–600 | 100–200 | 200–400 | 200–300 |
| Electrophorèse de l'hémoglobine (%) | A | 97–98 | 0 | 0 | 0 | 1–25 |
| | S | 0 | 77–96 | 50, C = 50 | 80–90 | 55–90 |
| | F | < 1 | 2–20 | < 5 | 5–15 | 5–15 |
| | A₂ | 2–3 | 2–3 | – | 4–6 | 4–6 |

N : normal **SC :** Drépanocytose hétérozygote composite **A :** Adulte majeur
F : Fœtale **S :** drépanocytaire **A₂ :** Adulte mineure.

– **Le test de falciformation ou test d'Emmel :**

Il a été mis au point en 1917 par Emmel. Ce test biologique consiste à mettre les hématies à étudier dans une atmosphère désoxygénée, ce qui provoque la polymérisation, suivie de la gélification de l'HbS intraérythrocytaire, entraînant la falciformation des hématies. La désoxygénation du milieu dans lequel sont placées les hématies est accélérée par un réducteur puissant, le métabisulfite de sodium. Ce test rapide et simple permet de reconnaître en quelques instants au laboratoire la présence de l'HbS dans les hématies sans toutefois distinguer la forme homozygote de la forme hétérozygote (Essono et Nkoa; 2004).

– **Le test à la dithionite – Urée :**

Ce test met en évidence la précipitation de l'hémoglobine S dans un milieu réducteur (solution de dithionite). Cette précipitation est réversible après addition d'urée dans le milieu. Ce test de dépistage, comme le précédent permet de mettre en évidence la présence de l'HbS (Essono et Nkoa; 2004).

- **Le test Murayama** : Il repose sur le principe que l'HbS désoxygénée polymérise et forme un gel à 37°C. Ce gel disparaît lorsque le mélange est ramené à 0°C (**Essono et Nkoa; 2004**).
- **Le test de solubilité réduite** : Mis au point par Itano, il consiste à mélanger un hémolysat de globules rouges avec un tampon phosphate concentré en présence d'un réducteur, l'hydrosulfite de sodium. L'apparition d'un trouble dans le milieu indique l'existence d'une Hb anormale HbS ou HbC que l'on peut par la suite différencier par centrifugation (**Essono et Nkoa; 2004**).
- **L'électrophorèse de l'Hb** : C'est la technique la plus utilisée pour le diagnostic de la drépanocytose et la détermination de ses formes homo ou hétérozygotes. Le principe de l'électrophorèse est basé sur la migration des différents types d'Hb dans un champ électrique sur un support approprié, en fonction de leur charge électrique et de leur solubilité. Le sang est prélevé sur anticoagulant et débarrassé du plasma et des leucocytes ; Les globules rouges sont ensuite lysés pour obtenir une solution d'Hb libre, il existe plusieurs types d'électrophorèses ; à pH alcalin ; à pH acide ; l'électrophorèse des chaînes de globine ; et l'Iso électrofocalisation, ainsi que l'électrophorèse capillaire. (**Essono et Nkoa, 2004**).

II.7. Symptômes et signes cliniques de la drépanocytose

II.7.1 Drépanocytose hétérozygote

La grande majorité des patients drépanocytaires hétérozygotes se porte bien, on peut observer chez eux des infarctus spléniques au cours de situations d'hypoxémie sévère et des hématuries macroscopiques. La seule recommandation à donner est de ne pas se placer dans les situations à risque d'hypoxémie.

II.7.2 Drépanocytose homozygote

Les manifestations cliniques de la drépanocytose revêtent une grande richesse symptomatologique. Les signes varient en fonction de l'âge de l'enfant.

De 0 à 3 mois : l'expression clinique est tout à fait asymptomatique du fait de l'effet protecteur du taux élevé de l'hémoglobine fœtale qui inhibe la polymérisation de l'oxyhémoglobine S dans le globule rouge. C'est la période où le diagnostic doit être fait en vue d'une meilleure prise en charge, avant l'apparition des complications (**Credos, 2005**).

De 3 mois à 5 ans : les premiers signes coïncident avec le remplacement progressif de l'hémoglobine foetale par l'hémoglobine adulte porteuse de la mutation S. A partir du 4ème mois les manifestations telles que l'anémie, les infections, les crises vaso-occlusives (CVO), apparaissent et dominent durant les 5 premières années de vie. (Gill et al, 1995).

De 5 ans à l'adolescence : C'est une période qui est marquée par les crises vaso-occlusives douloureuses. La douleur prédomine au niveau des os. Ces complications sont redoutables car elles mettent en jeu le pronostic vital, et sont récidivantes. C'est à cette période que doit s'effectuer le dépistage actif des complications (Credos, 2005).

II.8 Les complications :

II.8.1 Complications aiguës

Les trois types de complications aiguës sont la douleur, l'anémie et l'infection, chacune pouvant favoriser l'une ou les autres (Figure 14)

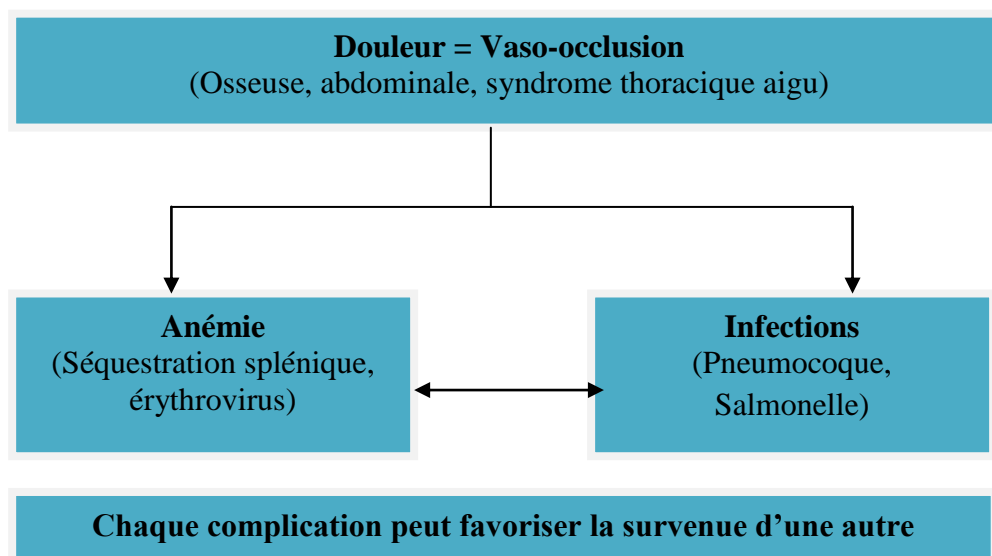


Figure 14 : Les trois types de complications aiguës. (Giro et Montalembert , 2006).

✓ Anémie aiguë

L'aggravation de l'anémie est la chute brutale du taux d'hémoglobine de plus de 2g/dl de sa valeur à l'état basal. L'anémie aiguë se rencontre dans les circonstances suivantes:

- **Paludisme**

Le paludisme est un facteur important de co-morbidité de la drépanocytose. La prophylaxie antipalustre doit donc être rigoureuse chez les patients drépanocytaires, car un accès palustre chez les drépanocytaires est un facteur de survenue des crises vaso-occlusives et d'aggravation de l'anémie (Kafando et al, 2008).

- **Crise hémolytique**

Elle correspond à l'aggravation de l'hémolyse chronique en l'absence d'autres causes de destruction des hématies telles que la séquestration splénique ou hépatique. Elle est le plus souvent accompagnée d'une augmentation du nombre des réticulocytes. L'anémie est régénérative et le frottis sanguin met en évidence des érythroblastes. Il faut rechercher une cause associée d'hémolyse aiguë: paludisme, déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase, un accident secondaire à une allo-immunisation ; elle est aussi rencontrée au cours des infections et des CVO (**Kafando et al, 2008**).

- **Séquestration splénique aiguë**

Elle est définie par l'apparition brutale d'une splénomégalie due à une séquestration des éléments figurés du sang. Cliniquement, l'enfant présente un état de choc hypovolémique, une volumineuse splénomégalie de 3 - 4 cm en dessous du rebord costal. L'hémoglobine est effondrée à moins de 4g/dl et la réticulocytose est en général supérieure à 100.000/mm³ et peut atteindre 400.000 à 800.000 /mm³. L'anémie est associée souvent à une thrombopénie. La crise de séquestration splénique se rencontre surtout chez le nourrisson et le jeune enfant. Il s'agit d'un accident imprévisible, d'extrême urgence car de pronostic très défavorable. Cette complication doit faire l'objet d'une éducation parentale. En effet, il est très important que les parents puissent l'identifier en leur apprenant à palper et à connaître le volume habituel de la rate de leur enfant (**Kafando et al, 2008**).

- **Crise aiguë érythroblastopénique**

L'érythroblastopénie est un arrêt transitoire de l'érythropoïèse caractérisée par une anémie progressive et profonde accompagnée d'une réticulocytose effondrée, la plus souvent inférieure à 50.000 /mm³. Il s'agit d'une complication grave provoquée par le parvovirus B19 (**Kafando et al, 2008**).

- ✓ **Crises douloureuses vaso-occlusives**

Les crises vaso-occlusives (CVO) dues à l'ischémie tissulaire constituent une des manifestations aiguës les plus habituelles de la maladie et la première cause d'hospitalisation. Les CVO se traduisent préférentiellement par une tuméfaction douloureuse inflammatoire des doigts et des orteils. C'est la dactylite ou syndrome pieds-mains manifestation inaugurale chez l'enfant vers l'âge de 6 mois. L'atteinte ostéo-articulaire est très fréquente. Les crises abdominales correspondent parfois à des infarctus splénomésentériques. Lorsque le diagnostic n'est pas connu, la crise abdominale fait le plus souvent évoquer à tort un tableau d'abdomen chirurgical qui conduit parfois à une

laparotomie injustifiée. Ces CVO sont favorisées par certains facteurs parmi lesquels : la déshydratation, les infections, le stress, l'acidose, les changements brusques de température (Kafando *et al*, 2008).



Figure 15 : Syndrome pied-main (Diallo, 2008).

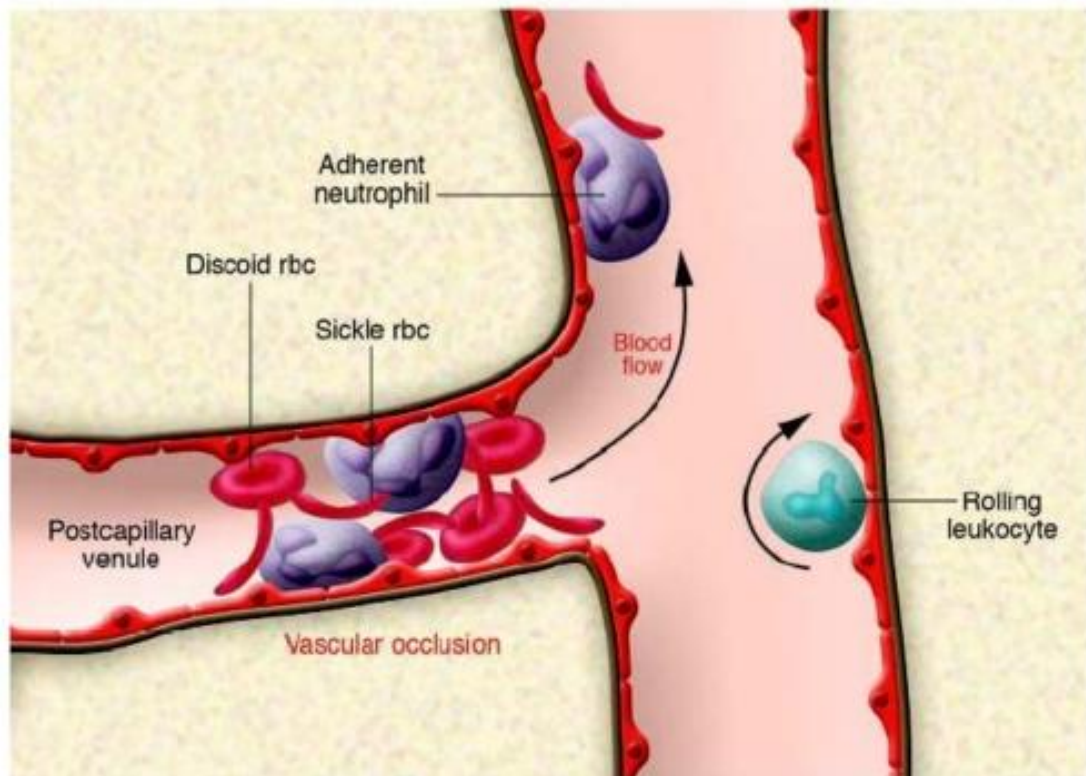


Figure 16 : Mécanismes de la vaso-occlusion (Frenette et Atweh, 2007)

✓ **Syndrome infectieux :**

Elles sont responsables d'une part importante de la morbidité et de mortalité de la drépanocytose entraînant environ 20% à 50% des décès. Le risque d'infection est maximal chez les enfants de moins de cinq ans, mais il perdure toute la vie. Les infections les plus incriminées sont : les méningites, les septicémies, les pneumopathies et les ostéomyélites. Les bactéries responsables sont le pneumocoque, l'*Haemophilus influenzae* de type b, le meningocoque, les salmonelles et le staphylocoque doré (**Kafando et al, 2008**).

✓ **Autres complications aiguës :**

Faute de diagnostic, certaines complications aiguës de la drépanocytose sont peu connues en Afrique et donc non documentés (**Kafando et al, 2008**).

• **Syndrome thoracique aigu (STA) :**

Le STA se définit par l'association d'un nouvel infiltrat radiologique et d'un ou plusieurs des symptômes suivants : toux, fièvre, dyspnée aiguë, expectoration, douleur thoracique et anomalies auscultatoires (crépitations ou souffle tubaire). Le syndrome thoracique aigu est une complication grave des CVO. Il constitue une urgence médicale, car tout retard diagnostique et/ou thérapeutique peut entraîner le décès, qui est d'environ 5% chez l'adulte. Les recherches bactériologiques sont en règle négatives dans la majorité des cas chez l'adulte (**Kafando et al, 2008**).

• **Priapisme :**

C'est une complication fréquente touchant environ 6% des enfants et 42 % des hommes adultes. Le priapisme aigu, souvent précédé d'épisodes de priapisme intermittent, est une urgence qui, en l'absence de traitement, évolue vers une fibrose définitive des corps caverneux. Sa répétition entraîne des séquelles graves avec un risque d'impuissance (**Kafando et al, 2008**).

• **Accidents vasculaires cérébraux (AVC):**

Dans les pays du Nord, la période de la petite enfance est également indiquée pour le dépistage des accidents vasculaires cérébraux (AVC). La réalisation du Doppler transcrânien (DTC) permet actuellement de prédire la survenue d'AVC chez des enfants drépanocytaires asymptomatiques (**Adams, 1992**). En Afrique, cet examen de dépistage est très peu réalisé.

L'AVC est une complication très sévère de la drépanocytose. Son taux élevé de mortalité est d'environ 26% (**Frempong, 1998**). Les signes cliniques les plus fréquents sont l'hémiplégie, l'aphasie ou la dysphasie, avec ou sans convulsions et des déficits cognitifs. En l'absence de traitement préventif, le risque cumulatif de survenue d'un AVC clinique

chez un patient drépanocytaire est de 17 % à 20 ans et de 32 % à 40 ans. L'AVC récidive dans 67 % des cas dans les 12 à 24 mois suivant le premier épisode en l'absence de traitement (**Kafando et al, 2008**).

II.8.2 Complications chroniques :

Les complications chroniques observées sont nombreuses et sont la conséquence des crises vaso-occlusions répétées et peuvent concerner tous les organes.

✓ Complications osseuses et ostéo-articulaires :

Les manifestations musculo-squelettiques de la drépanocytose sont responsables d'une morbidité importante. La complication la plus fréquente chez l'adulte reste la nécrose épiphysaire. Néanmoins, des complications telles que l'ostéonécrose diaphysaire, les arthrites infectieuses, les épanchements articulaires, sont possibles. Parmi les nécroses, l'atteinte de la hanche est la plus fréquente (**Kafando et al, 2008**).

✓ Complications ophtalmologiques :

La drépanocytose va être à l'origine de complications ophtalmologiques fréquentes et graves. Les complications vaso-occlusives de la drépanocytose peuvent toucher tous les territoires vasculaires de l'oeil avec des conséquences pour le pronostic visuel (**Downes, 2005**). Les premières lésions sont habituellement asymptomatiques sur le plan visuel de sorte qu'il est nécessaire qu'un examen ophtalmologique systématique soit pratiqué.

✓ Complications cardiaques :

Les manifestations cardiaques de la drépanocytose apparaissent souvent dès l'enfance. Des souffles systoliques éjectionnels ou d'insuffisance mitrale fonctionnelle, une hyperpulsatilité artérielle, une cardiomégalie radiologique et des signes électriques d'hypertrophie ventriculaire gauche peuvent être constatés chez le drépanocytaire (**Kafando et al, 2008**).

✓ Infections virales :

Il est capital de mettre en place des protocoles afin d'évaluer les risques résiduels d'infections virales, notamment lorsque les conditions de sécurité transfusionnelle ne sont pas optimales, comme c'est souvent le cas dans les pays en développement (**Kafando et al, 2008**).

✓ Autres complications chroniques :

• Complications rénales :

Le rein du patient drépanocytaire présente des anomalies structurelles et fonctionnelles.

Plusieurs complications rénales peuvent être observées (hyposthénurie, énurésie, défaut d'acidification, hématurie, anomalies glomérulaires...) La néphropathie drépanocytaire peut évoluer à terme vers une insuffisance rénale chronique (**Kafando et al, 2008**).

- **Complications hépatobiliaires :**

La lithiase biliaire n'est pas une complication spécifique à la drépanocytose mais bien de l'hémolyse chronique qui y est associée; son incidence est élevée chez les drépanocytaires par rapport à la population générale. L'hémolyse chronique entraîne un catabolisme accru de l'hémoglobine conduisant à une fréquence élevée de calculs pigmentaires de bilirubine. La surveillance échographique chez les patients drépanocytaires permet d'estimer le début de survenue de la lithiase vésiculaire avec une prévalence qui augmente avec le temps (**Kafando et al, 2008**).

- **Complications auditives :**

Des complications auditives dans la drépanocytose SC ont été observées et seraient liées à l'hyperviscosité sanguine. L'hypothèse émise est que la viscosité sanguine causerait une ischémie au niveau de l'artère labyrinthique qui serait responsable de troubles au niveau cochléaire (**Kafando et al, 2008**).

- **Complications cardio-vasculaires :**

Ces complications peuvent être liées à l'anémie chronique. Il est recommandé de pratiquer un électrocardiogramme et une échographie cardiaque devant toute douleur thoracique atypique, isolée ou inexplicée chez un enfant drépanocytaire. **Kafando et al, 2008**).

II.9 Dépistage néonatal (DN) :

Le dépistage néonatal (DN) permet d'identifier les nouveau-nés susceptibles d'être atteints d'une pathologie grave, sans signe visible à la naissance, afin de leur proposer au plus tôt une prise en charge spécialisée adaptée, qui permettra à l'enfant d'avoir une vie normale ou meilleure.

Techniquement, ce dépistage est simple à réaliser: à la naissance, un prélèvement sanguin est effectué, par piqûre au talon ou au dos de la main, des nouveau-nés au troisième jour de vie. La goutte de sang est examinée pour rechercher la présence d'hémoglobine S, et sa forme génétique pour déterminer si le bébé est seulement porteur ou bien s'il est malade.

Ce dépistage néonatal permet de débiter, avant l'âge de trois mois, le traitement préventif des complications infectieuses et de l'anémie et d'informer les parents sur la maladie (**Bardakdjian, 2008**).

II.10 Traitement de la drépanocytose :

Depuis sa caractérisation, la drépanocytose fait l'objet de nombreuses recherches visant à en développer un traitement. Plusieurs méthodes de traitement ont été mises au point et sont utilisées, mais aucune thérapeutique ne s'avère parfaitement efficace, ni parfaitement tolérée, ni universelle. Les principaux traitements utilisés sont la transfusion sanguine, la greffe de moelle osseuse, et les traitements pharmacologiques.

✓ **La transfusion sanguine :**

Il existe deux méthodes de transfusion sanguine : la transfusion simple et l'échange transfusionnel. Dans cette dernière, le sang du patient est prélevé et remplacé par du sang provenant d'un donneur sain afin de maintenir la volémie constante tout en faisant diminuer le taux d'HbS.

Les indications de la transfusion simple sont :

- L'anémie aiguë.
- Le syndrome thoracique aigu sans défaillance viscérale associée et avec un taux plasmatique en hémoglobine <9g/dl.

Les indications de l'échange transfusionnel sont :

- Les autres syndromes thoraciques aigus.
- Les AVC.
- Les crises douloureuses hyperalgiques résistantes à la morphine.
- La préparation à une chirurgie nécessitant une anesthésie générale.
- Le priapisme résistant au drainage et à l'injection d'étiléfrine.

Les indications des programmes chroniques d'échange transfusionnel sont :

- La prévention primaire ou secondaire de l'accident vasculaire cérébral.
- La prévention secondaire de l'hémorragie intracérébrale.
- L'échec de l'hydroxyurée (**Bizot, 2018**).

✓ **La greffe de moelle osseuse :**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques CSH (issues de moelle osseuse ou de sang placentaire intra-familial) est le seul traitement vraiment curatif de la drépanocytose à ce jour. Actuellement, elle offre 95 % de chance de « guérison » lorsqu'elle est réalisée durant l'enfance à partir d'un donneur HLA identique de la fratrie. Elle est réservée aux patients souffrant d'une forme grave de la maladie et pour lesquels il existe un donneur HLA compatible (généralement familial). Les indications à cette greffe sont :

- L'existence d'une vasculopathie cérébrale.

- La récurrence d'un syndrome thoracique aigu ou d'une crise vaso-occlusive malgré le traitement par l'hydroxyurée (**Bizot, 2018**).

✓ **Les traitements pharmacologiques :**

Les traitements pharmacologiques sont les plus fréquemment appliqués, pour des raisons « logistiques » en premier lieu. Choisis selon le patient (âge, en particulier) et son profil phénotypique et clinique, ils se subdivisent en trois catégories principales, selon leur objectif et/ou la cible thérapeutique (**Steinberg, 2006**), comme suit :

1. Induction d'HbF (hémoglobine non-polymérisant) :

- Hydroxyurée, HU ; si cette option thérapeutique représente le traitement de choix en première intention, pour les enfants et les patients homozygotes, la tolérance à long terme reste à assurer (**Mellouli et Bejaoui 2008**); NB : il est admis aujourd'hui que HU exerce ses effets bénéfiques au travers de plusieurs mécanismes, en sus de
- l'induction de HbF, dont la production de NO°, une capacité antioxydante, et des effets anti-adhésions cellulaires (**Haynes et al. 2008**).
- 5-Azacytidine ; décitabine -éventuellement utilisés en cas d'échec de l'induction de HbF avec HU, (**Steinberg, 2006**)

2. Modulation de la densité des érythrocytes et inhibition de la déshydratation :

- Inhibition du cotransport K⁺-Cl⁻ (magnésium oral) (**De Franceschi et al, 1997**), et/ou du canal Gardos (clotrimazole) (**Mueller et Brugnara, 2001**),
- Inhibition de la perméabilité anionique ; Inhibition des flux induits par la désoxygénation (**Steinberg, 2006**);

3. Traitements visant la circulation et la microcirculation :

- Anti-adhésions cellulaires (**Telen, 2007**)
- Thérapie(s) antioxydante et/ou anti-inflammatoire (**Redding-Lallinger et Knoll, 2006**)

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1 Objectif de l'étude :

L'objectif de notre travail était de déterminer la prévalence de la drépanocytose parmi les hémoglobinopathies enregistrées dans le service de pédiatrie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de l'hôpital de Ain Tedeles (wilaya de Mostaganem), d'étudier les aspects épidémiologiques de la drépanocytose et de s'initier aux techniques hématologiques permettant le diagnostic de cette maladie.

III.2 Cadre d'étude :

Notre étude a été réalisée au niveau de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Ain Tedeles. Cette étude a débuté par une enquête rétrospective portant sur les archives des patients qui ont une hémoglobinopathie, au sein du service de pédiatrie de l'établissement. Nous avons également effectué un hémogramme et un frottis sanguin d'un patient drépanocytaire au niveau du laboratoire d'analyses médicales (section d'Hématologie).

III.3 Période d'étude:

Notre étude s'est déroulée du 25 avril au 25 mai 2021.

III.4 Population d'étude :

L'étude a porté sur 4 malades (cas) drépanocytaires, de sexe masculin admis dans le service de pédiatrie, pour une hémoglobinopathie. Il s'agissait des enfants, dont l'âge varie entre 1 et 6 ans. Pour la comparaison nous avons pris un enfant en bonne santé (1 an) comme témoin (un garçon).

III.5 Paramètres étudiés :

Les paramètres étudiés étaient les suivants :

- Age, sexe et poids des enfants
- Volume globulaire moyen (VGM)
- Taux d'hémoglobine (Hb)
- Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)
- Globules rouges (GR)
- Hématocrite (HT)

III.6 Prélèvement sanguin :

Le prélèvement sanguin a été réalisé par ponction veineuse, le sang a été recueilli dans des tubes EDTA et dans des tubes secs. Après l'étiquetage, l'identité de chaque patient a été enregistrée.

III.7 Hémogramme :

L'hémogramme, aussi appelé numération formule sanguine ou examen hématologique complet, est un examen simple, standardisé et automatisé. Cet examen est effectué sur un petit échantillon de sang traité par un anticoagulant, généralement l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique disodique (EDTA). C'est un anticoagulant solide, indiqué pour des tests quantitatifs, sous forme de sel de sodium, ou mieux de sel de potassium, (plus soluble), à raison de 1mg/ml de sang. Il respecte la morphologie des leucocytes (**Sultan et al, 1982 ; Haward et Hamilton, 2004**).

III.7.1 Hémogramme normal

Les principales particularités évolutives des valeurs hématologiques chez l'enfant sont :

- Des valeurs élevées de l'hémoglobine à la naissance, qui diminuent très rapidement pour faire place à une tendance anémique et hypochromique vers l'âge de 3 à 6 mois.

Dès l'âge de 1 an, et avec la disparition de l'hémoglobine fœtale, les chiffres érythrocytaires rejoignent ceux de l'adulte.

- Une tendance à l'hyperleucocytose pendant la première année de vie, associée à une lymphocytose prédominante physiologique à cette période (**Schaison et al, 2004**).

III.8 Etude morphologique d'éléments figurés du sang:

En cas d'anomalie quantitative ou qualitative détectée par l'automate, concernant le nombre de GR et le taux de l'Hb, une étude morphologique du frottis de sang est indispensable. Un frottis sanguin est l'observation au microscope d'une goutte de sang étalée sur une lame de verre, afin d'examiner les cellules sanguines. L'analyse microscopique permet:

- d'étudier la morphologie des GR;
- d'établir une formule leucocytaire avec détection des cellules anormales (**Varet, 2007**).

Le frottis est confectionné à partir de prélèvements de moins de 3 heures. Il est important d'utiliser des lames parfaitement propres et dégraissées, afin d'éviter les agrégations cellulaires.

III.8.1 Réalisation d'un frottis sanguin :

1. Nettoyer 2 lames à l'alcool, les sécher avec du papier absorbant, les déposer sur du papier absorbant.
2. Ajouter une goutte de sang de la taille d'une tête d'épingle déposée à environ 1 cm de l'extrémité d'une lame, posée horizontalement sur un plan dur.

3. Appliquer une lamelle inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon à ce que le sang s'étale sous la lame par capillarité.
4. Faire glisser lamelle inclinée à 45° pour étaler uniformément la goutte.
5. Sécher le frottis avec le sèche-cheveux.
6. Repérer au marqueur, avec une lettre F, la face où se trouve le sang (**Figure 17**)

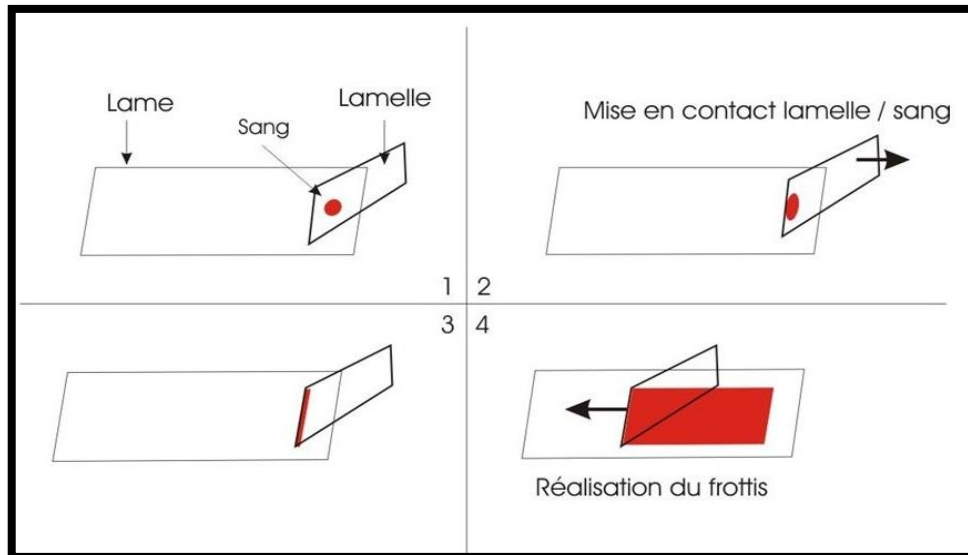


Figure 17 : Réalisation d'un frottis sanguin [1]

III.8.2 Préparation variante de la coloration de May- Grünwald – Giemsa :

1. Aligner devant soi, dans l'ordre, les trois flacons :
 Flacon 1 = fixateur (couleur violette),
 Flacon 2 = May-Grünwald (colorant rouge)
 Flacon 3 = Giemsa (colorant bleu).
2. Placer la lame sur une boîte de Pétri ;
3. Recouvrir le frottis de quelques gouttes de fixateur (flacon1) et attendre 5 secondes, égoutter verticalement au contact du papier absorbant ;
4. Procéder comme à l'étape 2 pour le colorant du (May-Grünwald) et attendre 5 min, puis le colorant du (Giemsa) pendant 20 min ;
5. Rincer la lame en l'arrosant délicatement avec la pissette d'eau distillée au dessus de l'évier ;
6. Egoutter sur papier absorbant puis sécher la lame au sèche-cheveux ;
7. Observer au microscope sans lamelle (bien repérer la face F où se trouve le sang) (**Figure 18**).

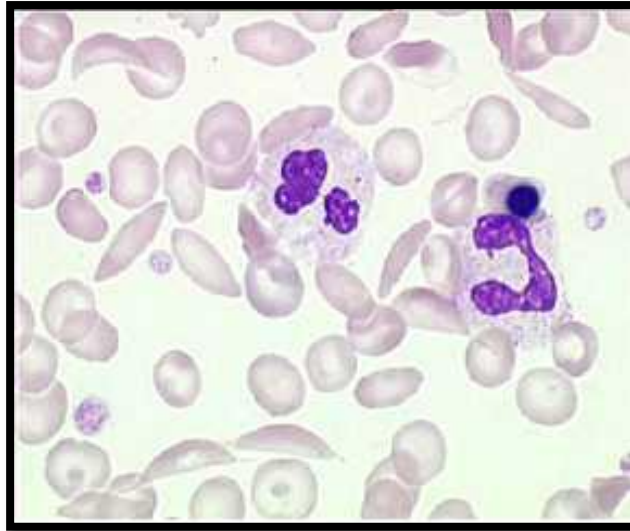


Figure 18: observation microscopique d'un frottis sanguin coloré par MGG d'un drépanocytaire SS (Laouali Soheib, 2016).

III.8.3 Description générale de l'appareil de coloration automatique de frottis sanguin.

L'appareil de type HEME-TEK est un instrument automatisé, paillasse spécialement conçu, pour la coloration de l'hématologie de glissières pour le diagnostic in vitro.

1. Dans un premier temps, on marque le nom de sujet sur les lames de frottis avec un crayon. Et lors du chargement de diapositives sur l'instrument, le côté couvert par le frottis sanguin est face à la gauche de l'opérateur.
2. On place les lames correctement préparées dans les rainures des spirales de transport avec le côté de frottis de sang faisant face à la gauche de l'opérateur. Comme les lames se déplacent le long du plateau, d'abord verticalement, puis horizontalement avec le frottis sanguin vers le bas, l'appareil effectue les étapes suivantes:
 - Trois interrupteurs de détection sont déclenchés séquentiellement. Chaque commutateur transmet l'information à un autre commutateur, qui active sa pompe de solution respectivement. Le réactif utilisé est nommé le colorant de Wright (éosine-bleu de méthylène).
 - Après coloration et rinçage accompli, le coulisseau est séché par un courant d'air de ventilateur à faible vitesse.
 - Enfin, la lame est livrée dans le tiroir coulissant, et est prête pour l'examen.
3. Après la coloration, contrôler en faible grossissement la qualité du frottis, depuis la tête (goutte initiale) jusqu'à la queue (Youcefi et Saidi, 2017).

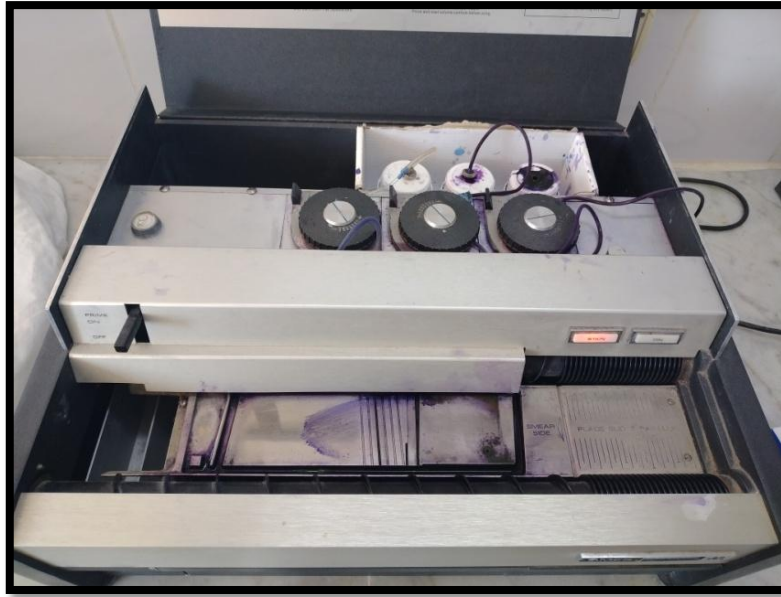


Figure 19 : L'automate de coloration des lames hématologiques HEME-TEK 2000 (photo personnelle).

Remarque: durant notre stage, l'automate de coloration des lames hématologiques HEME-TEK 2000 (**Figure 19**) était en panne, donc nous avons fait la coloration manuellement (MGG).

III.9 Electrophorèse de l'hémoglobine :

L'électrophorèse des hémoglobines du sang humain est une analyse très utile en laboratoire d'analyses cliniques, pour rechercher les anomalies qualitatives et quantitatives de l'hémoglobine. Parallèlement aux techniques d'électrophorèse sur différents supports, dont le gel d'agarose, la technique d'électrophorèse capillaire s'est développée car, elle offre l'avantage d'une automatisation complète de l'analyse, de séparations rapides et d'une bonne résolution (**Youcefi et Saidi, 2017**).

III.9.1 Principe de la technique :

L'appareil permet la séparation en milieu basique ($\text{pH} = 9,4$) des hémoglobines du sang humain (A, F et A2) et la détection des principales hémoglobines anormales (notamment S, C, E et D) par électrophorèse capillaire.

La séparation électrocinétique effectuée dans un tube de diamètre interne inférieur à 100 μm rempli d'un tampon composé d'électrolytes. Les hémoglobines se déplacent en fonction de leur charge, du poids moléculaire, de la force ionique, du pH du tampon et de la nature du support. L'injection dans les capillaires de l'échantillon dilué dans la solution

hémolysante est effectuée à l'anode par aspiration. Les hémoglobines sont détectées directement au niveau d'une cellule sur le capillaire par spectrophotométrie d'absorbance à 415 nm. L'ordre de migration des principales hémoglobines normales et anormales est le suivant, de la cathode vers l'anode.

Dès la fin de 14 analyses la quantification relative des fractions est automatiquement effectuée et les profils peuvent être interprétés sur écran d'ordinateur. Les pics d'hémoglobines A (Hb A), F (Hb F) ; A2 (HbA2) et C (Hb C) sont identifiés de façon automatique et le pic d' Hb A est positionné au centre de la fenêtre de reprise. Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies. Les positions potentielles des différents variant de l'hémoglobine (identifier par les zones Z1 à Z15) sont repérées à l'écran et sur le compte – rendu des résultats (**Youcefi et Saidi, 2017**).

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 Résultats:

Notre enquête épidémiologique rétrospective a été effectuée au niveau du service de pédiatrie à l'EPH de Ain Tedeles (Mostaganem). Nous avons consulté les dossiers de 39 patients souffrant d'hémoglobinopathies de l'archive des deux dernières années par l'étude des profils électrophorétiques et des hémogrammes. Parmi ces cas nous avons répertorié 4 cas de drépanocytose, ce qui donne une prévalence de :

Prévalence de la drépanocytose parmi les hémoglobinopathies : $\frac{4}{39} \times 100 = 10,25\%$.

Les autres cas d'hémoglobinopathies étaient des thalassémies.

Les 4 malades sont tous de même sexe (mâle), âgés ainsi : deux patients avaient 1 an et deux patients avaient 6 ans. Leur poids varie entre 8 et 19,3 kg. Les résultats de cette étude sont illustrés dans le tableau suivant:

Tableau 5 : Résultats de notre enquête rétrospective : caractéristique des patients drépanocytaire.

| | Témoin | Cas 1 | Cas 2 | Cas 3 | Cas 4 |
|--|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Sexe | M | M | M | M | M |
| Age (ans) | 1 | 1 | 6 | 1 | 6 |
| Poids (Kg) | 10 | 9,3 | 19 | 9 | 17 |
| Hémoglobine (g/dl) | 13 | 7,8 | 7,3 | 8,5 | 7,7 |
| Globules rouges ($10^9/l$) | 4,7 | 4,08 | 2,23 | 3,86 | 2,73 |
| Globules blancs ($10^9/l$) | 8,3 | 10,66 | 19,69 | 17,49 | 10,03 |
| VGM (fl) | 85 | 55 | 83 | 64 | 82 |
| TCMH (pg) | 30,07 | 15,04 | 20,9 | 21,9 | 25,1 |
| Plaquettes (G/L) | 279 | 825 | 652 | 153 | 277 |
| Ht (%) | 42 | 27,71 | 22,2 | 24,86 | 22,26 |

IV.1.1 L'étude des paramètres érythrocytaire FNS :

- Les taux d'hémoglobine varient entre 7,3 et 8,5 g/dl (**Figure 20**).

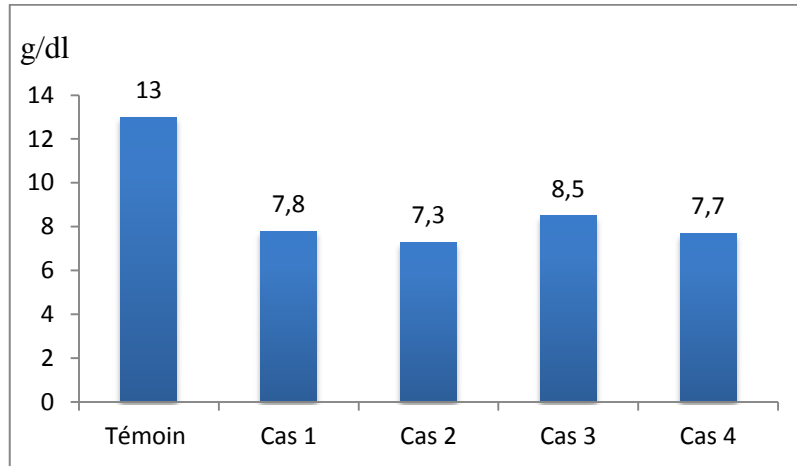


Figure 20 : Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl).

- Les nombres de globules rouges varient entre 2,23 et 4,08 $10^9/l$ (**Figure 21**).

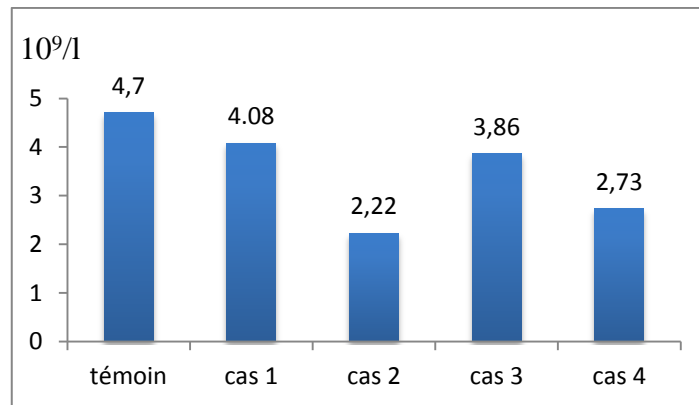


Figure 21 : Variation du nombre des globules rouges ($10^9/l$).

- Les nombres de globules blancs varient entre 10,03 et 19,69 $10^9/l$ (**Figure 22**).

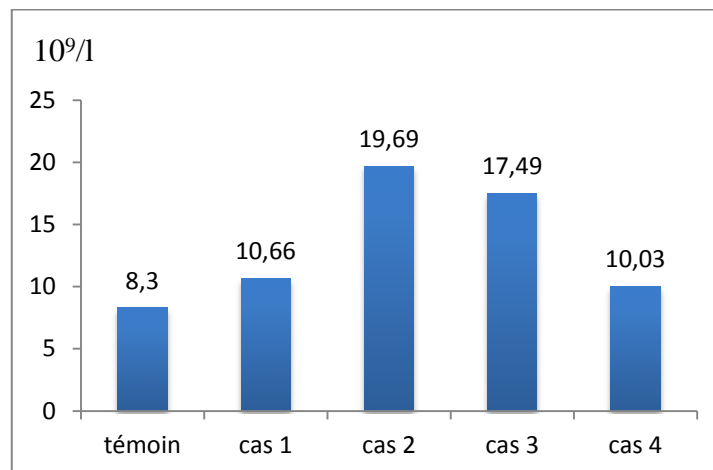


Figure 22: Variation de nombre des globules blancs ($10^9/l$).

- Les volumes globulaires moyens varient entre 55 et 83 fl (**Figure 23**)

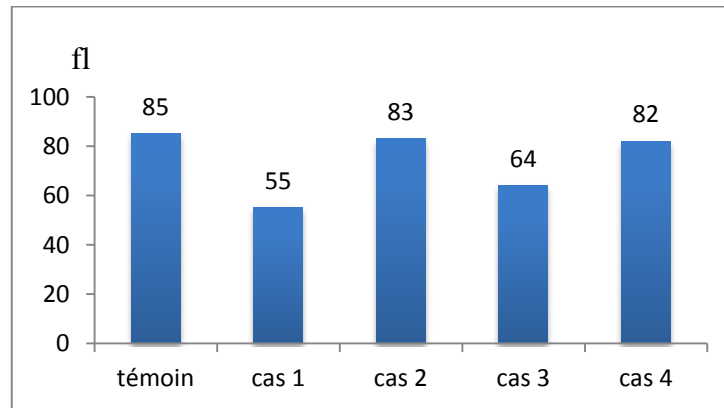


Figure 23 : Variation du volume globulaire moyenne (VGM) (fl).

- Le teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine varie entre 15,04 et 25,1 pg (**Figure 24**).

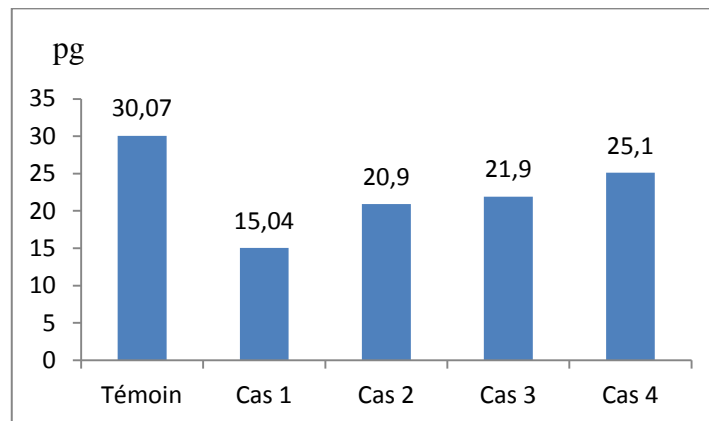


Figure 24: Variation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg).

- L'hématocrite (HT) varie entre 22,2% et 27,71% (**Figure 25**)

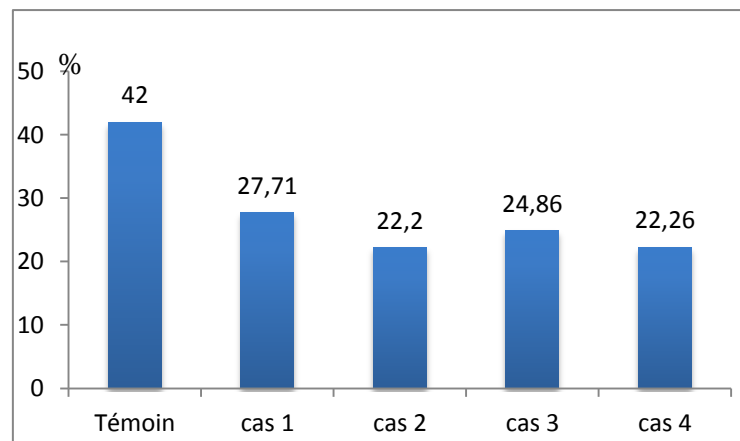


Figure 25: Variation de l'hématocrite (%)

Tableau 6: Résultats de l'hémogramme (moyennes des 4 cas étudiés)

| Hb (g/dl) | GR ($10^9/l$) | GB ($10^9/l$) | VGM (fl) | TCMH (pg) | Ht (%) |
|-----------|-----------------|-----------------|----------|-----------|--------|
| 11,07 | 4,4 | 16,54 | 92,25 | 28,25 | 34,75 |

IV.1.2 Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un patient drépanocytaire :

L'étude des frottis sanguins sous le microscope optique du patient (garçon) drépanocytaire SS âgé d'un an, nous a permis d'observer la présence des hématies normales, de Polynucléaires Nitrophiles et surtout des hématies falciformes (**Figure 26**).

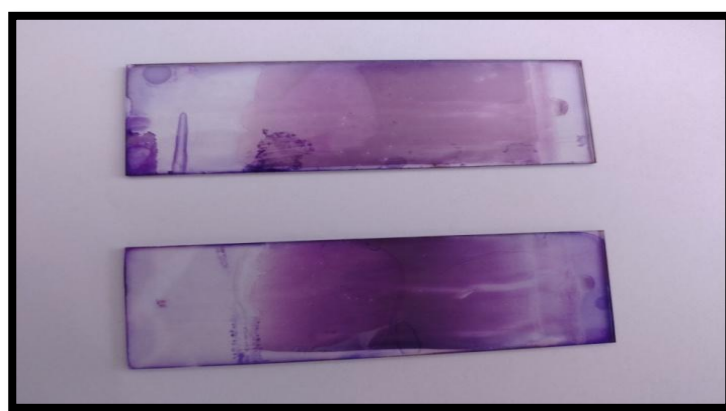


Figure 26: Frottis sanguin coloré par MGG d'un garçon drépanocytaire SS âgé de 1 an.

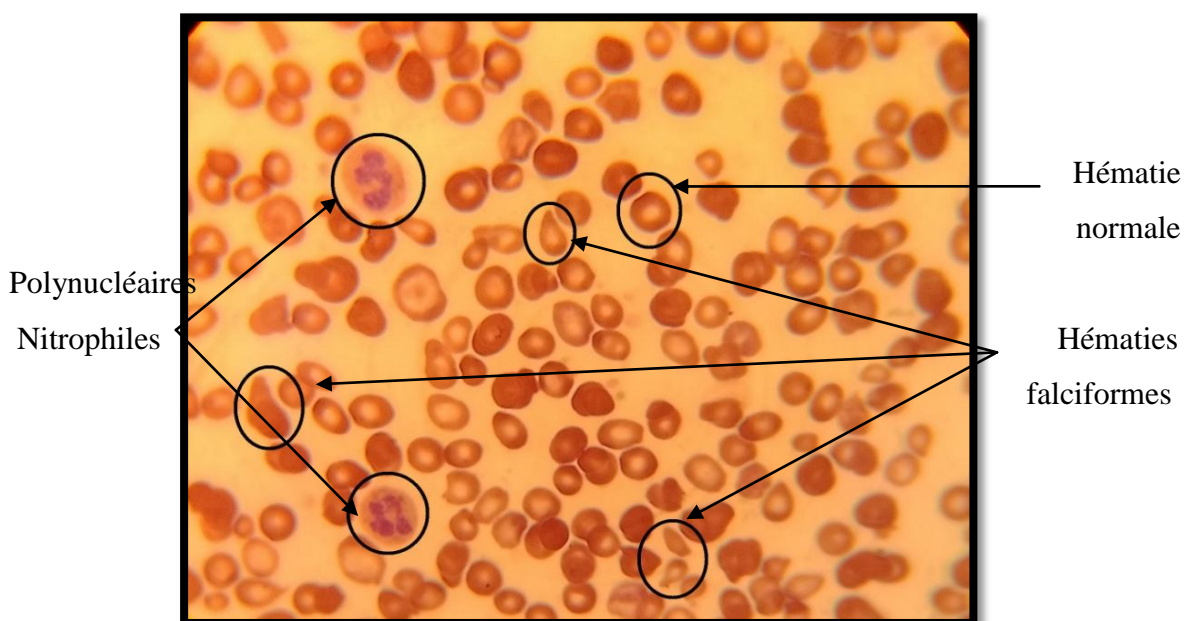


Figure 27 : Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire SS âgé de 1 an.

IV.1.3 Électrophorèse de l'hémoglobine :

L'étude de l'électrophorèse de l'Hb des patients drépanocytaires permet de confirmer le diagnostic de la maladie (drépanocytose). La figure 28 montre le résultat obtenu chez un patient témoin (normal) et les figures 29 et 30 montrent les profils électrophorétiques obtenus chez des patients drépanocytaires. Ces profils ont été pris des dossiers des patients. L'appareil permettant de réaliser des électrophorèses était en panne au moment de notre stage.

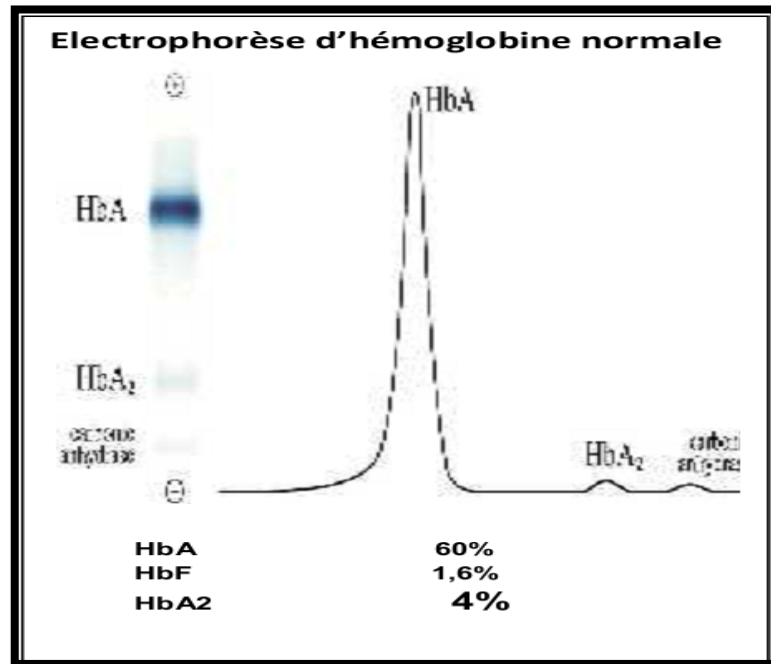


Figure 28 : Profil électrophorétique d'un sang normal (témoin, hémoglobine A).

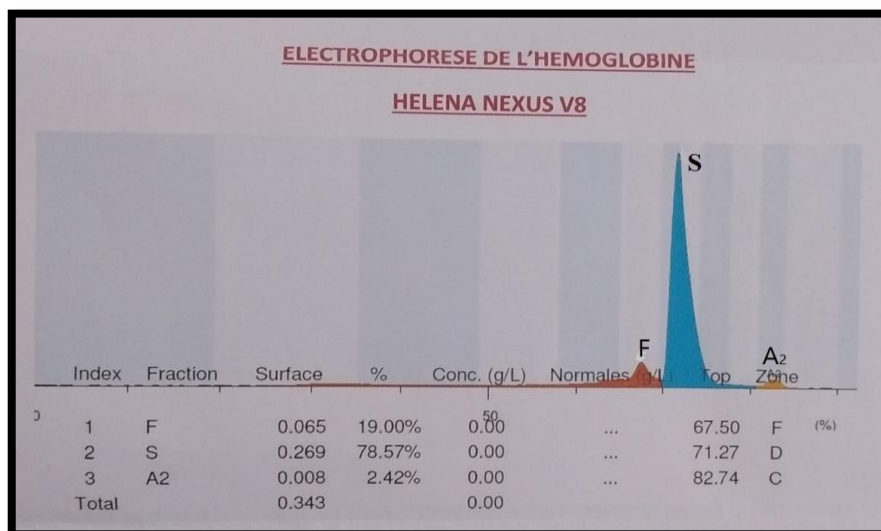


Figure 29: Profil électrophoretique d'un sang avec variant HbS.

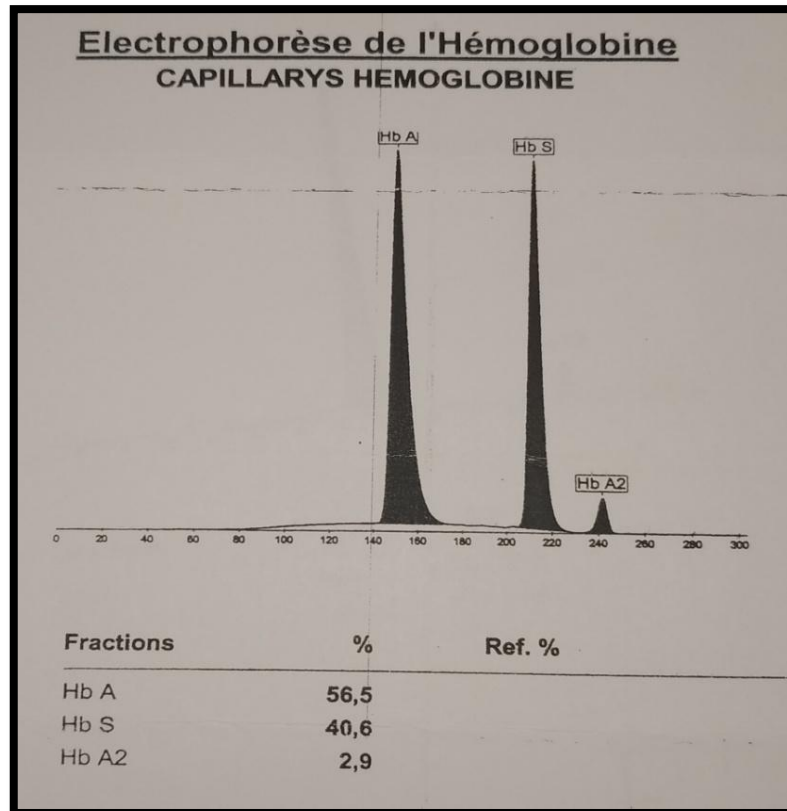


Figure 30: Profil électrophoretique d'un sang avec variants HbS et HbA.

IV.2 Discussion :

La mutation responsable de la drépanocytaire consiste en un changement de l'acide aminé en sixième position sur la protéine de l'hémoglobine: l'acide glutamique est substitué par une valine. L'hémoglobine qui résulte de cette substitution est appelée HbS, à cause de la déshydratation des globules rouges et d'un défaut de leur déformabilité, liée à la polymérisation des molécules d'HbS en milieu pauvre en O₂ (**Faure et al, 2011 et kafando et al, 2008**).

Notre étude a été réalisée au niveau de service de pédiatrie EPH de Ain Tedeles (Mostaganem). Il s'agit d'une étude rétrospective sur la maladie de la drépanocytose dans cette région. L'étude des dossiers au niveau de ce service a permis de dégager 4 cas d'enfants drépanocytaires, soit une prévalence de 10,25% parmi les hémoglobinopathies. Nos résultats diffèrent et sont en dessous de ceux rapportés par (**Boufenghour et Belhadj, 2017**) dans la population de l'Est Algérien, où parmi 173 patients atteints d'hémoglobinopathies qui ont été recensés au cours de leur étude, ils ont trouvés 64 sujets atteints de drépanocytose soit 37%. Mais il faut remarquer que notre échantillon d'étude est très réduit.

Sexe :

Tous les patients drépanocytaires étaient de sexe masculin. La même observation a été faite par **Diallo (2008)** et **Fofana (2002)** à Bamako (Mali). Cette prédominance masculine ne peut pas être expliquée par une quelconque relation entre le sexe et la maladie, puisque la transmission de cette maladie est autosomique.

- **Age :**

Les enfants drépanocytaires dans la présente étude étaient âgés de 1 an (2 cas) et 6 ans (2cas). Rappelons que De 3 mois à 5 ans, les premiers signes coïncident avec le remplacement progressif de l'hémoglobine fœtale par l'hémoglobine adulte porteuse de la mutation S. A partir du 4ème mois, les manifestations telles que l'anémie, les infections, les crises vaso-occlusives (CVO), apparaissent et dominent durant les 5 premières années de vie (**Gill et al, 1995**).

Selon **Galacteros (2001)**, cette prédominance de la tranche d'âge 0-5 ans est due au fait que vers 12 à 48 mois, l'hémoglobine S remplace presque totalement l'hémoglobine F d'où la fréquence élevée des crises et même des complications (en particulier les infections et les anémies) et qu'à partir de 8-9 ans, elle commence à baisser. Cette décroissance de l'effectif des malades en fonction de l'âge a été notée par **Diallo (2008)**, **Fofana (2002)** et **Traoré (1992)** à Bamako au Mali.

Le nombre plus élevé d'enfants âgés de moins de 5 ans par rapports à ceux âgés entre 5 à 15 ans peut s'expliquer par l'absence des traitements transfusionnels correctement pratiqués, la mort se produit pour la moitié des patients avant l'âge de 4 ans, les autres dépassent rarement l'âge de 10 ans (**Perelman, 1977**).

Tableau 7 : Valeurs physiologiques de l'hémoграмme chez l'enfant âgé de 1 an et 6 ans.

| FNS Age | GR 10 ⁹ /l | Hb g/dl | VGM f/l | GB 10 ⁹ /l | TCMH | Plaq. 10 ⁹ /l | HT |
|--------------|-----------------------|---------|---------|-----------------------|-------|--------------------------|-------|
| 1 an | 4,1-5,1 | 11-15 | 75-82 | 8-12 | 27-32 | 200-350 | 36-48 |
| 6 ans | 4,2-5,2 | 12,5-15 | 78-88 | 7-11 | 27-32 | 200-350 | 36-48 |

- **Taux d'Hémoglobine (Hb) :**

Le taux d'Hb chez les sujets malades varie de 7,3 à 8,5 g/dl et est faible par rapport au témoin (13g/dl) et aux valeurs physiologiques [(11-15) à (12,5-15)] (**Tableau 7**). Nos

résultats se rapprochent de ceux rapportés par **Kizunda et al, (2006)** où le taux moyen d'Hb de base est de $7,9 \pm 1,6$ g/dl chez les patients SS, ainsi que ceux rapportés par **Gbadoé et al, (2001)** soit $7,4 \pm 1,4$ g/dl. **Simpore et al, (2002)** rapporte un taux d'Hb moyen de $8,48 \pm 2,3$ g/dl, et les résultats rapportés par **Nacoulma et al, (2006)** montrent un taux d'Hb moyen de $7,8$ g/dl chez les homozygote SS. **Laouali, (2016)** rapporte un taux d'Hb estimé à $(7,815 \pm 2,95)$. **Selon Kafando et al., (2008)**, le mécanisme moléculaire est le remplacement par une valine de l'acide glutamique en position 6 de la chaîne de la globine entraînant la production anormale de l'hémoglobine S, cause de la déshydratation des globules rouges et d'un défaut de leur déformabilité (drépanocytes) liées à la polymérisation des molécules d'HbS en milieu pauvre en oxygène, ce qui explique la diminution du taux d'Hb A.

- **Nombre de globule rouge (GR) :**

Nous avons remarqué une diminution du nombre de GR chez les sujets malades, qui variaient de $2,23$ à $4,08 \cdot 10^9/l$ avec une moyenne de $4,4 \cdot 10^9/l$ par rapport au témoin ($4,7 \cdot 10^9/l$) et aux valeurs physiologiques ($4,1-5,1$) à ($4,2-5,2$) (**Tableau 7**). Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par (**Laouali S ; 2016**) où le taux de GR était de $4, 815 \pm 2,95$ chez les patients SS.

La diminution du nombre de GR chez les patients drépanocytaires s'explique par la solubilité de la forme oxygénée de l'hémoglobine S, qui est identique à celle de l'hémoglobine normale. En revanche, sous forme désoxygénée cette hémoglobine S est moins soluble que l'hémoglobine A. Elle va alors se polymériser selon un processus coopératif, permettre la rigidification, l'agglutination et la falciformation des globules rouges (**Vanbourdolle et al.2007**).

Les cellules rigides ne parviennent pas à se déplacer à travers les petits vaisseaux sanguins, bloquant ainsi le flux sanguin local dans la microcirculation (**Ballas et al, 2004 ; Marossy et al, 2009 ; Connes et al, 2013**).

Il existe une relation directe entre l'Hb et le nombre de GR en milieu pauvre en O_2 , donc une diminution du taux d'Hb stimule une diminution de nombre des GR.

- **Hématocrite (HT) :**

Nous avons noté une diminution de l'HT chez les malades drépanocytaires, les valeurs sont faibles ($22,2\%$ à $27,71\%$) par rapport au témoin (42%) et aux valeurs physiologiques (36 à 48%) (**Tableau 7**). HT reflète à la fois le nombre de GR et leur volume. Si la taille des GR diminue, HT diminue également, et vice versa. En général, HT s'élève lorsque le nombre

de GR augmente et il diminue en dessous de la normale lorsqu'il y a une baisse de production de GR par la moelle osseuse, une augmentation de la destruction des GR ou une perte de sang due à un saignement (**Boulard et al., 1991**).

- **Nombre de globules blancs (GB) :**

Nous avons remarqué une augmentation de nombre de GB chez les sujets malades, variant de 10,03 à 19,69 $10^9/l$ alors que chez le témoin le nombre est de (8,3 $10^9/l$) et les valeurs physiologiques sont de [(8-12) à (7-11)] (**Tableau 7**). Les hématies falciformes, rigides car rétractées, sont rapidement phagocytées par les cellules réticulées, d'où une hyperhémolyse, c'est ce qui explique l'augmentation du nombre de GB (**Chiabi et Beyeme Owono, 2004**).

- **Volumes globulaires moyens (VGM) :**

Nous avons remarqué une diminution des (VGM) chez les malades drépanocytaires, qui variaient de 55 à 83 fl par rapport au témoin (85 fl) et aux valeurs physiologiques qui variaient de (75-82) à (78-88 fl) (**Tableau 7**). Nos résultats se rapprochent de ceux que rapportés par **Laouali S, (2016)** le VGM estimé à $59,892 \pm 3,935$ chez les SS homozygote. **Gbadoé et al, (2001)** indique le VGM étant de $91,3 \pm 10,1$ et aussi les résultats rapportés par **Simpore et al, (2002)** montrent le VGM étant $85,8 \pm 8,76$.

- **La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine TCMH :**

Nous avons également observé une baisse de la TCMH chez les malades drépanocytaires (15,04 à 25,1 pg) par rapport au témoin (30,07 pg) et aux valeurs physiologiques (27 à 32 pg) (**Tableau 7**). Nos résultats se rapprochent de ceux que rapportés par **Laouali, (2016)** le TCMH estimé à $26,5 \pm 1,591$ et aussi les résultats rapportés par **Simpore et al, (2002)** indique le TCMH $23,64 \pm 8,32$ chez les patients SS.

La TCMH est la quantité moyenne d'hémoglobine contenue dans une hématie. Une augmentation de la TCMH peut éventuellement se voir au cours des anémies macrocytaires, car les hématies sont plus grosses que la normale et tendent donc à avoir une TCMH plus élevée. A l'inverse, la TCMH peut être diminuée dans de nombreux types d'anémie (carence en fer,...etc.) dont les anémies microcytaires (**Christensen et al, 2009**).

- **Frottis sanguin :**

La réalisation du frottis sanguin sous le microscope optique d'un patient drépanocytaire nous permis d'observer la présence des hématies falciformes. Nous avons comparé ces observation avec celles d'un témoin (hématies normales) nous avons trouvés qu'elles

étaient différentes et en forme de faucille. Sous forme désoxygénée, cette hémoglobine S est moins soluble que l'hémoglobine A. Elle va alors se polymériser selon un processus coopératif, permettre la rigidification, l'agglutination et la falciformation des globules rouges (**Vanbourdolle et al.2007**).

- **Electrophorèse :**

Le but de l'électrophorèse est de compléter le diagnostic et pour déterminer le type d'Hb, pour savoir si le patient est hétérozygote ou homozygote.

Le profil électrophoretique du sang du témoin (normal) montre un taux de Hb A de 60%, un taux de Hb F de 1,6% ainsi qu'un faible taux de Hb A₂ 4%.

Le profil électrophoretique du sang d'un patient drépanocytaire (HbS) nous a permis de remarquer l'absence de HbA, alors qu'on remarque un taux de HbS de 78,57% et un taux de HbF de 19,00% ainsi qu'un taux de Hb A₂ 2,42%. De 3 mois à 5 ans, les premiers signes coïncident avec le remplacement progressif de l'hémoglobine fœtale par l'hémoglobine adulte porteuse de la mutation S. Lorsque le taux d' HbF est inférieur à 20 %, ceci favorise la polymérisation de HbS qui est d'un ordre exponentiel élevé de la concentration de l'hémoglobine S (**Gill et al, 1995 ; Solovey et al, 2001; Lansac, 2006**).

Le Profil électrophoretique du sang avec variants (HbS et HbA) a montré un taux de Hb A de 56,5%, un taux de HbS de 40,6% avec un faible taux de Hb A₂ 2,9% et ainsi qu'une absence de HbF. L'Hb F peut persister de façon physiologique, inférieure à 3% environ, jusqu'un l'âge de 5 ans (**Lansac, 2006**).

Conclusion:

La drépanocytose est devenue un réel problème de santé publique; selon l'OMS, on estime qu'environ 100 millions d'individus portent le trait drépanocytaire et environ 312 000 nouveau-nés naissent drépanocytaires, dont 80 % en Afrique. En Algérie, les données détaillées manquent sur cette maladie, elle touche cependant 2 à 3% de la population algérienne, selon certaines estimations. Elle est très répandue notamment au nord-est du pays, et dans plusieurs autres wilayas [2].

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente dans le monde, qui se transmet sur le mode autosomique récessif et résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène β globine, caractérisée par la synthèse d'une hémoglobine anormale S.

Notre travail a concerné 4 cas seulement au niveau de la région de Ain Tedeles , mais nous a permis de nous initier aux techniques de l'étude de l'hémogramme, depuis la réalisation du frottis sanguin, sa coloration au May-Grunwald-Giemsa jusqu'à l'observation microscopique des éléments figurés du sang. Cette étape nous a permis d'observer des hématies falciformes chez les patients drépanocytaires. Nous avons comparé ces observations avec celles d'un témoin (sujet normal, non drépanocytaire) à chaque fois. Nous avons mesuré quelques paramètres de l'hémogramme : le taux d'Hb, le nombre de GR, le nombre de GB, le VGM, le TCMH et le taux d'Ht. L'électrophorèse permet de détecter les hémoglobines anormales chez les patients drépanocytaire.

La drépanocytose ne se guérit pas et le seul traitement curatif est la greffe de la moelle osseuse mais malheureusement elle est très coûteuse, ce qui fait que la plupart des enfants malades ne peuvent pas bénéficier de ce traitement final. Seuls des traitements palliatifs sont donc disponibles : transfusions, antidouleurs et inducteur de l'hémoglobine fœtale, hydroxurée.

Nous aurions aimé avoir plus d'informations complètes dans les registres des patients (Antécédents familiaux de drépanocytose, existence de consanguinité). Nous déplorons également, la courte durée de notre stage à cause des protocoles sanitaires imposés par la structure d'accueil (EPH Ain Tedeles) suite à la pandémie de COVID 19. Nous souhaitons qu'à l'avenir des enquêtes plus larges au niveau de la wilaya de Mostaganem et pourquoi pas au niveau national puissent être réalisées pour mieux connaître la prévalence de cette maladie dans notre pays afin que les autorités sanitaires puissent prendre les mesures nécessaires pour une meilleure prise en charge des malades drépanocytaires.

Les mariages consanguins sont à proscrire dans les familles où 1 ou plusieurs cas de drépanocytose sont diagnostiqués. Si non, on peut conseiller de faire des analyses hématologiques (hémogrammes) pré-nuptiales.

Références bibliographiques :

- Annaix V, Thuillier A, (2000).** Hématologie: Pharmacie-Biologie- Préparation de l'internat-Enseignement post-universitaire. Tome 3. 2ème édition
- Armari. Corinne, (2004).** Hémogramme normal et pathologique chez l'enfant, p 03.
- Ataga KI; De Castro LM ;Swerdlow P; Saunthararajay Y; Smith W. (2004)**
- Bain BJ, 2006.** Haemoglobinopathy diagnosis. Oxford: Blackwell.
- Bardakdjian M, (2008).** Le dépistage néonatale de la drépanocytose en France., *mt pédiatrie* ; vol .11, n°1, p 5-8.
- Baudin B, (2016).** Les hémoglobines normales et pathologiques. Revue Francophone Des Laboratoires. 481: 27-34.
- Bettina Bessieres, (2010).** Pathologie du placenta. Cas n° 8. Drépanocytose hétérozygote.
- Beutler E, Lichtman M, Coller B, Kipps. T, Seligsohn. U, (2001).** Williams Hématology, *McGraw-Hil*, p 417-425.
- Bichr Allaf et Nathalie Couque .**La drépanocytose de l'enfant et l'adolescent, p15-25.
- Boulard G, Gruyer Ph, Noel L. et Saint-Paul B. (1991).** Attitude devant la découverte d'une baisse de l'hématocrite ou de l'hémoglobine chez un donneur de sang. *Rev. Fr. Transfus. Hémobiol*, 34 : P343-349.
- Brooker. Christine, (2000).** Le corps humain: Étude., structure et fonction., *De Boeck Supérieur*, p 184-187.
- Bunn HF. (1988)** Anomalies de l'hémoglobine. In : Principes de Médecine Interne. 4è éd. Française, Médecine – Sciences Flammarion, p1518 – 27
- Chiabi. A Beyeme Owono. M, (2004).** Epidémiologie de la drépanocytose. *Clinics in Mother and Child Health*; vol.1, n°1.
- Choquet, S, Maloum, K, (2007),** Réssier L'ECN hématologie, ellipses, paris, pp 22-25, 41-43, 98-100.
- Christensen RD, Henry E, Jopling J. et al. (2009).** The CBC: reference ranges for neonates.*Semin Perinatol*, 33 : P3-11.
- Coupric N, (2000).** Les Hémoglobinopathies., Laboratoire Marcel Mérieux – Hématologie Spécialisée., *FC_Hémoglobinopathie. doc* , p 01-28 .
- Couque N. et Montalembert M.D. (2013).** Diagnostic d'une hémoglobinopathie. *HEMATOLOGIE Hémoglobinopathies*, P5-18.
- CREDOS.** *Module de formation à la prise en charge de la drépanocytose au Mali. Mars 2005.*

- De Franceschi, L, D. Bachir, F. Galacteros, G. Tchernia, T. Cynober, S. Alper, O. Platt, Y. Beuzard and C. Brugnara (1997).** "Oral magnesium supplements reduce erythrocyte dehydration in patients with sickle cell disease." *J Clin Invest* 100(7): 1847-52.
- Deisseroth A, Nienhuis A, Lawrence J, Giles R, Turner P, Ruddle FH, Tchernia G; (1989).** Érythropoïèse et érythrocytes chez l'enfant, physiologie et normes. *Rev Prat.* 39. 2111-6.
- Deisseroth, A, Nienhuis, A, Lawrence, J, Giles, R, Turner, P. et Ruddle, F. H. (1978),** Chromosomal localization of human β -globin gene on human chromosome 11 in somatic cell hybrids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 75: 1456-1460.
- Diakité S. (2005).** Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves in vitro. P41.
- Diallo D. (2008).** Suivi des enfants drépanocytaires de 0-15 ans dans le service de pédiatrie du CHU GT. *Thèse médecine.* Bamako, 56-77.
- Diallo D. (2009) -** Suivi des enfants drépanocytaires de 0-15 ans dans le service de pédiatrie du CHU GT. Thèse méd. Bamako.
- Driscoll, M.C, 2007, Sickle cell disease.** *Pediatr Rev.* 28(7): p. 259-68.
- Dunod J. (2009).** Biochimie Générale. 11e édition. Paris, P116. Dr Françoise Balédent, Biologiste, Paris, Pr Robert Girot, pédiatre, Paris 01 DÉCEMBRE 2016
- Efficacy and safety of the Gardos channel inhibitor, ICA-17043, in patients with sickle cell anemia. *Blood*; 104 : 33.
- El Barjraji Fattouch., Jazouli Nawal., Najar Mehdi, 2004.** Détection de la drépanocytose par analyse génétique, Printemps des Sciences, Sciences Biomédicales.
- El Kamah G, Amr K, (2015).** Thalassaemia - From Genotype to Phenotype. *Inherited Hemoglobin Disorders.* Anjana Munshi. p 13-33.
- Elind J et Labie D,(1996).** Bases physiologiques moléculaires et cellulaires du traitement de la drépanocytose. *Hématologie*;2:499-510.
- Essono M.E, Nkoa T. (2004) –** Diagnostic et anomalies biologiques chez un drépanocytaire. *Clinics in Mother and Child Health.*, 1 (1) : 12 – 20.
- Faure Antoine, Adam Guerriere, Max Belloq , (2011).** Drépanocytose /paludisme. Over blog.
- Ferrier P. (1980).** Précis de pédiatrie. 2e édition. Paris, P 298-301.
- Flavien BIZOT, 2018,** La thérapie génique: quel espoir pour les patients atteints de drépanocytose ? Thèse de Doctorat, 126 p.

- Fofana. (2002).** Prie en charge de la drépanocytose chez les enfants de 0-15 ans dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré (BKO). Thèse médecine .Bamako, N°32.
- Frenette, P. S. and G. F. Atweh (2007).** "Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise." *J Clin Invest* 117(4): 850-8.
- Fritsh EF, Lawn RM, Maniatis T; (1980),** Molecular cloning and characterization of the human β globine gene cluster. *Cell*, 19: 959-972
- G SCHAISON et col.** Valeurs de référence en hématologie pédiatrique, *Hématologie de l'enfant*. Flammarion Médecine-Sciences .
- Gill FM et al. (1995),** *Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Blood*;86:776-83.
- Girot R, Bégué P, Galacteros F, (2003).** La drépanocytose. *John Libbey Eurotext*, Paris, 319P
- Girot. R, Montalembert. M, (2006).** Drépanocytose chez l'enfant , *Elsevier SAS*, pédiatrie, p 6.
- Godeau B, Herson S, Piette JC. Traité de Médecine (1996).** Paris : Flammarion, 3^e édition, 701- 708, 722.
- Gulbis B, Cotton F, Vertongen F, (2004).** Hémoglobines anormales rares, *EMC-Hématologie*, (4) :106.
- Guyard. H, Le Coq. A, Guillet. B, (2012).** Mort de cellule rouge: hémolyse physiologique, *Hématologie*, p 13.
- Haute Autorité de Santé - Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant et l'adolescent. *HAS / Service des recommandations professionnelles*;Septembre 2005
- Haward, M.R, Hamilton, P.J, (2004),** *Hematologie*, trad. De (anglais) par Corberand, J.X., Elsevier, France, pp 12, 14,33.
- Haynes, J, Jr, B.**
- Kafando E, Savadogo LG et Ayéroué , (2008).** Les syndromes drépanocytaires majeurs : une enquête anonyme au près du corps médical au Burkina-Faso. *Med. Trop.* 68. 241-246.
- Kaplan J.C., Delpesch M., (2007).** Le modèle des maladies de l'hémoglobine. *Biologie moléculaire et médecine* 3ème édition : 379 – 393.
- Kazazian HH, Antonarakis S; (1997),** Molecular genetics of the hemoglobin genes. In: SINGER M & BERG P (Eds) – *Exploring genetic mechanisms*. University Science Book, Sausalito, Cali-fornia, pp. 301-336.
- Labie D, Elion J, (2005).** Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine, *EMC-Hématologie*; vol. 2, p 220–239.

- Lansac J, (2006).** La drépanocytose et grossesse, Extrait des mises à jour en Gynécologie et obstétrique, Service de gynécologie-obstétrique, p 27-37.
- Laouali Soheib, (2016)** - Etude épidémiologique de la drépanocytose dans la région de Constantine, mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine, 55p
- Leblanc B.** Cours BCM-514. Biochimie des protéines. Université de Sherbrooke.
Disponible sur : <http://pages.usherbrooke.ca/bcm-514-bl/2d.html>
- Lebo RV, Carrano AV, Burkhart-Schultz K, Dozy AM, Yu LC, Kan YW; 1979.** Assignment of human β , γ and δ globin genes to the short arm of chromosome 11 by chromosome sorting and ADN restriction enzyme analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 76: 5804-5808.
- Lena-Russo D, Badens C. (2000)** - Globules rouges et hémoglobine. In : Hématologie clinique et biologique. *Arnette.*, 23 : 29 – 34.
- Lew, V. L. and R. M. Bookchin (2005).** "Ion transport pathology in the mechanism of sickle cell dehydration." *Physiol Rev* 85(1): 179-200.
- Libbey John, (2014).** Les bêta -thalassémies : aspects moléculaires, épidémiologiques diagnostiques et cliniques. *Annales de Biologie Clinique Revues* 72 (6) : 639-68.
- Lubert S (1992)** - Conformation, dynamique et fonction des protéines : les protéines de transport d'oxygène : la myoglobine et l'hémoglobine. In : *La Biochimie de Lubert Stryer. 3è éd Flammarion Médecine – Sciences.*, 27 : 143- 76
- Marc G (1993)** - Anémies tropicales par hémoglobinoses. In : *Médecine Tropicale. 5è éd. Flammarion Médecine-Sciences.*, 23 : 513 – 31
- Mellouli F. and M. Bejaoui, (2008).** "[The use of hydroxyurea in severe forms of sickle cell disease: study of 47 Tunisian paediatric cases]." *Arch Pediatr* 15(1): 24-8.
- Mengual P, 2012.** Biochimie, Structure et Fonction de l'Hémoglobine
- Morris CR; Kato GJ; Poljakovic M;et al. (2005).** Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA* ; 294 : 81-90
- Mueller B. U. and C. Brugnara (2001).** "Prevention of red cell dehydration: a possible new treatment for sickle cell disease." *Pediatr Pathol Mol Med* 20(1): 15-25.
- Obiako, R. B. Hester, B. S. Baliga and T. Stevens (2008).** "Hydroxyurea attenuates activated neutrophil-mediated sickle erythrocyte membrane phosphatidylserine exposure and adhesion to pulmonary vascular endothelium." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294(1): H379-85.

pathogenesis of sickle cell disease." Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2007: 84-90.

Raisonnier A, (2002). Structures fonctions., Révisions Biochimie métabolique, p19-28 .

Redding-Lallinger R. and C. Knoll (2006). "Sickle cell disease--pathophysiology and Scott, R.B. and R.P. Gilbert, *Genetic diversity in hemoglobins. Disease and nondisease.* JAMA, 1978. 239(25): p. 2681-4.

Rosse WF, Narla M, Retz LD, Steinberg MH, (2000).New views of sickle cell disease pathophysiology- and treatment. Hematology. (Am Soc Hematol Education Program Book):2-17.

Sergegrah , (2008). La drépanocytose est un enfer. Le blog de serge grah pour que l'Afrique ne dorme plus jamais.

Serjeant GR et Serjeant BE, 2001. Sickle cell Disease (3 rd eds). New York: Oxford University Press.

Solovey AA; Solovey AN; Harkness J; Hebbel RP, (2001). Modulation of endothelial cell activation in sickle cell disease: a pilot study. Blood ; 97 :1937-41.

Steinberg M.H, (1984). *Review: the sickle hemoglobinopathies--genetic analyses of common phenocopies and new molecular approaches to treatment.* Am J Med Sci., 288(4): p. 169-74.

Steinberg, M. H. (2006). "Pathophysiologically based drug treatment of sickle cell disease." Trends Pharmacol Sci 27(4): 204-10.

Sultan C, Priolet G, Beuzard Y, Rosa R, Josso F, (1982),les examens de laboratoire techniques hématologie, 2éme édition, flammariion médecine-sciences, paris, pp 16-17, 30-31, 38-46.

Telen M. J. (2007). "Role of adhesion molecules and vascular endothelium in the treatment." Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care 36(10): 346-76.

Theml H, Haferlach T, Diem H, (2006), Atlas de poche d'hématologie, 2eme édition, flammariion, paris, pp.138.

Vanbourdolle M. et collaborateurs, (2007). Biochimie hématologie, P 6-16.

Varet B, (2007), Hematologie bruno varet le livre de l'interne, 2eme édition, Flammarion - Medicine science, paris, pp 78-39, 547-555.

Vianney Descroix, Thomas Fortin, Jean-Christophe Fricain, (2014). Analyses biologiques d'intérêt en odontologie., *Editions CdP: Prescrire et interpréter pour les pathologies générales et lésions de la muqueuses buccale*, p 106.

Vinatier et Isabelle, (2010). Recommandations pour la mise en oeuvre et interprétation de l'étude de l'hémoglobine., *laboratoire de CERBA*, p 11.

Wajcman H, (2005). Hémoglobines structure et fonction., *EMC- Hématologie*; vol. 2, n° 3, p 145 157.

Youcefi A et Saidi M, (2017)- Recherche d'hémoglobinopathies dans une population de nouveaux nés dans la région de Batna, *Revue Dirassat- Université de Laghouat- N° 52.*

Zandecki M, Geneviève F. Hémogramme: valeur,de,référence.

Zittoun R, Samama M, Marie JP. Physiologie des globules rouges. Anémies Hémolytiques-Hémoglobinopathie. *Manuel d'hématologie, Doin, 1988 : 81- 110.*

Sites bibliographique :

1. https://www.memoireonline.com/12/10/4175/m_Profil-de-lhemogramme-chez-les-sujets-VIHSIDA8.html
2. <https://www.elwatan.com/pages-hebdo/magazine/celebree-dans-le-monde-la-maladie-est-ignoree-en-algerie-15-06-2017>