

UNIVERSITE MOHAMMED V - SOUISSI  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2013

THESE N°: 48

## LES HYPER-HÉMOLYSES

THÈSE

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*

**PAR**

**Mlle. Naima WAÂL**

*Née le 21 Mai 1988 à Casablanca*

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**MOTS CLES :** Globules rouges – Hémolyse – Anémies hémolytiques corpusculaires –  
Anémies hémolytiques extra-corpusculaires.

**JURY**

**Mr. A. BELMEKKI**

Professeur d'Hématologie

**PRESIDENT**

**Mme. N. MESSAOUDI**

Professeur Agrégé d'Hématologie Biologique

**RAPPORTEUR**

**Mme. S. TALAL**

Professeur de Biochimie

**JUGES**

**Mr. A. MASRAR**

Professeur d'Hématologie Biologique

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

إِن فَتَحْنَاكَ فَتْحًا مَبِينًا ﴿١﴾ لِيُغْفِرَ لَكَ اللَّهُ مَا تَقَدَّمَ مِنْ ذَنْبِكَ

وَمَا تَأَخَّرَ وَيُنَزِّلَ نَعْمَةً عَلَيْكَ وَيَهْدِيكَ صِرَاطًا مُسْتَقِيمًا ﴿٢﴾

وَيُنصِرَكَ اللَّهُ نَصْرًا غَيْرَ نَصْرٍ

سُورَةُ الْفَتْحِ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

**DOYENS HONORAIRES :**

- 1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ**  
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK  
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI  
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI  
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



**ADMINISTRATION :**

- Doyen par intérim : Professeur Ali BENOMAR  
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines  
Professeur Mohammed JIDDANE  
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération  
Professeur Ali BENOMAR  
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie  
Professeur Yahia CHERRAH  
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

***PROFESSEURS :***

**Mars, Avril et Septembre 1980**

1.

**Mai et Octobre 1981**

- |    |                          |                             |
|----|--------------------------|-----------------------------|
| 2. | Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih | Chirurgie Cardio-Vasculaire |
| 3. | Pr. TAOBANE Hamid*       | Chirurgie Thoracique        |

**Mai et Novembre 1982**

- |    |                              |                        |
|----|------------------------------|------------------------|
| 4. | Pr. ABROUQ Ali*              | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 5. | Pr. BENSOUHA Mohamed         | Anatomie               |
| 6. | Pr. BENOSMAN Abdellatif      | Chirurgie Thoracique   |
| 7. | Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI | Physiologie            |

**Novembre 1983**

- |    |                               |                |
|----|-------------------------------|----------------|
| 8. | Pr. BELLAKHDAR Fouad          | Neurochirurgie |
| 9. | Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI | Rhumatologie   |

**Décembre 1984**

- |     |                                  |                  |
|-----|----------------------------------|------------------|
| 10. | Pr. BOUCETTA Mohamed*            | Neurochirurgie   |
| 11. | Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie    |
| 12. | Pr. MAAOUNI Abdelaziz            | Médecine Interne |

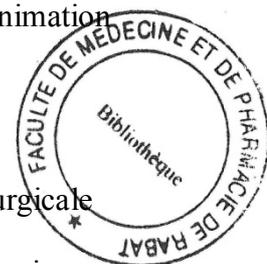
13. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi  
14. Pr. SETTAF Abdellatif

Anesthésie -Réanimation  
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

15. Pr. BENJELLOUN Halima  
16. Pr. BENSALID Younes  
17. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa  
18. Pr. IRAQI Ghali  
19.

Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie  
Pneumo-ptisiologie



Janvier, Février et Décembre 1987

20. Pr. AJANA Ali  
21. Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE  
22. Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq  
23. Pr. EL HAITEM Naïma  
24. Pr. EL YAACOUBI Moradh  
25. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah  
26. Pr. LACHKAR Hassan  
27. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Pneumo-ptisiologie  
Cardiologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

Décembre 1988

28. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib  
29. Pr. DAFIRI Rachida  
30. Pr. HERMAS Mohamed  
31. Pr. TOLOUNE Farida\*

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie  
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

32. Pr. ADNAOUI Mohamed  
33. Pr. AOUNI Mohamed  
34. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali  
35. Pr. CHAD Bouziane  
36. Pr. CHKOFF Rachid  
37. Pr. HACHIM Mohammed\*  
38. Pr. KHARBACH Aïcha  
39. Pr. MANSOURI Fatima  
40. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda  
41. Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne  
Médecine Interne  
Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Neurologie  
Anesthésie Réanimation

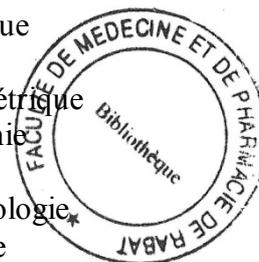
Février Avril Juillet et Décembre 1991

42. Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
43. Pr. AZZOUZI Abderrahim  
44. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM  
45. Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
46. Pr. BENABDELLAH Chahrazad  
47. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Hématologie  
Chirurgie Générale

48. Pr. BENSOUDA Yahia
49. Pr. BERRAHO Amina
50. Pr. BEZZAD Rachid
51. Pr. CHABRAOUI Layachi
52. Pr. CHERRAH Yahia
53. Pr. CHOKAIRI Omar
54. Pr. JANATI Idrissi Mohamed\*
55. Pr. KHATTAB Mohamed
56. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
57. Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie\*  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Pharmacologie  
Chimie thérapeutique



#### Décembre 1992

58. Pr. AHALLAT Mohamed
59. Pr. BENSOUDA Adil
60. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
61. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
62. Pr. CHRAIBI Chafiq
63. Pr. DAOUDI Rajae
64. Pr. DEHAYNI Mohamed\*
65. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
66. Pr. FELLAT Rokaya
67. Pr. GHAFIR Driss\*
68. Pr. JIDDANE Mohamed
69. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
70. Pr. TAGHY Ahmed
71. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Gynécologie Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

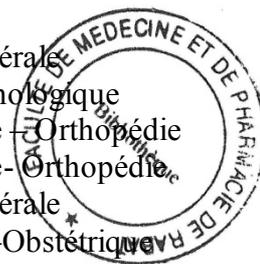
#### Mars 1994

72. Pr. AGNAOU Lahcen
73. Pr. BENCHERIFA Fatiha
74. Pr. BENJAAFAR Nouredine
75. Pr. BENJELLOUN Samir
76. Pr. BEN RAIS Nozha
77. Pr. CAOUI Malika
78. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
79. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
80. Pr. EL AOUAD Rajae
81. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
82. Pr. EL HASSANI My Rachid
83. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
84. Pr. ERROUGANI Abdelkader
85. Pr. ESSAKALI Malika
86. Pr. ETTAYEBI Fouad
87. Pr. HADRI Larbi\*

Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Radiothérapie  
Chirurgie Générale  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne

88. Pr. HASSAM Badredine
89. Pr. IFRINE Lahssan
90. Pr. JELTHI Ahmed
91. Pr. MAHFOUD Mustapha
92. Pr. MOUDENE Ahmed\*
93. Pr. OULBACHA Said
94. Pr. RHRAB Brahim
95. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
- 96.

Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Anatomie Pathologique  
 Traumatologie – Orthopédie  
 Traumatologie-Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie – Obstétrique  
 Dermatologie



#### Mars 1994

97. Pr. ABBAR Mohamed\*
98. Pr. ABDELHAK M'barek
99. Pr. BELAIDI Halima
100. Pr. BRAHMI Rida Slimane
101. Pr. BENTAHILA Abdelali
102. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
103. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
104. Pr. CHAMI Ilham
105. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
106. Pr. EL ABBADI Najia
107. Pr. HANINE Ahmed\*
108. Pr. JALIL Abdelouahed
109. Pr. LAKHDAR Amina
110. Pr. MOUANE Nezha

Urologie  
 Chirurgie – Pédiatrique  
 Neurologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie  
 Gynécologie – Obstétrique  
 Traumatologie – Orthopédie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Neurochirurgie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie

#### Mars 1995

111. Pr. ABOUQUAL Redouane
112. Pr. AMRAOUI Mohamed
113. Pr. BAIDADA Abdelaziz
114. Pr. BARGACH Samir
115. Pr. BEDDOUCHE Amokrane\*
116. Pr. CHAARI Jilali\*
117. Pr. DIMOU M'barek\*
118. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine\*
119. Pr. EL MESNAOUI Abbes
120. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
121. Pr. FERHATI Driss
122. Pr. HASSOUNI Fadil
123. Pr. HDA Abdelhamid\*
124. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
125. Pr. IBRAHIMY Wafaa
126. Pr. MANSOURI Aziz
127. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

Réanimation Médicale  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Gynécologie Obstétrique  
 Urologie  
 Médecine Interne  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie Générale  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène  
 Cardiologie  
 Urologie  
 Ophtalmologie  
 Radiothérapie  
 Ophtalmologie

128. Pr. SEFIANI Abdelaziz  
129. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

130. Pr. AMIL Touriya\*  
131. Pr. BELKACEM Rachid  
132. Pr. BOULANOVAR Abdelkrim  
133. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
134. Pr. GAOUZI Ahmed  
135. Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
136. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid  
137. Pr. MOHAMMADI Mohamed  
138. Pr. MOULINE Soumaya  
139. Pr. OUADGHIRI Mohamed  
140. Pr. OUZEDDOUN Naima  
141. Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Novembre 1997

142. Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
143. Pr. BEN AMAR Abdesselem  
144. Pr. BEN SLIMANE Lounis  
145. Pr. BIROUK Nazha  
146. Pr. CHAOUIR Souad\*  
147. Pr. DERRAZ Said  
148. Pr. ERREIMI Naima  
149. Pr. FELLAT Nadia  
150. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra  
151. Pr. HAIMEUR Charki\*  
152. Pr. KADDOURI Nouredine  
153. Pr. KOUTANI Abdellatif  
154. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
155. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
156. Pr. NAZI M'barek\*  
157. Pr. OUAHABI Hamid\*  
158. Pr. TAOUFIQ Jallal  
159. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

160. Pr. AFIFI RAJAA  
161. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali\*  
162. Pr. ALOUANE Mohammed\*  
163. Pr. BENOMAR ALI  
164. Pr. BOUGTAB Abdesslam  
165. Pr. ER RIHANI Hassan  
166. Pr. EZZAITOUNI Fatima

Génétique  
Réanimation Médicale



Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumo-phtisiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Neurologie  
Radiologie  
Neurochirurgie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Radiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Neurologie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie  
Pneumo-phtisiologie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Neurologie  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie

167. Pr. LAZRAK Khalid \*

Novembre 1998

168. Pr. BENKIRANE Majid\*

169. Pr. KHATOURI ALI\*

170. Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Janvier 2000

171. Pr. ABID Ahmed\*

172. Pr. AIT OUMAR Hassan

173. Pr. BENCHERIF My Zahid

174. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd

175. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine

176. Pr. CHAOUI Zineb

177. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer

178. Pr. ECHARRAB El Mahjoub

179. Pr. EL FTOUH Mustapha

180. Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*

181. Pr. EL OTMANY Azzedine

182. Pr. HAMMANI Lahcen

183. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim

184. Pr. ISMAILI Hassane\*

185. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss

186. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*

187. Pr. TACHINANTE Rajae

188. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

189. Pr. AIDI Saadia

190. Pr. AIT OURHROUI Mohamed

191. Pr. AJANA Fatima Zohra

192. Pr. BENAMR Said

193. Pr. BENCHEKROUN Nabiha

194. Pr. CHERTI Mohammed

195. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma

196. Pr. EL HASSANI Amine

197. Pr. EL IDGHIRI Hassan

198. Pr. EL KHADER Khalid

199. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*

200. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan

201. Pr. HSSAIDA Rachid\*

202. Pr. LAHLOU Abdou

203. Pr. MAFTAH Mohamed\*

204. Pr. MAHASSINI Najat

Traumatologie Orthopédie

Hématologie

Cardiologie

Anatomie Pathologique



Pneumophtisiologie

Pédiatrie

Ophtalmologie

Pédiatrie

Pneumo-phtisiologie

Ophtalmologie

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Pneumo-phtisiologie

Neurochirurgie

Chirurgie Générale

Radiologie

Anesthésie-Réanimation

Traumatologie Orthopédie

Gastro-Entérologie

Anesthésie-Réanimation

Anesthésie-Réanimation

Médecine Interne

Neurologie

Dermatologie

Gastro-Entérologie

Chirurgie Générale

Ophtalmologie

Cardiologie

Anesthésie-Réanimation

Pédiatrie

Oto-Rhino-Laryngologie

Urologie

Rhumatologie

Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Anesthésie-Réanimation

Traumatologie Orthopédie

Neurochirurgie

Anatomie Pathologique

205. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
 206. Pr. NASSIH Mohamed\*  
 207. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Décembre 2001

208. Pr. ABABOU Adil  
 209. Pr. BALKHI Hicham\*  
 210. Pr. BELMEKKI Mohammed  
 211. Pr. BENABDELJLIL Maria  
 212. Pr. BENAMAR Loubna  
 213. Pr. BENAMOR Jouda  
 214. Pr. BENELBARHDADI Imane  
 215. Pr. BENNANI Rajae  
 216. Pr. BENOUACHANE Thami  
 217. Pr. BENYOUSSEF Khalil  
 218. Pr. BERRADA Rachid  
 219. Pr. BEZZA Ahmed\*  
 220. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
 221. Pr. BOUHOUCHE Rachida  
 222. Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
 223. Pr. CHAT Latifa  
 224. Pr. CHELLAOUI Mounia  
 225. Pr. DAALI Mustapha\*  
 226. Pr. DRISSE Sidi Mourad\*  
 227. Pr. EL HAJOUJI Ghziel Samira  
 228. Pr. EL HIJRI Ahmed  
 229. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
 230. Pr. EL MADHI Tarik  
 231. Pr. EL MOUSSAIF Hamid  
 232. Pr. EL OUNANI Mohamed  
 233. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil  
 234. Pr. ETTAIR Said  
 235. Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
 236. Pr. GOURINDA Hassan  
 237. Pr. HRORA Abdelmalek  
 238. Pr. KABBAJ Saad  
 239. Pr. KABIRI El Hassane\*  
 240. Pr. LAMRANI Moulay Omar  
 241. Pr. LEKEHAL Brahim  
 242. Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
 243. Pr. MEDARHRI Jalil  
 244. Pr. MIKDAME Mohammed\*  
 245. Pr. MOHSINE Raouf  
 246. Pr. NOUINI Yassine

Pédiatrie  
 Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
 Neurologie



Anesthésie-Réanimation  
 Anesthésie-Réanimation  
 Ophtalmologie  
 Neurologie  
 Néphrologie  
 Pneumo-phtisiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Dermatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Rhumatologie  
 Anatomie  
 Cardiologie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Anesthésie-Réanimation  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie-Pédiatrique  
 Ophtalmologie  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Pédiatrie  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie-Pédiatrique  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie-Réanimation  
 Chirurgie Thoracique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Médecine Interne  
 Chirurgie Générale  
 Hématologie Clinique  
 Chirurgie Générale  
 Urologie

247. Pr. SABBAH Farid  
 248. Pr. SEFIANI Yasser  
 249. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

250. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
 251. Pr. AMEUR Ahmed \*  
 252. Pr. AMRI Rachida  
 253. Pr. AOURARH Aziz\*  
 254. Pr. BAMOU Youssef \*  
 255. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
 256. Pr. BENBOUAZZA Karima  
 257. Pr. BENZEKRI Laila  
 258. Pr. BENZZOUBEIR Nadia\*  
 259. Pr. BERNOUSSI Zakiya  
 260. Pr. BICHA Mohamed Zakariya  
 261. Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
 262. Pr. CHKIRATE Bouchra  
 263. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
 264. Pr. EL ALJ Haj Ahmed  
 265. Pr. EL BARNOUSSI Leila  
 266. Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
 267. Pr. EL MANSARI Omar\*  
 268. Pr. ES-SADEL Abdelhamid  
 269. Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
 270. Pr. HADDOUR Leila  
 271. Pr. HAJJI Zakia  
 272. Pr. IKEN Ali  
 273. Pr. ISMAEL Farid  
 274. Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
 275. Pr. KRIOUILE Yamina  
 276. Pr. LAGHMARI Mina  
 277. Pr. MABROUK Hfid\*  
 278. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
 279. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*  
 280. Pr. MOUSTAINE My Rachid  
 281. Pr. NAITLHO Abdelhamid\*  
 282. Pr. OUJILAL Abdelilah  
 283. Pr. RACHID Khalid \*  
 284. Pr. RAISS Mohamed  
 285. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
 286. Pr. RHOU Hakima  
 287. Pr. SIAH Samir \*  
 288. Pr. THIMOU Amal

Chirurgie Générale  
 Chirurgie Vasculaire  
 Pédiatrie



Anatomie Pathologique  
 Urologie  
 Cardiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Biochimie-Chimie  
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
 Rhumatologie  
 Dermatologie  
 Gastro-Entérologie  
 Anatomie Pathologique  
 Psychiatrie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Urologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Ophtalmologie  
 Urologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Pédiatrie  
 Ophtalmologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Médecine Interne  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Pneumophtisiologie  
 Néphrologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Pédiatrie

289. Pr. ZENTAR Aziz\*

Chirurgie Générale

**PROFESSEURS AGREGES :**

**Janvier 2004**

290. Pr. ABDELLAH El Hassan
291. Pr. AMRANI Mariam
292. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
293. Pr. BENKIRANE Ahmed\*
294. Pr. BOUGHALEM Mohamed\*
295. Pr. BOULAADAS Malik
296. Pr. BOURAZZA Ahmed\*
297. Pr. CHAGAR Belkacem\*
298. Pr. CHERRADI Nadia
299. Pr. EL FENNI Jamal\*
300. Pr. EL HANCI ZAKI
301. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
302. Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*
303. Pr. HACHI Hafid
304. Pr. JABOUIRIK Fatima
305. Pr. KARMANE Abdelouahed
306. Pr. KHABOUZE Samira
307. Pr. KHARMAZ Mohamed
308. Pr. LEZREK Mohammed\*
309. Pr. MOUGHIL Said
310. Pr. SASSENOU ISMAIL\*
311. Pr. TARIB Abdelilah\*
312. Pr. TIJAMI Fouad
313. Pr. ZARZUR Jamila

**Janvier 2005**

314. Pr. ABBASSI Abdellah
315. Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*
316. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
317. Pr. ALLALI Fadoua
318. Pr. AMAZOUZI Abdellah
319. Pr. AZIZ Noureddine\*
320. Pr. BAHIRI Rachid
321. Pr. BARKAT Amina
322. Pr. BENHALIMA Hanane
323. Pr. BENHARBIT Mohamed
324. Pr. BENYASS Aatif
325. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
326. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed

Ophtalmologie  
Anatomie Pathologique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Neurologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie Pathologique  
Radiologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Traumatologie Orthopédie  
Urologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Gastro-Entérologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale  
Ophtalmologie  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie



327. Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
 328. Pr. EL HAMZAOUI Sakina  
 329. Pr. HAJJI Leila  
 330. Pr. HESSISSEN Leila  
 331. Pr. JIDAL Mohamed\*  
 332. Pr. KARIM Abdelouahed  
 333. Pr. KENDOOUSSI Mohamed\*  
 334. Pr. LAAROUISSI Mohamed  
 335. Pr. LYAGOUBI Mohammed  
 336. Pr. NIAMANE Radouane\*  
 337. Pr. RAGALA Abdelhak  
 338. Pr. SBIHI Souad  
 339. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam  
 340. Pr. ZERAIDI Najia

#### **AVRIL 2006**

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
 425. Pr. AKJOUJ Said\*  
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
 428. Pr. BENCHEIKH Razika  
 429. Pr. BIYI Abdelhamid\*  
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes  
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
 434. Pr. DOGHMI Nawal  
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa  
 436. Pr. FELLAT Ibtissam  
 437. Pr. FAROUDY Mamoun  
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham  
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine  
 442. Pr. JROUNDI Laila  
 443. Pr. KARMOUNI Tariq  
 444. Pr. KILI Amina  
 445. Pr. KISRA Hassan  
 446. Pr. KISRA Mounir  
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz\*  
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
 450. Pr. MANSOURI Hamid\*  
 451. Pr. NAZIH Naoual  
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak

Biophysique  
 Microbiologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Cardiologie  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Parasitologie  
 Rhumatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Histo-Embryologie Cytogénétique  
 Ophtalmologie  
 Gynécologie Obstétrique



Rhumatologie  
 Radiologie  
 Hématologie  
 O.R.L  
 Biophysique  
 Chirurgie - Pédiatrique  
 Chirurgie Cardio - Vasculaire  
 Chirurgie Cardio - Vasculaire  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Gastro-entérologie  
 Cardiologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Urologie  
 Médecine Interne  
 Anesthésie Réanimation  
 Microbiologie  
 Radiologie  
 Urologie  
 Pédiatrie  
 Psychiatrie  
 Chirurgie - Pédiatrique  
 Médecine Interne  
 Pharmacie Galénique  
 Parasitologie  
 Radiothérapie  
 O.R.L  
 Psychiatrie

453. Pr. SAFI Soumaya\*  
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
 455. Pr. SEFIANI Sana  
 456. Pr. SOUALHI Mouna  
 457. Pr. TELLAL Saida\*  
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Endocrinologie  
 Psychiatrie  
 Anatomie Pathologique  
 Pneumo – Phtisiologie  
 Biochimie  
 Pneumo – Phtisiologie



**Octobre 2007**

458.  
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid  
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar \*  
 462. Pr. BAITE Abdelouahed \*  
 463. Pr. TOUATI Zakia  
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra \*  
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine \*  
 466. Pr. SELKANE Chakir \*  
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef \*  
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi \*  
 469. Pr. EL ABSI Mohamed  
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader \*  
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad \*  
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq \*  
 473. Pr. GHARIB Nouredine  
 474. Pr. TABERKANET Mustafa \*  
 475. Pr. ISMAILI Nadia  
 476. Pr. MASRAR Azlarab  
 477. Pr. RABHI Monsef \*  
 478. Pr. MRABET Mustapha \*  
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine \*  
 480. Pr. SEFFAR Myriame  
 481. Pr. LOUZI Lhousain \*  
 482. Pr. MRANI Saad \*  
 483. Pr. GANA Rachid  
 484. Pr. ICHOU Mohamed \*  
 485. Pr. TACHFOUTI Samira  
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
 487. Pr. MELLAL Zakaria  
 488. Pr. AMMAR Haddou \*  
 489. Pr. AOUI Sarra  
 490. Pr. TLIGUI Houssain  
 491. Pr. MOUTAJ Redouane \*  
 492. Pr. ACHACHI Leila  
 493. Pr. MARC Karima

Anesthésie réanimation  
 Anesthésier réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Cardiologie  
 Biochimie  
 Biochimie  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie plastique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Dermatologie  
 Hématologie biologique  
 Médecine interne  
 Médecine préventive santé publique et hygiène  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Virologie  
 Neuro chirurgie  
 Oncologie médicale  
 Ophtalmologie  
 Ophtalmologie  
 Ophtalmologie  
 ORL  
 Parasitologie  
 Parasitologie  
 Parasitologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Pneumo phtisiologie

494. Pr. BENZIANE Hamid \*  
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual \*  
 496. Pr. EL OMARI Fatima  
 497. Pr. MAHI Mohamed \*  
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib \*  
 499. Pr. KEBDANI Tayeb  
 500. Pr. SIFAT Hassan \*  
 501. Pr. HADADI Khalid \*  
 502. Pr. ABIDI Khalid  
 503. Pr. MADANI Naoufel  
 504. Pr. TANANE Mansour \*  
 505. Pr. AMHAJJI Larbi \*

### **Décembre 2008**

Pr TAHIRI My El Hassan\*  
 Pr ZOUBIR Mohamed\*

### **Mars 2009**

Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. AZENDOUR Hicham \*  
 Pr. BELYAMANI Lahcen \*  
 Pr. BOUHSAIN Sanae \*  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. LAMSAOURI Jamal \*  
 Pr. MARMADE Lahcen  
 Pr. AMAHZOUNE Brahim \*  
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim \*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed \*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik \*  
 Pr. BOUI Mohammed \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
 Pr. DOGHMI Kamal \*  
 Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
 Pr. ENNIBI Khalid \*  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha  
 Pr. ZOUHAIR Said\*  
 Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
 Pr. AKHADDAR Ali \*  
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia

Pharmacie clinique  
 Pharmacie galénique  
 Psychiatrie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Radiothérapie  
 Radiothérapie  
 Radiothérapie  
 Réanimation médicale  
 Réanimation médicale  
 Traumatologie orthopédie  
 Traumatologie orthopédie



Chirurgie Générale  
 Anesthésie Réanimation

Anatomie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Biochimie  
 Cardiologie  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Dermatologie  
 Gastro-entérologie  
 Gynécologie obstétrique  
 Hématologie biologique  
 Hématologie biologique  
 Hématologie clinique  
 Médecine interne  
 Médecine interne  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Neuro-chirurgie  
 Neurologie

Pr. AGADR Aomar \*  
 Pr. KARBOUBI Lamya  
 Pr. MESKINI Toufik  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
 Pr. BASSOU Driss \*  
 Pr. ALLALI Nazik  
 Pr. NASSAR Ittimade  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. AMINE Bouchra  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha \*  
 Pr. KADI Said \*

### **Octobre 2010**

Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
 Pr. ERRABIH Ikram  
 Pr. CHERRADI Ghizlan  
 Pr. MOSADIK Ahlam  
 Pr. ALILOU Mustapha  
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
 Pr. DARBI Abdellatif\*  
 Pr. EL HAFIDI Naima  
 Pr. MALIH Mohamed\*  
 Pr. BOUSSIF Mohamed\*  
 Pr. EL MAZOUZ Samir  
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
 Pr. EL SAYEGH Hachem  
 Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
 Pr. RAISSOUNI Zakaria\*  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. LEZREK Mounir  
 Pr. NAZIH Mouna\*  
 Pr. LAMALMI Najat  
 Pr. ZOUAIDIA Fouad  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*

### **Mai 2012**

Pr. Abdelouahed AMRANI  
 Pr. Mounir ER-RAJI  
 Pr. Mouna EL ALAOUI MHAMDI  
 Pr. Ahmed JAHID  
 Pr. ABOUELALAA Khalil\*

Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Pneumo-phtisiologie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Rhumatologie  
 Rhumatologie  
 Traumatologie orthopédique  
 Traumatologie orthopédique



Médecine interne  
 Gastro entérologie  
 Cardiologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Médecine aérologique  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Chirurgie pédiatrique  
 Urologie  
 Chirurgie générale  
 Traumatologie Orthopédie  
 ORL  
 Ophtalmologie  
 Hématologie  
 Anatomie pathologique  
 Anatomie pathologique  
 Physiologie  
 Biochimie chimie  
 Microbiologie

Chirurgie Pédiatrique  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Chirurgie Générale  
 Anatomie Pathologique  
 Anesthésie Réanimation

Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. BENCHEBBA Drissi\*

Anesthésie Réanimation  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Psychiatrie  
Psychiatrie  
Pneumophtisiologie  
Traumatologie Orthopédique



## ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

### *PROFESSEURS*

- |  |  |
|--|--|
| 1. Pr. ABOUDRAR Saadia                         | Physiologie                            |
| 2. Pr. ALAMI OUHABI Naima                      | Biochimie                              |
| 3. Pr. ALAOUI KATIM                            | Pharmacologie                          |
| 4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma              | Histologie-Embryologie                 |
| 5. Pr. ANSAR M'hammed                          | Chimie Organique et Pharmacie Chimique |
| 6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz                     | Applications Pharmaceutiques           |
| 7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed                         | Génétique Humaine                      |
| 8. Pr. BOURJOUANE Mohamed                      | Microbiologie                          |
| 9. Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia            | Biochimie                              |
| 10. Pr. DAKKA Taoufiq                          | Physiologie                            |
| 11. Pr. DRAOUI Mustapha                        | Chimie Analytique                      |
| 12. Pr. EL GUESSABI Lahcen                     | Pharmacognosie                         |
| 13. Pr. ETTAIB Abdelkader                      | Zootechne                              |
| 14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes                 | Pharmacologie                          |
| 15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed                      | Chimie Organique                       |
| 16. Pr. IBRAHIMI Azeddine                      | Biotechnologie                         |
| 17. Pr. KABBAJ Ouafae                          | Biochimie                              |
| 18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine                   | Biologie                               |
| 19. Pr. REDHA Ahlam                            | Biochimie                              |
| 20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE M <sup>ed</sup> | Chimie Organique                       |
| 21. Pr. TOUATI Driss                           | Pharmacognosie                         |
| 22. Pr. ZAHIDI Ahmed                           | Pharmacologie                          |
| 23. Pr. ZELLOU Amina                           | Chimie Organique                       |

\* *Enseignants Militaires*

الحمد لله رب العالمين مالك الملك ذو الجلال والاکرام له الحمد على  
ما أعصى وبما جاد. يا رب لك الحمد حتى ترضى ولك الحمد ان رضيت  
ولك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانتك.

ثم الصلاة والسلام على خير الانام سيدنا وحبينا محمد بن عبد الله خاتم  
النبيين والمرسلين صاحب الحوض المورود، واللواء المعقود والمقام المحمود  
أشرف من ذكر في الفؤاد، وأجلّ مصلح وهاد، جمع المحامد، وحاز  
المكارم، واستولى على القيم، وتفرد بالمثل، وتميّز بالريادة، جليل القدر،  
مرفوع الذكر، رشيد الأمر، القائم بالشكر، المحفوظ بالنصر، البريء من  
الوزر، المبارك في كل عصر، قريب من القلوب، حبيب الى النفوس  
رحمة مهداة، ونعمة مسداة صلوات الله وسلامه عليه وآله وصحبه وإخوانه دائماً  
أبدًا.

لما بعد فاني اهدي عملي المتواضع هذا الى من حبه عبادة وذكره

رقي المعلم الأول محمد (ص) من قصة نبوته بدأت بكلمة {اقرأ}

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,*

*Le respect, la reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que...*



*Je dédie cette thèse*



## *A mes très chers parents*

*\*\*\* A qui je dois tout \*\*\**

*Aucun mot ne saurait exprimer mon amour, mon affection et ma considération pour vous.*

*Pour tous les sacrifices que vous avez consenti pour mon éducation, instruction et tout mon bien être.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que je ressens envers vous.*

*Votre sacrifice, votre compréhension, votre affection dont vous m'avez toujours entouré m'ont servis pour me consacrer pleinement à mes études et à mon propre épanouissement.*

*J'espère être à la hauteur de ce que vous m'avez inculqué tout en sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait vous remercier.*

*Puisse Dieu, vous garder et vous procurer bonheur, sérénité, et santé...*





## *A LA MEMOIRE DE MES DEUX GRANDS PARENTS*

*J'aurais aimé vous voir aujourd'hui parmi l'assistance.*

*Que Dieu repose vos âmes en paix.*

## *A MES CHERS FRERES ET MES CHERES SŒURS*

*Que ce travail témoigne de mon affection et mon amour et mon profond respect avec mes vœux de santé, de bonheur et de succès.*

*Trouvez ici l'expression de mes bons sentiments avec tous mes souhaits de bonheur et de bonne santé à vous et à votre famille.*

*En ce jour, j'espère réaliser un de vos rêves, que Dieu vous protège, vous comble de bonheur et de réussite et fasse régner entre nous l'amour et l'harmonie les plus parfaits.*





### *A MES BEAUX FRÈRES ET BELLES SŒURS*

*Tout au long de mes études, vous n'avez cessé de m'encourager.*

*Aucune expression ne saurait vous transmettre les précieux sentiments que j'ai envers vous.*

*Puissiez-vous trouver ici, le témoignage de mon profond attachement et reconnaissance.*

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite...*

### *A MES NEVEUX ET NIECES*

*En témoignage de mes sentiments les plus affectueux.*

*Je vous souhaite santé, réussite et bonheur et que Dieu vous protège...*





*A MES ONCLES, MES TANTES, COUSINS ET COUSINES*

*Votre aide, votre soutien ont été pour moi une source de courage, de confiance et de patience.*

*Qu'il me soit permis aujourd'hui de vous assurer ma profonde et ma grande reconnaissance.*

*J'espère que vous trouverez ici l'expression de mon respect, ma considération et mon profond amour...*





*A MES COLLEGUES, MES CONFRÈRES MES CONSEURS,  
MES COMPAGNONS D'ÉTUDES PHARMACEUTIQUES ET A TOUTES  
MES AMIES*

*Pour tous les moments inoubliables qu'on a passé ensemble.*

*Aucune expression ne saurait traduire les sentiments que j'ai pour vous.  
Votre soutien a été très précieux pour moi.*

*Veillez accepter ce travail comme symbole de mon estime et de ma  
reconnaissance.*

*Avec vous j'ai appris beaucoup, que dieu nous rassemble une autre fois  
pour l'autre vie éternelle.*

*A TOUS CEUX QUI ME SONT CHÈRES*

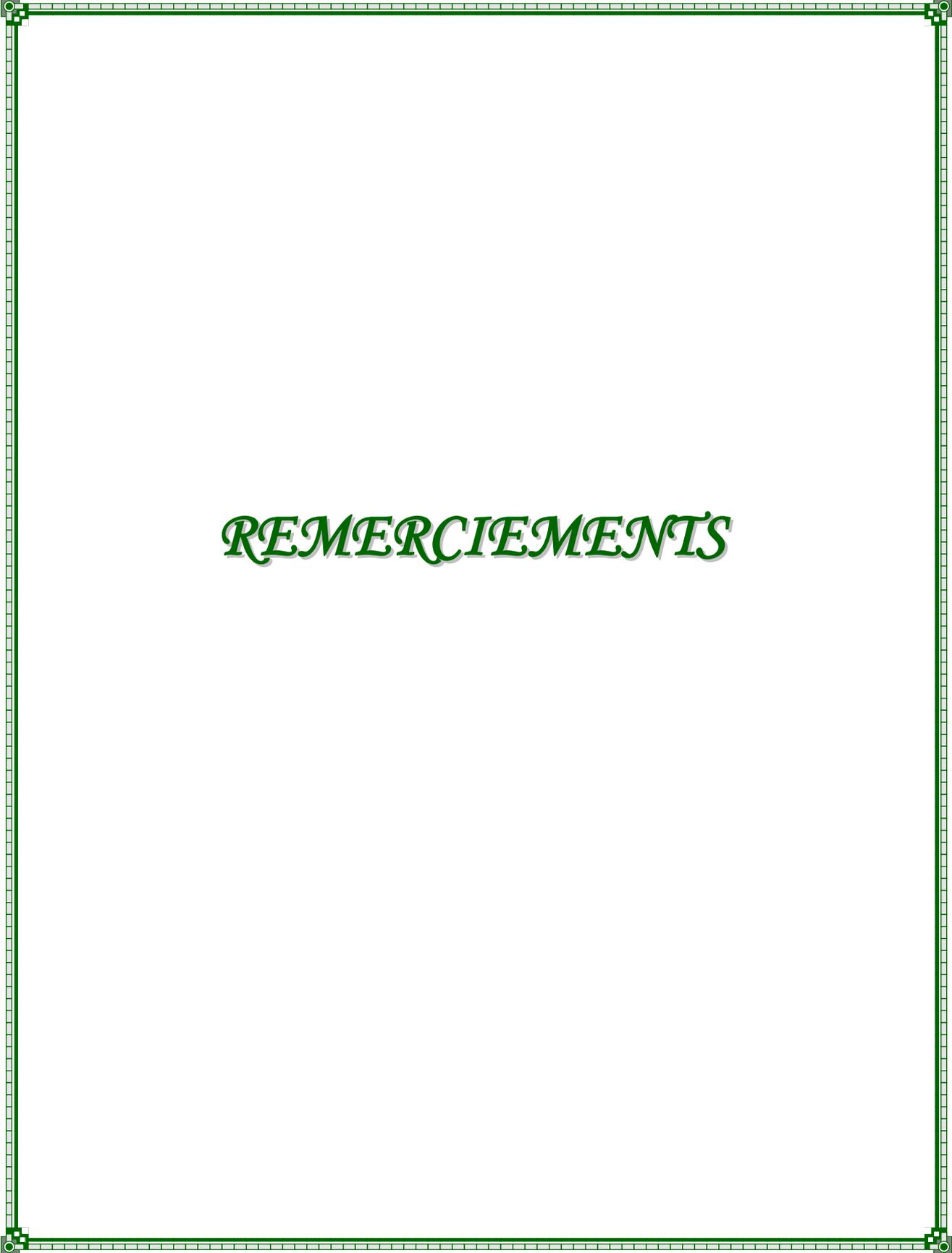
*Puisse ce travail vous exprimer tous mes vœux de bonheur et de sérénité.*

*A TOUS CEUX QUI ONT, A UN MOMENT OU A UN AUTRE,  
CONTRIBUÉ A LA RÉALISATION DE CE TRAVAIL.*

*A TOUS CEUX QUE J'AI OMIS DE CITER*

*Je les remercie infiniment....*





# *REMERCIEMENTS*



*A notre Maître et Président de Thèse*

*Mr. A. BELMEKCI*

*Professeur d'hématologie*

*Nous sommes touchés par l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de thèse.*

*Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous confier ce travail.*

*Mes remerciements pour l'enseignement que vous nous avez prodigué et notre estime pour vos qualités humaines.*

*Vous serez pour nous l'exemple de la droiture et de sérieux dans l'exercice de la profession.*

*Veillez accepter, cher maître, l'assurance de notre estime et de notre profond respect.*





*A notre maître et rapporteur de thèse*

*Mme. Le Professeur N.MESSAOUDI*

*Professeur Agrégé d'Hématologie Biologique*

*Nous vous remercions infiniment de nous avoir confié ce travail.*

*Tout au long de cette thèse, vous n'avez ménagé ni votre temps, ni vos efforts, malgré les multiples charges qu'impliquent vos fonctions, et en vous préoccupant des moindres détails de ce travail.*

*Vous nous avez toujours accueillies avec sympathie, gentillesse et simplicité.*

*Nous ne saurons toujours jamais trouver ici les mots pour vous exprimer notre profonde gratitude, notre respectueuse admiration et nos vifs remerciements. .*





*A notre maître et juge de thèse*

*Mr. A. MASRAR*

*Professeur d'Hématologie biologique*

*Nous avons le grand honneur de vous voir siéger parmi le jury de notre thèse.*

*Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos remarquables qualités humaines et professionnelles.*

*Veillez trouver dans ce travail, cher Maître, le témoignage de notre profonde reconnaissance et notre grand respect.*





*A Notre Maître et Juge de Thèse*

*Mme. S.TELLAL*

*Professeur de biochimie*

*Vous nous faites l'honneur de vous intéresser à notre travail et bien vouloir siéger parmi le jury de cette thèse.*

*Nous avons eu le privilège d'apprécier la qualité de votre enseignement et vos remarquables qualités humaines et professionnelles.*

*Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de notre très grande reconnaissance et notre profond respect.*





*Au docteur Abdelouahab EL AMERI*

*Vous m'avez beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail*

*Que ce travail soit une occasion de vous exprimer notre gratitude, notre respect et notre admiration les plus sincères.*

*Que Dieu vous prête longue vie et bonheur...*





*LISTE DES  
ILLUSTRATIONS*

## **LISTE DES FIGURES**

N°	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Paramètres de GR normal.	4
<b>Figure 2</b>	Aspect des GR sur frottis sanguin coloré au MGG.	4
<b>Figure 3</b>	Passage d'un GR à travers un passage étroit dans la rate.	5
<b>Figure 4</b>	Structure de la membrane du globule rouge.	7
<b>Figure 5</b>	Représentation des 4 chaînes de globine	9
<b>Figure 6</b>	Schéma d'une molécule d'hème.	9
<b>Figure 7</b>	Structure quaternaire de la molécule d'hémoglobine.	10
<b>Figures 8 et 8'</b>	Organisation générale des gènes de globines humaines.	11
<b>Figure 9</b>	Schéma de la glycolyse érythrocytaire.	13
<b>Figure 10</b>	Schéma d'hémolyse intra-tissulaire.	18
<b>Figure 11</b>	Schéma d'hémolyse intra vasculaire.	20
<b>Figure 12</b>	Hyper-hémolyse extra- vasculaire.	22
<b>Figure 13</b>	Hyper-hémolyse intra-vasculaire.	23
<b>Figure 14</b>	Schizocytes sur frottis sanguin coloré au MGG.	29
<b>Figure 15</b>	Réticulocytes après coloration au bleu de crésy brillant.	29
<b>Figure 16</b>	Évolution de la radioactivité des GR après marquage au Cr51.	31
<b>Figure 17</b>	Principe du TDA.	35
<b>Figure 18</b>	Test direct à l'antiglobuline positif sur carte à gel.	36
<b>Figure 19</b>	Test indirect à l'antiglobuline .	37
<b>Figure 20</b>	Observation au microscope à balayage électronique des GR sains et GR au cours de SH.	45
<b>Figure 21</b>	Sphérocytes sur frottis sanguin coloré au MGG.	48
<b>Figure 22</b>	Sphérocyte en «champignon».	49
<b>Figure 23</b>	Résultats du test de fragilité osmotique des GR.	52
<b>Figure 24</b>	Résultats de l'Ektacytométrie en gradient osmolaire.	55
<b>Figure 25</b>	Frottis sanguin montrant des elliptocytes.	58

N°	Titre	Page
<b>Figure 26</b>	Frottis sanguin montrant des stomatocytes.	60
<b>Figure 27</b>	Frottis sanguin montrant des acanthocytes.	61
<b>Figure 28</b>	La répartition géographique des principales hémoglobines anormales.	62
<b>Figure 29</b>	Carte de la répartition de la drépanocytose.	64
<b>Figure 30</b>	Schéma physiopathologique de la drépanocytose : la falciformation.	65
<b>Figure 31</b>	Drépanocytes observés sur un frottis sanguin.	69
<b>Figure 32</b>	Test de solubilité pour HBS.	70
<b>Figure 33</b>	Électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin sur acétate de cellulose.	71
<b>Figure 34</b>	Électrophorèse de l'hémoglobine à pH acide (pH 6,2) sur agar.	71
<b>Figure 35</b>	Électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin.	72
<b>Figure 36</b>	Focalisation isoélectrique de l'hémoglobine.	73
<b>Figure 37</b>	Profil d'élution en CLHP d'échange d'ions	74
<b>Figure 38</b>	Hémoglobinoses E donnée de l'électrophorèse de l'Hb	77
<b>Figure 39</b>	Aspects génétiques des $\beta$ -thalassémies.	79
<b>Figure 40</b>	Aspect sur frottis sanguin d'une $\beta$ -thalassémie homozygote.	82
<b>Figure 41</b>	Électrophorèse de l'Hb en milieu alcalin au cours des syndromes thalassémiques.	83
<b>Figure 42</b>	Aspects moléculaires des $\alpha$ -thalassémies.	85
<b>Figure 43</b>	Conséquences de la diminution ou de l'absence de la synthèse des chaînes $\alpha$ de globine.	86
<b>Figure 44</b>	La G6PD protège la cellule contre le peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) généré par le stress oxydatif.	93
<b>Figure 45</b>	Corps de Heinz sur frottis sanguin coloré par bleu de crésyl.	97
<b>Figure 46</b>	Fluorescent spot test.	98
<b>Figure 47</b>	Cascade d'activation du complément et rôle de CD55 et de CD59.	103
<b>Figure 48</b>	Structure du système d'ancrage des protéines glycosyl-phosphatidylinositol (GPI).	105
<b>Figure 49</b>	Cytométrie en flux -analyse de l'intensité de fluorescences.	108

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Tableau comparatifs des signes cliniques dans l'hémolyse extra et intra-vasculaire.	26
<b>Tableau 2</b>	Les principaux marqueurs biochimiques d'hémolyse.	30
<b>Tableau 3</b>	Caractéristiques immunologiques et optimum thermique des Ac identifiés par le test à TAD.	35
<b>Tableau 4</b>	Principales maladies associées aux anémies hémolytiques auto-immunes.	38
<b>Tableau 5</b>	Les principaux gènes mutés responsables de SH.	46
<b>Tableau 6</b>	Fréquence des atteintes des protéines membranaire dans SH dans les populations nord-européennes.	46
<b>Tableau 7</b>	Critères diagnostiques simples de SH.	50
<b>Tableau 8</b>	Examens biologiques spécifiques pour le diagnostic de SH.	56
<b>Tableau 9</b>	La prévalence de la maladie dans le monde.	63
<b>Tableau 10</b>	Résultats de l'étude de l'Hb (électrophorèse) des différents variants de drépanocytose.	72
<b>Tableau 11</b>	Résultats de l'électrophorèse de l'Hb des $\beta$ -thalassémies et formes apparentées.	84
<b>Tableau 12</b>	Résultats de l'étude de l'Hb dans les $\alpha$ -thalassémies.	88
<b>Tableau 13</b>	Tableau récapitulatif des résultats des examens hématologiques au cours des principales hémoglobinopathies.	89
<b>Tableau 14</b>	classification OMS des variants enzymatiques de la G6PD.	92
<b>Tableau 15</b>	Principales circonstances pouvant entraîner des accidents hémolytiques chez les sujets déficitaires en G6PD.	94

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**Ac** : Anticorps

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**Ag**: Antigène

**AGLT** : Test de lyse au glycérol acidifié

**AH** : Anémie hémolytique

**AHAI** : Anémies hémolytiques auto-immunes

**ALA** : Acide delta amino-lévulinique

**Anti-IgG** : Immunoglobulin G

**ApoB** : Apolipoprotéine B

**ARMS**: Amplification refractory mutation system

**ATP**: Adénosine-5'-triphosphate

**ATPases Ca<sup>++</sup>**: Calcium adénosine triphosphatase

**ATPases Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>**: Sodium et potassium adénosine triphosphatase

**BC**: Bilirubine conjuguée

**BNC** : Bilirubine non conjuguée

**CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

**CEC**: Circulation extra-corporelle

**DAF**: Decay accelerating factor

**DHSt** : Stomatocytose héréditaire avec hématies déshydratées

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétraacétique

**EH** : Elliptocytose héréditaire

**EMA** : Eosine-5-maléimide

**FI** : Fentolitre

**GlcN** : Glucosamine

**GPI**: Glycosyl-phosphatidylinositol

**GR**: Globule rouge

**G6P** : Glucose 6-phosphate

**G6PD** : Glucose-6- phosphate déshydrogénase

**Hb** : Hémoglobine

**Hb A** : Hémoglobine Adulte

**Hb F** : Hémoglobine fœtale

**HCl** : Chlorure d'hydrogène

**HPLC**: High-performance liquid chromatography

**HPN** : Hémoglobinurie paroxystique nocturne

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**ID** : Index de déformabilité

**IgM** : Immunoglobuline M

**LDH**: Lacticodéshydrogénase

**MAT** : Micro-angiopathie thrombotique

**MGG**: May-Grünwald-Giemsa

**MIRL**: Membrane inhibitor of reactive lysis

**Mosm** : Milliosmole

**MTT**: 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-dihphenyltetrazolium bromide

**NacGlc-PI**: N-acétyl-glucosaminyl-phosphatidylinositol

**NaCl** : Chlorure de Soduim

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide réduite

**NADP** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite

**NaN<sub>3</sub>** : Sodium Azide

**OHSt** : Stomatocytose héréditaire avec hématies hyperhydratées

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**ORL**: Oto-rhino-laryngologie

**PCR**: Polymerase chain reaction

**PCR-RE**: Polymerase chain Reaction-Restriction Enzyme

**pH** : Potentiel hydrogène

**PI**: Phosphatidylinositol

**PK**: Pyruvate kinase

**PMS** : Phénazine méthosulfate .

**PPH** : Pyropoikilocytose héréditaire

**PTT**: Purpura thrombotique thrombocytopénique

**RH** : Rhésus

**S/V** : Surface/volume

**SH** : Sphérocytose héréditaire

**SFH** : Société Française d'hématologie

**SHU** : Syndrome hémolytique et urémique

**TCMH** : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

**TIA** : Test indirect à l'antiglobuline

**TDA** : Test direct à l'antiglobuline

**UI** : Unité internationale

**UV** : Ultraviolet

**VCMr** : Volume corpusculaire moyen réticulocytaire

**2-3 DPG** : 2-3 Diphosphoglycérate

**$\alpha$**  : Alpha

**$\beta$**  : Bêta

**$\delta$**  : Delta

**$\gamma$**  : Gamma

**$\zeta$**  : Zêta

**$\varepsilon$**  : Epsilon

**$\mu\text{L}$**  : Microliter



# *SOMMAIRE*

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PREMIER CHAPITRE : STRUCTURE DU GLOBULE ROUGE</b> .....	3
I. Morphologie générale .....	4
II. La membrane du GR .....	5
III. L'Hémoglobine (Hb) .....	8
III.1. Structure de l'hémoglobine .....	8
III.2. La synthèse de l'hémoglobine .....	8
III.3. Les différentes Hb normales en fonction de l'âge .....	10
III.4. Le contrôle génétique .....	11
IV. Métabolisme et enzymes érythrocytaires .....	12
<b>DEUXIEME CHAPITRE : HEMOLYSE PHYSIOLOGIQUE ET HEMOLYSE PATHOLOGIQUE</b> .....	14
I. L'hémolyse physiologique .....	15
I.1. Hémolyse intra-tissulaire .....	15
I.1.1. Siège et mécanisme .....	15
I.1.2. Le devenir des constituants du globule rouge .....	16
I.2. L'hémolyse intra-vasculaire .....	19
II. L'Hémolyse pathologique ou hyper-hémolyse .....	21
II.1. L'hémolyse extra-vasculaire .....	21
II.2. L'hémolyse intra-vasculaire .....	22
<b>TROISIEME CHAPITRE : CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE</b> .....	24
I. L'hémolyse chronique.....	25
II. L'hémolyse aigue .....	25
III. La Découverte fortuite .....	26

IV. L'interrogatoire .....	26
<b>QUATRIEME CHAPITRE : DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'HYPER- HEMOLYSE</b> .....	27
I. Affirmer l'hyper-hémolyse .....	28
I.1. Les Marqueurs indirects .....	28
I.1.1. Les marqueurs hématologiques .....	28
I.1.2. Les marqueurs biochimiques.....	30
I-2- Marqueurs directs .....	30
<b>CINQUIEME CHAPITRE : DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE DES HYPER- HEMOLYSES</b> .....	32
I. Les anémies hémolytiques acquises .....	33
I.1. Les Hémolyses d'origine immunologique .....	33
I.1.1. Les Anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) .....	33
A. Les mécanismes physiopathologiques .....	34
B. Diagnostic immuno-hématologique .....	34
C. Diagnostic étiologique .....	38
I.1.2. Les hémolyses immuno-allergiques .....	40
I.1.3. Les hémolyses iso-immunes .....	40
I.2. Les hémolyses toxiques .....	41
I.3. Les hémolyses mécaniques .....	41
I.3.1. Les macro-angiopathies .....	41
I.3.2. Les micro-angiopathies .....	42
I.4. Les hémolyses infectieuses .....	43
II. Les anémies hémolytiques congénitales .....	44
II.1. Les anomalies de la membrane érythrocytaire .....	44

A. La sphérocytose héréditaire (SH) ou maladie de Minkowski Chauffard .....	44
1. Physiopathologie .....	44
2. Les données génétiques .....	45
3. Les circonstances de découverte .....	47
4. Le diagnostic biologique .....	47
4.1. Les examens d'orientation .....	47
4.2. Les Examens spécifiques pour le diagnostic de SH .....	50
4.3. Les examens de certitude .....	53
4.4. Le diagnostic biologique .....	56
B. L'elliptocytose héréditaire : (EH).....	57
1. Physiopathologie .....	57
2. Les circonstances de découverte .....	57
3. Diagnostic biologique .....	57
C. La stomatocytose héréditaire .....	58
D. L'acanthocytose .....	60
II.2. Les hémoglobinopathies .....	61
A. La drépanocytose .....	62
1. Epidémiologie .....	62
2. Les données génétiques .....	64
3. Physiopathologie .....	64
4. Circonstances de diagnostic .....	67
5. Diagnostic biologique .....	68
5.1. Les examens de présomption .....	68
5.2. Les examens de certitude .....	70
5.3. Le diagnostic génétique .....	74

6. Les associations génétiques .....	75
B. L'Hémoglobinoase C .....	75
C. L'Hémoglobinoase D Punjab .....	76
D. l'Hémoglobinoase E : .....	77
E. Les thalassémies .....	78
1. Les $\beta$ -thalassémies .....	78
1.1. Epidémiologie .....	78
1.2. Les mécanismes génétiques .....	78
1.3. Les conséquences des anomalies de synthèse des chaînes de globine .....	79
1.4. Les circonstances de diagnostic .....	80
1.5. Diagnostic biologique .....	81
1.5.1. Diagnostic phénotypique .....	81
1.5.2. Diagnostic génotypique .....	83
1.6. Les formes apparentées aux $\beta$ -thalassémies .....	83
2. Les $\alpha$ -thalassémies .....	84
2.1. Epidémiologie .....	84
2.2. Les mécanismes génétiques .....	85
2.3. Les conséquences des anomalies de synthèse des chaînes de globine .....	86
2.4. Circonstances de diagnostic .....	87
2.5. Diagnostic biologique .....	87
II. 3. Les érythroenzymopathies congénitales .....	90
A. Déficit en G6PD .....	90
1. Epidémiologie .....	90
2. Mécanisme génétique .....	90
3. Classification OMS .....	91

4. Physiopathologie .....	92
4.1. Rôle physiologique de la G6PD .....	92
4.2. Le mécanisme de l'hémolyse en cas de déficit de G6PD .....	93
5. Circonstances de découverte .....	94
6. Diagnostic biologique .....	96
B. Déficit en pyruvate kinase (PK).....	100
1. Physiopathologie .....	100
2. Circonstances de découverte .....	101
3. Diagnostic biologique .....	101
C. Les autres déficits enzymatiques .....	101
1. Déficiences de la voie d'Embden-Meyerhof .....	101
2. Déficiences du métabolisme des nucléotides .....	101
III. L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) .....	102
1. Physiopathologie .....	102
2. Circonstances de découverte .....	106
3. Diagnostic biologique .....	107
3.1. Les tests d'hémolyse in vitro .....	107
3.2. Les tests immuno-cytologiques en cytométrie de flux .....	107
<b>CONCLUSION</b> .....	109

## **RESUMES**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



*INTRODUCTION*

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges (GR) sont détruits et libèrent leur contenu hémoglobinique dans le milieu extérieur.

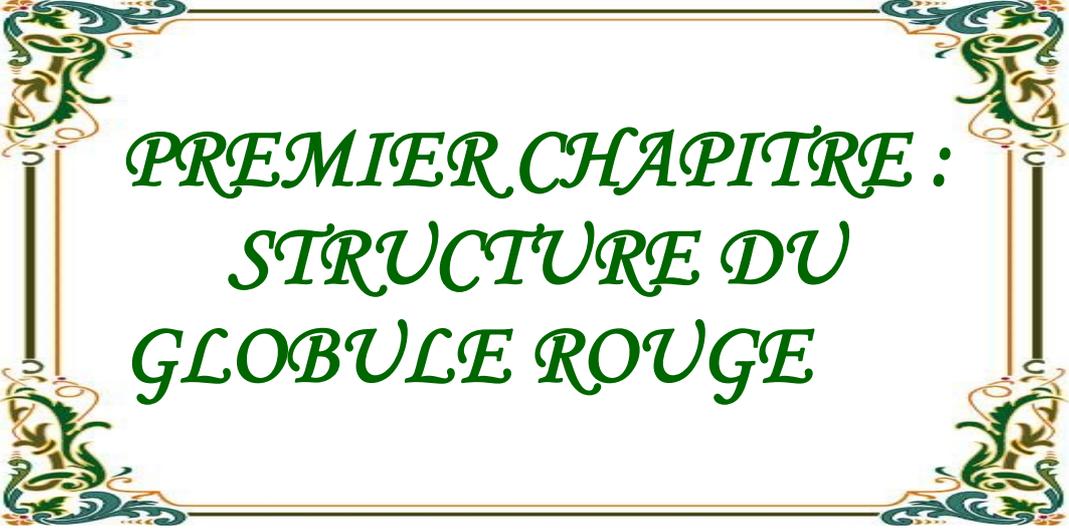
Il s'agit d'un phénomène physiologique qui touche les hématies à la fin de leur vie qui a une durée moyenne de 120 jours. Cette hémolyse physiologique est essentiellement intratissulaire. Les GR âgés sont phagocytés par les macrophages du système des phagocytes mononucléés. Chez le sujet normal, la majorité des GR sont détruits dans les macrophages de la moelle osseuse. Le reste se fait au niveau de la rate et du foie [1].

Quant à l'hémolyse pathologique ou l'hyper-hémolyse, elle s'accompagne de signes de destruction globulaire exagérée et des signes de régénération. Si l'hyper-hémolyse n'est pas compensée, elle peut conduire à une anémie dite hémolytique [2].

Les anémies hémolytiques peuvent avoir une cause extra-corpusculaire où la lyse du GR est secondaire à une cause extérieure ; ou corpusculaire où la lyse est secondaire à une atteinte de l'un des constituants du GR [2].

La connaissance des mécanismes de ce type d'anémie permet d'une part la compréhension des manifestations pathologiques associées ; et d'autre part de procéder à son exploration rationnelle.

Le but de notre travail est de faire, à travers une revue de la littérature, une approche globale de la physiopathologie, du diagnostic biologique, du diagnostic étiologique des hémolyses pathologiques.



*PREMIER CHAPITRE :  
STRUCTURE DU  
GLOBULE ROUGE*

## I. Morphologie générale : (Figure 1,2)

Le GR ou hématie ou érythrocyte est une cellule anucléée ayant la forme d'une sphère aplatie ou un disque biconcave. Le diamètre est de 7 à 8  $\mu\text{m}$ . Son épaisseur est de 2,5  $\mu\text{m}$  sur les bords et 1  $\mu\text{m}$  sur la partie centrale de la bi-concavité. Cette forme biconcave est nécessaire à la déformabilité. De plus, elle augmente la surface des échanges gazeux. Son volume est de 82 à 98  $\mu\text{m}^3$ . Tous ces paramètres varient environ de 5% à l'état physiologique [1,3].

Sur le frottis sanguin ou médullaire normal correctement réalisé, séché, fixé et coloré au May Grünwald Giemsa (MGG), les GR se présentent comme des cercles avec un halo clair central. Leur membrane cytoplasmique est régulière. Leur cytoplasme est pâle, rosé, homogène, sans noyau, sans organite [4].

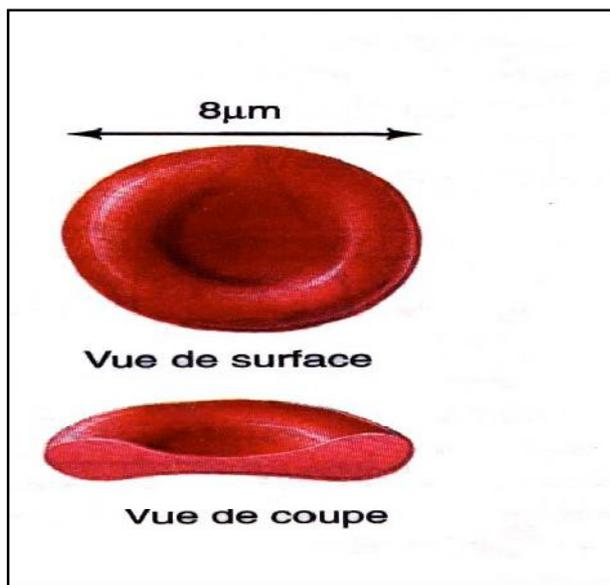


Figure 1 : paramètres de GR normal [5].

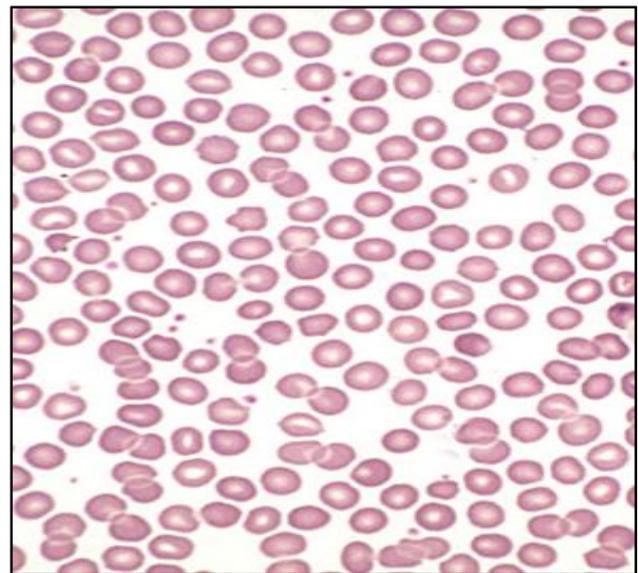
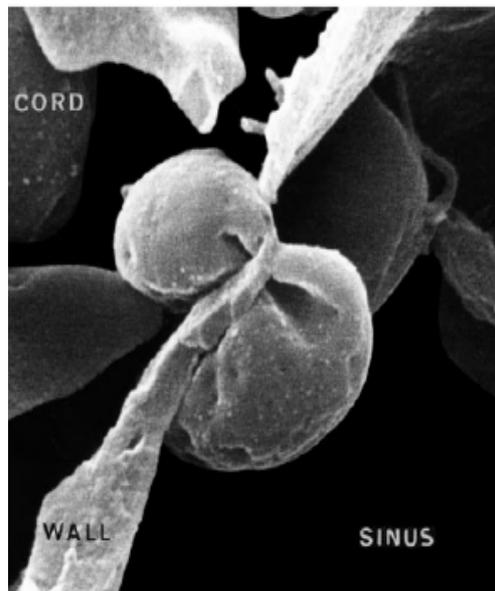


Figure 2: aspect des GR sur frottis sanguin coloré au MGG [6].

## II. La membrane du GR :

La membrane érythrocytaire assure au GR sa forme, sa plasticité et sa déformabilité. Pour accomplir la tâche indispensable de livraison de l'oxygène aux tissus, le GR doit traverser des obstacles, en particulier des micro-capillaires ou des pores de sinus vasculaires qui lui imposent de passer par des détroits et des labyrinthes dont le diamètre est très inférieur au sien : le diamètre du GR est de 7 microns mais il peut traverser des pores de 1 voire 0,5 microns (**figure 3**) .



**Figure 3 :** Passage d'un GR à travers un passage étroit dans la rate [7].

La membrane permet l'intégrité du milieu intérieur qui contient les principales enzymes des métabolismes permettant de lutter contre l'inflation hydro-sodée continue en assurant le fonctionnement des pompes à sodium.

Elle comporte des protéines et des lipides intriqués dans une structure complexe. Les lipides (65 % de phospholipides, 25 % de cholestérol non estérifié, 10 % de glycolipides) sont répartis en double couche de 40 Å d'épaisseur avec des groupements non polaires hydrophobes se faisant face tandis que les groupements polaires hydrophiles sont rejetés vers l'extérieur.

Dans cette bicouche phospholipidique baignent de volumineuses molécules protéiques enchâssées plus ou moins profondément dans les deux feuilletts lipidiques [7] (**figure 4**).

**Du côté interne**, le réseau protéique constitue le cytosquelette qui confère la forme discoïde au GR et assure sa grande déformabilité. Le squelette protéique comporte 3 protéines principales : la spectrine, l'actine ou protéine 5, la protéine 4.1 (**figure 4**).

La spectrine est formée de deux chaînes polypeptidiques différentes nommées alpha et bêta polymérisées sous forme de tétramères qui soutiennent la couche phospholipoprotéique membranaire grâce à des liaisons avec les protéines 3 (via l'Ankyrine) avec les glycophorines (via la protéine 4/1 et l'Actine). Toutes ces protéines peuvent être phosphorylées [8].

**Du côté externe**, se situent les récepteurs et les motifs antigéniques (**figure 4**).

Les protéines transmembranaires jouent un rôle essentiel dans les échanges du GR avec le milieu extérieur. Les plus importantes sont les ATPases Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> dépendantes qui permettent le transport actif des cations Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>, les ATPases Ca<sup>++</sup> dépendantes et les protéines permettant le transport des anions, de l'eau et du glucose [8].

Trois protéines transmembranaires permettent la stabilité de forme du GR en se fixant sur les protéines intrinsèques du cytosquelette : ce sont la protéine 3, la Glycophorine A et la Glycophorine C (**figure 4**) [1].

- La Protéine 3 se fixe à la  $\beta$  spectrine grâce à l'Ankyrine
- Les Glycophorines A et C se fixent à la protéine 4.1

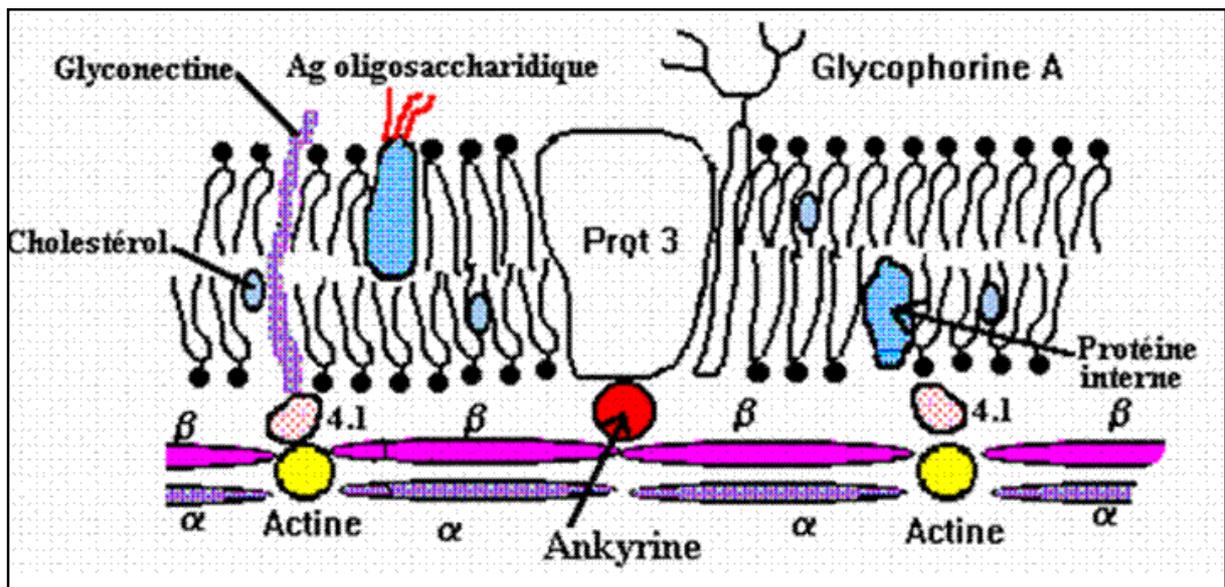


Figure 4 : structure de la membrane du globule rouge [9].

### **III. L'Hémoglobine (Hb) :**

#### **III.1. Structure de l'hémoglobine : (figure 5, 6, 7)**

Principal constituant du GR, elle représente 95% des protéines intracellulaires. L'Hb est une chromoprotéine qui donne la couleur rouge aux hématies. Sa fonction essentielle est celle de transporteur d'oxygène, assurant l'oxygénation tissulaire. Elle est maintenue à l'état fonctionnel grâce aux enzymes érythrocytaires. L'Hb est constituée de quatre chaînes peptidiques de globine et d'une molécule d'hème [1].

La globine est constituée de chaînes polypeptidiques variables :

les chaînes  $\alpha$  (141 AA), les chaînes  $\beta$  (146 AA), les chaînes  $\delta$  (146 AA) et les chaînes  $\gamma$  (146 AA). La nature des chaînes de globine définit différents types d'Hb normales.

L'hème est une molécule plane formée d'une protoporphyrine avec, en son centre, un atome de fer ferreux.

#### **III.2. La synthèse de l'hémoglobine :**

Elle débute dès le stade de proérythroblaste et s'achève à celui de réticulocyte [1,10].

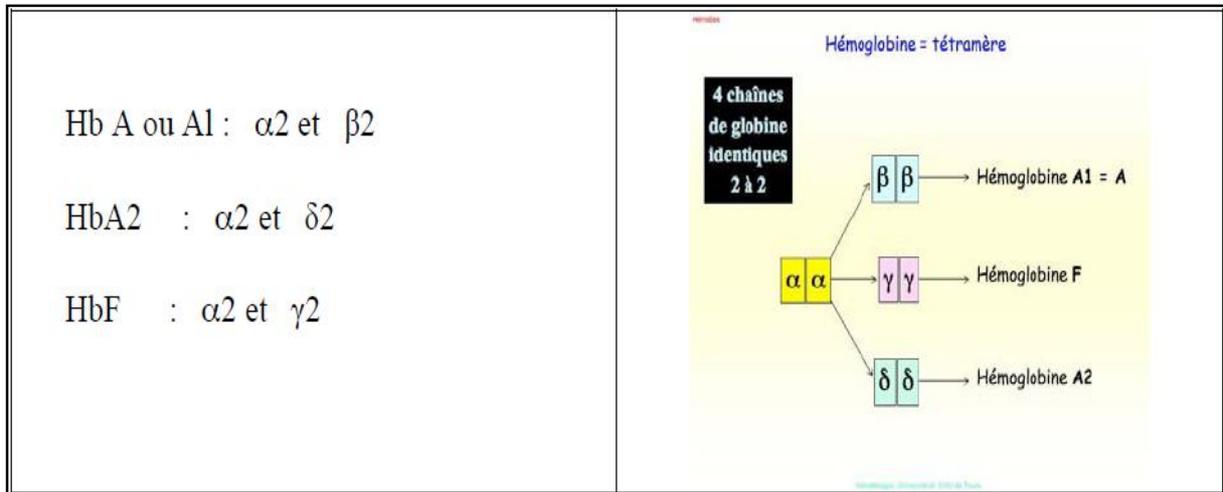
➤ **La synthèse des chaînes de globine** suit le schéma de la synthèse protéique. Selon l'âge la répartition des différentes hémoglobines varie :

- Chez le fœtus l'Hb F est majoritaire et l'Hb A représente moins de 10% de l'Hb totale;
- A la naissance l'Hb F représente 60 à 85% de l'Hb totale;
- Six mois après la naissance, un profil identique à celui de l'adulte est atteint HbA1 : 97%, HbA2 : < 3%, HbF : < 1%.

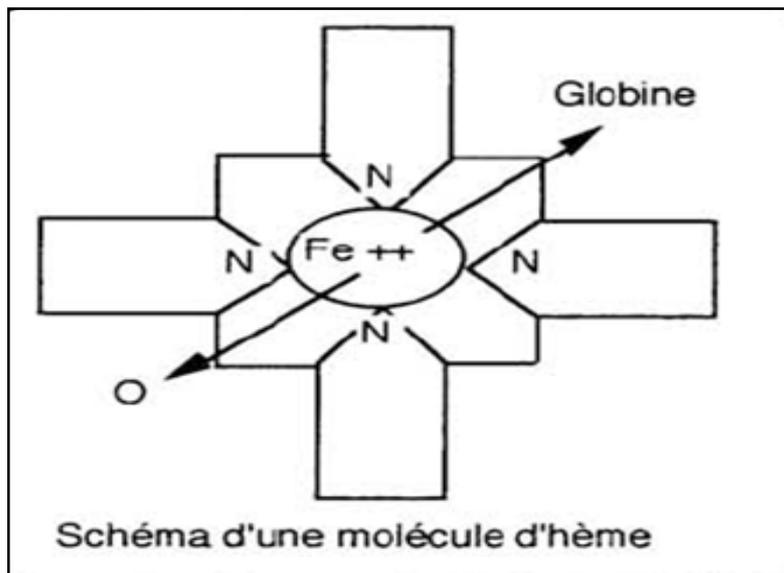
➤ **La synthèse hémique** s'effectue au même temps dans les érythroblastes. Trois étapes biochimiques peuvent être schématisées :

- Formation d'acide delta amino-lévilulique (ALA) à partir du succinyl coenzyme A (produit par le cycle de Krebs dans la mitochondrie) qui s'unit à la glycine grâce à l'ALA synthétase.

- Formation de la protoporphyrine : elle nécessite une isomérase.
- Incorporation du fer sous l'action de l'hème synthétase.



**Figure 5:** Représentation des 4 chaînes de globine identiques 2 à 2 [11].



**Figure 6:** Schéma d'une molécule d'hème [1]

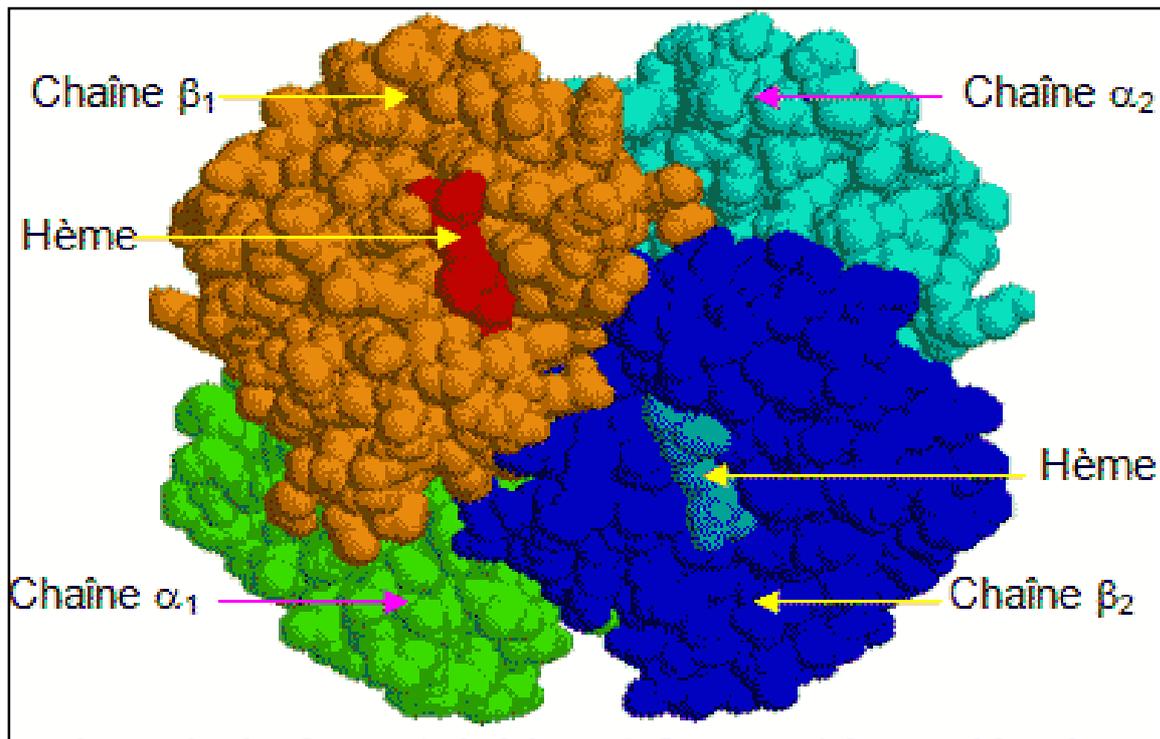


Figure 7 : Structure quaternaire de la molécule d'hémoglobine [12].

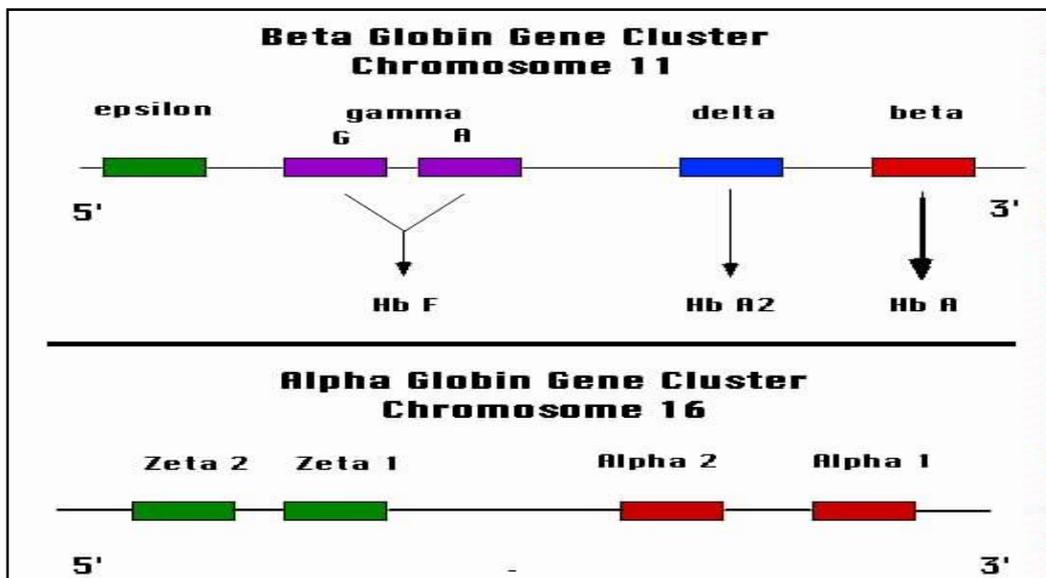
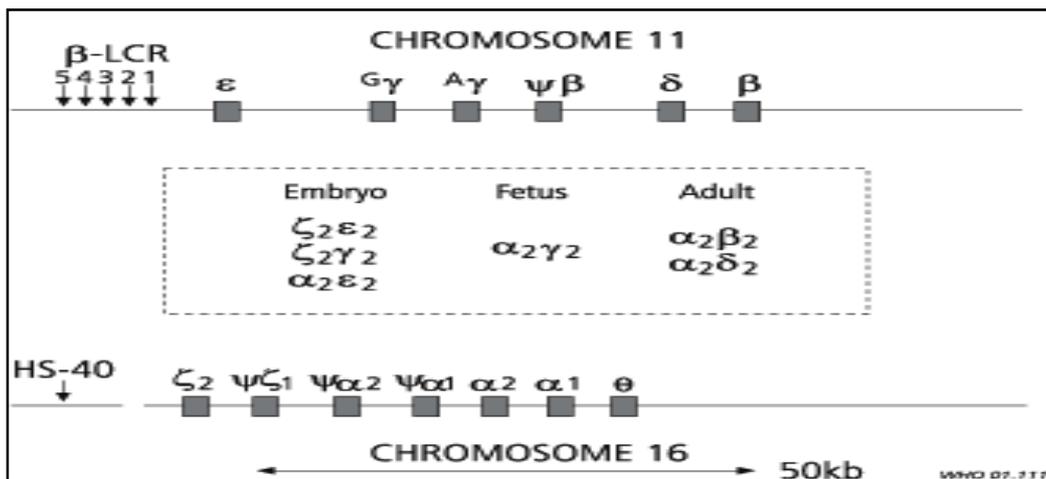
### III.3. Les différentes Hb normales en fonction de l'âge :

L'Hb humaine adulte est un tétramère de deux chaînes  $\alpha$  et deux  $\beta$  ( $\alpha_2\beta_2$ ) avec plus de 95 %. L'Hb A2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) constitue 2-3,5% et Hb F se trouve à l'état traces (taux <1 %). Dans la vie **embryonnaire**, d'autres types d'Hb sont synthétisés : deux chaînes de la famille  $\alpha$  :  $\zeta$ ,  $\alpha$  et deux chaînes de la famille  $\beta$  :  $\epsilon$  et  $\gamma$ . Ces chaînes permettent de définir les trois Hb embryonnaires : Hb Gower 1 ( $\zeta_2\epsilon_2$ ), Hb Gower 2 ( $\alpha_2\epsilon_2$ ), Hb Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ) [1, 10]. Chez le **foetus**, le constituant essentiel est Hb fœtale (Hb F :  $\alpha_2\gamma_2$  90%), le reste est constitué de Hb A ( $\alpha_2\beta_2$  5 à 10 %) [1, 10].

### III.4. Le contrôle génétique : (Figure 7)

Les gènes codant pour la synthèse des chaînes alpha sont situés sur le chromosome 16, ceux des chaînes non alpha sur le chromosome 11.

Tous les gènes fonctionnels codant ces différentes chaînes protéiques sont regroupés en famille ou cluster : la famille  $\alpha$  et famille  $\beta$ . L'ordre des gènes, de 5' en 3', au sein de chaque complexe, reflète l'ordre de leur expression séquentielle au cours de l'ontogénèse [13].



Figures 8 et 8': Organisation générale des gènes de globines humaines [14].

#### **IV. Métabolisme et enzymes érythrocytaires :**

Le GR est une cellule anucléée incapable de synthèse enzymatique. L'hématie, pour survivre, doit maintenir l'intégrité de son milieu intérieur, de la structure de sa membrane, de son hème à l'état fonctionnel. Pour cela elle doit utiliser son stock enzymatique initial [1].

L'hématie possède une seule source d'énergie, le glucose qu'elle utilise grâce aux mécanismes de la glycolyse et surtout de la glycolyse anaérobie (90 %) (Voie principale d'Embden-Meyerhof) et accessoirement par la voie oxydative du shunt des pentoses (10 %) (**Figure 9**). Le métabolisme érythrocytaire a pour but :

- la production d'ATP indispensable à l'intégrité de la membrane.
- la production de NADH et de NADPH, indispensables à la fonctionnalité de L'hémoglobine,
- la production de 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG) qui régule l'affinité de l'Hb pour l'oxygène (**Figure 9**).

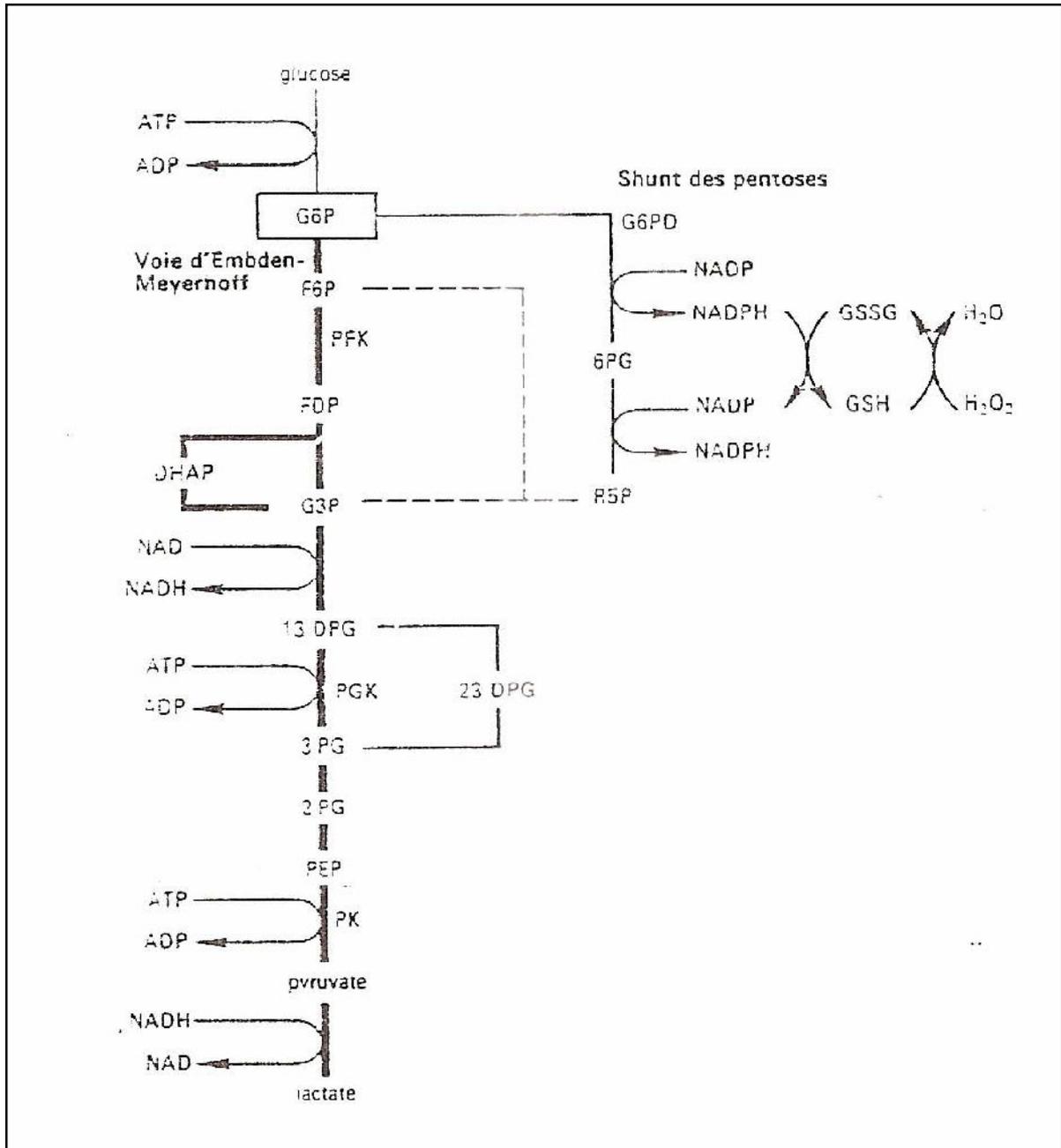
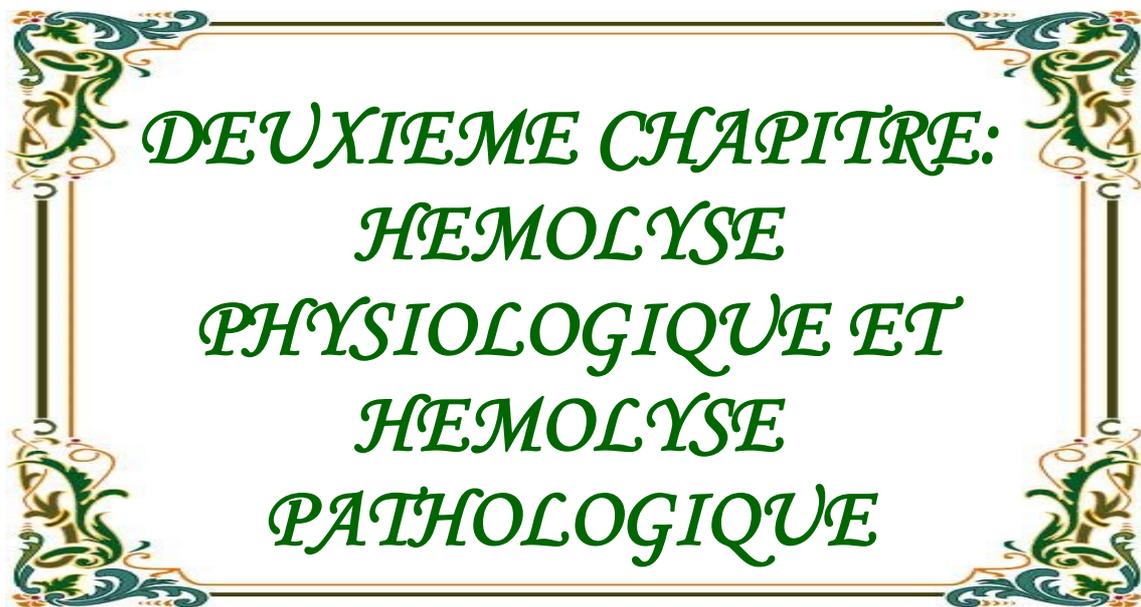


Figure 9 : Schéma de la glycolyse érythrocytaire [1].



*DEUXIEME CHAPITRE:  
HEMOLYSE  
PHYSIOLOGIQUE ET  
HEMOLYSE  
PATHOLOGIQUE*

## **I. L'hémolyse physiologique :**

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les GR sont détruits après une durée de vie moyenne de 120 jours, et libèrent leur contenu hémoglobinique dans le milieu extérieur. Elle est compensée immédiatement par la moelle osseuse, sans répercussions cliniques ni biologiques.

La perte physiologique journalière est estimée entre 1 et 2 % de la masse globulaire totale.

L'hémolyse physiologique est un phénomène essentiellement intra-tissulaire, et une faible partie (10 à 20%) est intra-vasculaire [1].

### **I.1. Hémolyse intra-tissulaire :**

#### **I.1.1. Siège et mécanisme :**

Les GR âgés, après une durée de vie normale de 120 jours, sont phagocytés par les macrophages du système des phagocytes mononucléés.

Chez le sujet normal, la majorité des GR sont détruits dans les macrophages de la moelle osseuse (minimum 50%). Le reste de l'hémolyse se répartit dans l'organisme, en particulier dans la rate et le foie [1].

Cette phagocytose porte sur des GR dont le vieillissement s'est traduit par :

- des modifications biochimiques : diminution du contenu enzymatique, ralentissement métabolique, perte des lipides membranaires, phénomènes oxydatifs.
- des modifications morphologiques : tendance à la sphéricité par réduction de la surface membranaire et/ou hyperhydratation.
- des modifications de la plasticité : diminution de la déformabilité des GR entraînant une stagnation dans les capillaires.

### I.1.2. Le devenir des constituants du globule rouge :

Dans les conditions d'équilibre, l'hémolyse détruit chaque jour les GR les plus âgés et la moelle osseuse libère dans la circulation sanguine une quantité égale de GR. Chaque jour 1/120 de nos GR sont détruits, libérant 6 à 8g d'hémoglobine (Hb).

L'Hb libérée sera catabolisée (**Figure 10**) :

➤ **La partie globinique :**

Elle est hydrolysée en acides aminés qui rejoignent le pool métabolique général [1].

➤ **Le fer de l'Hb :**

Le fer libéré va être récupéré par l'organisme (circuit fermé) :

- 2/3 de ce fer passe dans la circulation et se lie à la transferrine pour être réutilisée pour l'érythropoïèse;
- le 1/3 restant est stocké dans les macrophages sous forme de ferritine et d'hémosidérine [1].

➤ **La partie hémique :**

Elle est dégradée par une hème-oxygénase qui ouvre le cycle tétrapyrolique. L'hème-oxygénase est présente dans les macrophages, mais également dans les hépatocytes et les cellules du tubule rénal. Cette réaction produit la biliverdine qui sera transformée en bilirubine non conjuguée (BNC) par une réductase NADPH dépendante [1].

Les macrophages rejettent dans le plasma la BNC. Cette dernière étant insoluble dans l'eau, elle est liée à l'albumine, qui la transporte aux hépatocytes [1].

La BNC se dégage du complexe qu'elle forme avec l'albumine et subit une glucurono-conjugaison dans l'hépatocyte libérant ainsi la bilirubine conjuguée (BC), hydrosoluble, qui sera ensuite excrétée dans les canalicules biliaires [1].

La BC est transformée par les bactéries intestinales en urobilinogène et stercobilinogène, qui s'oxydent en urobiline et stercobiline. La plus grande partie est éliminée dans les selles. Une petite quantité d'urobiline est réabsorbée par l'intestin et passe dans les urines.

Normalement, il n'y a pas de BC dans le plasma. En cas de blocage de l'élimination de la BC, il y a reflux de BC dans le sang, responsable d'ictère. La BC liée à l'albumine est transportée vers le rein; puis éliminée par les urines, qu'elle colore [1].

**Remarque :** Chez le nouveau-né et plus encore chez le prématuré, la glucurono-conjugaison se fait mal à cause de l'insuffisance enzymatique. Il en résulte une augmentation de la BNC, responsable de l'ictère physiologique du nouveau-né.

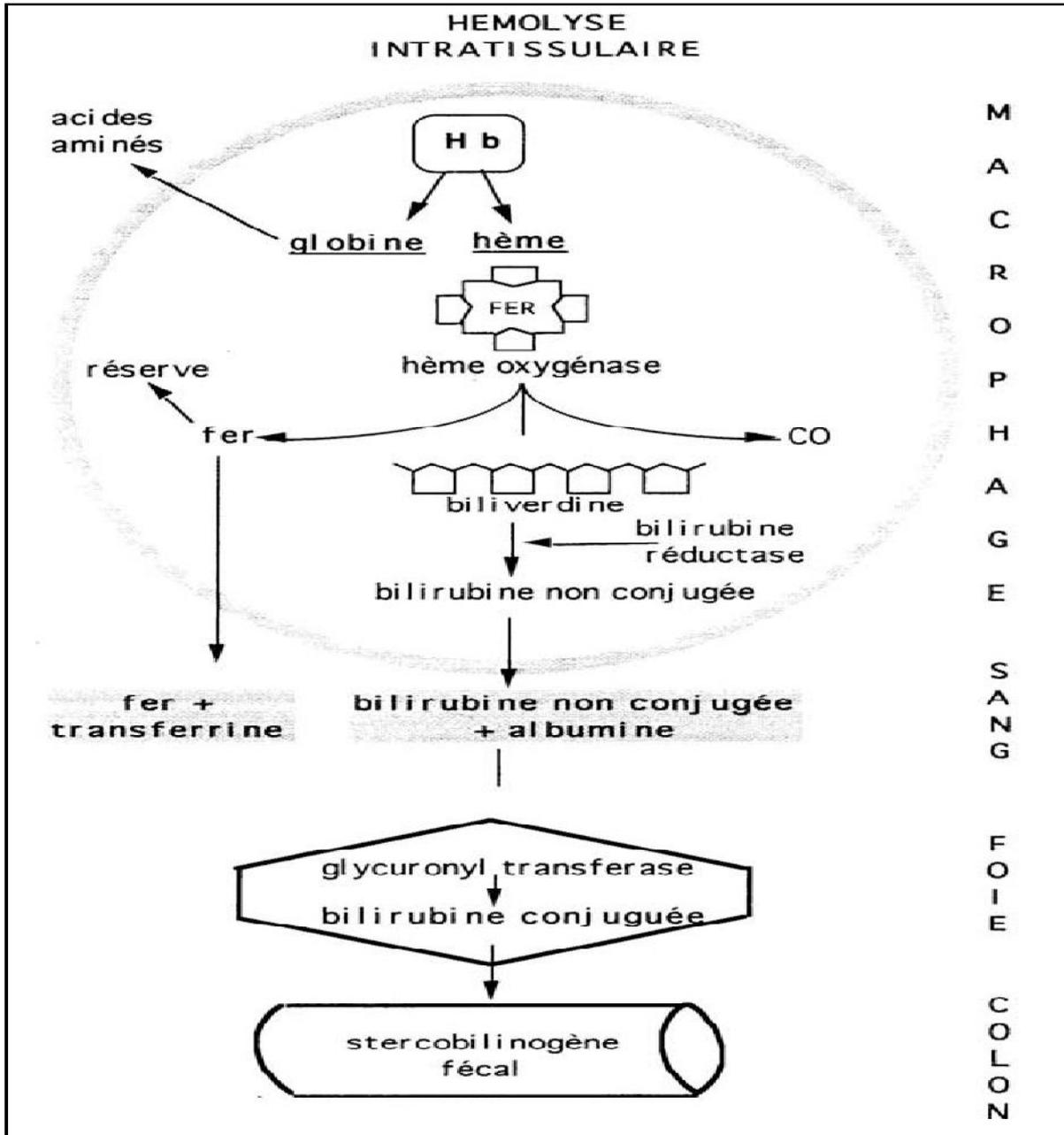


Figure 10 : schéma d'hémolyse intra-tissulaire [1]

## **I.2. L'hémolyse intra-vasculaire : (Figure 11)**

➤ Une faible partie de l'hémolyse se déroule au sein même de la circulation sanguine. Dans ce cas, l'Hb est libérée dans le plasma, où elle forme un complexe avec l'haptoglobine, synthétisée par le foie. Ce complexe, stable et soluble, sera capté par l'hépatocyte au niveau duquel l'Hb est dégradée. La taille du complexe haptoglobine-Hb ne lui permet pas de traverser le glomérule rénal [1].

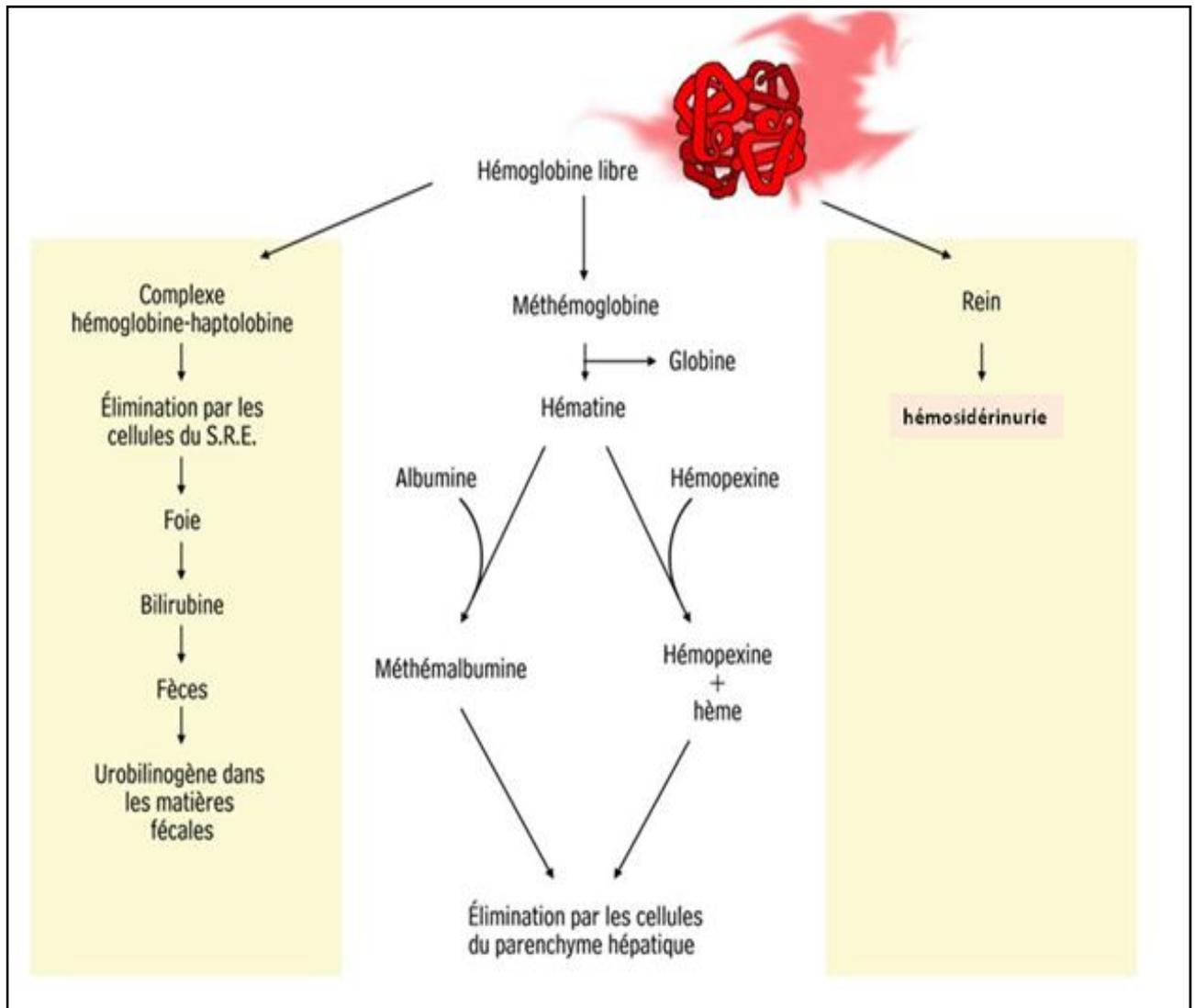
Si la capacité de fixation de l'haptoglobine est débordée. L'Hb en excès reste libre et traverse le filtre glomérulaire après dissociation de la molécule d'Hb en deux dimères. Elle est réabsorbée par les cellules du tubule rénal qui la catabolisent et se chargent de dépôts de fer. Une hémossidérinurie apparaît quelques jours plus tard lorsque les cellules desquament dans les urines.

➤ L'Hb libérée dans la circulation peut être éliminée par une troisième voie.

Après auto-oxydation en méthémoglobine et dissociation en globine et hémine, celle-ci peut être fixée à :

- l'hémopexine, formant un complexe hémine -hémopexine éliminé par le foie mais plus lentement que complexe hémoglobine-haptoglobine;
- l'albumine, dont l'affinité pour l'hème est très inférieure à celle de l'hémopexine.

Même en cas d'hémolyse intra-vasculaire, la dégradation de l'Hb est finalement toujours intracellulaire. Ce sont les cellules épithéliales du foie et du rein qui interviennent à la place des macrophages [1].



**Figure11:** Schéma d'hémolyse intra vasculaire [15].

*SRE : système réticulo-endothélial appelé actuellement système des phagocytes mononuclés*

## **II. L'Hémolyse pathologique ou hyper-hémolyse : [16]**

C'est la destruction précoce et exagérée des GR circulants. Elle sera responsable d'une anémie hémolytique.

Les principaux facteurs qui déterminent la flexibilité d'un érythrocyte normal sont :

- sa forme de disque biconcave, caractérisée par un rapport surface/volume favorable (à l'opposé, la sphère est la forme géométrique qui possède le plus petit rapport s/v);
- la flexibilité de sa membrane;
- la fluidité de son contenu en Hb.

L'intégrité de ces facteurs dépend essentiellement de celle du métabolisme énergétique de la cellule et de son rôle dans diverses fonctions comme la perméabilité membranaire, le pouvoir de réduction et le maintien d'un rapport ATP/Ca<sup>++</sup> favorable à la flexibilité du réseau de protéines contractiles qui constitue le squelette sous-membranaire.

Toute modification ou atteinte de l'un ou l'autre de ces facteurs est susceptible de rendre la cellule prématurément incapable de franchir les interstices du filtre splénique, responsable de son séquestration et sa destruction précoce.

L'hémolyse pathologique peut se produire à l'extérieur ou à l'intérieur même de l'espace vasculaire. Ceci dépend du mécanisme causal et de la brutalité avec laquelle la membrane érythrocytaire est attaquée.

### **II.1. L'hémolyse extra-vasculaire : [1, 17]**

Elle se produit au sein du système des phagocytes mononuclés et constitue une exagération du mécanisme normal de retrait des GR de la circulation. C'est la **rate**, avec sa structure anatomique particulière, qui en est le site préférentiel puisqu'elle est capable de reconnaître l'existence d'altérations minimales de la membrane et de la flexibilité érythrocytaires.

Le foie, à cause de ses nombreuses sinusoides bordées de macrophages (cellules de Kupffer), peut lui aussi être le site d'une hémolyse anormale dans les cas où la membrane des GR est altérée de façon plus importante ou en l'absence de rate. Dans un cas comme dans l'autre, la phagocytose des hématies altérées est au premier plan, de sorte qu'il n'y a pas de libération significative d'Hb libre directement dans la circulation (**Figure 12**).

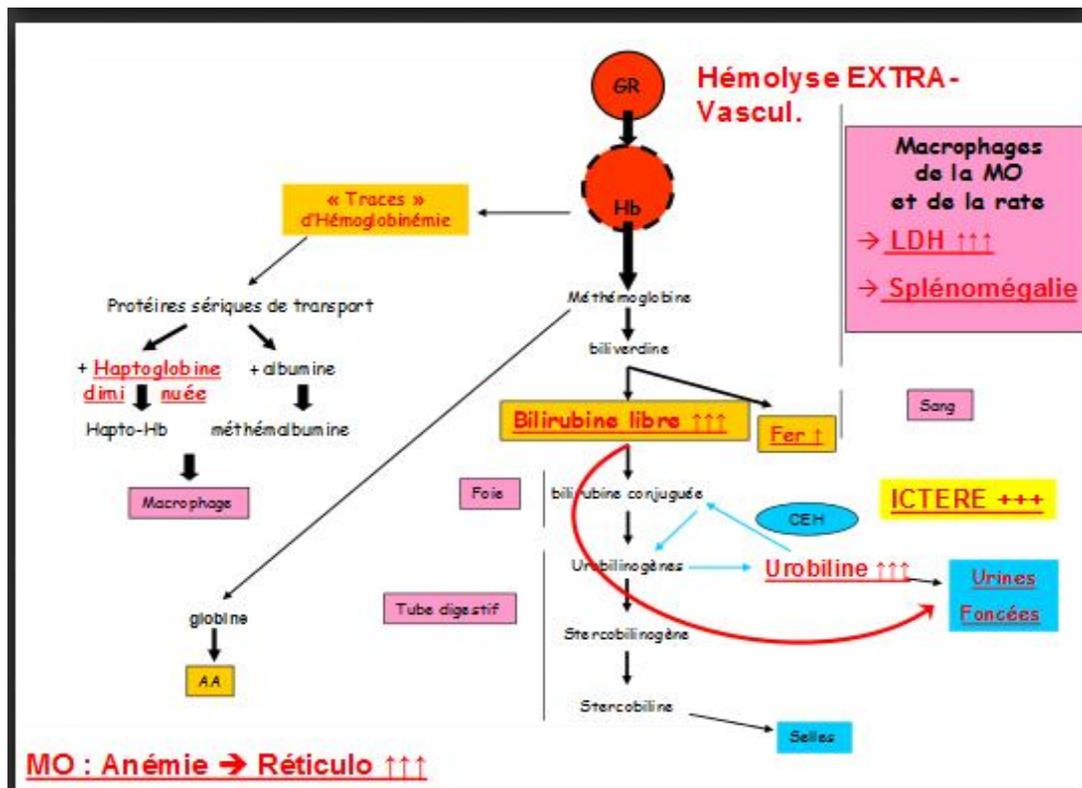


Figure 12 : Hyper-hémolyse extra- vasculaire [18].

## II.2. L'hémolyse intra-vasculaire : [1,17]

Comme son nom l'indique, elle se produit directement dans la circulation et s'accompagne généralement d'une libération plus ou moins brutale d'Hb libre qui doit être alors débarrassée par liaison spécifique avec l'haptoglobine du plasma, ou non spécifique avec l'albumine. Une fois les capacités de liaison dépassées, la bilirubine libre qui s'accumule dans le plasma est toxique. La bilirubine libre, non liée, peut traverser la barrière hémoméningée et léser gravement les noyaux gris centraux.

Cette forme d'hémolyse témoigne toujours d'une agression beaucoup plus rapide de la membrane érythrocytaire par des mécanismes qui peuvent être aussi bien physiques (exemple : fragmentation par une valve artificielle) que chimiques (toxines, médicaments oxydants) ou immunologiques (anticorps fixant le complément). Lorsque la quantité d'Hb libérée dépasse la capacité de liaison à l'haptoglobine, cette forme d'hémolyse peut s'accompagner d'hémoglobinémie, d'hémoglobinurie ou d'hémosidérinurie (**Figure 13**).

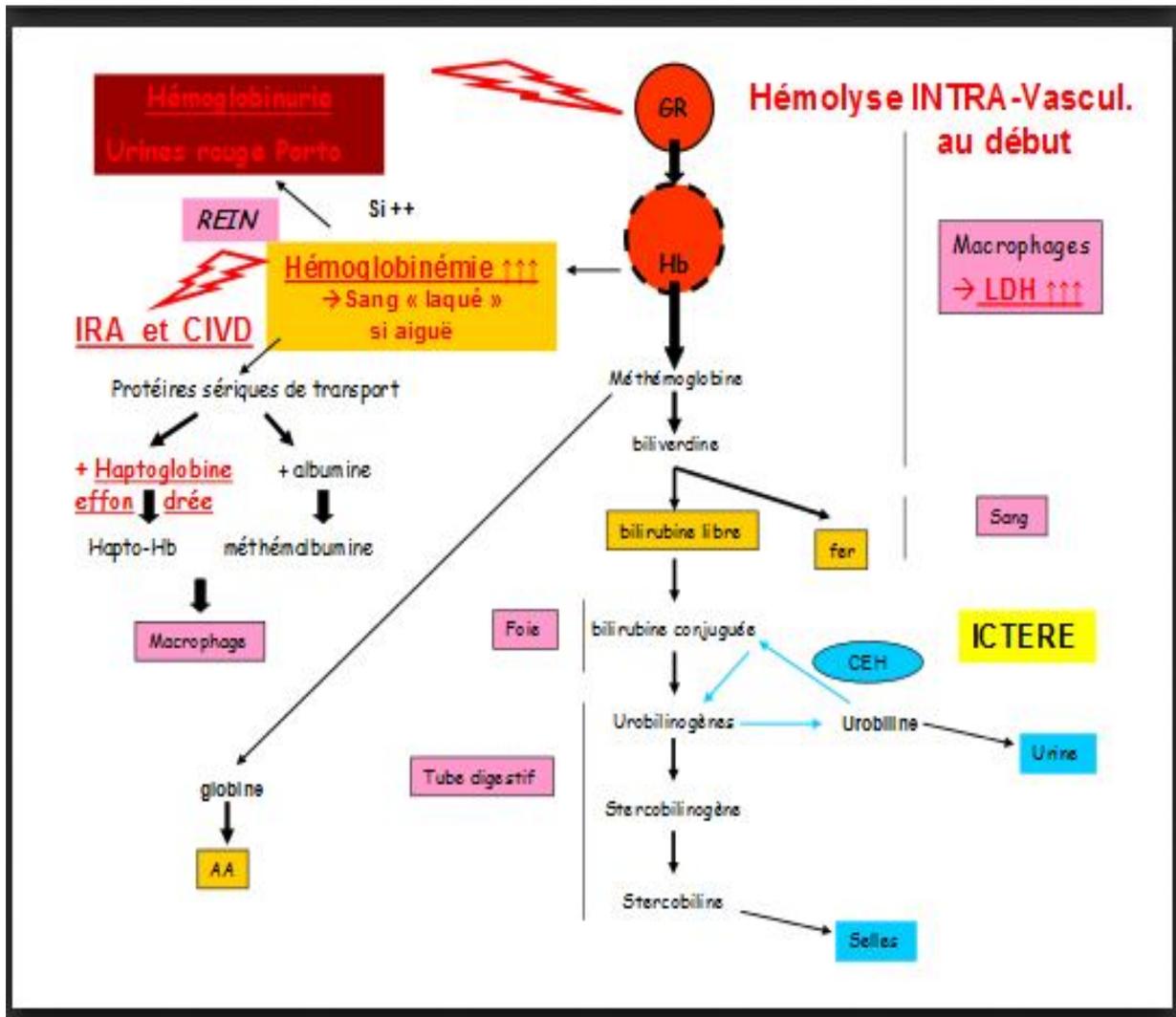


Figure 13: Hyper-hémolyse intra-vasculaire [18].

CEH : Cycle entéro-hépatique



*TROISIEME CHAPITRE:  
CIRCONSTANCES DE  
DECOUVERTE*

Les circonstances de découverte de l'hyper-hémolyse varient en fonction de l'intensité de l'hémolyse, du mode d'installation aigu ou chronique et selon son siège [19].

### **I- L'hémolyse chronique: [20] (Tableau 1)**

Elle est souvent de siège **extra-vasculaire**. Elle se caractérise par la **triade clinique d'hémolyse** qui comporte la pâleur, l'ictère et la splénomégalie.

Les signes cliniques observés ne sont pas nécessairement parallèle à la concentration d'Hb.

- ✓ La **pâleur** : intéresse la peau, les plis de la main, les muqueuses (bouche et conjonctives) ;
- ✓ L'**asthénie** : est plus ou moins importante selon le cas;
- ✓ L'**ictère** est cutanéomuqueux avec selles non décolorées et urines orangées.

Parfois on retrouve un subictère.

En plus de la triade classique, d'autres signes cliniques reflètent surtout :

- ✓ L'activation de **mécanismes compensatoires** tels la tachycardie, les palpitations plus marqués à l'effort; la céphalée pulsatile; les acouphènes; la dyspnée d'effort, l'orthopnée et l'œdème malléolaire ;
- ✓ **L'état de la circulation** veineuse et artérielle tels l'angine de poitrine; la claudication intermittente et l'ischémie cérébrale transitoire ;
- ✓ Des signes en rapport avec l'expression de la **maladie causale**.

### **II- L'hémolyse aigue : (Tableau 1)**

C'est une **urgence vitale** et elle est intra-vasculaire. Elle se caractérise par la pâleur, l'ictère, des urines rouge foncé «Proto» (hémoglobinurie), des frissons, la fièvre, des myalgies, des douleurs abdominales, un syndrome méningé, des nausées, des vomissements, une diarrhée, voir un état de choc anurique [20].

	EXTRA Vascul	INTRA Vascul.
S Anémique	+++	+ <u>1/1 Pb choc ou rénal</u>
Splénomégalie	+ à +++	0
Ictère	+ à +++	0 ou retardé
Urines « porto »	0	+ à +++
Douleurs lombaires	0	Parfois

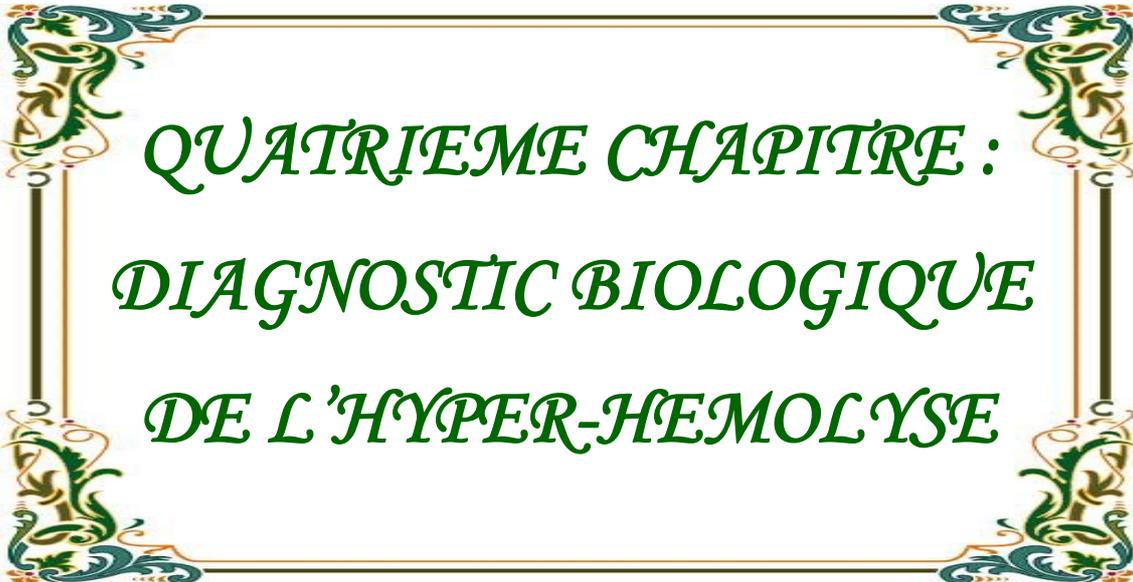
**Tableau 1** : Tableau comparatifs des signes cliniques dans l'hémolyse extra et intra-vasculaire [18].

### **III. La Découverte fortuite :**

Le diagnostic d'hémolyse peut se faire lors d'un bilan systématique.

### **IV. L'interrogatoire :**

Dans tous les cas l'interrogatoire recherchera un contexte infectieux, la notion de transfusion récente, la notion de prise médicamenteuse, les antécédents personnels, la notion de cas similaires dans la famille...



*QUATRIEME CHAPITRE :  
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE  
DE L'HYPHER-HEMOLYSE*

Le diagnostic biologique positif de l'hémolyse pathologique consiste à affirmer l'hyper-hémolyse et à déterminer son siège.

## **I. Affirmer l'hyper-hémolyse :**

Ils existent :

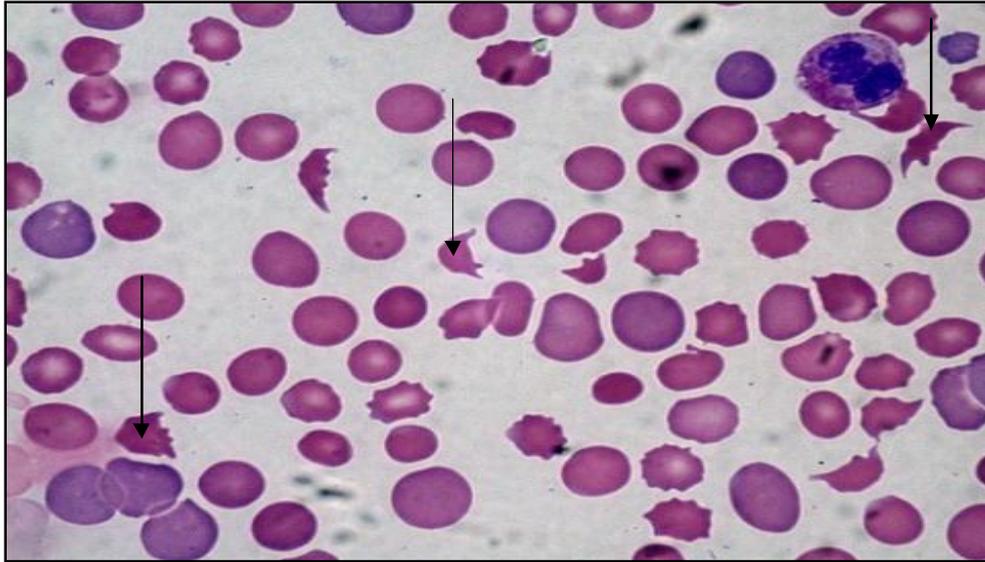
- **des marqueurs indirects** qui sont les plus utilisés en pratique courante ;
- et des **marqueurs directs** peu utilisés.

### **I.1. Les Marqueurs indirects : [21]**

#### **I.1.1. Les marqueurs hématologiques :**

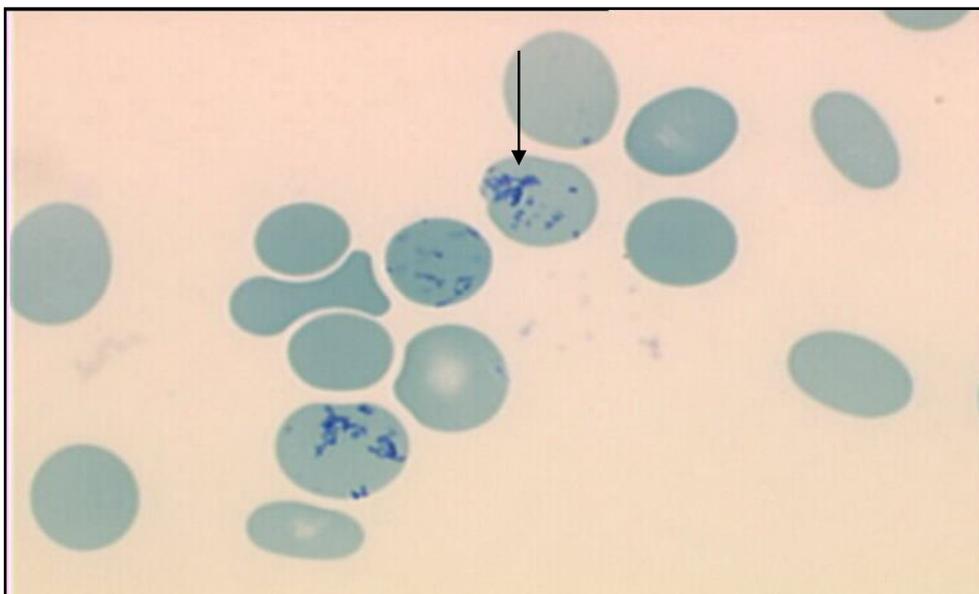
➤ **L'Hémogramme** : Réalisé actuellement par technique automatisée, il montre une anémie normochrome, normocytaire ou discrètement macrocytaire. Une anémie hypochrome microcytaire peut se voir dans le cas particulier des thalassémies hétérozygotes. Une hyperleucocytose (jusqu'à 15 Giga/l) à prédominance neutrophile et une thrombocytose (jusqu'à 600 Giga /l) peuvent être observées.

➤ **Le frottis sanguin** : montre une anisocytose, polychromatophilie, voir une poïkilocytose. Il permet de rechercher la présence de sphérocytes, de **schizocytes** ou GR «cassés» ou lysés témoin de l'hémolyse (**Figure 14**). Des érythroblastes circulants ainsi qu'une discrète myélémie peut être retrouvés.



**Figure 14** : Schizocytes sur frottis sanguin coloré au MGG [22].

➤ **Le Taux de réticulocytes (Figure 15)** : il doit être réalisé loin de toute transfusion sanguine sinon un délai minimum de trois mois doit être respecté. Il est supérieur à **120 Giga/L** témoignant de la régénération. Néanmoins un taux normal peut être retrouvé au début de la crise hémolytique. Il est réalisé actuellement par technique automatisée.



**Figure 15** : réticulocytes avec coloration au bleu de crésyl brillant [22].

**I.1.2. Les marqueurs biochimiques : (Tableau 2) [23]**

On retrouve des signes d'hypercatabolisme de l'Hb représentés par la diminution de l'haptoglobine, l'augmentation de la BNC, l'augmentation des lactico-déshydrogénase (LDH), l'augmentation du fer sérique, l'augmentation du stercobilinogène, augmentation d'urobiline, présence d'une hémoglobinémie et d'une hémoglobinurie. Parfois des cylindres hématiques sont présents dans les urines avec une hyperkaliémie.

	<i>Hémolyse intravasculaire</i>	<i>Hémolyse extravasculaire</i>	<i>Hémolyse intramédullaire</i>
<b>Billrubine non-conjuguée</b>	↑ + / ++	↑ +++	↑ +
<b>LDH</b>	↑ +++	N	↑ +++
<b>Haptoglobine</b>	↓ +++	N / ↓ +	N / ↓ +
<b>Hémoglobinurie</b>	↑ ± / +++	nil	nil
<b>Hémosidérinurie</b>	↑ ± / +++	nil	nil

**Tableau 2** : Les principaux marqueurs biochimiques d'hémolyse [17].

**I-2- Marqueurs directs :**

Si le diagnostic est difficile, l'hémolyse sera confirmée par la diminution de la durée de vie des GR à l'étude isotopique de la durée de vie des hématies au Chrome 51 (**Figure 16**). Elle est rarement réalisée car c'est un examen long et onéreux.

Après incubation du sang avec un sel de chrome radioactif, on réinjecte les GR au sujet. L'étude de la décroissance de la radioactivité. On arrête l'épreuve quand la radioactivité initiale a diminué de moitié. La demi-vie des GR normale est de  $28 \pm 2$  jours. Tout raccourcissement de cette durée de vie témoigne d'une hémolyse exagérée.

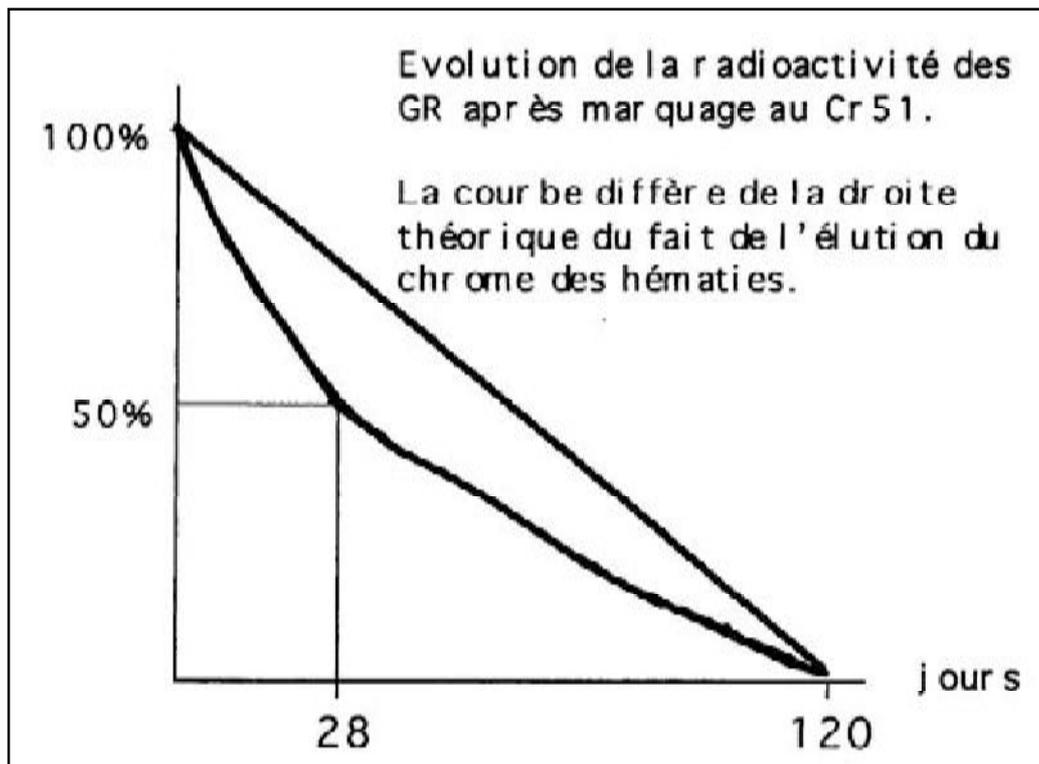
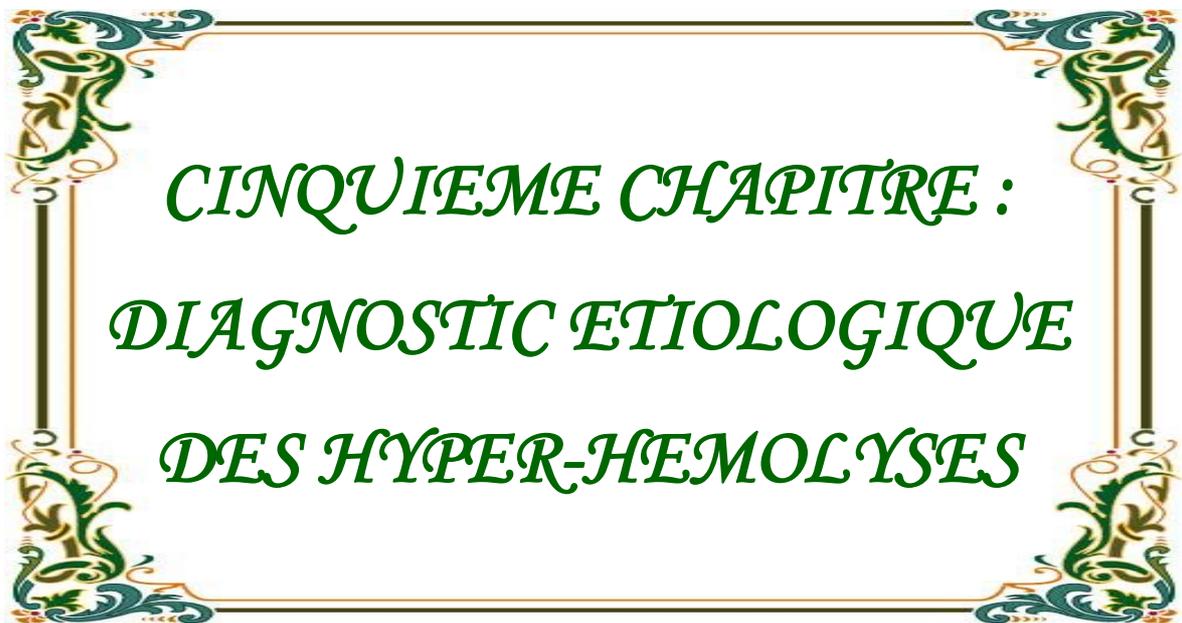


Figure 16 : Evolution de la radioactivité des GR après marquage au Cr 51[24].



*CINQUIEME CHAPITRE :  
DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE  
DES HYPER-HEMOLYSES*

L'hyper-hémolyse est responsable d'anémie hémolytique. La cause de cette hémolyse pathologique peut être soit acquise (les anémies hémolytiques acquises) soit congénitale (les anémies hémolytiques congénitales) et affecte un des constituants vitaux du GR : la membrane, les enzymes ou l'Hb. Dans un cas particulier la cause peut être à la fois congénitale et acquise.

## **I. Les anémies hémolytiques acquises :**

Le groupe des anémies hémolytiques acquises est très fréquent en pratique et ils comportent plusieurs groupes :

### **I.1. Les Hémolyses d'origine immunologique :**

Les anémies hémolytiques immunologiques résultent d'un conflit immunologique dont sont victimes les hématies. Elles groupent trois entités, distinctes par leur mécanisme [25] :

- **Les anémies hémolytiques auto-immunes AHAI** : où l'Ac produit par le système immunitaire de l'individu est dirigé contre ses propres hématies ;

- **Les anémies hémolytiques immuno-allergiques** : où le conflit immunologique est lié à des complexes immuns souvent médicamenteux dont le dépôt sur les hématies « innocentes » engendre leur destruction.

- **Les anémies hémolytiques iso-immunes** : par contact d'hématies ou de plasma incompatibles, c'est le cas des accidents d'incompatibilité transfusionnelle et de l'incompatibilité foeto-maternelle ;

#### **I.1.1. Les Anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) :**

Elles résultent d'un conflit entre un Ac produit par le sujet lui-même contre un Ag de ses propres hématies. Les conséquences de ce conflit sont variables dans leur expression clinique et immuno-hématologique, pouvant engendrer une anémie extrêmement brutale et sévère. Des données récentes permettent de mieux comprendre leurs mécanismes, les affections qui les favorisent ainsi que les implications thérapeutiques nouvelles ou émergents [25].

### **A. Les mécanismes physiopathologiques :**

Les AHAI sont, parmi les maladies auto-immunes, celles où le rôle des auto-Ac est le mieux défini. Ce sont des hémolyses par auto-anticorps. Les GR sont détruits suite de la fixation sur leur membrane d'auto-Ac dirigés contre des Ag normalement présents à leur surface, habituellement des substances de groupes sanguins, le plus souvent des systèmes I/i, RH et P.

Des anomalies du système immunitaire favorisent leur survenue : déficit en lymphocytes T suppresseurs, activation polyclonale des lymphocytes B, activation de lymphocytes auto-réactifs. Ces anomalies pourraient survenir à la suite d'un événement déclenchant ou non [26].

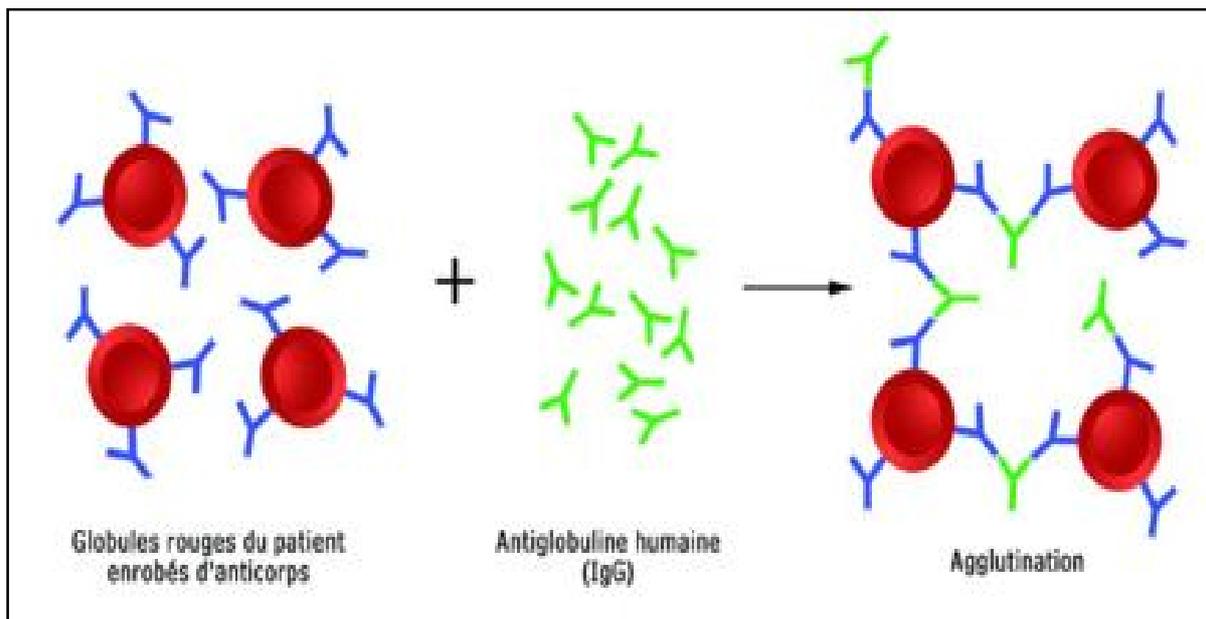
Un motif antigénique commun entre GR et agent infectieux [27,28,29] peut jouer un rôle déclenchant par réaction croisée. De plus, il existe une prédisposition génétique. Enfin, la présence d'autoanticorps peut être secondaire au développement d'un clone tumoral B (IgM monoclonale ayant une activité agglutinine froide dans la maladie chronique des agglutinines froides par exemple) [30].

### **B. Diagnostic immuno-hématologique :**

Les techniques utiles pour le diagnostic et le classement de la nature du conflit auto-immun sont le test à l'antiglobuline direct et indirect (test de Coombs), l'étude du sérum et l'élution des Ac fixés sur les hématies.

#### **✓ Le test direct à l'antiglobuline direct : TDA (Figure 17)**

Il consiste à rechercher la présence d'Ac directement fixés sur les hématies. On met en présence les hématies débarrassées de leur plasma par lavages successifs avec un Ac anti-immunoglobuline (antiglobuline) et on apprécie alors l'agglutination qui en résulte. On estime qu'il faut une concentration d'au moins 500 molécules d'Ac par hématie pour que l'agglutination soit décelable [31].



**Figure 17** : Principe du TDA [32].

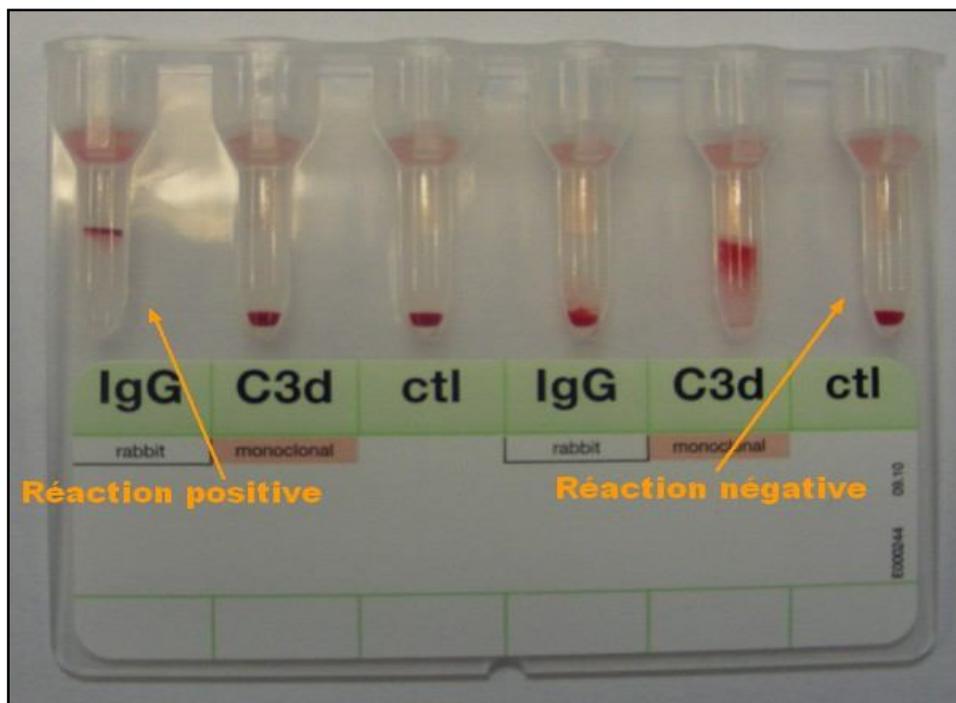
Ce test est classiquement effectué à 4 °C, et à 37 °C à l'aide d'antiglobulines polyvalentes puis spécifiques (anti-IgG, anti-IgM). Il précise ainsi la classe de l'Ac et sa nature chaude ou froide (**Tableau 3**).

Ac	Spécificité	Temp
Ig G seul	Anti-D, c, e	Chaud
Ig G + C	Anti-D, c, e	Chaud
C seul	Anti-I	Chaud
Ig M + C	Anti-I, i	Froid
« biphasique »	Anti-P	« biphasique »

**Tableau 3** : Caractéristiques immunologiques et optimum thermique des Ac identifiés par le test à TDA [18].

Dans la plupart des laboratoires d'immuno-hématologie actuels, le test direct à l'antiglobuline est effectué en phase solide dans un gel automatisable (**Figure 18**). Cette méthode est plus sensible et pourrait déceler la présence de 100 à 150 molécules d'Ac par hématie [31].

Les Ac le plus souvent identifiés sont : les Ac de type IgG + complément (45% des cas) ou IgG (35% des cas), parfois de type complément seul (10% des cas), rarement IgA+IgG (5%) ou IgM+IgG+complément (5%) [33].



**Figure 18:** test direct à l'antiglobuline positif sur carte à gel [31].

✓ **Test indirect à l'antiglobuline: TIA (Figure 19)**

Il permet de déceler un Ac sérique, non entièrement fixé sur les GR, qui peut être un auto-AC ou un allo-Ac, parfois associé. Le sérum du malade est mis en évidence par l'agglutination avec un sérum anti-Ig.

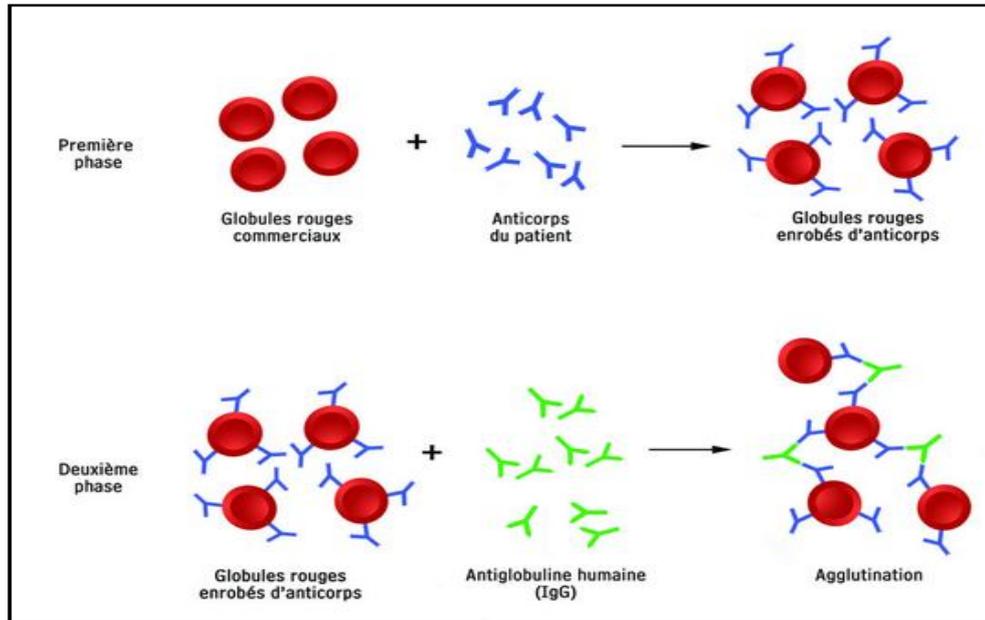


Figure 19 : Test indirect à l'antiglobuline [32].

Ce test permet de détecter les auto-Ac non dépistés par le TDA.

✓ **L'étude du sérum** : est surtout utile pour déceler la présence d'Ac de faible affinité ou s'étant spontanément élués dans les conditions techniques de l'examen. C'est en particulier le cas des **agglutinines froides**. On peut ainsi en déterminer le titre exprimé en fraction de dilution.

✓ **Elution-fixation** :

L'éluion consiste à détacher les Ac fixés sur les hématies en utilisant, selon les cas, des procédés comme la chaleur, éther, abaissement de pH. Elle permet de définir la spécificité des Ac vis-à-vis des Ag de groupes sanguins. Le complexe GR-Ac est dissocié, et les Ac sont mis en contact avec un panel de GR de phénotype connu (RH, I, i). La spécificité de l'éluant peut être comparée avec celles des auto-Ac sériques [1].

### C. Diagnostic étiologique :

#### ✓ *Les anémies hémolytiques à auto-anticorps chauds :*

Ce sont les plus fréquentes en pratique médicale, observées chez l'enfant comme chez l'adulte [1]. La symptomatologie clinique peut être aiguë par la survenue en quelques heures d'un tableau trompeur : malaise, fièvre avec frissons, douleurs abdominales, lombalgies, ictère s'intensifiant rapidement, parfois vomissements, hémoglobinurie brutale et état de choc pouvant égarer vers une urgence abdominale [34]. Cette forme correspond à une hémolyse brutale intra-vasculaire. Parfois l'installation est progressive et correspond à une hémolyse extravasculaire. Des formes asymptomatiques découvertes fortuitement sont possibles [35].

Le TDA montre le plus souvent une positivité de type IgG, ou IgG et complément. Les maladies associées à ces hémolyses par anticorps chauds ne sont pas toujours identifiables et dans 50 et 70 % des cas ils restent idiopathiques. Le **Tableau 4** représente les principales maladies associées aux anémies hémolytiques auto-immunes à **auto-Ac chauds** [31].

	Maladies associées	
Anticorps chauds	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladies systémiques</li> <li>• Maladies inflammatoires</li> <li>• Déficits immunitaires</li> <li>• Lymphoproliférations</li> <li>• Médicaments</li> <li>• Infections</li> <li>• Divers</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lupus systémique, polyarthrite rhumatoïde.</li> <li>• Crohn, RCH, thyroïdite.</li> <li>• DICV, VIH.</li> <li>• LLC, lymphomes T périphériques.</li> <li>• Méthyl dopa, levodopa, acide méfénamique, procainamide, diclofénac</li> <li>• MNI</li> <li>• Kyste dermoïde ovarien, thymome bénin.</li> </ul>
Anticorps froids	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphoproliférations</li> <li>• Infections</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie des agglutinines froides</li> <li>• Leucémie lymphoïde chronique</li> <li>• Mycoplasma pneumoniae</li> <li>• EBV, CMV, VIH, VZV, influenza, adénovirus</li> <li>• Treponema pallidum, Escherichia coli</li> <li>• Listeria monocytogenes</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hémolysine</li> <li>• biphasique</li> </ul>	Infections	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mycoplasma pneumoniae</li> <li>• EBV, VIH, VZV</li> <li>• Influenza A, adénovirus, rougeole, oreillons</li> <li>• Treponema pallidum, Escherichia coli</li> <li>• Hemophilus influenzae</li> </ul>

**Tableau 4 :** Principales maladies associées aux anémies hémolytiques auto-immunes [31].

**Cas particuliers :**

- **Le syndrome d'Evans** est caractérisé par une AHAI associée à une thrombopénie d'origine immunologique [34,35].

- L'anémie après greffe d'organe ou de tissus : l'hémolyse immunologique peut relever de nombreux mécanismes. Un conflit Ac-donneur/GR-donneur est observé dans une faible proportion de cas, généralement dans les mois qui suivent une allogreffe non apparentée. En plus, une hémolyse des hématies du receveur peut être secondaire à l'activation des lymphocytes contenus dans le greffon lui-même (lymphocytes « passagers »).

✓ ***Les anémies hémolytiques à auto-anticorps froids :***

Ces variétés sont dominées par deux entités immuno-hématologiques principales : l'hémoglobulinurie paroxystique à frigore (hémolysine biphasique de Donath-Landsteiner) et les hémolyses par agglutinines froides [1].

➤ **L'hémoglobulinurie paroxystique à frigore : [31]**

Sa fréquence est mal appréciée. Elle est surtout associée au développement de certaines infections : la syphilis, aujourd'hui plus souvent les infections virales (mononucléose infectieuse, oreillons, varicelle, rougeole), ou par *Mycoplasma pneumoniae*.

L'Ac, de nature IgG, est dit biphasique car il fixe le complément à froid ( $< 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), l'hémolyse ayant lieu à chaud ( $> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). L'Ag érythrocytaire est presque toujours un Ag du système P.

➤ **Les hémolyses par agglutinines froides : [36]**

L'anémie est aiguë, intra-vasculaire, associée à des signes de cryopathie (acrocyanose, voire nécrose des extrémités). Elles sont caractérisées par la propriété de l'auto-anticorps d'agglutiner les hématies à une température optimale de  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  et de provoquer leur hémolyse en présence de complément. Elles sont observées dans deux types de circonstances :

- Les agglutinines froides **transitoires** : souvent observées au cours ou au décours d'infections bactériennes ou virales : infections à *Mycoplasma pneumoniae*, à virus d'Ebstein-Barr, plus rarement listériose, endocardite d'Osler, paludisme, leishmaniose, infection à

cytomégalovirus, à coxsackie, etc. Le test de Coombs est généralement de type complément. L'agglutinine froide est décelée dans le sérum étudié à 4°C, son titre en règle peu élevé (entre 1/16<sup>e</sup> et 1/64<sup>e</sup>). L'Ag érythrocytaire en cause est généralement un des épitopes du système Ii [36].

- Les agglutinines froides **permanentes** ou chroniques : particulières par l'évolution épisodique avec des poussées hivernales et par le caractère monoclonal de l'auto-Ac agglutinant. Il s'agit dans la majorité des cas d'une IgM monoclonale à chaîne légère kappa. La maladie chronique des agglutinines froides est une forme particulière de macroglobulinémie dont le clone lymphoïde B est encore inapparent lors des premières manifestations de l'hémolyse, et le reste souvent longtemps après [36].

Plus rarement, des agglutinines froides de caractère polyclonal accompagnent des maladies systémiques telles la cirrhose du foie, l'hépatite chronique, les néoplasies coliques, pulmonaires, rénales, l'angiosarcome de Kaposi, ou au cours des hémopathies lymphoïdes chroniques telle la leucémie lymphoïde chronique, des greffes de cellules souches hématopoïétiques, et des déficits immunitaires [36].

### **I.1.2. Les hémolyses immuno-allergiques :**

Le médicament (ou un de ses métabolites ou l'excipient) est reconnu comme un Ag, soit directement soit comme haptène en association avec la membrane de l'hématie ou couplé à une protéine de transport [37]. Ceci déclenche l'apparition d'Ac actifs uniquement en présence du médicament. L'hémolyse est déclenchée avec ou sans intervention du complément.

Les médicaments responsables sont nombreux, on cite : les pénicillines, les céphalosporines, la rifampicine, la quinine, le diclofénac, l'ibuprofène, le furosémide, le chlorpromazine, l'oxaliplatine,... [38].

### **I.1.3. Les hémolyses iso-immunes :**

Elles sont déclenchées par le contact d'hématies et de plasma incompatibles. Leur survenue est limitée et leur prévention est basée sur l'observance intangible des règles de sécurité transfusionnelle avec la recherche obligatoire d'une agglutinine irrégulière chez le receveur dans les trois jours qui précèdent la transfusion. On peut observer aussi de tels accidents en cas de transfusion de quantités importantes de plasma ABO incompatible.

Le même type d'accident est parfois observé en cas de greffe de cellules souches hématopoïétiques lorsque donneur et receveur ont des groupes érythrocytaires différents : l'accident est observé dès que le patient change de groupe, et que coexistent des hématies du donneur incompatibles avec les Ac naturels ABO du receveur ou inversement [39].

L'incompatibilité foëto-maternelle est aujourd'hui une cause rare d'hémolyse iso-immune, grâce aux mesures de prévention systématique du risque par l'injection d'immunoglobulines anti-D [40].

### **I.2. Les hémolyses toxiques :**

Plusieurs métaux peuvent être à l'origine d'une hémolyse, on cite hydrogène arsénié, le cuivre et le Plomb responsable du saturnisme, maladie professionnelle la plus fréquente dans le monde [41]. Dans ce dernier cas, l'anémie résulte des effets inhibiteurs du plomb sur la biosynthèse de l'hème et ses interférences dans le métabolisme du fer [42]. En plus, le plomb accélère la destruction des GR. L'anémie est microcytaire, hypochrome. Le diagnostic de certitude est apporté par l'élévation de la plombémie, de la plomberie et de la protoporphyrine érythrocytaire [41-43].

### **I.3. Les hémolyses mécaniques :**

Les hémolyses mécaniques (ou par fragmentation) surviennent, soit à la suite de l'éclatement des hématies dans le torrent circulatoire du fait de chocs directs sur des obstacles ou de turbulences excessives induites soit par diverses anomalies des parois cardiaques ou des gros vaisseaux (macro-angiopathies), soit consécutivement au passage des GR au contact de travées de fibrine intra vasculaires (micro-angiopathies).

Ces agressions physiques vont déclencher également une déformation de la membrane érythrocytaire, puis sa rupture, expliquant la présence d'hématies de morphologie altérée : les schizocytes.

#### **I.3.1. Les macro-angiopathies :**

✓ **Prothèses valvulaires ou vasculaires :** des stigmates biologiques d'hémolyse sont constatés chez deux tiers des patients porteurs de prothèses mécaniques [44,45].

Les hémolyses les plus significatives se rencontrent avec les prothèses aortiques, qui siègent dans la zone du plus fort gradient de pression [46,47]. Elles sont générées par un excès de turbulences conduisant à l'éclatement des GR et retardant l'endothélialisation du matériel [44-46].

✓ **Pathologies valvulaires ou vasculaires non opérées** : des hémolyses mécaniques sont observées au cours des dysfonctionnements sévères des valves cardiaques (insuffisance ou rétrécissement), voire des pathologies des gros troncs telle la coarctation de l'aorte [41,44].

✓ **Circulation extracorporelle (CEC)** : une hémolyse «hydrodynamique» peut être observée après passage du sang dans les circuits de la CEC. Son intensité dépend des caractéristiques propres du circuit et de la pompe.

✓ **Chocs palmo-plantaires répétés** : lors de la marche ou des courses prolongées, les hématies subissent des agressions intenses et répétées au niveau des lacis sanguins des plantes des pieds. Une hémoglobinurie dite de « marche » apparaît dans les heures suivant l'exercice [48]. Actuellement, ce phénomène est devenu moins fréquent du fait des progrès effectués sur l'amorti des chaussures disponibles. Le même phénomène est transposable au niveau des mains pour les joueurs à main nue (pelote basque), les percussionnistes (tam-tam, conga) ou les karatékas [49].

### **I.3.2. Les micro-angiopathies :**

La micro-angiopathie thrombotique (MAT) se définit par l'association d'une anémie hémolytique mécanique (présence de schizocytes sur le frottis sanguin avec test de Coombs négatif) et d'une thrombopénie périphérique. Les deux principales formes de MAT sont : [50]

- le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT)
- et le syndrome hémolytique et urémique (SHU)

L'hypertension maligne, les angiomes disséminés ou géants (syndrome de Kasabach-Merritt), certaines coagulations intra vasculaires disséminées peuvent, eux aussi, être à l'origine de l'apparition de micro-angiopathies thrombotiques.

✓ **le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) :**

Il résulte de l'existence d'Ac dirigés contre une métalloprotéase l'ADAMTS 13, responsable du clivage des multimères de facteur Von Willebrand de haut poids moléculaire. L'accumulation de multimères de FW mal clivés et hyper-adhésifs est responsable de la formation de microthrombi au contact desquels les GR vont se lyser [51].

En revanche, dans les formes familiales, un déficit constitutionnel en métalloprotéase semble en cause [52].

✓ **le syndrome hémolytique et urémique (SHU) :** Il est précédé par une diarrhée souvent sanglante ou une infection urinaire avec septicémie. Les germes en cause sont *Shigella dysenteriae* productrice de shigatoxine, *Streptococcus pneumoniae*. En dehors de ces causes infectieuses, des mutations des gènes de protéines régulatrices de la voie alterne du complément ou des auto-Ac peuvent être retrouvées [51].

**I.4. Les hémolyses infectieuses :**

- Le chef de fil est l'hémolyse accompagnant l'infection à **plasmodium** en particulier dans la forme à *Plasmodium falciparum* [53]. Les hématies parasitées ont une altération de la membrane (modification des échanges sodiques et de la distribution des phospholipides et du cholestérol) et sont détruites par la rate. Elles subissent les conséquences d'un processus d'oxydation par baisse de l'activité de la glutathionperoxydase [54]. En plus du parasite lui-même, les monocytes semblent également participer à la peroxydation des lipides membranaires, phénomène qui provoque la lyse des GR. L'hémolyse a également une composante immune [53-55].

Les autres parasites responsables d'hémolyses sont : *babesia*, *Trypanosomes*.

- Des agents bactériens peuvent être responsables aussi d'hémolyse, on cite : *bartonella bacilliformis*, *clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, streptocoques ou de staphylocoques [41,42].

## **II. Les anémies hémolytiques congénitales :**

Elles comportent :

- Les anomalies de la membrane érythrocytaire.
- Les anomalies de l'Hb ou les hémoglobinopathies.
- Les anomalies des enzymes érythrocytaires ou les enzymopathies.

Dans tous ces types d'anémie, l'origine géographique, le contexte familial et l'interrogatoire recherchant un facteur déclenchant sont des outils importants pour le diagnostic positif.

### **II.1. Les anomalies de la membrane érythrocytaire :**

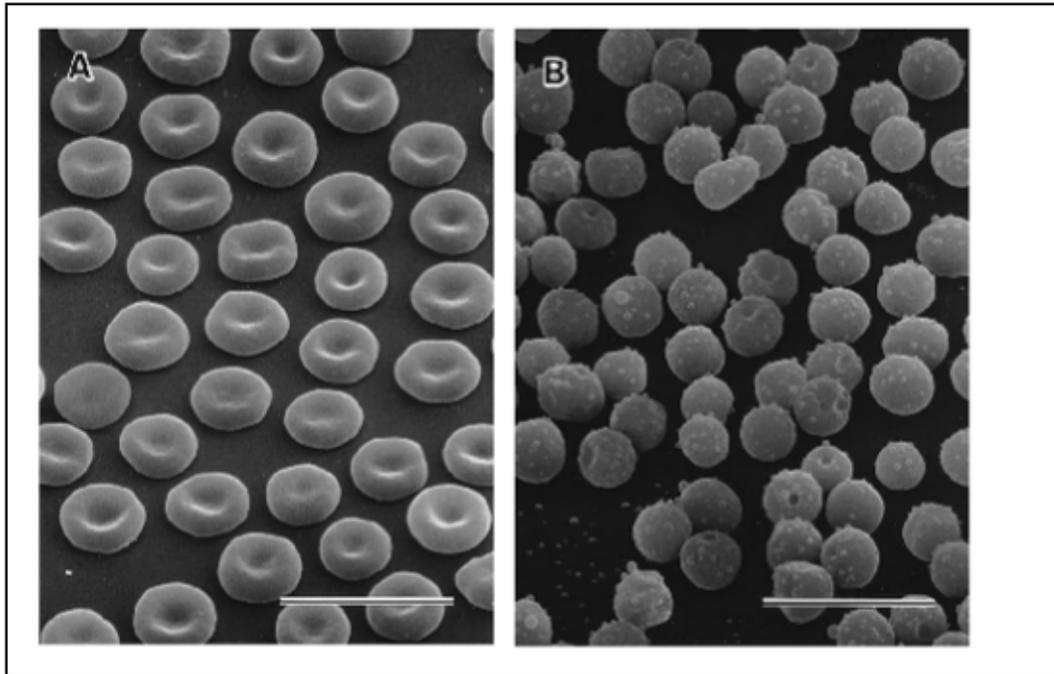
#### **A. La sphérocytose héréditaire (SH) ou maladie de Minkowski Chauffard :**

C'est la maladie constitutionnelle la plus fréquente GR en Europe du Nord et en Amérique du Nord.

##### **1. Physiopathologie :**

Quelle que soit la protéine responsable, son déficit aboutit à une déstabilisation de la bicouche lipidique, avec comme conséquence une perte de matériel membranaire sous forme de microvésicules. Il en résulte une diminution de la surface du GR, une déshydratation cellulaire, avec comme corollaire une diminution du rapport surface/volume (S/V) et donc une sphérisation des cellules, une diminution de leur résistance osmotique et une diminution de leur déformabilité (**Figure 20**) [56].

Les GR sont séquestrés dans les capillaires, surtout au niveau de la rate, et phagocytés prématurément par les macrophages.



**Figure 20:** Observation au microscope à balayage électronique des GR sains et GR au cours de SH [56].

## 2. Les données génétiques :

Le mode de transmission est dominant dans 75 % des cas.

Cinq gènes au moins sont susceptibles de porter des mutations responsables de SH. Il s'agit, par ordre de fréquence décroissante, des gènes ANK11 codant pour l'ankyrine 1, SLC4A1 codant pour la bande 3, transporteur d'anions, SPTB codant pour la chaîne  $\beta$  de la spectrine, EPB42 codant pour la protéine 4.2, et SPTA1 codant pour la chaîne  $\alpha$  de la spectrine (Tableau 5,6) [57].

Gène muté	Protéine altérée	Mode de transmission	Mutations de novo
<b>ANK1</b>	Ankyrine-1	Dominant	Oui
<b>SLC4A1</b>	Transporteur des anions	Dominant	Oui
<b>SPTB</b>	Chaîne $\beta$ de la spectrine	Dominant	Oui
<b>EPB4.2</b>	Protéine 4.2	Récessif	Non
<b>SPTA1</b>	Chaîne $\alpha$ de la spectrine	Récessif	Non

**Tableau 5** : Les principaux gènes mutés responsables de SH [56].

ankyrine	50 – 60 %
spectrine	20 %
protéine bande 3	15 – 20 %
protéine 4.2	< 5 %
complexe Rh	< 1 %
Non identifié	10 %

**Tableau 6** : Fréquence des atteintes des protéines membranaire dans SH dans les populations nord-européennes [56].

### 3. Les circonstances de découverte :

Le diagnostic de SH est le plus souvent fait au cours de l'enfance ou chez l'adulte jeune. Toutefois, la maladie peut rester méconnue et être diagnostiquée tardivement [58] ou au cours d'une enquête familiale.

Le principal signe clinique est la splénomégalie. Dans la SH secondaire à un déficit homozygote en bande 3 une tubulopathie proximale est souvent associée [58]. Une lithiase biliaire pigmentaire, complication fréquente au cours des anémies hémolytiques constitutionnelles, peut également être révélatrice surtout chez le sujet jeune. Rarement, la maladie peut être révélée par une anémie sévère secondaire à une érythroblastopénie concomitante, le plus souvent liée à une primo-infection par le parvovirus B19 [59].

### 4. Le diagnostic biologique :

Le diagnostic est en général aisé lorsqu'il existe des antécédents familiaux, des signes cliniques évidents (pâleur, ictère, splénomégalie) et des examens biologiques simples sans ambiguïté révélant une anémie régénérative avec signes d'hémolyse, présence de sphérocytes sur le frottis sanguin et diminution de la résistance osmotique.

#### 4.1. Les examens d'orientation :

##### ➤ L'hémogramme avec les indices érythrocytaires:

○ L'anémie est d'intensité très variable. Le taux très bas des GR chez certains patients révèle une crise de déglobulisation [60]. Certains auteurs ont proposé de **classer la SH** en : [7,61]

- **Formes asymptomatiques** : Hb et réticulocytes normaux pour l'âge,
- **Formes minimales** :  $11 \leq \text{Hb} \leq 15 \text{ g/dl}$  et  $3\% \leq \text{réticulocytes} \leq 6\%$ ,
- **Formes modérées** :  $8 \leq \text{Hb} \leq 12 \text{ g/dl}$  et réticulocytes  $> 6\%$ ,
- **Formes sévères** :  $6 \leq \text{Hb} \leq 8 \text{ g/dl}$  et réticulocytes  $> 10\%$ .
- **Les Indices érythrocytaires** : sont d'une **grande aide au diagnostic**
  - La **CCMH** calculée est élevée, supérieure à 35 g/dl chez plus de la moitié des patients. La CCMH présente une bonne spécificité mais une sensibilité médiocre.

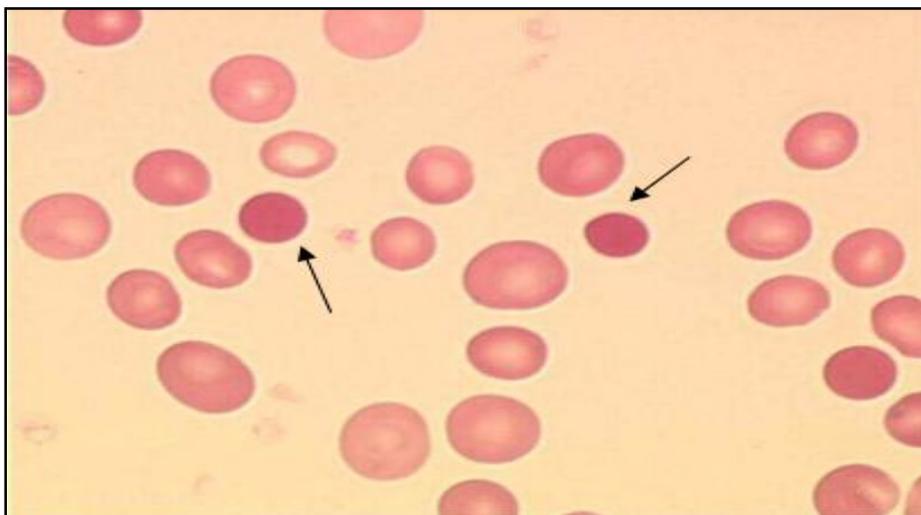
La combinaison d'une CCMH > 35 g/dl et d'un indice de distribution érythrocytaire > 14% est en faveur de SH avec une sensibilité de 63% et une spécificité de 100 %.

- Le pourcentage des **cellules hyperdenses**, fournis par certains automates actuels, anormalement élevé (valeur normale < 4 %), constitue un élément précieux pour le diagnostic, à côté de la CCMH. Il s'associe à la constatation sur l'histogramme des concentrations d'Hb d'un débord vers la zone des cellules denses. Il reflète le degré de la déshydratation cellulaire et il n'est pas spécifique [7,62].

- La diminution du **volume réticulocytaire** (VCMr) au dessous de 100 fl, est d'un grand apport diagnostique et un VCMr élevé (> 115 fl) écarte le diagnostic de SH [62].

✓ **Le frottis sanguin :**

Le **sphérocyte ou microsphérocyte** se présente sur le frottis sanguin comme une hématie de petite taille, dense, arrondie. Elle a perdue le halo clair central (**figure 21**). La découverte de sphérocytes est le premier argument en faveur du diagnostic, mais elle n'est pas synonyme de SH. Une très forte réticulocytose peut masquer le caractère sphérocytaire. Leur pourcentage sur frottis sanguin est très variable d'un malade à l'autre [7,56].



**Figure 21 :** Sphérocytes sur frottis sanguin coloré au MGG [56].

Dans certains cas, en particulier dans les déficits en bêta-spectrine, ou après splénectomie, les sphérocytes sont associés à des acanthocytes ou à des sphéro-acanthocytes [60]. Lorsque l'anomalie est un déficit en protéine bande 3, certaines hématies peuvent présenter un bourgeonnement, avec étranglement, à un pôle de la cellule évoquant un aspect en «**champignon**» spécifique de cette variété de SH (Figure 22) [63, 64,65].

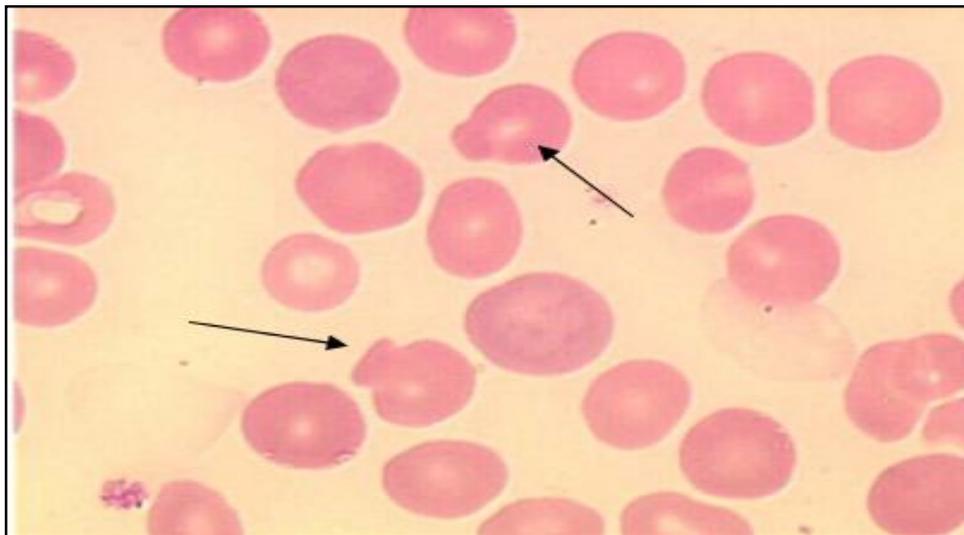


Figure 22: Sphérocyte en «champignon» [56].

Le **Tableau 7** représente les principaux paramètres cliniques et les résultats des examens biologiques simples au cours de SH [56].

<b>Paramètres cliniques</b>	Pâleur, splénomégalie, ictère inconstants
<b>Hémogramme - indices érythrocytaires- réticulocytes</b>	↓ Hb, ↑ CCMH, ↑ réticulocytes ↑% cellules hyperdenses, ↓ VCMr
<b>Frottis sanguin</b>	Sphérocytes ( <i>peuvent être absents</i> )
<b>Bilan biochimique</b>	↑ Bilirubine libre, ↓ haptoglobine, ↑ LDH...
<b>Test de Coombs érythrocytaire</b>	Négatif

**Tableau 7** : Critères diagnostiques simples de SH [56].

#### 4.2. Les Examens spécifiques pour le diagnostic de SH :

##### ➤ Étude de la fragilité osmotique des GR :

Ces tests sont peu coûteux et réalisables par tous les laboratoires mais laborieux et lourds à mettre en œuvre. Ils doivent être réalisés sur des GR frais ou gardés à 4°C si l'examen doit être différé de quelques heures. Les GR d'un témoin prélevé dans les mêmes conditions seront testés en parallèle. Il existe plusieurs examens basés sur l'étude de la fragilité osmotique :

➤ **Résistance globulaire osmotique :**

Découverte par Chauffard, cette étude consiste à mettre des GR en milieu hypotonique, il se produit alors une entrée d'eau intracellulaire. Cette hydratation va étirer la membrane érythrocytaire. Dans les sphérocytes où le rapport surface/volume est diminué, il y'aura une hémolyse initiale pour des concentrations osmolaires **plus élevées** (0,45-0,50% de NaCl) **(Figure 23) [7,56, 66]**.

Ce test a été pendant longtemps considéré comme test de référence bien que sa spécificité et sa sensibilité soient faibles [7, 66]. En effet, 34 % des patients porteurs de SH non splénectomisés ont un test normal. Ceci peut être expliqué par la déshydratation cellulaire car la fragilité osmotique dépend non seulement de la surface cellulaire mais aussi de son volume. Le test peut également être normal si une carence en fer ou un ictère par obstruction sont associés ou après une crise aplasique quand le nombre de réticulocytes est augmenté [56].

Le test peut être sensibilisé en le répétant après 24 heures d'incubation à 37°C.

Des faux positifs peuvent se voir dans les anémies hémolytiques d'origine immune et l'elliptocytose héréditaire.

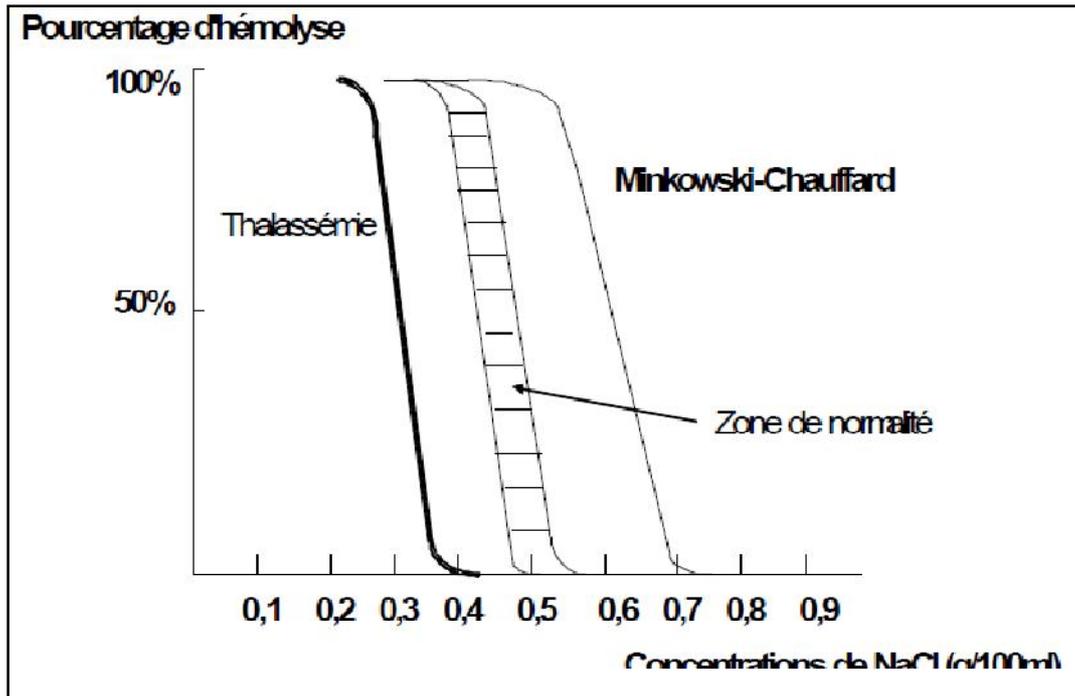


Figure 23 : Résultats du test de fragilité osmotique des GR [66].

➤ **Le test d'auto-hémolyse 48h à 37°C :**

Ce test est peu réalisé actuellement. Il permet de mettre en évidence, une destruction spontanée anormalement exagérée des sphérocytes après incubation à 37°C pendant 48h. Dans le GR normal, l'hémolyse n'apparaît qu'à la 48ème heure avec moins de 4% d'Hb. Dans SH ce test est fortement positif : hémolyse de 5% au bout de 24h et pouvant atteindre 30 à 40% au bout de 48h. La correction est possible par le glucose [5, 56, 67]. Cependant un test normal ou subnormal n'exclut pas le diagnostic. Test très sensible mais peu spécifique.

➤ **Le test de lyse au glycérol acidifié (AGLT) :**

Ce test utilise un milieu hypotonique contenant du glycérol qui ralentit l'entrée d'eau dans le GR et mesure le temps nécessaire pour obtenir 50 % de l'hémolyse initiale. Chez un sujet normal, elle est obtenue après plus de 30 minutes. Dans la SH l'hémolyse est plus rapide (50 à 100 secondes). La sensibilité de test est de 81,6 % et la spécificité est de 100 % en

comparaison avec le pink test. C'est un test simple, rapide, peu coûteux et peut être réalisé jusqu'à 24 heures après prélèvement [68].

➤ **Le test de cryohémolyse :**

Il consiste à une lyse des GR dans un milieu hypertonique lors de changement de température. Le pourcentage de cryohémolyse est le rapport entre la densité optique mesurée à 540 nm de l'échantillon après 10 minutes d'incubation à 0°C et celle après une hémolyse de 100 %. Un sujet normal a un pourcentage de cryohémolyse compris entre 3 et 15 %. En cas de SH, il est supérieur à 20 %. Test peu coûteux, simple à mettre en œuvre et rapide. Il ne nécessite qu'un faible volume de sang (200 à 500 µL), ce qui le rend accessible aux nouveaux-nés. En plus, et contrairement à la résistance osmotique normalement diminuée chez les nouveau-nés, il n'y a aucune influence de l'âge sur la cryohémolyse. Ce test a une sensibilité de 100 % et une spécificité de 90% [7,68].

➤ **Le pink test :**

C'est un test de lyse au glycérol acidifié modifié. Il mesure l'hémolyse d'un petit échantillon de sang dans une solution contenant du glycérol, du NaCl, du NaN<sub>3</sub> et du HCl avec une osmolarité fixée précisément à 290 mOsm. Cette solution est tamponnée à un pH de 6,6. Après incubation des GR du témoin et ceux du patient avec la solution, on procède à une centrifugation. Une première lecture de la densité optique est réalisée puis une deuxième après avoir lysé tous les GR. Le résultat correspond au rapport entre ces deux valeurs d'absorbance. Chez un sujet normal ce rapport est compris entre 0 et 28,5 %.

Il a l'avantage d'utiliser très peu de sang, d'être d'exécution rapide et peut être réalisé dans tous les laboratoires qui ont accès à un osmomètre. Sa sensibilité varie de 96 à 97,4 %, mais sa spécificité est seulement de 78,9 % par comparaison à l'Ektacytométrie [7,33, 35].

### **4.3. Les examens de certitude :**

**- L'Ektacytmétrie en gradient osmolaire : c'est l'examen de référence.**

Elle étudie la déformabilité de GR soumis à une force de cisaillement constante générée par un viscosimètre de couette. Parallèlement, on fait varier de façon continue l'osmolarité du

milieu de suspension. Les GR circulent en flux continu, passent devant un rayon laser dont ils diffractent la lumière. Le signal lumineux est traduit en index de déformabilité (ID) qui quantifie l'étirement de la cellule qui enregistré en fonction du gradient osmolaire [7,69].

On obtient une courbe indiquant en ordonnée un index de déformabilité et en abscisse l'osmolarité du milieu de suspension (**Figure 24**) [69]. En cas de SH, il ya une diminution de l'ID, une déviation à droite de ID en hypotonie et une déviation à gauche de ID en hypertonie [62,69].

La courbe obtenue donne des renseignements non seulement sur la déformabilité de la membrane érythrocytaire, mais aussi sur la résistance osmotique et sur l'état d'hydratation cellulaire. Elle permet de distinguer la SH de l'elliptocytose héréditaires et de la stomatocytose héréditaire [7,70]. Seuls certains cas de dysérythropoïèses congénitales et d'anémies hémolytiques auto-immunes peuvent reproduire une courbe de SH [71].



Appareil Ektacytmétrie en gradient osmolaire [22].

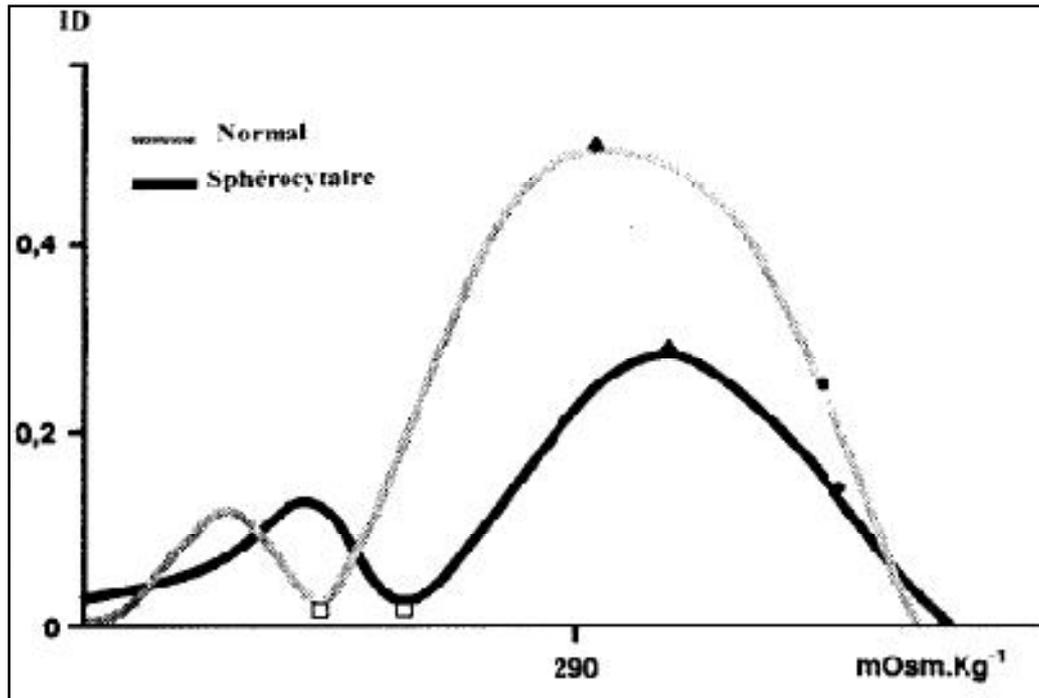


Figure 24: Résultats de l'Ektacytométrie en gradient osmolaire [56]

- La cytométrie en flux après marquage des GR avec EMA (l'éosine-5-maléimide) :

Ce test mesure l'intensité de la fluorescence des GR après les avoir incubés avec EMA, un colorant qui se lie spécifiquement à la lysine-430 de la protéine bande 3 [7,72].

Son principal avantage par rapport à tous les tests utilisés c'est de pouvoir être différé de plusieurs jours (48 heures à 6 jours). Il a une bonne sensibilité (96 %), cependant, il existe des faux négatifs rapportés dans l'étude de King et coll [73] ainsi que des faux positifs (elliptocytose, stomatocytose, dysérythropoïèses congénitales). Ce test semble être très intéressant, mais nécessite d'être mieux évalué [7,74].

**- L'Électrophorèse des protéines membranaires érythrocytaires en gel de polyacrylamide :**

Il s'agit d'une technique délicate réservée à des laboratoires spécialisés. Deux types d'électrophorèse sont utilisés pour chaque échantillon. Elles permettent d'identifier la protéine membranaire déficitaire dans environ 60% des cas [75,76]. Elle est indiquée dans certains cas particuliers tels les formes non dominantes et atypiques de SH, les enquêtes familiales des formes homozygotes ou hétérozygotes composites ou les SH associées à d'autres anomalies du GR [71,77].

**4.4. La biologie moléculaire :**

Aucune équipe ne réalise en routine le séquençage de l'un des 5 gènes impliqués dans la SH. l'indication d'une étude moléculaire est exceptionnelle et réservée au conseil génétique dans des cas de SH très sévère [7].

tests	principe	faisabilité	sensibilité	spécificité
<b>Résistance osmotique</b>	Test d'hémolyse	Examen de routine	66%	faible
<b>Pink test</b>	Test d'hémolyse	Examen simple délai d'exécution du test < 3h	96%	79 à 94%
<b>AGLT</b>	Test d'hémolyse	Délai d'exécution du test > 3h	81%	>95%
<b>Ektacytométrie en gradient</b>	Etude de la déformabilité des GR 1 seul laboratoire en France	Délai d'exécution du test : 24h	Examen de référence	Examen de référence
<b>Cytométrie en flux</b>	Marquage des GR à l'éosine-5-maléimide (liaison à la bande 3)	Non disponible en routine délai d'exécution du test > 48h	En cours d'évaluation	En cours d'évaluation

**Tableau 8** : Examens biologiques spécifiques pour le diagnostic de SH [56].

*AGLT : Test de lyse au glycérol acidifié*  
*EMA : éosine-5'-maléimide*

## **B. L'elliptocytose héréditaire : (EH)**

La transmission est toujours autosomique dominante. Sa répartition est ubiquitaire, avec une forte incidence dans certaines régions d'Afrique où elle atteint 1 % de la population [78].

### **1. Physiopathologie :**

L'anomalie génétique est variable. Dans environ 70% des cas, c'est une mutation qui se situe sur le gène SPTA1 codant pour la chaîne alpha de la **spectrine**. Les autres cas résultent de mutations du gène EPB41 codant pour la **protéine 4.1**. Dans de très rares cas, la mutation se situe sur le gène SPTB codant pour la chaîne bêta de la spectrine [79].

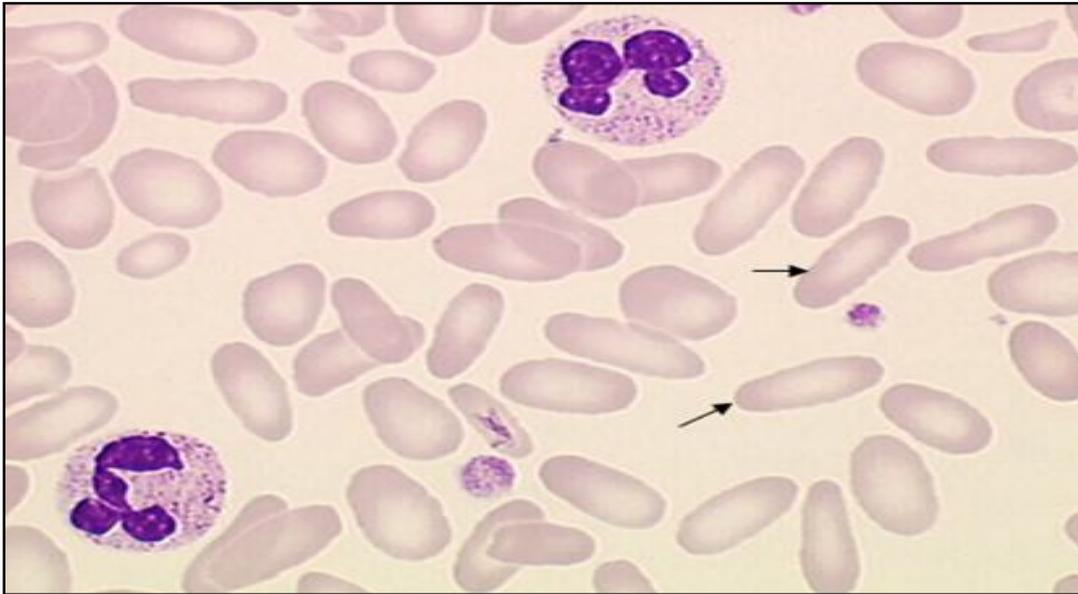
### **2. Les circonstances de découverte :**

Le tableau clinique est polymorphe, allant des formes asymptomatiques révélées par la simple anomalie cytologique découverte sur un frottis sanguin au tableau clinique de Pyropoïkilocytose héréditaire (PPH) en période néonatale voir un tableau d'hémolyse chronique [80].

### **3. Diagnostic biologique :**

- Il repose sur l'analyse du **frottis sanguin** qui objective la présence de 20 à

100 % d'hématies de forme allongée (**figure 25**). Dans la PPH, on retrouve une poïkilocytose avec quelques elliptocytes, mais surtout de nombreux sphérocytes.



**Figure 25:** Frottis sanguin montrant des elliptocytes [80].

- **L'ektacytométrie** confirme le diagnostic en retrouvant une courbe caractéristique trapézoïdale avec diminution de l'ID des hématies [81].

- Les **analyses biochimiques des protéines érythrocytaires** ne sont pas de pratique courante. De même, les études de **biologie moléculaire** restent d'indication exceptionnelle, en dehors de la PPH sévère persistante [80].

### **C. La stomatocytose héréditaire :**

C'est un groupe hétérogène de pathologies érythrocytaires caractérisées par une augmentation de la fuite passive d'eau et de cations monovalents au travers de la membrane érythrocytaire. La stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées (DHSt) en est la forme la plus fréquente. Sa transmission est autosomique dominante [82]. Elle est secondaire le plus souvent à l'absence, ou la réduction d'une protéine transmembranaire et ubiquiste, la stomatine.

➤ **Sur le plan clinique**, le tableau est celui d'une anémie hémolytique chronique peu sévère. Elle doit être aussi évoquée devant toute hémochromatose inexpliquée, une pseudo-hyperkaliémie liée à une fuite massive des ions K<sup>+</sup> *in vitro* dans le tube de prélèvement, la survenue en période néonatale d'épanchements séreux. En plus, la DHSt doit être éliminée devant une anémie hémolytique inexpliquée avant toute splénectomie, du fait des complications thromboemboliques quasi-constantes qu'elle induit [83,84].

➤ **Le diagnostic biologique** repose sur l'analyse du **frottis sanguin (Figure 26)** qui montre la présence de stomatocytes en règle peu nombreux (moins de 10 %) : les stomatocytes présentent une dépression rectiligne en forme de bouche, au lieu de la dépression circulaire observée dans les hématies normales.

Le diagnostic est confirmé par **l'ektacytométrie** qui objective une courbe caractéristique déviée vers la gauche avec diminution de la fragilité osmotique et déshydratation érythrocytaire [83,84].

Les **tests de résistance osmotique** spéciaux relèvent de laboratoires très spécialisés et restent peu accessibles au diagnostic de routine. L'étude de **l'électrophorèse des protéines érythrocytaires** est indiquée dans les exceptionnelles formes hyper-hydratées (OHSt). Enfin, en dehors de quelques cas ponctuels impliquant le gène codant la protéine Bande 3, le diagnostic **génétique** n'est pas disponible à ce jour.

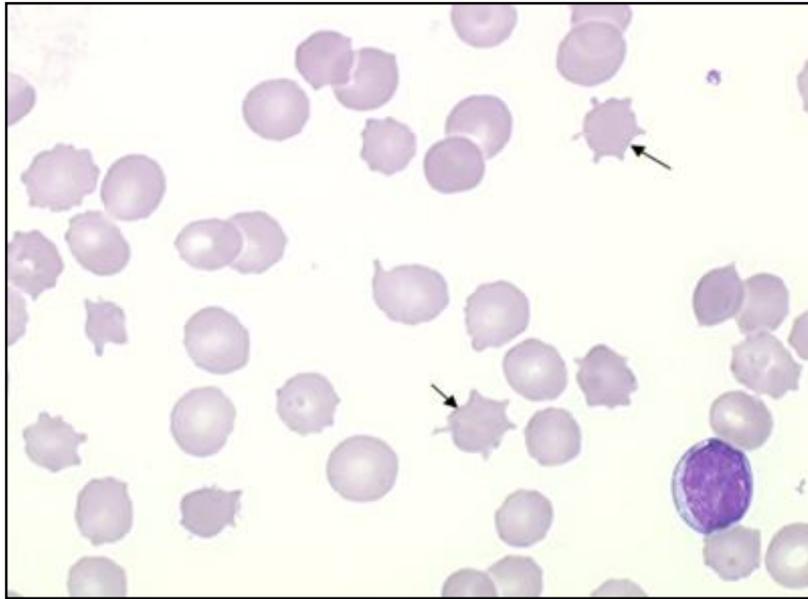


**Figure 26:** Frottis sanguin montrant des stomatocytes [83].

#### **D. L'acanthocytose :**

Les acanthocytes sont des GR circulants qui ont perdu la forme de disque biconcave et présentent des projections cytoplasmiques irrégulières donnant un aspect en «oursins» (**Figure 27**) C'est cette irrégularité des différentes projections cellulaires qui permet de distinguer ces cellules des échinocytes, dont les spicules sont de dimension constante et à distance égale les unes des autres, rappelant ainsi les bogues de châtaigne (burr cells) [85].

L'acanthocytose typique qui s'accompagne d'un désordre lipidique (abêtalipoprotéïnémie) est une maladie autosomique récessive, responsable de l'absence de sécrétion intestinale et hépatique des lipoprotéines contenant l'apolipoprotéine B (apoB) dans le plasma. Cela explique l'hypocholestérolémie profonde et l'absence de détection dans le plasma de toute lipoprotéine riche en apoB en cas d'acanthocyte. Le défaut d'absorption des vitamines liposolubles fait la gravité de l'affection par ses complications neurologiques (Dégénérescence rétinienne pigmentaire) [86,87].



**Figure 27:** Frottis sanguin montrant des acanthocytes [85]

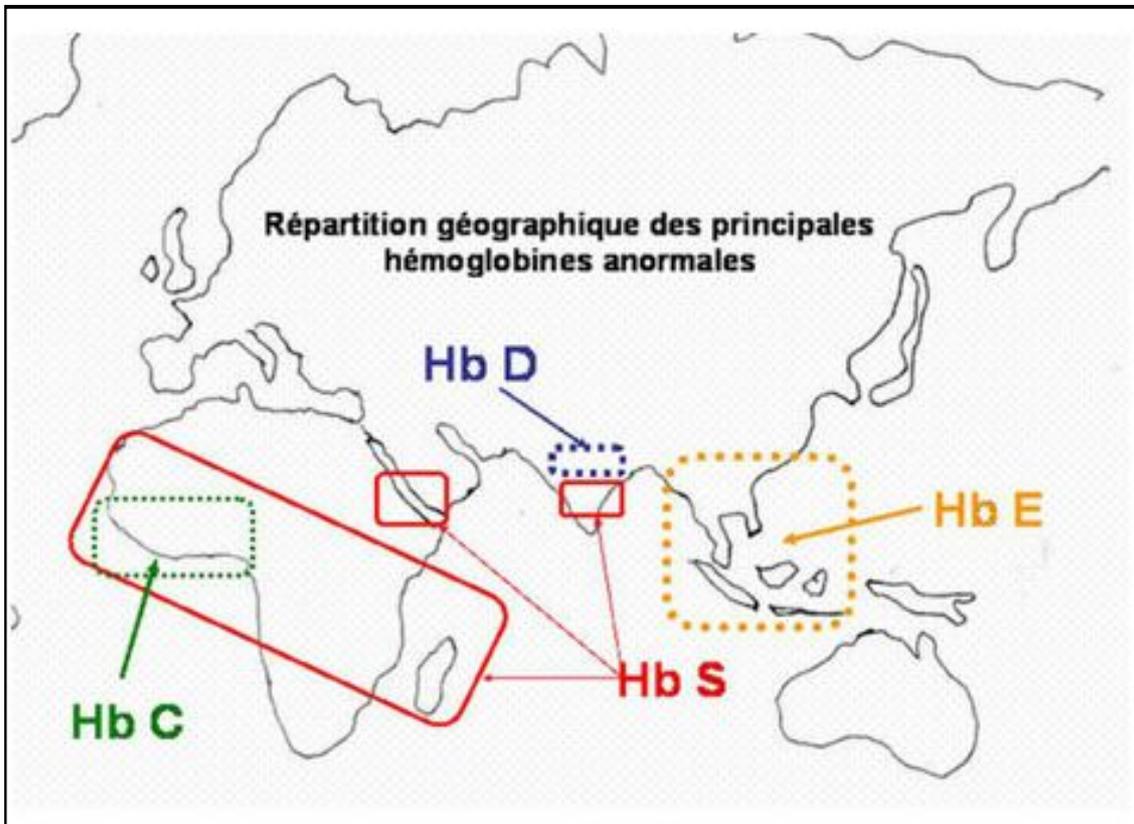
## **II.2. Les hémoglobinopathies :**

Les hémoglobinopathies sont définies par la présence d'anomalies qualitatives et/ou quantitatives touchant les chaînes de globine. À ce jour, près de 700 hémoglobines anormales ont été décrites [88, 89, 90].

Les anomalies **qualitatives** conduisent à la production d'une Hb de structure anormale (HbS ou HbC, HbE ...).

Les anomalies **quantitatives** conduisent à la production d'une quantité insuffisante ou l'absence d'une chaîne de globine ( $\alpha$  thalassémies,  $\beta$  thalassémies...).

La **figure 28** représente la répartition géographique des principales hémoglobines anormales [91].



**Figure 28** : la répartition géographique des principales hémoglobines anormales [91].

### A. La drépanocytose :

La drépanocytose ou *sickle-cell anemia* est caractérisée par la synthèse d'une Hb anormale, l'**HbS**, capable de se polymériser dans certaines circonstances, provoquant la falciformation des GR d'où le terme d'anémie à hématies falciformes.

#### 1. Epidémiologie :

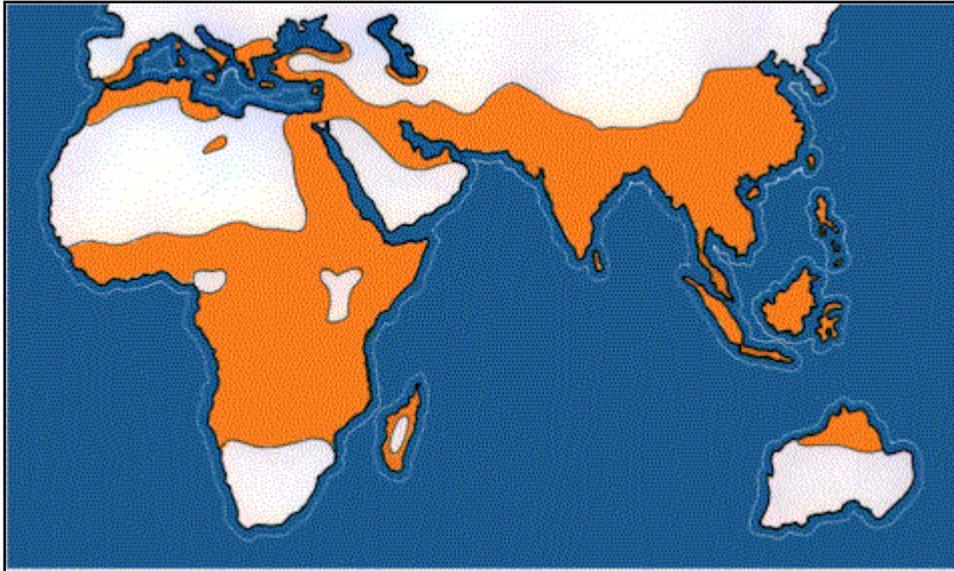
En raison des nombreux mouvements récents des populations qui caractérisent notre époque, la maladie existe aujourd'hui sur tous les continents [104].

C'est l'hémoglobinopathie est la maladie génétique humaine la plus fréquente (**figure 29**) et la plus grave. On estime que dans le monde plus de 50 millions d'individus portent le gène drépanocytaire [92]. Il faut noter que la drépanocytose, bien qu'étant plus fréquente chez les sujets de race noire, elle existe aussi dans les autres races (Arabo-indiens, caucasoïdes). Le **Tableau 9** représente la prévalence de la maladie dans le monde :

Région	Prévalence
Afrique centrale et orientale	30 à 45 %
Inde	31 à 34 %
Afrique de l'Ouest	7 à 20 %
Turquie	13.3%
Antilles	12%
Brésil	7 à 8 %
France	5.34%
La population noire aux Etats-Unis	7%
Europe	0.3 %

**Tableau 9** : la prévalence de la drépanocytose dans le monde [93, 94,95].

Dans ces mêmes zones on observe avec une fréquence variable la présence d'autres anomalies de l'Hb qui, associées à l'hémoglobine S, donnent des hétérozygoties composites SC et S $\beta$  thalassémie [95].



**Figure29** : carte de la répartition de la drépanocytose [96].

## 2. Les données génétiques :

La drépanocytose est une affection génétique qui se transmet selon le mode **autosomique récessif**. Sur le plan moléculaire, cette affection est due à une mutation ponctuelle sur le gène de la chaîne  $\beta$  de la globine situé sur le **chromosome 11**. Le triplet codant GAG est remplacé par un triplet GTG, aboutissant à la substitution en 6<sup>ème</sup> position sur la chaîne polypeptidique de la  $\beta$  globine de la valine par l'acide glutamique [97].

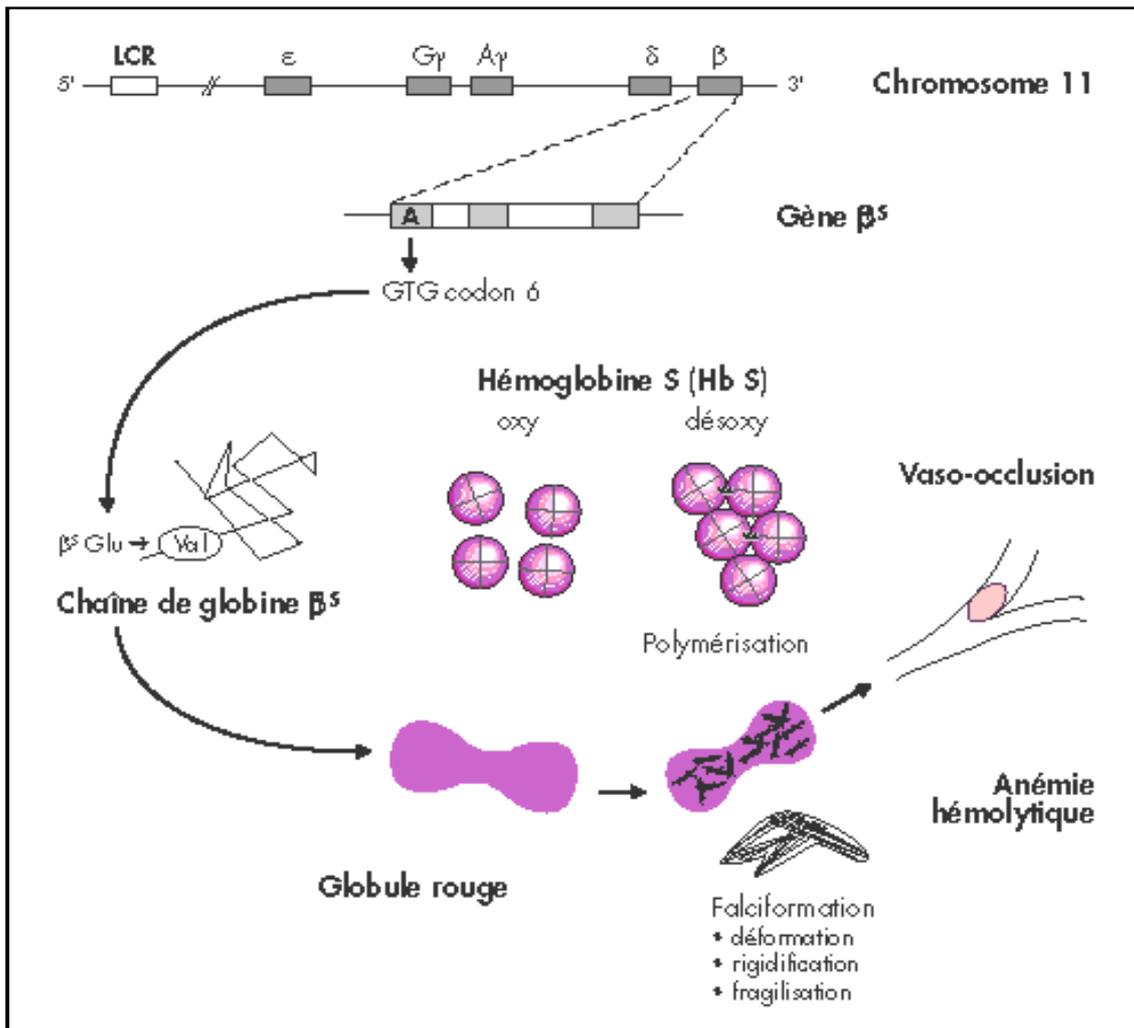
## 3. Physiopathologie :

La drépanocytose est l'exemple type de la relation entre la mutation d'un gène, des anomalies moléculaires et des manifestations cliniques. La connaissance des mécanismes physiopathologiques de la drépanocytose a été largement approfondie au cours des 3 dernières décennies et a permis de mettre en évidence 3 principaux phénomènes :

- La polymérisation de l'Hb et la falciformation du GR ;
- La déshydratation du GR ;
- L'interaction des GR avec l'endothélium.

Dans sa forme désoxygénée, à basse pression d'oxygène, l'Hb S devient insoluble et polymérise, entraînant la formation d'un petit agrégat de molécules, puis de longues fibres hélicoïdales [98,99].

Cette polymérisation de l'HbS est à l'origine de la modification du GR qui devient rigide et prend une forme de faucille : c'est la falciformation (**Figure 30**).



**Figure 30** : Schéma physiopathologique de la drépanocytose [100].

La polymérisation et la falciformation peuvent être induites par un certain nombre de facteurs :

- le degré de désoxygénation des GR : l'hypoxie, l'élévation de la température, la baisse du pH, et la déshydratation cellulaire;
- l'augmentation de la 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG);
- la concentration élevée d'HbS dans le GR : un seuil de concentration en HbS désoxygénée de l'ordre de 16 g/dl est nécessaire pour induire la présence de polymères, ce qui explique l'absence de manifestations vaso-occlusives chez le sujet AS dans les conditions physiologiques [101].

La polymérisation peut être inhibée par :

- l'HbF qui s'intercale dans la polymérisation de l'HbS qu'elle interrompt. Ceci explique l'absence de manifestations cliniques chez le nouveau-né drépanocytaire;
- la CCMH qui, lorsqu'elle est abaissée, diminue les risques de falciformation, d'où la protection paradoxale que confère certaines anémies hypochromes par carence en fer [102].

La falciformation du GR est réversible en cas de réoxygénation, mais au bout d'un certain temps, les lésions de la membrane érythrocytaire sont à l'origine de la déshydratation, puis de la falciformation irréversible [103,104]. Deux canaux sont impliqués dans ces phénomènes de déshydratation : le cotransport K-Cl et le canal Gardos (canal K<sup>+</sup> activé par le Ca<sup>2+</sup>) [105]. En plus, les GR drépanocytaires adhèrent à la paroi endothéliale des capillaires, augmentant ainsi la viscosité sanguine d'où l'occlusion de la microcirculation [106]. On note également une augmentation de l'adhésion des neutrophiles à la fibronectine [107].

#### 4. Circonstances de diagnostic :

Le diagnostic peut se faire :

➤ **En présence de manifestations cliniques :**

Sont présents souvent dans les formes homozygotes. Le diagnostic est alors facilement suspecté en présence d'un contexte épidémiologique. Les signes cliniques apparaissent généralement entre le 6<sup>ème</sup> mois et le 18<sup>ème</sup> mois après la naissance lorsque l'HbF laisse place à l'HbS. La splénomégalie existe dès les premiers mois de la vie, persiste pendant quelques années et disparaît ensuite vers l'âge de 6 ans (phénomène d'autosplénectomie) [98]. Très souvent, le diagnostic est fait à l'occasion de complications aiguës ou chroniques de la maladie.

• **Les complications aiguës** : sont représentés par

- L'anémie aigue ;
- les infections (pneumopathies, méningites, septicémies, ostéomyélites ;
- l'asplénisme fonctionnel ;
- les crises vaso-occlusives ou crises douloureuses. Ces dernières sont au centre de la pathologie drépanocytaire comme elles sont au centre de la vie du malade [108]. Leur fréquence, leur durée et leur intensité sont très variables. Elles s'accompagnent souvent de fièvre surtout dans les crises sévères et sont favorisés par l'hypoxémie, la déshydratation, l'effort intense, la fièvre, le froid, l'hypertension artérielle et le diabète [109]. Elles peuvent être abdominales traduisant une occlusion vasculaire mésentérique ou des organes intra-abdominaux. Elle s'accompagne souvent d'un iléus réflexe très évocateur pouvant simuler un tableau d'abdomen chirurgical. Ces crises peuvent être aussi osseuses représentées surtout par le syndrome pieds-mains et les crises des os longs [109,110].

Chez l'adolescent la puberté est parfois retardée. En zone tropicale, les états carenciels associés sont souvent responsables de retard de développement.

- Des accidents vaso-occlusifs graves peuvent se voir : les accidents vasculaires cérébrales, infarctus, priapisme, infarctus splénique ...

• **Les complications chroniques** : sont le résultat d'une vasculopathie diffuse et sont représentées par :

- Les atteintes cardio-pulmonaires (myocardiopathie, Hypertension artérielle pulmonaire ...);
- Les atteintes rénales (insuffisance rénale);
- Les atteintes hépatiques (lithiases vésiculaires, cirrhose);
- Les atteintes ostéo-articulaires (ostéonécrose aseptique de la tête fémorale);
- Les atteintes neurologiques (comitialité, déficits moteurs, cécité, surdité);
- Les atteintes ophtalmiques (rétinopathie proliférative).

➤ **La découverte peut être fortuite :**

Dans les formes hétérozygotes. Le diagnostic peut se faire lors de l'enquête autour d'un cas ou lors de l'exploration d'une anémie hémolytique.

**5. Diagnostic biologique :**

Le diagnostic biologique des syndromes drépanocytaires repose sur des examens biologiques et biochimiques.

**5.1. Les examens de présomption :**

➤ **Hémogramme** : il montre une anémie de sévérité variable, le taux d'Hb varie entre 6 à 10 g/dl pendant les périodes intercritiques. Le taux d'Hb est habituellement plus bas chez les patients SS et S $\beta^{\circ}$  thalassémiques que chez les SC et S $\beta^{+}$  thalassémiques. L'anémie est typiquement normochrome normocytaire et régénérative avec un taux de réticulocytes élevé supérieur à 120 G/l. Elle peut être macrocytaire en cas de carence en folates ou microcytaire lorsqu'une carence martiale ou un trait  $\alpha$  thalassémique est associé [111, 112]. Une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles est fréquente en dehors de toute infection. Le taux de plaquettes est souvent élevé même en situation basale.

➤ **Frottis sanguin :**

L'examen du frottis sanguin révèle la présence d'hématies en forme de « faucille » ou drépanocytes (**figure 31**) caractéristiques de la maladie : les hématies ont une forme allongée

avec deux extrémités pointues. Ces drépanocytes sont souvent associés à de multiples anomalies érythrocytaires : anisocytose, Poïkilocytose, polychromatophilie, corps de Howell-jolly.

**NB** : Il faut noter que chez le sujet hétérozygote, l'hémogramme est normal et il n'existe pas de drépanocytes sur le frottis. Leur formation peut être provoquée avec un agent réducteur : c'est le principe du test d'EMMEL ou test de falciformation provoqué.



**Figure 31**: Drépanocytes observés sur un frottis sanguin [22].

➤ **Test d'EMMEL ou test de falciformation :**

Il repose sur la mise en évidence au laboratoire de la falciformation des hématies en hypoxie, témoin de, la présence d'hémoglobine S.

La désoxygénation est accélérée soit en ajoutant du métabisulfite de sodium à 2% au sang du malade, soit en créant artificiellement une atmosphère pauvre en oxygène en accolant les bords de la lamelle à la lame à l'aide du vernis.

On observe alors à l'état frais, entre lame et lamelle, les hématies qui prennent progressivement la forme typique en "faucille".

➤ **Test d'ITANO ou test de solubilité :**

Repose sur l'anomalie de solubilité de l'Hb S découverte par ITANO [113].

L'Hb S, réduite par l'action d'hydrosulfite de sodium, précipite dans une solution de phosphate. Il s'agit comme le test d'Emmel, d'un test de dépistage de l'HbS (**Figure 32**).



1-témoin normal 2-présence d'HBS

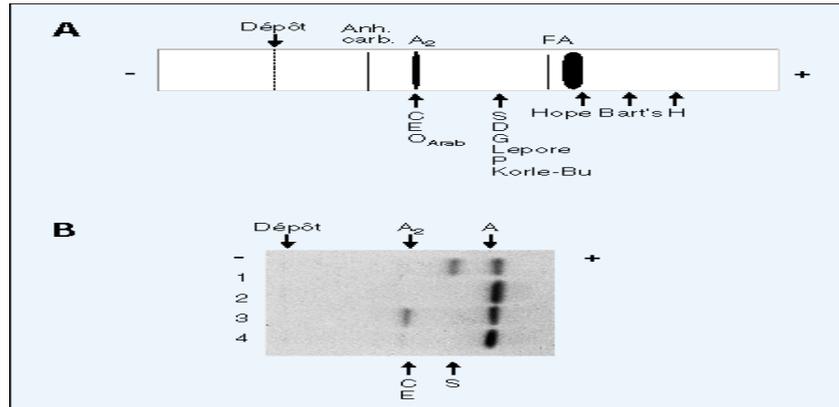
**Figure 32 :** Test de solubilité pour HBS [114].

**5.2. Les examens de certitude :**

➤ **Électrophorèse de l'hémoglobine :**

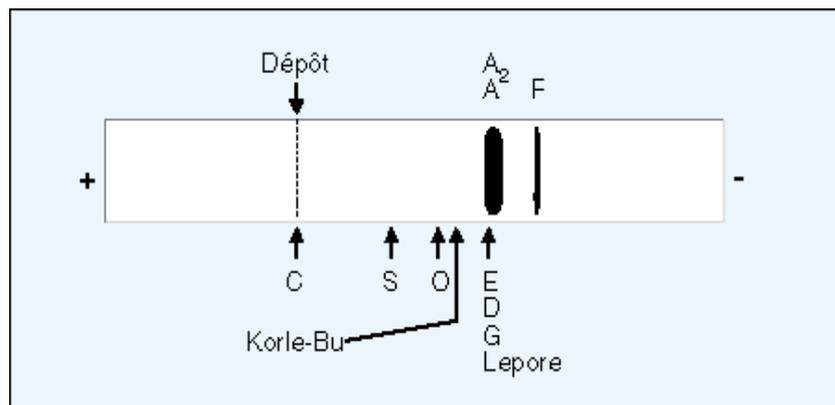
○ **Techniques :**

Elle repose sur la mise en évidence de la présence d'une fraction d'Hb de migration différente des Hb normales. La séparation des différentes Hb se fait selon leur charge électrique et leur poids moléculaire. Elle est le plus souvent pratiquée sur acétate de cellulose en milieu alcalin (pH = 8,6). L'électrophorèse à pH acide permet de distinguer certaines Hb anormales en particulier en séparant les Hb C et A2 qui migrent au même point à pH alcalin. Actuellement les techniques sont automatisées. L'étude de l'Hb doit être réalisée loin de toute transfusion sanguine (**figure 33 ,34**).



**Figure 33 :** Électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin sur Acétate de cellulose [115].

- A. Position des hémoglobines normales et des variants anormaux les plus fréquents.*
- B. Illustration d'électrophorèses de l'hémoglobine réalisées chez des adultes après migration en gel à pH 8,6 et coloration au rouge Ponceau. (1) sujet AS ; (2) sujet normal ; (3) sujet AC ; (4) sujet normal.*



**Figure 34 :** Électrophorèse de l'hémoglobine à pH acide (pH 6,2) sur agar. Position des hémoglobines normales et des variants anormaux les plus fréquents [115].

○ **Résultats : (figure 35)**

La drépanocytose SS et les S $\beta$  thalassémies sont caractérisées par l'absence d'HbA1 (sujets SS et S S $\beta^0$  thalassémiques) ou son faible taux (sujets S S $\beta^0$  thalassémiques). Les hétérozygotes AS ont un taux d' HbS toujours inférieur à 50%. Chez certains malades deux Hb anormales sont associées: on parle alors de double hétérozygotie (exemple SC) (**Tableau**

10). L'électrophorèse classique ne permet pas de mettre en évidence la présence d'HbA1 à la naissance du fait de la prédominance de l'HbF.

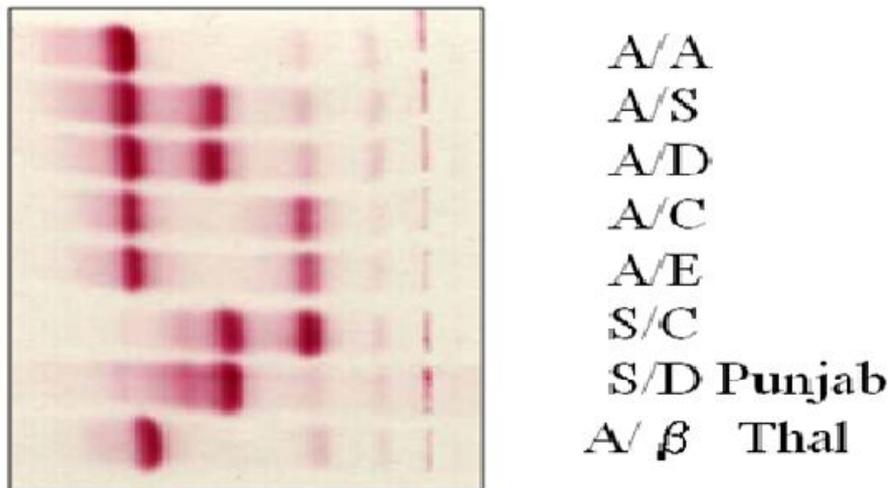


Figure 35 : Électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin [114].

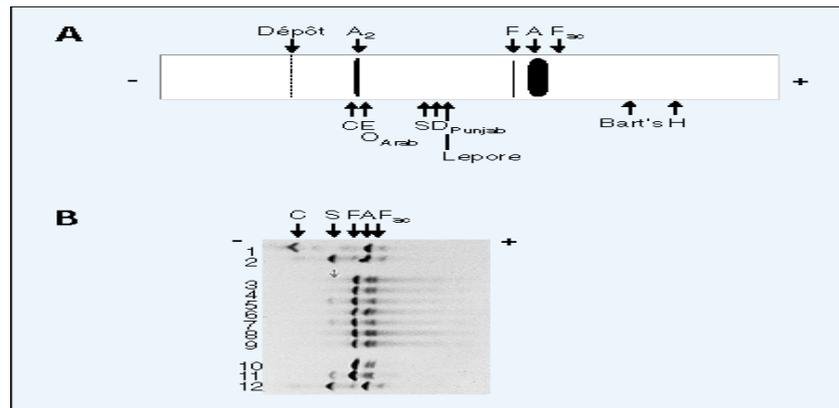
Le **Tableau 10** représente les résultats de l'électrophorèse de l'Hb au cours de la drépanocytose.

	HbS	HbF	HbA	HbA2	HbC
Drépanocytose <b>Homo S/S</b>	75-95%	1-15%	0	2-4%	0
Drépanocytose <b>hétéro A/S</b>	40-45%	0	55-60%	2-3%	0
Drépanocytose <b>hétéro S/C</b>	≈50%	2-6%	0	0	≈50%
Drépanocytose <b>hétéro S/β<sup>0</sup></b>	Majoritaire	5-15%	0	4-6%	0
Drépanocytose <b>hétéro S/β<sup>+</sup></b>	Majoritaire	5-15%	10-30%	4-6%	0

**Tableau 10** : résultats de l'étude de l'Hb des différents variants de drépanocytose [116].

➤ **L'Isoélectrofocalisation :**

C'est une variante électrophorétique hautement résolutive qui sépare les Hb à la fois par leur pH et par leur point isoélectrique [117]. Elle est plus sensible et permet de séparer l'HbF des Hb A1 et S [118]. L'isoélectrofocalisation est une technique plus sensible et plus spécifique mais également plus coûteuse. C'est la méthode de choix pour le diagnostic néonatal de la drépanocytose [119,120] (Figure 36).



**Figure 36 :** Focalisation isoélectrique de l'Hb [115].

*A. Position des hémoglobines normales et des variants anormaux les plus fréquents.*

*B. Focalisation isoélectrique de l'hémoglobine réalisée chez des adultes et des nouveau-nés. La migration est réalisée en gel d'agarose à 1,2 %, contenant un mélange d'ampholines pH 6,0-8,0 et pH 7,0-9,0 et préparé extemporanément.*

*1,2 et 12 adultes : 1 (AC), 2 (AS), 12 (AS) 3 à 11 (nouveau-nés): 3, 4, 6, 8 à 10 (normaux), 5, 7, 11 (AS).*

➤ **Chromatographie haute performance en phase liquide ou HPLC (high performance liquid chromatography) :**

Cette technique a l'avantage de fournir au même temps un dosage précis des différentes fractions de l'Hb. Elle est utilisée en première intention dans certains laboratoires spécialisés [132]. (Figure 37)

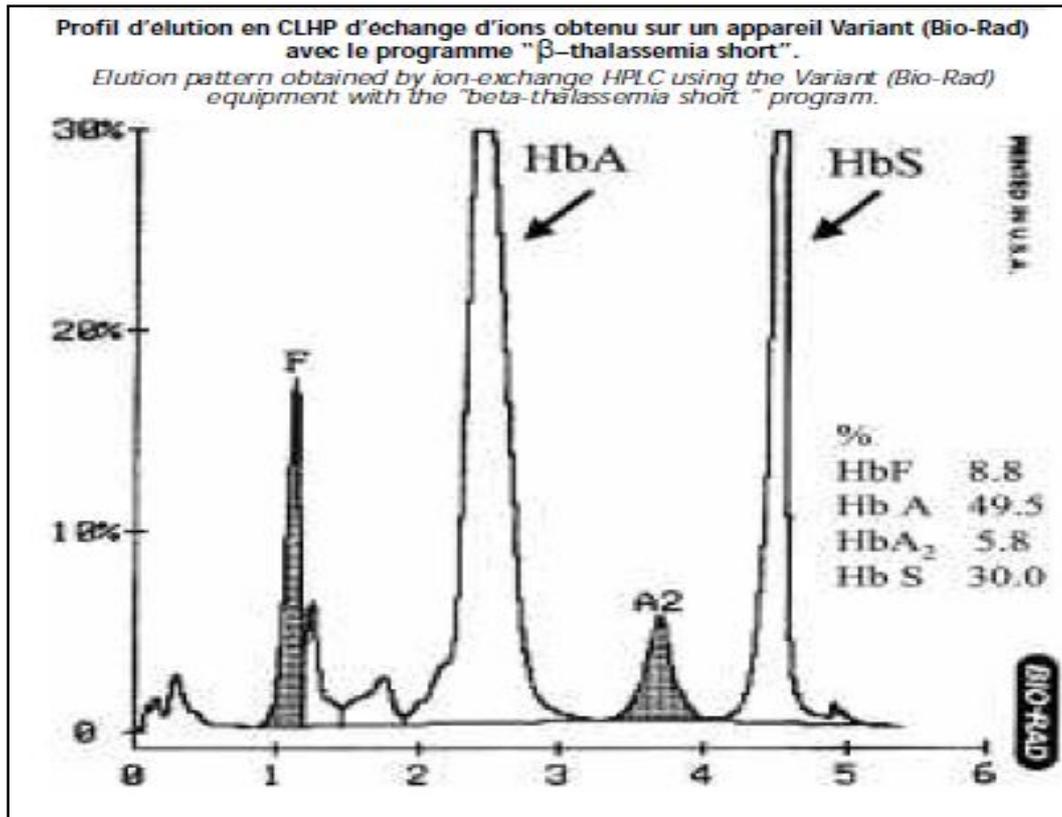


Figure 37 : profil d'élution en HPLC d'échange d'ions [121].

### 5.3. Le diagnostic génétique :

Il est réalisé par **PCR** (Polymerase chain reaction) qui utilise des sondes nucléotidiques de synthèse reconnaissant les séquences mutées et normales. Le diagnostic est effectué après amplification génique de l'ADN de la séquence correspondant à la mutation. Cette technique est utilisée dans le diagnostic anténatal de la drépanocytose. Elle se fait par biopsie de trophoblaste entre la 8<sup>ème</sup> et la 12<sup>ème</sup> semaine de gestation ou par amniocentèse entre la 15<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine de gestation [122].

En fait le diagnostic anténatal de la drépanocytose n'a de sens que si les parents décident d'une interruption de la grossesse si l'enfant est porteur d'une forme grave de la drépanocytose [123].

## 6. Les associations génétiques : [124]

### ➤ Drépanocytose hétérozygote composite SC :

Elle résulte de l'association des deux gènes de globine S et C chez un même patient. L'HbC ne copolymérise pas avec l'HbS, mais provoque une déshydratation intra-érythrocytaire qui augmente la concentration de l'HbS et donc sa pathogénicité. Les patients SC ont souvent une discrète splénomégalie. L'anémie est moins importante. Les signes d'hémolyse sont plus discrets, la réticulocytose moins intense, discrète thrombopénie par hypersplénisme.

### ➤ Drépanocytose hétérozygote composite S $\beta$ –thalassémique :

Elle est représentée par deux génotypes, qui ont une expression clinique très différente : la S $\beta^0$  et la S $\beta^+$ . Dans le premier cas, il n'y a aucune synthèse d'Hb A et le tableau clinique et biologique est proche de celui de la drépanocytose homozygote. Le seul moyen de différencier ces deux syndromes drépanocytaires est de réaliser une étude du génotype en biologie moléculaire. Dans le second cas, une synthèse d'Hb A persiste (3% à 25%). Dans la drépanocytose hétérozygote AS, l'HbA est supérieur à 50% [106].

### ➤ Autres formes génétiques :

S/D-Pundjab, S/O-Arab, S/D-Los Angeles, S-Antilles... dans chacune de ces formes génétiques, on constate une hétérogénéité de l'expression clinique de la maladie drépanocytaire.

## B. L'Hémoglobinoase C :

C'est la conséquence d'une mutation unique ponctuelle dans le 6<sup>ème</sup> codon du gène bêta globine dont résulte une substitution de l'acide glutamique de la chaîne bêta par une lysine [125].

Les sujets hétérozygotes sont en règle asymptomatiques et n'ont pas de modifications hématologiques. La chromatographie (HPLC) montre 35-45% d'HbC, HbF normale (< 2%), HbA2 légèrement élevée à 3-4%.

Les homozygotes ont une anémie hémolytique modérée normocytaire. La rate est souvent augmentée de volume. Des douleurs abdominales et articulaires sont observées, mais des crises douloureuses sont rares. Le frottis sanguin montre 30-100% de cellules cibles et des sphérocytes. L'HPLC montre 60-98% d'HbC, 2-3% d'HbA2 et d'HbF pour le reste. HbA n'est pas décelable.

Une association avec une  $\beta$ -thalassémie (double hétérozygoté HbC/  $\beta$  thal) conduit à un tableau clinique de thalassémie intermédiaire d'évolution très variable.

Les manifestations cliniques d'une combinaison HbC/HbS est comparable à une drépanocytose, mais les symptômes sont habituellement moins sévères.

L'hétérozygotie composite HbC/ $\alpha$ -thalassémie ou un déficit en fer donne une microcytose.

### **C. L'Hémoglobinosé D Punjab :**

C'est un groupe hétérogène rare dont la plus connue est l'Hb D-Punjab. Elles sont rencontrées en Inde, dans le bassin méditerranéen et chez les Noirs américains [126].

Egalement connue sous les noms suivants : Hb D-Los Angeles, Hb D-North carolina, Hb D-Portugal, Hb D-chicagoet, Hb Oak Ridge.

C'est la conséquence d'une mutation ponctuelle dans le 121<sup>ème</sup> codon du gène de globine qui entraîne une substitution de l'acide glutamique de la chaîne  $\beta$  par une Glutamine [127,128].

La transmission de la maladie est autosomique récessive [129]. Les sujets hétérozygotes comme les homozygotes sont asymptomatiques, néanmoins des cas de splénomégalie sont rapportés [130]. Sur 31 cas répertoriés dans la littérature, on note l'absence de signes d'hémolyse et la présence de cas d'anémie souvent microcytaire. La fragilité osmotique est normale. L'HPLC montre 35-40% d'HbD et HbF en quantité normale (< 2%).

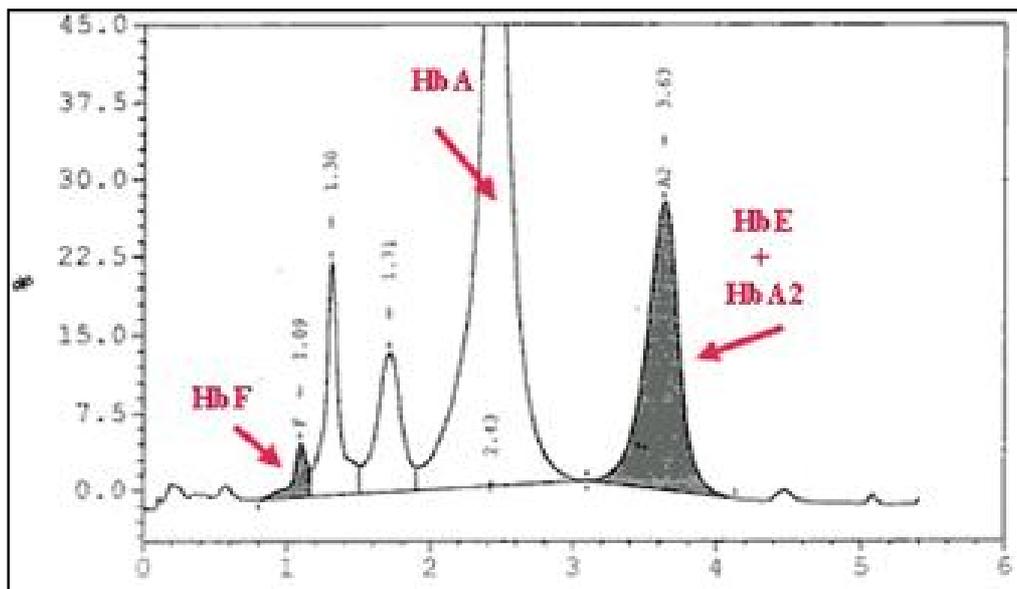
Les associations décrites jusqu'à présent de l'Hb D-Punjab sont avec l'hémoglobinosé S, la  $\beta$ -thalassémie, la  $\alpha$ -thalassémie, l'hémoglobinosé O-Indonésie et l'hémoglobinosé G Philadelphie.

### D. l'Hémoglobine E :

Elle atteint surtout les populations des pays du Sud-est asiatique, notamment Cambodge, Laos, Thaïlande et Birmanie et des porteurs rares en Europe [131].

Elle est la conséquence d'une mutation dans le gène  $\beta$ -globine avec remplacement de la glutamine par la lysine.

Les homozygotes ont une anémie hémolytique modérée, microcytaire et hypochrome. Dans la forme hétérozygote, cliniquement asymptomatique, l'hémogramme montre une pseudopolyglobulie microcytaire et hypochrome. Le taux d'HbE est de 25 à 30%. Le point le plus important à signaler est la fréquence de l'association E /  $\beta^0$  thalassémie dont le tableau clinique est identique à celui de la thalassémie majeure (Figure 38) [1].



**Figure 38** : Résultats de l'électrophorèse de l'Hb au cours de l'hémoglobine E [132].

## E. Les thalassémies :

Les thalassémies constituent un ensemble hétérogène de maladies génétiques dues à des anomalies des gènes de l'Hb. Elles sont définies par une diminution de synthèse des chaînes de globine et désignées par la chaîne déficiente : les  $\alpha$ -thalassémies, les  $\beta$ -thalassémies.

Les syndromes thalassémiques se transmettent génétiquement selon le mode mendélien récessif autosomique. Ce sont des affections génétiques très répandues dans le monde [133]. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'il naît chaque année plus de 100 000 enfants atteints d'une forme de thalassémie mortelle en l'absence de traitement.

### 1. Les $\beta$ -thalassémies :

#### 1.1. *Epidémiologie :*

Initialement décrite dans les populations du bassin méditerranéen, elles sont très répandues dans tout le Moyen-Orient, le sud et l'est de l'Asie, l'Afrique de l'ouest et les Antilles. Elles sont rares dans les populations originaires du nord de l'Europe. On a recensé plus de 200 mutations, de distribution géographique déterminée, à l'origine de syndromes  $\beta$ -thalassémiques.

#### 1.2. *Les mécanismes génétiques : (Figure 39)*

Le plus souvent, le défaut de synthèse des chaînes  $\beta$  résulte d'une **mutation** ponctuelle portant sur un des gènes  $\beta$  ou sur les 2. On distingue :

- les mutations qui abolissent totalement la synthèse d'HbA, ou mutations  **$\beta^0$ thalassémiques**,
- les mutations qui diminuent le taux de synthèse ou mutations  **$\beta^+$ thalassémiques**.

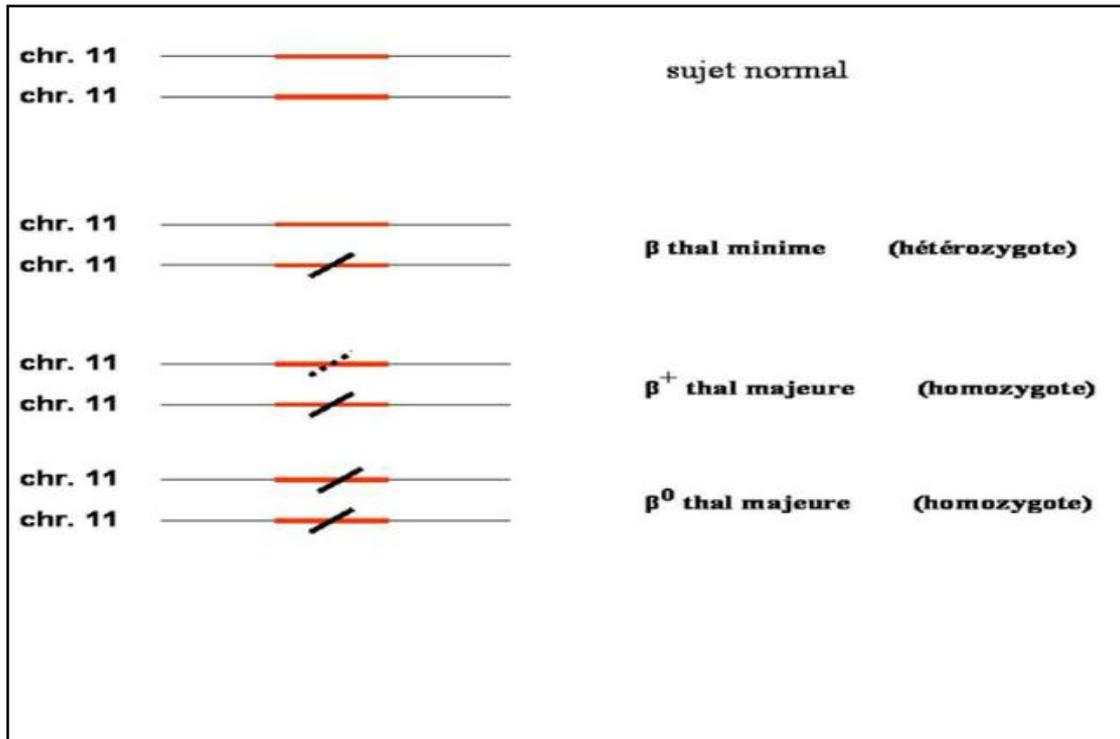


Figure 39: Aspects génétiques des  $\beta$ -thalassémies [134].

Dans quelques rares cas, les  $\beta$  thalassémies résultent d'une **délétion**. Certaines délétions affectant une région étendue du gène  $\beta$  et sont responsables de  $\beta^0$  thalassémies. Quelques-unes peuvent être responsables d'un syndrome de « persistance héréditaire de l'Hb fœtale » lorsque le déficit de synthèse des chaînes  $\beta$  est compensé par la synthèse de chaînes  $\gamma$ .

L'**Hb Lepore** est le produit d'un gène hybride résultant d'un crossing over inégal entre les loci  $\beta$  et  $\delta$ . Elle est ainsi constituée de 2 chaînes  $\alpha$  et de 2 chaînes non- $\alpha$  résultant d'une fusion  $\delta\beta$  elle se traduit par un syndrome thalassémique.

### *1.3. Les conséquences des anomalies de synthèse des chaînes de globine : [135]*

Dans la  $\beta$ -thalassémie homozygote, l'accumulation de chaînes  $\alpha$  non appariées dans les érythroblastes entraîne une érythropoïèse inefficace et favorise leur apoptose, responsable

d'une hémolyse intra médullaire et d'une hémolyse prématurée des GR passés dans la circulation. Il en résulte une hyperplasie érythroblastique avec hyperplasie des os plats responsable de déformations squelettiques, une érythropoïèse extra-médullaire avec hépatosplénomégalie et une surcharge en fer aggravée par une augmentation de l'absorption digestive du fer. Ainsi, l'anémie de la  $\beta$ -thalassémie homozygote a une composante centrale, une composante hémolytique et une composante d'hémodilution (liée à l'hépatosplénomégalie). L'excès de chaînes  $\alpha$  entraîne une augmentation de la production d'HbF.

Dans les formes hétérozygotes, l'excès de chaînes  $\alpha$  entraîne une augmentation de la production d'HbA2.

#### *1.4. Les circonstances de diagnostic :*

La sévérité de l'expression clinique résulte de la conjonction d'au moins trois facteurs : la mutation  $\beta$ -thalassémique en cause, le nombre de gènes  $\alpha$  et le taux de production de chaînes  $\gamma$  capables de s'apparier avec les chaînes  $\alpha$ .

Le diagnostic peut être évoqué après quelques mois de vie, lorsque la synthèse de l'HbF n'est plus capable de masquer l'anomalie de synthèse d'HbA.

- Dans la forme majeure ou **maladie de Cooley**, les signes cliniques apparaissent chez l'enfant entre 1 et 5 ans. La pâleur est constante, associée rarement à un ictère conjonctival. L'asthénie dépend du degré de l'anémie. Une hépatosplénomégalie s'installe progressivement dans les premiers mois de la vie. L'hyperplasie des os plats de la face confère aux enfants un aspect asiatique : les malaires sont élargis, la base du nez aplatie, il existe un hypertélorisme, une protrusion du maxillaire supérieur. Un retard staturo-pondéral est souvent noté. Le retentissement psychologique de ces anomalies morphologiques est toujours important chez les adolescents et les adultes [136].

- Les thalassémies **intermédiaires** représentent 5 à 10% de l'ensemble des  $\beta$ -thalassémies homozygotes. Le plus souvent, le tableau est celui d'une anémie hémolytique modérée (pâleur, splénomégalie, ictère) pouvant s'aggraver lors d'une infection, une érythroblastopénie, une grossesse, un hypersplénisme ou une carence en folates. Des formes asymptomatiques peuvent se voir [137].

Le diagnostic peut se faire au stade de complications osseuses de l'hyperplasie médullaire [138]. Il peut s'agir de remodelage osseux, voire de l'apparition d'une tumeur hématopoïétique extra médullaire. Des cas de compression médullaire ont été décrits [139]. L'inflation érythroïde est aussi responsable d'une hyper absorption intestinale du fer en l'absence de transfusion. Des ulcères de jambe, des lithiases sont aussi rapportés chez des patients adultes [140]. Des complications liées à surcharge en fer avec une atteinte cardiaque (hypertrophie ventriculaire gauche, épanchement péricardique, insuffisance cardiaque...), hépatique (cirrhose...), poly-endocrinienne (retard pubertaire, diabète, atteintes thyroïdiennes...) et des complications thromboemboliques (accidents cérébraux ischémiques transitoires, thromboses artérielles et veineuses) viennent alourdir le pronostic de ces affections [138-141].

- Les  **$\beta$ -thalassémie mineure** ou  **$\beta$ -thalassémies hétérozygotes** ou **traits thalassémiques**, dues à la mutation d'un seul des deux gènes  $\beta$ , sont cliniquement asymptomatiques [1].

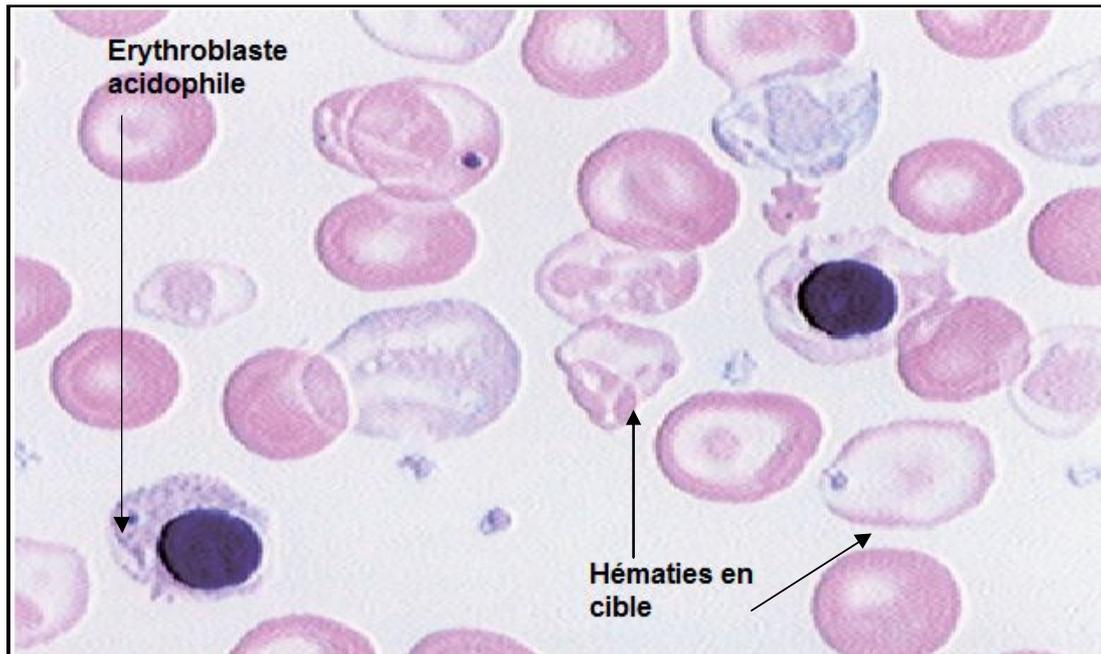
### *1.5. Diagnostic biologique :*

#### *1.5.1. Diagnostic phénotypique : [142]*

➤ **L'hémogramme** révèle une anémie avec une Hb souvent inférieure à 7g/dl, microcytaire hypochrome (VGM < 80 fl, TCMH < 26 pg). La réticulocytose est voisine de 100 000/mm<sup>3</sup>. Une thrombopénie et une neutropénie d'hypersplénisme peuvent se voir. Une pseudopolyglobulie avec microcytose et hypochromie sans anémie est souvent retrouvé dans les formes homozygotes.

L'examen du frottis sanguin montre une hypochromie, une anisocytose, une Poïkilocytose, des hématies en cible et une érythroblastose parfois très élevée (**Figure 40**).

A noter que le diagnostic peut être délicat lorsqu'une carence martiale est associée, déprimant la synthèse des chaînes d'Hb, y compris celle de l'HbA<sub>2</sub>. L'électrophorèse redevient caractéristique après correction de la carence[1].

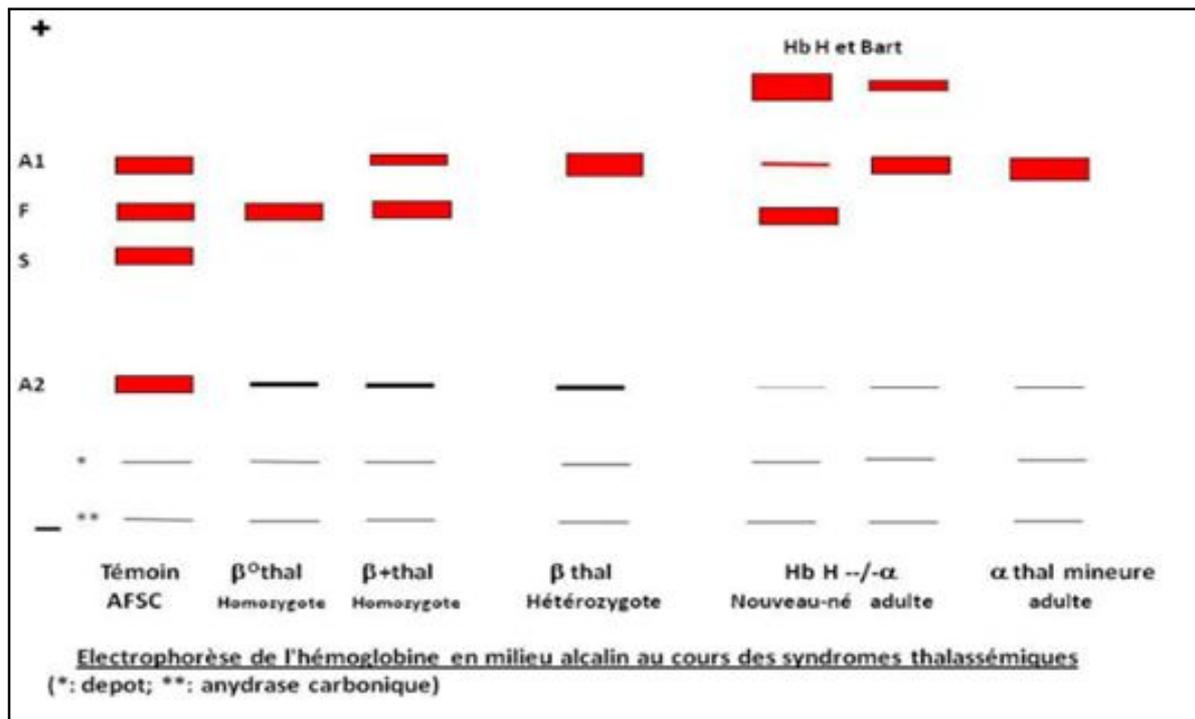


**Figure 40:** Aspect sur frottis sanguin d'une  $\beta$ -thalassémie homozygote [142].

➤ Le **bilan biochimique** montre l'hyperbilirubinémie qui traduit l'hémolyse, l'hypersidérémie et l'hyperferritinémie qui sont constantes.

➤ **L'électrophorèse de l'Hb :** (Figure 41), (Tableau 11)

Le pourcentage d'HbF est constamment augmenté et il persiste ( $\beta^+$ -thalassémie) ou pas ( $\beta^0$ -thalassémie) de l'HbA. Dans les formes hétérozygotes l'électrophorèse de l'Hb montre un taux augmenté d'HbA2 (>3%), sans augmentation du taux d'HbF.



**Figure 41** : électrophorèse de l'Hb en milieu alcalin au cours des syndromes thalassémiques [143].

### 1.5.2. Diagnostic génotypique :

L'ADN génomique est extrait des cellules nucléées par les méthodes standard (phénol-chloroforme), soit à partir de 10 ml de sang veineux prélevés sur EDTA pour les enquêtes familiales, soit à partir de villosités chorales, du liquide amniotique ou de leurs cellules de culture respectives pour le diagnostic prénatal. Cet ADN génomique est amplifié par la technique PCR [144].

### 1.6. Les formes apparentées aux $\beta$ -thalassémies :

➤ **L'hémoglobine Lepore [1]** : Chez l'homozygote, c'est cliniquement une  $\beta$  thalassémie intermédiaire. L'étude de l'Hb ne montre ni HbA ni HbA2 mais uniquement de l'HbF (75%) et de l'Hb Lepore (**Tableau 11**). Chez l'hétérozygote, l'étude de l'Hb montre de 8 à 12% d'Hb Lepore.

➤  **$\delta\beta$  thalassémies et  $\delta$  thalassémies :**

Elles sont le plus souvent secondaires à la délétion d'une partie du cluster génique qui implique les gènes  $\delta$  et  $\beta$ . On observe une production réduite ou absente des chaînes  $\delta$  et  $\beta$ . La conséquence en est une augmentation de la synthèse de chaîne  $\gamma$  pour essayer de compenser le déficit en  $\beta$  globine. La forme hétérozygote est asymptomatique avec une microcytose sans élévation de l'Hb A2. Les malades homozygotes  $\delta\beta$  thalassémiques ont une présentation clinique identique à celle de l'anémie de Cooley [145].

Le **Tableau 11** représente les résultats de l'électrophorèse de l'Hb dans les  $\beta$ -thalassémies.

	<b>HbF</b>	<b>HbA</b>	<b>HbA2</b>
<b><math>\beta</math> thalassémie homozygote majeure</b>	50-90%	5-45%	↗ N ou
<b><math>\beta</math> thalassémie homozygote intermédiaire</b>	↗ N ou		
<b><math>\beta</math> thalassémie hétérozygote mineure</b>	1-5%		>3%
<b><math>\beta</math> thalassémie hétérozygote silencieuse</b>	N		>3%
<b>Lepore hétérozygote</b>	84%		
<b>Lepore homozygote</b>	75%		0
<b>PHHF hétérozygote</b>	10-30%		
<b>PHHF homozygote</b>	100%		

**Tableau 11** : Résultats de l'électrophorèse de l'Hb dans les  $\beta$ -thalassémies [146].

**2. Les  $\alpha$ -thalassémies :**

*2.1. Epidémiologie :*

Les  $\alpha$ -thalassémies sont particulièrement fréquentes en Asie du sud-est et en Chine. Leur prévalence est de 3 à 5% à Hong Kong et peut atteindre 30 à 40% en Thaïlande et au Laos [147,148]. Elles sont aussi fréquentes en Afrique, surtout équatoriale, moins présentes en Afrique du Nord et l'Australie [149].

## 2.2. Les mécanismes génétiques :

Chez un sujet normal, il existe deux gènes  $\alpha$  sur chaque chromosome 16, soit quatre gènes au total ( $\alpha\alpha / \alpha\alpha$ ). Les  $\alpha$ -thalassémies sont secondaires à des déficits de synthèse de ces chaînes de globine par une délétion ou une inactivation d'un ou plusieurs gènes. On distingue alors **4 types** d' $\alpha$  thalassémie (**Figure 42**).

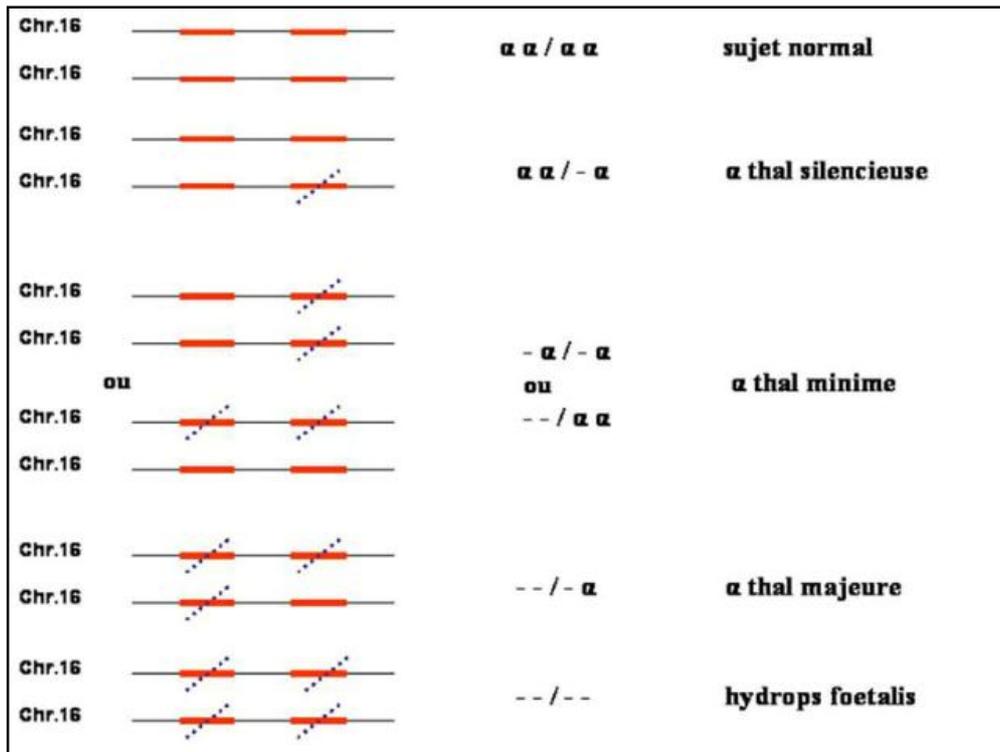
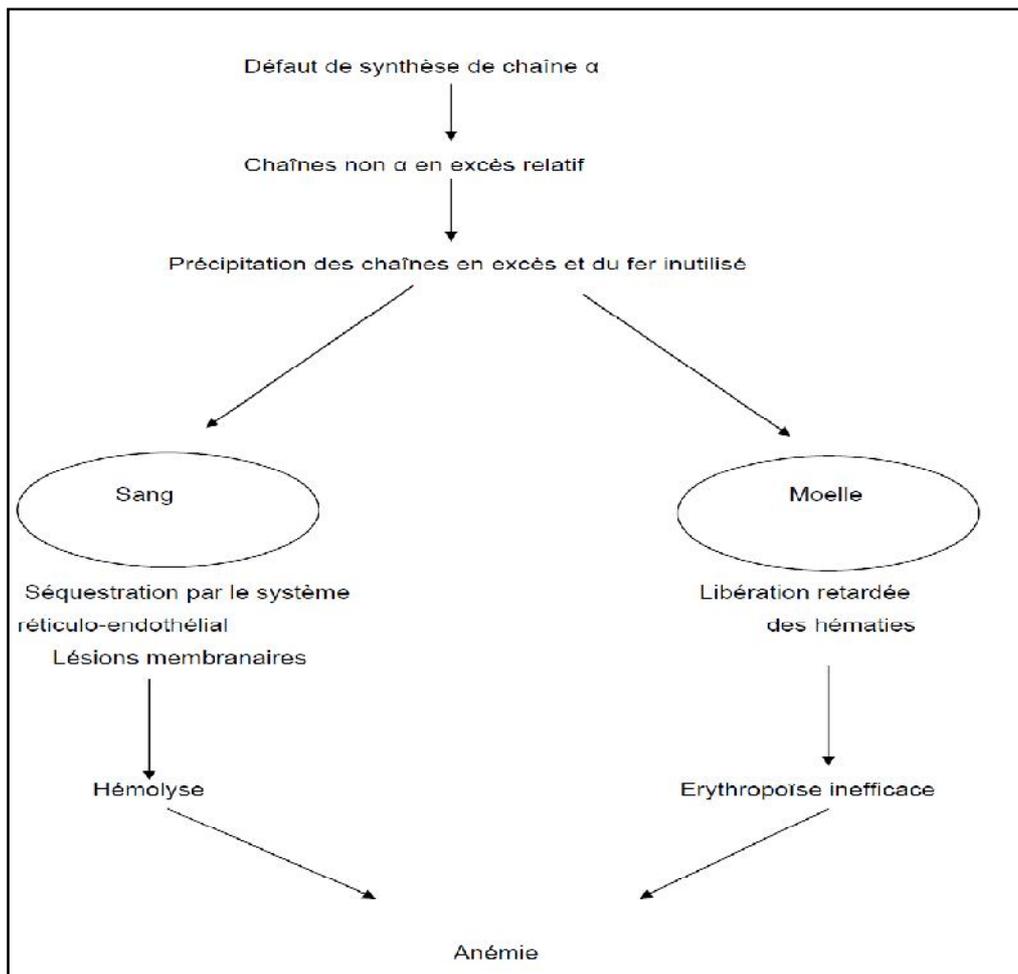


Figure 42: Aspects moléculaires des  $\alpha$ -thalassémies [134].

- l' $\alpha$ -thalassémie homozygote (hydrops foetal) : 4 gènes  $\alpha$  atteints
- Hémoglobinose H : 3 gènes  $\alpha$  atteints
- l' $\alpha$ -thalassémie mineure ou de type 1 : 2 gènes  $\alpha$  atteints
  - délétion de 2 gènes en cis ( $--/\alpha\alpha$ ) :  $\alpha^0$ -thalassémie hétérozygote;
  - délétion de 2 gènes en trans ( $-\alpha/-\alpha$ ) :  $\alpha^+$ -thalassémie homozygote.
- l' $\alpha$ -thalassémie silencieuse ou de type 2 : 1 gène  $\alpha$  atteint

### 2.3. Les conséquences des anomalies de synthèse des chaînes de globine :

Dans les  $\alpha$ -thalassémies, l'excès relatif de chaînes non- $\alpha$  entraîne leur précipitation dans les GR circulants et leur hémolyse prématurée. Les chaînes  $\alpha$  apparaissent dès la vie fœtale, leur défaut retentit sur la synthèse de l'HbF, de l'Hb2 et de l'HbA. Elles se traduisent par la formation de tétramères de chaînes  $\gamma$  (Hb Bart's,  $\gamma_4$ ) ou de chaînes  $\beta$  (Hb H,  $\beta_4$ ) (**Figure 43**) [135].



**Figure 43:** Conséquences de la diminution ou de l'absence de la synthèse des chaînes  $\alpha$  de globine [135]

#### 2.4. Circonstances de diagnostic :

##### ➤ Dans l' $\alpha$ -thalassémie homozygote (hydrops foetal) :

L'absence totale d'expression des quatre gènes  $\alpha$  est incompatible avec la vie, entraînant la mort in utéro ou à la naissance dans un tableau d'anasarque foeto-placentaire (hépatosplénomégalie, œdème généralisé, insuffisance cardiaque).

##### ➤ Hémoglobinose H :

Le tableau clinique est celui d'une anémie hémolytique proche de celui de la  $\beta$  thalassémie intermédiaire.

##### ➤ l' $\alpha$ -thalassémie mineure :

Elle est cliniquement asymptomatique. Le diagnostic ne peut être fait que sur les antécédents familiaux et après s'être assuré de l'absence de carence martiale.

##### ➤ l' $\alpha$ -thalassémie silencieuse :

Elles sont silencieuses sur le plan clinique.

#### 2.5. Diagnostic biologique :

##### ➤ Dans l' $\alpha$ -thalassémie homozygote :

L'anémie est sévère, macrocytaire. L'électrophorèse de l'Hb montre 80% d'Hb Bart's, 10% d'Hb H, 10% d'Hb embryonnaire Portland, sans HbF ni Hb A [1].

##### ➤ Dans l'hémoglobinose H :

L'hémogramme montre une anémie à la naissance avec microcytose et hypochromie. Les réticulocytes sont élevés et la coloration des réticulocytes montre des GR à corps de Heinz (précipitation de l'Hb H). L'étude de l'Hb montre 70% d'HbA, de 10 à 30% d'HbH et des traces d'Hb Bart's [1].

##### ➤ Dans l' $\alpha$ -thalassémie mineure :

Elle est responsable d'une microcytose sans anémie ou d'une pseudopolyglobulie microcytaire et hypochrome comme dans la  $\beta$  thalassémie hétérozygote.

L'étude de l'Hb montre, à la naissance 5% d'Hb Bart's. Parfois on note quelquefois une diminution de l'HbA2 inférieure à 2,5%. L'étude *in vitro* de la biosynthèse des chaînes  $\alpha$  n'est pas réalisable en routine. La biologie moléculaire permet d'évaluer le nombre des gènes  $\alpha$  [1].

➤ **Dans l' $\alpha$ -thalassémie silencieuse :**

L'hémogramme est normal dans 50 % des cas. Parfois on retrouve une hypochromie et une microcytose modérées. En période néonatale l'électrophorèse de l'Hb, un taux très modérément augmenté d'Hb Bart's (1-2 %). Le diagnostic peut être fait en biologie moléculaire [1].

Le **Tableau 12** représente les résultats de l'électrophorèse de l'Hb dans les  $\alpha$ -thalassémies.

	<b>Hb bart's <math>\gamma 4</math></b>	<b>HbH <math>\beta 4</math></b>	<b>HbA</b>	<b>HbF</b>	<b>Portland</b>
<b><math>\alpha</math>-thal.homozygote</b>	80%	10%	0	0	10%
<b>Hémoglobinoase H</b>	Traces	10-30%	70%	0	0
<b><math>\alpha</math>-thal.hétérozygote mineure</b>	HbA2 : Normale ou diminuée				
<b><math>\alpha</math>-thal.hétérozygote silencieuse</b>	profil normal				

**Tableau 12** : Résultats de l'étude de l'Hb dans les  $\alpha$ -thalassémies [146].

Le **Tableau 13** est un tableau récapitulatif des résultats des examens hématologiques au cours des principales hémoglobinopathies [116,121, 142, 146]

	A/S	S/S	C/C	E/E	Hb H	$\alpha$ . Thal. M	$\beta$ . Thal. M	$\beta$ . Thal. I	$\beta$ . Thal. m
<b>Nb GR</b>	N	↓	N	N	Pseudopolyglobulie				
<b>Hb (g/dl)</b>	N	7-9	↓	↓	↓	N	4-7	7-9.5	N
<b>VGM</b>	N	N	N	↓	↓	↓	↓	↓	↓
<b>CCMH, TCMH</b>	N	N	N	↓	↓	↓	↓	↓	↓
<b>Réticulocyte</b>	N	↑	↑	↑	↑	N	N	N	N
<b>Anomalies GR</b>	N	Drépanocytes Poïkylocytes Cellules cibles Erythroblastes Corps de Jolly	Cellules cibles	Hypo- chr- -omie Microcyt- -ose	Corps de Heinz	N	Microcytes Poïkylocytes Cellules cibles Erythroblastes	N	N
<b>GB, PQT</b>	N	↑ PNN	N	N	N	N	N	N	N
<b>Bilan d'hémolyse</b>	BNC ↑ Anémie normochrome normocytaire (Hémolytique corpusculaire)			BNC légèrement ↑ Anémie hypochrome microcytaire					

**Tableau 13** : tableau récapitulatif des résultats des examens hématologiques au cours des principales hémoglobinopathies [116,121, 142, 146].

*A/S: drépanocytose hétérozygote.*

*S/S: drépanocytose homozygote.*

*$\alpha$ . Thal. M :  $\alpha$  Thalassémie Mineure.*

*$\beta$ . Thal. M :  $\beta$  Thalassémie Majeure.*

*$\beta$ . Thal. I :  $\beta$  Thalassémie intermédiaire.*

*$\beta$ . Thal. m :  $\beta$  Thalassémie mineure.*

*E/E : Hémoglobinose E.*

*Hb : Hémoglobinose H.*

### II. 3. Les érythroenzymopathies congénitales :

Après le stade de réticulocyte, la survie de l'érythrocyte, cellule dépourvue d'organites et de possibilités de synthèse protéique, dépend d'un équipement enzymatique non renouvelable et d'une source d'énergie limitée essentiellement à la voie anaérobie de la glycolyse. Les atteintes de ces enzymes comportent :

- Le déficit en glucose-6- phosphate déshydrogénase G6PD, enzyme clé de la voie des pentoses,
- les enzymopathies affectant la voie métabolique d'Embden-Meyerhof sont rares [87].

#### A. Déficit en G6PD :

##### 1. Epidémiologie :

Appelé aussi « **favisme** » est l'enzymopathie la plus répandue : 420 millions de sujets atteints dans le monde [150]. Certaines ethnies sont particulièrement touchées : la race noire, les populations du bassin méditerranéen, les juifs sépharades, certaines populations d'Extrême-Orient. Le déficit en G6PD lié à certains variants confère au sujet un avantage sélectif vis-à-vis du paludisme.

##### 2. Mécanisme génétique :

Il existe 2 gènes normaux de la G6PD : le gène B et le gène A. Il existe 2 types de gènes mutés :

- **le variant A** : Il s'agit d'une forme atténuée touchant des sujets de race noire d'origine africaine. La demi-vie de l'enzyme est  $> 10$  jours avec activité enzymatique  $> 10\%$  de la normale. Son activité résiduelle suffit à l'état normal mais ne permet pas éliminer les peroxydes accumulés sous l'effet de molécules. Les crises d'hémolyse sont donc paroxystiques et de caractère provoquées par la prise d'oxydants.

- **le variant B ou type B méditerranéen** : il s'agit d'une forme grave touchant les sujets d'origine méditerranéenne. Il existe une hémolyse chronique avec des crises d'hémolyse intra-vasculaires aigues spontanées ou provoquées. La demi-vie de l'enzyme est de quelques heures avec activité enzymatique  $< 10\%$  de la

Le déficit est lié à une atteinte quantitative par instabilité de la molécule et à demi-vie diminuée, soit une atteinte qualitative par modification du site enzymatique et diminution de l'affinité pour son substrat.

Le déficit en G6PD se transmet selon un mode **récessif lié au sexe**. Le gène de la G6PD est en effet situé sur le chromosome X. l'affection est observée chez le garçon, les femmes sont porteuses de la tare. Les autres cas pouvant être expliqués par la «théorie de l'inactivation de l'X» [1,151].

### 3. Classification OMS :

L'OMS a établi une classification phénotypique en fonction de l'activité résiduelle qui conditionne le risque d'hémolyse et donc la sévérité de la maladie. Cette classification comporte 5 classes (**Tableau 14**).

La variante **G6PD A-** est fréquente dans les populations noires africaines.

La variante méditerranéenne de la **G6PD B-** est présente dans le pourtour méditerranéen, le Proche et le Moyen-Orient où elle touche 10 à 25% de la population. Dans le sud-est asiatique, les variants Mahidol, Canton, Viangelian et Kalping sont prédominants et 10 à 15% de la population est déficitaire [150].

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

**Tableau 14** : Classification OMS des variants enzymatiques de la G6PD [150].

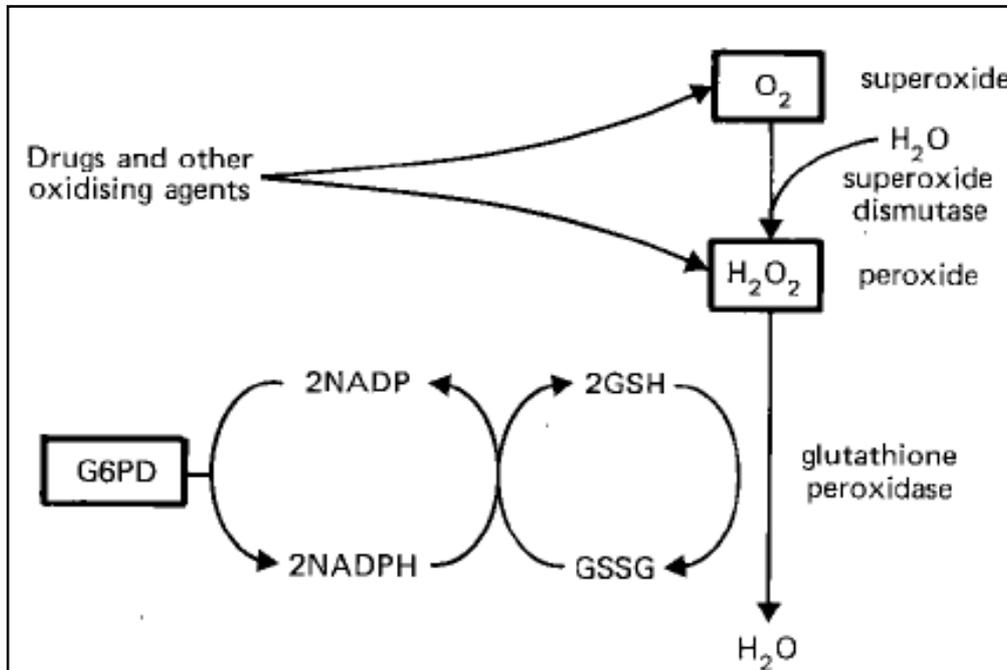
#### 4. Physiopathologie :

##### 4.1. Rôle physiologique de la G6PD :

La G6PD, enzyme clé de la glycolyse aérobie, est chargée des processus d'oxydoréduction. Il intervient au début de la voie des pentose-phosphates. Ce cycle utilise le glucose pour le convertir en pentose, c'est une voie accessoire de la glycolyse en parallèle au cycle de Krebs. Cette enzyme a une fonction essentielle : elle libère deux atomes d'hydrogène du glucose-6-phosphate pour réduire le NADP en NADPH. Cette molécule de NADPH pourra alors à son tour céder ces 2 hydrogènes au glutathion oxydé (GSSG) qui deviendra du glutathion réduit (2GSH) (**Figure 44**) [151].

Or, ce glutathion réduit est utilisé par la cellule pour faire face à un stress oxydatif. Lors d'un tel stress oxydatif, il y a production en abondance de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), toxique pour la cellule. Le glutathion réduit permet de détoxifier l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en le réduisant en 2 molécules d'H<sub>2</sub>O, tandis que lui-même s'oxyde en perdant son hydrogène pour redevenir le glutathion oxydé.

En temps normal, l'enzyme ne fonctionne qu'à 2% de sa capacité maximale. En cas de stress oxydatif important, la baisse du taux de NADPH désinhibe l'enzyme, qui fonctionne alors davantage et s'adapte ainsi pour contrer cette agression.



**Figure 44:** La G6PD protège la cellule contre le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) généré par le stress oxydatif [151].

#### 4.2 . Le mécanisme de l'hémolyse en cas de déficit de G6PD :

Le déficit enzymatique seul ne suffit pas à provoquer une hémolyse pathologique : celle-ci est déclenchée par un facteur extérieur à l'hématie, le plus souvent une agression oxydante [1] (**Tableau 15**).

Les GR déficients en G6PD sont incapables, en cas d'agression oxydante, de fournir la quantité de NADPH nécessaire pour éliminer le surplus de peroxydes. Il en résulte la dénaturation (par oxydation) de protéines du stroma et de la globine, qui précipitent sous forme de corps de Heinz. La présence de ces corps de Heinz dans les GR entraîne une rigidité membranaire. Ces GR circulent difficilement dans les capillaires de la rate et sont rapidement éliminés de la circulation.

<b>Antipaludéens (variante A-)</b>	<b>Quinine, Chloroquine, Quinidine, Hydroxychloroquine</b>
<b>Sulfamides, sulfones</b>	Sulfanilamide, Sulfapyridine, Sulfaméthoxazole Dapsone
<b>Analgésiques</b>	Aspirine, paracétamol
<b>Vitamines</b>	Acide ascorbique, Vitamine K1
<b>Anti-infectieux</b>	Quinolones, Nitrofurantoine, Acide pipémidique Chloramphénicol, Vancomycine, Isoniazide Streptomycine, kétoconazole
<b>Divers</b>	Antihistaminiques H1, Urate-oxydase, Lévodopa Phénytoïne, Bleu de méthylène
<b>Produits chimiques</b>	Nitrates, phénylhydrazine, naphthalène, trinitrotoluène
<b>Végétaux (variante B-)</b>	Fèves, mais aussi pois, haricots secs, artichaut, asperge
<b>Infections (variante B-)</b>	Microbiennes (pneumococcies) Virales (hépatite, mononucléose infectieuse)
<b>Acidose diabétique</b>	

**Tableau 15 :** Principales circonstances pouvant entraîner des accidents hémolytiques chez les sujets déficitaires en G6PD [1].

### 5. Circonstances de découverte :

#### ➤ Circonstances cliniques :

Une grande hétérogénéité clinique est observée selon la nature moléculaire du déficit et l'activité résiduelle de la G6PD dans le GR [152]. Plusieurs tableaux cliniques peuvent se voir :

- **Le tableau d'hémolyse aiguë:**

L'accident hémolytique sévère survient après exposition à un oxydant le plus souvent médicamenteux ou végétal. En dehors de la crise, le patient est tout à fait asymptomatique [153,154]. A la suite de l'ingestion d'un médicament oxydant l'hémolyse évolue en 3 phases schématiques :

- **La Phase initiale :** Les premiers symptômes apparaissent après 2 ou 3 jours de la prise médicamenteuse. Les signes cliniques d'une hyper-hémolyse modérée sont présents : urines foncées, subictère conjonctival, rarement douleurs abdominales et asthénie [155,156].

- **La Phase de récupération :** elle s'étend entre le 10<sup>ème</sup> et le 30<sup>ème</sup> jours.

L'anémie se corrige lentement même sous traitement, les corps de Heinz disparaissent et le taux de réticulocytes atteint 8% à 12% [157,158].

- **La Phase d'équilibre :** il n'ya plus de signes cliniques d'hyper hémolyse et l'anémie disparaît [159].

- **Le tableau d'hémolyse chronique :**

Il survient chez les personnes présentant des mutations rares avec une si basse activité enzymatique que l'hyper-hémolyse se manifeste même en absence de facteurs précipitant. La sévérité du déficit rend l'hématie incapable de résister même aux agressions normales qu'elle rencontre dans la circulation [160].

- **Au cours de la période néonatale :**

L'ictère néonatal est l'une des conséquences les plus graves et les plus menaçantes en cas de déficit en G6PD [161]. Il se produit typiquement le 4<sup>ème</sup> ou 7<sup>ème</sup> jour ce qui est plus tardif en comparaison à l'ictère due à l'incompatibilité foeto-maternelle dans les systèmes ABO/RH, parfois même au-delà de la première semaine, voir la troisième ou la quatrième semaine après la naissance [162].

➤ **Circonstances biologiques :**

Le diagnostic peut se faire lors de l'exploration d'une anémie hémolytique surtout en période néo-natale ou lors d'une enquête familiale.

**6. Diagnostic biologique :**

Les signes biologiques apparaissent entre les 8 et 12 jours après l'agression oxydante. En plus des signes biologiques classiques d'hémolyse :

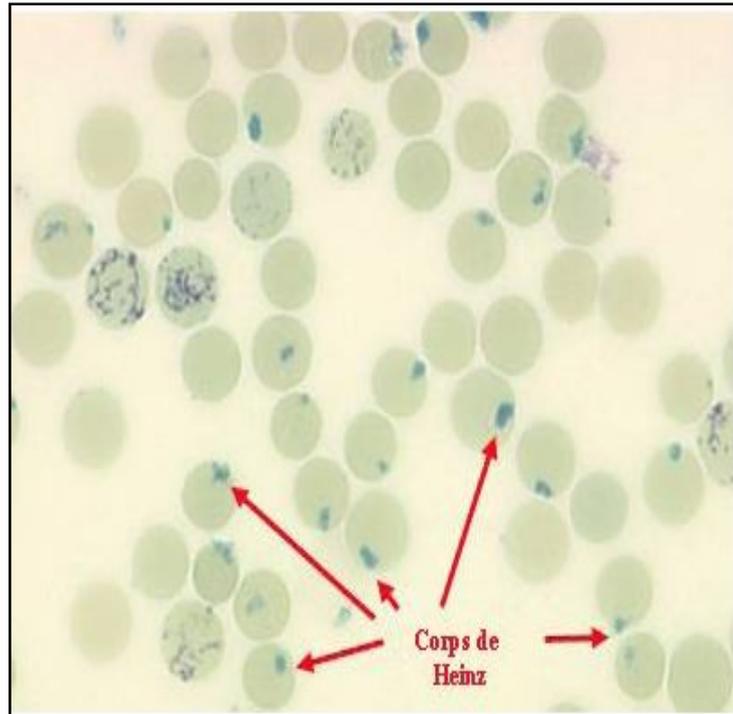
➤ **Les examens non spécifiques :**

- **L'hémogramme :** peut montrer une leucocytose avec myélémie discrète.

Les plaquettes sont normales parfois élevées.

- **Le frottis sanguin :** la morphologie des GR est souvent normale. Des sphérocytes et des GR fantômes peuvent se voir dans les cas sévères.

- **Les corps de Heinz :** pendant l'épisode hémolytique, la dénaturation oxydative de l'Hb apparaît sous forme de petites masses collées à la membrane, ce sont les **corps de Heinz** : inclusions intra-érythrocytaires. Ils sont visibles spontanément lors de la crise ou peuvent être mis en évidence après coloration supra-vitale au bleu de crésyl brillant ou cristal violet après incubation à 37 °C du mélange sang du patient et colorant de 1 à 3 heures. Ils ne sont pas spécifiques du déficit en G6PD (**Figure 45**).



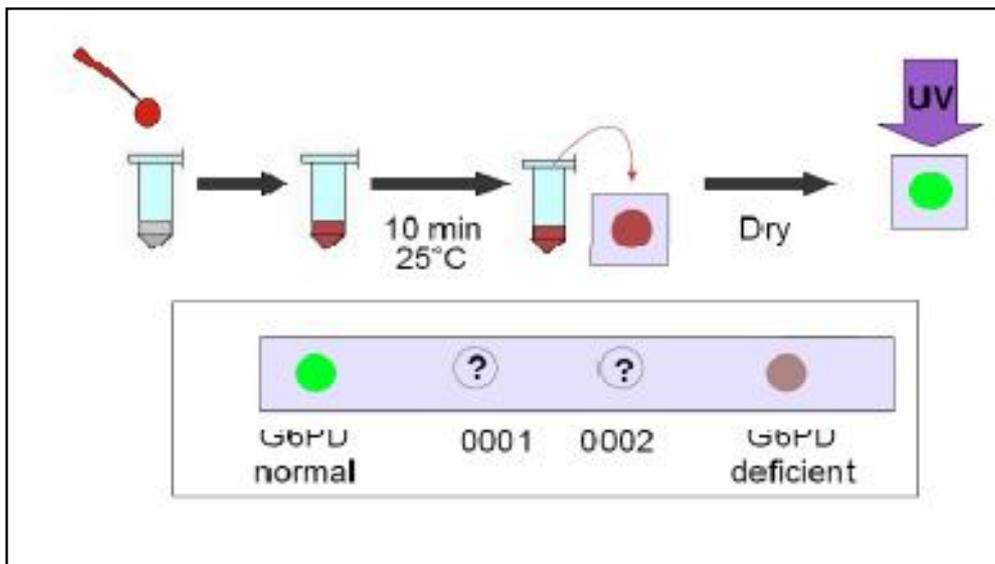
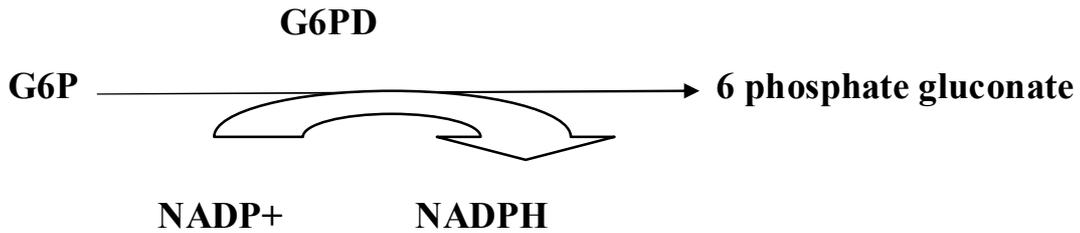
**Figure 45:** Corps de Heinz sur frottis sanguin coloré par bleu de crésyl [22].

➤ **Les tests de dépistage du déficit :**

Ces examens peuvent être réalisés au cours de la crise mais un contrôle est obligatoire loin de la crise. Plusieurs tests sont disponibles et ne sont pas spécifiques :

- Le fluorescent **spot-test** de **Beutler**, consiste à faire incuber un hémolysat en présence de glucose 6-phosphate (G6P) et de NADP puis à en déposer une goutte sur un papier filtre. La production du NADPH est attestée par l'apparition d'une tâche fluorescente lorsque le papier est examiné à la lumière ultra-violette (UV). Ce test visuel distingue les sujets fortement déficitaires (absence de fluorescence en lumière UV) des sujets normaux (forte fluorescence) (**Figure 46**) [164].

Ce test est peu coûteux, il est dérivé du test de référence spectrophotométrique. Retenu par *l'International Committee of Standardization in Haematology*, c'est le plus fréquemment utilisé [163].



**Figure 46:** Fluorescent spot test (beutler 1968) [164]

- Parmi les autres on cite :

- Les tests de réduction des colorants ou test de motulsky (test au bleu de crésyl brillant), test au bleu de méthylène [165]
- Les méthodes de formazan : c'est un ensemble de méthodes qui utilise le principe du MTT-liked spot-test recommandé par le groupe d'expert de l'OMS avec des modifications mineures [166]. La réduction du NADP par le G6PD est accompagnée par la réduction d'un composant du tétrazolium qui est le MTT=3 (4,5-diméthyl-2-thiozoly)2,5-diphényl-2H-tétrazolium bromide à un dérivé formazan insoluble coloré en utilisant un accepteur d'hydrogène qui est le PMS (phénazine méthosulfate).

- Dosage de l'activité par chimiluminescence [167] technique est basée sur l'utilisation d'un luminophore, une molécule luminescente tel que le luminol, qui en réagissant avec un radical libre émet de la lumière. L'activité de la G6PD est inversement proportionnelle à la chimiluminescence formée [168,169].

➤ **Le diagnostic de certitude :**

Le dosage de la G6PD doit être réalisé à distance de la crise réticulocytaire car les réticulocytes sont riches en enzymes érythrocytaires et en G6PD.

Le diagnostic de l'activité enzymatique se fait sur sang veineux avec anticoagulant en général EDTA.

Le taux d'activité du G6PD peut être paradoxalement élevé pendant la crise hémolytique aigue. En effet, les cellules jeunes ont un stock plus important d'enzyme. Il faut donc faire le dosage pendant la crise et trois mois après l'hémolyse.

**- Le dosage spectrophotométrique de l'activité en G6PD :**

Il consiste à mesurer par spectrophotométrie l'augmentation de l'absorption en ultraviolet à 340nm induite par l'apparition du NADPH formé lors de l'incubation de l'hémolysat en présence de G6P et de NADP<sup>+</sup>. La vitesse de réduction du NADP<sup>+</sup> en NADPH s'exprime en unités internationales par g/Hb et se situe pour un prélèvement normal aux environs de 8 UI. Il est toujours important de pouvoir rapporter la valeur trouvée à celle d'une autre enzyme de la glycolyse, afin d'éviter de considérer comme normale une valeur accrue par un phénomène régénératif ou au contraire comme un déficit une valeur basse résultant d'un échantillon mal conservé.

**- Diagnostic génotypique :**

La détection des mutations communes est relativement simple, plusieurs méthodes sont employées parmi elles :

✓ **La PCR-RE** : (Polymerase chain Reaction-Restriction Enzyme)

Elle est basée sur l'amplification de la région appropriée du gène par PCR suivie d'une digestion par des endonucléases appropriées (enzymes de restriction RE) qui reconnaissent des séquences particulières au niveau de l'ADN [170].

✓ **ARMS**: Amplification refractory mutation system.

Elle est basée sur le principe que la mutation d'une base à l'extrémité 3' d'une amorce ne permet aucune amplification par PCR. Selon les fragments amplifiés lors de la PCR, on pourra identifier quelles amorces s'hybrident mal à l'ADN au niveau de sa dernière base et donc la présence à ce niveau d'une éventuelle mutation sur l'ADN testé [171,172].

**NB** : Une électrophorèse de l'hémoglobine doit être réalisée systématiquement car les hémoglobinoses sont souvent associées au déficit en G6PD surtout en zone tropicale.

**B. Déficit en pyruvate kinase (PK):**

Il est observé dans toutes les races, et il est de transmission autosomique récessive et les deux sexes sont également atteints [173].

**1. Physiopathologie :**

La PK est une des enzymes de la voie d'Embden-Meyerhof (glycolyse anaérobie), qui fournit aux GR l'énergie dont ils ont besoin, sous forme d'ATP.

Le déficit en PK peut être qualitatif ou quantitatif le plus souvent. Dans la plupart des cas, le déficit est sévère.

L'insuffisance de production énergétique retentit directement sur les fonctions membranaires : modifications des échanges ioniques liées à la déficience des « pompe à sodium », perte de lipides, diminution de la déformabilité. La diminution du métabolisme énergétique des GR est aggravée au niveau de la rate, favorisant ainsi leur séquestration [1].

## 2. Circonstances de découverte :

Le tableau clinique est celui d'une anémie hémolytique chronique non sphérocytaire. Sa gravité est variable mais l'hémolyse est souvent franche et parfois des poussées aiguës. L'ictère néo-natal est fréquent [1].

## 3. Diagnostic biologique :

**L'hémogramme** : montre une anémie d'intensité variable (absentes dans

Les formes latentes de l'adulte), normochrome, souvent macrocytaire, avec réticulocytes augmentés.

**Le spot-test de Beutler** : permet le dépistage.

**L'auto hémolyse des GR après 48 heures à 37°C** : elle est augmentée, non corrigée par le glucose mais corrigée par l'ATP ;

Le dosage de l'activité enzymatique de PK en UV à 340 nm avec la L-lactate-déshydrogénase (L-LDH).

## C. Les autres déficits enzymatiques :

### 1. Déficiences de la voie d'Embden-Meyerhof :

Il existe 7 déficiences identifiées touchant la glucose-6-phosphate-isomérase, l'hexokinase, la phosphofruktokinase, le triose phosphate isomérase, l'aldolase, la diphosphoglycérate mutase, la phosphoglycérate kinase. Ils sont à transmission autosomique récessive.

Le tableau hématologique est une hémolyse modérée ou proche de celui du déficit en PK, parfois associée à des expressions non hématologiques, au niveau du système nerveux central ou musculaire [174].

### 2. Déficiences du métabolisme des nucléotides :

Mis en évidence au cours des années 1970, le déficit en pyrimidine 5'-nucléotidase a été clairement défini en 1974 [175].

Biologiquement, de nombreuses ponctuations basophiles intra-érythrocytaires sont observées sur le frottis sanguin.

Ces déficits peuvent s'associer à l'hémoglobinoase E [176].

L'utilisation d'amorces spécifiques a permis d'isoler par PCR les séquences P5'N-1 situées sur le chromosome 7 chez les sujets malades [176].

### **III. L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) :**

L'HPN, ou maladie de Marchiafava et Micheli, est une maladie acquise des cellules souches hématopoïétiques de nature clonale, atteignant les trois lignées, leucocytaire, érythrocytaire et plaquettaire et s'exprimant sur le plan phénotypiques particulièrement dans la lignée érythrocytaire. Cette pathologie est due à des anomalies de la synthèse des protéines membranaires responsable de l'ancrage glycophospholipidique dans les cellules sanguines en particulier les protéines régulatrice du complément.

Elle est caractérisée par la sensibilité particulière des érythrocytes à l'action lytique du complément et par accès d'hémolyse intra-vasculaire [177].

#### **1. Physiopathologie :**

##### **➤ Sensibilité anormale des cellules à l'action du complément :**

Dès les premières descriptions, au début du siècle, la sensibilité anormale des GR à l'action lytique du complément a été considérée comme la caractéristique principale de la maladie [178]. Elle est encore de nos jours à la base des tests diagnostiques d'Ham et du test au sucrose. Cette sensibilité anormale des GR à l'action du complément a très vite fait évoquer un déficit membranaire impliquant un système de régulation de la cascade d'activation du complément.

##### **➤ Défaut de molécules régulatrices de l'action du complément :**

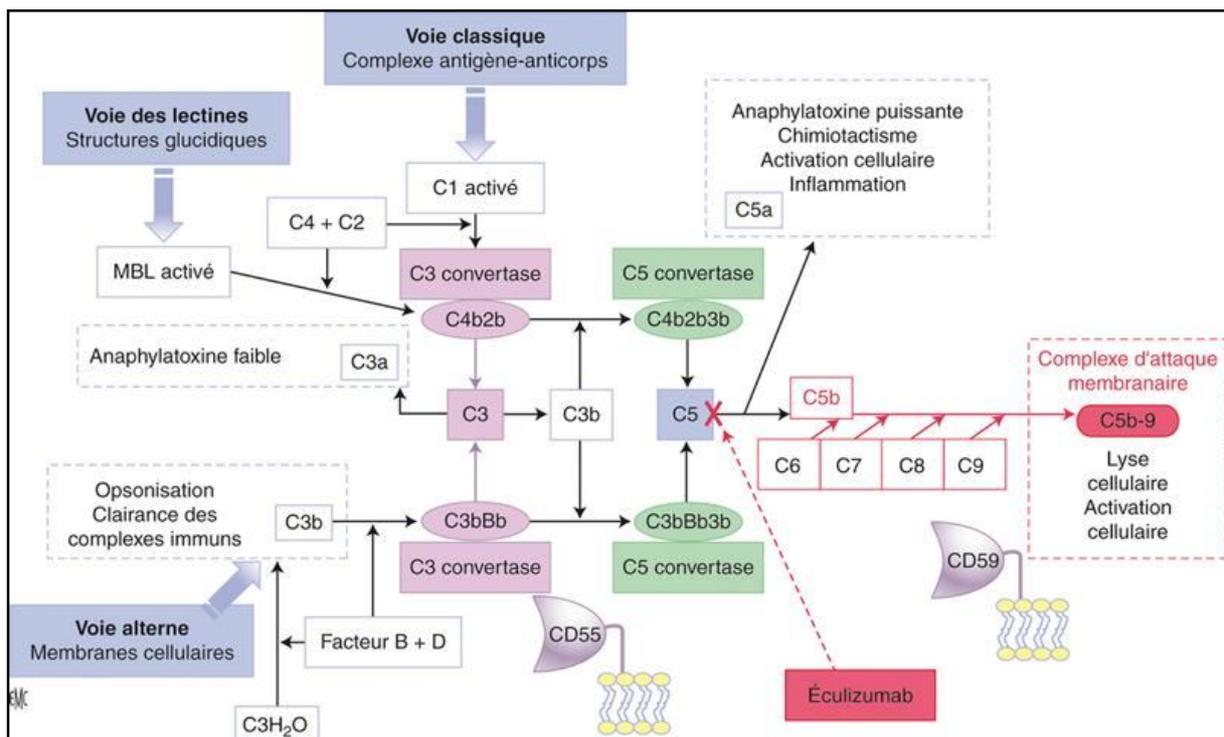
Les deux voies d'activation du complément (classique et alterne) (**Figure 47**) se rejoignent en une voie effectrice commune conduisant à la formation d'un complexe multimoléculaire appelé complexe lytique ou complexe d'attaque membranaire.

L'étape centrale d'activation est la formation de fragments activés de la fraction C3 (C3b) par les C3 convertases des deux voies d'activation.

Au début des années 1980, plusieurs équipes ont démontré que **deux protéines**, dont le rôle est d'inhiber l'action du complément, n'étaient pas exprimées à la surface des GR de patients atteints d'HPN. Ces deux molécules sont le **DAF** (decay accelerating factor) ou **CD55**, qui agit au niveau des C3 convertases, et le MIRL (membrane inhibitor of reactive lysis) ou **CD59**, qui agit en inhibant la formation du complexe d'attaque membranaire [179,180].

➤ **Défaut du système d'ancrage des molécules régulatrices du complément :**

A la suite de ces travaux montrant le défaut d'expression du CD55 et du CD59, d'autres déficits moléculaires ont été identifiés sur les cellules de patients atteints d'HPN [179,181].



**Figure 47 :** Cascade d'activation du complément et rôle de CD55 et de CD59 [182].

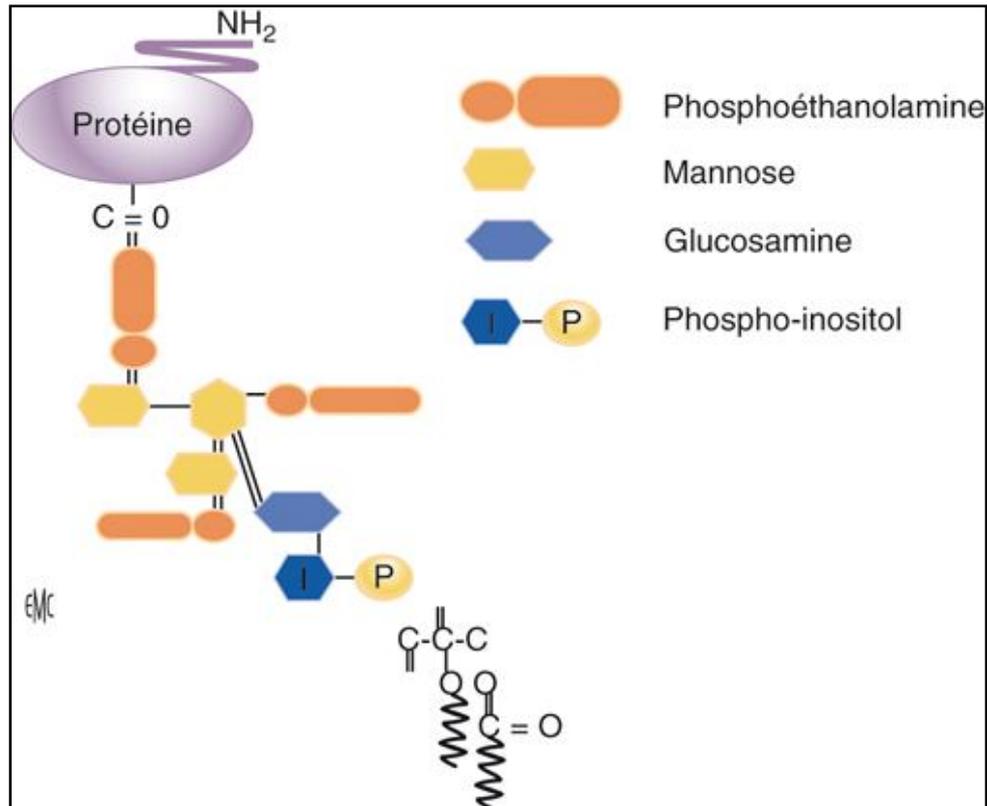
➤ **Aspects biochimiques et moléculaires :**

○ **Structure du système d'ancrage GPI (glycosyl-phosphatidylinositol):**

Au cours de l'HPN, l'absence d'expression à la surface des cellules sanguines de certaines protéines n'est pas liée à un défaut de synthèse mais à l'absence de système d'ancrage GPI.

Cette ancre confère à la protéine des caractéristiques biochimiques (clivage par des phospholipases spécifiques) et des propriétés physiologiques particulières (grande mobilité latérale).

Le système GPI n'est pas une structure transmembranaire (**Figure 48**) c'est un phosphatidylinositol (PI) dont les acides gras pénètrent dans le feuillet lipidique externe de la membrane. La partie inositol est liée à une molécule de glucosamine (GlcN), puis à trois molécules de mannose dont la troisième porte un éthanolamine phosphate. Le groupement amine primaire de l'éthanolamine est engagé dans une liaison peptidique avec la partie C-terminale de la protéine ancrée [183].



**Figure 48:** Structure du système d'ancrage des protéines glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) [182].

○ **Biosynthèse de l'ancre GPI :**

Grâce à la technique de fusion cellulaire et d'hybridation somatique, neuf classes de complémentation ont été identifiées et caractérisées (notées de A à I) correspondant à neuf gènes putatifs qui interviendraient dans la synthèse de l'ancre GPI [184]. Trois classes de complémentation (A, C, et H) ont pour résultat l'incapacité à synthétiser le premier métabolite N-acétyl-glucosaminyl-phosphatidylinositol (NacGlc-PI). Cette étape nécessite donc le produit d'au moins trois gènes [183-185].

En effet, l'HPN est caractérisée par la coexistence, chez la majorité des patients, de cellules normales et de cellules mutées (« le clone » HPN) [186,187]. L'importance relative du « clone » HPN et de l'hématopoïèse normale est variable d'un patient à l'autre et même chez le patient lui-même durant l'évolution de sa maladie [186-188].

## **2. Circonstances de découverte :**

La forme la plus courante, de la maladie est celle d'une anémie hémolytique acquise d'origine corpusculaire, apparaissant chez un adulte jeune, accompagnée d'urines foncées « coca-cola » le matin et parfois d'un ictère modéré.

En pratique, l'HPN est diagnostiquée dans deux circonstances : celle d'une maladie hémolytique et thrombosante classique que l'on peut appeler l'HPN « primitive » ou de « novo » ou celle de la découverte d'un clone HPN chez un patient atteint d'aplasie médullaire traité, quelques mois ou années auparavant, par immunosuppression. Enfin, plus rarement, le diagnostic d'HPN a été associé à un certain nombre d'hémopathies malignes myéloïdes [189]. L'incidence actuarielle des thromboses dans la série de la SFH est de 25 % à 5 ans [190]. Les deux localisations les plus fréquentes de ces thromboses sont les veines sus-hépatiques et le système nerveux central.

Deux autres complications sont fréquemment rencontrées des crises douloureuses abdominales et des infections récurrentes de la sphère ORL et pulmonaires, en particulier.

Certains facteurs étiologiques ont pu être incriminés, comme l'exposition à des produits toxiques pour les cellules médullaires : dérivés organiques (benzène, trichloréthylène, hydrocarbures), insecticides utilisés dans l'agriculture, médicaments (chloramphénicol, noramidopyrine, neuroleptique)...

Cependant dans la plupart des cas la survenue de l'HPN ne peut être reliée à une cause [191].

En revanche, le déclenchement d'épisodes hémoglobinuriques au cours de l'évolution de la maladie peut être du à une situation de stress (effort physique, intervention chirurgicale), à une stimulation du système immunitaire (injection, vaccination, transfusion), ou à la prise de médicaments (sulfamides, aspirine, pénicilline) [192].

La variété pancytopénique de l'HPN, par aplasie ou dysplasie myéloïde peut succéder à l'action d'un produit chimique : médicament, ou un produit utilisé dans l'industrie ou dans l'agriculture, comme dans les aplasies médullaires [193].

### **3. Diagnostic biologique :**

Les méthodes de diagnostic biologique sont de deux types :

- ceux basés sur la sensibilité des érythrocytes à la lyse médiée par le complément,
- et ceux qui mettent en évidence un déficit en protéines GPI ancrées grâce à l'utilisation d'Ac monoclonaux spécifiques en cytométrie de flux [194].

#### **3.1. Les tests d'hémolyse in vitro :**

Les tests classiques tels le test de Ham et Dacie et test au sucrose, sont actuellement abandonnés et le diagnostic est de nos jours assuré par la cytométrie en flux. Cette technique offre de multiples avantages [195].

#### **3.2. Les tests immuno-cytologiques en cytométrie de flux : (Figure 49)**

Les molécules liées au GPI peuvent être étudiées dans des extraits cellulaires par méthodes radio-immunologique ou par Elisa.

L'outil actuel le plus performant est l'étude immunocytologique par cytométrie en flux [181]. Après un nombre important de travaux de recherche clinique il est maintenant clair que cette technique offre de multiples avantages. Elle permet l'analyse rapide des différentes populations leucocytaires et lymphocytaires à partir du sang total (ou éventuellement après séparation cellulaire dans certains protocoles expérimentaux).

Elle permet de distinguer les trois populations cellulaires (HPN de type I, II, ou III) et Les résultats obtenus peuvent être exprimés :

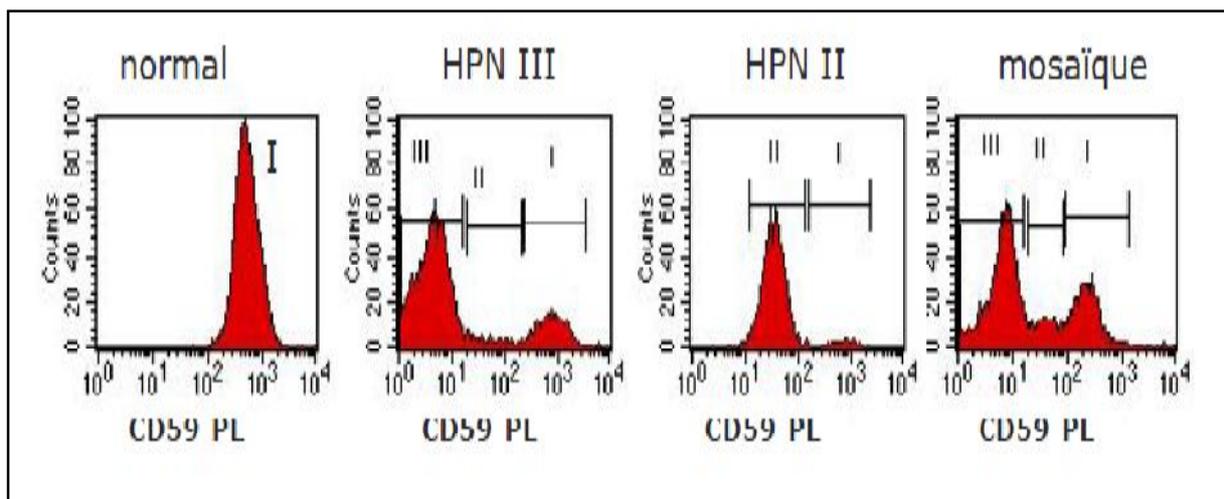
- en pourcentage de cellules négatives (importance relative du clone dans la population étudiée) ;
- et/ou en moyenne d'intensité de fluorescence (unités arbitraires en échelle logarithmique).

Cette dernière manière d'exprimer les résultats est utile, d'une part pour l'étude de certaines molécules comme le CD16 ou le CD58 dont l'expression physiologique est faible, d'autre part dans la mise en évidence de populations dites « intermédiaires » ou PNH II (populations

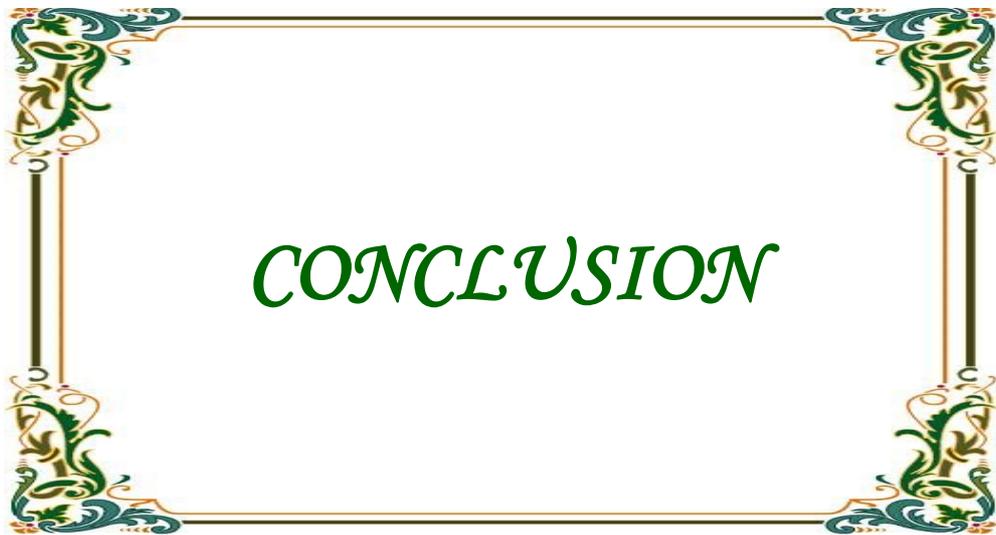
cellulaires exprimant à leur surface un niveau faible, mais non nul d'une molécule GPI donnée).

La sensibilité de la cytométrie en flux dans le diagnostic d'un déficit des molécules GPI permet de détecter des clones minimes. En pratique, pour la majorité des molécules étudiées, un déficit peut être considéré comme significatif lorsque le pourcentage de cellules négatives est **supérieur à 5 %**.

Il est donc vraisemblable que, dans les années à venir, la cytométrie en flux remplacera le test classique d'Ham et Dacie. Soulignons cependant la nécessité absolue (liée à des contraintes techniques, et de rares problèmes particuliers), d'utiliser au moins deux Ac reconnaissant deux molécules GPI différentes, et d'étudier deux populations cellulaires différentes.



**Figure 49** : Cytométrie en flux - analyse de l'intensité de fluorescences [196].



La démarche diagnostique devant une anémie hémolytique (AH) doit être à la fois simple et hiérarchisée afin d'éviter une errance diagnostique potentiellement préjudiciable au patient et la réalisation d'examens complémentaires inadaptés et coûteux. Dès lors que le caractère hémolytique de l'anémie est confirmé, un interrogatoire complet couplé à des examens biologiques simples constitués de l'hémogramme, le frottis sanguin et le test direct à l'antiglobuline (TDA) nous paraît être l'étape essentielle pour orienter rapidement vers la cause de l'AH. Des examens plus spécifiques seront demandés en fonction du contexte épidémiologique, cliniques et des résultats du bilan initial. Le recours à des tests plus spécifiques peut s'avérer nécessaire. C'est l'exemple type de pathologie où la collaboration biologistes- cliniciens doit être étroite afin de juger au cas par cas de la pertinence et de la rentabilité attendue des différents tests et de garantir une bonne interprétation des résultats notamment chez les patients récemment transfusés. En dehors de cas particuliers comme le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), les accidents d'hémolyse post-transfusionnelle ou à un degré moindre les anémies hémolytiques auto-immune (AHAI), la démarche diagnostique ne doit toutefois pas retarder ou empêcher le recours éventuel à un support transfusionnel.



## RESUME

**Titre** : Les hyper-hémolyses

**Auteur** : WAÂL Naima

**Mots clés** : globules rouges, hémolyse, anémies hémolytiques corpusculaires, anémies hémolytiques extra-corpusculaires.

L'hémolyse physiologique est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges sont détruits et libèrent leur contenu hémoglobinique dans le milieu extérieur.

L'hémolyse pathologique ou hyper-hémolyse est la destruction précoce et exagérée des globules rouges circulants qui conduit à une anémie hémolytique. Le tableau clinique comporte la triade de l'hémolyse représenté par la pâleur, l'ictère et la splénomégalie. Le diagnostic biologique repose sur des arguments qui sont soit liés à la destruction du globule rouge (anémie normochrome normocytaire ou macrocytaire) et à l'hyperdestruction de l'hémoglobine (chute de l'haptoglobine, augmentation des LDH, hémoglobinémie, hémoglobinurie, augmentation de la bilirubine, augmentation du stercobilinogène fécal), soit liés aux signes de régénération sanguine et médullaire (augmentation des réticulocytes).

L'analyse des éléments clinique et du bilan biologique initial permet dans la majorité des cas d'orienter sinon de préciser la cause de l'anémie hémolytique.

L'anémie hémolytique peut être congénitale ou acquise. La démarche diagnostique est basée sur des tests simples comme le frottis sanguin, le test à l'antiglobuline et l'électrophorèse de l'hémoglobine jusqu'aux examens plus spécialisés comme l'étude génétique et la biologie moléculaire dans les causes congénitales.

Le but de notre travail est de faire, à travers une revue de la littérature, une approche des mécanismes physiopathologiques, des moyens de diagnostic biologique et les différentes étiologies des anémies hémolytiques.

## SUMMARY

**Title:** The hyper-hemolysis

**Author:** WAÂL Naima

**Keywords:** red blood cells, hemolysis, hemolytic anemia, corpuscular hemolytic anemia extra-corporal.

The physiological hemolysis is irreversible phenomenon by which red cells are destroyed and release their hemoglobin content in the external environment.

Pathological Hemolysis or hyper-hemolysis is the destruction early and exaggerated circulating red blood cells which lead to hemolytic anemia. The clinical presentation includes the triad of hemolysis represented by pallor, jaundice and splenomegaly. Laboratory diagnosis is based on arguments that are either related to the destruction of red blood cells (anemia normochromic normocytic or macrocytic) and hyperdestruction hemoglobin (fall haptoglobin, increase of lactate dehydrogenase, hemoglobin in blood, hemoglobinuria, increased of bilirubin, increased of fecal stercobilinogene) either related to signs of blood and bone marrow regeneration (increased reticulocytes).

The analysis of the clinical and initial laboratory tests allows in most cases to guide otherwise specifies the cause of hemolytic anemia.

Hemolytic anemia can be congenital or acquired. The diagnostic approach is based on simple tests such as blood smears, the antiglobulin test and hemoglobin electrophoresis to the more specialized tests such as genetic and molecular biology in the congenital causes.

The aim of our work is to, through a literature review, approach pathophysiological mechanisms, means of laboratory diagnosis and the various etiologies of hemolytic anemias.

## ملخص

العنوان: فرط انحلال الدم

من طرف: وعل نعيمة

الكلمات الأساسية: كرية الدم الحمراء, انحلال الدم, فقر الدم الانحلالي الكروي, فقر الدم الانحلالي خارج الكرية الحمراء

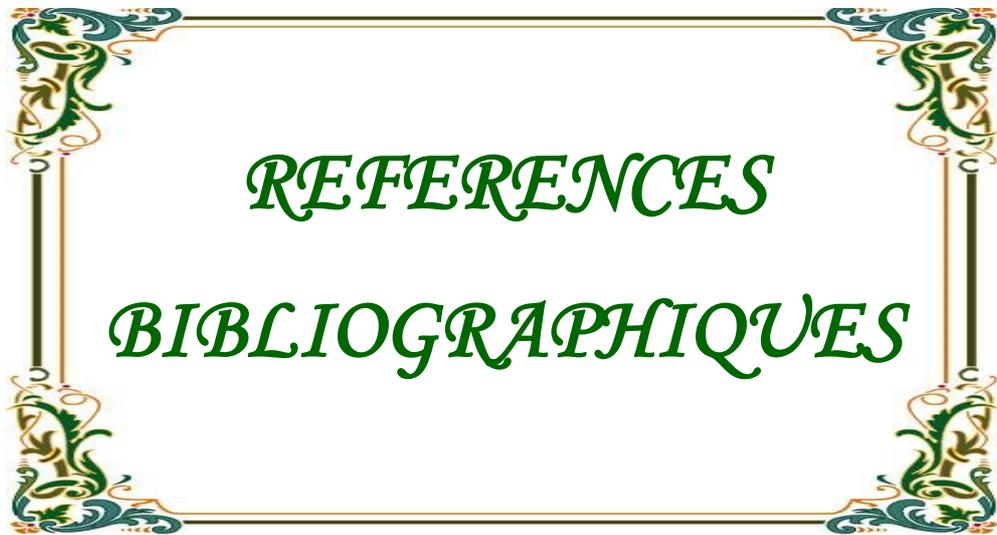
إنحلال الدم الفسيولوجي ظاهرة لا رجعية التي يتم من خلالها تدمير خلايا الدم الحمراء وتحرير مضمونها الهيموغلوبيني في الوسط الخارجي.

إنحلال الدم المرضي أو فرط انحلال الدم هو تدمير مبكر و مبالغ فيه الكريات الدم الحمراء المتنقلة مما يؤدي إلى فقر الدم الانحلالي. تشمل السمات السريرية ثلوث انحلال الدم المتمثل في اليرقان و الشحوب وتضخم الطحال. و يستند التشخيص المختبري على براهين مرتبطة إما بتدمير كريات الدم الحمراء أو التدمير المفرط لخضاب الدم (سقوط هابتوغلوبين و زيادة نازعة هيدروجين اللاكتات ووجود خضاب الدم في الدم أو في البول و زيادة البيليروبين و ستركوبلينوجين البرازي) أو وجود علامات التجديد في الدم والنخاع (زيادة الشبكيات).

تسمح تحاليل الإختبارات السريرية والمخبرية الأولية في معظم الحالات في توجيه الخلف لتحديد سبب فقر الدم الانحلالي.

فقر الدم الانحلالي يمكن أن يكون خلقيا أو مكتسبا. ويستند هذا النهج التشخيصي إلى إختبارات بسيطة مثل مسحة الدم و إختبار أصداد الغلوبولين و تكهرب خضاب الدم وصولا إلى إختبارات أكثر تخصصا مثل البيولوجيا الجزيئية الوراثية في حالة الأسباب الخلفية.

الهدف من هذه الدراسة هو صياغة نهج الآليات المرضية في جسم المريض و وسائل التشخيص المختبري و مختلف مسببات فقر الدم الانحلالي.



*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

- [1] **GERARD SEBAHOUN.** Hématologie clinique et biologique 2<sup>e</sup> édition. **2006.**
- [2] **MICHEL VAUBOURDOLLE.** Biochimie Hématologie 3<sup>e</sup> édition. Le moniteur internat **2008.**
- [3] **ODILE FENNETAU, MICHELINE MAIER-REDELSPERGER.** Apport de l'examen du frottis de sang pour le diagnostic de la pathologie constitutionnelle du globule rouge. Revue Française des laboratoires, Volume 2000, Issue 324, June-July **2000**, Pages 51-62.
- [4] **SY NGUYEN, REDHA BOUROUINA.** Manuel d'anatomie et de physiologie 4<sup>e</sup> édition. **2008.**
- [5] <http://fr.maieutapedia.org/wiki/Sang>
- [6] **LEVY J-P, VENET.A.ET.GOMARDE.** Immunopathologie du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA).In : Bach.JF. Traité d'immunologie. PARIS : Flammarion, **2003** ; 1073-87.
- [7] **JULIE-ANNE DO-ROUVIERE.** Diagnostic de la sphérocytose héréditaire par cytométrie en flux. Mémoire pour diplôme d'études spécialisées de biologie médicale. 31 octobre **2008.**
- [8] **BICHIS M., HUBER A.R.** Les maladies héréditaires de la membrane érythrocytaire: du tableau clinique aux mécanismes génétiques et moléculaires sous-jacents. Annales de biologie clinique, **2000**, 58 : 277 - 289.
- [9] **MARC ZANDECKI.** Physiologie du globule rouge. Faculté de médecine-CHU 49000 Angers France, **2006.**
- [10] **BAIN BJ.** Haemoglobinopathy diagnosis .2<sup>nd</sup> edition .Oxford: Blackwell Publishing, 2006, 313p.

- [11] **MICHEL DEGENNE, CHRISTIAN BINET.** Erythrocyte normal : morphologie, structure, composition chimique, métabolisme érythrocytaire. Cours novembre **2009**.
- [12] <http://www.medicalorama.com/encyclopedie/13653>.
- [13] **D.CHARMOT-BENSIMON.** Les gènes des globines humaines : que nous apprend leur polymorphisme ?. Laboratoire de génétique et physiologie du développement. Centre universitaire de Marseille Luminy. France **1999**.
- [14] **KAZAZIAN.HH AND ANTONARAKIS.S.** Molecular genetics of the hemoglobin genes. In: SINGER.M and BERGER. P (Eds)-Exploring genetic mechanisms. University science BOOK, Sausalito, California, **1997**, pp.301-336.
- [15] **ROSELYNE L'ITALIEN ET AL.** Immunohématologie, hémolyse intravasculaire, **2008**, page 355.
- [16] **J-P LEVY.ET AL .**Hématologie et transfusion.**2008**.2ème édition. Elsevier Masson S.A S.
- [17] **FRANÇOIS JOBIN, PIERRE F. LEBLOND.** Cahiers d'hématologie, Tome 1, **2006**, 180-181.
- [18] Cours Faculté de médecine d'Amiens. **2008-2009**.
- [19] **WILLIAM BERREBI.** Diagnostics et thérapeutique, guide pratique du symptôme à la prescription **2005**, page 466.
- [20] **NORMAN BECK,** Diagnostic Hematology, Springer-Verlag London Limited **2009**: 17-23.
- [21] **BERNARD J, LEVY JP, VARET B, CLAUVEL JP, RAIN JD,** Sultan Y. Hématologie. Abrégés. Paris : Masson, **1996**.
- [22] Cours Professeur **MESSAOUDI. 2003**.

- [23] **VARET B.** Le livre de l'interne. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, **1997**.
- [24] [tenma123.files.wordpress.com/2008/10/11-hemolyse.PDF](http://tenma123.files.wordpress.com/2008/10/11-hemolyse.PDF)
- [25] **M.LEPORRIER.** Anémies hémolytiques immunologiques. EMC (Elsevier Masson SAS), AKOS (traité de Médecine) ,4-0030, **2011**.
- [26] **VAN DER VLIET H.J.** Nieuwenhuis E.E. IPEX as a result of mutations in FOXP3 Clin. Dev. Immunol. **2007**; 2007: 89017.
- [27] **ARNDT P.A, GARRATTY G.** The changing spectrum of drug-induced immune hemolytic anemia Semin. Hematol. **2005**; 42: 137-144.
- [28] **GARRATTY G, ARNDT P.A.** An update on drug-induced immune hemolytic anemia Immunohematol. **2007**; 23: 105-119.
- [29] **JOHNSON S.T, FUEGER J.T., GOTTASCHALL J.L.** One center's experience: the serology and drugs associated with drug-induced immune hemolytic anemia- a new paradigm Transfusion **2007**; 47: 697-702.
- [30] **BERENTSEN S, BEISKE K, TJONNFJORD G.E.** Primary chronic cold agglutinin disease: an update on pathogenesis, clinical features and therapy Haematology. **2007**; 12: 361-370.
- [31] **LEPORRIER.M.** Anémies hémolytiques auto-immunes. Hématologie. Volume 14, Numéro 6, 432-41, Novembre-Décembre **2008**.
- [32] **L'ITALIEN.R, LEBLAN.B** : manuel immunohématologie, page 409, **2008**.
- [33] **GARRATTY G.** The significance of IgG on the red cell surface Transfus. Med. Rev. **1987**; 1: 47-57.
- [34] **EVANS R.S, TAKAHASHI K, DUANE R.T.** Primary thrombocytopenic purpura and acquired haemolytic anemia Arch. Intern. Med. **1951** ; 87 : 48-65.

- [35] **MICHEL M.** Anémies hémolytiques auto-immunes à anticorps « chauds » et syndrome d'Evans de l'adulte Rev. Med. Interne **2008**; 29: 105-114.
- [36] **ROSSE WF.** Cold-induced immune hemolytic anemia. Hematology (ASH Education program book) **2004**; 58-61.
- [37] **MUELLER-ECKHARDT C., SALAMA A.** Drug-induced immune cytopenias: a unifying pathogenetic concept with special emphasis on the role of drug metabolites Transfus. Med. Rev. **1990**; 4: 69-77.
- [38] **GARRATTY G.** Drug-induced immune hemolytic anemia. Hematology (ASH Education program book). **2009**; 73-9.
- [39] **PETZ L.D.** Immune hemolysis associated with transplantation Semin. Hematol. **2005** ; 42 : 145-155
- [40] Recommandations pour la pratique clinique « Prévention de l'allo-immunisation Rhésus D fœto-maternelle », CNGOF **2005** (téléchargeable sur le site : [www.cngof.asso.fr](http://www.cngof.asso.fr)).
- [41] **DREYFUS B, CORDONNIER C, VERNANT JP.** Anémies hémolytiques extracorporelles non immunologiques. In : Breton-gorius J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP éd. L'hématologie de Bernard Dreyfus. Paris : Flammarion. **1992** :509-523.
- [42] **LEE RG.** Acquired hemolytic anemias resulting from direct effects of infections, chemical, or physical agents. In : Lee RG, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM eds. Wintrobe's clinical hematology. Baltimore: Williams and Wilkins, **1998**:1289-1304.
- [43] **ROMEO L, ET AL.** Acute arsine intoxication as a consequence of metal burnishing operations. Am J Ind Med **1997** ;32 :211-216.

- [44] **FOERSTER J.** Red cell fragmentation syndromes. In : Lee RG, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM eds. Wintrobe's clinical hematology. Baltimore : Williams and Wilkins, **1998** :1305-1328.
- [45] **SEARS DA, CROSBY WH.** Intravascular hemolysis due to intracardiac prosthetic devices. Am J Med **1965**; 39:341-343.
- [46] **CREXELLS C, ET AL.** Factors influencing hemolysis in valve prosthesis. Am Heart J **1972**; 84:161-170.
- [47] **ISMENO G, ET AL.** Intravascular hemolysis after mitral and aortic valve replacement with different types of mechanical prostheses. Int j Cardiol **1999**; 69: 179-183.
- [48] **DAVIDSON RJL.** March or exertional hemoglobinuria. Semin Hematol. **1969**; 6:150-154.
- [49] **GITLER B.** Treatment of hemolytic anemia due to red blood cell fragmentation using recombinant erythropoietin. JAMA. **1995**; 300-301.
- [50] **MOSHCOWITZ E.** An acute febrile pleochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries. Arch Intern Med **1925**; 36: 89-94.
- [51] **FURLAN M, ET AL.** Von willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. N. Engl J med. **1999**; 339:1578-1584.
- [52] **TSAI HM, CHUN-YETLIAN E.** Antibodies to von willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med **1999**; 339:1585-1594.
- [53] **PHILLIPS RE, PASVOL G.** Anaemia of Plasmodium falciparum malaria. Bailleres Clin Haematol. **1992**; 5: 315-330.

- [54] **MOHAN K, GANGULY NK, DUBEY ML, MAHAJAN RC.** Oxidase damage of erythrocytes infected with plasmodium falciparum. An in vitro study. *Ann Hematol.* **1992**; 65: 131-134.
- [55] **MOHAN K, ET AL.** Plasmodium falciparum: role of activated blood monocytes in erythrocyte membrane damage and red cell loss during malaria. *Exp Parasitol* **1995**; 80:54-63.
- [56] **GUITTON C, ET AL.** Sphérocytose héréditaire : recommandations pour le diagnostic et la prise en charge chez l'enfant. *Archives de pédiatrie.* **2008** [article in press].
- [57] **DELAUNAY J.** The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood Rev* **2007**; 21:1–20.
- [58] **FRIEDMAN E.W., WILLIAMS J.C., VAN HOOK L.** Hereditary spherocytosis in the elderly. *The American Journal of Medicine,* **1988**; 84: 513 - 516.
- [59] **OH S-E, KIM J-H, ET AL.** An adult with aplastic crisis induced by human parvovirus B19 as an initial presentation of hereditary spherocytosis. *The Korean Journal of Internal Medicine,* **2005**; 20: 96 - 99.
- [60] **BOIVIN P.** Anémies hémolytiques congénitales. *Encyclopédie Médico-chirurgicale* **1989** (Paris-France), sang, 13006 D10, 20p.7.
- [61] **EBER SW, ARMBRUST R, SCHROTER W.** Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: relation to erythrocytic spectrin concentration, osmotic fragility, and autohemolysis. *J Pediatr* **1990**; 117: 409–16.
- [62] **CYNOBER T, MOHANDAS N, TCHERNIA G.** Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. *J Lab. Clin Med* **1996**; 128:259–66.

- [63] **ORSINI A, PERIMOND H, VOLVAN L, MATTEI M.** Anémies hémolytiques constitutionnelles par anomalie de la membrane. *Hématologie pédiatrique* 12: 196-206. Ed. Flammarion Med, Sciences. Paris. **1982**.
- [64] **WINTROBE M.** la sphérocytose héréditaire. *Hematol Clin*: 648-684. Lea and febiger, philadelphie **1962**.
- [65] **BERTIL E, GLADER AND JOHN N. LUKENS.** Hereditary spherocytosis and other anemias due to abnormalities of the red cell membrane. *Wintrobe's clinical hematology* 10th Ed, **1999**; 1132-1159.
- [66] **PARPART AK, ET AL.** The osmotic resistance (fragility) of human red cells. *J Clinic Invest* **1994**; 26:636-40.
- [67] **FUKAWAGA N, ET AL.** Hereditary spherocytosis with normal osmotic fragility after incubation. Is the autohemolysis test really obsolete? *The Journal of the American Medical Association*, **1979**; 242: 63 - 64.
- [68] **BUCK MJ, BREED WP, HOFFMANN JJ.** Comparison of acidified glycerol lysis test, pink test and osmotic fragility test in hereditary spherocytosis: effect of incubation. *Eur J Haematol* **1988**; 40: 227-31.
- [69] **CLARK MR, MOHANDAS N.** Osmotic gradient ektacytometry: comprehensive characterization of red cell volume and surface maintenance. *Blood* **1983**; 61:899-910
- [70] **HASSOUN H, PALEK J.** Hereditary spherocytosis: a review of the clinical and molecular aspects of the disease. *Blood Rev* **1996**; 10: 129-47.
- [71] **TCHERNIA G, ET AL.** Congenital dyserythropoietic anemias. *Hematol J* **2004**; 5: S191-4.

- [72] **STOYA G, ET AL.** Flow cytometry as a diagnostic tool for hereditary spherocytosis. *Acta Haematol* **2006**; 116:186–91.
- [73] **KING M.J, ET AL.** Rapid flow cytometric test for the diagnosis of membrane cytoskeleton-associated haemolytic anaemia. *British Journal of Haematology*, **2000**; 111: 924 - 933.
- [74] **BOLTON-MAGGS PHB, ET AL.** Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *Br J Haematol* **2004**; 126:455–74.
- [75] **LAEMMLI UK.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **1970**; 227: 680–5.
- [76] **FAIRBANKS G, STECK TL, WALLACH DF.** Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane *Biochemistry* **1971**; 10: 2606–17.
- [77] **PAUTARD B, ET AL.** Occurrence of hereditary spherocytosis and beta thalassaemia in the same family: globin chain synthesis and visco diffractometric studies. *Br J Haematol*. **1988**; 70:239–45.
- [78] **D-G. NATHAN, S-H. ORKIN.** Hematology of infancy and childhood (5th edition.)WB Sauders Company, Philadelphia **1998**; 601-14.
- [79] **F.G. DEBRAY, ET AL** .Une forme particulière d’anémie constitutionnelle chez un nourrisson de deux mois : l’Elliptocytose *Arch Pédiat*, **2005**, pp. 163–167.
- [80] **L. GARÇON L.** Diagnostic biologique des maladies constitutionnelles de la membrane érythrocytaire. *Archives de Pédiatrie*. **2009**[article in press] .
- [81] **CYNOBER T, ET AL.** La Sphérocytose héréditaire. *Revue Française des Laboratoires*, **2000**; 324: 45 - 49.

- [82] **DELAUNAY J.** The hereditary Stomatocytose: genetic disorders of the red cell membrane permeability to monovalent cations. *Sem Hematol* **2004**; 41:165-72.
- [83] **STEWART GW, AMESS JA, EBER SW, ET AL.** Thrombo-embolic disease after splenectomy for hereditary stomatocytosis. *Br J Haematol* **1996**; 93: 303-10.
- [84] **GROOTENBOER S, ET AL.** A genetic syndrome associating dehydrated hereditary stomatocytosis, pseudohyperkalaemia and perinatal oedema. *Br J Haematol* **1998**; 103: 383-6.
- [85] **LICHTMAN M, BENTLER E, KIPPS TJ, ET AL.** *Williams Hematology*, 7th ed., McGraw-Hill, **2005**: 369–82.
- [86] **PERRIN J, GEORGES A, MORALI A, ET AL.** Acanthocytes et hypercholesterolemia. *Ann Biolo Clin.* **2008**; 66(5):56972.
- [87] **STUART H. ET AL.** *Hematology of infancy and childhood* 7<sup>th</sup> Edition, **2009**, page 773.
- [88] alphabetical haemoglobin variant list. ihic-international hemoglobin information center. *Hemoglobin* **1996**; 20: 313—35.
- [89] **CARVER MF, HUISMAN TH.** International hemoglobin information center variant list. *Hemoglobin* **1996**; 20: 213—312.
- [90] **BAYSAL E, CARVER MF.** The beta- and delta-thalassemia repository (Eighth edition). *Hemoglobin* **1995**; 19 (3-4):213—36.
- [91] Hématocell.fr
- [92] **THOMAS C, ET AL.** Et le réseau Inserm de recherche clinique sur la drépanocytose. Drépanocytose : étude de la mortalité pédiatrique en Ile de France de 1985 à 1992. *Arch. Péd.* **1996**; 3 : 445-451.

- [93] **BERCHEL C, ET AL.** Histoire naturelle de la drépanocytose. Rev. Prat. **1992**; 42 (15): 1885-1891.
- [94] **BERNARD J, RUFFIE J.** Hématologie géographique. Tome /, Paris; Masson; **1966**.
- [95] **LABIE, WAJEMAN H.** Epidémiologie et génétique Physiopathologie - Biologie clinique et Diagnostic anténatal. In P. Bégué : La maladie drépanocytaire. Paris Sandoz, **1984** : 14-18.
- [96] [acces.ens-lyon/biotic/gpe/dossiers/drepanocytose/html/carte.htm](http://acces.ens-lyon/biotic/gpe/dossiers/drepanocytose/html/carte.htm).
- [97] **REDETZKI JE, BICKERS JN, SAMUELS MS.** Homozygous hemoglobin C disease: clinical review of fifteen patients. South Med J **1968**;61:238—42.
- [98] **LABIE D, ELION J.** Bases physiopathologiques moléculaires et cellulaires du traitement de la drépanocytose. Hématologie **1996** ; 2 : 499-510.
- [99] **LABIE D, ELION J.** Génétique et physiopathologie de la drépanocytose. In R. Girot, P. Bégué, F. Galactéros. La drépanocytose. Paris, John Libbey, **2003** : 1-10.
- [100] **BUNN HF, FORGET BG.** In: Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects. 2nd ed. Saunders, **1986** : 456).
- [101] **GALACTEROS F., BEUZARD Y.** Thalassémies et hémoglobines anormales. In Hématologie de Bernard Dreyfus (3ème édition). Paris; Flammarion Médecine-Sciences; **1992** : 359-393.
- [102] **CLOSTRE F.** Physiopathologie de la drépanocytose. Objectif Médical **1993**; 122: 37-43.
- [103] **ELION J, ET AL .**Vaso-occlusion in sickle cell anemia :role of interactions between blood cells and endothelium.Hematol J 2004 ;5 (suppl 3) : S195-8.

- [104] **OKPALA I, WESTERDALE N, JEGEDE T, CHEUNG B.** Etilefrine for the prevention of priapism in adult sickle cell disease . Br J Haematol **2002** ;118:918-21.
- [105] **BALLAS SK, MARCOLINA J, DOVER GJ, BARTON FB.** Erythropoietic activity in patients with sickle cell anaemia before and after treatment with hydroxyurea.Br J Haematol **1999** ; 105 ;491-6.
- [106] **CHRISTAKIS J, ET AL.** A comparison of sickle cell syndromes in northern Greece Br J Haematol **1991**; 77:386-91.
- [107] **SERJEANT GR, ET AL.** Outcome of pregnancy in homozygous sickle cell disease.obstet Gynecol **2004**; 103:1278-85.
- [108] **JACOB E, ET AL.** Are there phases to the vaso-occlusive painful episode in sickle cell disease? J pain symptom manage **2005**; 29:392-40.
- [109] **LABIE D, ELION J.** La drépanocytose: modèle de la variabilité d'expression d'une maladie monogénique. Arch. Pédiatr. **1996**; 3: 101-103.
- [110] **LEHMANN H, HUNTSMAN R.G.** Man's haemoglobins (second editions). Amsterdam " North Hol/and publ. Co. **1974**: 14-76.
- [111] **HENRI WAJCMAN.** Diagnostic et dépistage de la drépanocytose, Service de biochimie, Inserm U468, hôpital Henri Mondor ,94010 Créteil Cedex;**2004**:54.
- [112] **MAIER-REDELSPERGER M, ET AL.** Diagnostic biologique des syndromes drépanocytaires. In R. Girot, P. Bégué, F. Galactéros. La drépanocytose. Paris; John Libbey; **2003**: 13-29.
- [113] **ITANO H.A.** Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. *Arch. Biochem. Biophys.* 1953; 47: 148-159.

- [114] **JOSIANE BARDAKDJIAN-MICHAU. DORA BACHIR.** Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine .**2003**.
- [115] **V. SIGURET, J.-P. ANDREUX.** Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype. Annales de biologie clinique. Volume 55. Numéro 2.103-12. Mars-avril **1997**. Revues générales.
- [116] **CHRISTOPHE ARNAL, ROBERT GIROT.** Drépanocytose chez l'adulte. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS), Hématologie, 13-006-D-16, **2002**,15p.
- [117] **AMA VI A.** La maladie drépanocytaire : Diagnostic biologique à l'Hôpital Principal de Dakar. Thèse Med. Dakar, **1990**; n°16.
- [118] **BASSET P ET AL.** The isoelectric focusing of human hemoglobins and its applications to screening to the characterization of seventy variants, and to the study of modified fractions of normal hemoglobins. Blood **1978**; 51 : 971-982.
- [119] **DU CROCQ R., BENKEROU M., BRAHIMI L. ET COLL.** Dépistage néonatal ciblé de la drépanocytose : bilan de 5 années d'expérience dans le nord-francilien. Arch. Pédi. **2001** ; 8 (5): 474-480.
- [120] **GALACTEROS F.** Diagnostic néonatal des hémoglobinopathies. Rev. Prat. **1992**; 42 (15) : 1893-1899.
- [121] **H. WAJCMAN, F. GALACTEROS.** Drépanocytose : laboratoire et étude de l'hémoglobine. , Société de pathologie exotique, mercredi 13 décembre **2000**.
- [122] **-BENKEROU M., DENAMUR E., ELION J.** Information génétique et diagnostic prénatal dans la drépanocytose. In R. Girot, P. Bégué, F. Galactéros. La drépanocytose. Paris; John Libbey ; **2003** : 293-301.

- [123] **KAGU M.B., ET AL.** Awareness and acceptability of prenatal diagnosis of sickle anaemia among health professionals and students in North Eastern Nigeria. *Niger. J. Med.* **2004**; 13 (1): 48-51.
- [124] **NAGEL RL, FABRY ME, STEINBERG MH.** The paradox of hemoglobin SC disease. *Blood Rev* **2003**; 17:167-78.
- [125] **ROSA J, WAJCMAN H, BLOUQUIT Y.** Hémoglobine. *Encycl Méd Chir, Hématologie*, **1993** ; 13000-S-10, 14 p.
- [126] **SIGURET V, ANDREUX J-P.** Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype. *Annales de biologie clinique* **1997** ; 55(2) :103-12.
- [127] **YAVARIAN M,ET AL** .Multi centric origin of Hb D-punjab (beta 121(GH4) Glu→Gln,GAA>CAA).*Hemoglobin* **2009** ;33(6) :399-405.
- [128] **ITANO HA.** Third Abnormal Hemoglobin Associated with Hereditary Hemolytic Anemia. *Proc Natl Acad Sci USA* .**1951**; 37:775-84.
- [129] **ZENG Y.T, HUANG S.Z, ZHAO-RUI REN.** Identification of Hb D-punjab gene: application of DNA amplification in the study of abnormal hemoglobins .*american journal of human genetics* **1989**; 44(6):886\_889.
- [130] **SRINIVAS U, ET AL.** Hemoglobin D-Punjab syndromes in India: a single center experience on catio-exchange high performance liquid chromatography .*hematology* **2010**; 15 (3):178-81.
- [131] **REES DC, ET AL.** The hemoglobin E syndromes. *Ann N Y Acad Sci* **1998**; 850: 334-43.
- [132] [http://rbc.gs-im3.fr/DATA/VFHW\\_CD/VFHbE.html](http://rbc.gs-im3.fr/DATA/VFHW_CD/VFHbE.html).

- [133] **RUND D, RACHMILEWITZ E.** Beta-thalassemia N. Engl. J. Med. **2005**; 353: 1135-1146.
- [134] **MARC ZANDECKI.** Les syndromes thalassémiques, **2006**. CHU 49000Angers France.
- [135] **DE MONTALEMBERT M, TOUZET PH.** Manifestations ostéo-articulaires des hémoglobinopathies. In: AM éd Prieur (Ed.) Rhumatologie pédiatrique. Paris : Flammarion Médecine-Sciences. **1999**; 321-328.
- [136] **MODELL B, BERDOUKAS V.** The clinical approach to thalassaemia London: Grune and Stratton. **1984**.
- [137] **HO P.J, ET AL.** Beta-thalassaemia intermedia: it is possible constantly to predict phenotype from genotype? Br. J. Haematol. **1998**; 100 : 295-300.
- [138] **DAVIS BA, PORTER JB .** Long-term outcome of continuous 24-hour deferoxamine infusion via indwelling intravenous catheter in high-risk beta-thalassemia. Blood **2000**; 95: 1229-1236.
- [139] **PRATI D.** Benefits and complications of regular blood transfusion in patients with beta-thalassemia major. Vox Sang **2000** ; 79 : 129-137.
- [140] **JEAN G, ET AL.** Cirrhosis associated with multiple transfusion in thalassemia. Arch Dis Child **1984**; 59: 67-70.
- [141] **DE SANCTIS V, ET AL.** Insulin dependent diabetes in thalassemia. Arch Dis Child **1988**; 63: 58-62.
- [142] **R. GIROT, M. DE MONTALEMBERT.** Thalassémies chez l'enfant. EMC - Pédiatrie - Maladies infectieuses **2006**:1-8 [Article 4-080-A-30] . **2006** Elsevier SAS.

- [143] Arbres décisionnels pour le diagnostic et la caractérisation moléculaire des hémoglobinopathies. *ABC* **2010** ;68 :455-464.
- [144] **SAIKI RK, SCHARF F, FALOONA F, MULLIS KB.** Enzymatic amplification of betaglobin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. **1985** ; 230 : 1350.
- [145] **LA NASA G, ET AL.** Unrelated bone marrow transplantation for beta-thalassemia patients: The experience of the Italian Bone Marrow Transplant group *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**; 1054: 186-195.
- [146] **DE MONTALEMBERT M.** Syndromes thalassémiques. *Encycl Méd Chir* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS)Hématologie ,13-006-D-17,2002,8p.
- [147] **CHEN FE, ET AL.** Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in chinese patients. *N Engl J Med* **2000**; 343: 544-550.
- [148] **WEATHERALL DJ, CLEGG JB, HIGGS DR THALASSEMIA.** In: CR scriver, al beaudet, ws, eds Sly (Ed.) *The metabolic bases of inherited disease*. Toronto: McGraw-Hill: **1989**; 2315-2332.
- [149] **MOUELE R, PAMBOU O, FEINGOLD J, GALACTEROS F.**  $\alpha$ -thalassemia in Bantu population from Congo-Brazzaville: its interaction with sickle cell anemia. *Hum Hered* **2000** ; 50 : 118-125.
- [150] Déficits enzymatiques héréditaires du globule rouge, *Enzymopathies héréditaires. Médecine tropicale.* **2011.**
- [151] WHO working group, Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, *Bull World Health Organ* **67 (1989)**, pp. 601–611.

- [152] **BEUTLER .E, WEST C.** Hematologic differences between African-Americans and whites:the roles of iron deficiency and alpha-thalassemia on hemoglobin levels and mean corpuscular volume.Blood,jul **2005**;(106);pp:740-745.
- [153] **P BOIVIN, A CAJDOS, H LESTRADET.** Enzymopathies; fascicule premier. Masson, Paris, 3<sup>ème</sup> édition. **1971**.
- [154] **BOZZI A,PARISI M,STROM R.** Erythrocyte glutathione determination in the diagnostic of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.biochem Mol Biol Int.**1996** oct;40(3):561-9.
- [155] **BEUTLER E.** G6PD deficiency .Blood **1994**; 84: 3613-3636.
- [156] **BEUTLER E, VULLIAMY TJ.** Hematologically important mutations: glucose-6-phosphate dehydorgenase. Blood cells Mol dis.**2002** Mar-Apr; 28(2):93-103.
- [157] **JALLOH A, TANTULAR IS, S.PUSARAWATI.** Rapid epidemiologic assessment of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in malaria-endemic areas in Southeast Asia using a novel diagnostic kit.Tropical Medicine and international health may **2004** volume 9 no 5 pp 615-623.
- [158] **P.VERLÉ, D. H.NHAN, T.T.TINH.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in northern vietnam.Vietnam Tropical Medecine and international health.**2000**; 5(3); pp: 203-206.
- [159] **PIERLUIGI C,PIERFELICE T,SUSANNA F.** Mortality in a cohort of Men Expressing the glucose-6-phosphate dehydorgenase deficiency.Blood,**1998** Vol.91 No.2,pp:706-709.
- [160] **ABDULRAZZAQ YM, MICALLEF R, QURESHI MM.** Diversity in expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in females.Clin genet **1999** ;( 55); pp: 13-19.

- [161] **BEUTLER E, KUHL W, FOX M, TABSH K, CRANDALL BF.** Prenatal diagnosis of glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency. *Acta Haematol.* **1992**; 87 (1-2):103-4.
- [162] **LABRUNE.P.** Exploration d'un ictère néonatal. *Médecine thérapeutique pédiatrie* volume 4; numéro 2 127-32 mars-avril **2001**.
- [163] **M.XAVIER BERTHO.** Déficit en G6PD : le rôle du médecin généraliste dans le dépistage de la maladie et la prévention des crises. 1 octobre **2008**. thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine D.E.S. de médecine générale.
- [164] [http://apmen.org/storage/apmeniv/vxwg/G\\_Bancone%20APMEN%20.2012.pdf](http://apmen.org/storage/apmeniv/vxwg/G_Bancone%20APMEN%20.2012.pdf)
- [165] **BEUTLER E, KAPLAN K.C, LOHR GW.** International Committee for Standardization in haematology: Recommenden screening Test for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *British journal of haematology*, **1979**, 43, 469-477.
- [166] **PADILLA C, NISHIYAMA K, TAKU S.** Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency using a modified formazan method :A pilot study on Filipino male newborns. *pediatrics International*. **2003**(45) ;pp :10-15.
- [167] **SCOTT MD.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injury in beta thalassemic erythroctes: protective role of catalase and the prooxidant effects of GSH. *Free Radic Biol Med.* **2006** Apr 1; 40 (7):1264-72.
- [168] **YUCEL G, YESILKAYA AKSU TA, YEGIN A, ALICIGUZEL Y.** Increased resistance to oxidative stress in normal and glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient hemolysates in the presence of enzyme substrates. *Int J clin lab res.* **1997**; 27 (1):55-9.

- [169] **GUMUSLU S, YUCEL G, SARIKCIOGLU SB.** Application of a new chemiluminescence method for the determination of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in healthy and enzyme-deficient individuals. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2005 Mar-Apr; 51 (2):169-74.
- [170] **BEUTLER E.** G6PD deficiency. *NEJM*. 1991; N3, Vol: 324.
- [171] **LUO JM, LI MJ, LIANG X.** Identification of G6PD mutations in Guangxi by combination of denaturing high performance liquid chromatography, DNA sequencing and restriction endonuclease analysis. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2005 Oct; 26 (10):607-11.
- [172] **MAFFI D, PASQUINO MT, CAPRARI P.** Identification of G6PD mediterranean mutation by amplification refractory mutation system. *Clin Chim Acta*. 2002 Jul; 321 (1-2):43-7.
- [173] **GEORGES HENNEN.** Biochimie humaine : introduction biochimique à la médecine interne 1996.
- [174] **DACIE J.** The hemolytic anemias, Pyruvate-kinase (PK) deficiency (Churchill Livingstone, New York) 1985, 3, 1, pp 284–320.
- [175] **VALENTINE WN, ET AL .** Hereditary hemolytic anemia with human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. *J Clin Invest* . 1974; 54: 866-79.
- [176] **REES DC, ET AL.** Interaction of hemoglobin E and pyrimidine 5' nucleotidase deficiency. *Blood* 1996; 88: 2761-7.
- [177] **PEFFAULT DE LATOUR R, ET AL.** Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood*. 2008; 112:3099-106.
- [178] **DACIE J.V, LEWIS S.M.** Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: clinical manifestations, haematology, and nature of the disease *Ser. Haematol* 1972; 5: 3-23.

- [179] **ROSSE W.F, WARE R.E.** The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria *Blood*. **1995**; 86: 3277-3286.
- [180] **ROTOLO B, LUZZATTO L.** Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria *Baillieres Clin. Haematol*. **1989**; 2: 113-138.
- [181] **ROTOLO B, BESSLER M, ET AL.** Membrane proteins in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria *Blood Rev*. **1993** ; 7 : 75-86.
- [182] **G.SOCIE, R.PEFFAULT DE LATOUR, J-Y.MARY.** Hémoglobinurie paroxystique nocturne .EMC (Elsevier Masson SAS),Hématologie,13-006-D-25,**2010**.
- [183] **UDENFRIEND S, KODUKULA K.** How glycosylphosphatidylinositol-anchored membrane proteins are made *Annu. Rev. Biochem*. **1995**; 64: 563-591.
- [184] **VIDUGIRIENE J, MENON A.K.** The GPI anchor of cell-surface proteins is synthesized on the cytoplasmic face of the endoplasmic reticulum *J. Cell Biol*. **1994**; 127: 333-341.
- [185] **YEH E.T, ROSSE W.F.** Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the glycosylphosphatidylinositol anchor *J. Clin. Invest* **1994**; 93: 2305-2310.
- [186] **LUZZATTO L, BESSLER M.** The dual pathogenesis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria *Curr. Opin. Hematol* **1996**; 3: 101-110.
- [187] **OHASHI H, HOTTA T, ET AL.** Peripheral blood cells are predominantly chimeric of affected and normal cells in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: simultaneous investigation on clonality and expression of glycoposphatidylinositol-anchored proteins *Blood* .**1994**; 83: 853-859.
- [188] **ROTOLO B, LUZZATTO L.** Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria *Semin. Hematol*. **1989**; 26: 201-207.

- [189] **HILLMEN P, LEWIS S.M, BESSLER M, LUZZATTO L, DACIE J.V.** Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria N. Engl. J. Med. **1995** ; 333 : 1253-1258.
- [190] **DE LATOUR R.P., MARY J.Y, ET AL.** Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories Blood. **2008**; 112: 3099-3106.
- [191] **ROSSE W.A** brief history of PNH .in: Young NS, Moss J, editors .PNH and the GPI-linked proteins .San Diego: Academic Press; **2000**. p1-20.
- [192] **CADWELL V.** Hémoglobinurie paroxystique nocturne .Revue du praticien. **1993**; 43 :11.
- [193] **HILL A, RICHARDS SJ, HILLMEN P.** Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria .Br J Haematol. **2007**; 137:181-92
- [194] **T.MIWA, W.C.** Song, Membrane complement regulatory proteins: insight from animal studies and relevance to human diseases. Int. Immunopharmacol. 1, 2001, 445.
- [195] **C.PARKER, M.OMINE, ET AL.** Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Blood. **2005**; 3699-3709.
- [196] **V.GENTY, G.DINE.** Dossier thérapies ciblées et biologie clinique. Revue Surveillance et diagnostic de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne en cytométrie de flux. Hématologie. Vol 27. mai **2008**.

## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis*
- *fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

### قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَحْسِنِ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوزاع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"

# فرط إنحلال الدم

## أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرف

**الآنسة : نعيمة وعل**

المزودة في 21 ماي 1988 بالدار البيضاء

## لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

**الكلمات الأساسية:** كريات الدم الحمراء - إنحلال الدم - فقر الدم الإنحلالي الكروي - فقر الدم الإنحلالي خارج الكريات الحمراء.

### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ في علم الدم

مشرف

السيدة: نزهة مسعودي

أستاذة مبرزة في علم الدم البيولوجي

السيدة: سعيدة طلال

أعضاء

أستاذة في علم الكيمياء الإحيائية

السيد: عز العرب مسرار

أستاذ في علم الدم البيولوجي