

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

UNIVERSITE KASDI-MERBAH

OUARGLA



FACULTÉ DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DES ETUDES SUPERIEURE
EN BIOCHIMIE**

THEME

**Prévalence de thalassémie dans
la wilaya d' El-Oued**

Présenté par: - **BEDIR Leila**

- **MILOUDI Radic**

Composition du jury:

| | | |
|-------------------|---|------------|
| Président: | M^r BEN SACI Bachagha Messaoud | (M.A.C.C) |
| Promoteur: | M^r MERAH Mostefa | (M.A.C.C) |
| Examineur: | M^{elle} MERGOUD lilia | (M.A.) |

Année universitaire : 2005 - 2006

DEDICACE

*Louanage a dieu de nous avoir permis de réaliser et de faire ces études.
Je dédie avec une très grande joie et de gaite gracieusement ce mémoire
de fin d'études à tous:*

*Aux être les plus chères de mon cœur, à mes parents (**TAYAB, MESSAOUDA**), pour toute leur tendresse et les sacrifices consentis pour mon éducation et ma formation et qui n'a égal que le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*Ma grand-mère (**Dada Chahla**) qui n'ont toujours soutenu et en courages par leurs invocations.*

*L'autre partie de mon cœur, mes belles sœurs: **Sonia, Nadira**.*

*Ma soutien à la vie, mes beaux frères: **Lakhdar, Imad, Ismail, Akram**.*

*Mes oncles: **Amar, Gaed, Salah, Abd elsalam**, surtout mon second père: le défunt **Ali**, et tout leurs enfants.*

*Mes tantes: **Fatima, Aicha, Fatma et Brika**, et leurs enfants.*

*Ma très chère binôme qui a accepter de ma participation dans ce mémoire: **Leila***

*Ames très chères amies: **Aouatef, Naoual, Aida, Kaouate, Somia, Ghalia, Ouassila, Wahiba, Salah, Imad, Othman et Djouadi**.*

*A mes très chères amies de H10: **Soulef, Leila, Hamida, Hadjer** et mes très chères amies de H12, H9, H5, E20 et K50.*

A tout les collègues de promotion Biochimie et de Microbiologie.

Tous qui ont participé pour finir ce modeste travail de près ou de loin.

Radia

DEDICACE

Louanage a dieu de nous avoir permis de réaliser et de faire ces études.

*Je dédie avec une très grande joie et de gaité gracieusement ce
mémoire de fin d'études à tous :*

*Aux être les plus chères de mon cœur, à mes parents (**MOHAMED,
MABROUKA**), qui m'ont toujours soutenu et en courages pour continue
me étude universitaire.*

*Mes beaux frères : **SALAH, ABD EL- HAMID, ZOHEIR.***

*femme de mon frères : **CHAHRA ZAD.***

*Ma grand mère : **SASIA.***

*Ma très chère binôme qui a accepter de me participer dans ce
mémoire : **RADIA***

*Toutes les familles de : **BEDIR, GHANNAS, ARAR.***

*Famille de mon oncle **HAMID** : **WASSILA, MARWAN, SAFWAN,
KHAWLA, ABD EL-ELHAK , FARDOUSSE.***

*Ames très chère amies : **MADIHA, SAMIHA, KALTHOUM,
NAIMA, KHALISSA, HAKIMA, NAWAL, HADA, AMEL, NORA,
HADJER, KHAWLA, KARIMA.***

*A tous les collègues de promotion microbiologie et de biochimie.
Tous qui ont participé pour finir ce modeste travail de près ou de
loin.*

LEILA

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Allah tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens pour accomplir ce modeste travail, puis nos parents pour leurs soutiens moraux et leurs aides.

Nous tenons à remercier:

M^r. MERAH Mostefa, maître assistant chargé de cours au département de biologie à l'université de Ouargla d'avoir proposer et diriger ce travail.

M^r. BEN SACI Messaoud Bachagha, maître assistant chargé de cours au département de biologie à l'université de Ouargla d'avoir accepter de présider ce jury.

M^{elle}. MERGOUD lilia maître assistante à l'université de Ouargla d'avoir examiner ce travail.

Nous tenons à remercier infiniment tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce mémoire:

D^r AICHOUCHE Mohamed, médecin pédiatre à l'El-Oued.

M^r CHANOUF Omar, M^r Hakim, M^r Saïd, M^r KHEARI, et tous les autres personnels du laboratoire du service sanitaire 19 mars à El-Oued.

Tous les infirmiers de l'hôpital DJILANI Omar à El-Oued.

Tous les enseignants de la faculté des sciences et sciences de l'ingénieur, département de la biologie promotion Biochimie.

Tous les personnels de la bibliothèque de l'université et de l'école paramédicale de Ouargla.

*Enfin nous remercions tous ce qui nous ont aidé de près ou de loin à
réaliser ce modeste travail.*

Summary

The objectify of our study is the knowledge of the heredity anemia in the population of **El-Oued** in the process its frequency, and dissociate it from the ether anemia it is often confuse

Our study was carried out by two steps: inquires at hospital **DJILANI Oumar** and different specific and general health service, and of the analyses at the laboratory. Those founded on a major bibliographical study of the heredity anemia.

The investigations realized at the hospital **DJILANI Oumar** and different specific and general health service showed a limited number of patients observed whose age bracket lies between 2 and 15 years. This made clear that this is an anemia thread children.

The analyses carried out at the laboratory made it possible to highlight the presence of hemoglobin F at a sickler's homozygote, and indicate that the rate of hemoglobin, VGM, TCMH and CCMH is increased.

Key words:Thalassémie, anemia, heredity, hemoglobin.

Résumé

L'objectif de notre étude est la connaissance de la thalassémie dans la population d'**El-Oued** du point de vue fréquence, afin de la dissocier des autres anémies auxquelles elle est souvent confondue.

Notre étude à été réalisée en deux étapes: des enquêtes à l'hôpital **DJILANI Oumar** et de différents services sanitaires publics et privés et des analyses au laboratoire. Celle-ci est accompagnée d'une étude bibliographique de la thalassémie,

Les enquêtes réalisées à l'hôpital **DJILANI Oumar** et les différents services sanitaires publics et privés font apparaître un nombre limité de patients observés, dont la tranche d'âge est comprise entre 2 et 15 ans. Ce qui suggère que la thalassémie est une anémie pédiatrique.

Les analyses effectuées au laboratoire ont permis de mettre en évidence la présence de l'hémoglobine F chez un thalassémique homozygote, et montrent aussi que le taux d'hémoglobine et le constant érythrocytaire sont fortement diminués par rapport aux taux normaux.

Mots clé: Thalassémie, anémie, héréditaire, hémoglobine.

ملخص:

هدف دراستنا هو معرفة فقر الدم الوراثي عند سكان الوادي من جهة نظر انتشاره وتمييزه عن باقي أنواع فقر الدم التي عادة ما تدمج ضمنها.

دراستنا نفذت بوسيلتين: تحقيق في مستشفى الجيلاني عمر ومختلف المصحات العامة والخاصة، والتحليل في المختبر، ذلك ميني على دراسة نظرية معمقة للمرض.

التحقيقات التي أجريت بمستشفى الجيلاني عمر ومختلف المصحات العامة والخاصة أظهرت وجود عدد محدود للمرضى المشخصين، حيث أن أعمارهم تتراوح بين 2 إلى 15 سنة، وهذا ما يشير إلى أنه مرض خاص بالأطفال.

التحليل التي أجريت في المختبر جعلت من الممكن إبراز وجود الهيموغلوبين F عند مريض متماثل العوامل الوراثية، كما يبرز أيضا أن نسبة الهيموغلوبين و VGM ، TCMH ، CCMH جدوى منخفضة مقارنة بالقيم العادية.

الكلمات الدالة : فقر الدم الوراثي، فقر الدم (أنيميا)، وراثية، الهيموغلوبين.

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique

AHC: Anémie hémolytique constitutionnelle

ALA: Acide delta- amino- lévulinique

ARN: Acide ribonucléique

ARN_m:Acide ribonucléique messenger

CAA: Codon glutamine

CCMH: Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

C°: Degré cellcius

D.O: Densité optique

EDTA: Ethelène diamine Tétra acétique

F: Féminin

GB: Globules blancs

GR: Globules rouges

g/l: Gramme par litre

H^t: Hématocrite

Hb: Hémoglobine

HbA₁: Hémoglobine normal A₁

HbA₂: Hémoglobine normal A₂

HbC: Hémoglobine C

HbE: Hémoglobine E

HbF: Hémoglobine fœtale

HbS: Hémoglobine S

Leu: Leucine

M: masculin

Pro: Proline

TCMH: Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

UAA: Codon stop.

VGM: Volume globulaire moyenne

α : Alpha

α° : La chaîne de globine correspondante est absente

α^{+} : Les sous unités de globines normales sont synthétisées en quantité réduite.

β : Bêta

β° : La chaîne de globine correspondante est absente

β^{+} : Les sous unités de globines normales sont synthétisées en quantité réduite

μ l: Microlitre

Liste des tableaux

| Tableau | Titre | Page |
|-------------------|--|-------------|
| Tableau 01 | Valeurs normales de l'hématie et variations en fonction de l'âge | 02 |
| Tableau 02 | Valeurs normales de l'hémoglobine | 05 |
| Tableau 03 | Classification des anémies | 10 |
| Tableau 04 | Les mutations du gène β de globine | 23 |
| Tableau 05 | Le nombre des malades à la période de 1995-2005. | 44 |

Liste des figures

| Figures | Titre | Page |
|------------------|--|-------------|
| Figure 01 | Aspect des globules rouges circulant dans un capillaire | 2 |
| Figure 02 | Schéma de l'érythropoïèse | 2 |
| Figure 03 | Structure de l'hème | 5 |
| Figure 04 | Structure de sous unité β globine à forte résolution | 5 |
| Figure 05 | Evolution de la structure tridimensionnelle de la β globine | 5 |
| Figure 06 | Structure de l'hémoglobine à faible résolution | 5 |
| Figure 07 | Structure de l'hémoglobine à forte résolution | 5 |
| Figure 08 | Structure primaire des chaînes β de globine | 6 |
| Figure 09 | Structure primaire des chaînes α de globine | 6 |
| Figure 10 | Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine | 7 |
| Figure 11 | Répartition géographique des thalassémies | 11 |
| Figure 12 | Bêta thalassémie homozygote ou maladie de Cooley | 11 |
| Figure 13 | Alpha thalassémies | 12 |
| Figure 14 | Transmission de gène récessif autosomique | 20 |
| Figure 15 | Synthèse relative de globine | 25 |
| Figure 16 | Electrophorèse de l'Hb sur acétate de cellulose dans une maladie de Cooley | 26 |
| Figure 17 | Electrophorèse de l'Hb sur gélose a pH acide dans une maladie de Cooley | 26 |
| Figure 18 | Electrophorèse sur acétate de cellulose dans une thalassémie hétérozygote. | 26 |
| Figure 19 | Electrophorèse sur acétate de cellulose dans une hémoglobinosose H | 26 |

| | | |
|------------------|---|----|
| Figure 20 | Représentation de la physiopathologie de thalassémie | 27 |
| Figure 21 | La numérotation des hématies | 33 |
| Figure 22 | Les modèles de l'appareil et de la table de lecture | 37 |
| Figure 23 | Méthode au d'utiliser la table de lecture | 37 |
| Figure 24 | Electrophorèse de l'Hb sur acétate de cellulose en milieu alcalin | 42 |
| Figure 25 | Electrophorèse de l'Hb sur gélose en milieu acide | 43 |
| Figure 26 | Répartition de thalassémie selon le sexe | 45 |
| Figure 27 | Répartition de thalassémie selon l'âge | 45 |
| Figure 28 | Effet de la consanguinité | 45 |

Liste des annexes

Annexe 01: Matériel et produits utilisées en hématologie.

Annexe 02: Compositions de quelques produits biochimiques.

Annexe 03: La séquence des chaînes δ et γ .

Annexe 04: Formes d'hémoglobine de β - thalassémie selon leurs répartitions ethniques.

Annexe 05: Résumé de β - thalassémie.

Annexe 06: Résumé de α - thalassémie.

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction.....

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités et Définitions

| | |
|--|--|
| 1 - Globules rouges | |
| 1.1 - Erythropoïèse | |
| 1.1.1 - Sièges de l'érythropoïèse | |
| 1.1.2 - Facteurs nécessaires à l'érythropoïèse | |
| 1.2 - Morphologie des hématies..... | |
| 1.3 - Vie et mort de globules rouges | |
| 2 - Hémoglobine | |
| 2.1 - Structure de l'hémoglobine..... | |
| 2.1.1 - L'hème | |
| 2.1.2 - La globine | |
| 2.2 - Les différentes hémoglobines | |
| 2.3 - Synthèse de l'hémoglobine | |
| 2.3.1 - La synthèse de l'hème | |
| 2.3.2 - La synthèse de la globine | |
| 2.4 - Fonction de l'hémoglobine | |
| 2.5 - Élimination de l'hémoglobine..... | |
| 2.6 - Pathologie de l'hémoglobine | |
| 3 - Anémie | |
| Classification..... | |

Chapitre II: Présentation de la maladie

| | |
|--|--|
| 1 - Définition | |
| 2 - Les différents types de thalassémies | |
| 2.1 - β -thalassémie | |
| 2.1.1 - β thalassémie homozygote | |
| 2.1.2 - β thalassémie hétérozygote | |
| 2.1.3 - β thalassémie intermédiaire | |
| 2.2 - α -thalassémie | |
| 2.2.1 - Forme hétérozygote inapparente (α -thalassémie 2 hétérozygotes) | |
| 2.2.2 - Forme hétérozygote apparente (α -thalassémie 1 hétérozygote)..... | |
| 2.2.3 - Hémoglobine H (défiance de 3 gènes) | |
| 2.2.4 - Anasarque fœtoplacentaire par hémoglobinose Bart's (défiance de | |
| 4 gènes) | |
| 2.2.5 - hémoglobine constant-spring | |
| 2.3- Autres formes thalassémiques | |
| 2.3.1 - Thalassémie bêta-delta ($\beta \delta$) | |
| 2.3.2 - Thalassémie à hémoglobine lepre | |
| 2.3.3 - Thalassémie delta et gamma ($\delta \gamma$) | |
| 2.4 - Formes associées des thalassémies | |
| 2.4.1 - Associations thalassémies hémoglobinopathie | |
| * β -thalasso-drépanocytose | |
| * β - thalassémie- hémoglobinose E | |
| * β - thalassémie- hémoglobinose C | |
| * β - thalassémie-hémoglobinopathies β | |
| * β -thalassémie-hémoglobinopathies α | |
| * α - thalassémie-hémoglobinopathies | |

| | |
|--|--|
| 2.4.2 - Association entre les différentes formes de thalassémie | |
| 3 - Diagnostic de thalassémie | |
| 3.1 - Diagnostic de β -thalassémie..... | |
| 3.1.1 - Diagnostic de maladies de Cooley ou β -thalassémie homozygote | |
| 3.1.2 - Diagnostic de thalassémie mineure ou hétérozygote | |
| 3.1.3 -Diagnostic de thalassémie intermédiaire | |
| 3.2 - Diagnostic de α -thalassémie. | |
| 3.2.1 - Diagnostic de α -thalassémie mineure 1 (α -thal1) | |
| 3.2.2 - Diagnostic de α -thalassémie mineure 2 (α - thal 2) | |
| 3.2.3 - Diagnostic d'hémoglobine H (β 4) ou α -thalassémie intermédiaire | |
| 4 - Transmission génétique | |
| 4.1 - Mode de transmission de β -thalassémie | |
| 4.2 - Mode de transmission de α - | |
| thalassémie | |

Chapitre III : Aspect de la maladie

| | |
|-------------------------------------|--|
| 1 - Aspect génétique..... | |
| 1.1- β - thalassémie | |
| 1.2- α -thalassémie..... | |
| 2 – Aspect hématologique | |
| 2.1 - β -thalassémie..... | |
| 2.2 - α - thalassémie..... | |
| 3 - Aspect biochimique | |
| 3.1 - β -thalassémie..... | |
| 3.2 - α - thalassémie | |
| 4 - Aspect physiopathologique | |

Chapitre IV: Les traitements

| | |
|---|--|
| 1. β -thalassémie | |
| 1-1- β -thalassémie homozygote | |
| 1.2 - β - thalassémie hétérozygote..... | |
| 1-3- β - thalassémie intermédiaire..... | |
| 2. α - Thalassémie..... | |

Partie Expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

| | |
|---|--|
| Présentation de la région d'étude..... | |
| 1- Matériel | |
| 1-1- Enquête au niveau de services sanitaires | |
| 1-2- Matériel biologique utilisés | |
| 2- Méthodes..... | |
| 2-1- Méthodologie de l'enquête..... | |
| 2-2- Méthodes d'analyse au laboratoire | |
| 2-2-1. Technique de FNS (Formule Numération Sanguin)..... | |
| a- Méthodes électronique | |
| b- Méthode manuel | |
| b-1- Numération de globule rouge | |
| b-2. Dosage de l'hémoglobine..... | |
| b-3. Fraction de volume érythrocytaire..... | |
| b-4. Calcule des constants érythrocytaires..... | |
| b-5- Numération des réticulocytes..... | |
| 2-2-2- Dosage de la bilirubine..... | |
| 2.-2-3- Méthode de l'électrophorèse..... | |

- a- Electrophorèse en milieu alcalin
- b - Electrophorèse au milieu acide

Chapitre II: Résultats et discussion

- 1- Enquêtes.....
- 1-1. Résultats et discussion.....
- 1-1-1. Répartition des malades selon le sexe.....
- 1-1-2. Répartition des malades selon l'âge.....
- 1-1-3- Fréquence de la consanguinité.....
- 2- Analyse au laboratoire.....
- 2-1. Résultats.....
- 1^{er} cas.....
- 2^{ème} cas
- 2-2. Discussion.....
- Conclusion générale et recommandations.....**
- Références bibliographiques.....**
- Annexes.....**

Introduction

Introduction

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

La pathologie de l'hémoglobine et des anomalies hémoglobiniques héréditaires sont liées à une modification structurale des chaînes polypeptidiques de la globine. Elles sont constitutionnelles et dues à des gènes anormaux (**VOVAN, 1982**). On distingue des anomalies quantitatives: portant sur la synthèse de l'hémoglobine: les **thalassémies**, et anomalies qualitatives: constituant les variants structuraux de l'hémoglobine: **drépanocytose** (**GENTILINI, 1993**).

Dans ce cadre, on présente notre travail qu'il s'agit d'une étude de prévalence de la thalassémie dans la wilaya d'**El Oued**

Il est réalisé en deux parties :

Une partie bibliographique renfermant quatre chapitres

Chapitre I: Généralités et définitions

Chapitre II: Présentation de la maladie

Chapitre III: Aspects de la maladie

Chapitre IV: Le traitement

Une partie expérimentale qui se devise en deux chapitres

Chapitre I: Matériels et méthodes

Chapitre II: Résultats et discussions

Partie
Bibliographique

Chapitre I

Généralités et

Définitions

1 - Globules rouges

L'hématie ou érythrocyte (du grec **erythro** : rouge et **kutos** : cellule) plus communément appelé : globule rouge «GR» sont des petits disques cellulaires anucléés. Saturés d'hémoglobine, (95% de leur poids sec). Les GR sont capables de se déplacer dans les capillaires les plus fins, grâce à leur remarquable déformabilité (**Figure 1**) (**GERMAIN, GENTILHOMME, BRYON, COIFFIER, 1981**).

Leur fonction essentielle est de transporter l'oxygène des poumons aux tissus, ce transport de l'oxygène se fait grâce à l'hémoglobine (**BELHANI, 1987**). Le sang renfermant 4,5 à 5.10^6 hématies par mm^3 et le volume sanguin total étant de l'ordre de 4,5 à 5 litres, on peut estimer à environ 23000 milliard le nombre des hématies circulaires (**Tableau 1**) (**P. CORNILLOT, 1977**).

Tableau 1 : Valeurs normales de l'hématie et variations en fonction de l'âge (**ANONYME¹, 1982**).

| | Hématies * 10^6 / litre | Million d'hématies / mm^3 |
|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| - Hommes | 4,5 – 5,5 | 4,5 – 5,5 |
| - Femmes | 4,0 – 5,0 | 4,0 – 5,0 |
| - Enfants (4ans) | 4,2 – 5,2 | 4,2 – 5,2 |
| - Nourrissons (1 à 6 mois) | 3,8 – 5,2 | 3,8 – 5,2 |
| - Nourrissons- nés | 5,0 – 6,0 | 5,0 – 6,0 |

1.1 - Erythropoïèse

L'érythropoïèse est l'ensemble des phénomènes aboutissant à la formation du GR (**Figure 2**), assurant le maintien du nombre de GR et du taux d'hémoglobine dans des limites physiologiques très étroites, la durée de vie d'un GR étant de 120 jours ; l'érythropoïèse compense cette perte. En effet, la production des hématies est toujours 5 à 10 % supérieure à leur disparition (**BELHANI, 1987**).

1.1.1 - Siège de l'érythropoïèse

Pendant la vie intra-utérine, l'érythropoïèse débute au niveau de l'endothélium vasculaire des îlots de Wolff et Pander vers la 3^{ème} semaine. Cette hématopoïèse primitive se résume à une érythrognèse isolée de type mégaloblastique. (**PERRIMOND, 1982**)

A partir du 35^{ème} jour l'hématopoïèse se diversifie progressivement et devient hépatosplénique. La mégaloblastose tend à disparaître. L'activité hématopoïétique est prédominante au niveau du foie. Entre le 3^{ème} et le 6^{ème} mois ; l'érythropoïèse splénique présente à partir du 3^{ème} mois reste de faible importance. L'hématopoïèse définitive osseuse débute vers le 4^{ème} mois pour devenir prépondérante à partir du 7^{ème} mois. L'érythropoïèse pendant la vie intra-utérine passe donc par trois étapes topographiques : mésenchymateuse, hépatosplénique et osseuse. **(PERRIMOND, 1982)**

Après la naissance, l'érythropoïèse purement médullaire occupe un territoire très vaste qui va se réduire par involution adipeuse pour se localiser. Après la puberté, essentiellement au niveau des os plats **(ORSINI, 1982)**.

1.1.2 - Facteurs nécessaires à l'érythropoïèse

Une érythropoïèse correcte nécessite en premier lieu une moelle de bonne qualité possédant des érythroblastes en nombre suffisant, pourvus de capacités normales de multiplication et de différenciation. Mais l'érythropoïèse est par ailleurs dépendante d'un ensemble de facteurs extrinsèques indispensables à la synthèse de l'hémoglobine et à la maturation correcte des érythroblastes. Le plus importants parmi ces facteurs, est le fer, indispensable à la synthèse de l'hémoglobine dont il est élément fonctionnellement actif. Quelques autres métaux, cuivre, cobalt, zinc. Un certain nombre de vitamines sont également nécessaires; les plus importantes sont les vitamines antimégaloblastiques, vitamine B12 et acide folique; mais d'autres vitamines, vitamines B2, B6, E, PP et un rapport correct en protéine **(ORSINI, 1982)**.

1.2 - Morphologie des hématies

L'hématie est un élément discoïde biconcave dont le diamètre est de l'ordre de 7 μm et l'épaisseur de 2,5 μm à la périphérie et 1 μm au centre. Elle peut être assimilée à un petit sac d'hémoglobine dont la grande flexibilité lui permet de circuler dans les fins capillaires **(Figure 1)** dont le diamètre est de l'ordre de 3 à 4 μm . La membrane de l'hématie qui est constituée d'une double couche lipidique tapissée intérieurement et extérieurement d'une couche protéique discontinue, présente environ 100000 pores dont le diamètre est compris entre 3 et 4 Å .

(MULLER, PERRET, 1977)

1.3 - Vie et mort de globules rouges

Les érythrocytes de l'adulte sain sont issus de cellules souches de la moelle osseuse hématopoïétique (moelle élaborant les hématies, les thrombocytes et les leucocytes polynucléaires) qui au cours des différents stades de leur évolution (durant 3 à 5 jours) s'enrichissent en hémoglobine puis, in fine, après expulsion de leur noyau, deviennent des réticulocytes qui sont émis par diapédèse dans le courant circulatoire (**MULLER, PERRET, 1977**). Les réticulocytes circulants perdent très rapidement (en 2 jours environ) les derniers éléments caractéristiques d'une cellule active (RNA, mitochondries) et deviennent ainsi des hématies matures : cellules annulées, incapables de synthèse protéiques, leur durée de vie est 120 jours (**ORSINI, PERRIMOND, 1982**).

La destruction de GR se fait par l'hémolyse dans les cellules phagocytaires du système réticulo-endothélial. La partie la plus importante de cette hémolyse physiologique se fait dans la moelle ; une petite partie seulement s'effectue dans le foie et la rate ; on soulignera que ce dernier organe ne joue qu'un rôle assez mineur dans les phénomènes d'hémolyse physiologique. Après la destruction des globules rouges dans les cellules réticulaires, le sort de ses différents constituants est très variable (**ORSINI, PERRIMOND, 1982**).

2 - Hémoglobine

L'hémoglobine est un pigment respiratoire de couleur rougeâtre, contenue à l'intérieur des hématies et représentant 33 % de la masse de la cellule, c'est un métallo-protéine globulaire de masse moléculaire voisine à 64500 KDa. C'est une molécule d'importance vitale (**BELHANI, 1987**). Cette molécule est retrouvée pratiquement chez tous les vertébrés mais aussi dans de multiples formes du monde vivant des mollusques et des insectes, jusqu'à certaines levures et végétaux. C'est actuellement une des protéines les mieux connus (**Tableau 2**) (**ORSINI, 1982**).

2.1 - Structure de l'hémoglobine

On savait depuis longtemps que l'hémoglobine est constituée par l'association d'un groupement non protéique qui est l'élément fonctionnel, l'hème, et d'un groupement protéique, la globine (**ORSINI, VOVAN, 1982**).

Tableau 2 : Les valeurs normales de l'hémoglobine (ANONYME¹, 1982).

| | Hémoglobine (m mol/l) | Hémoglobine (g / l) |
|------------------------|-----------------------|---------------------|
| Enfants à la naissance | 8,4 – 12,1 | 13,6 – 19,6 |
| Enfants de 1 an | 7,0 – 8,1 | 11,3 – 13,0 |
| Enfants 10 à 12 ans | 7,1- 9,2 | 11,5 – 14,5 |
| Femmes | 7,1- 10,2 | 11,5 – 16,5 |
| Hommes | 8,1 – 11,2 | 13,0 – 18,0 |

2.1.1 - L'hème

C'est une molécule associant un atome de fer à l'état ferreux et une protoporphyrine. La protoporphyrine est un anneau tétra pyrrolique comportant des radicaux fixés de manière asymétrique : quatre radicaux méthyles (-CH₃) en positions 1,3, 5, 8 ; deux radicaux propanoïques (-CH₂ – CH₂ – COOH) en 6 et 7 (**Figure 3**). Le fer est relié par quatre valences à l'azote des noyaux pyrroles. La synthèse de l'hème est réalisée à partir de la glycine et de l'acide succinique. La combinaison d'une molécule de glycine et d'une molécule d'acide succinique aboutit à la formation d'une molécule d'acide delta-amino-lévulinique (ALA) sous l'action d'une enzyme, la ALA synthétase, en présence de vitamine B6. La condensation de deux molécules cyclique pentagonale, le porphobilinogène. Quatre molécules de porphobilinogène s'unissent pour constituer l'anneau de porphyrine sur lequel l'atome de fer sera fixé sous l'action d'une enzyme, l'hème-synthétase (**ORSINI, VOVAN, 1982**).

2.1.2 - La globine

La globine est constituée par une chaîne polypeptidique composée d'un certain nombre d'acides aminés unis par l'intermédiaire de liaisons peptidiques. La molécule d'hémoglobine est formée par quatre chaînes polypeptidique, chaque chaîne fixant un groupement hème (**PERYTS, 1985**). Chaque chaîne polypeptidique est constituée d'une série de segments affectant une disposition hélicoïdale. Ces différents segments hélicoïdaux étant unis les uns aux autres par de courts fragments curvilignes. Les chaînes se replient sur elles mêmes au niveau des segments curvilignes (**Figure 3, 4, 5**). De ce fait, la molécule d'hémoglobine n'a pas l'aspect linéaire qu'on pourrait imaginer, mais revêt une forme sphéroïdale. Les quatre chaînes polypeptidiques ne sont pas semblables, elles sont identiques deux à deux. Chaque molécule étant donc constituée par deux dimères différents l'un de l'autre dans l'hémoglobine (**Figure 6, 7**) (**PERELMAN, 1982**).

Il existe 6 types de chaînes : α , β , γ , δ , ε et ζ . La chaîne α comprend 141 acides aminés, dont le premier est une valine à l'extrémité N-terminale. La chaîne β est formée de 146 acides aminés, le premier étant également une valine. La chaîne δ très voisine de la précédente, compte 146 acides aminés, dont 10 seulement diffèrent de ceux de la chaîne β . La chaîne γ est également voisine de chaîne β avec 146 acides aminés, dont 39 sont différents. Cette chaîne est la seule à posséder des isoleucines. Il existe deux variétés de chaîne γ se distinguant par leur 136^e acide aminé qui est soit une glycine ($^G\gamma$), soit une alanine ($^A\gamma$). Un troisième type de chaîne γ a été récemment décrit où l'isoleucine, en position 75, est remplacée par une thréonine ($^T\gamma$). En outre, une partie des chaînes γ est acétylée à son extrémité N-terminale. Les chaînes embryonnaires ε et ζ sont encore incomplètement connues. La séquence des acides aminés dans la chaîne polypeptidique détermine son arrangement spatial organisé autour de ponts hydrogène. Ainsi se détermine la structure secondaire et tertiaire de la molécule (**Figure 8, 9**) (**GERMAIN, GENTILHOMME, BRYON, COIFFIER, 1981**).

2.2 - Les différentes hémoglobines

- Embryon : hémoglobines Gowers I (α_2, β_2) et II (ε_4)
- Fœtus : hémoglobine fœtale HbF disparaît à l'âge de 6 mois, remplacée par l'HbA
- Après 6 mois :
 - * Hémoglobine A₂ ($\alpha_2 \delta_2$) 1,5 à 3 %
 - * HbF($\alpha_2 \gamma_2$) moins de 2 %
 - * Hémoglobine A₃ / : sous forme de traces

Les différences ne portent que sur des modifications du nombre ou de la composition des acides aminés des chaînes β , γ ou respectives, la régulation de synthèse se faisant d'après les gènes opérateurs et régulateurs. Leur détermination se fait sur l'électrophorèse (**AUCLERC, KHAYAT, 1990**).

2.3 - Synthèse de l'hémoglobine

2.3.1 - La synthèse de l'hème

Se fait dans les mitochondries des érythroblastes qui contiennent toutes les enzymes nécessaires. A partir de la glycine et de l'acide succinique une série de précurseurs intermédiaires sont synthétisés : les porphyrines : l'incorporation du fer dans la protoporphyrine III réalise l'hème (**BELHANI, 1987**).

2.3.2 - La synthèse de la globine

Elle se fait dans les polysomes comme les autres synthèses protéiques (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

A partir d'ADN génique par transcription en ARN messager, traduction = synthèse de l'hémoglobine (BELHANI, 1987).

Les gènes : tous les gènes de l'hémoglobine humaine ont été isolés grâce à la génie génétique; une chaîne alpha est codée par 2 gènes alpha 1 et alpha 2, situés sur le chromosome 11 l'ADN génique comporte des parties codantes les exons séparées par des parties non-codantes : les introns. La synthèse de l'hémoglobine commence au stade d'érythroblaste basophile et persiste au stade de réticulocyte car l'ARNm synthétisé à partir d'ADN est stable, même en absence de noyau. La régulation de la synthèse de l'hémoglobine est encore peu connue : le nombre de chaînes alpha et bêta synthétisées est égal et l'hème joue un rôle régulateur important. On pense que la régulation de l'expression des gènes a lieu essentiellement «dans le noyau». Le gène alpha qui code pour la chaîne alpha de l'hémoglobine F cesse presque complètement de fonctionner autour de la naissance, alors que les gènes βA et δA_2 entrent en fonctionnement. Il faut attendre 6 mois après la naissance pour que le profil électrophorétique adulte soit réalisé (BELHANI, 1987).

2.4 - Fonction de l'hémoglobine

Le rôle essentiel de l'hémoglobine est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus et de l'anhydride carbonique des tissus aux poumons. Au niveau des poumons, l'oxygène se fixe sur l'hémoglobine désoxygénée pour former l'oxyhémoglobine. La fixation réversible de l'oxygène se fait à raison de quatre molécules d'oxygène par molécule d'hémoglobine selon une courbe d'aspect sigmoïde caractéristique appelée courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine (Figure 10) (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

Deux paramètres sont particulièrement importants dans l'étude de l'oxygénation : l'affinité pour l'oxygène et le coefficient d'interaction (ORSINI, VOVAN, 1982).

2.5 - Elimination de l'hémoglobine

L'hémoglobine est dégradée dans la rate et le foie en bilirubine (porphyrine sans fer) de couleur verte, puis excrétée par la vésicule biliaire dans la bile. La bile se déverse dans l'intestin et la bilirubine est dégradée par des bactéries en biliverdine de couleur brune, qui donne sa couleur aux selles. La bilirubine est également évacuée dans les urines. Lorsque la bilirubine ne

peut pas être excrétée (cas de certains cancers), sa concentration augmente dans le sang. Elle est alors essentiellement éliminée par les urines, ce qui provoque des urines foncées et des selles décolorées, presque blanches ([erasmeinfo .ulb.ac.be/.../English/alpha-diag.htm](http://erasmeinfo.ulb.ac.be/.../English/alpha-diag.htm)).

2.6 - Pathologie de l'hémoglobine

Ceux sont des anomalies hémoglobiniques héréditaires liées à une modification structurale des chaînes polypeptidiques de la globine. Elles sont constitutionnelles et dues à des gènes anormaux. Elles sont très nombreuses et relèvent des mécanismes variés. Elles peuvent être classées en fonction de ces mécanismes ou en fonction des conséquences phénotypique (VOVAN, 1982).

On distingue :

Les anomalies qualitatives constituant les variants structuraux de l'hémoglobine. Il existe :

- L'hémoglobine C : diffère de l'hémoglobine normale par le 6^{ème} acide aminé de la chaîne β (une lysine remplace un acide glutamique)
- L'hémoglobine E : diffère de l'hémoglobine normale par le 26^{ème} acide aminé de sa chaîne β (une lysine remplace un acide glutamique)
- L'hémoglobine D punjab
- L'hémoglobine O arabe
- L'hémoglobine la plus connue et la plus importante est l'hémoglobine S responsable de la drépanocytose (GENTILINI, 1993).

Les anomalies quantitatives portant sur la synthèse de l'hémoglobine : Les thalassémies et les persistances héréditaires de l'hémoglobine fœtale (PHHF) (ORSINI, 1982).

3 - Anémie

L'anémie se définit par la diminution de la quantité d'hémoglobine circulante avec ou sans diminution du nombre des hématies. Les conséquences physiopathologiques de l'anémie sont en effet, liées uniquement au taux d'hémoglobine disponible et ne dépendent pas directement de la diminution du nombre des globules rouges. Cette définition laisse prévoir d'emblée deux possibilités de causes responsables d'une anémie. Si la masse des hématies diminue, du fait d'une élaboration insuffisante ou d'une destruction excessive, il se produit

évidement une diminution parallèle de la quantité d'hémoglobine caractérisant les anémies dites monochromes. Mais la quantité d'hémoglobine circulante peut être réduite par une altération élective des mécanismes de l'hémoglobinosynthèse sans diminution parallèle du nombre des hématies ; ce mécanisme caractérise les anémies de type hypochrome (**ORSINI, 1982**). L'anémie est plus communes chez la femme avant la ménopause que chez l'homme, mais chez l'enfant : les 2 sexes sont également atteints, plus fréquente entre 6 et 20 mois, surtout le prématuré (**BELHANI, 1987**).

Commandement

Il est commode de classer les anémies selon leur mécanisme de production ; mécanisme central d'insuffisance de production médullaire, ou mécanisme périphérique de déperdition ou d'hyper hémolyse. Cette classification physiologique des anémies est la moins imparfaite des diverses classifications proposées. On distinguera successivement : Les anémie par trouble de la production médullaire ; anémies par déperdition de sang ; les anémie par hyper hémolyse (**Tableau 3**) (**BELHANI, 1987**).

Tableau 3 : Classification des anémies (PERELMAN, 1977)

| Anémies par trouble de la production médullaire | Anémies par hyper hémolyse |
|---|--|
| <p>A) Anémies par déficience de facteurs nécessaire à l'érythropoïèse</p> <p>1) Anémies par carence de fer</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anémies hypochrome par carence martiale <p>2) Anémies par carence vitaminique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anémies par carence en vitamine B12 - Anémies par carence en acide folique - Anémies par carence en vitamine C <p>3) Autres anémies carentielles</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anémies par carence en protéines - Anémies du rachitisme <p>B) Anémies par aplasie de la moelle érythropoïétine</p> <p>1) Anémies hypoplasiques</p> <ul style="list-style-type: none"> -Maladie de Blackfan - Diamond - Érythroblastopénies acquises <p>2) Anémies aplasiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Maladie de fanconi - Formes acquises des aplasies médullaires globales <p>C) Anémies par remplacement des éléments médullaires normaux</p> <ul style="list-style-type: none"> -Leucémies aiguës. Sympathoblastomes - Maladie d'Albers- schonerg - Infiltration de la moelle par des cellules anormales | <p>A) Anémies hémolytique constitutionnelles (AHC)</p> <p>1) Hémoglobinoses</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thalassémies ; - Drépanocytose ; -Hémoglobinoase C ; - Hémoglobinoase D -Hémoglobinoase E <p>1.1) Formes associées :</p> <ul style="list-style-type: none"> -thalasso-drépanocytose -drépanocytose - hémoglobinoase C <p>1.2) Autres hémoglobinoses :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hémoglobines instables <p>2) AHC avec déficit enzymatique :</p> <ul style="list-style-type: none"> -déficit en glucose -6- phosphate déshydrogénase -déficit en pyruvate-kinase -autres déficits enzymatique : hexokinase : triose-phosphate isomérase ; phospho-glycérate-kinase, diphosphoglycérmutase. <p>3) AHC par anomalie de la membrane érythrocytaire :</p> <ul style="list-style-type: none"> -sphérocytose héréditaire (maladie de Minkowski-chauffard) -autres anémies hémolytiques constitutionnelles par anomalie de la membrane : ovalocytose, stomatocytose, pyknocytose, acanthocytose. <p>B) Anémies hémolytique acquises</p> <p>1) De cause immunologique AH par iso-anticorps :</p> <ul style="list-style-type: none"> -incompatibilité fœto-maternelle, trans-fusion AH par auto-anticorps ; -idiopathiques secondaires (infections : hémopathie maligne, collagénose ; médicaments) <p>2) non immunologiques</p> <p>C) Autres formes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Maladie de Marchiafava – Micheli - Dysérythropoïèse congénitale - Anémies hémolytiques inclassées. |
| <p>Anémies par déperdition de sang</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anémies aiguë hémorragique - Anémies chronique hémorragique | |
| <p>Anémies de causes et de mécanismes divers</p> <ul style="list-style-type: none"> - Insuffisance rénale chronique - Insuffisance thyroïdienne - Infections | |

Chapitre II

Présentation de la maladie

1 - Définition

Le terme thalassémie (en grec : **thalassa** : mer, **hémia** : sang), en appelant aussi syndrome thalassémique. En effet, ces maladies sont un groupe d'anémies hémolytiques chroniques et microcytaires, sont surtout fréquentes chez les sujets originaires du porteur du bassin méditerranéen (**ORSINI, 1982**).

La thalassémie est une forme d'anémie infantile héréditaire, le plus souvent transmises sur le mode récessif autosomique, due à des délétions ou substitutions de gène qui entraînent l'absence ou la diminution de la synthèse d'une ou plusieurs chaînes de globine constituant de l'hémoglobine si le défaut de synthèse porte sur les chaîne α ; la forme est : α -thalassémies, s'il porte sur les chaîne β ; la forme est β -thalassémie. (**GARNIER, DELAMARE, 1992**).

2 - Les différents types de thalassémies

Selon la nature des chaînes dont la synthèse est inhibée, on peut distinguer plusieurs formes de thalassémie.

2.1 - β -thalassémie

Il est découvert en **1925** chez des Italiens fixés dans la ville de Détroit par le docteur Cooley (**ORSINI, 1982**). Il est la conséquence d'un défaut congénitale de la synthèse des chaînes β sur le chromosome 11 (**FATTORUSSO, RITTER, 2001**). C'est une anémie chronique très sévère fréquente chez les sujets originaires porteurs du Bassin Méditerranéen, on sait maintenant que la β -thalassémie est aussi répandue dans tout le Moyen – Orient, le Sud et l'Est de l'Asie, l'Afrique et les Antilles. la β thalassémie est rare dans les population originaires de l'Europe du Nord (**Figure 11**) (**SCHAISSON, BARUCHEL, LEBLANC, 1995**).

2.1.1 - β thalassémie homozygote

Thalassémie majeure ou thalassémie de Cooley. La forme homozygote de la thalassémie bêta, forme habituelle dans le Bassin Méditerranéen, se traduit par une anémie hémolytique grave, se développe progressivement dans les premières années de la vie (**Figure 12**) (**DOMART, BOURNEUF, 1981**).

2.1.2 - β thalassémie hétérozygote

Thalassémie mineure ou maladie de **Riatti Greppi– Micheli** est plus fréquente et bénigne ; elle comporte une polyglobulie microcytaire et hypochrome (**GARNIER, DELAMARE, 1992**). Il faut distinguer la thalassémie mineure, où tous les symptômes de la maladie de Cooley peuvent être retrouvés, mais très atténués. Quant à la thalassémie dite minime, elle réalise une forme cliniquement latente de la maladie, donc la forme hétérozygote ne se traduit pas, en règle générale, par une anémie (forme minime) (**DOMART, BOURNEUF, 1981**). L'anémie de la thalassémie mineure est moins marquée dans les populations noires que dans les populations méditerranéennes (**PIERRE, FERRIER, 1980**).

2.1.3 - β thalassémie intermédiaire

Elle représente 10 % de la β -thalassémie homozygote. Sa définition est clinique, correspondant à une forme atténuée de la maladie de Cooley (www-medlib.med.utah.edu/webPath/HEMEHTML/HEMEIDX.html). Cette maladie est tout simplement une thalassémie moins grave, où le patient peut vivre sans transfusions régulières. Certains patients sont totalement bien portants, d'autres, plus fragiles, sont légèrement malades. La thalassémie intermédiaire est en général due à l'association d'un gène thalassémique majeure et d'un gène thalassémique intermédiaire responsable d'une maladie moins graves que la thalassémie majeure (**ORSINI, 1982**).

2.2 - α -thalassémie

Il est découvert en **1932** par Whiple et Bradford (**GARNIER, DELAMARE, 1992**). Il est la conséquence d'un défaut congénitale de synthèse des chaînes α sur le chromosome 16 (**FATTORUSSO, RITTER, 2001**). Le degré de gravité des α -thalassémies est proportionnel au nombre de gènes atteints. Les α -thalassémies sont très fréquents dans toutes les régions du Sud et de l'Est d'Asie, mais aussi de l'Afrique noire où elles peuvent toucher jusqu'à 30 % de la population. Elles sont présentées rarement dans le Bassin Méditerranéen (**Figure 13**) (**GARNIER, DELAMARE, 1992**).

2.2.1 - Forme hétérozygote inapparente (α -thalassémie 2 hétérozygotes)

Cette forme est totalement inapparente, ne se traduisant par aucune anomalie hématologique ni par aucune anomalie hémoglobinique en dehors de la période néonatale. Elle est conditionnée par un gène silencieux dont la présence cependant, majore la

symptomatologie d'un patient par ailleurs porteur d'un autre gène α thalassémique (**ORSINI, 1982**). Le diagnostic en est impossible en dehors de la période néonatale ; tout au plus on peut soupçonner sa présence chez un des parents et chez certains collatéraux d'un patient porteur d'une hémoglobine H.A la période néonatale toute fois le diagnostic peut être porté sur la présence d'une très petite quantité d'hémoglobine Bart's (structure γ_4) ; cette fraction particulière qui peut s'identifier par sa position en avant de HbA₁ en électrophorèse sur acétate de cellulose est présente, dans cette forme, au taux de 1 à 2 % ; elle disparaît dans les six premiers mois de la vie (**AUCLERC, KHAYAT, 1990**). Le mécanisme génétique de cette variété particulière peut relever de deux explications différentes. Dans une première hypothèse, basée sur l'existence d'une seule paire de gènes de structure α , la variété inapparente serait due à un gène silencieux : le gène α thalassémique 2. Dans l'autre hypothèse, qui s'appuie sur la notion de la duplication des gènes de structure α , la forme inapparente résulterait de la mutation ou de la délétion d'un seul des 4 gènes de structures (**ORSINI, 1982**).

2.2.2 - Forme hétérozygote apparente (α -thalassémie 1 hétérozygote)

Cette forme, comme la précédente, est cliniquement asymptomatique ; elle est compatible avec une vie normale. Toute fois elle se manifeste par des anomalies hématologiques semblables à celles d'une thalassémie β -hétérozygote (**ORSINI, 1982**). Comme dans la thalassémie β -hétérozygote, on relève une polyglobulie modérée, une hypochromie relative, une diminution du volume globulaire moyen, diverses anomalies morphologiques (anisocytose, poikilocytose, annulocytose, cellules en cibles). Mais il n'existe aucune anomalie qualitative de l'hémoglobine ; les taux des fractions F et A2 sont normaux ; il n'est constaté aucune fraction pathologique sur les traces électrophorétiques ; exceptionnellement on peut mettre en évidence des traces d'hémoglobine H. L'identification de cette variété de thalassémie α est très difficile en dehors de la période néonatale sa confusion avec une banale anémie hypochrome est possible ; mais le caractère normal de la sidérémie doit faire écarter ce dernier diagnostic (**PERELMAN, 1977**).

La distinction avec une thalassémie β sans anomalies hémoglobiniques est également très difficile, surtout dans les régions où cette forme de thalassémie est fréquente. Le diagnostic de cette variété ne peut être porté avec certitude qu'à la période néonatale ; le sang du cordon contient, chez ces patients, 5 à 6% de fraction Bart's. La tolérance de cette variété de thalassémie α est identique à celle de la thalassémie β hétérozygote. Cette forme est

compatible avec une vie normale ; son évolution est toujours bénigne, même à très long terme. Aucune thérapeutique n'est nécessaire. Le mécanisme génétique de cette variété a également suscité deux hypothèses différentes. Elle pourrait être due à un gène (gène α -thalassémique 1) qui, à la différence du précédent s'exprimerait par des anomalies hématologiques discrètes. Mais structure α , il a été également suggéré que cette forme pourrait être due à une délétion affectant 2 des 4 gènes de structure (ORSINI, 1982).

2-2-3- Hémoglobine H (défiance de 3 gènes)

La présence d'hémoglobine H entraîne chez les sujets hétérozygotes une anémie hypochrome microcytaire, mais pas d'hématies en cible. Inclusions érythrocytaires visibles par la coloration au bleu de crésyl. Résistance osmotique globulaire augmentée, durée moyenne de vie des hématies raccourcie (12 – 24 jours), présence d'HbH (β_4) à un taux de 5 – 30 % et diminution du taux de l'hémoglobine A_2 splénomégalie (FATTORUSSO, RITTER, 2001).

2.2.4 - Anasarque fœtoplacentaire par hémoglobinosé Bart's (défiance de 4 gènes)

La présence d'hémoglobine de Bart Hb Bart (γ_4) en grande quantité (sujets homozygotes) entraîne la mort in utero par anasarque fœtoplacentaire (hydrops fœtal) (FATTORUSSO, RITTER, 2001).

2.2.5 - hémoglobine constant–spring

L'hémoglobine constant spring résultante n'est produite qu'en petite quantité parce que, pour des raisons inconnues, son ARNm est dégradé rapidement dans le cytoplasme. Une autre mutation ponctuelle dans le gène α_2 change leu H₈ (125) α en Pro qui, immanquablement, détruit l'hélice H; la thalassémie α^+ qui en résulte se traduit par une dégradation rapide de cette Hb Quonz Sze anormale (V.DONALA, V. JUDITHG, 1998).

2-3- Autres formes thalassémiques

En dehors des thalassémies β et α qui sont les plus fréquentes, d'autres variétés sont été observées, dont la description sera faite rapidement, car il s'agit de formes plus rares (ORSINI, 1982).

2.3.1 - Thalassémie bêta–delta ($\beta \delta$)

Dans la thalassémie $\beta \delta$, le gène responsable détermine une inhibition de la synthèse portant à la fois sur les chaînes β et δ ; la compensation ne peut pas se faire par un

accroissement du taux de la fraction A_2 , mais uniquement par une augmentation de la fraction F. Même dans les formes hétérozygotes. Elle est aussi appelée F thalassémie, β -thalassémie de type 2. Beaucoup moins épandue que la β -thalassémie classique, elle est rencontrée principalement dans le Bassin méditerranéen. Mais a été retrouvée chez les Noirs américains et chez des Asiatiques. Cette forme particulière de thalassémie pourrait résulter de la délétion des gènes β et δ qui, on le sait, se succèdent sur le même chromosome (ORSINI, 1982).

2.3.2 - Thalassémie à hémoglobine lepore

C'est une forme rare de thalassémie, caractérisée par la présence d'une hémoglobine particulière formée par 2 chaînes α normales, tandis que les deux chaînes «non alpha» sont des hybrides dont l'extrémité C- terminale étant formée par un fragment de chaînes β tandis que l'extrémité N- terminale est un fragment de chaîne δ . Cette hémoglobine possède une mobilité électrophorétique identique à celle de l'hémoglobine S dans les méthodes habituellement utilisées (PERELMAN, 1977).

2.3.3 - Thalassémie delta et gamma ($\delta \gamma$)

Quelques observations de thalassémie affectant les chaînes δ ont été rapportées. A l'état hétérozygote elle se manifeste par une diminution de la fraction A_2 ; et par sa disparition complète à l'état homozygote. Dans un cas comme dans l'autre il n'existe aucun retentissement clinique ou hématologique ; l'importance pratique de telles anomalies est nulle (ORSINI, 1982).

Il a été également rapporté une anémie hémolytique hypochrome et microcytaire chez un nouveau-né dont le père était porteur d'une thalassémie hétérozygote. Cette anémie devait disparaître dans les premiers mois de la vie, l'enfant présente par la suite tous les signes d'une β thalassémie hétérozygote. L'étude in vitro de la synthèse des chaînes de l'hémoglobine montrait chez cet enfant une diminution de la synthèse affectant les chaînes β et γ ; l'enfant fut considéré comme porteur d'un double hétérozygotisme thalassémie- β thalassémie- γ . L'intérêt pratique de telles observations est nul (ORSINI, 1982).

2.4 - Formes associées des thalassémies

De multiples associations peuvent être décrites à propos des thalassémies. Elles se partagent en deux groupes (ORSINI, 1982).

2.4.1 - Associations thalassémies hémoglobinopathie

* β -thalasso-drépanocytose

La forme la plus répandue, qui est une hémopathie fréquente en particulier dans le Bassin méditerranéen, et qui peut être assez couramment rencontrée dans le Sud-est de France. Cette association a été décrite remarquablement, pour la première fois par les auteurs italiens **Silvestroni** et **Bianco** dont elle mérite de porter le nom (**ORSINI, 1982**).

* β -thalassémie-hémoglobinoase E

L'association du gène β -thalassémique au gène de l'hémoglobinoase E entraîne une anémie hémolytique grave rappelant la symptomatologie d'une maladie de Cooley (**ORSINI, 1982**).

* β -thalassémie-hémoglobinoase C

Cette association, beaucoup moins fréquente que les précédentes, a été surtout décrite chez les Africains et les Noirs Américains ; elle a été signalée également chez les Maghrébins. Comme dans les associations précédentes, chaque anomalie a été héritée de l'un des deux parents (**ORSINI, 1982**).

* β -thalassémie-hémoglobinopathies β

Ces associations sont plus rares. On peut citer parmi elles les associations :

- β -thalassémie-hémoglobines D
- β -thalassémie-hémoglobines G San Jose
- β -thalassémie-hémoglobines J Georgia

Il s'agit d'anomalies rares qui n'ont aucun intérêt pratique. Il suffit de retenir qu'elles sont cliniquement asymptomatiques ou manifestées par une très discrète anémie, et que leur structure hémoglobinique comporte toujours un pourcentage important de l'hémoglobine pathologique, associée ou non à une petite quantité de fraction A₁ et à un pourcentage variable, de fraction F (**ORSINI, 1982**).

* β -thalassémie-hémoglobinopathies α

Sont encore plus rare. On peut citer parmi elles les associations :

- β -thalassémie-hémoglobinoase J α

- β -thalassémie–hémoglobinoase Na
- β -thalassémie–hémoglobinoase La

Dans ces cas, le pourcentage de la fraction pathologique n'est pas différent de ce qu'il est chez un porteur hétérozygote (ORSINI, 1982).

* α -thalassémie–hémoglobinopathies

Il y a également de nombreuses associations. Les plus fréquentes sont les associations α -thalassémie–hémoglobinoase E, très répandue en Extrême-Orient et il y a aussi des associations : α -thalassémie–drépanocytose et α -thalassémie–hémoglobinoase C qui ne seraient peut-être pas exceptionnelles en Afrique, mais dont le diagnostic est malaisé. Les associations α -thalassémie–hémoglobinopathies α sont représentées principalement par l'association α -thalassémie–hémoglobinoase contant–Spring. L'association α -thalassémie–hémoglobinoase Q ne serait pas rare en Extrême-Orient. Il a été rapporté également une association α -thalassémie–hémoglobinoase I (ORSINI, 1982).

2.4.2 - Association entre les différentes formes de thalassémie

Les principales de ces associations : β -thalassémie–thalassémie, β thalassémie–hémoglobinoase Lepore. L'association entre les diverses formes de α -thalassémie et β thalassémie sont fréquentes en Extrême-Orient. Le caractère le plus frappant de ces associations est de ne pas se traduire par une anémie hémolytique grave. Seule l'association d'une β -thalassémie à double hétérozygotisme α -thalassémie 1- α -thalassémie 2 se traduit par une anémie hémolytique modérée identique dans sa gravité à une hémoglobinoase H (ORSINI, 1982).

3 - Diagnostic de thalassémie

3.1 - Diagnostic de β -thalassémie

3.1.1 - Diagnostic de maladies de Cooley ou β -thalassémie homozygote

La symptomatologie débute tôt dans l'enfance avec tableau d'anémie hémolytique (**pâleur, subictère, hépatosplénomégalie**) et anomalies morphologiques, d'autant plus nettes que le traitement transfusionnel est mal adapté, avec retard stauropondéral, faciès mongoloïde, et turricephalie. L'hyperactivité érythropoïétique médullaire entraîne une hypertrophie osseuse (épaississement de la voûte crânienne avec aspect en «poil de brosse», diminution de la transparence osseuse avec aspect aréolaire). Sur le plan biologique, il existe une anémie hypochrome microcytaire, avec anisopoïkilocytose, hématies en cibles. Le nombre de

réticulocytes est faible du fait de l'inefficacité de l'érythropoïèses (avortement intra-médulaire). On note une diminution de la fragilité osmotique des GR, et aux colorations supra-vitales, la présence de corps de Heinz (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

La bilirubinémie est naturellement élevée. Surtout, le fer sérique est normal ou augmenté avec augmentations du coefficient de saturation de la sidérophylle contrastant avec l'hypochromie (PELHANI, 1987).

Le diagnostic repose sur l'électrophorèse de l'hémoglobine (Hb) avec augmentation de l'HbF (40 à 90%) alors que chez un sujet normal, après l'âge de 6 mois, il n'en existe pas plus de 2%, légère augmentation d'HbA₂, et taux très faible d'HbA. Au test de Kleihauer, l'HbF apparaît répartie de façon hétérogène (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

3.1.2 - Diagnostic de thalassémie mineure ou hétérozygote

Cliniquement, elle est le plus souvent asymptomatique où s'accompagne d'une pâleur discrète avec splénomégalie (ORSINI, 1982).

Biologiquement, soit anémie modérée, soit plus souvent pseudo-polyglobulie hypochrome microcytaire très évocatrice avec anisopoikilocytose. La sédérémie est normale. L'électrophorèse de l'Hb montre une diminution de l'HbA, une HbA₂ supérieure à 4% et une HbF normale ou très discrètement élevée (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

3.1.3 - Diagnostic de thalassémie intermédiaire

Génétiquement, il peut s'agir soit d'une forme homozygote atténuée, soit d'un hétérozygotisme particulièrement symptomatique soit surtout d'un double hétérozygotisme associant un des allèles β -thal⁺ ou β -thal⁻ et l'allèle β -thal^{silent} (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

Cliniquement et biologiquement, elle correspond à une maladie de Cooley très atténuée (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

3.2 - Diagnostic de α -thalassémie

3.2.1 - Diagnostic de α -thalassémie mineure 1 (α -thal1)

Cliniquement, elle est asymptomatique, sur le plan biologique, son diagnostic est le plus souvent déterminé par la présence à la naissance d'un taux d'hémoglobine Bart's (γ_4) compris entre 5 et 8%. Ce taux se normalise en fait les premiers mois et ne persiste qu'une petite polyglobulie avec hypochromie, diminution du VGM, et anisopoikilocytose. On observe parfois une augmentation de la fragilité osmotique des globules rouges, une discrète diminution de

l'HbA₂ et quelques inclusions érythrocytaire d'HbH après coloration au bleu de méthylène ou bleu de crésyl (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

Enfin, dans certains laboratoires très spécialisés, il est possible d'étudier la synthèse des chaînes de la globine avec ici un rapport α/β . Inférieur à 1 (0,70 à 0,95). Elle serait due soit à la présence de l'allèle α -thal 1 soit à l'atteinte de 2 des 4 gènes dans l'hypothèse d'une duplication (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

3.2.2 - Diagnostic de α -thalassémie mineure 2 (α -thal 2)

Elle est cliniquement et biologiquement asymptomatique. Elle est en règle générale recherchée chez les parents d'un enfant atteint d' α -thalassémie intermédiaire. Son diagnostic repose sur la découverte d'un taux de 1 à 2 % d'Hb Bart's à la naissance avec normalisation secondaire. Elle résulte de la présence d'un allèle α -thal 2 ou à l'atteinte d'un seul des 4 gènes selon l'hypothèse considérée (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

3.2.3 - Diagnostic d'hémoglobinoses H (β_4) ou α -thalassémie intermédiaire :

À la naissance, cette affection est asymptomatique en dehors de la présence d'un taux élevé (25 à 30%) d'Hb Bart's qui sera progressivement remplacée par de l'HbH (β_4). Plus tard, se développe une anémie hémolytique chronique en règle générale modérée avec splénomégalie, ictère et parfois lithiase biliaire pigmentaire. Dans les formes graves, il est possible d'observer des anomalies osseuses et le développement d'ulcères de jambes chroniques et une hépatomégalie (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

Biologiquement, l'anémie est modérée (environ 8 g d'Hb/dl) hypochrome et microcytaire avec anisopoïkilocytose, nombreux corps de Heinz à érythrocytaires, l'électrophorèse de l'Hb montre 70% environ d'HbA, 1 à 2% d'HbA₂, 5 à 30% d'HbH, 1 à 10% d'Hb Bart's et 0 à 3% d'HbF. Dans près de la moitié des cas en Asie du Sud-Est, cette affection est associée à l'hémoglobinoses Constant-Spring (31 acides aminés supplémentaires) réalisant un double hétérozygotisme (α -thal 1 et Hb Constant-Spring). L'hémoglobinoses H résulterait soit de l'association d'un gène α -thal 1 à un gène α -thal 2, soit de l'atteinte de 3 des 4 gènes dans la seconde hypothèse. L'étude du rapport α/β est ici de 0,20 à 0,75 (AUCLERC, KHAYAT, 1990).

4 - Transmission génétique

4.1 - Mode de transmission de β -thalassémie

La β -thalassémie est transmise héréditairement, comme toutes les autres hémoglobinoses, selon un mode intermédiaire entre la dominance et la récessivité. Les manifestations cliniques et hématologiques de la maladie sont très atténuées à l'état hétérozygote, sont considérablement renforcés à l'état homozygote pour donner lieu à une anémie hémolytique particulièrement grave (ORSINI, 1982). Un porteur hétérozygote marié avec un sujet sain, transmet l'anomalie à la moitié de ses descendants qui sont également porteurs hétérozygotes. Par contre dans un couple dont les deux membres sont porteurs 25% des enfants hériteront le gène à la fois de leur père et de leur mère et présentent les manifestations très graves de la maladie de Cooley 50% des enfants seront porteurs hétérozygotes et 25% seront entièrement sains (PERELMAN, 1977). Dans les cas exceptionnels où un hétérozygote peut se marier et procréer, tous ses enfants sont porteurs hétérozygotes quand le conjoint est indemne. Bien entendu ces pourcentages ne peuvent être vérifiés que sur des grandes séries. Dans une famille déterminée le hasard intervient et il est parfaitement possible que dans un couple d'hétérozygotes aucun enfant ne soit homozygote ou au contraire, que plusieurs enfants consécutifs le soient (Figure 14) (ORSINI, 1982).

4.2 - Mode de transmission de α -thalassémie

Les mécanismes génétiques de la transmission de la thalassémie sont beaucoup plus complexes que ceux qui règlent la transmission de la thalassémie β ; ils sont assez mal élucidés à l'heure actuelle. Pour expliquer l'existence de formes très différentes dans leurs manifestations et leur gravité, deux hypothèses génétiques ont été émises, dont aucune n'est formellement démontrée (ORSINI, 1982).

La première hypothèse invoque la possibilité de deux gènes α -thalassémiques (deux allèles d'expressivité différente) : un gène d'expression semblable à celle d'un gène β -thalassémique, mais dépourvu naturellement des anomalies hémoglobiniques caractéristiques de la thalassémie β (gène α -thalassémique1) et un gène totalement silencieux, ne se traduisant même pas par des anomalies hématologiques caractéristiques de la thalassémie (gène α -thalassémique 2). Le premier de ces gènes entraînerait une inhibition totale de la synthèse des chaînes α tandis que le second ne provoquerait qu'une inhibition partielle de cette synthèse. Les différentes formes cliniques de la thalassémie α seraient la conséquence de la présence à l'état hétérozygote de l'un ou l'autre de ces deux gènes, ainsi que de leur diverses combinaisons possibles ; le gène α -thalassémique 2 hétérozygotes étant complètement inapparent, tandis que à

l'opposé l'homozygotisme α - thalassémique 1 se traduit par la forme gravissime de l'anasarque fœtoplacentaire (**ORSINI, 1982**).

Une deuxième hypothèse repose sur la très probable duplication des gènes de structure conditionnant la synthèse des chaînes polypeptidiques α . La structure des chaînes dépend probablement de deux paires de gènes situés en des points différents de la paire chromosomique. Les différentes formes de thalassémie α découleraient de mutation où plus probablement de délétions d'un seul des 4 gènes, tandis que les formes les plus sévères traduiraient une délétion affectant les 4 gènes. La deuxième hypothèse est considérée actuellement comme étant la plus vraisemblable, la duplication des gènes α étant très probable ; par ailleurs il semble bien qu'une délétion soit en cause plutôt qu'une mutation dans les différentes formes de thalassémie α (**ORSINI, 1982**).

Chapitre III

Aspect de la maladie

1 - Aspect génétique

Les thalassémies peuvent apparaître à la suite des mutations nombreuses et différentes, chacune d'elles provoquant un état pathologique caractérisé par sa gravité. Dans les thalassémies α^0 et β^0 , la chaîne de globine correspondante est absente, alors que dans les thalassémies α^+ et β^+ , les sous-unités de globines normales sont synthétisées en quantité réduite (**DONALD, JUDITHG, 1998**).

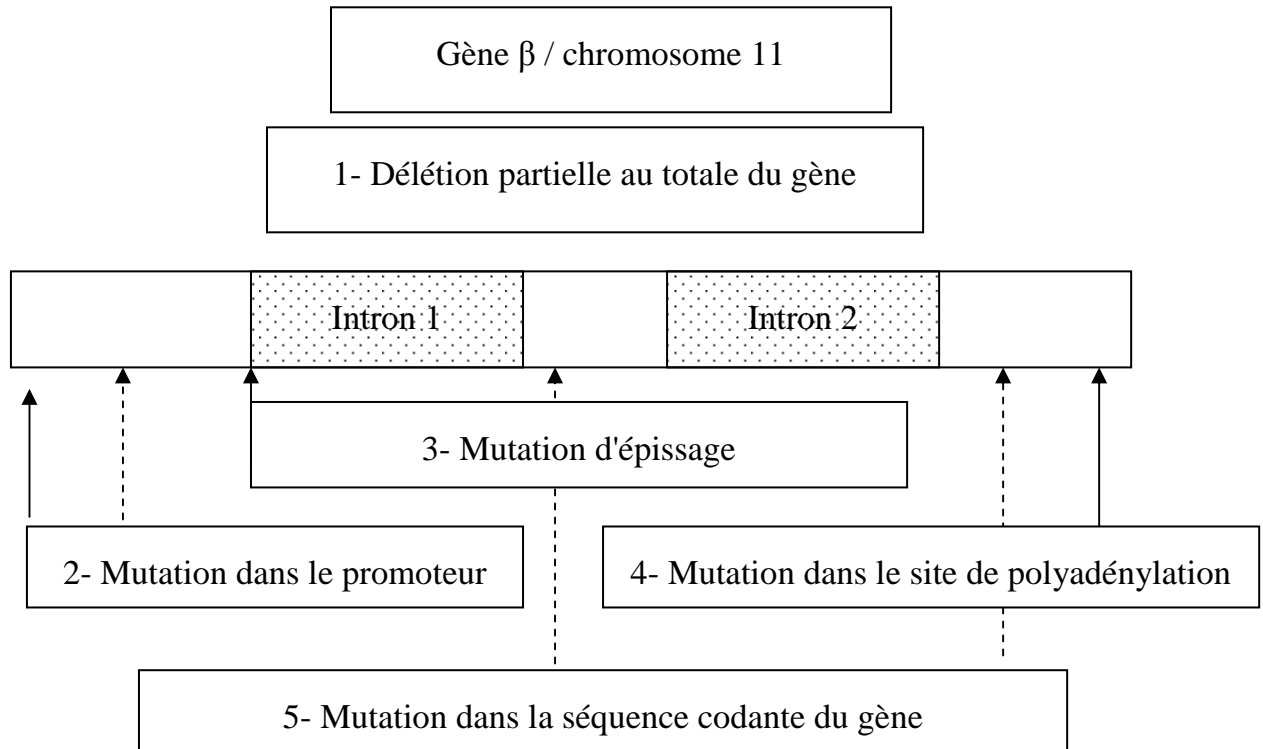
1.1- β - thalassémie :

Les bêta- thalassémies résultent en majorité de mutations ponctuelles sur le gène β (plus de 100 mutations décrites), spécifiques d'une population donnée : ces mutations se situent au niveau de la transcription de l'ADN en ARN, de l'épissage de l'ARN messenger (phénotype β^0 ou β^+) ou de la traduction de l'ARNm (Codon non-sens, décalage du cadre de lecture phénotype β^0). Les délétions à l'origine d'une β -thalassémie sont plus rares (**tableau 4**). (www.medib.med.utah.edu/web/path/HEMEHTML/HEMEIDX.htm/.)

1.2- α -thalassémie :

Les thalassémies α causées par des mutations qui ne sont pas des délétions sont relativement peu communes. L'une de ces lésions les mieux caractérisées est le changement du codon stop UAA du gène de la globine $\alpha 2$ en CAA (codon de Gln), de telle manière que la synthèse protéique continue au delà de 31 codons en aval jusqu' au nouveau codon UAA. Une mutation ponctuelle dans le gène $\alpha 2$ change Leu H₈ (125) α en Pro, qui inmanquablement, détruit l'hélice H. (**DONALD, JUDITHG, 1998**).

Tableau 4: Les mutations du gène β de l'hémoglobine (Jean Louis Serre, 1997)



| Nature de la mutation | Effet primaire sur l'expression, du gène | Conséquence de l'effet sur la produit du gène | Pathologie associée |
|--|---|--|---|
| 1 | Pas de transcrits ou transcrits incomplets | Pas de chaîne β | β - Thalassémies (récessive) |
| 2 si promoteur inactif | Pas ou moins de transcription | Pas ou peu de chaîne β | β - Thalassémies (récessive) |
| 3 | Transcription mais pas de messenger | Pas de chaîne β | β - Thalassémies (récessive) |
| 4 | Messenger instable peu de traduction | Pas de chaîne β | β - Thalassémies (récessive) |
| 5 Mutation stop | Arrêt prématuré de traduction | Pas de chaîne β | β - Thalassémies (récessive) |
| Mutation de décalage du cadre de lecture | Chaîne aberrante et arrêt prématuré de traduction | Pas de chaîne β | β - Thalassémies (récessive) |
| Mutation faux sens | - Transcription et traduction | Substitution d'un acide aminé par un autre (Produit modifié) | Selon la substitution β - Thalassémies (récessive) -Drépanocytose (rece). - Anémie hémolytique (dominante) |

2 – Aspect hématologique

2.1 - β -thalassémie

β -thalassémie homozygote : Le symptôme hématologique chez la forme homozygote (majeure) est l'anémie microcytaire hypochrome grave avec cellules en cible, anisocytose marquée et poikilocytose. Hémoglobine entre 5 et 6 g/dl. Augmentation du nombre des réticulocytes (5 à 15%) par contre le nombre de leucocytes et des plaquettes est souvent normal ou légèrement augmenté (**PIERRE, FERRIER, 1980**). Le volume globulaire moyen (VGM) qui varie à l'état normal entre 80–95, est toujours fortement diminué ; la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), normalement situé entre 27 et 32 picogrammes, est toujours fortement diminué ; malgré la diminution du volume globulaire, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) normalement situé entre 300 et 350 g/l, est nettement diminuée (**ORSINI, 1982**). La résistance osmotique est fortement augmentée. Ce fait traduisant la diminution d'épaisseur des hématies (leptocytose). L'étude du myélogramme révèle une très importante érythroblastose. La bilirubinémie est souvent augmentée selon le mode indirect. La sédérémie est normale ou augmentée (**PERELMAN, 1977**).

β -thalassémie hétérozygote : C'est une anémie modérée, soit plus souvent pseudopolyglobulie hypochrome microcytaire très évocatrice avec anisopoikilocytose, diminution légère du taux d'hémoglobine (rarement inférieur à 9 g/dl) (**FATTORUSSO, RITTER, 2001**).

Le volume globulaire circulant n'est pas augmenté, une diminution de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine; par contre la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine n'est pas diminuée en règle générale. Le taux d'hématocrite est normal. Les réticulocytes pouvant être légèrement augmentés, mais fréquemment dans les limites normales. Fragilité osmotique considérablement diminuée. La sédérémie est normale (**ORSINI, 1982**).

2.2 - α -thalassémie

- **Forme hétérozygote inapparente (α -thal 2)** : Cette forme ne se traduisant par aucune anomalie hématologique en dehors de la période néonatale (asymptomatique) (**ORSINI, 1982**).

- **Forme hétérozygote apparente (α -thal 1)** : Elle est caractérisée par une polyglobulie modérée, une hypochromie relative, une diminution du volume globulaire moyen, diverses anomalies morphologiques (anisocytose, poikilocytose, annulocytose, cellules cibles) (**ORSINI, 1982**).

- **Hémoglobinose H** : L'anémie est généralement modérée de type toujours hypochrome, il existe une microcytose, une diminution de la teneur et de la concentration corpusculaires moyennes en hémoglobine. La résistance globulaire osmotique est toujours augmentée. La réticulocytose circulante est modérément augmentée. La moelle osseuse décèle une hyperplasie érythroblastique importante. La sidérémie est normale et la ferritine sérique augmentée (ORSINI, 1982).

- **Anasarque fœtoplacentaire** : Il existe une anémie très sévères, de type hypochrome, accompagnée d'une érythroblastose très importante et d'une hyper réticulocytose modérée. Les globules rouges présentent tous les caractères morphologiques et cytométriques relevés dans les formes graves de thalassémie (ORSINI, 1982).

3 - Aspect biochimique

Les hémoglobines normales A, A₂, F sont différentes par la structure de globine. Ces Hb contiennent toutes deux chaînes alpha, qui sont couplées à deux autres chaînes soit delta soit gamma. Le HbA représente 95 à 99% du total de l'adulte et elle est formée de 2 chaînes α couplées à 2 chaînes β ; (α_2, β_2). Le Hb A₂ représente 2 à 3% est formée de 2 chaînes α couplées à 2 chaînes δ ; (α_2, δ_2). Le HbF hémoglobine fœtale représente 0 à 2% et elle est formée de 2 chaînes α couplées à 2 chaînes γ (α_2, γ_2). Elle représente 80% à 100% de Hb à la naissance, le reste étant constitué par l'HbA. Elle disparaît dans les 5 à 6 premiers mois pour ne plus subsister qu'à l'état de traces dont le taux est toujours inférieur à 2 % (Figure 15) (ORSINI, 1982).

3.1 - β -thalassémie

L'aspect biochimique le plus important est l'anomalie hémoglobinique caractéristique de la thalassémie β : la présence constante d'un pourcentage important d'hémoglobine fœtale. Le mécanisme physiopathologique de cette persistance de l'hémoglobinosynthèse de type fœtal a été analysé antérieurement. Le taux de cette fraction fœtale peut varier très sensiblement d'un malade à l'autre.

- **β -thalassémie homozygote** : Chez la maladie de Cooley, il est rarement inférieur à 60% et peut atteindre 100% dans certains cas. Il n'y a pas de relation précise entre la gravité de la maladie et le taux de la fraction fœtale. L'isolement et l'identification de la fraction fœtale peuvent se faire par électrophorèse sur acétate de cellulose, la fraction F migrant très légèrement en arrière de la fraction A₁ ; toute fois la séparation n'est pas toujours très nette et n'est réalisée que sur des tracés d'excellente qualité, car la différence de mobilité de la fraction A₁ et de la

fraction F est très légère (**Figure 16**) (**ORSINI,1982**). Une très bonne séparation peut être effectuée par électrophorèse sur gélose à pH acide; dans ce type d'électrophorèse, HbF migre très en avant de HbA₁ et s'en détache d'une manière très nette (**Figure 17**) (**ORSINI,1982**). Enfin, il est très facile d'identifier la fraction F grâce à sa propriété caractéristique de résister à la dénaturation alcaline; cette propriété, pathognomonique de l'hémoglobine fœtale, permet par ailleurs un dosage facile de l'HbF. La fraction A₂ se situe dans le malade de Cooley à des valeurs normales ou légèrement augmentées; les taux varient entre 1 et 4% on ne retrouve donc pas dans la thalassémie majeure l'augmentation franche et constante de la fraction A₂ caractéristique des formes hétérozygotes. La raison de cette absence habituelle d'augmentation de la fraction A₂ n'est pas connue (**BENSENOUCI, MAZOUNI, 1995**).

-β-thalassémie hétérozygote : Le signe biochimique le plus caractéristique est fourni par la mise en évidence d'une augmentation de la fraction A₂. Cette augmentation est facilement démontrée par une électrophorèse sur acétate de cellulose isolant la fraction A₂ qui se situe très en arrière de la fraction A₁, et en permettant le dosage de façon simple par une méthode densitométrique (**Figure 18**) (**ORSINI,1982**). Le taux normal de la fraction A₂ se situe entre 2 et 3.5% ; les taux supérieurs à 4% sont certainement pathologiques ; des taux de 4.5 à 7 et 8% sont couramment décelés. L'augmentation de la fraction A₂ est pathognomonique de la thalassémie hétérozygote. Pour des raisons peu claires la fraction F, dont on pourrait prévoir l'augmentation, est presque toujours normale dans la thalassémie hétérozygote (**BELHANI, 1987**).

3.2 - α- thalassémie

A la période néonatale de la forme hétérozygote inapparente, il est caractérisé par la présence d'une très petite quantité d'hémoglobine Bart's (structure γ₄); cette fraction particulière qui peut s'identifier par sa position en avant de l'HbA₁ en électrophorèse sur acétate de cellulose est présente, dans cette forme, au taux de 1 à 2% ; elle disparaît dans les six premiers mois de la vie. Mais à la forme hétérozygote apparente, il n'existe aucune anomalie qualitative de l'hémoglobine; les taux des fractions F et A₂ sont normaux; il n'est constaté aucune fraction pathologique sur les traces électrophorétiques; exceptionnellement on peut mettre en évidence des traces d'hémoglobine H (**ORSINI, 1982**).

La caractéristique principale de l'hémoglobine H est la présence d'une fraction H facilement identifiée par sa mobilité électrophorétique en avant de la fraction A₁ dans les milieux usuels (**Figure 19**). Le pourcentage de la fraction H varie entre 10 et 30%. Il s'y associe souvent

un faible pourcentage d'hémoglobine Bart's identifiée par sa position électrophorétique légèrement en arrière de la fraction H mais en avant de la fraction A₁. Le pourcentage de la fraction A₂ est généralement diminué (PERELMAN, 1997).

Les anomalies d'anasarque fœtoplacentaire sont caractérisées par la presque totalité de l'hémoglobine est formée par de l'hémoglobine Bart's. Cette hémoglobine s'identifiée par sa mobilité dans les milieux usuels où elle se situe nettement en avant de la fraction A₁, et légèrement en arrière de la fraction H. Elle est habituellement associée à un petit pourcentage de fraction H. L'hémoglobine A₁ est complètement absente, de même que la fraction F (ORSINI, 1982).

4 - Aspect physiopathologique

Plusieurs défauts moléculaires, de répartition géographique déterminée ont été décrits à l'origine de syndromes thalassémiques. Si les chaînes α ou β de l'hémoglobine sont synthétisées de manière inefficace, il sera impossible de produire des quantités suffisantes d'hémoglobine adulte ou fœtale ou les deux: ainsi tous les syndromes thalassémiques sont caractérisés par une anémie hypochrome. Il se surajoute un déséquilibre de synthèse entre les chaînes avec production en excès de la chaînes ou affectée : ce mécanisme contribue de manière importante à l'anémie des thalassémie. Dans le β -thalassémie, il y a un excès de production de chaînes α , et dans l' α -thalassémie, il y a un excès de production de chaînes γ ou β . Une α -thalassémie est caractérisé par un rapport α /non α supérieur à 1. Dans la β -thalassémie, les chaînes α en excès sont incapables de former un tétramère stable et précipitent dans les érythroblastes. La précipitation des chaînes α est la cause principale de l'érythropoïèse inefficace des chaînes γ ou β produites en excès dans l' α -thalassémie formant des tétramères anormaux, les hémoglobines Bart's et H. Ainsi, le degré d'érythropoïèse inefficace est moindre dans l' α -thalassémie même si les hémoglobines Bart's et H sont peu utiles et tendent à précipiter dans les populations de globules rouges les plus âgées. Ceci explique les différences de physiopathologie entre les thalassémies α et β (Figure 20) (www.medlid.med.utah.edu/roebpath/HEMETML/HEMEIDX.html).

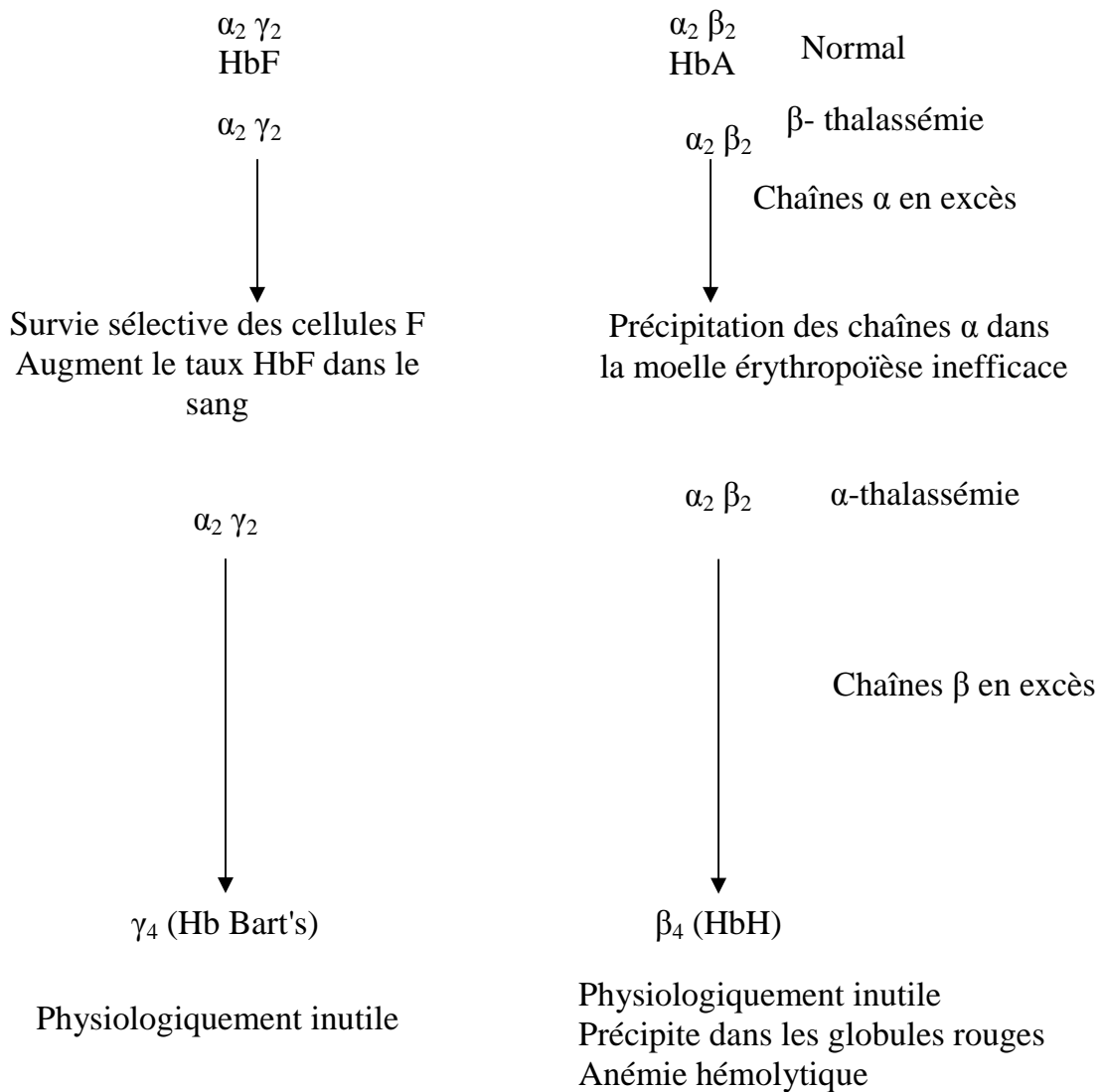


Fig.20: Représentation de la physiopathologie de thalassémie
 (C.Barro, [http://image. Bloodline.net/](http://image.Bloodline.net/))

Chapitre IV

Les traitements

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement spécifique permettant de corriger les défauts structuraux des hématies thalassémiques. On n'est pas utiliser qu'une thérapeutique palliative (ORSINI, 1982).

1.β-thalassémie

1-1-β-thalassémie homozygote

En l'absence de traitement transfusionnel correctement pratiqué, la mort se produit pour la moitié des patients avant l'âge de 4 ans, les autres dépassent rarement l'âge de 10 ans. Quelques très rares sujets porteurs d'une forme homozygote atténuée atteignent l'âge adulte. La mort se produit dans tous les cas, dans un état de dégradation générale et d'insuffisance pluriviscérale. (PERELMAN, 1977).

La transfusion sanguine: dans la maladie de Cooley, doit être systématiquement répétée de manière à maintenir le taux d'hémoglobine au-dessus de 9 g/100 ml. Il faut utiliser uniquement des suspensions d'hématies déplasmatisées, déleucocytée et déplaquettées. Les transfusions doivent être habituellement répétées toutes les 4 à 6 semaines; les quantités de sang utilisées varient selon l'âge des patients entre 250 ml et 1500 ml (quantités calculées sous forme de sang total). (PERELMAN, 1977).

Un agent chélateur, la désférioxamine B (Desféral[®]), peut être d'une grande valeur pour diminuer l'accumulation de fer consécutifs au transfusion répétées. Ce médicament est indiqué surtout chez le jeune enfant qui n'a pas encore de dépôts de fer importants. On donne de 500 à 1000 mg par jour, par injections intramusculaires. Une dose unique intraveineuse de 4000 mg de Desféral[®] avec chaque transfusion augmente la perte en fer de manière significative. Des infusions intraveineuses ou sous-cutanées continues de 8000-16000 mg de Desféral[®] par 24 heures peuvent aussi combattre la surcharge en fer lorsqu'elle sont employées en traitement quotidien répété (PIERRE, FERRIER, 1980).

La splénectomie : la splénomégalie chez les thalassémiques non ou peu transfusés aboutit après une période variable à un hypersplénisme, celui-ci augmente le besoin transfusionnel et aggrave l'anémie. La splénectomie est effectuée sur la base de l'hypersplénisme évalué grâce à des examens isotopiques ou en comparant les besoins transfusionnelles théoriques et les besoins réels. Elle est évitée chez l'enfant avant 5 ans du fait du risque infectieux plus tard elle sera suivie d'une antibiothérapie systématique pendant 2 à 5 ans, les résultats de la

splénectomie sont transitoires mais constants si l'indications opératoire est correcte (BELHANI,1987).

Médications divers: quelques médications peuvent être utilisées dans le traitement de la maladie de Cooley. L'administration de Vitamine B₆ et l'acide folique peuvent améliorer dans une certaine mesure l'érythropoïèse de ces patients, qui, du fait de leur hyperactivité médullaire ont des besoins accrus en ces vitamines. L'administration d'androgènes à été proposée par analogie avec certaines insuffisance médullaires, en dehors d'une amélioration certaine de l'état général, leur effet sur l'érythropoïèse thalassémique n'est pas démontré. La prescription de vitamine B₁₂ ou de préparations polyvitaminiques a un effet non négligeable sur l'état général. Enfin, on signalera que la calcitonine est une thérapeutique très efficace des formes sévères de l'ostéoporose thalassémique. (ORSINI, 1982).

Transplantation médullaire : plusieurs centaines d'enfants thalassémiques âgés de 1 an à 15 ans ont été transplantés maintenant, la plus grande expérience ayant été acquise par le groupe de Lucarelli à Pesaro. La controverse existe cependant sur la question de savoir si l'on peut prendre le risque d'un traitement susceptible de guérir la thalassémie au prix d'un éventuel décès à court terme, de complication sérieuses liées à la réaction du greffon contre l'hôte et une éventuelle stérilité à long terme, ou bien s'il est préférable d'être traité par transfusion et chélation du fer sans risque à court terme mais avec un risque léthal à long terme et les inconvénients d'un traitement continu astreignant. Il est clair que chaque cas est particulier dans ce domaine. Les informations suivantes doivent participer au choix auquel les familles et les médecins sont confrontés:

* Le donneur doit être un frère ou une sœur HLA compatible.

* Les meilleurs résultats sont observés chez les enfants dont la ferritine est inférieure à 3000 mg/ml, sans gros foie ni fibrose hépatique et qui ont reçu une chélation régulière par la déféroxamine.

* Les enfants qui ont un gros foie avec une fibrose hépatique, une ferritine supérieure à 3000 mg/ml et qui n'ont pas été soumis à une chélation régulière par la déféroxamine doivent être écartés de la transplantation car le risque de décès à courts et moyen terme est de 50% à 6 ans (SCHAISON, BARUCHEL, LEBLANC, 1995). Sous l'action de ces divers traitements, la survie des patients est considérablement augmentée, ces sujets peuvent facilement atteindre ou dépasser l'âge de 20 ans (PERELMAN, 1977).

1.2 - β - thalassémie hétérozygote

Il n'existe aucun traitement de la β thalassémie hétérozygote en dehors de traitements banaux de stimulation générale. Toute médication martiale est évidemment contre indiqué car sans action sur le taux d'hémoglobine mais susceptible d'entraîner une surcharge en fer, ce traitement est cependant nécessaire quand une carence martiale est associée à la thalassémie. Bien entendu le patient doit être soigneusement prévenu des risques que court sa descendance s'il se marie avec un sujet également porteur hétérozygote, il faut éviter les mariages consanguins (**ORSINI, 1982**).

1-3- β - thalassémie intermédiaire

Le traitement transfusionnel systématiquement n'est pas de mise dans ces formes intermédiaires; certains patients peuvent se passer de traitement transfusionnel ou ne nécessiter que des transfusions très intermittentes; pour certains, enfin, le traitement transfusionnel systématique est utilisé pendant des périodes de plusieurs mois, voire de plusieurs années, mais peut être abandonné dans l'intervalle (**ORSINI, 1982**).

2. α - Thalassémie

Il n'y a pas de traitement satisfaisant à part les transfusions (**PIERRE, FERRIER, 1980**).

Partie **Expérimentale**

Chapitre I

Matériel et méthodes

Présentation de la région d'étude:

El-Oued est située au sud-est de l'Algérie, au fond d'une large cuvette de Oued Souf et Oued Rigue à environ 650Km d'Alger. Elle occupe une superficie de 44.585,80Km² est limitée:

-Au nord par les Wilayas de Tebessa, Khenchla et Biskra.

-Au sud par la Wilaya de Ouargla.

-Au l'est par la Tunisie.

-Au l'ouest par les Wilayas de Biskra, Djelfa et Ouargla.

Elle comprend actuellement 30 communes; 22 à Oued Souf et 8 communes à Oued Rigue, tous sont regroupées en 12 daïras.

Chaque commune est constituée de quartiers. La plus part sont composés de population urbaines et certains de nomades sédentarisés.

Concernant la statistique de 1998, **El-Oued** est constituée de 529,841 habitants (ANONYME⁴, 2000).

1- Matériel :

On a choisi la wilaya d'**El-Oued** comme région d'étude, et la thalassémie comme pathologie à l'étude sur une période de 10 ans (1995-2005).

Afin d'estimer la prévalence de la thalassémie et son interrelations entre les individus, les familles et les groupes sociaux, et vue le nombre faible de malades thalassémiques, il est nécessaire d'établir des enquêtes au niveau de différentes services sanitaires privés et publics.

1-1- Enquête au niveau de services sanitaires :

Pour mener à bien ce travail, nous avons utilisé les registres des entrées et des sorties des malades dans les services de pédiatrie, médecine femmes et médecine hommes de l'hôpital **DJILLANI Omar** (Chatt), les registres de laboratoire du secteur sanitaire **19 mars** et des différents cliniques privés des pédiatres et des hématologues pendant la période de **1995 à 2005**, ces registres ont été utilisés pour obtenir le nombre, le sexe, l'âge et la lien parenté.

1-2- Matériel biologique utilisés

Le matériel biologique utilisé au laboratoire est le sang d'un thalassémique. Le sang prélevé est utilisé pour procéder à différentes manipulations concernant la confirmation de l'anémie hémolytique et mise en évidence de la thalassémie.

2- Méthodes

2-1- Méthodologie de l'enquête

Pour connaître la fréquence de thalassémie, on a utilisé les registres des hôpitaux choisis pour savoir parmi les personnes diagnostiquées, le nombre de malades atteints de thalassémie confirmée par un examen biologique sur la période **1995-2005**.

En suite le nombre d'anémies hémolytiques diagnostiqués sur cette période.

2-2- Méthodes d'analyse au laboratoire

Au laboratoire, les analyses sont basées essentiellement sur la réalisation des examens complémentaires qui permettent de confirmer l'existence de l'anémie hémolytique et de mettre en évidence la thalassémie. Ces examens biologiques sont :

2-2-1. Technique de FNS (Formule Numération Sanguin)

On l'appelle aussi: hémogramme complet, il comprend :

- La numération de ces éléments figurés (GR, GB, plaquettes).
- La mesure de l'hématocrite et du taux d'Hb.
- Le calcul des constants érythrocytaire. Il y a 2 méthodes :

a- Méthode électronique

Le développement technologique de ces dernières années permet l'utilisation des compteurs électroniques pour la numération des éléments figurés du sang. Ces compteurs existent en plusieurs modèles, l'un de ces compteurs est le « **Coulter d'hématologie** »

Principe

Le **Coulter** est un monomètre permet à une certaine quantité de cellules en suspension dans une solution d'électrolytes (Isoton) de passer au travers d'un orifice de dimension spécifique un courant d'ouverture passe entre deux électrodes dont l'un est placé à l'intérieur du tube à orifice et l'autre à l'extérieur au passage de chaque cellule à travers l'orifice, l'impédance entre les deux électrodes change et ce changement produit une impulsion de tension dont l'amplitude

est proportionnelle au volume de la particule. Les impulsions de tension sont amplifiées et transmises à un circuit de seuil d'examineur puis enregistrées sur un Oxilloscope et totalisées par un compteur électronique relié à un compteur mécanique où se lie le résultat de la numération des éléments comptés (**Annexe:01**).

Le Colloscope, le Digicel et le Hycel sont des compteurs fondés sur le même principe. (**ORSINI, PERRIMOND, VOVAN, MATTEI, 1982**).

b- Méthode manuel

b-1- Numération de globule rouge

Principe

Le sang est dilué dans un liquide approprié. On compte les hématies au microscope, dans une cellule hématimètre, et on calcule le nombre par litre du sang.

Réactifs et matériels utilisés

Pipettes

- Pipette pour sang (souvent appelée pipette de Sahli), graduée à 0.02 ml (20mm³ ou 20 µl), avec tube en caoutchouc terminé par un embout.
- Pipette gradué de 5 ml.
- Cellule hématimètre. Il en existe de plusieurs types ; c'est la cellule améliorée de Neubauer qui sera décrite ici (**Figure 21**).
- Liquide diluant
- solution de formol citrate (**Annexe: 01**)

Les étapes

- * A l'aide de la pipette graduée de 5ml, verser 4.0 ml de diluant dans un petit flacon.
- * Aspirer du sang veineux ou capillaire jusqu'à la marque 0.02 de la pipette pour sang. Ne pas laisser pénétrer de bulles d'air. Si l'on utilise du sang veineux, s'assurer qu'il est bien mélangé à l'anticoagulant (**Annexe:01**) en renversant le flacon à plusieurs reprises, pendant une minute, immédiatement avant de prélever à la pipette.
- * Souffler le sang dans le flacon contenant de diluant. (La dilution du sang est de 1 : 200).

* Fixer la lamelle à la cellule et bien mélanger le sang dilué.

A la pipette Pasteur, remplir les deux chambres de la cellule, en prenant garde de ne pas dépasser les zones quadrillées.

* Laisser reposer 3 minutes pour permettre aux globules de se déposer.

* Mettre la cellule sur la platine du microscope. A l'aide de l'objectif 10 x, trouver le carré central de la cellule, puis passer à l'objectif 40 x pour compter les hématies. Les résultats sont illustrés dans la **figure 21**.

*Utiliser une cellule lignée améliorée de **Neubauer** :

*Compter les hématies dans une zone de 0.2 mm^2 , en utilisant les carrés marqués A, B, C, D et E.

*Pour les hématies placées à cheval sur deux carrés, les compter comme indiqué ci-dessous :

*Ce carré reproduit l'un des cinq considérés (A, B, C, D ou E) calcule le nombre d'hématies contenues dans 1 litre de sang

*Multiplier par 0.01 le nombre d'hématies comptées dans le premier groupe de cinq carrés.

*Faire de même pour le deuxième groupe de cinq carrés.

*Faire la moyenne de ces deux chiffres. Noter le résultat « nombre $\times 10^{12}/l$ ».

Il faut savoir que la marge d'erreur est grande +15 % pour le comptage manuel, +2 % pour le comptage électronique.

Dans le cas de thalassémie la concentration d'hématies est faible (**ANONYME¹, 1982**).

b-2. Dosage de l'hémoglobine:

A partir du sang des malades (cyanméthémoglobine).

Principe :

Le sang est dilué dans du réactif de Drabkin, qui hémolyse les hématies, les transformant en cyanméthémoglobine.

La solution obtenue est examinée au spectrophotomètre. Sa densité optique est proportionnelle à la quantité d'hémoglobine du sang.

Cette méthode est celle qui donne les estimations d'hémoglobine les plus précises. Elle doit être préférée aux autres dans toute mesure possible.

- Les réactifs et le matériel:

- * Spectrophotomètre.
- * Pipette pour sang (Sahli) graduée à 0,02 ml (20 mm³ ou 20 µl), avec tube caoutchouc et embout.
- * Pipette graduée de 5 ml.
- * Tube à essai.
- * Diluant de Drabkin (**Annexe : 02**).

- Les étapes:

- * A l'aide d'une pipette, verser 5 ml de réactif de Drabkin dans un tube à essai.
- * A partir de la pipette de Sahli, aspirer du sang veineux ou capillaire jusqu'à la marque 0,02 ml. Ne pas laisser pénétrer de bulles d'air. S'il s'agit de sang veineux, s'assurer qu'il est bien mélangé en renversant le flacon qui le contient avec l'anticoagulant (**Annexe : 01**) à plusieurs reprises, pendant une minute juste avant de le prélever à la pipette.
- * Souffler le sang mesuré dans les réactifs.
- * Mélanger le contenu du tube et attendre 5 minutes.
- * Mettre le spectrophotomètre à zéro avec du réactif de Drabkin.
- * Placer le mélange sang de malade/réactif de Drabkin dans la cuve de lecture et lire la densité optique correspondant. Si le sang dilué se trouble, cela peut être dû à la présence de protéines anormales du plasma ou à une concentration leucocytaire élevée.
- * Centrifuger le liquide avant de lire le résultat.
- * Reporter le chiffre obtenu sur la courbe d'étalonnage pour en déduire la teneur en hémoglobine, en g/l. La marge d'erreur est de $\pm 10\%$. Dans le malade de thalassémie le taux d'hémoglobine est faible (**ANONYME¹, 1982**).

b-3. Fraction de volume érythrocytaire:**Principe :**

La mesure de l'hématocrite (H^t) est exprimée en pourcentage ou en 1/1, la centrifugation de sang dans un tube sépare les éléments figurés (essentiellement les GR) qui tombent au fond du tube (phase solide) et la phase liquide, le plasma.

L'hématocrite est le rapport entre le volume occupé par les GR et le volume de sang total.

Réactifs et matériel :

- Centrifugeuse électrique pour micro-hématocrite avec plateau spécial tournant à grande vitesse.
- Echelle spéciale pour lecture du résultat (généralement fournie avec le centrifugeur).
- Tubes capillaires "Héparinés". (75mm de long, 1,5mm de diamètre). (Ils contiennent un dépôt d'héparine séchée servant d'anticoagulant).
- Vaccinostyle et alcool, pour le prélèvement du sang capillaire.

Les étapes:

* Prélèvement du sang capillaire: Après désinfection à l'alcool prélever à l'aide d'un vaccinostyle:

- au 3^{ème} ou 4^{ème} doigt
- ou au lobule de l'oreille.
- ou encore au talon (nourrissons).

Le sang doit s'écouler spontanément ou par une très légère pression. Le sang pénètre dans le tube par capillarité. Le laisser se remplir environ aux 3/4.

* Boucher avec la cire molle l'autre extrémité du tube (celle qui n'a pas touché le sang).

* Vérifier qu'elle est complètement bouchée sur 2mm environ.

* Si on ne dispose pas de cire molle ou de pâte à modeler, fermer cette extrémité du tube en la chauffant avec prudence au-dessus de la flamme d'une lampe à alcool.

* Laisser refroidir en position horizontale.

* Il est bon de préparer un portoir à cire molle, pour y planter les tubes de chaque malade en face du numéro d'analyse correspondant.

* Déposer les tubes capillaires dans une des raillures numérotées du plateau du centrifugeur, en s'assurant que chaque numéro correspond à celui de l'échantillon. L'extrémité bouchée à la cire (ou à la flamme) doit être sur le porteur extérieur du plateau.

* Centrifuger à grande vitesse. Après la centrifugation, les tubes contiennent 3 couches:

- En haut, une colonne de plasma (P).
- Au milieu, un très petit disque formé par les globules blancs (GB).
- Au fond, une colonne de globules rouges (GR).

C'est exactement au sommet de cette colonne de globules rouges que se lit la fraction de volume érythrocytaire. On peut voir ci-contre deux modèles d'appareils de lecture existant sur le marché, (a) un modèle triangulaire et (b) un modèle à spirale (**Figure 22**).

Les résultats : utilisation de la table de lecture (**Figure 23**)

* Tenir le tube devant la table de lecture de façon à ce que le fond de la colonne d'hématies (et non le fond du tube) correspond à la ligne horizontale marquée zéro.

* Déplacer le tube devant la table de lecture jusqu'à ce que la ligne maquée 0,1 coïncide avec le haut de la colonne de plasma, s'assurer que le niveau inférieur de la colonne d'hématies est toujours à la ligne zéro; s'assurer également (à l'aide des lignes verticales) que le tube est bien droit.

* La ligne qui coïncide avec le haut de la colonne d'hématies donne la fraction de volume érythrocytaire (0,4 sur le schéma).

Les lignes intermédiaires plus fines correspondent à des intervalles de 0,05; si le haut de la colonne d'hématies ne coïncide pas avec une ligne, mais se situe entre un trait épais et une ligne plus fine, on peut en estimer la position au 0,01 le plus proche. Les chiffres sont faibles chez les sujets atteints de thalassémie; la fraction de volume érythrocytaire est alors inférieure à 0,40 chez les hommes et 0,37 chez les femmes (hématocrites 40% et 37% respectivement). La marge d'erreur est de $\pm 2\%$. (**ANONYME¹, 1982**).

b-4. Calcule des constants érythrocytaires:

A partir des données concernant le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et la valeur de l'hématocrite, on peut calculer les constants érythrocytométriques.

- **Le volume globulaire moyen (VGM):** est donné par la formule suivante:

$$VGM = \frac{\text{hématocrite (l/l)}}{\text{nombre d'érythrocytes (10}^{12} \text{ /l)}}$$

Les résultats sont exprimés en femtolitres (fl), et le taux normal est entre 80 – 95 fl, mais dans le cas thalassémique est faible.

La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH): est la quantité d'hémoglobine contenue dans l'érythrocyte. Elle est calculée selon la formule suivante:

$$TCMH = \frac{\text{hémoglobine (g /l)}}{\text{nombre d'érythrocytes (10}^{12} \text{ /l)}}$$

La valeur est exprimée en picogramme (pg), et le taux normal est entre 27 -32 pg, mais dans le cas thalassémique est faible aussi.

La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH): elle exprime la quantité d'hémoglobine rapportée non pas à un volume déterminé de sang mais à un volume déterminé de globules rouges. Elle définit donc le degré de saturation des globules rouges en hémoglobine. Elle est indiquée jusqu'à présent en pourcentage (correspondant au nombre de grammes l'hémoglobine par décilitre de globules), elle est actuellement cotée en grammes d'hémoglobine par litre de masse globulaire. Elle est calculée par la formule suivante:

$$CCMH = \frac{\text{hémoglobine (g /l)}}{\text{hématocrite (l/l)}}$$

Le taux normal est entre 300 -350 g/l, mais dans le cas thalassémique est faible (**ORSINI PERIMON, VOVAN, MATTEI, 1982**).

b-5- Numération des réticulocytes:**Principe :**

Les réticulocytes contiennent de fines granulations qui peuvent être colorées par le bleu brillant de crésyl. On colore une lame du sang avec ce produit et on observe au microscope un certain nombre d'hématies. A partir de cette observation on peut calculer soit le nombre de réticulocytes par litre de sang, soit la proportion d'hématies qui sont des réticulocytes.

Réactifs et matériels utilisés:

- Lames (dégraissées).
- Lame rodée pour étalement.
- Petits tubes à essai
- Entonnoir.
- Papier-filtre.
- 2 pipettes pasteur.
- Solution saturée de bleu crésyl (**Annexe : 02**).

Les étapes:

- * Filtrer un peu de solution de bleu de crésyl dans un tube à essai .Dans le fond d'un autre tube déposer 2 gouttes de solution filtrée de bleu de crésyl.
- * Prélever quelques gouttes du sang au bout du doigt à la pipette pasteur, ou utiliser du sang veineux prélevé dans du sel dipotassique de l'acide EDTA et bien mélanger.
- * Ajouter au tube contenant les 2 gouttes de solution de bleu de crésyl: 2 gouttes du sang.
- * Mélanger en agitant doucement le tube. Boucher le tube avec du coton et attendre 15 minutes.
- * Reprendre le tube préparé et l'agiter doucement. Prélever une goutte du mélange. La déposer sur une lame de verre, pour étalement.
- * Faire un étalement mince du mélange avec la lame rodée.
- * Faire sécher en agitant vivement la lame.
- * Examiner la lame à l'objectif à immersion. Choisir la queue de l'étalement là où les hématies doivent être bien séparées les unes des autres. Les hématies se colorent en bleu pâle. Les réticulocytes sont des hématies qui contiennent des fines granulations bleu-violet foncé, disposées en filet (réticulum). Ils peuvent contenir des granulations ou des filaments.
- * En utilisant l'objectif 100x à immersion, examiner au moins 100 hématies, compter soigneusement (a) le nombre total d'hématies examinées et (b) le nombre de réticulocytes. (On compte plus facilement en réduisant le champ du microscope, ce qu'on peut faire en plaçant dans l'oculaire un petit rond de papier noir rigide dans lequel on aura percé un trou d'environ 5 mm de diamètre).

Les résultats:

Les hématologues préfèrent enregistrer le nombre de réticulocytes sous forme de concentration de nombre (nombre de réticulocytes par litre du sang).

Pour la calculer, on doit connaître la concentration érythrocytaire totale. Si on l'exprime par C (compte non tenu du " $\times 10^{12}/l$ ") et par n le nombre de réticulocytes observés en examinant 500 hématies, la concentration réticulocytaire est égale à : $c \times 2n \times 10^9/l$. dans le cas thalassémique le nombre de réticulocytes est élevé (ANONYME¹,1982)

2-2-2- Dosage de la bilirubine:

Pour le dosage quantitatif de la bilirubine totale et de bilirubine directe dans le différent sérum et plasma.

Principe :

La méthode colorimétrique est basée sur celle de **Jendrassik et Grof (1938)**. La bilirubine directe (conjuguée) réagit avec l'acide sulphanilique diazoté pour former un composé bleu en milieu alcalin.

La bilirubine totale est déterminée en présence de caféine, qui libère la bilirubine liée à la sérum-albumine, par une réaction de diazotation avec l'acide sulfanilique.

Les réactifs sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

| Réactifs | Composant | Concentration initiale |
|----------|--------------------------|------------------------|
| 1 | Acide sulfanilique | 29m mol/l |
| | Acide hydrochlorhydrique | 0,17 N |
| 2 | Nitrate de sodium | 25m mol/l |
| 3 | Caféine | 0.26 mol/l |
| | Benzoate de sodium | 0.52 mol/l |
| 4 | Tartrate | 0,93 mol/l |
| | Hydroxyde de sodium | 1,9 N |

Le matériel utilisé est:

- Pipettes automatiques de 50 et 200 μ l et de 1 et 2 ml.
- Chronomètre, bain-marie pour 20-25°C
- Spectrophotomètre équipé de la longueur d'onde 530-560 nm.
- Sérum.

Protocole:

| | | |
|------------------|--------------|------------------------|
| Longueur d'onde: | Bil totale: | Hg 578 nm (560-600 nm) |
| | Bil directe: | Hg 546 nm (530-560 nm) |
| Cuve: | | 1cm de trajet optique |
| Température | | 20-25°C |

Les étapes :

Pour la bilirubine totale (BT) :(pipeter dans la cuve)

Sont illustrés dans le tableau ci-dessous:

| | Blanc échant (ml) | Echantillons (ml) |
|-------------|--------------------------|--------------------------|
| Réactif 1 | 0,20 | 0,20 |
| Réactif 2 | / | 1 goutte (0,05 ml) |
| Réactif 3 | 1.00 | 1.00 |
| Echantillon | 0,20 | 0,20 |

-Mélanger et laisser reposer 10 min à 20-25°C. Puis on ajoute 1,00 ml du réactif 4 au tube de blanc et à l'échantillon.

-Mélanger et laisser reposer 5-30 min à 20-25°C puis lire la D.O de l'échantillon contre le blanc échantillons (A_{BT}).

Pour la bilirubine directe (BD) :(pipeter dans la cuve)

| | Blanc échant (ml) | Echant (ml) |
|--------------|--------------------------|--------------------|
| Réactif 1 | 0,20 | 0,20 |
| Réactif 2 | / | 1 goutte (0,05 ml) |
| Na Cl (0.9%) | 2,00 | 2,00 |
| Echantillon | 0,20 | 0,20 |

-Mélanger et laisser reposer 5-30 min à 20-25°C puis lire la D.O de l'échantillon contre le blanc échantillon (A_{BD}).

Calcul:

- Bilirubine totale ($\mu\text{mol/l}$) = $185 \times A_{BT}$ (578 nm).
- Bilirubine totale (mg/dl) = $10,8 \times A_{BT}$ (578 nm)
- Bilirubine directe ($\mu\text{mol/l}$) = $246 \times A_{BD}$ (546 nm)
- Bilirubine directe (mg/dl) = $14,4 \times A_{BD}$ (546 nm)

Valeurs normales dans le sérum :

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs usuelles en fonction de l'âge, du sexe, du régime alimentaire et de la localisation géographique.

- | | |
|----------------------|------------------------------------|
| - Bilirubine totale | Jusqu'à 17 μ mol/l-1 mg/dl |
| - Bilirubine directe | Jusqu'à 4,3 μ mol/l-0,25 mg/dl |

Mais dans le sang d'un sujet atteint par la thalassémie, le taux de bilirubine est élevé (ANONYME², 1997)

2.-2-3- Méthode de l'électrophorèse :

Cette méthode permet de séparer les hémoglobines sous l'action d'un champ électrique: la migration est fonction de la charge électrique de la molécule et du pH du milieu.

a- Electrophorèse en milieu alcalin :

Actuellement l'électrophorèse de zone, utilisant différents supports: papier, gel d'amidon, acétate de cellulose, est devenue une technique à la fois simple et efficace pour la détection des anomalies hémoglobiniques. Le sang est prélevé sur citrate de sodium ou sur une solution de citrate-dextrose (ACD). Après élimination du plasma et lavage des érythrocytes (3 fois avec une solution NaCl à 9 g/l), l'hémolysât est obtenu à l'aide de l'eau distillée. Quelques gouttes de toluène sont ajoutées à l'hémolysât et après une agitation vigoureuse, un séjour d'une nuit au réfrigérateur, permet d'éliminer le stroma et d'obtenir une solution d'hémoglobine claire. L'électrophorèse s'effectue sur bandes d'acétate de cellulose (séraphore ou cellogel par exemple) dans un tampon. Tris-EDTA-borate, pH= 9,0. La durée de migration est de 30 minutes sous 400 volts lorsqu'on utilise le «séraphore III» comme support et de 90 minutes sous 200 volts pour le cellogel. Après électrophorèse, les fractions hémoglobiniques sont révélées soit par le ponceau soit par l'amido-Shwartz.

En électrophorèse sur acétate de cellulose en milieu alcalin, la migration électrophorétique des différentes hémoglobines est schématisée sur la **Figure 24**. On constate sur cette figure l'impossibilité de séparer l'HbS de l'HbD et l'HbC de l'HbE. La distinction entre HbS et HbD d'une part et entre HbC et HbE d'autre part peut être facilement réalisée par électrophorèse en gélose acide.

Si le sujet est atteint par la thalassémie, on trouve une migration de la fraction F légèrement en arrière de la fraction A₁ (ORSINI, PERRIMOND, VOVAN, MATTEI, 1982).

b - Electrophorèse au milieu acide :

La technique habituellement employée en biologie chimique est l'électrophorèse sur gel. La gélose (Bacto Agar Difco) dissoute au bain marie dans un tampon citraté pH= 6,2 est coulée sur des plaques de verre dégraissée mises à l'intérieur des moules. Après refroidissement, on pratique de petits réservoirs à l'aide d'un emporte-pièce et on y dépose l'hémolysât à analyser. La migration électrophorétique s'effectue dans un tampon citrate pH= 6,2 sous 200 volts pendant 45 minutes. Les fractions hémoglobiques sont ensuite révélées par l'amido-Schwartz. La décoloration du fond de gélose est obtenue par lavage à plusieurs reprises dans une solution d'acide acétique à 5%. Les migrations de différentes fractions hémoglobiques sont schématisées sur la **Figure 25**.

On voit que dans cette technique. Les hémoglobines D et E migrent comme la fraction A₁ alors que les hémoglobines S et C demeurent toujours séparées de cette fraction. Par ailleurs, dans cette méthode d'électrophorèse, la fraction F se détache facilement de la fraction A₁ en migrant bien avant d'elle.

Si le sujet est atteint par la thalassémie, on trouve une migration de la fraction F nettement en avant de la fraction A₁. (**ORSINI, PERRIMOND, VOVAN, MATTEI, 1982**).

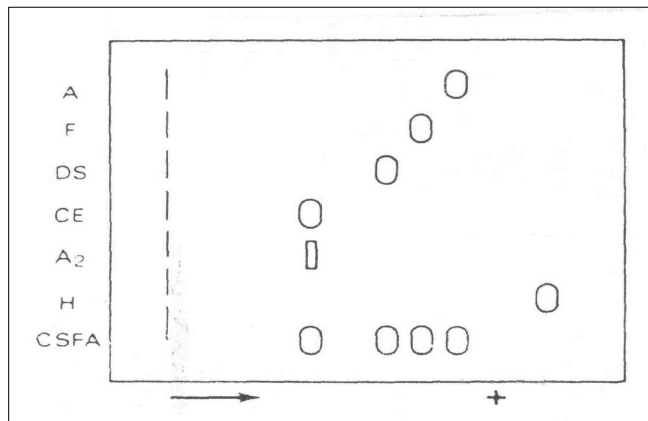


Fig. 24: Electrophorèse de l'hémoglobine sur acétate de cellulose en milieu alcalin (ORSINI, 1982)

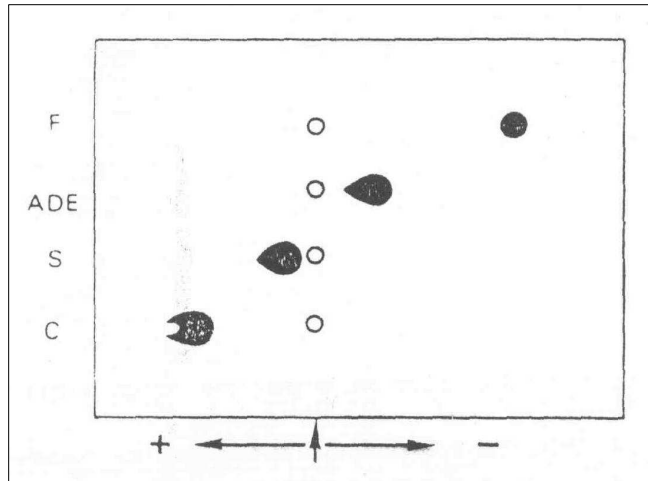


Fig. 25: Electrophorèse de l'hémoglobine sur gélose en milieu acide (ORSINI, 1982)

Chapitre II

Résultats et discussion

1- Enquêtes:

Par notre enquête nous avons compté 19 cas thalassémiques sur une période de 10 ans, tous ces cas sont β - thalassémiques (**Tableau 5**).

1-1. Résultats et discussion:

19 cas de thalassémie, réunis dans les différents services sanitaires d'**El-Oued** pendant 10 ans ne représentent pas la réalité. Ceci peut s'expliquer par:

- Le diagnostic tardif de la maladie pour certain et son absence pour la majorité, et aussi la plupart des malades suivent leur thérapie à des grands hôpitaux au nord en raison de circonstances thérapeutiques abondantes.

Tableau 5: Le nombre des malades à la période de 1995 – 2005

| | Sexe | Age (ans) | Consanguinité | Année de l'apparition | L'état des malades en 2005 |
|----|------|-----------|---------------|-----------------------|----------------------------|
| 1 | F | 3 | + | 1995 | Mort |
| 2 | M | 2 | + | 1997 | Mort |
| 3 | M | 4 | + | 1998 | Mort |
| 4 | M | 11 | + | 1998 | Mort |
| 5 | F | 6 | - | 1999 | Vivre |
| 6 | M | 4 | + | 2000 | Vivre |
| 7 | M | 4 | - | 2000 | / |
| 8 | F | 7 | + | 2000 | Mort |
| 9 | M | 2 | + | 2001 | Vivre |
| 10 | M | 5 | + | 2001 | Vivre |
| 11 | F | 6 | + | 2002 | / |
| 12 | M | 2 | + | 2002 | / |
| 13 | M | 2 | - | 2002 | Vivre |
| 14 | M | 3 | - | 2002 | Vivre |
| 15 | M | 4 | + | 2002 | Vivre |
| 16 | M | 12 | - | 2002 | Vivre |
| 17 | M | 2 | + | 2003 | Vivre |
| 18 | M | 13 | + | 2003 | Vivre |
| 19 | F | 4 | - | 2005 | Vivre |

Tous les cas qu'on trouve sont β - thalassémiques puisque les α - thalassémiques sont très rares dans le bassin méditerranéen (**ORSINI, PERRIMOND, VOVAN, MATTEI, 1982**).

Et aussi il existe une forme de α - thalassémie qui est une forme grave qui peut causer la mort fœtale(**PIERRE. FERRIER, 1980**).

1-1-1. Répartition des malades selon le sexe:

Les résultats obtenus indiquent ou suggèrent que les thalassémiques du sexe masculin sont plus nombreux que les thalassémiques du sexe féminin, puisque les proportions sont de 68% pour les masculins et de 32% pour les féminins (**Figure: 26**).

La prédominance masculine ne peut pas être expliquée par un signe d'une relation entre le sexe et la maladie puisque d'une part la transmission de cette maladie est autosomique récessive c'est à dire qu'elle touche les deux sexes de façon égale (**PIERRE, FERRIER, 1980**).

D'autre part cependant, nous pouvons dire qu'il est possible que cette prédominance est due aux traditions de la région où les parents s'occupent des garçons plus que des filles.

Le nombre de patients étudiés est faible et ne permet pas d'établir une conclusion dans ce sens.

1-1-2. Répartition des malades selon l'âge:

Nous remarquons que la plupart des thalassémiques sont âgés de moins de 5 ans, avec une proportion de 37% alors que les patients âgés entre 5 à 15 ans représentent une proportion de 63% et les patients âgés de plus de 15 ans on ne retrouve aucun cas (**Figure 27**).

Le nombre le plus élevé d'enfants âgés de moins de 5 ans que les enfants 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**).

Aucun cas d'un adulte n'a été rencontré puisque les symptômes de malade apparaissent généralement à la première fois à l'âge de moins de 5 ans, et aussi sous l'action de divers traitements, la survie de ces sujets peut facilement atteindre ou dépasser l'âge de 20 ans (**PERELMAN, 1977**).

1-1-3- Fréquence de la consanguinité:

La **figure 28** fait ressortir que 68% des cas sont issus de mariages consanguins, alors que 32 % ne le sont pas.

La consanguinité seule, ne semble pas être la cause principale de la thalassémie mais il augmente la probabilité de l'apparition de la maladie.

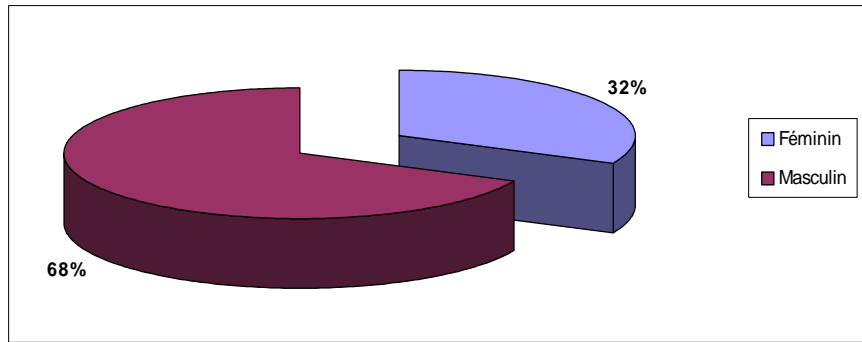


Fig.26: Répartition de thalassémie selon le sexe

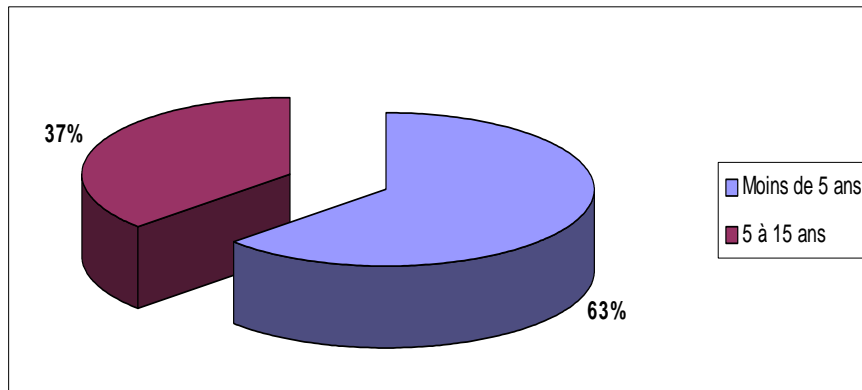


Fig.27: Répartition de thalassémie selon le l'âge

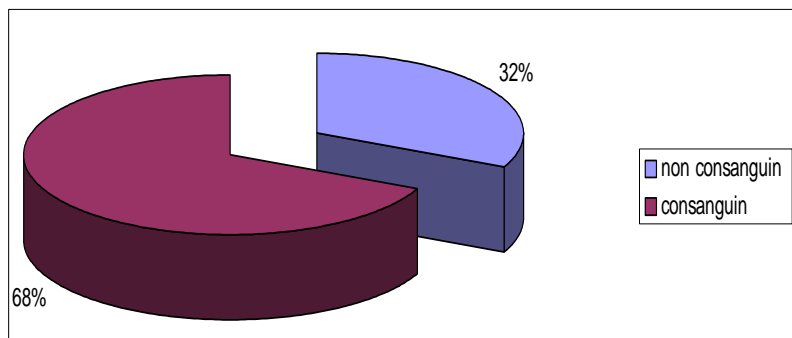


Fig.28: Effet de la consanguinité

2- Analyse au laboratoire:**2-1. Résultats:**

Parmi les patients thalassémiques étudiés, on peut citer à titre d'exemple les 2 cas suivant:

1^{er} cas:

- **Sexe:** masculin
- **Age:** 2 ans
- **Type de maladie:** β thalassémie
- **Année de l'apparition de la maladie:** 2001
- **Les éléments chimiques:**
- **Poids:** 12 kg (le cas normal : 12kg).
- **Périmètre crânien:** 50 cm (le cas normal : 47-48 cm).
- **Faciès:** allambien
- **Rate et foie:** grosse
- **Les éléments biologiques:**

*** Selon la technique de FNS:**

- **GB:** 6000/mm³ (le normal:4-10*10⁻³/l).
- **GR:** 2600 million /mm³ (le normal:4,2-5,5*10⁻⁶/l)
- **Hb:** 7.8 g/dl (le normal:11,5-14,8g/l)
- **VGM:** 60 (le normal:80 – 95).
- **TCMH:** 15 pg (le normal: 27 – 32).
- **CCMH:** 200 g/l (le normal: 300- 350).

* **Fer sérique:** élevée (le cas normal:80microgramme)

* **Taux de bilirubine:** élevée (le cas normal:-BT:1mg/dl,-BD:0,25mg/dl)

* **Taux de fraction d'Hb fœtale de:** 70% (le cas normal:2%)

2^{ème} cas:

- **Sexe:** masculin
- **Age:** 4 ans
- **Type de maladie:** β thalassémie
- **Année de l'apparition de la maladie:** 2002
- **Les éléments chimiques:**

Cet cas a c'est bon à l'état général

- **Poids:** 16 kg (le cas normal : 16kg).
- **Périmètre crânien:** 50 cm (le cas normal : 49-50cm).
- **Faciès:** non lathoflominique
- **Les éléments biologiques:**

*** Selon le technique de FNS:**

- **GB:** 7800/mm³ (le normal:4-10*10⁻³/l).
- **GR:** 3600 million /mm³ (le normal:4,2-5,5*10⁻⁶/l)
- **Hb:** 9 g/dl (le normal:11,5-14,8g/l)
- **VGM:** 70 (le normal:80 – 95).
- **TCMH:** 20 pg (le normal: 27 – 32)
- **CCMH:** 200 g/l (le normal: 300- 350)

* **Fer sérique:** élevée (le cas normal:80microgramme)

* **Taux de bilirubine:** élevée (le cas normal:-BT:1mg/dl,-BD:0,25mg/dl)

* **Taux de fraction d'Hb fœtale de:** 80% (le cas normal:2%)

2-2. Discussion:

D'après les résultats de ces deux cas, nous avons remarqué que ces résultats sont adaptés avec les aspects et les caractères qu'on a présentés dans la partie théorique. Tous les éléments chimiques des malades sont élevés que l'état normal.

Conclusion

Conclusion générale et recommandations

Notre travail a porté sur une maladie génétiquement transmissible.

Au cours d'une enquête effectuée au niveau de l'hôpital et diverses cliniques privées font ressortir les points suivants:

L'existence de la thalassémie dans la région d'**El-Oued**. Le sexe masculin étant le plus touché et la majorité des patients est âgée de moins de 5 ans. Les malades présentent des complications plus ou moins graves.

La thalassémie est donc une maladie rarement diagnostiquée dans notre région, mais elle pose un problème de santé publique à prendre en considération. Elle est habituellement une maladie mortelle, souvent avant l'âge de 20 ans sous l'action de divers traitement, et avant l'âge de 10 ans en absence de traitement.

L'électrophorèse de l'hémoglobine d'un patient affirme l'existence d'un pourcentage important d'hémoglobine fœtale.

Les analyses sanguins sont actuellement le seul moyen permettant de révéler l'existence de telles maladies héréditaires qualifiées d'hémoglobinopathie puisqu'elles touchent les GR. Dans des laboratoires très spécialisés, il est possible d'appliquer des diagnostics génotypique des le premier trimestre de grossesse où le choix d'un avortement n'est pas exclu.

Ce type de maladies héréditaires est très sévère chez les individus (patients) homozygotes pour le gène affecté et moins sévère chez les patients hétérozygotes (porteurs). Nous proposons aux nouveaux mariés ayant un trait hétérozygote de faire des analyses sanguines telle que l'électrophorèse de l'hémoglobine pour éviter les formes homozygotes.

Nous proposons également d'éviter les mariages consanguins qui favorisent l'apparition des maladies héréditaires à transmission autosomique récessive suivant les conseils de prophète Mohamed:

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم (...نقو لنسلم، فان العرق دساس)

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement spécifique permettant de corriger les défauts structuraux des hématies thalassémiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ANONYME¹**, 1982. Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical. Genève.
- ANONYME²**, 1997. International Headquarters, Randox laboratories Ltd.
- ANONYME³**, 2004. Encarta. Données encyclopédiques.
- ANONYME⁴**, 2000. Agenda de la fin de 20^{ème} siècle. El-Oued.
- A.BARUCHEL, G.SCHAISON, T.LEBLANC.**, 1995. Hématologie de l'enfant. ED. Flammarion, Paris, pp109-116.
- A.BENSENOUCI, M.MAZOUNI.**, 1995. Eléments de pédiatrie. Volume II. Alger, pp552-554.
- A.DOMART, G.BOURNEUF.**, 1981. Nouveau Larousse médicale. ED. Larousse, Paris, pp1012-1013.
- A.ORSINI, H.PERRIMOND, L.VOVAN, M.MATTEI.**, 1982. Hématologie pédiatrique. ED. Flammarion, Paris, pp442.
- B.COIFFIER, D.GERMAIN, O.GENTILHOMME, P.-A.BRYON.**, 1981. Physiologie humaine. ED. SIMEP, Paris, pp28-105.
- D.KHAYAT, G. AUCLERC.**, 1990. Hématologie. Deuxième édition. Maloine, Paris, pp136-139.
- F.MULLER, G. PERRET.**, 1977. Biochimie tissulaire humaine. ED. Maloine, Paris, pp7-10.
- G.ANNOU.**, 2003. La drépanocytose: maladie mal connue ou déficience confondue chez la population de Ouargla. Mém. DES. ITAS. Ouargla, pp2-4.
- G. DELAMARE.**, 1992. Dictionnaire des termes de médecine. 22^E édition. Maloine, Paris.
- J.DELAMARE.**, 2000. Dictionnaire des termes de médecine. ED. Maloine. Paris.
- J.-L.SERRE.**, 1997. Génétique des populations. ED. Nathan, Paris, p15.

- J.-L. SERRE et coll.**, 2002. Les diagnostics génétiques. ED. Dunod, Paris, pp114-117.
- L.STRYER, J.-M.BERG, J.-L.TYMOLZKO.**, 1985.Biochimie.Première édition Paris, p800.
- M. BELHANI.**, 1987. Hématologie. TOME I. Alger, pp226.
- O.RITTER, V.FATTORUSSO.**, 2001.Vadmecum clinique du diagnostic au traitement. Paris, pp566-568.
- P.FERRIER.**, 1980.Précis de pédiatrie. Deuxième édition. Paris, pp298-301.
- R.PERELMAN.**, 1977.Pédiatrie pratique. Tome I.ED. Maloine, Paris, pp420-422.
- V.DONALD, V.JUDITHG.** 1998. Biochimie.Paris, pp1146-115
- Internet:**
- <http://image.bloodline.net/>.
- [www-medlib.med.utah.edu/web Path/HEMEHTML/HEMIDX.html](http://www-medlib.med.utah.edu/web_Path/HEMEHTML/HEMIDX.html).
- erasmeinfo.ulb.ac.be/.../English/alpha-diag.htm.
- Yahoo.france-research-image-for-thalassemia.htm.

Annexes

Annexe:01

Matériel et produits utilisées en hématologie

I) Le compteur (Coulter) donne les résultats des éléments figurés du sang avec les valeurs normales, ces éléments sont RBC, MCV, RDW (hématies), HCT (hématocrite. PLT (plaquette). MPV, WBC (leucocytes), HGB (hémoglobine). MCH. MCHC. LYMF, GRAN, MID, LYMF, GRAN, MID (**ORSINI, 1982**).

II) Le liquide diluant et la solution de formol citraté sont préparés par:

| | |
|-------------------------------------|---------|
| Citrate trisodique | 3,0g |
| Formol du commerce, à 37% au moins. | 1,0 g |
| Eau distillée | 100,0ml |

Attention: Le formol est corrosif et toxique (**ANONYME¹, 1982**).

III) L'anticoagulant le plus utilisé dans l'hématologie est la solution du sel dipotassique de l'acide éthylène – diamine tétra-acétique (EDTA). Elle est utilisée pour:

- numération globulaire
- dosage de l'hémoglobine
- groupages sanguins (**ANONYME¹, 1982**).

Annexe : 02

Composition de quelques produits chimiques

I) Le diluant de Drabkin:

Le diluant de Drabkin peut être préparé à partir de comprimés que l'on peut se procurer directement auprès du fabricant. Suivre les instructions données par celui-ci:

Pour les laboratoires dotés d'une balance précise, le diluant de Drabkin peut être préparé comme suit:

| | |
|---|---------------|
| Ferricyanure de Potassium | 0,4 g |
| Cyanure de potassium | 0,1 g |
| Phosphate monopotassique | 0,28 g |
| Nonidet P ₄₀ (shell chemical Co) | 2ml |
| (Ou sterox SE) | 1 ml |
| Eau distillée | q.s.p 2000 ml |

- dissoudre les 3 premiers produits dans l'eau et mélanger.
- ajouter le détergent (Nomidet ou sterox) et mélanger délicatement.
- le réactif doit être clair et jaune pâle. Lorsqu'on le mesure par rapport à l'eau dans un spectrophotomètre à une longueur d'ondes de 540 nm, la densité optique doit être égale à 0.
- conserver dans un flacon en verre brun. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble.

Attention:

Le cyanure de potassium est un produit extrêmement toxique que ne doit être utilisé que par des chimistes expérimentés.

Le conserver dans un placard fermé à clé. Après l'avoir utilisé, se laver soigneusement les mains (ANONYME¹, 1982).

II- Solution saturée de bleu de crésyl (Par réactif (x))

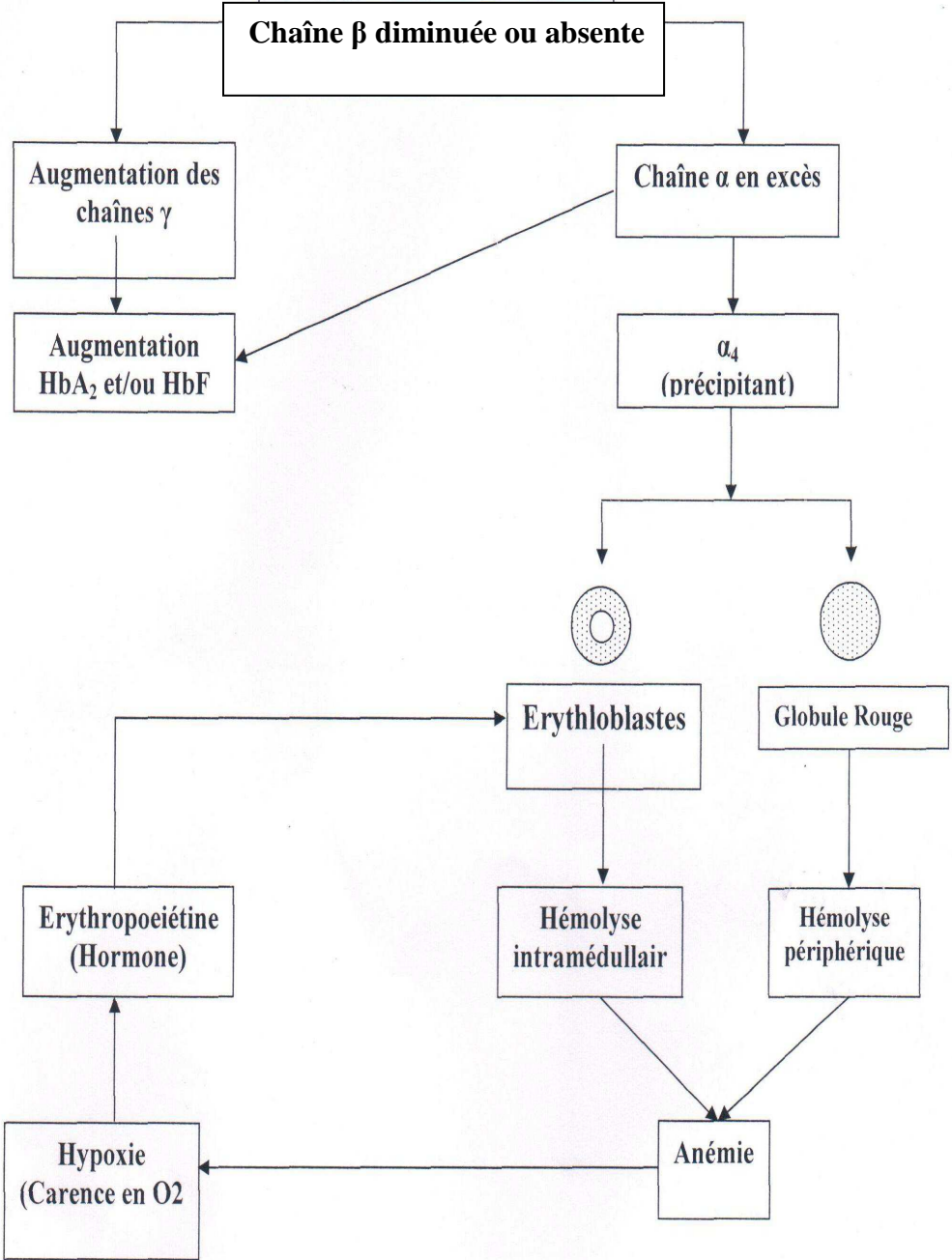
| | |
|--|--------|
| Bleu de crésyl brillant | 1,0 g |
| Citraté trisodique | 0,4 g |
| solution aqueuse de chlorure de sodium à 0,85% | 100 ml |

Mélanger le colorant et le citrate dans la solution, filtrer après dissolution.

Réactif x: Eosine-soluté salin à 2% (ANONYME¹, 1982)

| | |
|--|--------------|
| Eosine | 2 g |
| Salué physiologique (solution aqueuse de chlorure de sodium à 0,85%) | q.s.p 100 ml |

**Annexe 05:
Résumé de β -thalassémie**



Annexe 06: Résumé de α - thalassémie

Gènes α

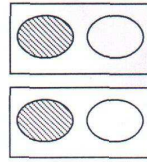
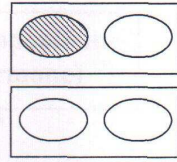
α^+ -thalassémie (délétion heterozygote 1 gène α thal).

α^+ -thalassémie homozygote: (délétion 2 gènes α thal).

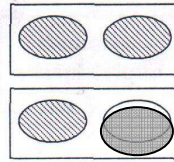
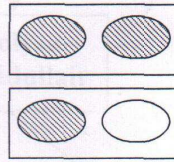
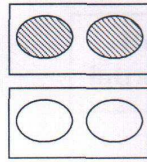
α^0 -thalassémie heterozygote : (délétion 2 gènes α thal).

Hémoglobinose H (délétion 3 gènes α thal).

α -thalassémie homozygote : (délétion 4 gènes α thal).



ou



L'électrophorèse Hb (L'aspect biochimique)

-1-2% Hb Bart (γ_4) à la naissance normal chez l'adulte.

-5-10% Hb Bart (γ_4) à la naissance normal chez l'adulte.

- Présence d 'Hb Bart à la naissance. Commutation HbH (β_4) ; 10-30% Adulte et HbA ; 70%.

-80% Hb Bart (γ_4) environ 10% HbH ni HbF, ni HbA

SymptomatoZies (L'aspect physiologique)

Sans Anémie Microcytose.

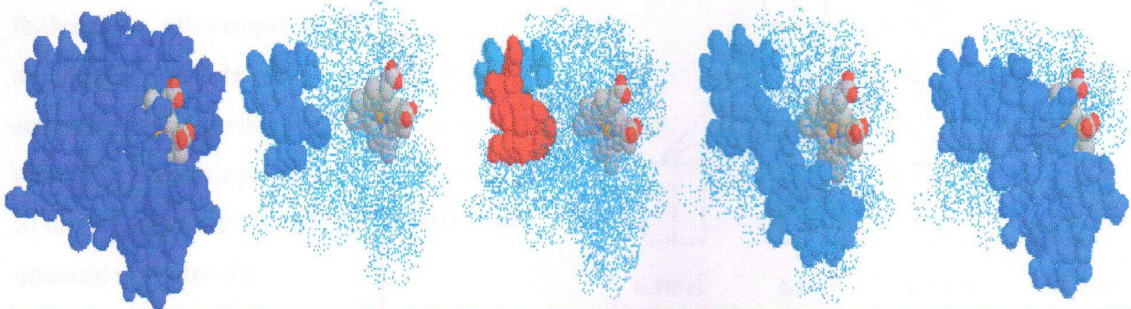
Sans Anémie Microcytose.

-Anémie Microcytaire
-Hémolyse chronique
-(Déformation squelettique)

Létale
Anasarque foete-placentaire ou mort in utero ou juste après la naissance.

Annexe: 04
Formes d'hémoglobine de thalassémie selon leurs répartitions ethniques

en bleu : séquence conservée ----- en rouge : séquence modifiée



| | | | | |
|---|--|---|--|---|
| Chaîne beta complète des individus sains. | Chaîne beta de la Thalassémie de Chine 1 | Chaîne beta de la Thalassémie de Sardaigne. | Chaîne beta de la Thalassémie de Méditerranée. | Chaîne beta de la Thalassémie de Chine 2. |
|---|--|---|--|---|

Annexe 03: **La séquence des chaînes δ et γ**

δ) Val-His-Leu-Thr-Pro-Glu-Olu-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Ala-Leu-Trp-Gly-Lys-Val-Asn-Val-Asp-Ala-Val-Gly-Gly-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Glu-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Pro-Asp-Ala-Val-Met-Gly-Asri-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Gly-Ala-Phe-Ser-Asp-Gly-Leu-Ala-His-Leu-Asp-Asn~Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Thr-Leu-Ser-Glu-Leu-His-His-Gys-Asp-Lys-Leu-His-Val-Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Gys-Val-Leu-Ala-Arg-Asn-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Gln-Met-Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val~Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asn-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His.

γ) Gly-His-Phe-Thr-Glu-Glu-Asp-Lys-Ala-Thr-Iie-Tlir-Ser-Leu-Trp-Gly-Lys-Val-Asn-Val-Glu-Asp-Ala-Gly-Gly-Glu-Thr-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Tiir-Gln-Arg-Phe-Phe-Gly-Ser-Phe-Gly-Asn-Leu-Ser-Ser-Ala-Ser-Ala-Ile-Met-Gly-Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Thr-Ser-Leu-Gly-Asp-Ala-Ile-Lys-His-Leu-Asp-Asp-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Gln-Leu-Ser-Glu-Leu-His-His-Asp-Lys-Leu-His-Val-Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Thr-Val-Leu-Ala-Ile-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Glu-Val-Gln-Ala-Ser-Trp-Gln-Lys-Met-Val-Thr-Gly-Val-Ala-Ser-Ala-Leu-Ser-Ser-Arg-Tyr-His.

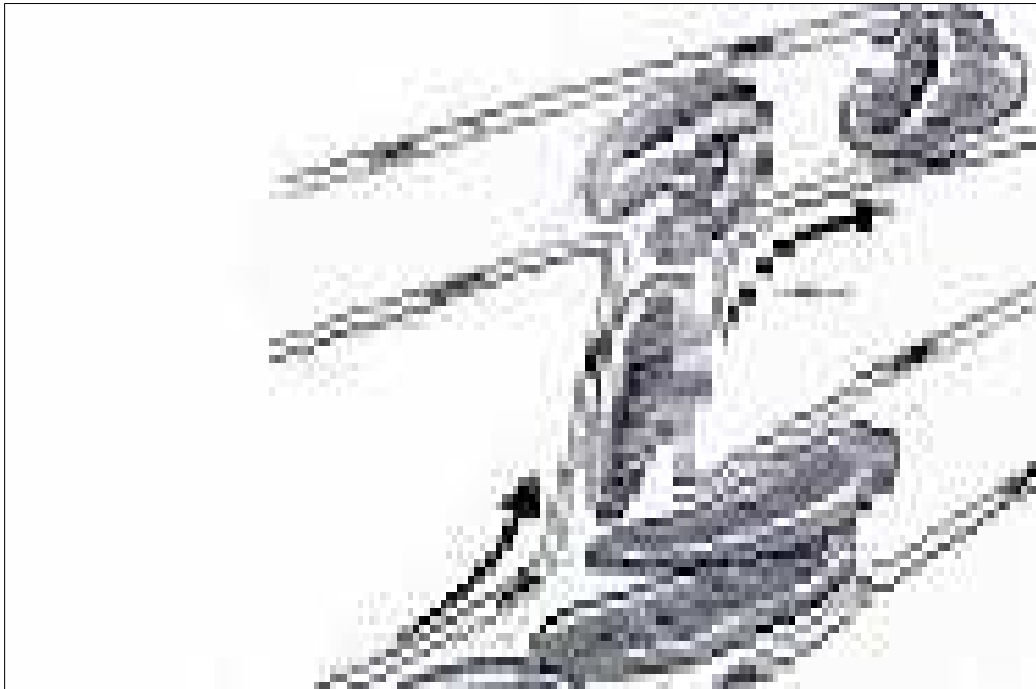


Fig. 01. Aspect des globules rouges circulent dans un capillaire
(GERMAIN, GENTICHOMME, BRYON, COIFFIER, 1981)

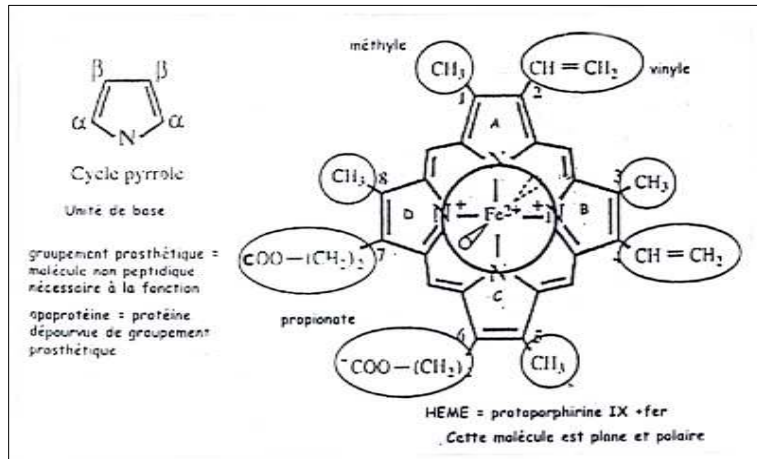


Fig. 03. Structure de l'hème (GENTILINI, 1997).

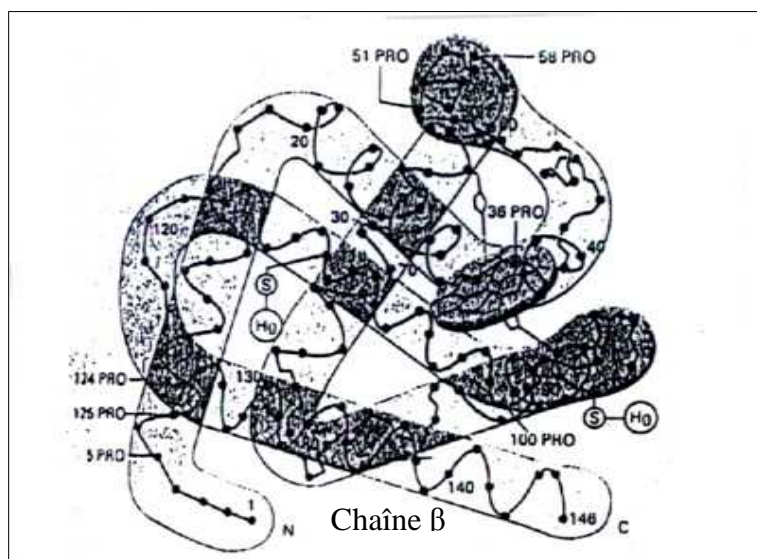


Fig. 4: Structure de sous unité β globine à forte résolution (BERNARD et al, 1976).

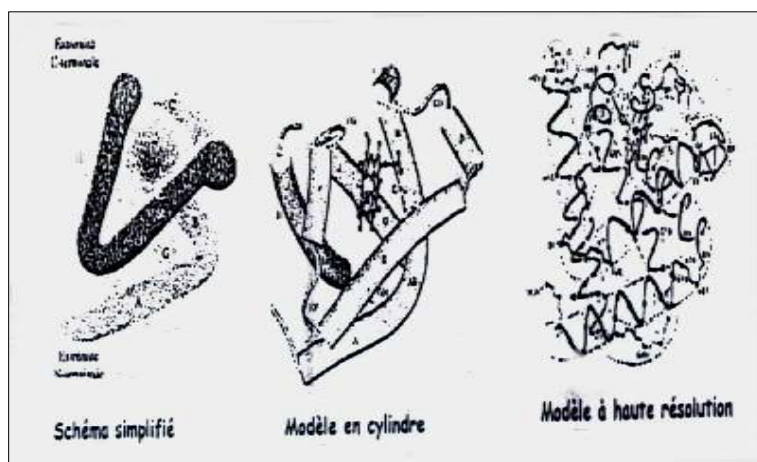


Fig. 5: Evolution de la structure tridimensionnelle de la β globine (BUNN, 1997).

β

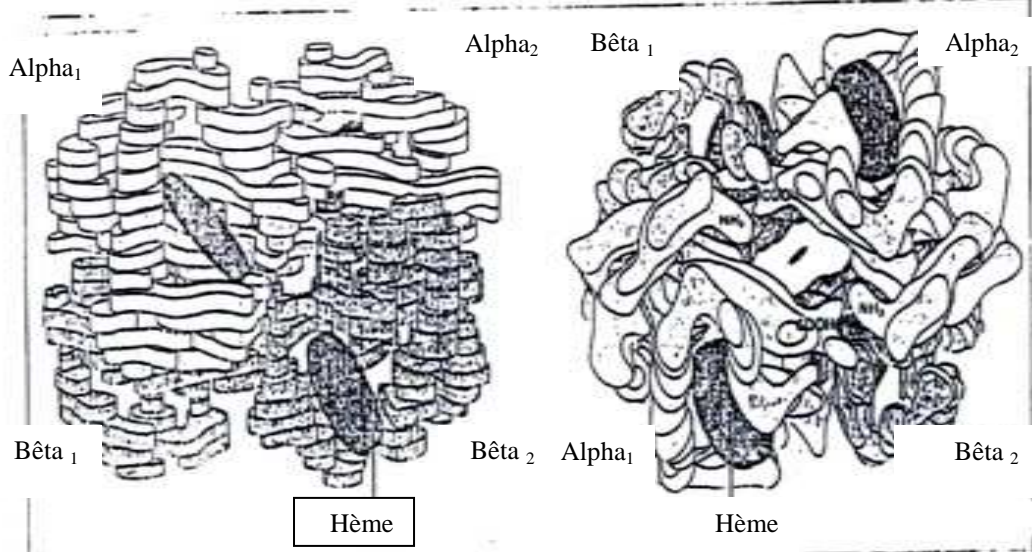


Fig. 6. Structure de l'hémoglobine à faible résolution (PERUTZ, 1984).

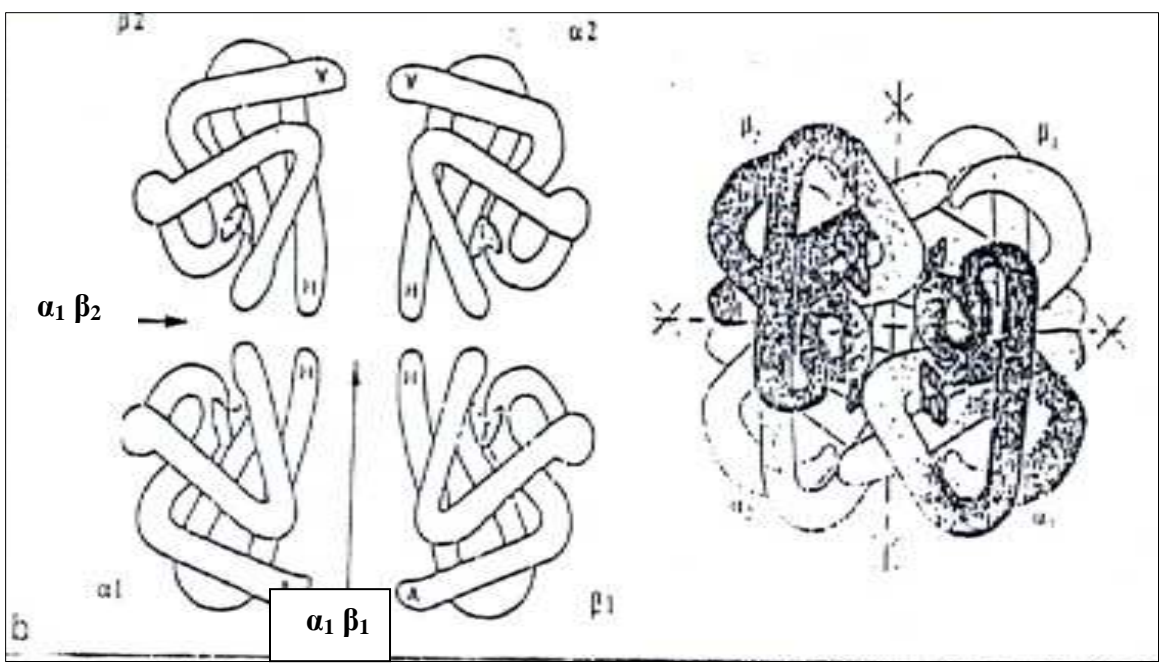


Fig. 7. Structure de l'hémoglobine à forte résolution (JEAN, 1993).

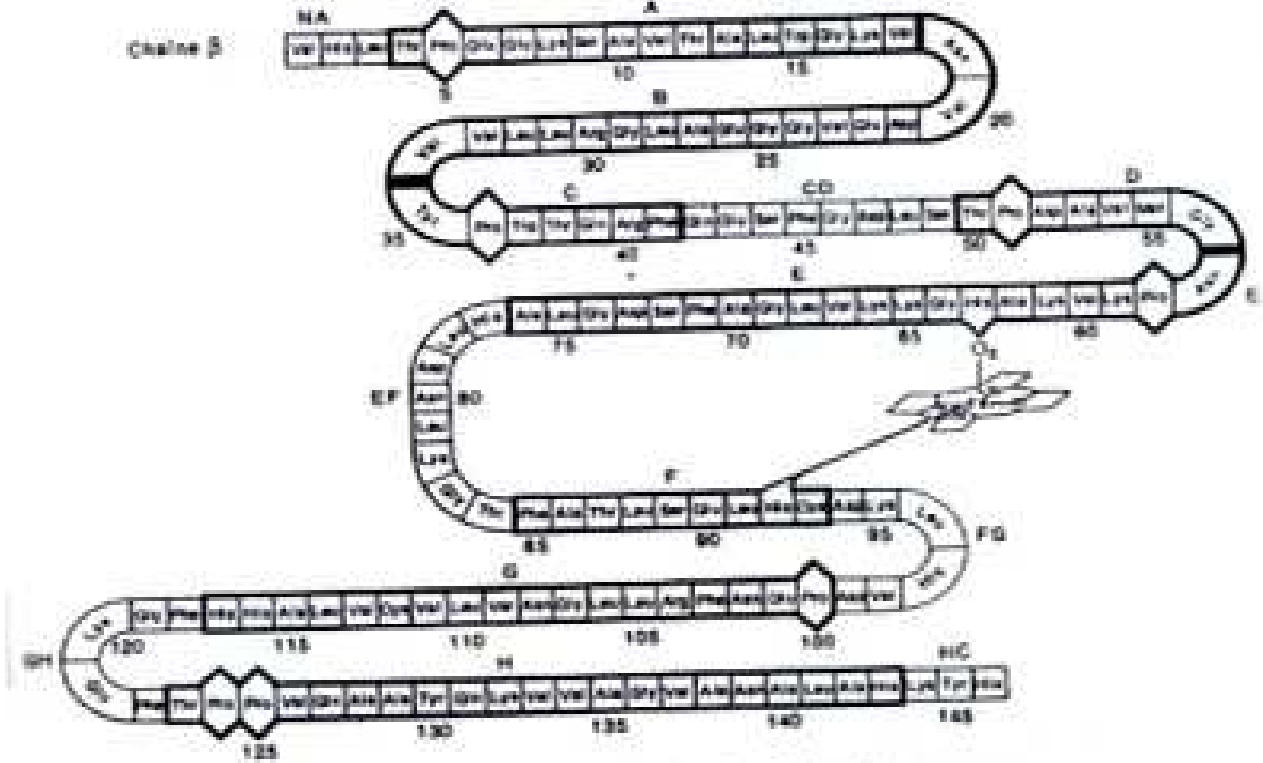


Fig. 8. Structure primaire des chaînes β de globine.
(MULLER, PERRET, 1977)

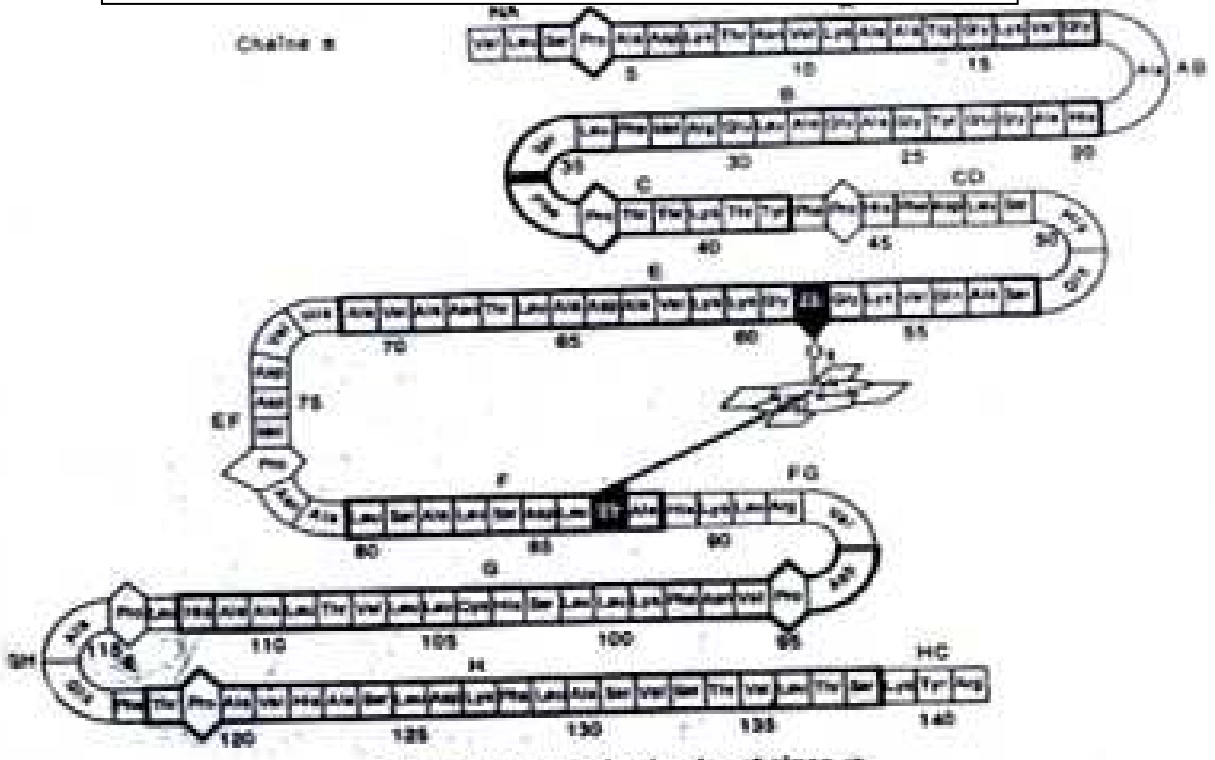


Fig. 9. Structure primaire des chaînes α de globine.
(MULLER, PERRET, 1977)

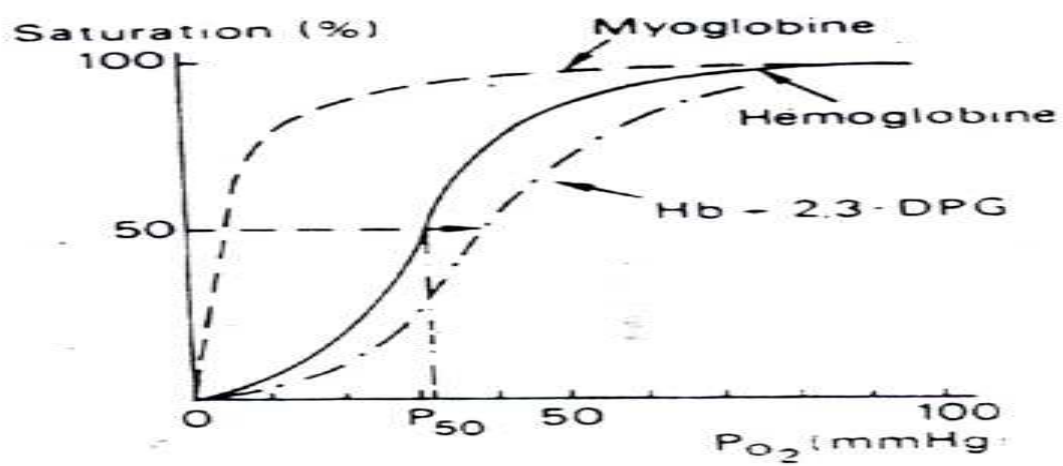


Fig . 10. ____ Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine
 ---- Courbe de dissociation de l'oxymyoglobine
 Le 2,3 - DPG déplace la courbe vers la droite
 (ORSINI, VOVAN, 1982)



Fig . 11. Répartition géographique des thalassémies
(ORSINI, 1982.)

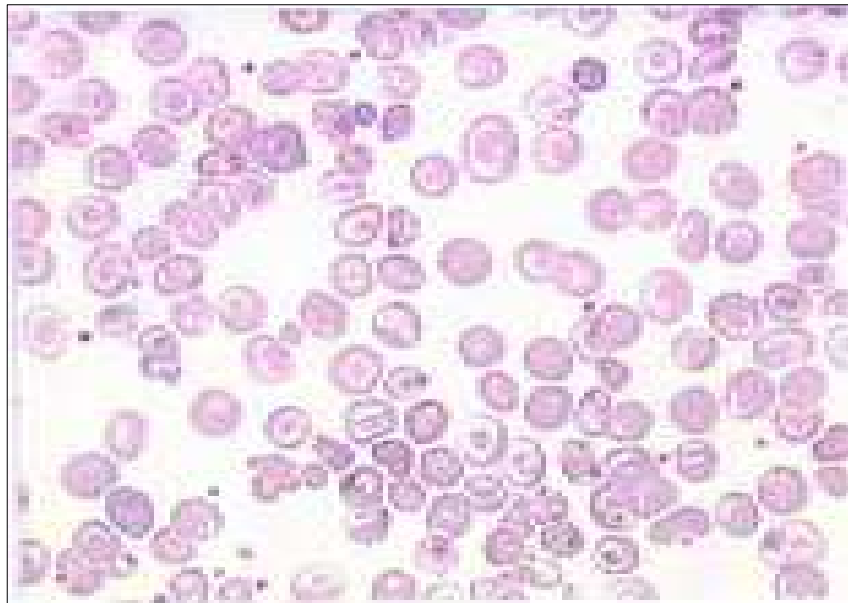


Fig. 12. Bêta thalassémie homozygote ou maladie de Cooley
([http://image.bloodline.net/.](http://image.bloodline.net/))

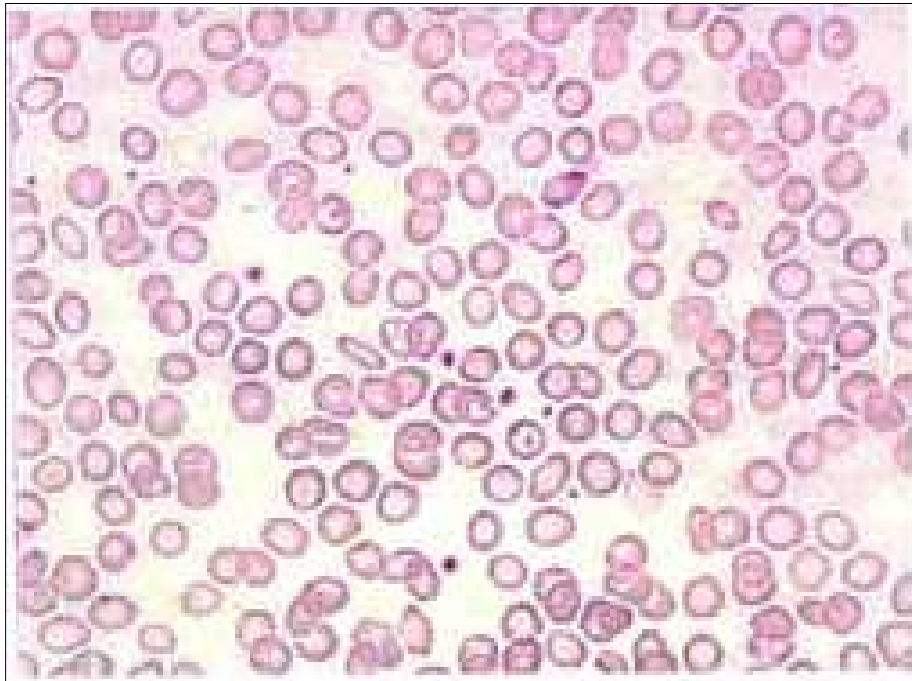


Fig. 13. ALFA thalassémies
(<http://image.bloodline.net/>)

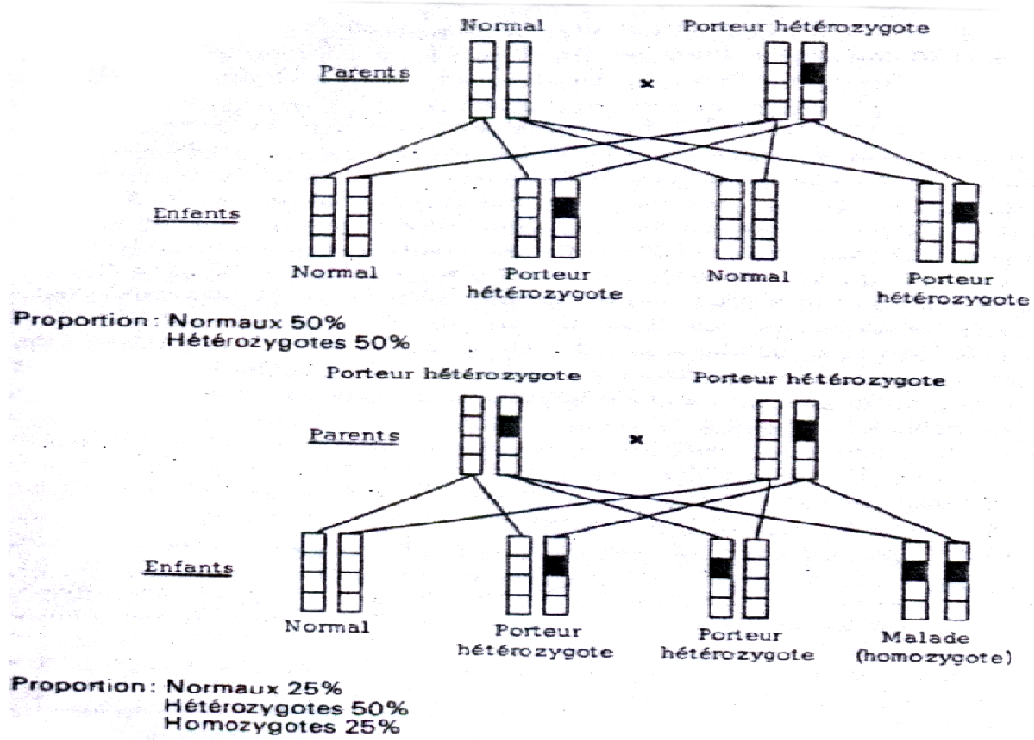


Figure. 14. Mode de transmission de gène récessif autosomique (Pierre E. Ferrier, 1980)

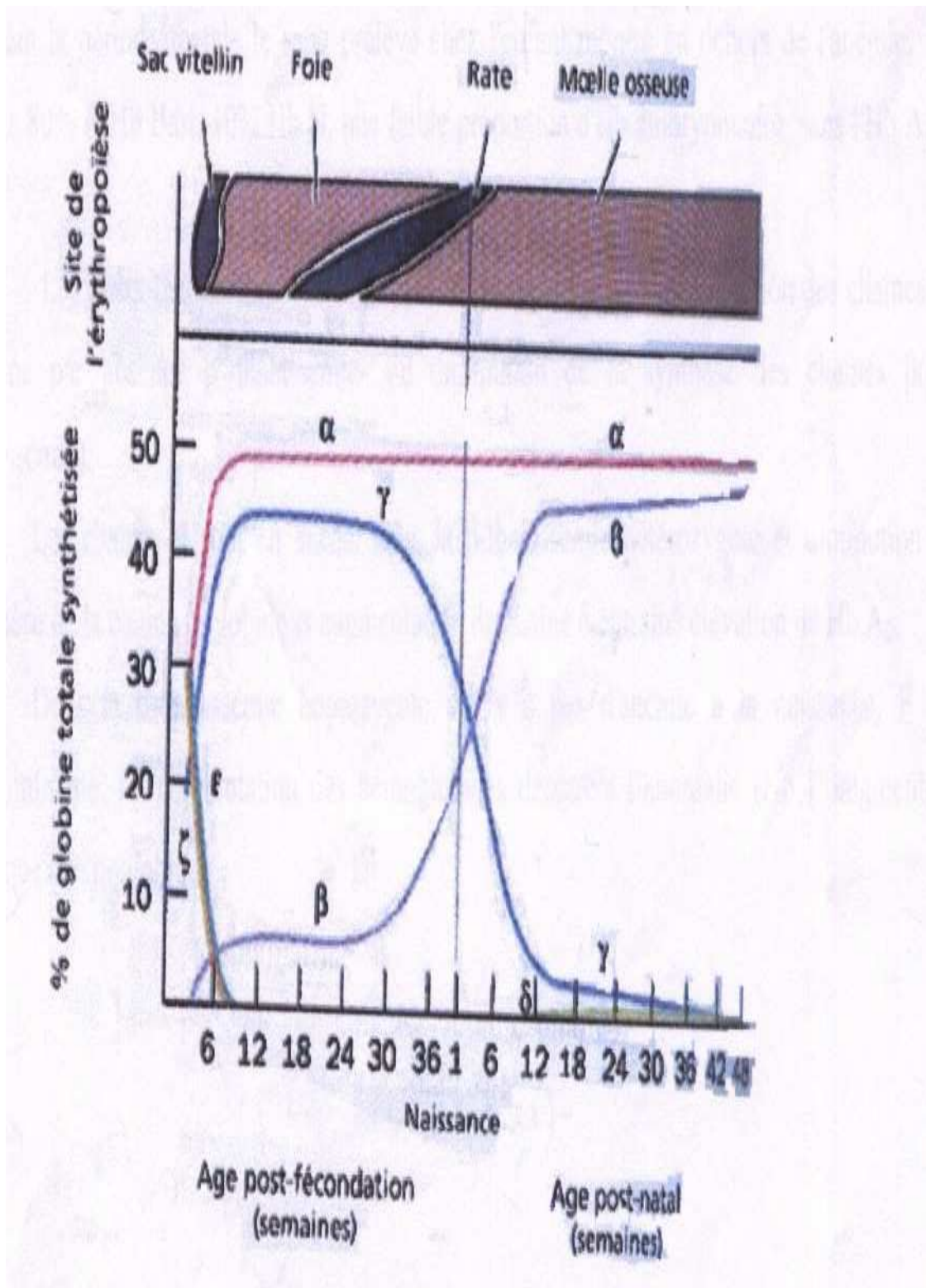


Figure 15 : Synthèse relative de globine
(Grosveld, Dillon N, Higgs D, 1993).

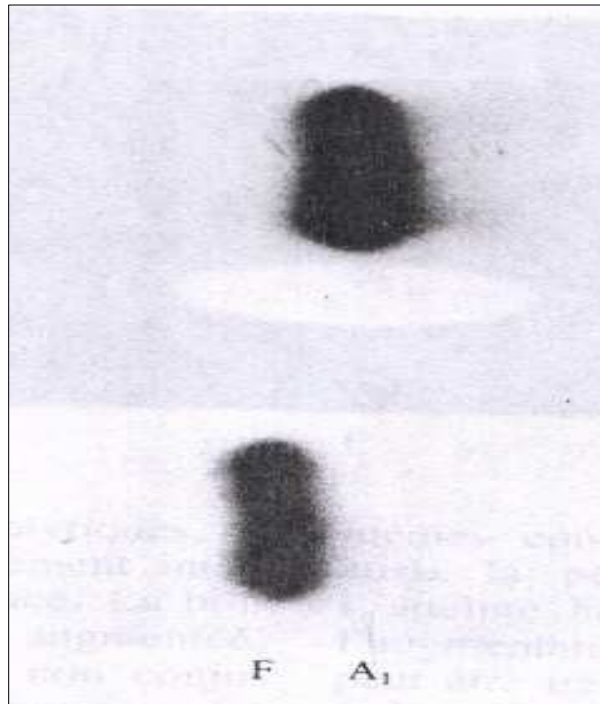


Fig. 16: Electrophorèse de l'hémoglobine sur gélose à pH acide dans une maladie de Cooley. Témoin normal en haut, patient en bas. Présence d'une fraction F nettement en avant de la fraction A₁ (patient transfusé). (ORSINI, 1982).

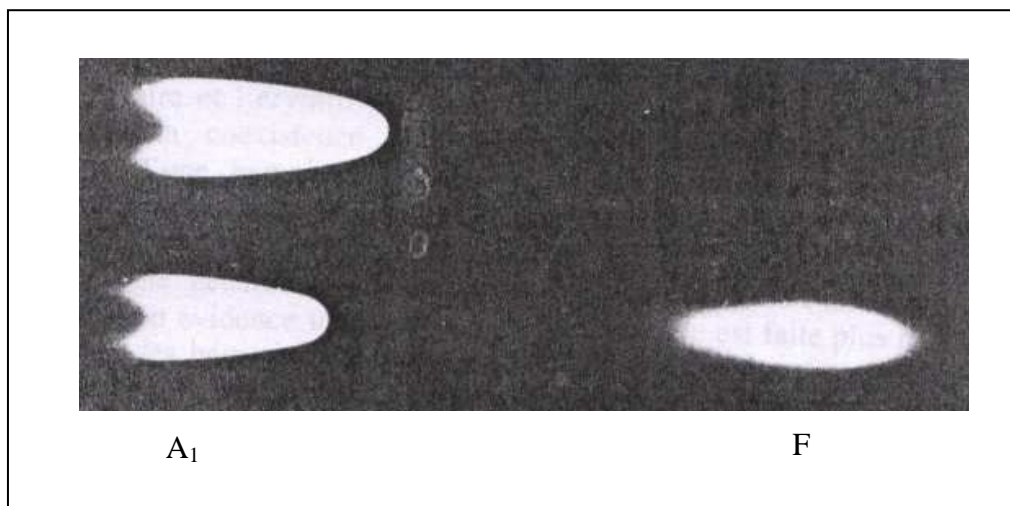


Fig. 17: Electrophorèse de l'hémoglobine sur acétate de cellulose dans une maladie de Cooley. Témoin normal en haut, patient en bas. Présence exclusive de la fraction F légèrement en arrière de la fraction A₁. (ORSINI, 1982).

Fig. 18: Electrophorèse sur acétate de cellulose dans une thalassémie hétérozygote. Témoin normal en haut, patient en bas. Noter l'augmentation de la fraction A_2 nettement visible par comparaison de la densité des taches de fraction A_2 chez le patient et chez le témoin. (ORSINI, 1982).

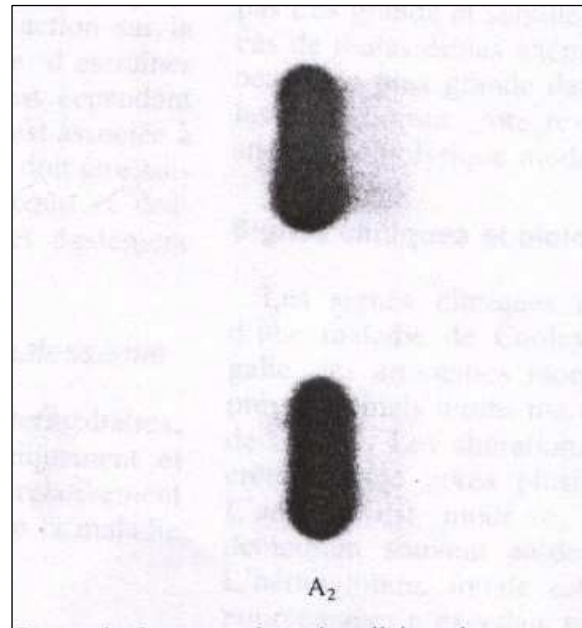
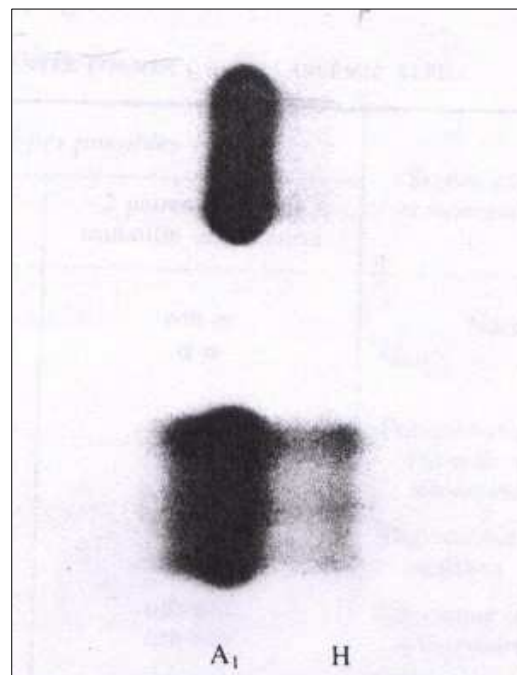


Fig. 19: Electrophorèse sur acétate de cellulose dans une hémoglobinose H. Témoin normal en haut, patient en bas. Noter la fraction H située nettement en avant de la fraction A_1 . (ORSINI, 1982).



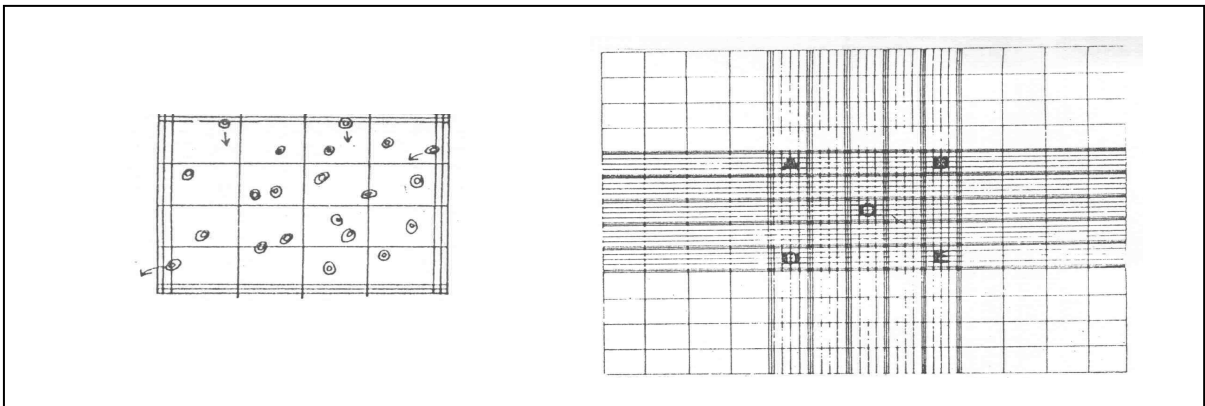


Fig. 21: La numération des hématies
(ANONYME¹, 1982)

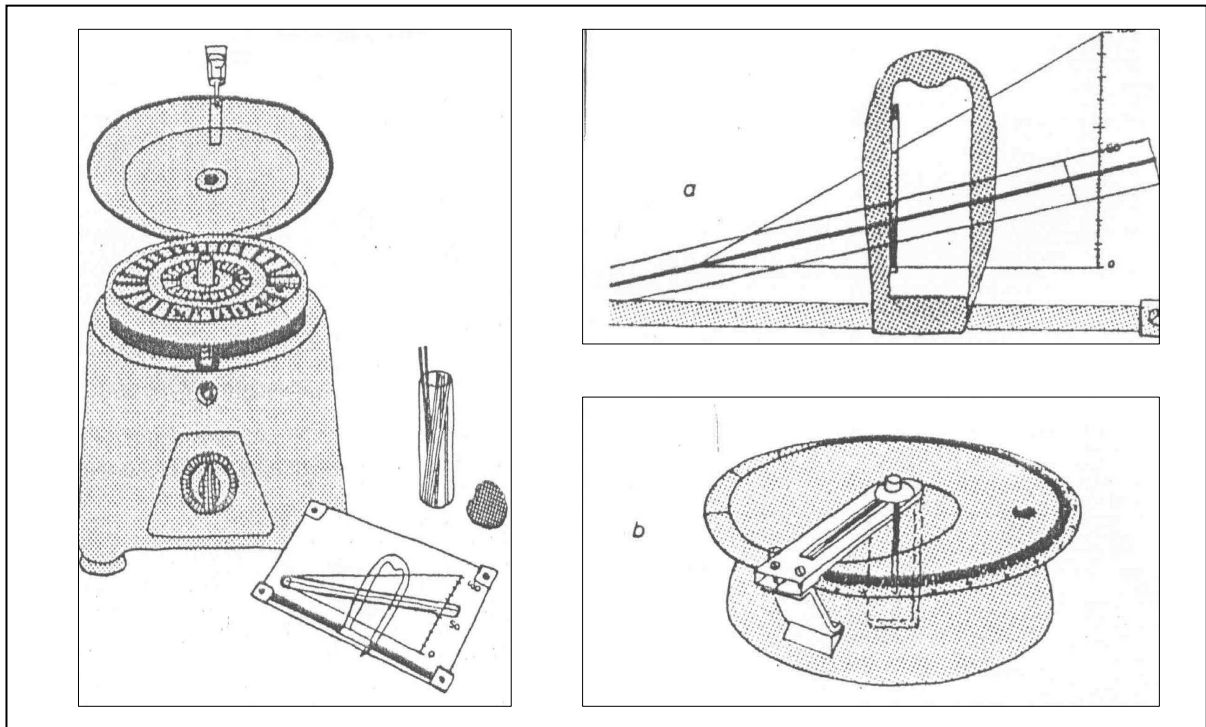


Fig. 22: Les modèles de l'appareil et de la table de lecture.
 (ANONYME¹, 1982)

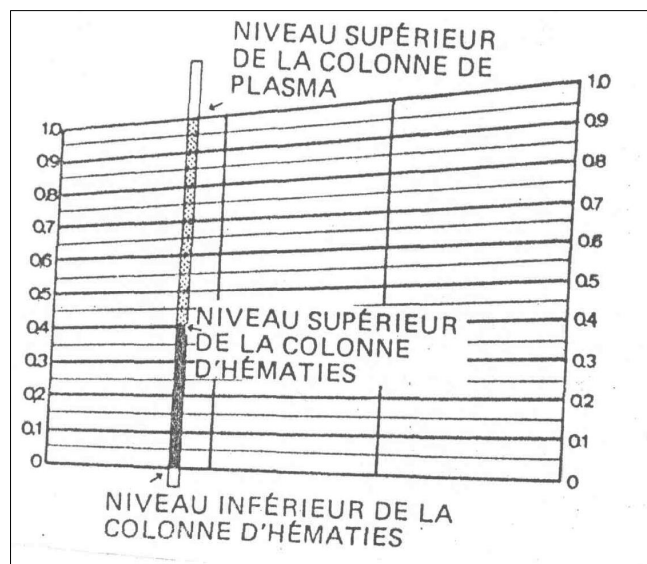


Fig. 23: Méthode d'utilisation la table de lecture
 (ANONYME¹, 1982)

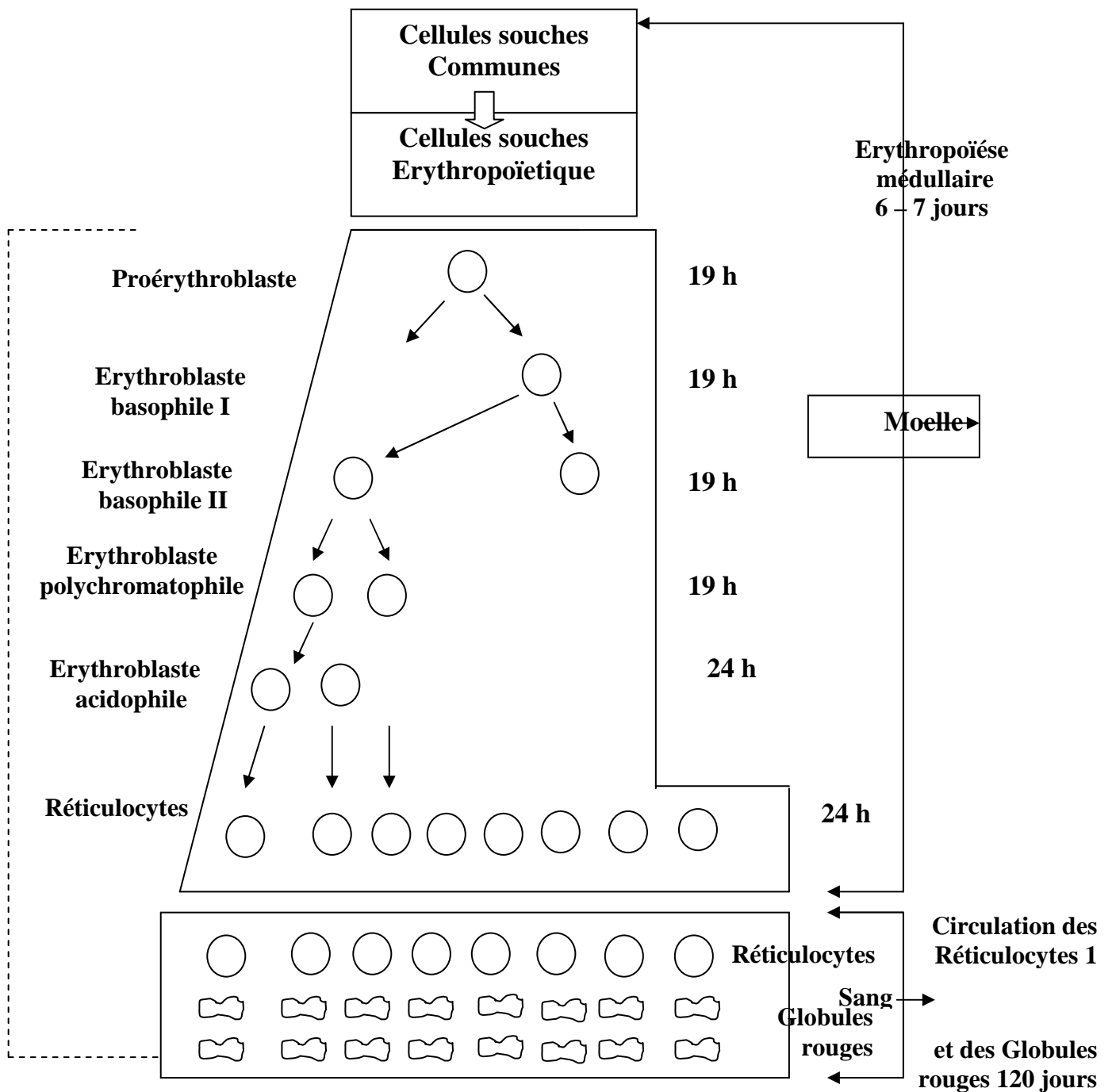


Fig. 2: Schema de l'érythropoïèse (WRIGHT, 1980)