

UNIVERSITE ASSANE SECK DE ZIGUINCHOR

UFR DES SCIENCES DE LA SANTE



ANNEE : 2020

N° 4

ETUDE COMPARATIVE ENTRE LA PCR ET L'ISOELECTROFOCALISATION DANS LE DIAGNOSTIC DE LA DREPANOCYTOSE CHEZ L'ENFANT À L'HÔPITAL DE LA PAIX DE ZIGUINCHOR

THESE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

(DIPLÔME D'ETAT)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

Le 28/02/2020 PAR

Antoinette Ndèye SÈNE épouse VAN EIJSDEN

Née le 14 Février 1991 à Nianing (SENEGAL)

MEMBRES DU JURY

Président :	M. Ibrahima	DIAGNE	Professeur Titulaire
Membres :	M. Alassane	DIATTA	Professeur Titulaire
	M. Noël Magloire	MANGA	Professeur Titulaire
	M. Amadou Lamine	FALL	Professeur Assimilé
Directeur de Thèse :	M. Alassane	DIATTA	Professeur Titulaire
Co-directeur de Thèse :	M. Lamine	THIAM	Maitre de Conférence Titulaire

REPUBLIQUE DU SENEGAL
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR,
DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION



UNIVERSITE ASSANE SECK DE ZIGUINCHOR (UASZ)
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES DE LA SANTE (UFR-2S)



DIRECTION ET ADMINISTRATION

Directeur	M. Noël Magloire MANGA
Vice-Directeur	M. Ansoumana DIATTA
Chef département de Biologie et Explorations fonctionnelles	M. Assane NDIAYE
Chef du département de Chirurgie et Spécialités	M. Serigne Modou Kane GUEYE
Chef du département de Médecine et Spécialités	M. Simon Joël Samemene MANGA
Cheffe des Services Administratifs	Mme Aïo Marie Anne Béty MANGA

Ziguinchor, Le 02 Janvier 2020

**I. LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT UFR SCIENCES DE LA SANTE
UNIVERSITE ASSANE SECK DE ZIGUINCHOR
ANNEES UNIVERSITAIRES 2012-2019**

PROFESSEURS TITULAIRES

PRENOM (S)	NOM	SPECIALITES
M. Alassane	DIATTA	Biochimie
M. Noël Magloire	MANGA	Maladies Infectieuses
M. Assane	NDIAYE	Anatomie

PROFESSEURS ASSIMILES

PRENOM (S)	NOM	SPECIALITES
M. Ansoumana	DIATTA	Pneumologie
Mme Evelyne Siga	DIOME	ORL
M. Boubacar	FALL	Urologie
♦ M. Serigne Modou	Kane GUEYE	Gynécologie
M. Issa	WONE	Santé Publique

MAITRES DE CONFERENCES TITULAIRES

PRENOM (S)	NOM	SPECIALITES
M. Cheikh	DIOUF	Chirurgie pédiatrique
♦ M. Denis	BARBOZA	Anesthésie-Réanimation
M. Yaya	KANE	Néphrologie
M. Simon Joël	MANGA	Cardiologie
M. Lamine	THIAM	Pédiatrie

MAITRES DE CONFERENCES ASSIMILES

PRENOM (S)	NOM	SPECIALITES
† M. Mouhamadou	AIDARA	Imagerie Médicale
Mme Mame Ngoné	COLY	Hématologie
M. Kalilou	DIALLO	Maladies infectieuses
M. Abdoulaye	DIOP	Neurologie chirurgicale
M. Habibou	SARR	Microbiologie
M. Fabrice	SENGHOR	Anatomie pathologique
◆ M. Oumar	SOW	Chirurgie
† Mme Mame Aïssé	THIOUBOU	Gastro-entérologie

◆ Associé

† Titularisation

**II. LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT ASSOCIE DE LA FACULTE DE
MEDECINE DE DAKAR ET DES AUTRES UFR
ANNEE UNIVERSITAIRE 2012-2019**

PROFESSEURS TITULAIRES

M. Abdoulaye GASSAMA	Chimie	UASZ
M. Serigne Abdou BA	Cardiologie	UCAD
M. Abdoulaye LEYE	Endocrinologie	UCAD
M. Abdoulaye NDIAYE	Anatomie	UCAD
M. El Hadji NIANG	Imagerie Médicale	UCAD
M. Abdoulaye POUYE	Médecine interne	UCAD
M. Alassane DIEDHIOU	Mathématiques	UASZ
M. Amadou TOURE	Histo-Embryologie	MALI
M. Anatole LALEYE	Histo-Embryologie et Biologie cellulaire	BENIN
M. André Daniel SANE	Orthopédie-Traumatologie	UCAD
Mme Anna SARR	Médecine interne	UCAD
M. Assane KANE	Dermatologie-Vénérologie	UCAD
M. Babacar FAYE	Parasitologie-Mycologie	UCAD
M. Boucar DIOUF	Néphrologie	UCAD
M. Chérif BALDE	Chimie	UASZ
M. Codé BA	Neurochirurgie	UCAD
† M. Fallou CISSE	Physiologie	UCAD
M. Fatou Samba DIOGO NDIAYE	Hématologie	UCAD
Mme Sokhna Ba DIOP	Imagerie Médicale	UCAD
M. Guata Yoro SY	Pharmacologie	UCAD
M. Ibrahima KONATE	Chirurgie générale	UGB
M. Kobor DIOUMA	Physique	UASZ
M. Mady NDIAYE	Biologie cellulaire	UCAD
M. Abdoulaye Ndoye DIOP	Imagerie Médicale	UGB

Mme Maïmouna NDOUR	Médecine Interne	UCAD
M. Mamadou FALL	Toxicologie	UCAD
M. Mamadou MBODJ	Biophysique	UCAD
M. Modou Oumy KANE	Physiologie	UCAD
M. Mor NDIAYE	Médecine du Travail	UCAD
M. Moussa Fafa CISSE	Bactériologie-Virologie	UCAD
M. Moustapha NDIAYE	Neurologie Médicale	UCAD
M. Oumar NDOYE	Biophysique	UCAD
M. Papa Lamine FAYE	Psychiatrie	UCAD
M. Roger Clément Kouly TINE	Parasitologie-Mycologie	UCAD
M. Saïdou DIALLO	Rhumatologie	UCAD
M. Saliou DIOP	Hématologie	UCAD
M. Serge BAKOU	Biologie cellulaire	EISMV
M. Serigne Moussa BADIANE	Biophysique	UCAD
M. Seydou Nourou DIOP	Médecine interne	UCAD
M. Souhaïbou NDONGO	Rhumatologie	UCAD
M. Tandakha Ndiaye DIEYE	Immunologie	UCAD
M. Adama KANE	Cardiologie	UGB
M. Moussa SEYDI	Infectiologie	UCAD
Mme Sylvie Audrey DIOP	Infectiologie	UGB

† In Memoriam

UCAD : Université Cheikh Anta Diop de Dakar

UGB : Université Gaston Berger de Saint-Louis

UT : Université de Thies

UADB : Université Amadou Diop de Bambe

UASZ : Université Assane Seck de Ziguinchor

PROFESSEURS ASSIMILES

M. Pape Adama DIENG	Chirurgie cardio-vasculaire	UCAD
M. Amadou Lamine FALL	Pédiatrie	UCAD
Mme Arame MBENGUE	Physiologie	UT
M. Chérif BALDE	Chimie	UASZ
M. Chérif Mouhamed M. DIAL	Anatomie pathologique	UCAD
M. Lat Grand NDIAYE	Physique	UASZ
M. Mady NDIAYE	Biologie cellulaire	UCAD
M. Mamadou COUME	Gériatrie-Gérontologie	UCAD
M. Mohamed SOUMAH	Médecine Légale	UCAD
M. Papa Saloum DIOP	Chirurgie Générale	UCAD
Mme Pauline DIOUSSE	Dermatologie-Vénérologie	UT
M. Rokhaya NDIAYE DIALLO	Génétique	UCAD
M. Serge BAKOU	Biologie cellulaire	EISMV
Mme Seynabou FALL	Hématologie	UCAD
M. Abdou Magib GAYE	Anatomie pathologique	UCAD
M. Ibou THIAM	Anatomie pathologique	UCAD
Mme Marie Joseph DIEME	Anatomie pathologique	UCAD
Mme Marie Louis BASSENE	Hépto-Gastro-Entérologie	UCAD
M. William DIATTA	Botanique	UCAD
M. Mouhamed LEYE	Cardiologie	UCAD
M. Philippe MANYACKA	Anatomie	UGB
M. Madoky Magatte DIOP	Médecine interne	UT

MAITRES DE CONFERENCES TITULAIRES

M. Aminata TOURE	Toxicologie	UCAD
M. Atoumane FAYE	Médecine Interne	UCAD
M. Demba DIEDHIOU	Sémiologie médicale	UCAD
M. Lat Grand NDIAYE	Physique	UASZ
M. Magatte CAMARA	Chimie	UASZ
M. Mbaye Diagne MBAYE	Chimie	UASZ
M. Serigne Moussa BADIANE	Biophysique	UCAD
Mme Sokhna SECK	Psychologie	UCAD
Mme Absa LAM FAYE	Toxicologie	UCAD
M. Aly Mbara KA	Ophthalmologie	UCAD
M. Amadou DIOP	Bactériologie-Virologie	UCAD
Mme Armandine E. R. DIATTA	Médecine du Travail	UCAD
Mme Awa NDIAYE SY	Pharmacologie	UCAD
M. Babacar DIOP	Anglais	UASZ
M. Clément MANGA	Mathématiques	UASZ
M. Doudou DIOUF	Oncologie	UCAD
M. Doudou SOW	Parasitologie-Mycologie	UCAD
Mme Fatoumata HANNE	Socio-Anthropologie médicale	UASZ
M. Modou TINE	Physique	UASZ
M. Mouhamed DAFPE	Ortho-Traumatologie	UCAD
M. Moustapha THIAM	Physique	UASZ
M. Abdoulaye NDIIOUCK	Epistémologie médicale	UASZ
M. Abel DIATTA	Informatique	UASZ
Mme Mame Kouna DIAW DABO	Anglais	UASZ
M. Moustapha NDIAYE	Informatique	UASZ
M. Lamine DIOP	Bactériologie-Virologie	UCAD
M. Amadou NDIADÉ	Histologie-Embryologie	UADB
M. Jean Pascal Demba DIOP	Génétique	UCAD
M. Aly Mbara KA	Ophthalmologie	UCAD

MAITRES DE CONFERENCES ASSIMILES

M. Amadou Cambel DIENG	Management	UGB
† M. El H Amadou L BATHILY	Biophysique	UCAD
† M. Jean pierre DIAGNE	Ophtalmologie	UCAD
M. Abbé Michel Mendy	Santé publique	UASZ
Mme Awa NDIAYE SY	Pharmacologie	UCAD
M. Jacques SENGHOR	Anatomie	UASZ
M. Karim GUARBA	TP Anatomie	UCAD
M. Malick FAYE	Soins infirmiers	UASZ
Mme Mame Kouna DiAW DABO	Anglais	UASZ
Mme Fatimata BA	Physiologie	UCAD
M. Abdoulaye KEITA	Secourisme	UASZ
M. Demba DIAGNE	Secourisme	UASZ

† Titularisation

UCAD : Université Cheikh Anta Diop de Dakar

UGB : Université Gaston Berger de Saint-Louis

UT : Université de Thies

UADB : Université Amadou Diop de Bambey

UASZ : Université Assane Seck de Ziguinchor

**DEDICACES ET
REMERCIEMENTS**

« Le Seigneur est mon Berger : je ne manquerai de rien. Oui, le bonheur et la grâce m'accompagneront tous les jours de ma vie, et j'habiterai dans la maison de l'Eternel jusqu'à la fin de mes jours ! »

Psaumes 23 :1 et 6

Eternel DIEU Tout Puissant, Tu as fait naître ce rêve en moi, Tu as pourvu à sa concrétisation. Toi l'Alpha et l'Oméga qui conduit toujours mes pas, je te rends toute la Gloire en ce jour. Tu es Juste et Bon, Tu nous combles de toutes grâces. Merci pour ton amour incommensurable, Merci pour ton Esprit Saint.

†In Memoriam

À DIOUF Marie Louise, dorénavant mon ange gardienne... Notre mère est partie trop tôt... Du haut de tes 54 ans, tu t'es battue jusqu'au bout et surtout contre la maladie. Tu as été et resteras un exemple de combativité et de joie de vivre pour moi. Tu manques à l'appel en ce jour, pourtant j'aurais tellement voulu, encore une fois, partager cette nouvelle étape de ma vie avec toi. Je n'ai pas eu le temps de te dire à quel point je te suis reconnaissante pour toute l'éducation que j'ai reçue de toi. Merci Maman car c'est aussi grâce à toi que j'en suis là aujourd'hui.

Ta pensée m'a toujours accompagné et je sais que ton âme a trouvé repos et paix dans la maison du Très-Haut. Continue de veiller sur nous maman, mon ange !

À mon Oncle Senghor Jacques, Je n'aurais jamais imaginé que tu nous quitterais si brutalement... Merci pour le savoir que vous nous avez transmis. Que DIEU ait ton âme.

À mon Oncle Diouf Pascal, Paix a ton âme....

DÉDICACES

A mon papa SENE Paul Diomaye,

Papa, depuis ma quatrième année de médecine, tu parlais déjà de ce jour où tu assisterais à ma soutenance de thèse. Je rends grâce à DIEU car il a permis que tu sois présent en ce moment.

Merci infiniment pour l'éducation que tu nous as donnée, pour les efforts que tu ne ménages jamais pour nous amener le plus loin possible.

Ta rigueur et ton amour du travail bien fait m'ont inspiré tout au long de ce travail. Merci pour tout. Je t'aime Papa chéri.

A mon Mari Chéri VAN EIJSDEN Lorenzo Guillermo, mon anxiolytique, ma boussole tu es tout ce que j'ai de plus cher au monde.

Tu arrives toujours à calmer mes angoisses, même quand j'ai l'impression que le monde s'écroule. La barre est tellement haute, je me demande si je serai un jour, une aussi bonne épouse pour toi et une bonne mère pour nos enfants que tu es un merveilleux époux pour moi et un merveilleux papa pour nos enfants.

J'admire ton courage, ta patience et ton optimisme. Tu as fait de moi celle que je suis aujourd'hui, que DIEU ne cesse de te bénir et bénir notre foyer qu'il nous accorde avec nos enfants (Donovan...) une longue vie riche en santé.

Merci d'avoir encouragé mon rêve qui se concrétise aujourd'hui. J'espère te rendre fière en ce jour qui est aussi le tien. Je t'aime Mon Mari chéri.

A mes frères et sœurs, Vincent, Michel-Claude, Pierre, Elisabeth, Hélène, Angèle, Marianne, Odile, Antoine, Paul Michel.

Cela a été long, le chemin semé d'embûches, mais j'y suis finalement arrivée et c'est aussi grâce à vous. Merci pour vos marques d'amour, tout le soutien que vous m'avez toujours apporté et vos prières ! Que DIEU nous garde toujours unis et qu'il affermisse toujours l'ouvrage de nos mains.

Mention spéciale à ma grande sœur chérie d'amour Elisabeth madame Tine l'aînée de la famille tu es comme une mère pour moi.

A mes cousins et cousines, Mado, Philomène, Joe pascal, Maurice, Pauline, Marie Diouma, Anne Marie Jean Noel, François Diouf....

Pour la majorité, je suis la petite sœur, mais vous avez toujours accordé beaucoup de crédibilité à mes prescriptions médicales et conseils de santé. Merci pour toute cette confiance.

A mes nièces et neveux adorés, Maman Louise, Louis, Bert, Françoise, Hélène Diouma...

Grandissez en taille et en sagesse que DIEU vous accorde l'intelligence nécessaire pour rendre fière chacun de vos parents plus tard.

REMERCIEMENTS

A ma famille,

A mon oncle chéri GANHA DIOUF, l'oncle le plus gentil de toute la terre. Merci pour tout l'amour que tu me portes, pour l'écoute et la franchise que tu m'accordes et pour mes choix que tu soutiens. Je suis tes traces aujourd'hui. Que DIEU te bénisse et te donne longue vie. Je t'aime beaucoup.

A mes tatas adorées, Ndèye Badiane, Daba Diouf, Marie Sène... Merci pour tout,

A tonton Michel, tonton Paul Ndiaye et tonton Pierre, Merci pour tous vos conseils que Dieu vous bénisse..

A ma Marraine Anne Marie Ndiaye, Merci tata Anna pour toutes tes prières et ton encadrement spirituel.

A la Famille Ndiaye de Nianing, merci bien pour vos encouragements, que Dieu vous bénisse.

A Mr et Mme Robert Gning , à Mr et Mme Jean pierre Sene et à Mme Senghor de la Résidence, j'ai posé mes valises chez vous. Vous vous êtes toujours montré attentionné envers moi. Merci pour votre accueil sans pareil, pour votre dévouement et pour la source de sérénité et de joie que vous avez été pour moi. Que DIEU fasse pleuvoir ses grâces sur votre famille.

A toute ma belle-famille Van Eijsden en Hollande, plus particulièrement à **papa Kees**.

Vous êtes et resterez toujours une famille pour moi. Merci de m'avoir accueillie et acceptée comme votre belle fille. Que DIEU vous bénisse et qu'il vous rende au centuple tout le bien dont vous avez fait à mon endroit.

A ma belle-sœur de cœur, Graciella Esméralda, les mots ne suffiront pas ! Mon cœur déborde d'amour et d'admiration pour toi. Je t'aime. Merci d'être venue jusqu'à Ziguinchor pour nous visiter et rester un mois ferme avec nous, que Dieu te prête une santé de fer et une longue vie pleine de bonheur.

A abbé Christian Manga et aux autres prêtres du séminaire Saint Louis de Ziguinchor, merci infiniment.

Au groupe de Prière Charismatique de Nianing avec le frère Ignace Sambou... Merci

A la chorale Saint Jean de Nianing.... Merci

A la chorale Saint Thoma Daquin de la paroisse Universitaire de ziguinchor, merci pour le temps passé ensemble.

A mes promos du lycée Jeunes de Mbour, Helene, Valentin, Jeannine, Marie Christiane, Mme Rawane, Augustine, Catherine, Marie madeleine, Dombaye Clémence les filles, nous sommes déjà les femmes leaders de demain ! Merci pour tout.

A mes colocs et promotionnaires Khadidiatou, Diarry, Manssata, Marie Diola et Geneviève, nous avons partagé ensemble beaucoup de choses, fous rires, discussions et galères ! Merci pour tout ce que vous m'avez apporté,

A mes promos inoubliables de la fac, Khadidiatou, Diarry, Manssata, Geneviève , Fatim, Naderg, Myriam, Awa, Mina, Baldé, Rome, Mme Diarra, el hadj, André, Maurice, khadim, Pierre, Gildas, Koita, Chérif, Moustapha, Oriane... Merci pour tout ce que vous m'avez apporté durant ce parcours. Je ne vous oublierai jamais. Que DIEU vous bénisse et qu'il bénisse la suite de nos carrières Amen.

A Mr Gassama Diaby, merci de m'avoir présenté toutes les sœurs de l'Université de Zig et merci beaucoup pour les nombreuses photocopies dont vous avez fait pour moi que Dieu vous bénisse.

A Mr Diouf Edouard Professeur de Mathématique à l'UFR des sciences de l'Université de Ziguinchor, merci pour vos encouragements.

Au Docteur Manga Simon, Mon papa à Ziguinchor, Merci pour tous tes conseils et tout le savoir que tu partages sans modération. Que DIEU te bénisse.

A Professeur Diatta Anssoumana, en vous côtoyant lors de nos cours à l'UFR2S, nous avons été marqués par vos qualités pédagogiques, votre esprit méticuleux, et votre passion pour votre domaine. Soyez assuré cher maître, de notre profond respect et de notre grande admiration.

A tous les professeurs qui ont participé à mon encadrement je vous remercie

Major Sané du laboratoire de l'HPZ, toujours disponible et compréhensif. Tu as été patient et tu m'as accordé beaucoup de temps pour le traitement des échantillons de ce travail, il est d'autant plus le tien. Que DIEU te rende au centuple tout le bien que tu m'as fait.

Dr Coly Isabelle, Dr kinta, Dr Dione Antoinette, Dr Diallo, Dr Manga Marc, Dr abbé Michel, aux infirmiers, aux sages-femmes ainsi qu'à tout le personnel de l'hôpital de la Paix de Ziguinchor un grand merci à vous.

A Dr Diouf Cheikh et Dr Diallo Urologie ainsi qu'à tout le personnel du service de CHIRURGIE Général et de tout le personnel de l'hôpital Régional de Ziguinchor Merci.

A tout le personnel du CERPAD, Dr Doupa, notamment à Mr DIOP Mamadou merci pour votre aide pour la manipulation des échantillons à l'IEF et les nombreux coups de téléphone et emails. Merci que Dieu vous bénisse.

A tous les enfants atteints de drépanocytose

A la Hollande ma terre d'accueil

Au Sénégal, mon cher pays

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

**A NOS MAÎTRES ET
JUGES**

A notre Maître et Président de jury

Le Professeur DIAGNE Ibrahima

Nous sommes particulièrement sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury de thèse, malgré vos nombreuses occupations,

Vos qualités humaines, votre rigueur et votre dévouement dans le travail, ainsi que votre engagement dans la lutte contre la drépanocytose, forcent l'admiration de ceux qui ont eu le privilège de travailler à vos côtés.

Veillez trouver en ce travail, nos remerciements, notre respect et notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et Directeur de thèse,

Le Professeur DIATTA Alassane

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de diriger ce travail.

Votre bienveillance, votre générosité, votre modestie et votre esprit de leadership, nous ont particulièrement marqué au cours de notre passage dans cet UFR2S de Ziguinchor. Nous garderons le souvenir de la qualité de votre enseignement et de votre rigueur scientifique.

Vous demeurerez une source d'inspiration pour nous. Voici le fruit de tant d'efforts et de labeur consentit en nous étudiants de Médecine de Ziguinchor.

Veillez trouver dans ce travail, cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et notre sincère gratitude.

A notre Maître et juge

Le professeur MANGA Magloire Noel

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger dans notre jury de thèse.

En vous côtoyant en premier lors de nos cours à l'UFR2S, nous avons été marqués par vos qualités pédagogiques, votre esprit méticuleux, et votre passion pour votre domaine ; et maintenant nous vous côtoyons comme étant le directeur de l'UFR2S et par là vous nous réaffirmé que vous êtes une personne doté de qualités humaines, d'humilité et de qualités pédagogiques.

Soyez assuré cher maître, de notre profond respect et de notre grande admiration.

A notre Maître et juge

Le Professeur FALL Amadou Lamine

Nous sommes honorées et heureuses que vous ayez accepté de juger ce travail.

Vous ne cessez de nous manifester votre disponibilité et votre assistance dans l'encadrement des enseignements de pédiatrie depuis 2015, et avec une humilité exemplaire.

Votre parcours, vos compétences scientifiques et vos nombreuses qualités humaines, suscitent notre profond respect et notre admiration.

Trouvez ici cher maître, l'expression de notre estime et de notre reconnaissance.

A notre Co-Directeur de thèse

Le docteur THIAM Lamine

C'est avec une grande spontanéité que vous avez accepté de codiriger ce travail.

Nous ne vous remercierons jamais assez pour votre encadrement, votre disponibilité et pour l'attention que vous nous avez accordé tout au long de ce travail. Merci d'avoir conduit ce travail du début à la fin et pour tous vos conseils avisés.

Nous garderons le souvenir de votre simplicité, votre gentillesse, votre patience et votre esprit méthodique.

Que DIEU vous comble de ses grâces et qu'il agrée tous vos projets.

Veillez trouver ici, l'expression de notre reconnaissance et de notre profonde gratitude.

<< Par délibération, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation>>

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
AEG :	Altération de l'état général
AINS :	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
ASO :	Allele Specifie oligonucléotides
ATCD :	Antécédents
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
BCG :	Bacille Calmette et Guérin
CCMH :	Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
CDC :	Center for Disease Control and prevention
CERPAD :	Centre de Recherche et de Prise en charge Ambulatoire de la Drépanocytose
CVO :	Crise Vaso-Occlusive
DGGE :	Dénaturant Gradient Gel électrophorèse
EDS :	Enquête Démographique et de Santé
EDTA :	Éthylènediaminetétraacétique
EFR :	Exploration Fonctionnelle Respiratoire
EVA :	Echelle Visuelle Analogique
GAA :	Guanine Adénine Adénine

GAG : Guanine Adénine Guanine

G6PD : Glucose 6 Phosphodéshydrogénase

GTG : Guanine Thymine Guanine

Hb : Hémoglobine

HLA : Human Leucocyte Antigen

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

HTAP : Hypertension artérielle pulmonaire

HTLV 1 : Human T-Lymphotropic Virus

IEF : Isoélectrofocalisation

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IVS : Intervening Sequence

KCL : Chlorure de Kalcium

LaCAR: life and Care Advanced Research

LAMP: Loop isothermal AMPlification

LCR: Locus Control Region

LDH : Lactate Déshydrogénase

NSE : Niveau Socio-Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONU : Organisation des Nations Unies

ORL : Oto-Rhino-laryngologie

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaîne par polymérase)

Penta : Pentavalent (Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite,
Haemophilus influenzae b)

PEV : Programme Élargi de Vaccination

RFLP : Restriction Fragment Length polymorphism

Rota : Vaccin contre le rotavirus

RR : Vaccin contre la rougeole et la rubéole

SaO₂ : Saturation en oxygène

SDM : Syndrome Drépanocytaire Majeur

STA : Syndrome thoracique aigu

T° : Température

TCA : Acide trichloracétiques

TDM : Tomodensitométrie

TE : Test d'Emmel

TSP : Thrombospondine

UCAD : Université Cheikh Anta Diop

UFR : Unité de Formation et de Recherche

UGB : Université Gaston Berger

UI : Unité Internationale

USAD : Unité de Soins Ambulatoires pour Drépanocytaires

VAA : Vaccin anti Amaril.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VPI : Vaccin injectable contre la poliomyélite

VPO : Vaccin oral contre la poliomyélite

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Répartition de l'hémoglobine S de la drépanocytose dans le monde	10
Figure 2: Répartition géographique de l'allèle β_s , allèle responsable de la Synthèse d'hémoglobine S (schéma gauche) et du paludisme (schéma droite).	12
Figure 3: Structure quaternaire de l'hémoglobine A	15
Figure 4: Évolution de la synthèse des chaînes de globine selon l'âge	16
Figure 5: Structures des gènes α et β globine	18
Figure 6: Organisation des gènes de deux familles de gènes-globine	20
Figure 7: Origines du polymorphisme génétique de la drépanocytose.....	23
Figure 8: Origine et répartition géographique des haplotypes drépanocytaires dans le monde	27
Figure 9: Disposition en double brin et contacts intermoléculaires du polymère d'Hb S	30
Figure 10: Transports ioniques impliqués dans la déshydratation des hématies drépanocytaires.....	33
Figure 11: Adhérence des hématies à l'endothélium vasculaire.....	35
Figure 12: Syndrome pieds-mains chez l'enfant.....	41
Figure 13: Drépanocytes observés sur un frottis sanguin	44
Figure 14: Mode de transmission de la drépanocytose	60
Figure 15: Photos du laboratoire de l'hôpital de la paix de Ziguinchor	78
Figure 16: Photo du CERPAD de Saint Louis.....	80
Figure 17: Tube EDTA (a) et papier buvard (b)	83
Figure 18: Appareil pour l'hémogramme	84
Figure 19: Appareil et système de l'IEF	87
Figure 20: Photo de la mise en place du gel	93
Figure 21: Photo de l'alignement des mèches d'IEF	94
Figure 22: Mise en place du gabarit d'échantillon.....	95
Figure 23: Diagramme des variétés d'hémoglobine obtenue par IEF	100

Figure 24: KIT de la Mutation S et C de l'hémoglobine humaine LAMP	103
Figure 25: Machine de PCR et matériel accessoire indispensable à la réalisation du test....	104
Figure 26: Principe de l'analyse de la courbe de fusion	106
Figure 27: Interprétation des résultats	111
Figure 28: Répartition selon le sexe des enfants de la population	115
Figure 29: Répartition des enfants selon les groupes d'âge.....	116
Figure 30: Répartition des enfants selon le groupe ethnique	117
Figure 31: Répartition des enfants selon l'origine géographique	118
Figure 32: Répartition des enfants selon l'existence d'une consanguinité entre les parents	119
Figure 33: Répartition des enfants selon le niveau socioéconomique des familles	120
Figure 34: Répartition des enfants selon les circonstances du diagnostic	121

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Longueurs des introns de la famille β et celle du gène α	18
Tableau II: Critères de choix du mode de prise en charge des infections	69
Tableau III: Calendrier vaccinal du PEV actuel au Sénégal	72
Tableau IV: produits et leurs températures de conservation.....	82
Tableau V: Composant de la trousse du RESOLVE Hemoglobin kit.	85
Tableau VI: Les valeurs de l'alimentation électrique de l'IEF.....	97
Tableau VII: Préparation de la solution de coloration du système de coloration JB-2 pour FR9360 .	98
Tableau VIII: Les réactifs de la PCR	103
Tableau IX: Les 6 types d'amorce.....	107
Tableau X: Température de fusion et niveau de fluorescence pour l'interprétation d'échantillons de sang frais et séchés.....	112
Tableau XI: Génotypes selon la température de fusion et du niveau de fluorescence pour les échantillons de sang frais et séchés.....	112
Tableau XII: Répartition des enfants selon les antécédents et les signes cliniques.....	122
Tableau XIII: Répartition des enfants selon la validité des résultats du test.....	123
Tableau XIV : Répartition des enfants selon le type d'échantillon et selon la technique.....	123
Tableau XV: Répartition des enfants selon les résultats de la PCR et de l'IEF.....	124
Tableau XVI: Concordance des résultats entre PCR et IEF selon le phénotype	124
Tableau XVII: Comparaison des 2 techniques selon le coût des réactifs, la durée et le nombre d'échantillons par manipulation.....	125
Tableau XVIII: Répartition des enfants selon la valeur du taux des globules blancs	125
Tableau XIX: Répartition des enfants selon la valeur du taux d'hémoglobine	126
Tableau XX: Répartition des phénotypes selon le taux d'hémoglobine	127
Tableau XXI: Répartition des phénotypes selon la tranche d'âge.....	127
Tableau XXII: Répartition des phénotypes selon le sexe.....	128

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
1. Généralités	6
1.1. Définition	6
1.2. Historique de la drépanocytose	6
1.3. Epidémiologie	9
1.4. Rappels sur l'hémoglobine humaine et le gène cible de la drépanocytose	13
1.4.1. Structure de l'hémoglobine normale	13
1.4.2. Les gènes de globine	17
1.4.3. Régulation de l'expression des gènes de globines	20
1.4.4. Anomalies de structure de l'hémoglobine (variants Hb)	20
1.4.5. Les hémoglobines instables	22
1.4.6. Polymorphisme génétique et haplotypes drépanocytaires	22
2. Génétique Moléculaire.....	28
3. Physiopathologie.....	28
3.1. Hémoglobine drépanocytaire	28
3.2. Polymérisation de l'hémoglobine S	29
3.3. Déshydratation du globule rouge	31
3.4. Adhésion des drépanocytes à l'endothélium vasculaire	34
3.5. Conséquences cliniques	36
4. Signes cliniques et biologiques de la drépanocytose	38
4.1. Circonstances de découverte de la drépanocytose	38
4.2. Examen clinique.....	38
4.2.1. La phase inter critique.....	38
4.2.2. La phase critique	39
4.3. Examens biologiques	42
4.3.1. Techniques Hématologiques	42
4.3.1.1. Hémogramme et Frottis sanguin	42
4.3.1.2. Test d'EMMEL ou test de falciformation.....	45
4.3.1.3. Test d'ITANO ou test de solubilité.....	45

4.3.2. Techniques électrophorétiques et chromatographiques	45
4.3.3. Exploration génomique	48
4.3.4. Bilan complémentaire de biochimie	49
4.4. Evolution.....	49
4.4.1 Complications aiguës	49
4.4.2. Complications chroniques.....	53
4.5. Pronostic	55
5. Diagnostic	57
5.1. Diagnostic positif	57
5.2. Diagnostic différentiel.....	57
5.2.1. Thalassémies	57
5.2.2. Hémolyses corpusculaires.....	58
5.2.3 Hémolyses extra corpusculaires.....	58
5.3. Diagnostic étiologique	58
6. Prise en charge de la drépanocytose	62
6.1. Buts	62
6.2. Principes.....	62
6.3. Modalités de la prise en charge	63
6.3.1. Prise en charge des crises douloureuses	63
6.3.2. Prise en charge de la vasculopathie cérébrale	64
6.3.3. Prise en charge du syndrome thoracique aigu.....	65
6.3.4. Prise en charge du priapisme	66
6.3.5. Prise en charge de l'anémie aiguë.....	66
6.3.6. Prise en charge des infections	67
6.3.7. Prise en charge des complications chroniques.....	70
6.3.8. Mesures préventives.....	70
6.3.8.1. Prévention des crises douloureuses.....	70
6.3.8.2. Prévention de l'aggravation de l'anémie.....	71
6.3.8.3. Prévention des infections	71
6.3.8.4. Conseil génétique et diagnostic prénatal.....	73
6.3.9. Autres traitements et perspectives thérapeutiques	73
6.3.9.1. L'hydroxyurée	73
6.3.9.2. Greffe de cellules souches hématopoïétiques	74
6.3.9.3. La thérapie génique	74

DEUXIÈME PARTIE : NOTRE ÉTUDE	75
1. Cadre d'étude	76
1.1. Site de l'étude	76
1.2 Types et période d'étude	81
1.3. Population d'étude	81
2. Matériels et Méthodes.....	81
2.1. Entretien avec les parents.....	81
2.2. Prélèvements	81
2.3. Conservation des échantillons.....	82
2.4. Matériels et méthode de l'hémogramme.....	84
2.5. Matériels et méthode de l'iso électrofocalisation	85
2.6. Matériels et méthode de la PCR	101
3. Collecte et paramètres étudiés.....	113
4. Analyse et saisie des données	114
5. Résultats.....	115
5.1. Données épidémiologiques sociodémographiques et économiques.....	115
5.1.1. Répartition des enfants selon le sexe	115
5.1.2. Répartition des enfants les groupes d'âge	116
5.1.3 Répartition des enfants selon le groupe ethnique.....	117
5.1.4 Répartition des enfants selon l'origine géographique de la mère	118
5.1.5. Répartition des enfants selon l'existence d'une consanguinité entre les parents	119
5.1.6. Répartition des enfants selon le niveau socioéconomique des familles.....	120
5.2. Données cliniques	121
5.2.1. Répartition des enfants selon les circonstances du diagnostic	121
5.2.2. Répartition des enfants selon les antécédents et les signes cliniques.....	122
5.3. Données biologiques	123
5.3.1. Répartition des enfants selon la validité des tests de l'IEF et de la PCR	123
5.3.2. Répartition des enfants selon le type d'échantillon manipulé et selon la technique	123
5.3.3. Répartition des enfants selon les résultats de la PCR comparer à l'IEF	124
5.3.4. Répartition des enfants selon la concordance entre les deux techniques	124
5.3.5. Comparaison des deux techniques selon les autres paramètres	125
5.3.6. Répartition des enfants selon la valeur du taux des globules blancs.....	125
5.3.7. Répartition des enfants selon la valeur du taux d'hémoglobine.....	126
5.3.8. Facteurs associés aux phénotypes	127

6. Discussion.....	129
6.1. Population d'étude et échantillon.....	129
6.2. Données épidémiologiques sociodémographiques et économiques.....	129
6.2.1. Sexe.....	129
6.2.2. Âge.....	130
6.2.3. Ethnie, consanguinité et niveau socio-économique	130
6.2.4. Origine géographique.....	131
6.3. Données cliniques	131
6.4. Données biologiques	133
6.4.1. Etude comparative PCR ET IEF	133
6.4.2. Données de l'hémogramme	135
CONCLUSION.....	137
RECOMMANDATIONS	141
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	144
ANNEXES	

INTRODUCTION

Contexte et justification

La drépanocytose est une maladie génétique héréditaire autosomique récessive de l'hémoglobine caractérisée par une substitution d'un acide aminé de la chaîne bêta de la globine [1]. L'expression clinique est variable selon que l'anomalie chromosomique, est portée à l'état homozygote ou hétérozygote. La première description de la drépanocytose a été faite en 1910 par Herrick. Il a noté chez un jeune étudiant originaire de l'île de Grenade la présence d'hématies en forme de croissant [2]. La drépanocytose est caractérisée sur le plan moléculaire par une substitution de l'acide glutamique par la valine au niveau du 6^{ème} codon de la chaîne bêta de la globine. L'anomalie génétique responsable de cette substitution a été découverte vers les années 60 par Vernon Ingram. En effet la mutation porte sur le gène codant pour la chaîne β de la globine. Il y a remplacement du 2^{ème} nucléotide du 6^{ème} codon (GAG) du chromosome 11 qui est l'adénine par la thymine, transformant ce dernier en GTG, réalisant ainsi la mutation : (GAG \rightarrow GTG) qui détermine le gène de la drépanocytose [3, 4].

Ainsi, la drépanocytose fut la première hémoglobinopathie identifiée et la plus répandue dans le monde [4]. L'OMS compte environ 50 millions d'individus dans le monde qui sont porteurs du trait drépanocytaire [4]. C'est sur le continent africain et dans sa diaspora, qu'on compte le plus grand nombre de personnes atteintes de cette maladie. En Afrique, la drépanocytose est essentiellement retrouvée dans les régions tropicales. La prévalence varie entre 10 et 45%, suivant une bande appelée la ceinture sicklémique [1, 4]. Avec environ 45 % à Ouganda et 10% au Sénégal en effet 1 personne sur 10, sans distinction d'ethnie, d'origine géographique ou de classe sociale, porte le gène de la drépanocytose. La majorité ne l'a hérité que d'un des parents et ne présente aucun signe. Ce sont les porteurs du trait drépanocytaire (AS). Cependant, de leurs unions naissent les enfants porteurs de la drépanocytose maladie (SS) avec 25 % des risques à chaque grossesse. Il existe aussi les formes hétérozygoties

composites (SC,SD,...et les S β thalassémie). Ainsi, environ 1700 enfants naissent chaque année, avec la drépanocytose au Sénégal [5].

Le diagnostic biologique de la drépanocytose a beaucoup évolué ces dernières années. Jadis c'était uniquement le test d'Emmel qui était utilisé pour la confirmation biologique de la maladie. Il consiste à mettre les hématies dans une atmosphère désoxygénée qui provoque la falciformation. Ce test rapide et simple, permet de reconnaître en quelques minutes la présence de l'hémoglobine S dans les globules rouges sans toutefois distinguer la forme homozygote de la forme hétérozygote.

Aujourd'hui au Sénégal, le diagnostic de la drépanocytose est généralement réalisé par les techniques électrophorétiques. Le principe de l'électrophorèse est basé sur la migration des différents types d'hémoglobine dans un champ électrique sur un support approprié, en fonction de leur charge électrique et de leur solubilité. Cependant, les nourrissons de moins de 6 mois ne peuvent bénéficier d'un diagnostic sur base de ces techniques en raison de l'interférence de l'hémoglobine fœtale. Ainsi d'autres méthodes sont indispensables pour un diagnostic précoce. En 1975, Koepke a mis au point l'iso électrofocalisation (IEF). Il s'agit d'une technique électrophorétique basée sur la séparation des différentes fractions d'hémoglobines en fonction de leur point iso électrique dans un gradient de pH [1]. Parallèlement d'autres techniques ont été mises au point notamment la technique de biologie moléculaire, PCR. Elle permet une analyse des gènes codant pour la globine.

C'est dans cette dynamique de diagnostic et de prise en charge précoces, que le laboratoire de l'hôpital de la Paix de Ziguinchor, en collaboration avec le Centre de Recherche et de Prise en charge Ambulatoire de la Drépanocytose (CERPAD) de Saint Louis, nous a permis de faire une étude comparative entre la PCR et l'IEF dont le but était d'apprécier la validité de la technique de biologie moléculaire pour le diagnostic de la drépanocytose à Ziguinchor.

Objectifs de l'étude

L'objectif général de cette étude était

- De comparer la technique de biologie moléculaire (PCR) avec l'iso électrofocalisation dans le diagnostic de la drépanocytose chez l'enfant à l'hôpital de la paix de Ziguinchor.

Les objectifs spécifiques secondaires étaient :

- De faire le diagnostic de la drépanocytose par PCR au laboratoire de l'hôpital de la paix de Ziguinchor.
- De démontrer l'intérêt de la technologie moléculaire pour le diagnostic de la drépanocytose à Ziguinchor.
- De valider la méthode dans le laboratoire de l'hôpital de la Paix de Ziguinchor sur des échantillons caractérisés par une méthode de référence.

Pour atteindre ces objectifs, dans un premier chapitre, nous ferons une revue de la littérature sur la drépanocytose et dans un deuxième chapitre nous rapporterons nos résultats avant de les commenter.

**PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE
LA LITTÉRATURE**

1. Généralités

1.1. Définition

La drépanocytose, également appelée anémie falciforme est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive, caractérisée par la présence de l'hémoglobine S dans les hématies, responsable de leur déformation en faucille en cas d'hypoxie. On distingue cliniquement la forme hétérozygote ou trait drépanocytaire AS et les syndromes drépanocytaires majeurs qui regroupent la forme homozygote SS et les hétérozygoties composites (SC, S β thalassémie, etc....).

1.2. Historique de la drépanocytose

La mutation génétique à l'origine de la drépanocytose existe sans doute depuis très longtemps en Afrique. Cependant, ce n'est qu'au XX^{ème} siècle qu'elle a été étudiée.

En effet le premier cas de drépanocytose identifié par James HERRICK médecin à Chicago, a été en 1910, chez un jeune étudiant noir de 20 ans originaire de l'île de Grenade. Le patient présentait une anémie sévère avec présence sur le frottis sanguin d'hématies d'aspect inhabituel en faucille [2].

Le caractère familial de la maladie a été évoqué par Emmel en 1917, devant la découverte de la déformation des globules rouges chez un parent d'un malade. Ce même auteur a démontré parallèlement la falciformation in vitro ainsi que sa réversibilité à partir d'un test, qui porte actuellement son nom (Test d'EMMEL) [6]. Dix ans après, HAHN et GUILLEPSIE font une découverte intéressante concernant la falciformation. Ils démontrent le lien entre celle-ci et la désoxygénation de l'hémoglobine en 1927 [7].

En 1923, alors que seulement 3 cas ont été identifiés, HUCK et TALLIAFERO établissent le caractère héréditaire de l'affection [8].

D'une part, Irving SHERMAN, étudiant à l'université Johns Hopkins, propose l'hypothèse d'une hémoglobine anormale en 1940. Il distingue ainsi le trait falciforme de l'anémie falciforme [9].

D'autre part, le terme de « maladie moléculaire » émerge grâce à PAULING, ITANO, WELLS et SINGER en 1949. En effectuant l'électrophorèse de l'hémoglobine d'un patient possédant des hématies falciformes, ils mettent en évidence une différence électrophorétique entre l'hémoglobine A (HbA) normale et l'hémoglobine S (Hb S) anormale [10].

Ainsi entre 1956 et 1959, INGRAM démontre que l'hémoglobine S est caractérisée par une substitution de l'acide glutamique de la chaîne beta par une valine. En effet, les gènes déterminent la nature de chaque acide aminé dans une protéine [11].

GUTHRIE R. publie une méthode permettant d'envisager un dépistage néonatal systématique des maladies métaboliques en 1963. Ainsi le dépistage de la drépanocytose à la naissance s'aidera plus tard de cette méthode [12].

En 1970, grâce au test de dépistage lancé aux états unis, il est constaté que la population américaine d'origine africaine est la plus touchée [13].

A la suite de cela KAN et COLL envisagent le diagnostic prénatal de la drépanocytose en 1972 [14, 15].

Ainsi En 1980, Yuet WAI KAN a mis au point un test génétique prénatal de la drépanocytose [16].

Ce n'est qu'en 1985 que la méthode d'amplification sélective d'un fragment d'ADN ou PCR a été utilisée [16].

En 1995, l'hydroxyurée devient le premier et seul médicament permettant de prévenir les complications dues à la maladie [8].

Le premier succès de la transplantation de moelle osseuse dans la drépanocytose fut décrit en décembre 1998, aux USA. Il s'agissait d'un garçon âgé de 12 ans [8].

Depuis 2008, la drépanocytose est reconnue par l'ONU comme une priorité de santé publique et le 19 juin est dorénavant la journée internationale qui lui est dédiée [13].

Au cours des dernières années, les progrès de la biologie moléculaire ont permis de démontrer la variabilité génétique de la drépanocytose, notamment avec l'identification des haplotypes. Les méthodes utilisées ont évolué en cinq étapes depuis 1978 [16] :

- En 1978, Y. W. KAN observe le premier polymorphisme de sites de coupures de l'ADN par une enzyme de restriction. C'est le polymorphisme de restriction de l'ADN ou Restriction Fragment Length polymorphism (RFLP).
- Dans les années 1981-1982, le diagnostic de certitude direct de la mutation β est obtenu grâce aux enzymes de restriction Ddel puis Mst II, qui coupent le brin d'ADN du chromosome 11 au niveau du 6ème codon lorsqu'il est normal (GAG) mais pas lorsqu'il est muté (GTG).
- En 1983, la méthode des oligonucléotides spécifiques (ASo = Allele Specific oligonucléotides) permet de caractériser une mutation en utilisant une sonde synthétique d'oligonucléotides à analyser.
- En 1985, la méthode d'amplification sélective d'un fragment d'ADN ou PCR (polymerase chain reaction) est utilisée.
- Depuis 1987, la méthode de l'électrophorèse en gel dénaturant ou DGGE est appliquée et permet de mettre en évidence une seule substitution. La survenue de substitution modifie les conditions critiques de dissociation des brins d'une longue séquence d'ADN lors d'une électrophorèse. À partir de l'électrophorèse, KOEPKE a pu mettre au point la technique de l'IEF.

L'ensemble de cet historique met en évidence une diversité technique, qui tiennent compte de l'existence d'une diversité d'haplotypes. Cette diversité permet d'expliquer la répartition géographique de la drépanocytose d'où l'intérêt de son épidémiologie.

1.3. Epidémiologie

La drépanocytose occupe le 4^{ième} rang des maladies constituant une priorité de santé publique mondial après cancer, VIH et paludisme [17,18].

La drépanocytose est ubiquitaire et irrégulièrement répartie dans le monde avec une nette distribution raciale. Elle prédomine chez les sujets de race noire et particulièrement en Afrique dans la zone délimitant une « ceinture sicklémique » selon Lehmann [19]. Cette ceinture géographique comprend une partie de l'Afrique Occidentale, toute l'Afrique équatoriale et Madagascar.

1.3.1. Dans le monde

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente. Elle constitue l'hémoglobinopathie la plus répandue dans le monde, du fait des migrations. L'OMS estime à plus de 50 millions d'individus dans le monde, porteurs du trait drépanocytaire [20]. En effet sa prévalence est de 9% aux Etats-Unis et elle affecte un enfant américain sur 400 naissances [21]. Elle est également fréquente aux Antilles et on la retrouve autour du bassin méditerranéen et en Asie. Mais sa distribution reste majoritairement africaine (figure 1).

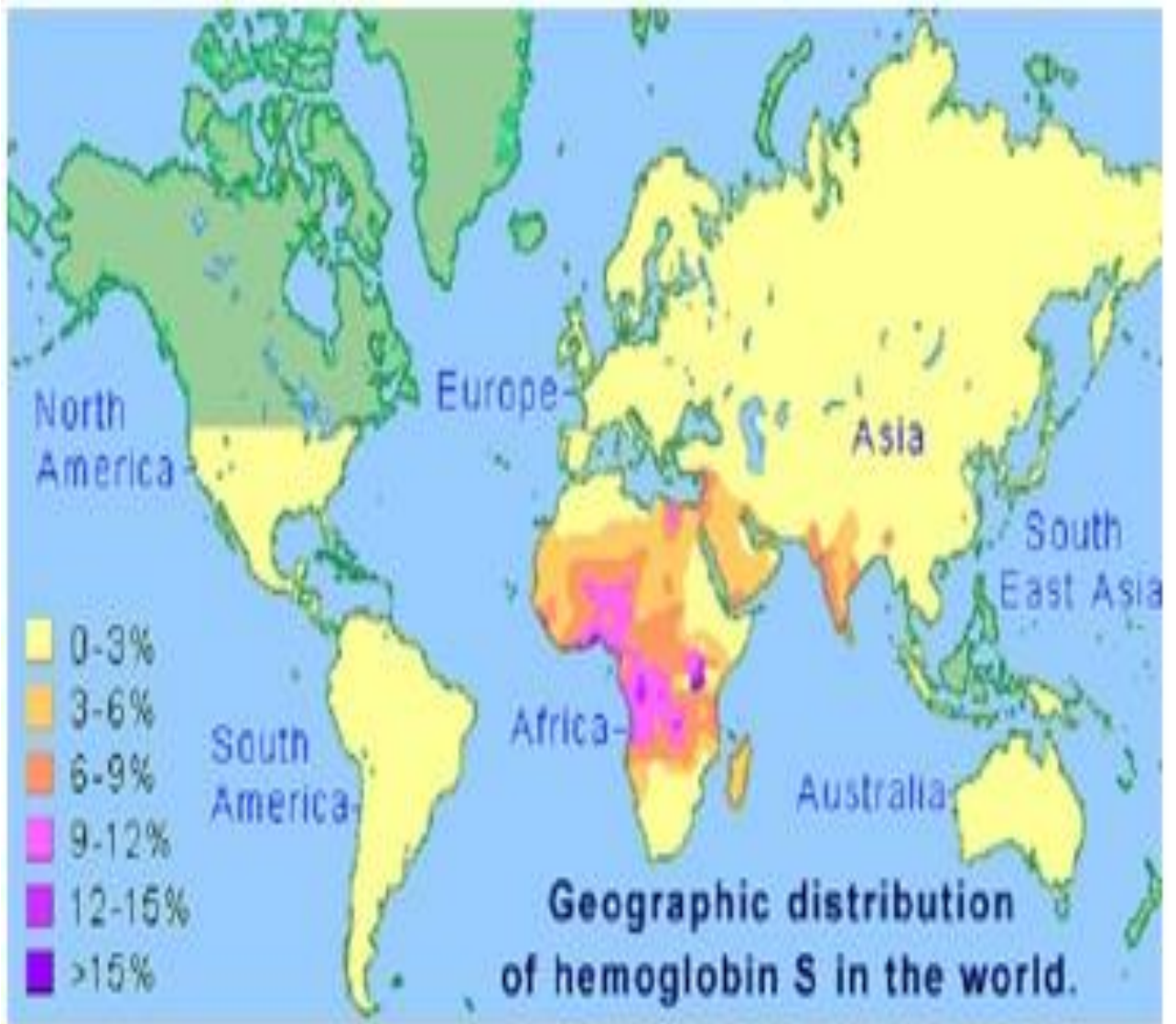


Figure 1: Répartition de l'hémoglobine S de la drépanocytose dans le monde [22]

1.3.2. En Afrique

Lehmann fut le premier à parler de la « ceinture sicklémique ». Elle s'étend du Sud du Sahara jusqu'au Zambèze selon une aire comprise entre le 15ème parallèle de latitude Nord et le 20ème parallèle de latitude Sud. Cette zone se superpose avec les zones d'infestations par le *plasmodium falciparum* suggérant le rôle du paludisme dans l'épidémiologie de la drépanocytose (Figure 2).

En Afrique Sub-saharienne 10-40% des individus sont hétérozygotes pour la mutation β^s et moins de 1% naissent avec la drépanocytose homozygote selon les régions. Il est estimé que chaque année plus de 230000 enfants drépanocytaires naissent en Afrique contre 2600 en Amérique du Nord et 1300 en Europe [23, 24]. La prévalence des porteurs de l'hémoglobine S est de 10 à 40% en Afrique Equatoriale alors qu'elle n'est que de 1 à 2% sur la Cote d'Afrique du Nord et de 1% dans l'Afrique Australe. La drépanocytose a une fréquence très élevée en Afrique Subsaharienne, où il y'a des transmetteurs [24]. Dans les pays comme le Nigéria, le Ghana, le Cameroun et le Gabon, les taux de prévalence varient entre 20 à 30% tandis que dans certaines régions tel que l'Ouganda, ils atteignent 45%.

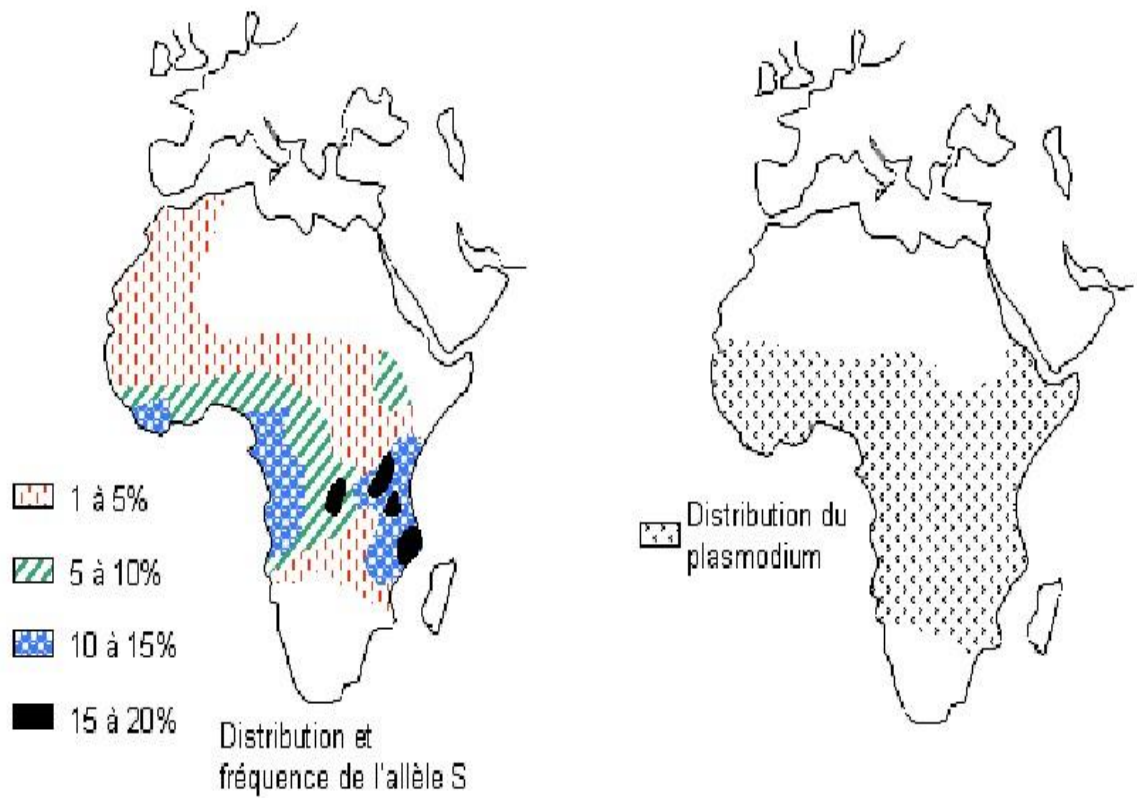


Figure 2: Répartition géographique de l'allèle β_s , allèle responsable de la Synthèse d'hémoglobine S (schéma gauche) et du paludisme (schéma droite).

La fréquence dans une population de β_s serait corrélée à un facteur de l'environnement, la présence du paludisme [23].

1.3.3. Au Sénégal

Les études épidémiologiques réalisées en milieu scolaire avaient retrouvé une prévalence de 10% de porteurs du trait drépanocytaire, c'est-à-dire 1 personne sur 10, sans distinction d'ethnie, d'origine géographique ou de classe sociale, porte le gène de la drépanocytose. Environ 1.700 enfants naissent, chaque année, avec la drépanocytose au Sénégal [5, 25, 26]. Des études par dépistage néonatal systématique avaient retrouvé une incidence de 0,5% de forme homozygote chez les nouveau-nés [15, 27].

Depuis plus de 30 ans le pays s'est engagé dans un programme national de lutte contre la drépanocytose, basé au ministère de la santé. Sur le plan de la prise en charge, il existe deux centres de références pédiatriques : le centre de recherche et de prise en charge ambulatoire de la drépanocytose (CERPAD) de Saint Louis et l'unité de soins ambulatoire de la drépanocytose (USAD) de Dakar, plus un centre de référence pour adulte : centre national de transfusion sanguine (CNTS).

Au Sénégal, le taux de porteur d'Hb S est de 10% avec 0,5% de formes majeures [26].

1.3.4. A Ziguinchor

Des études faites en milieu hospitalier ont montré que le diagnostic et la prise en charge médicale sont tardifs, l'âge moyen des enfants connu atteint de la drépanocytose homozygote est de 8 ans, le sexe masculin est légèrement dominant et on retrouve une diversité ethnique à prédominance de manding et de Diola [26, 28].

1.4. Rappels sur l'hémoglobine humaine et le gène cible de la drépanocytose

1.4.1. Structure de l'hémoglobine normale

L'hémoglobine est une protéine contenue dans les hématies qui assure le transport de l'oxygène au sein des tissus. Sur le plan moléculaire, il s'agit d'une macromolécule qui présente une structure tétramérique. Il est constitué chez l'adulte de 2 paires de chaînes

polypeptidiques α et β appariées entre elles et liées chacune à une molécule d'hème qui contient un atome de fer, capable de s'associer à l'oxygène (Figure 3).

Il existe trois (03) types d'hémoglobines normales (Figure 4) :

- l'hémoglobine A1 : Soit 95% de l'hémoglobine totale chez l'adulte. Elle apparaît après la naissance et son taux est maximal vers le huitième mois. Elle est composée de 2 chaînes α et de 2 chaînes β .

- l'hémoglobine A2 : composée de 2 chaînes α et de 2 chaînes δ . Elle est présente chez l'adulte en quantité faible inférieure à 5%.

- l'hémoglobine F : faite de 2 chaînes α et de 2 chaînes γ . Elle prédomine chez le fœtus et diminue rapidement à la naissance.

La synthèse des chaînes α et γ -globine qui composent l'hémoglobine fœtale [2α , 2γ] est maximale entre 3 et 6 mois de vie utérine. La synthèse des chaînes γ amorce ensuite une chute qui devient quasi-complète 6 mois après la naissance : l'hémoglobine fœtale voit donc son taux diminuer. À partir de la naissance, la synthèse des chaînes de β -globine subit une accélération pour rejoindre les chaînes α demeurées élevées, et constituer l'hémoglobine A normale. De ce fait l'hémoglobine normale A est constitué de :

Deux chaînes α (ou globines α) qui est composées chacune de 141 acides aminés et de deux chaîne β (ou globine β) faites de 146 acides aminés.

Chaque acide aminé correspond à son tour à un codon fait de 3 bases nucléiques soit :

-bases nucléique dérivé de purine : adénine (A), guanine(G),

-bases nucléiques dérivé de pyrimidine : thymine(T), cytosine (C), uracile (U) [29].

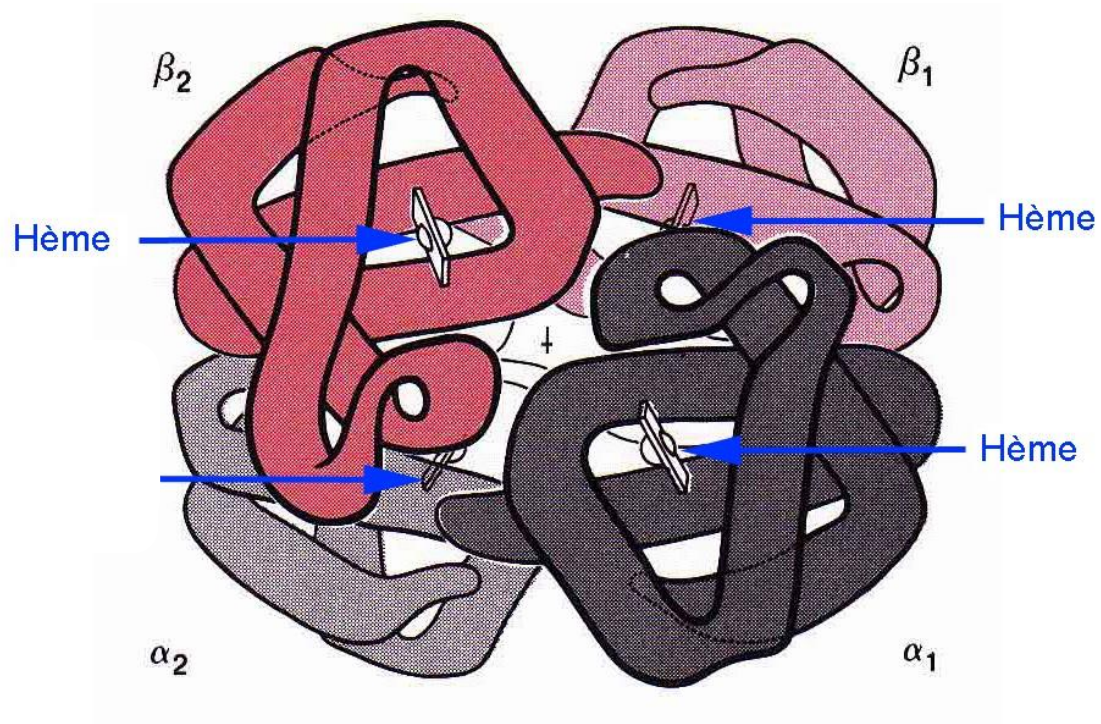


Figure 3: Structure quaternaire de l'hémoglobine A [30]

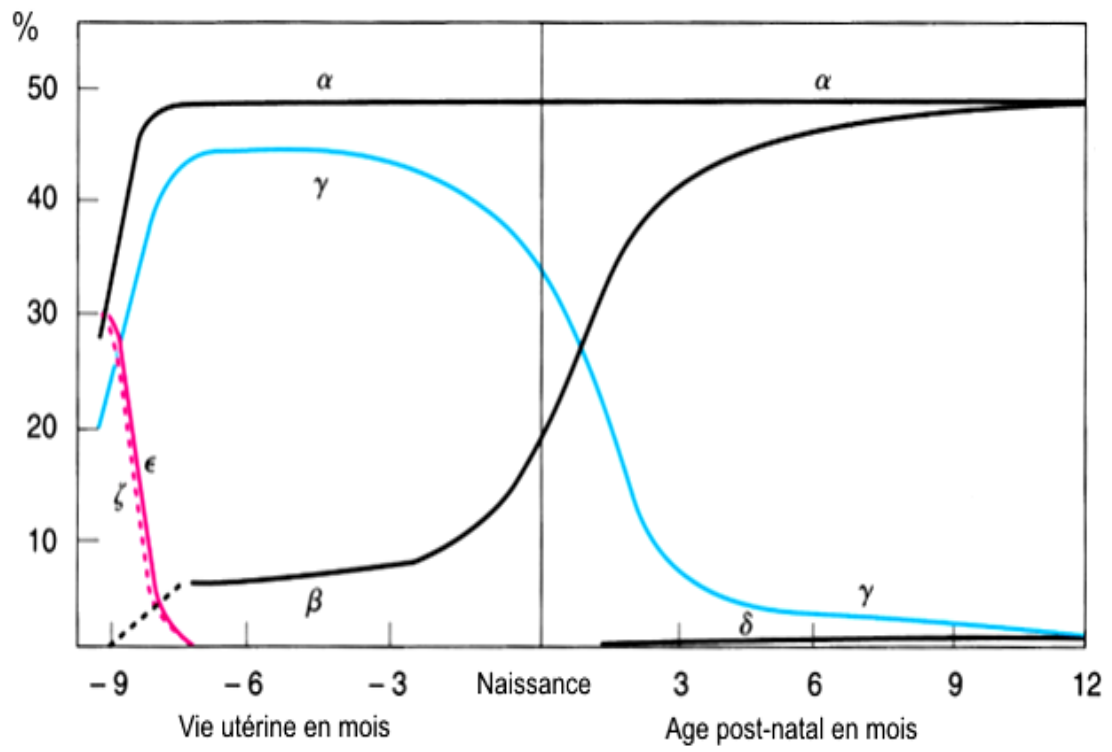


Figure 4: Évolution de la synthèse des chaînes de globine selon l'âge [31]

1.4.2. Les gènes de globine

1.4.2.1. Organisation et localisation des gènes de globine

Tous les gènes de globine dériveraient d'un gène ancestral commun apparu il y a 500 millions d'années. Ce gène se serait dupliqué successivement pour donner naissance à différents gènes codant respectivement pour la myoglobine qui est la protéine responsable du transport de l'oxygène dans le muscle et les deux chaînes α et β qui constituent l'hémoglobine adulte [18]. La cartographie des gènes de globine a montré une structure identique dans tous les gènes : trois exons séparés par deux introns ou IVS de taille variable. Dans la famille des gènes β globine retrouvés au niveau du chromosome 11, le second intron étant plus long que le premier (figure 5) et les séquences de ces introns sont très variables d'un gène à un autre (tableau I).

Les gènes de la famille α sont situés au niveau du chromosome 16.

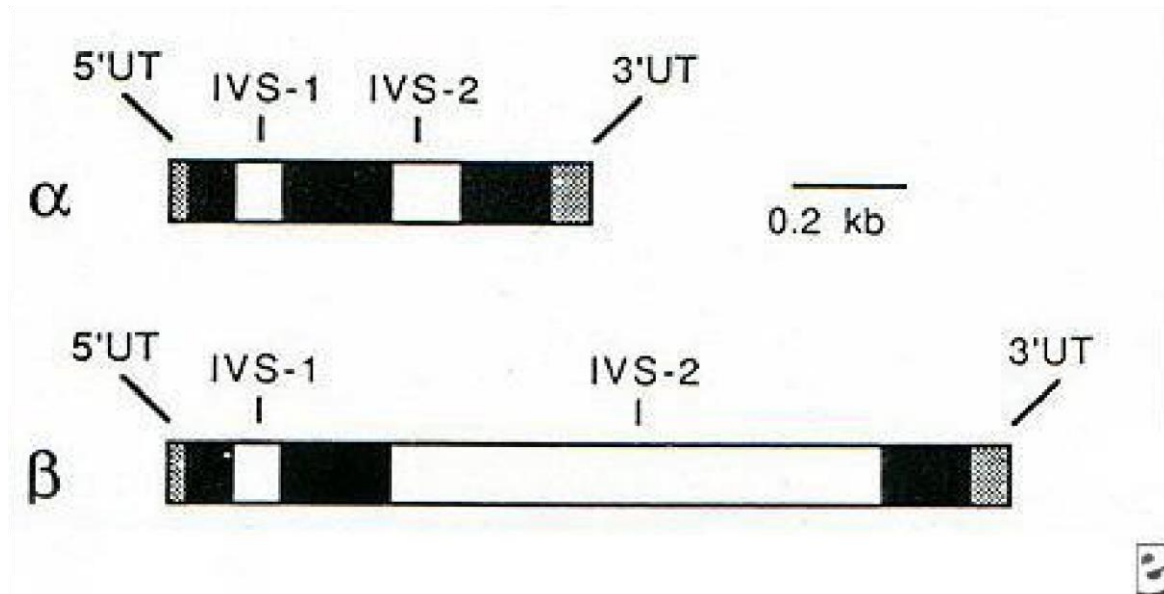


Figure 5: Structures des gènes α et β globine (edu.upmc.fr)

Les rectangles noirs représentent les exons : les rectangles blancs représentent les introns (IVS) : les séquences non codantes en gris [18].

Tableau I: Longueurs des introns de la famille β et celle du gène α [18]

Gène	IVS-I (pb)	IVS-II (pb)
ϵ	122	850
G γ ,A γ	122	866
δ	128	878
β	130	903
α	117	149

1.4.2.2. Les gènes de la famille α

La famille de gène codant pour la chaîne α se localise sur le bras court du chromosome 16 (16p 13.3) [32]. Le locus α s'étend sur une distance de 30 kb et comprend quatre gènes et 3 pseudogènes : de 5' à 3' : le gène ξ codant uniquement pour une chaîne présente pendant la période embryonnaire, les pseudogènes ($\Psi\xi$, $\Psi\alpha_2$, $\Psi\alpha_1$), puis les deux gènes de l'adulte α_1 et α_2 codant une chaîne polypeptidique identique α , exprimés à partir du stade fœtal et le demeurant tout au long de la vie extra utérine. Ces deux gènes sont situés à 20 kb par rapport à l'extrémité 3' et sont séparés de 4kb ; ils ne diffèrent l'un de l'autre que de deux paires de base et une insertion de 7pb dans le second. En effet le gène α_2 est plus exprimé que le gène α_1 avec un rapport de 3/1. En aval du gène α_1 , se trouve le quatrième gène θ_1 , récemment découvert et dont la fonction n'a pas encore été déterminée.

1.4.2.3 Les gènes de la famille β

La famille β se situe sur le bras court du chromosome 11(11 p 15.5) [33, 34, 35]. C'est une batterie de gènes qui s'étend sur environ 50kb. Elle comporte cinq gènes fonctionnels et un seul pseudogène : 5' à 3' : le gène embryonnaire ϵ , après une distance de 16 kb les deux gènes fœtaux $G\gamma$ et $A\gamma$ qui sont eux-mêmes séparés l'un de l'autre de 5kb, puis les gènes adultes δ et β qui sont situés 15 kb en aval (figure 6).

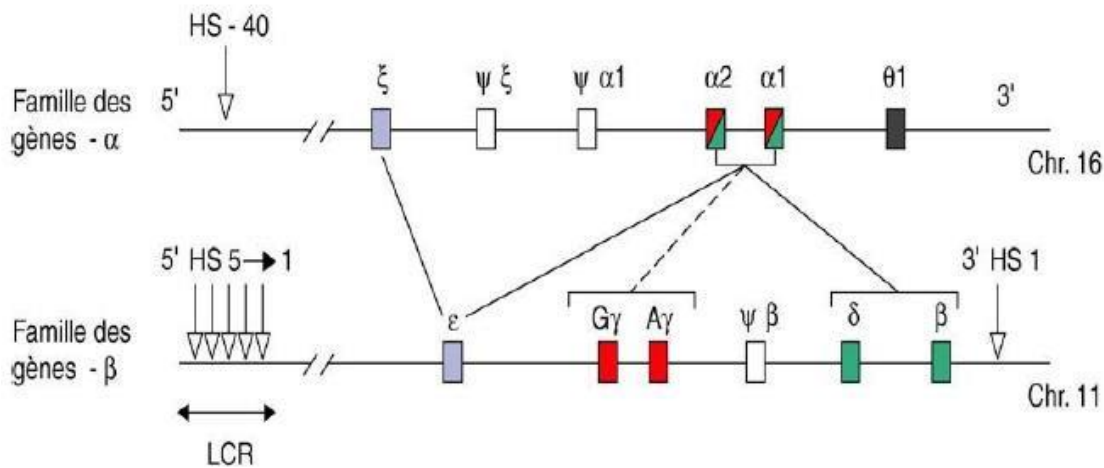


Figure 6: Organisation des gènes de deux familles de gènes-globine [36].

Les gènes sont organisés de 5' en 3' selon leur ordre d'expression au cours du développement dans la famille α , gène ξ embryonnaire, $\alpha 1$ et $\alpha 2$ fœtaux/adultes ; dans la famille β , gène embryonnaire, $G\gamma$ et $A\gamma$ fœtaux, δ (minoritaire adulte) et β adultes.

1.4.3. Régulation de l'expression des gènes de globines

L'expression des gènes de globine est le reflet de multiples interactions entre les régions régulatrices LCR (Locus Control Region) et les régions promotrices (région 5' et région 3') d'une part et les facteurs protéiques en *trans* d'autre part.

1.4.4. Anomalies de structure de l'hémoglobine (variants Hb)

Dans ce groupe, les deux chaînes de globine sont synthétisées en quantité normale mais avec une structure primaire mutée conduisant à une hémoglobine anormale ou variant. Les variants Hb constituent le plus grand groupe d'anomalies de l'hémoglobine (avant les thalassémies) et résultent de mutations ponctuelles sur les chaînes de globine. En général, elles entraînent le remplacement d'un acide aminé par un autre sur la chaîne qui constitue la cause majeure de ces anomalies observées. Jusqu'à aujourd'hui environ 900 variants d'hémoglobine ont été décrits [37]. Bien que la grande majorité de ces mutants

n'ont aucune manifestation clinique, certains sont pathologiques et peuvent provoquer des anémies très sévères et même parfois mortelles telles que **l'hémoglobinoïse S (la drépanocytose)** [38].

1.4.4.1. Hémoglobine S (la drépanocytose)

La drépanocytose est l'anomalie de l'hémoglobine la plus fréquente. C'est une maladie autosomique récessive qui résulte d'une mutation ponctuelle au niveau du codon 6 (GAG – GTG) de l'exon I du gène globine entraînant un remplacement de l'acide glutamique par une valine. En milieu pauvre en oxygène, l'hémoglobine S polymérise et les hématies se déforment en « forme de faucille » en grec (drepanos = faucille). La maladie tient son nom d'anémie falciforme de cette particularité morphologique.

1.4.4.2. L'hémoglobine C

Cette anomalie de l'hémoglobine est moins fréquente que la drépanocytose. La mutation affecte, comme celle de l'HbS, le codon 6 de l'exon I du gène globine mais avec une substitution (GAG → AAG) entraînant un remplacement de l'acide glutamique par une lysine. Les hématies contenant l'hémoglobine C sont des cellules partiellement déshydratées, de petite taille. L'augmentation de la concentration en hémoglobine explique la présence des cristaux à l'intérieur des hématies. L'homozygote CC montre un tableau d'anémie hémolytique modérée avec splénomégalie. Les sujets SC présentent un syndrome drépanocytaire classique mais moins sévère. L'hétérozygotie A/C est asymptomatique.

1.4.4.3. L'hémoglobine E

L'hémoglobine E résulte d'une mutation ponctuelle au niveau du codon 26 du gène globine (GAG→AAG) entraînant un remplacement de l'acide glutamique par une lysine. Cette mutation modifie la séquence nucléotidique au voisinage du site normal d'épissage et dévoile un site d'épissage cryptique, normalement non utilisé. Ce site

d'épissage caché décale le cadre de lecture et conduit à la formation d'un signal de terminaison précoce responsable d'un syndrome thalassémique (déficit de synthèse). Dans les populations asiatiques, cette hémoglobine s'associe assez fréquemment avec les thalassémies. Les homozygotes E/E présentent un tableau d'anémie hémolytique modérée, bien supportée, proche d'une thalassémie et l'association E/- β^0 thalassémie correspond à une forme de -thalassémie intermédiaire.

1.4.5. Les hémoglobines instables

Ce groupe particulier d'hémoglobines anormales responsables d'anémies hémolytiques chroniques est caractérisé par la présence de corps de Heinz (des chaînes d'Hb précipitées sans hème). Certaines de ces hémoglobines à forte affinité pour l'oxygène sont responsables de polyglobulies, alors que celles à faible affinité conduisent à des anémies avec cyanose ou des méthémoglobinémies qui résultent de l'oxydation de l'atome de fer ferreux (ion Fe²⁺) de l'hémoglobine en fer ferrique (Fe³⁺) (cette hémoglobine est incapable de fixer l'oxygène). Enfin certaines hémoglobines instables sont détruites précocement dans l'érythrocyte conduisant à des thalassémies. Actuellement une centaine de mutations est décrite responsable des hémoglobines instables [39].

1.4.6. Polymorphisme génétique et haplotypes drépanocytaires

1.4.6.1. Polymorphisme

L'origine unique du gène β S a été remise en question ces dernières années par des études orientées vers l'ADN de la région génomique 13 portée par le bras court du chromosome 11 sur des échantillons de sujets de races noires, de caucasiens et d'asiatiques [18]. Des techniques enzymatiques de restriction ont été utilisées par des auteurs pour explorer cette région et ils ont pu décrire un polymorphisme situé à 5 kilobases (Kb) du gène β [40]. En effet, l'endonucléase Hpa 1 spécifique reconnaît la

séquence G- T- T- A- A C et y crée un clivage, une mutation de cette séquence empêche la restriction enzymatique. La succession de séquence non mutée (clivage) et de séquence mutée (absence de clivage) correspond à un contexte génomique particulier appelé haplotype. La variabilité des haplotypes définit un polymorphisme (figure 7).

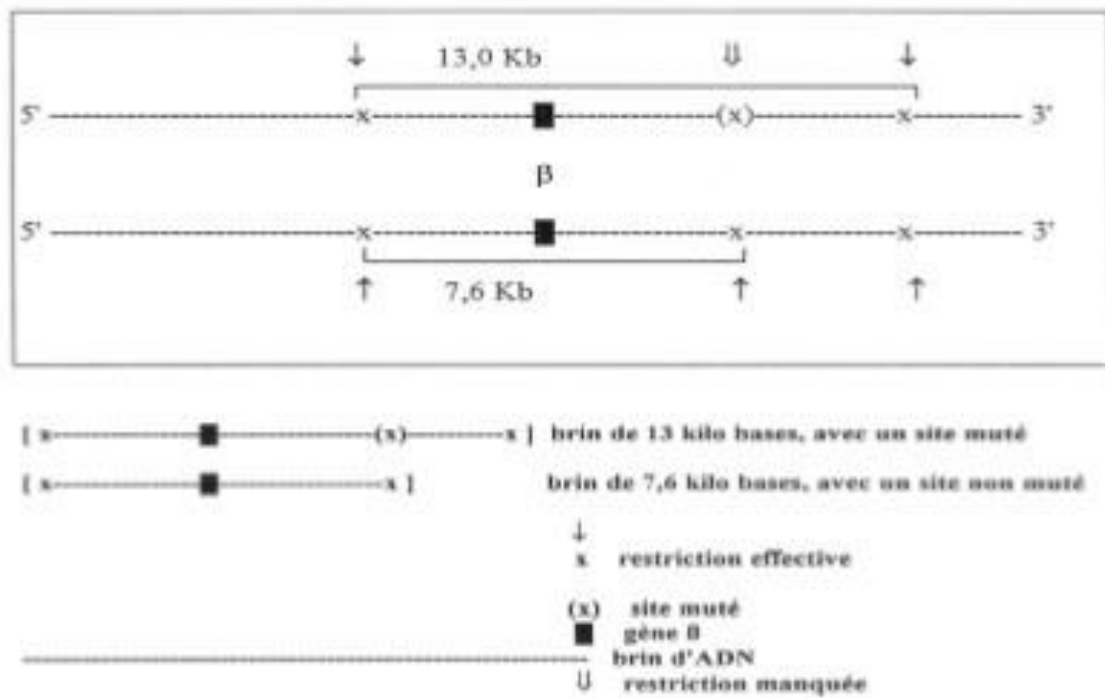


Figure 7: Origines du polymorphisme génétique de la drépanocytose [40].

La mutation drépanocytaire peut être liée à un polymorphisme. Si le site Hpa1 existe, le gène est transporté par un fragment de 7,6 Kb alors que si le site Hpa1 n'est pas présent le même gène est transporté par un fragment de 13 Kb [40, 41,42].

Lorsque le site de restriction enzymatique manque, les fragments d'ADN sont plus longs (13 Kb) que si le site est présent (7,6 Kb). D'autres variantes ont été également retrouvées avec des fragments de 7 Kb.

Des études réalisées chez des populations américaines et africaines ont montré que les fragments 13 Kb sont fréquemment associés à la mutation drépanocytaire [43]. Néanmoins l'existence de sujets porteurs de β^S et du site de clivage (7,6 Kb) fait penser à certains auteurs [18] une double origine de la mutation β^S . Des travaux scientifiques effectués en Afrique sur des points géographiquement différents et ethniquement variés ont montré que la relation entre le gène β^S et l'absence du site Hpa1 (fragments de 13 Kb) sont propres aux groupes ethniques du Golf du Bénin et par des phénomènes migratoires aux groupes d'Afrique Noire [44]. Par ailleurs au Sénégal, et dans les pays d'Afrique Centrale (Bantou) c'est la forme des brins de 7,6 Kb qui est retrouvée [44].

De plus, ces dernières années, d'autres polymorphismes répartis sur toute la zone du chromosome 11 où sont regroupés les gènes non α ont été mis en évidence [43] et d'autres auteurs ont décrit 12 polymorphismes pour une longueur de 60Kb [43]. L'origine de la mutation β^S pourrait être alors recherchée en utilisant, non pas un, mais plusieurs polymorphismes génétiques répartis sur l'ensemble du génome β . Une mutation pathologique du gène β doit s'associer avec l'ensemble des séquences d'ADN qui préexistaient sur le chromosome avant l'événement mutationnel [45]. L'existence des polymorphismes génétiques a un intérêt double (anthropologique et médical), car une origine différente pourrait être en rapport avec une expression clinique ou phénotypique variable [45]. En revanche, des facteurs culturels et environnementaux ou

la présence d'autres pathologies associées, peuvent modifier le cours de la maladie drépanocytaire [46].

1.4.6.2. Haplotypes drépanocytaires [41,42]

Les polymorphismes d'ADN sont des variations des séquences neutres. On estime la présence de ces polymorphismes à toutes les centaines de paires de bases tout le long du génome représentant un immense réservoir de variations génétiques [47]. Un très grand nombre de combinaisons de ces sites le long d'un chromosome est appelé **haplotype**. L'étude de l'histoire moléculaire des haplotypes liés à HbS, a commencé avec les travaux basés sur la recherche des polymorphismes de restriction (création ou abolition de sites de restriction) [40]. Une investigation plus large sur 11 sites polymorphes dans le complexe des gènes β a mis en évidence une origine multiple de la mutation drépanocytaire [45].

Cinq haplotypes majeurs ont été identifiés dont quatre d'origine africaine : Sénégal, Bénin, Cameroun et Bantou. L'haplotype Arabo Indien est prédominant chez les drépanocytaires de l'Inde et de la Côte Est de l'Arabie Saoudite et extrêmement rare dans les autres régions du monde [48]. La présence de l'un de ces haplotypes chez un patient drépanocytaire donné est importante à savoir car elle influence la présentation clinique de la drépanocytose chez ce patient. En effet, l'haplotype affecterait le taux de HbF qui a une valeur pronostique sur le degré de sévérité de la maladie. Ainsi, Il a été suggéré que l'haplotype pouvait être un marqueur de l'hétérogénéité phénotypique des patients SS [49, 50]. En effet, les sujets homozygotes pour les haplotypes Sénégal et Arabo-indien présentent une sévérité hématologique atténuée en raison d'une synthèse accrue d'hémoglobine F, contrairement aux homozygotes pour les haplotypes Bénin, Cameroun et Bantou qui ont des taux de HbF moins importants (respectivement de : 15 à 30% et de 1 à 10%). Cette augmentation de l'expression e γ et d'HbF a été corrélée

avec l'existence du polymorphisme CT en -158 de $G\gamma$ (qui crée un site de restriction pour XmnI) présent dans ces deux haplotypes (Sénégal et Arabo-indien) [51, 52] (figure 8).



Figure 8: Origine et répartition géographique des haplotypes drépanocytaires dans le monde [53, 54].

2. Génétique Moléculaire

La drépanocytose représente un modèle pour l'étude de la séquence mutation génique-anomalie protéique et manifestations cliniques d'une maladie. C'est au niveau du chromosome 11 que se trouve le gène β responsable de la synthèse de la chaîne β de la globine. Chez le sujet drépanocytaire le gène β muté (β^S) est caractérisé par la substitution de la thymine à l'adénine au niveau du 6^{ème} codon (GAG en GTG) à l'origine du remplacement de l'acide glutamique par la valine en position 6 de la chaîne β de la globine caractéristique de l'hémoglobine S.

3. Physiopathologie

3.1. Hémoglobine drépanocytaire

3.1.1. Mutation drépanocytaire

L'anomalie moléculaire qui caractérise la drépanocytose est l'inversion d'une paire de base (A=T→T=A), qui modifie le codon correspondant : le sixième codon [GAA] devient donc [GTA]. En conséquence, le sixième acide aminé de la chaîne (acide glutamique, chargé négativement) est remplacé par une valine, hydrophobe. Un site hydrophobe est donc présent sur l'extérieur de la chaîne de l'hémoglobine S. La polymérisation de la désoxyhémoglobine S et la déformation des globules rouges avec altération de leur membrane sont responsables de l'anémie hémolytique et des crises vaso-occlusives rencontrées dans cette pathologie [55].

3.1.2. Propriétés physicochimiques de l'hémoglobine S

Les molécules d'hémoglobine drépanocytaire (hémoglobine S) ont la propriété, sous leur forme désoxygénée, de polymériser pour former des fibres intracellulaires qui déforment le globule rouge en lui donnant sa forme caractéristique « en faucille ou feuille de houx », le drépanocyte. La polymérisation des molécules d'hémoglobine S déforme la cellule, la fragilise et la rigidifie. Le globule rouge ainsi déformé a deux particularités :

- Le drépanocyte perd ses propriétés de déformabilité et d'élasticité nécessaires pour passer à travers les petits vaisseaux de l'organisme et il est ainsi plus rapidement détruit qu'un globule rouge normal, ce qui rend compte de l'anémie hémolytique ;
- Le drépanocyte augmente la viscosité du sang qui s'écoule mal dans certains organes, expliquant les complications vaso-occlusives de la maladie, d'autant que les hématies drépanocytaires ont la propriété d'adhérer à l'endothélium vasculaire [56].

Sur le plan physiopathologique trois éléments expliquent les manifestations observées au cours de la drépanocytose (polymérisation ; déshydratation du globule rouge et adhésion des drépanocytes à l'endothélium).

3.2. Polymérisation de l'hémoglobine S [57]

L'Hb S présente une modification structurale du fait du remplacement de l'acide glutamique plutôt hydrophile par la valine qui est hydrophobe.

Cette substitution est externe et n'entraîne pas d'altération majeure de la structure interne de l'hémoglobine. En revanche, elle provoque la polymérisation de l'hémoglobine désoxygénée dans l'hématie qui précipite sous forme de longues fibres. (Figure 9). Le mécanisme intrinsèque de la formation de ces fibres fait intervenir un phénomène de cristallisation. Ces cristaux allongés correspondent à des polymères d'Hb S et se présentent à la microscopie électronique sous la forme d'un gel cristallin qui remplit l'hématie.

La formation du gel cristallin n'est pas un phénomène instantané ; elle est précédée d'une période de latence appelée aussi "Delay time". Cette période de latence correspond à la formation des noyaux de cristallisation. Un nombre élevé de molécules d'hémoglobine s'agrègent selon une cinétique dépendant essentiellement de la concentration en desoxyHb S.

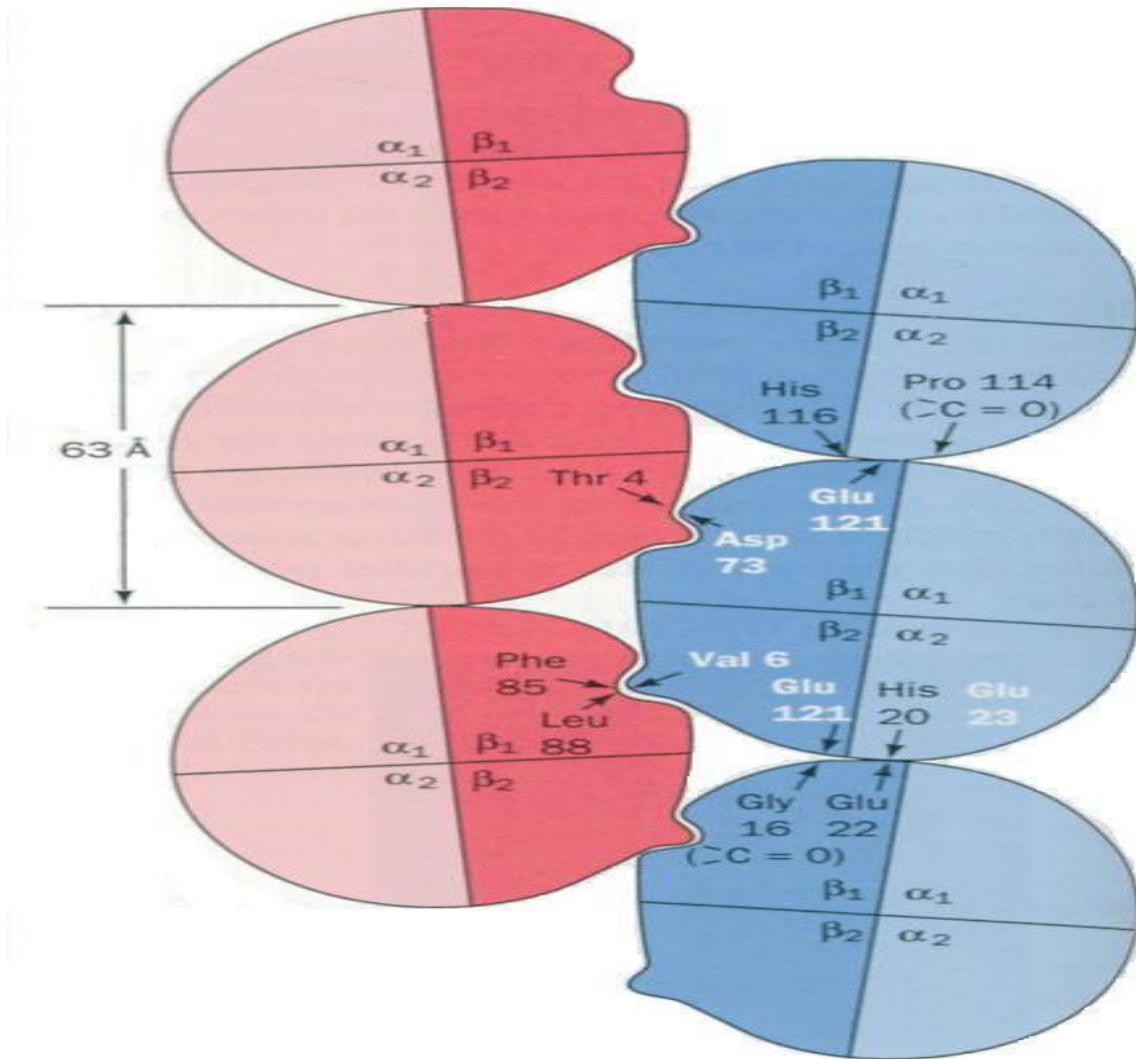


Figure 9: Disposition en double brin et contacts intermoléculaires du polymère d'Hb S [57]

La polymérisation de l'Hb S augmente la viscosité interne de l'hématie et induit la déformation en faux caractéristique de la falciformation. Il en résulte une perte de la déformabilité de celle-ci.

La falciformation est la conséquence directe de la polymérisation de l'Hb S et est influencée par différents facteurs :

- la concentration intracellulaire en Hb S
- la baisse de la pression en oxygène
- le changement de température (froid, fièvre)
- une baisse du pH : diminue l'affinité de l'Hb S pour l'oxygène
- la déshydratation
- le 2,3 diphosphoglycérate : stabilise l'état désoxygéné de l'Hb et favorise la polymérisation de l'Hb S.

Il faut rappeler que l'hémoglobine fœtale est un puissant facteur inhibiteur de la polymérisation de l'Hb S. Un taux élevé d'Hb F atténue considérablement la maladie [57, 58].

3.3. Déshydratation du globule rouge [59, 60, 61]

La falciformation est d'abord un phénomène réversible par ré oxygénation. Au bout d'un certain temps, du fait d'altérations de l'hématie, celle-ci devient irréversible.

L'alternance de cycles désoxygénation/polymérisation partielle et ré- oxygénation / dépolymérisation provoque la formation d'un contingent d'hématies, désigné dans la littérature sous le terme de « cellules denses ».

Ces cellules denses sont caractérisées par une perte d'eau et d'ions, responsable d'une CCMH très augmentée (jusqu'à 45%) et d'une atteinte permanente du cytosquelette membranaire, aboutissant à l'apparition de drépanocytes irréversibles.

La déshydratation de l'hématie à l'origine de l'apparition des drépanocytes irréversibles fait intervenir des canaux ioniques (Figure 10).

- Le canal Gardos (Ca^{2+}/K^{+}) induit la fuite de potassium vers l'extérieur de la cellule
- Le Co-transport KCl qui augmente l'efflux de potassium

Les drépanocytes irréversibles issus de cette déshydratation sont des cellules denses, rigides, plus ou moins déformées, contenant des polymères dont l'affinité pour l'oxygène et la durée de vie sont diminués. Elles possèdent aussi une déformabilité extrêmement réduite qui joue un rôle très important dans les vaso-occlusions.

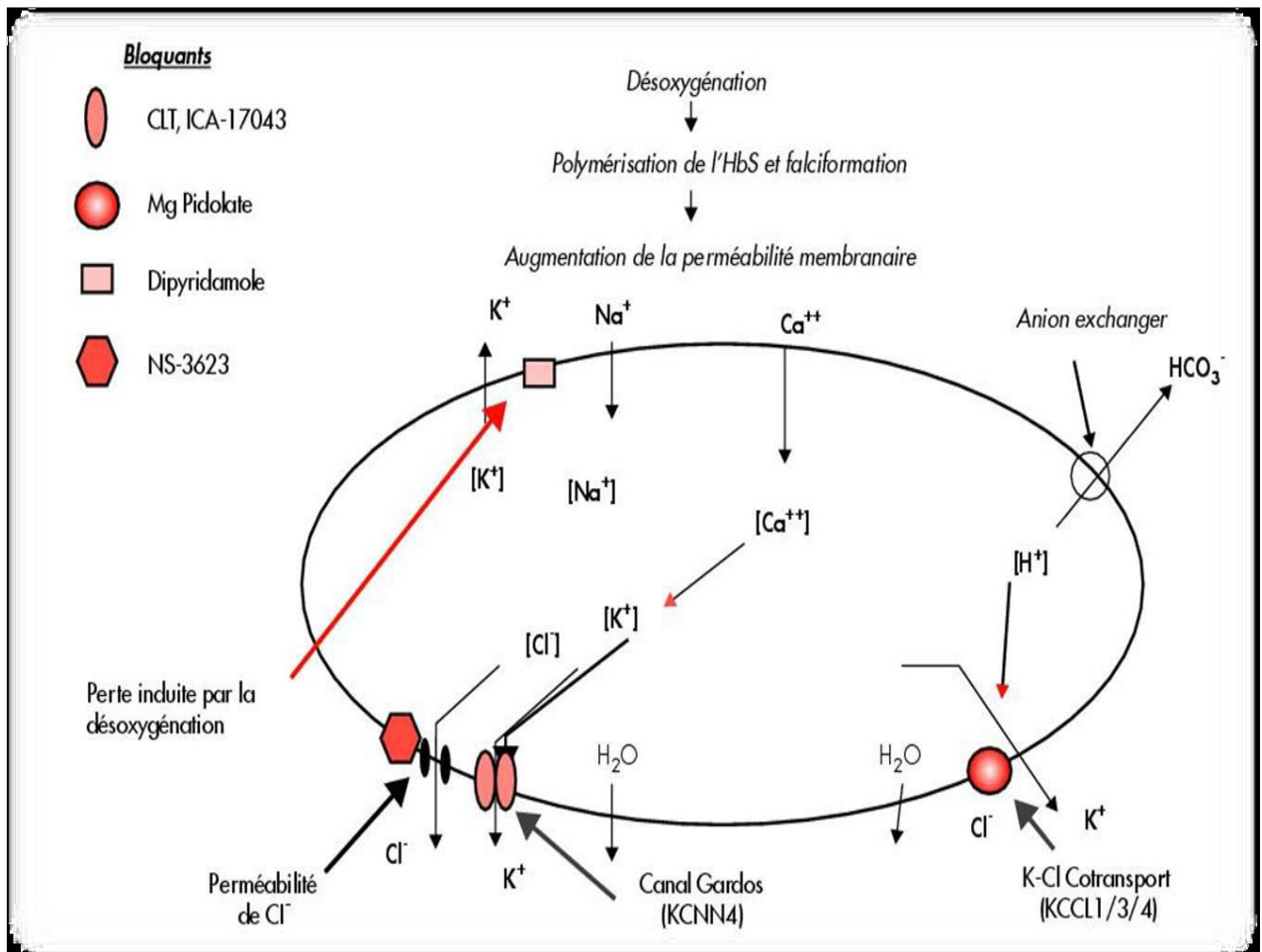


Figure 10: Transports ioniques impliqués dans la déshydratation des hématies drépanocytaires [62].

3.4. Adhésion des drépanocytes à l'endothélium vasculaire [63]

Les interactions entre les hématies drépanocytaires et l'endothélium vasculaire constituent un élément fondamental dans la physiopathologie de la drépanocytose. Elles contribuent intimement à l'installation du processus vaso-occlusif.

Les mécanismes d'adhérences font intervenir : les réticulocytes immatures, anormalement adhésifs, qui sont responsables du déclenchement du processus vaso-occlusif et les cellules plus vieilles, peu déformables, trappées dans une seconde étape, qui en assure la propagation, le tout aboutissant à l'obstruction complète du vaisseau.

L'interaction hématie-endothélium vasculaire se fait par l'expression de protéines adhésives : la protéine VLA-4 et la glycoprotéine CD36 pour les réticulocytes, la protéine VCAM-1 et la glycoprotéine CD36 pour la cellule endothéliale (figure 11).

Il existe également une participation des protéines plasmatiques normalement présentes et libérées par les plaquettes comme la thrombospondine (TSP), le facteur de Von Willebrand ainsi que les sélectines qui favorisent l'adhésion des globules blancs à l'endothélium.

Tous ces facteurs rhéologiques contribuent au ralentissement circulatoire. En effet les hématies déformées et désormais rigides adhèrent à l'endothélium vasculaire et obstruent les petits vaisseaux. Il se crée ainsi micro thrombose et ischémie qui s'expriment cliniquement par les crises vaso-occlusives.

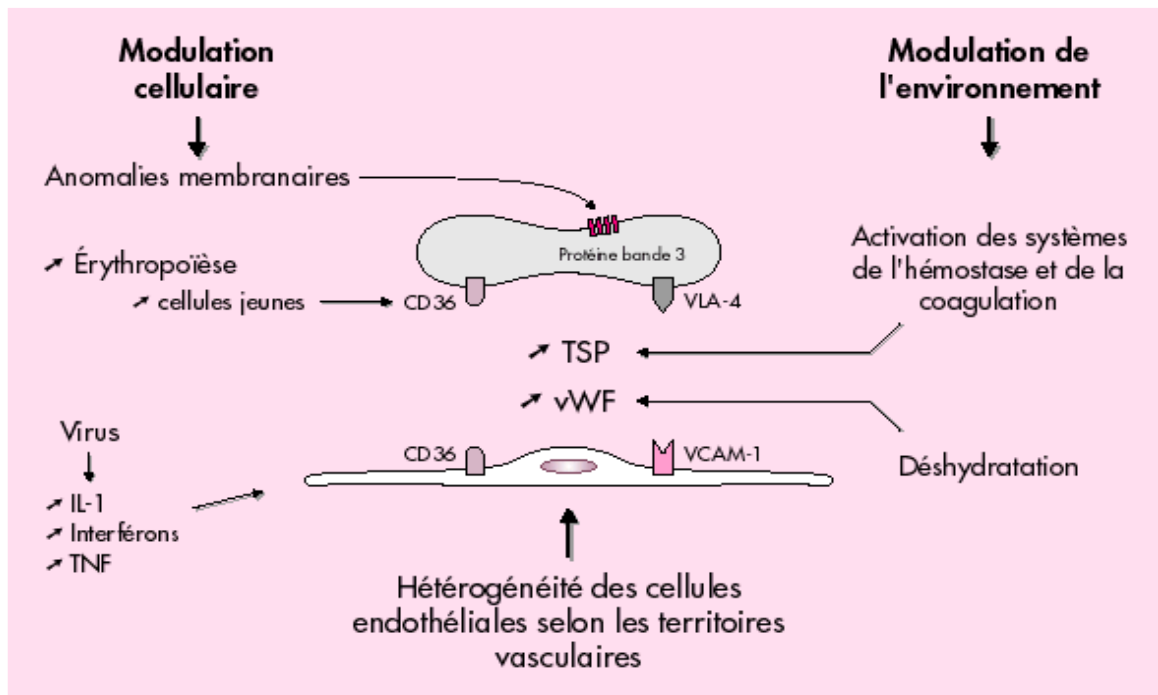


Figure 11: Adhérence des hématies à l'endothélium vasculaire [63]

L'adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium est modulée par de nombreux facteurs.

Un premier groupe de facteurs exercent une modulation cellulaire. La drépanocytose est, elle-même directement responsable d'anomalies de membrane du globule rouge et d'une augmentation de l'érythropoïèse :

- les anomalies membranaires incluent la formation d'agglomérats de protéine bande 3. Elles forment à la surface cellulaire, des sites de fixation non spécifiques pour des protéines pro-adhésives comme le facteur de Von Willebrand.

- l'augmentation de l'érythropoïèse provoque une sortie prématurée de la moelle des cellules exprimant CD36 et VLA-4. Les cytokines pro-inflammatoires (éventuellement en réponse à une infection virale) activent l'endothélium et induisent l'expression en surface de protéines pro-adhérentes comme VCAM-1.

Le deuxième groupe de facteurs correspond à des conditions physiopathologiques intercurrentes qui modulent l'environnement. Il s'agit de l'activation des systèmes de l'hémostase et de la coagulation qui entraîne une augmentation de la thrombospondine (TSP), ou de la déshydratation qui stimule la production du facteur de Von Willebrand (vWF).

Enfin, le troisième niveau de modulation concerne l'hétérogénéité des cellules endothéliales, exprimant différents récepteurs de surface et une réactivité variable au stimulus en fonction du territoire vasculaire.

3.5. Conséquences cliniques

Les conséquences cliniques de la drépanocytose sont représentées par les crises vaso-occlusives (CVO) ; l'hémolyse et la susceptibilité aux infections.

Les CVO sont déclenchées par l'ischémie secondaire à la falciformation et l'obstruction des vaisseaux. Elles peuvent s'agir de simples crises douloureuses osseuses et abdominales ou de manifestations plus graves à type d'AVC, syndrome thoracique aigu ou priapisme.

L'hémolyse est responsable de l'anémie chronique observée au cours de la drépanocytose.

Elle est à la fois intravasculaire, intéressant les drépanocytes irréversibles et extravasculaire, par destruction des hématies drépanocytaires, grâce au système réticulo-endothélial.

La susceptibilité aux infections est expliquée en partie par l'asplénie fonctionnelle. Elle est causée par les infarctus répétés au sein de la rate, entraînant une atrophie progressive de celle-ci dans certaines situations.

4. Signes cliniques et biologiques de la drépanocytose

4.1. Circonstances de découverte de la drépanocytose

Les signes cliniques de la drépanocytose apparaissent le plus souvent dans la première année de vie, entre le 6^{ème} et le 18^{ème} mois après la naissance. Cette période correspond au début de la synthèse de l'hémoglobine anormale (hémoglobine S) et à la baisse du taux d'hémoglobine fœtal (hémoglobine F). En effet dans notre milieu de travail, la découverte de la drépanocytose est rarement posée avant l'âge de 2 ans et le dépistage néonatal n'est pas systématique [64].

On distingue quatre circonstances de découverte de la maladie :

- Le diagnostic anténatal par biopsie des trophoblastes ou par amniocentèse entre la 8^{ème} et la 20^{ème} semaine de gestation [65].
- Le dépistage néonatal par l'IEF à la naissance ou dans les trois premiers jours de la vie. Il est soit systématique chez tous les nouveau-nés, soit ciblé chez les nouveau-nés de mères porteuses d'hémoglobine anormale.
- Le dépistage familial d'enfant de parents porteuses d'hémoglobine anormale.
- Les manifestations cliniques qui sont observées classiquement dans les syndromes drépanocytaires majeurs (SS ; SC ; S β thalassémie ;). Elles sont marquées par la survenue d'épisode de crises vaso-occlusives, séparés de périodes inter critiques.

4.2. Examen clinique

L'expression clinique de la drépanocytose concerne essentiellement les sujets porteurs d'un syndrome drépanocytaire majeur. Le trait drépanocytaire AS étant cliniquement asymptomatique. Les signes de la maladie sont fonction des phases.

4.2.1. La phase inter critique

C'est l'état dans lequel se trouve l'enfant en dehors de toutes manifestations aiguës. Le tableau clinique est celui d'une anémie hémolytique chronique d'intensité variable avec :

- une pâleur conjonctivale et/ou palmo-plantaire modérée ;
- un ictère d'intensité variable ;
- une splénomégalie inconstante ;
- une hépatomégalie inconstante ;
- un retard staturo-pondéral.

4.2.2. La phase critique

La phase critique correspond à l'expression clinique de phénomènes aigus dominés par la crise vaso-occlusive (CVO) ou crise drépanocytaire. Elle constitue le premier motif de consultation et d'hospitalisation de l'enfant drépanocytaire [66]. Les circonstances de découverte de la drépanocytose sont largement dominées par ces crises drépanocytaires. Elles sont secondaires à une occlusion dans la micro circulation par les hématies falciformes. La douleur est le maître symptôme et représente la principale cause de morbidité et d'hospitalisation [67].

Leur fréquence est variable d'un enfant à l'autre mais semble être corrélée à des taux élevés d'hémoglobine S et des taux faibles d'hémoglobine F [67].

Les CVO sont généralement déclenchées par des situations entraînant la falciformation in vivo. Elles sont, soit spontanées, soit provoquées par des infections ; l'anesthésie générale ; l'altitude ; la fièvre ; la forte chaleur ; le froid ; la fatigue ; les insuffisances respiratoires et toutes les autres situations de déshydratation ou d'hypoxémie.

Les crises sont soit abdominale, soit osseuse. Elles s'accompagnent souvent de fébricule et peuvent durer de quelques heures à plusieurs semaines, en général 4 à 6 jours.

- **Crises douloureuses osseuses**

Elles débutent au cours de la petite enfance et il s'agit d'une douleur vive, intense intéressant à cette période les os du carpe, tarse, métacarpes, métatarses et les premières phalanges,

associée à une tuméfaction inflammatoire des zones en regard réalisant le classique syndrome pieds-mains (Figure 12).

Ce syndrome pieds-mains est observé entre 6 mois et 3 ans et correspond aux premiers infarctus osseux, révélant la maladie dans 50 % des cas [67]. C'est un élément de sévérité de la maladie lorsqu'il se produit avant 1 an [68].

A un âge plus avancé voire l'adolescence, la fréquence augmente et la douleur siège préférentiellement au niveau des os longs, du rachis, sternum, côtes, articulations, os du crâne. Localement le segment atteint est sensible à la palpation, chaud, inflammatoire et peut poser un problème de diagnostic différentiel avec une infection ostéo-articulaire [68].



Figure 12: Syndrome pieds-mains chez l'enfant [69]

- **Crises douloureuses abdominales [70]**

Lorsqu'elles surviennent, elles sont progressives et se généralisent à tout l'abdomen. Parfois, elles peuvent s'accompagner d'un iléus réflexe avec distension abdominale généralisée, un arrêt des matières et des gaz, simulant une occlusion intestinale.

La principale difficulté des crises abdominales est de ne pas passer à côté d'un diagnostic différentiel (lithiase biliaire, pancréatite, appendicite). Il est pour cela nécessaire de demander une échographie abdominale au moindre doute.

Ces douleurs abdominales peuvent survenir isolément ou simultanément d'une crise douloureuse osseuse [58].

4.3. Examens biologiques [71, 72]

Le diagnostic de la drépanocytose est biologique et repose sur des examens d'orientation et de confirmation.

4.3.1. Techniques Hématologiques

4.3.1.1. Hémogramme et Frottis sanguin

L'hémogramme montre une anémie de sévérité variable. Le taux d'hémoglobine varie en moyenne de 6 à 10 g/dl. Ce taux d'hémoglobine est habituellement plus bas chez les homozygotes SS que chez les hétérozygotes composites SC et S β thalassémie [73]. L'anémie est typiquement normochrome normocytaire et régénérative, avec un taux de réticulocytes élevé souvent supérieur à 250 000 éléments/mm³. Une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles et une thrombocytose sont fréquentes en dehors de toute infection [73].

L'examen du frottis sanguin révèle la présence d'hématies en forme de "faucille" ou drépanocytes (figure 13), caractéristiques de la maladie. Les hématies ont une forme allongée aux deux extrémités pointues. Ces drépanocytes sont souvent associés à de multiples anomalies érythrocytaires : une anisocytose, une poïkilocytose, une polychromatophilie; de même que des corps de Howell-jolly qui sont témoins de l'asplénie fonctionnelle.

Il faut noter que chez le sujet hétérozygote AS, l'hémogramme est normal et il n'existe pas de drépanocytes sur le frottis, leur formation pouvant être provoquée avec un agent réducteur. C'est le principe du TE ou test de falciformation provoqué.

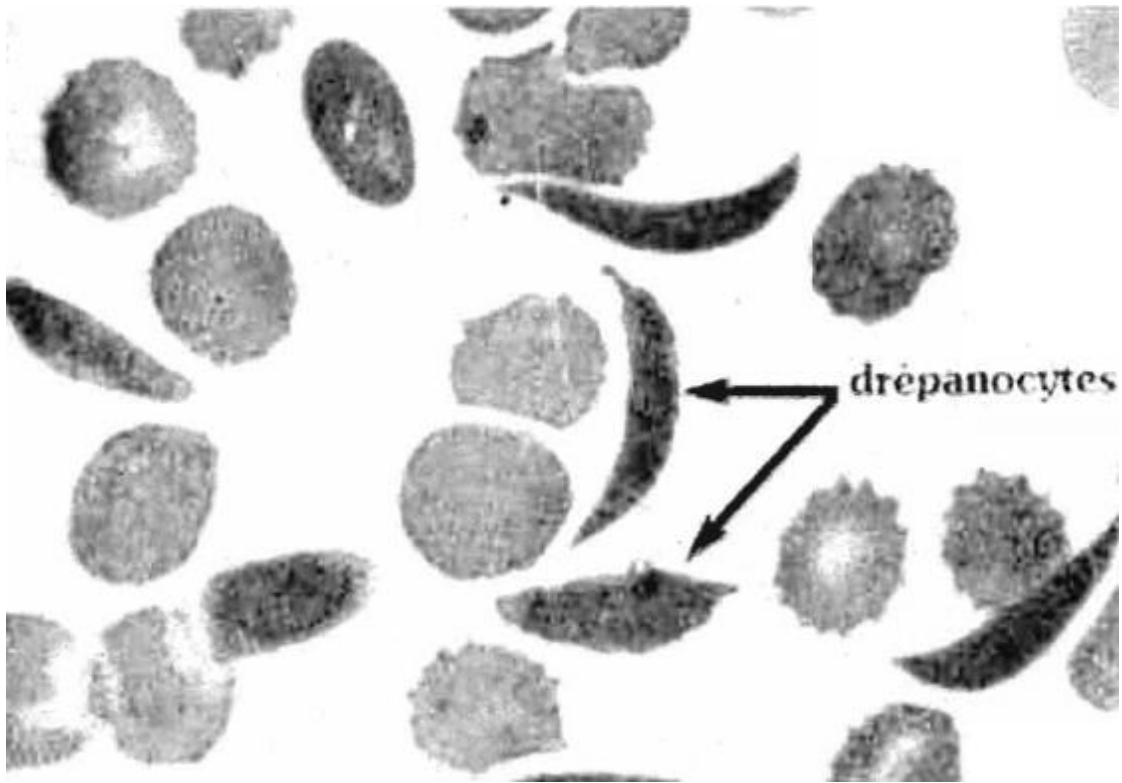


Figure 13: Drépanocytes observés sur un frottis sanguin [73]

4.3.1.2. Test d'EMMEL ou test de falciformation

Le TE ou test de falciformation est le 1^{er} test d'orientation à réaliser en cas de suspicion de la drépanocytose. 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 rajoutant 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 de vernis. On observe alors à l'état frais, entre lame et lamelle, les hématies qui prennent progressivement la forme typique en "faucille".

Ce test est peu sensible et n'est pas indiqué avant l'âge de 6 mois.

4.3.1.3. Test d'ITANO ou test de solubilité

Le test d'ITANO ou test de solubilité recherche la précipitation de l'hémoglobine S en mélangeant les hématies à une solution désoxygénant (l'hydrosulfite de sodium) en milieu salin concentré. La turbidité du mélange signe la positivité du test et est proportionnelle à la quantité d'Hb S. Il s'agit comme le test d'Emmel, d'un test de dépistage de l'HbS.

4.3.2. Techniques électrophorétiques et chromatographiques

4.3.2.1. Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin

C'est la technique standard la plus simple à mettre en œuvre. Elle sépare les différentes hémoglobines en fonction de leur charge et de la position de l'acide aminé muté dans la molécule. Elle permet une bonne séparation des différentes fractions hémoglobiniques normales : A, F, A2 et le dépistage des syndromes thalassémiques.

4.3.2.2. Electrophorèse sur agar à pH acide

Cette technique complète l'électrophorèse à pH alcalin. La migration d'une hémoglobine anormale en agar dépend d'abord de la localisation de la mutation et secondairement du changement de charge. D'autres facteurs interviennent aussi dans cette migration telle que l'électroendosmose, la liaison des protéines à l'agaropectine et

l'effet de l'ion citrate du tampon. Cette technique permet de séparer les variants ayant la même mobilité que les hémoglobines A, S ou C sur acétate de cellulose. Elle permet aussi une très bonne résolution des hémoglobines A et F, ce qui n'est pas le cas dans l'électrophorèse à pH alcalin.

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, d'où la nécessité de l'IEF qui est une variante électrophorétique hautement résolutive qui sépare les hémoglobines à la fois par leur pH et par leur point isoélectrique. Elle est plus sensible et permet de séparer l'HbF des Hémoglobines A1 et S [74, 75, 76, 77].

4.3.2.3. Focalisation isoélectrique ou Iso électrofocalisation

L'IEF est une technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient de pH, sous voltage élevé. Les hémoglobines sont séparées grâce à leur point isoélectrique. La visualisation définitive des fractions hémoglobiniques est réalisée par une brève fixation par l'acide trichloracétique. Le pouvoir de résolution de cette technique est proche de celui des meilleures techniques chromatographiques. L'identification des hémoglobines anormales chez l'adulte se fait par comparaison de la position isoélectrique du mutant inconnu avec celle d'un mutant de référence. Cette méthode est une des techniques utilisées en première intention dans le dépistage néonatal des hémoglobinopathies. Ainsi elle constitue la technique de référence dans notre étude.

4.3.2.4. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La CLHP sur colonnes échangeuses de cations (CE-HPLC en anglais) est aujourd'hui la méthode de référence pour doser le pourcentage des diverses hémoglobines normales (HbA, HbA2, HbF) et des principales hémoglobines anormales. Cette technique est par ailleurs utilisée depuis de nombreuses années pour la mesure de l'hémoglobine glyquée dans le suivi du diabète. Couplé aux techniques électrophorétiques, c'est également un

outil particulièrement performant pour l'identification présumptive des variants. Plusieurs appareils sont utilisés pour permettre l'étude de grandes séries d'échantillons. Le Mini Cap Flexing Percing de Sébia en est un exemple.

4.3.2.5. Dosage de l'HbA2 par micro-chromatographie sur colonne échangeuse d'anions

Cette méthode utilisée dans le diagnostic d'une béta-thalassémie hétérozygote est basée sur une chromatographie utilisant une résine échangeuse d'anions (Cellulose DEAE 52) qui élue sélectivement l'hémoglobine A2 en retenant les autres fractions hémoglobiniques.

4.3.2.6. Electrophorèse des chaînes de globine

Cette électrophorèse est réalisée en gel de polyacrylamide en milieu acide dissociant, c'est-à-dire en présence d'urée 8M et d'un détergent come le Triton-X100. Cette technique met en évidence toute substitution d'acides aminés impliquant une différence d'hydrophobicité de la chaîne latérale de l'acide aminé concerné, même en l'absence de différence de charge. Elle permet de séparer les deux chaînes γ qui ne diffèrent entre elles que par un résidu méthyl (γ 136 Ala ou Gly).

4.3.2.7. Etude de la biosynthèse in vitro des chaînes de globine

Les globules rouges (fraction enrichie en réticulocytes) sont mis en incubation en présence de leucine tritiée. Après incorporation de cet acide aminée radio-marqué. La séparation des chaînes de globine synthétisées est réalisée par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse. La radioactivité de chaque pic est quantifiée et les rapports de biosynthèse des chaînes α / non α sont ainsi déterminés.

4.3.3. Exploration génomique

L'approche moléculaire est complémentaire de l'analyse biochimique. Elle est basée sur l'extraction de l'ADN et son analyse en vue de déterminer la nature et la localisation de la mutation responsable de l'anomalie. Les deux techniques les plus utilisées dans le diagnostic moléculaire sont la RFLP et le séquençage, toutes deux basées sur l'analyse des produits de PCR de l'ADN à étudier.

4.3.3.1. PCR-RFLP

C'est la technique de biologie moléculaire utilisée pour le diagnostic anténatal de la drépanocytose. Elle consiste à faire le diagnostic de la mutation ponctuelle au niveau du gène de la drépanocytose. Ce n'est pas un examen de routine, mais il est proposé dans les pays développés lorsque les parents sont porteurs de la mutation. Il est effectué entre la 8^{ème} et la 20^{ème} semaines d'aménorrhée (SA) par biopsie trophoblastique ou amniocentèse.

Il existe dans le génome de nombreuses substitutions ou insertions nucléotidiques détectables par les enzymes de restriction. Ces enzymes clivent l'ADN quand elles rencontrent une séquence de bases spécifique (site de restriction). La mutation peut aussi abolir le site de clivage de l'enzyme. Le résultat dans les deux cas donne lieu à des différences (« polymorphismes ») dans la longueur des fragments de l'ADN générés par rapport au témoin de référence d'où le terme RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisme). En pratique, la technique consiste à amplifier par PCR un fragment d'ADN supposé contenir la mutation (sur la base de l'analyse biochimique), puis à le digérer par une enzyme de restriction spécifique de la zone mutée. Les fragments obtenus sont alors analysés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

4.3.3.2. Séquençage

Le séquençage d'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides qui forment un fragment d'ADN étudié. Cette technique est actuellement le moyen le plus efficace pour chercher la présence de mutations ponctuelles ou de micro délétions dans un gène. Elle est aussi utilisée dans la recherche du polymorphisme génétique. Le séquençage génétique repose sur l'utilisation des nucléotides particuliers appelés didésoxynucléotides qui bloquent la synthèse de l'ADN une fois incorporés dans la chaîne nouvellement synthétisée par l'ADN Polymérase. Ce blocage est dû à l'impossibilité qu'ont ces nucléotides de former une liaison phosphodiester avec un autre nucléotide en raison de l'absence du groupement hydroxyle sur le carbone 3'.

4.3.4. Bilan complémentaire de biochimie

Elle permet de rechercher les marqueurs de l'hémolyse :

- Hyper bilirubinémie à prédominance libre
- Augmentation des lactates déshydrogénases (LDH)
- Effondrement de l'haptoglobine.

4.4. Evolution

L'évolution de la maladie drépanocytaire est souvent capricieuse. Aux périodes d'accalmie de durée variable succèdent des périodes d'aggravation. À tout moment d'une évolution plus ou moins stable peut survenir une complication. La gravité de la maladie dépend des complications qu'elle peut engendrer. Ces complications peuvent être anémiques, ischémiques, infectieuses. Elles peuvent être aiguës ou chroniques.

4.4.1 Complications aiguës

4.4.1.1. Anémie aiguë

Tous les syndromes drépanocytaires majeurs (SDM) s'accompagnent d'un état d'anémie chronique bien tolérée, réalisant le taux d'hémoglobine de base, qui peut se décompenser et

entraîner une anémie aiguë. Dans ce cas, les principales étiologies mises en causes sont : la séquestration splénique aiguë, l'érythroblastopénie aiguë, et l'hyperhémolyse.

- **La séquestration splénique**

La séquestration splénique survient de façon imprévisible et précoce. Elle touche jusqu'à 30% des enfants avant l'âge de 5 ans [78].

Sur le plan clinique, elle est caractérisée par une augmentation brutale du volume de la rate (splénomégalie) ; des signes d'anémie sévère mal tolérée et des signes d'hypovolémie.

Biologiquement on note une baisse importante du taux d'hémoglobine, au moins de 2 g/dl par rapport au taux d'hémoglobine de base.

Il s'agit d'une véritable urgence qui engage très tôt le pronostic vital. Le diagnostic doit être rapidement posé (l'intérêt de l'éducation des parents à la détecter) et la prise en charge ne doit souffrir d'aucun retard, car l'évolution est fatale avec un choc hypovolémique.

La récurrence est habituelle et le facteur de prédisposition semble être l'âge de survenue du 1er épisode : le risque est bas pour un premier épisode survenu après 2 ans et élevé quand celui-ci se présente avant 1 an [79].

Le risque de décès augmenterait avec les récurrences. Dans certaines études le taux de mortalité est bas <1% (mais il s'agit de pays développés où le dépistage néonatal est systématique). Au Sénégal, la fréquence de la séquestration splénique aiguë chez le drépanocytaire homozygote SS est faible suggérant une bonne tolérance de la drépanocytose avec haplotype Sénégal [79].

- **Erythroblastopénie aiguë**

Il s'agit d'une atteinte centrale de la moelle osseuse, avec une réduction marquée du nombre d'érythroblastes, du fait d'un arrêt transitoire de l'érythropoïèse.

L'érythroblastopénie est le plus souvent déclenchée par une infection virale et le parvovirus B19 ou erythrovirus en est la première cause [78, 80].

Elle se manifeste cliniquement par une aggravation rapidement progressive de l'anémie, sans ictère, ni augmentation de volume de la rate. L'hémogramme montre une anémie sévère avec un taux de réticulocytes effondré.

Elle nécessite une transfusion d'urgence qui permet de maintenir un taux d'hémoglobine correspondant au taux de base dans l'attente de la reprise de l'érythropoïèse.

L'évolution est marquée par le retour spontané de l'activité de la moelle au bout de 8 à 10 jours, accompagné d'une crise réticulocytaire et d'une augmentation de la concentration en hémoglobine. La récurrence est nulle. La menace de l'insuffisance circulatoire est présente mais le pronostic reste bon si le diagnostic est rapidement posé et le traitement adéquat [58].

- **Hyper hémolyse**

Certaines situations peuvent entraîner une destruction accrue des hématies et aboutir à l'aggravation du syndrome anémique, associé à un ictère franc et une splénomégalie.

L'hémogramme montre une anémie sévère avec augmentation du taux de réticulocytes. Les marqueurs de l'hémolyse sont retrouvés à la biochimie, soient une hyper bilirubinémie à prédominance libre et une augmentation du taux des LDH sériques.

Les infections intercurrentes bactériennes, parasitaires (le paludisme) et les accidents post-transfusionnels sont les principales causes de cette hyper hémolyse.

En Afrique, notamment dans les zones d'endémie, le paludisme constitue la première hypothèse devant une hémolyse dans un contexte de drépanocytose. Il avait été démontré que les hématies contenant l'hémoglobine S ne permettent pas le développement des mérozoïtes car elles se détruisent dès leur infestation. Ainsi les formes graves sont exceptionnelles chez le porteur de trait drépanocytaire. Cependant l'accès palustre est possible chez l'homozygote SS et constitue une gravité, du fait de l'hémolyse qu'il induit [81, 82].

Les infections bactériennes sont les causes les plus courantes et les plus sévères de l'hyper hémolyse du drépanocytaire. L'écologie bactérienne peut varier mais le pneumocoque et les

salmonelles restent les bactéries les plus fréquentes. Par ailleurs la prévention et l'amélioration des conditions d'hygiène modifient leur épidémiologie. Les localisations peuvent être : septicémiques, ostéoarticulaires, méningées, pulmonaires, urinaires ...

Les pneumocoques réalisent trois principaux tableaux : pneumonie, méningite et septicémie, dont la gravité est liée à la possibilité de formes fulminantes. Les salmonelles sont responsables de la majorité des ostéomyélites du drépanocytaire.

Ces infections constituent une cause majeure de mortalité chez l'enfant drépanocytaire dans nos pays en développement. Le pronostic est amélioré par la pénicillino-prophylaxie et la vaccination.

Chez les sujets polytransfusés, notamment les SDM, il peut se produire un accident post transfusionnel par allo-immunisation. L'hémolyse qui en résulte est habituellement retardée d'environ 7 à 10 jours après une transfusion sanguine. Le diagnostic reste difficile car dans la majorité des cas, la mise en évidence des allo-anticorps est négative de même que la recherche d'agglutinines irrégulières. On retrouve un taux d'Hb inférieur au taux pré transfusionnel. Le pronostic vital peut être engagé et toute nouvelle transfusion sanguine doit faire l'objet de compatibilisation [83, 84].

4.4.1.2. Crises vaso-occlusives graves

Elles sont au centre de la vie drépanocytaire de l'enfant et constituent les principaux motifs de consultation en urgence. Les CVO graves sont principalement :

- **Le syndrome thoracique aigu** regroupe toutes les complications pulmonaires aiguës de la drépanocytose. Il se définit par la triade douleur thoracique, fièvre, et infiltrat radiologique récente. La douleur est vive et parfois accompagnée d'une dyspnée d'intensité variable ; la fièvre est quasi constante mais dépasse rarement 39°C. Les râles crépitants sont perçus dans un cas sur deux et doivent être recherchés de façon systématique chez tout patient hospitalisé pour des crises vaso-occlusives. En effet le

syndrome thoracique aigu peut survenir en moyenne dans les deux jours post hospitalisation quel qu'en soit le motif [85]. Son évolution peut se faire vers l'insuffisance respiratoire en 48 heures et le décès peut survenir dans 9% des cas [86].

- **les accidents vasculaires cérébraux (AVC)** survenant sur terrain de **vasculopathie** cérébrale, constituent la principale complication neurologique de la drépanocytose et un élément indéniable de gravité [87]. Ils se manifestent cliniquement par un déficit moteur de survenue brutale associé ou non à des troubles de la conscience. Le diagnostic de vasculopathie cérébrale se fait par l'écho Doppler trans crânien à la recherche d'une augmentation des vitesses de circulation dans les vaisseaux atteints. En cas d'AVC le scanner cérébral montre des lésions d'infarctus cérébral de topographie variable souvent localisées sur le territoire de l'artère cérébrale moyenne. Ces accidents ont tendance à récidiver et sont à l'origine de séquelles motrices et neurosensorielles qui constituent un important handicap pour le patient.
- **Le priapisme** est la conséquence d'une thrombose des corps caverneux [88]. Il se manifeste par une érection douloureuse, prolongée sans stimulation sexuelle préalable. Il survient chez au moins 40% des garçons drépanocytaires, le plus souvent dans l'enfance et peut rapidement menacer le pronostic érectile [89].

4.4.2. Complications chroniques

Elles s'observent surtout chez le grand enfant ainsi que l'adolescent et pour la plupart, découlent de l'évolution des complications aiguës.

4.4.2.1. La lithiase biliaire

Elle est consécutive à l'hémolyse chronique au cours de la drépanocytose. Sa prévalence augmente avec l'âge. Elle serait peu fréquente chez le drépanocytaire sénégalais [89].

Elle peut se révéler par une douleur provoquée au niveau de l'hypochondre droit, mais le plus souvent elle est asymptomatique.

L'échographie abdominale, parfois systématique est l'outil diagnostique indispensable.

Les complications sont à type de cholangite ou cholécystite

4.4.2.2. Ostéonécrose aseptique [68]

C'est une altération de l'os causée par la répétition des CVO qui entraînent des infarctus osseux.

L'atteinte intéresse généralement les têtes humérales et fémorales. La douleur est le signe d'appel commun avec parfois une boiterie en cas de nécrose de la tête fémorale.

Les signes radiologiques sont à type de lyse osseuse, de disparition des lignes interarticulaires.

Les atteintes humérales sont mieux tolérées que celles fémorales qui sont à l'origine de séquelles sévères.

4.4.2.3. L'ulcère de jambe

C'est une complication chronique qui intéresse le sujet jeune et semble être peu fréquente en Afrique. La prévalence est de 73% en Jamaïque chez les homozygotes SS [90].

Il survient spontanément ou le plus souvent au décours de traumatismes mineurs.

Les troubles de la microcirculation observés au cours de la drépanocytose, ainsi que les traumatismes mineurs, entraînent une nécrose de la peau à l'origine de cet ulcère.

L'ulcère est unique dans la plupart des cas et la topographie malléolaire interne est la plus fréquente. Il est peu profond, parfois douloureux.

L'évolution est peu satisfaisante avec une cicatrisation lente, des récurrences, des surinfections et des complications à type d'ankylose de la cheville.

4.4.2.4. Rétinopathie

C'est la manifestation oculaire la plus fréquente de la drépanocytose, et parfois plus sévère dans les formes SC que dans les formes homozygotes SS [58].

Elle est due à la falciformation des hématies qui entraîne une occlusion des capillaires rétiniens périphériques avec des conséquences ischémiques.

L'installation est insidieuse et peut longtemps évoluer de façon asymptomatique, d'où la nécessité d'un suivi régulier et d'un dépistage systématique dès l'âge de 15 ans. Il faut distinguer la rétinopathie drépanocytaire non proliférante de la proliférante qui est la plus grave. L'angiographie rétinienne permet de poser le diagnostic avec une classification en 5 stades [91] :

- stade I : présence de petites hémorragies intra-rétiniennes avec amputations artériolaires.
- stade II : anastomoses artério-veineuses
- stade III : développement de proliférations capillaires perpendiculaires au plan de la rétine.
- stade IV : hémorragie du vitré
- stade V : décollement de la rétine

4.4.2.5. Autres complications chroniques

- La néphropathie : la néphropathie drépanocytaire se résume en une atteinte glomérulaire ou tubulaire évoluant à long terme vers une insuffisance rénale terminale.
- Complications cardiaques : elles surviennent surtout chez l'adulte et sont à type de cœur anémique, ischémie myocardique, HTAP aiguë, cardiomyopathies...

4.5. Pronostic

Le pronostic de la maladie drépanocytaire s'est nettement amélioré avec les importants progrès réalisés dans la prise en charge de l'enfant drépanocytaire. L'espérance de vie des malades dans les pays développés est prolongée : elle dépasse 50 ans chez 50% de Jamaïcains homozygotes.

Au Sénégal, malgré l'absence de structures de suivi des malades drépanocytaires, d'importants efforts sont consentis individuellement pour une prise en charge précoce de ces patients ; permettent ainsi de retrouver de plus en plus des malades drépanocytaires à l'âge adulte [92].

Certains facteurs génétiques sont associés à une bonne tolérance de la drépanocytose et sont par conséquent de bon pronostic :

- Les haplotypes Arab-India et Sénégal,
- Le taux d'Hb F élevé,
- Le trait thalassémique associé.

Des conditions socio-économiques et environnementales ont également été incriminées dans le pronostic de la maladie drépanocytaire [93].

La drépanocytose est compatible avec une activité scolaire, universitaire et socio-professionnelle normale. L'espérance de vie est supérieure à 50 ans s'il existe une prise en charge correcte.

5. Diagnostic

5.1. Diagnostic positif

Le diagnostic de la drépanocytose est évoqué à la clinique devant un syndrome d'hémolyse chronique (anémie clinique, ictère, splénomégalie), les CVO osseuses, abdominales.

La présence, spontanée ou provoquée de drépanocytes sur frottis sanguins est caractéristique de la maladie, mais c'est l'étude de l'hémoglobine qui permet d'affirmer le diagnostic. En dehors de l'électrophorèse de l'hémoglobine il est de plus en plus développé des techniques de diagnostic positif notamment la PCR qui par ailleurs est de plus en plus utilisé dans le diagnostic anténatal.

Il est possible, lorsque les deux parents sont porteurs de la mutation de la drépanocytose de proposer un diagnostic anténatal par la technique de PCR soit par biopsie de trophoblaste à partir de la 11^{ème} semaine de grossesse ou par amniocentèse à partir de la 17^{ème} semaine.

5.2. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de la drépanocytose se fait avec les autres hémoglobinopathies et maladies hémolytiques :

5.2.1. Thalassémies

Maladie héréditaire caractérisée par un défaut de synthèse de l'hémoglobine, qui se traduit par une microcytose et dans les formes sévères par une anémie. Les thalassémies sont très répandues sur tout le pourtour de la mer Méditerranée, ainsi qu'au Proche-Orient, en Afrique subsaharienne, en Inde, dans tout le Sud-Est asiatique et dans le sud de la Chine, toutes régions où sévit le paludisme. La thalassémie a en effet pour caractéristique de protéger contre le paludisme, ce qui explique la concentration dans ces zones des personnes qu'elle atteint. Elle se transmet sur un mode autosomique et le plus souvent récessif. Différents types de thalassémie :

Les thalassémies sont des anomalies génétiques caractérisées par le défaut de synthèse de l'une des chaînes de globine, constituant essentiel de l'hémoglobine. L'hémoglobine comporte, chez l'adulte, deux sortes de chaînes de globine, la globine alpha et la globine bêta, dont la synthèse est sous la dépendance de gènes correspondants. On distingue en conséquence deux grands types de thalassémie, les thalassémies touchant les gènes alpha, ou alpha thalassémies, et les thalassémies touchant les gènes bêta, ou bêta thalassémies.

5.2.2. Hémolyses corpusculaires

Les hémolyses corpusculaires peuvent être secondaires à un déficit enzymatique (déficits en G6PD et en purivate Kinase) ou à une anomalie de membrane.

La sphérocytose héréditaire ou maladie de Minkowski-chauffard est l'exemple type d'une hémolyse par anomalie de membrane. Il s'agit d'une maladie héréditaire caractérisée par une anémie hémolytique. Elle est la plus fréquente des anémies hémolytiques constitutionnelles. Elle peut être due à plusieurs mutations distinctes, touchant différents gènes impliqués dans la synthèse des protéines de la membrane des globules rouges. Le mode de transmission héréditaire de la maladie dépend de la mutation impliquée ; il est néanmoins le plus souvent autosomique dominant.

5.2.3 Hémolyses extra corpusculaires

Les hémolyses extra corpusculaires sont secondaires en générale aux infections parasitaires et les infections bactériennes.

5.3. Diagnostic étiologique

La drépanocytose est une maladie génétique causée par une mutation du gène de l'hémoglobine. La drépanocytose est autosomale et récessive, c'est-à-dire qu'elle touche aussi bien les filles que les garçons. Il existe deux formes de la maladie : hétérozygote et homozygote.

5.3.1. Mode de transmission [94]

La drépanocytose est une maladie génétique à transmission :

- Autosomique cliniquement récessive : l'allèle muté responsable de la maladie est récessif sur l'allèle sauvage donc seuls les homozygotes sont malades et l'hétérozygote AS est pauci symptomatique.
- Biologiquement codominante : L'HbS est également retrouvée chez l'hétérozygote.

La transmission de la mutation se fait selon la loi de Mendel.

- Lorsqu'un sujet sain (AA) s'unit à un hétérozygote AS : la mutation intéressera une moitié de la descendance et l'autre moitié sera saine.
- Lorsque 2 sujets hétérozygotes (AS) s'unissent, la moitié des enfants issus de cette union sera porteuse du trait comme les 2 parents, un quart sera homozygote SS et l'autre quart sera sain Hb AA (Figure14).

Il existe d'autres anomalies de l'hémoglobine pouvant s'associer à la drépanocytose : l'hémoglobine C et la β -thalassémie. Lorsqu'un sujet hétérozygote AS contracte une union avec un hétérozygote AC ou β -thalassémie hétérozygote, ces anomalies peuvent s'associer et donner naissance à des enfants double hétérozygote appelés « hétérozygote composite » SC ou S β -thalassémie.

Pour les personnes d'ascendance africaine, le dépistage de la drépanocytose est un moyen d'empêcher leur progéniture future de développer la drépanocytose. Ceux qui portent le gène pourraient sélectionner leur conjoint, évitant ainsi d'avoir des enfants avec d'autres porteurs du gène. Ce genre de comportement préventif pourrait être promu dans les messages de santé publique de la même manière que la protection lors des relations sexuelles.

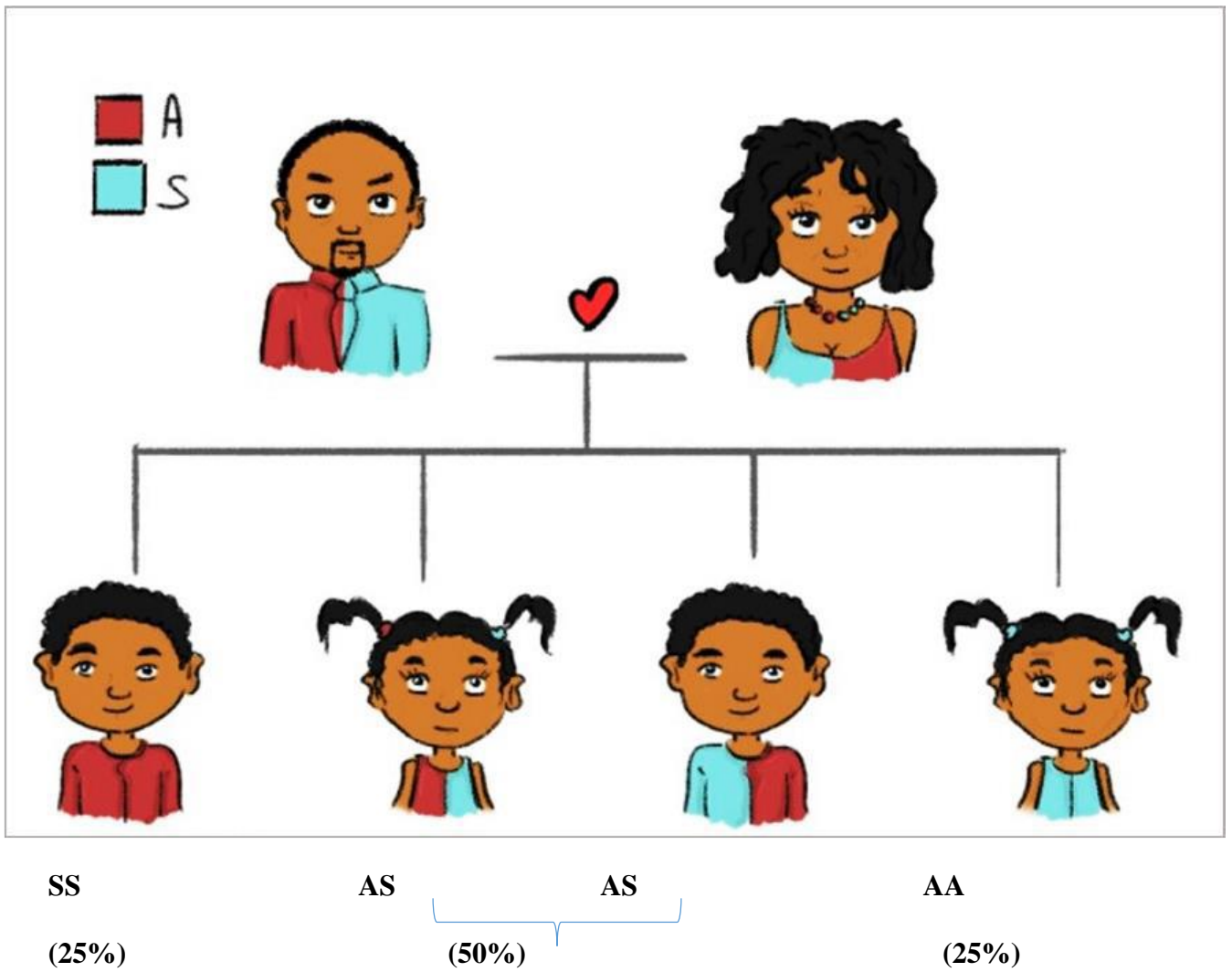


Figure 14: Mode de transmission de la drépanocytose [79]

5.3.2. Relation entre la drépanocytose et le paludisme

La prévalence très élevée de l'Hbs se trouvent dans une zone géographique comprise entre le 10^{ème} parallèle Nord et le 15^{ème} parallèle Sud. Cette zone qui s'étend du sud du Sahara à la rivière ZAMBEZE a été baptisée "ceinture sicklémique" par LEHMANN [95]. Cette aire géographique à haute fréquence drépanocytaire correspond à la zone d'endémie palustre en Afrique. La superposition des cartes de distribution de l'Hbs et du Plasmodium falciparum est à l'origine de plusieurs théories sur les relations entre drépanocytose et paludisme.

Contrairement à une conception assez répandue selon laquelle les sujets porteurs d'Hbs seraient exempts de paludismes, plusieurs études montrent que le drépanocytaire, quel que soit son phénotype hémoglobinique est sujet à l'infestation palustre tout comme l'individu normal [96, 97, 98].

La théorie de la "malaria hypothesis" ou du "polymorphe équilibré" émise en 1949 par Haldane [99], reprise et argumentée en 1954 par Allison [95] plaide en faveur d'un avantage sélectif des sujets hétérozygotes AS vis-à-vis du paludisme.

Cette relation complexe entre la drépanocytose et le paludisme est un exemple de polymorphisme dit équilibré. La mutation peut être bénéfique ou délétère. Elle est bénéfique chez les hétérozygotes AS car elle leur procure une certaine protection contre le paludisme. Mais la mutation est délétère chez les homozygotes SS parce qu'elle entraîne un dysfonctionnement et une destruction possible des globules rouges qui provoquent des épisodes imprévisibles de douleur intense et souvent la mort. Cette hypothèse est confirmée par plusieurs travaux [96,100, 101,]. L'effet protecteur de l'Hbs vis-à-vis du paludisme est discutable pour certains auteurs. L'évolution des parasitémies du drépanocytaire est comparable à l'enfant normal [102, 103].

6. Prise en charge de la drépanocytose

La drépanocytose est une pathologie chronique qui nécessite une prise en charge rigoureuse, à vie.

6.1. Buts

Les buts du traitement de la drépanocytose sont de :

- Prévenir et traiter les complications aiguës
- Dépister et traiter précocement les complications chroniques
- Améliorer la qualité et l'espérance de vie du patient

6.2. Principes

6.2.1. Diagnostic précoce

Il est idéalement réalisé au cours de la période néonatale surtout chez les nouveaux nés de mère porteuse d'Hb anormale. Cela permet une prise en charge précoce et l'instauration de mesures préventives efficaces.

6.2.2. Modalités du suivi

La prise en charge du patient drépanocytaire nécessite un suivi régulier établi comme suit :

- **Ouverture d'un dossier médical**

Dès le début du suivi, un examen clinique complet est réalisé et consigné dans un dossier médical. Il sera complété d'un bilan initial permettant d'évaluer le stade de la maladie [38]. Il comprend un hémogramme ; une électrophorèse de l'hémoglobine ; un groupage sanguin rhésus ; des sérologies virales. En fonction de l'âge de l'enfant et du contexte clinique, d'autres bilans peuvent être faits : examen ophtalmologique, écho-doppler transcrânien, échographie abdominale, radiographie thoracique, EFR...

- **Education thérapeutique**

Elle concerne le malade et son entourage. Ceux-ci seront informés sur la physiopathologie de la maladie. Il faudra enseigner aux parents les signes cliniques de l'enfant qui doivent les amener à consulter en urgence.

- **Visites médicales régulières**

Le rythme des visites médicales durant les deux premières années de vie doit suivre le calendrier vaccinal. Au-delà, selon les possibilités, un rythme trimestriel est recommandé (au moins 2 fois dans l'année). Ces visites consistent en une évaluation de l'état général et nutritionnel, une appréciation du développement staturo-pondéral et de la taille de la rate. Des examens biologiques de routine seront demandés.

6.3. Modalités de la prise en charge [104]

6.3.1. Prise en charge des crises douloureuses [66]

La prise en charge des crises douloureuses nécessite un accueil prioritaire aux urgences et un délai d'intervention court.

L'hospitalisation est requise dans la majorité des cas où des mesures prises à domicile n'ont pu faire régresser la crise.

L'intensité de la douleur conditionne le traitement et est appréciée sur la base de l'E.V. A (Echelle Visuelle Analogique). La prise en charge de la crise douloureuse comprend :

- L'hyperhydratation : orale ou veineuse à raison de 100 à 150 ml/kg chez le nourrisson et 2 à 2,5 l/m²/j chez l'enfant et l'adolescent.
- Antalgiques : il faut administrer le traitement antalgique dès que possible, sans excéder les trente minutes suivant l'admission, en tenant compte des médicaments déjà pris à domicile. Le soulagement doit être obtenu dans les soixante minutes. L'administration des antalgiques se fait par pallier en allant du paracétamol seul (15mg/kg/6h) ± codéine (1mg/kg/6 à 8h), ibuprofène (10mg/kg/8h) aux dérivés

morphiniques. Le choix du pallier initial et de la voie d'administration seront déterminés en fonction de la sévérité de la douleur. En cas de crise abdominale, les AINS sont déconseillés. L'indication des morphiniques est à discuter. Les antispasmodiques à type de Phloroglucinol ou Tiémonium sont préconisés.

- Transfusion sanguine : Elle favorise la diminution du pourcentage de l'Hb S en dessous de 30 à 40%, entraîne une amélioration de l'oxygénation et une diminution de la falciformation [67]. Elle est indiquée en cas de crises douloureuses sévères et d'anémie mal supportée, car l'augmentation brutale de l'hématocrite peut conduire à la répétition des CVO. Toutefois, à cause du risque d'allo-immunisation et de surcharge en fer, l'échange transfusionnel lui est préférable.
- Oxygénothérapie : Elle n'a pas d'effet antalgique documenté. Elle est proposée en cas de désaturation, pour maintenir une saturation artérielle en oxygène supérieure ou égale à 95%.
- Autres : réchauffement, suppression du facteur déclenchant.

6.3.2. Prise en charge de la vasculopathie cérébrale [70]

La prise en charge immédiate est symptomatique associant :

- une oxygénothérapie visant à maintenir une SaO₂ > 95 %
- une hydratation prudente pour limiter le risque d'œdème cérébral : 2L/m²/24h sans dépasser 3L/24 h
- un traitement antalgique et un traitement anticonvulsivant si besoin.

Une fois le patient stabilisé, une TDM cérébrale ou une IRM seront demandées afin d'éliminer une origine hémorragique, pouvant nécessiter un geste neurochirurgical en urgence. Ensuite, et ce quelle que soit l'étiologie, il faut abaisser le taux d'Hb S au-dessous de 30 % soit par un échange transfusionnel d'emblée (Hb > 8 g/dl), soit par une transfusion initiale suivie d'un échange.

A distance, il est recommandé de prévenir la récurrence de l'accident vasculaire cérébral par un programme transfusionnel (échanges transfusionnels mensuels).

La prévention primaire consiste à évaluer le risque d'accident vasculaire cérébral grâce à l'écho-Doppler transcrânien à partir de l'âge de 12 à 18 mois, chez tous les enfants SS ou S β 0. Cet examen doit être pratiqué chez l'enfant en dehors d'une complication aiguë [66]. Il s'agira d'évaluer les vitesses moyennes dans toutes les artères du système carotidien. En fonction des résultats, la fréquence de surveillance ou l'instauration d'un programme transfusionnel seront décidés.

6.3.3. Prise en charge du syndrome thoracique aigu

En raison du risque imprévisible de décompensation brutale de l'état respiratoire, le syndrome thoracique aigu justifie une hospitalisation systématique. Le transfert en unité de soins intensifs doit être envisagé dans les formes sévères, ou lorsqu'une surveillance rigoureuse ne peut être correctement assurée. Les modalités thérapeutiques sont proches de celles des crises douloureuses :

- l'hydratation sera plus prudente, limitée à 2l/m² sans dépasser 3l/24h, en raison du risque d'œdème pulmonaire.
- l'oxygénothérapie est systématique, visant une saturation en oxygène supérieure à 95%.
- l'utilisation d'antalgiques permet d'obtenir une sédation de la douleur et d'améliorer l'ampliation thoracique.
- un traitement antibiotique associant une céphalosporine injectable de 3^{ème} génération et un macrolide est toujours nécessaire, qu'une cause infectieuse ait été identifiée ou non.
- une transfusion sanguine simple de d'environ 10ml/kg, ou un échange transfusionnel, à adapter en fonction du taux d'hémoglobine de l'enfant [66].
- la kinésithérapie respiratoire est utile pour prévenir les complications.

6.3.4. Prise en charge du priapisme

Le diagnostic du priapisme est clinique et vu la rapidité avec laquelle le pronostic fonctionnel est engagé, la prise en charge ne doit souffrir d'aucun retard.

L'éducation thérapeutique de l'enfant et de sa famille occupe une place importante. Celle-ci apprend aux concernés à reconnaître le priapisme et à adopter les mesures pré hospitalières telles que : boire abondamment, prendre des antalgiques, tenter d'uriner, prendre un bain chaud. Au bout d'une heure, si ces mesures s'avèrent inefficaces, une hospitalisation en urgence est recommandée.

Les mesures générales des crises vaso occlusives sont toujours de mise à savoir : l'hyperhydratation, oxygénation, transfusion simple ou échange transfusionnel.

Il est capital d'évaluer le temps écoulé depuis le début du priapisme [105].

- Si celui-ci est inférieur à 4 heures : l'attitude est une injection intra caverneuse d'étiléfrine, à répéter au bout de 20 minutes en cas d'inefficacité. Si cela se solde par un échec, un drainage caverneux est indiqué.

- Si la durée est supérieure à 4 heures, le drainage caverneux sera réalisé en première intention, suivi de l'injection de l'étiléfrine lorsque le sang ponctionné devient rouge.

L'injection d'étiléfrine nécessite la surveillance du pouls et de la tension artérielle.

La prévention des récurrences consiste à réduire la fréquence de survenue du priapisme intermittent, qui précède presque toujours le priapisme aigu. Il faudra donc rechercher le facteur favorisant tel que l'hypoxie nocturne. L'absence de cause identifiée et la récurrence justifient un traitement préventif par prise orale d'étiléfrine, le plus souvent unique le soir au coucher car les crises de priapismes intermittents surviennent majoritairement la nuit [106].

6.3.5. Prise en charge de l'anémie aiguë

Toutes les causes d'aggravation de l'anémie chez le drépanocytaire nécessitent dans la majorité des cas une transfusion sanguine. La transfusion est indiquée dans les cas suivants :

- Une crise vaso-occlusive sévère,
- Une crise douloureuse réfractaire,
- Une aggravation de l'anémie (moins 2g/dl du taux d'Hb basal),
- Une hypoxémie aiguë ($PaO_2 < 75$ mmHg),
- Une infection grave,
- Une intervention chirurgicale importante,
- Une grossesse.

Il s'agira d'une transfusion de sang phénotype dans les systèmes ABO, Rhésus, Kell, Kidd et Duffy. Elle nécessite une surveillance sérologique systématique du VIH, de l'HTLV1, des hépatites B et C, et de la syphilis. Différentes modalités transfusionnelles peuvent être utilisées en fonction des modifications :

- Une transfusion simple de culot globulaire en cas d'anémie aiguë par hyperhémolyse, par séquestration splénique ou par érythroblastopénie.
- Un échange transfusionnel partiel dans les accidents vaso-occlusifs graves (syndrome thoracique aigu, accident vasculaire cérébral, priapisme, etc...).

6.3.6. Prise en charge des infections

Le traitement des infections doit être entrepris, même si au début l'enfant présente un bon état général apparent. En effet, elles constituent un facteur déclenchant des CVO et de l'exacerbation de l'hémolyse.

Les infections les plus fréquentes sont bactériennes et doivent motiver dès suspicion, une antibiothérapie probabiliste sans attendre les résultats des prélèvements bactériologiques.

L'antibiothérapie probabiliste doit viser le site infectieux suspecté ou identifié, être à large spectre, active sur les germes encapsulés et les salmonelles qui sont souvent responsable d'infections sur le terrain drépanocytaire.

La prise en charge peut être ambulatoire ou nécessiter une hospitalisation secondairement. Le choix sera fait en fonction de certains critères (Tableau II) au bout de 3 heures après instauration de l'antibiothérapie probabiliste à l'hôpital.

Tableau II: Critères de choix du mode de prise en charge des infections [66]

Critères de prise en charge ambulatoire	Critères d'hospitalisation
<p>Age > 3 ans avec température < 39,5°C</p> <p>Bon état général, Conscience claire</p> <p>Pas d'ATCD de septicémie, Bonne saturation sans foyer pulmonaire</p> <p>Numération sanguine et taux de réticulocytes proches des normes habituelles</p> <p>Accès facile aux urgences en cas de complications</p>	<p>Age < 3 ans avec température > 38,5°C</p> <p>AEG et/ou Conscience altérée et/ou T°> 39,5°C quel que soit l'âge</p> <p>Quel que soit l'âge avec un ATCD de septicémie même si fièvre < 39°C avec :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Foyer pulmonaire - Majoration de l'anémie - Hyperleucocytose > 30.000/mm³ - Leucopénie < 5.000/mm³ - Réticulocytes < 50.000/mm³

6.3.7. Prise en charge des complications chroniques

- La lithiase biliaire : la cholécystectomie est indiquée en privilégiant la laparoscopie. Son indication se pose même si l'enfant est asymptomatique.
- L'ostéonécrose de la tête fémorale : le traitement est orthopédique ou chirurgical selon la sévérité et la précocité de l'atteinte.
- L'ulcère de jambe : le traitement de ces ulcères est sujet à de longs délais de cicatrisation et fait appel aux pansements. En fonction des caractéristiques de l'ulcère, une greffe de peau et la transfusion sanguine peuvent être nécessaires.
- La rétinopathie : En cas de rétinopathie proliférative, la photo coagulation au laser est proposée.
- Le traitement des insuffisances cardiaque, rénale, et respiratoire nécessite une étroite collaboration entre le médecin traitant et le spécialiste des organes atteints. Un programme transfusionnel est généralement indiqué.

6.3.8. Mesures préventives

6.3.8.1. Prévention des crises douloureuses

Elle repose sur des conseils prodigués aux parents pour éviter la survenue des crises douloureuses. Il faut :

- Eviter les situations d'hypoxie : effort physique intense, port de vêtements trop serrés, les longs voyages en avion, l'altitude ;
- Eviter la déshydratation lors de vomissements, diarrhées ;
- Proscrire les bains froids et l'exposition à la chaleur ;
- Préconiser une hydratation abondante qui sera majorée en cas d'effort ou de fièvre ;
- Maintenir une bonne hygiène de vie : bonne qualité de sommeil, éviter le surmenage scolaire.

6.3.8.2. Prévention de l'aggravation de l'anémie

Une aggravation de l'anémie chez l'enfant drépanocytaire doit être prévenue par :

- Une supplémentation en acide folique soit 5mg/j pendant 15 à 20 jours chaque mois ;
- Une correction de toute carence martiale par une supplémentation en fer ;
- Un déparasitage systématique.

6.3.8.3. Prévention des infections

La prévention des infections nécessite :

- Une bonne hygiène corporelle et bucco-dentaire
- Une antibioprofylaxie anti pneumococcique : à partir de l'âge de 2 mois jusqu'à 5 ans au moins, avec la pénicilline V à la posologie de 100 000 UI/kg/jour jusqu'à 10 kg, puis 50 000 UI/kg/jour au-delà de 10 kg sans dépasser 2 millions par jour.
- Une prophylaxie anti palustre dans les zones d'endémies
- Une vaccination complète comportant les vaccins recommandés par le PEV (tableau III), ainsi que des rappels contre les germes encapsulés (pneumocoques, Haemophilus influenzae b, méningocoques et salmonelles).

Tableau III: Calendrier vaccinal du PEV actuel au Sénégal

<i>AGE</i>	<i>VACCINS</i>
Naissance	BCG – VPO zéro - Hépatite B
6 semaines	Penta 1 – VPO 1 – Pneumo 1 – Rota 1
10 semaines	Penta 2 – VPO 2 – Pneumo 2 – Rota 2
14 semaines	Penta 3 – VPI – Pneumo 3 – Rota 3
9 mois	RR 1 – VAA
15 mois	RR 2

Légende : (1) : 1ère dose, (2) : 2ème dose, (3) : 3ème dose

6.3.8.4. Conseil génétique et diagnostic prénatal

Le conseil prénatal consiste à informer les patients à risque d'avoir les syndromes drépanocytaires majeurs sur la nature et les modalités évolutives de la maladie en vue de les aider à évaluer ce risque dans le cadre de leur union actuelle ou future afin de prendre elle-même leur décision. Il doit être idéalement mené avant le mariage. Chez les couples à risque d'avoir d'enfant atteints de forme homozygote ou de type S β °thalassémie, le diagnostic prénatal peut être proposé.

La biologie moléculaire permet de faire le diagnostic de la drépanocytose homozygote sans ambiguïté entre 8 et 12 semaines d'aménorrhée à partir d'une biopsie de trophoblastes ou par amniocentèse précoce entre 15 et 20 semaines d'aménorrhée.

6.3.9. Autres traitements et perspectives thérapeutiques

6.3.9.1. L'hydroxyurée [107, 108, 109]

C'est une molécule qui a prouvé son efficacité dans l'amélioration des complications de la drépanocytose. Elle agit en entraînant une augmentation de la proportion d'Hb F.

Les indications sont justifiées devant :

- des CVO répétées soit plus de 3 hospitalisations/an ;
- un STA grave ou récidivant à raison de plus de 2 épisodes/an ;
- en cas d'anémie sévère ;
- en cas d'AVC sans possibilité d'échanges transfusionnels.

Elle permet une baisse de la fréquence et de la sévérité des CVO et du STA. Elle réduit le nombre d'hospitalisations et de transfusions.

Il existe une toxicité hématologique, dermatologique et un risque oncogène à priori faible.

6.3.9.2. Greffe de cellules souches hématopoïétiques [110, 111]

La greffe médullaire reste actuellement la seule thérapeutique curative de la drépanocytose.

Les chances de réussite augmentent lorsqu'elle est réalisée durant l'enfance, à partir d'un donneur HLA identique de la fratrie ou à partir de donneur du ficher.

Elle est réservée aux formes les plus sévères de la maladie notamment en cas de vasculopathie cérébrale chez l'enfant. Dans 95 % des cas, les patients greffés ont une qualité de vie radicalement transformée, mais des échecs sont possibles avec le rejet du greffon ou réaction de celui-ci contre l'hôte. La morbidité est liée à la réaction du greffon contre l'hôte (GVH) et aux complications neurologiques.

6.3.9.3. La thérapie génique [112]

Les espoirs de guérison se fondent aujourd'hui sur la thérapie génique. Le but de cette technique prometteuse est de greffer un gène sain de la bêta globine dans les cellules souches hématopoïétiques du sujet malade.

DEUXIÈME PARTIE : NOTRE ÉTUDE

1. Cadre d'étude

1.1. Site de l'étude

Notre étude s'est déroulée dans les laboratoires d'analyse de l'HPZ et du CERPAD de Saint Louis.

- Le laboratoire de l'HPZ est un service d'analyse hospitalo-universitaire de niveau 2 dans la région de Ziguinchor. Il est constitué d'une salle de microbiologie ; d'une salle de virologie ; d'une salle de prélèvements sanguins ; d'une salle de prélèvements spéciaux ; d'une grande salle polyvalente de palliasses d'hématologie, de biochimie et de sérologie. Le personnel médical du laboratoire de l'HPZ est composé d'un professeur titulaire, médecin biochimiste, de deux assistants universitaires, hématologue et microbiologiste/virologiste. Le personnel paramédical est constitué d'un major de service, technicien supérieur en biologie, de deux autres techniciennes supérieures en biologie, trois brevets de techniciens de laboratoire ; trois aides laborantins et d'une secrétaire médicale (figure 16).



a



b

a, b : photos de l'entrée et du couloir du laboratoire de l'HPZ



c : photo de la salle polyvalente du laboratoire de l'HPZ

Figure 15: Photos du laboratoire de l'hôpital de la paix de Ziguinchor

- Le Centre de recherche et de prise en charge ambulatoire de la drépanocytose (CERPAD) est rattaché à l'unité de formation et de recherche des sciences de la santé de l'Université Gaston Berger (UGB) de Saint Louis. C'est un centre de référence en matière de prise en charge et de recherche sur la drépanocytose au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. Depuis 2013, la Fondation Pierre Fabre collabore avec l'UGB de Saint Louis pour la mise en place de ce centre, pour un dépistage et une prise en charge précoces de la drépanocytose.

Le centre dispose de bureau de consultation médical, de 4 lits d'hospitalisation du jour, et d'un laboratoire d'analyses de biologie médicale. L'activité première de ce laboratoire est l'étude de l'hémoglobine par différentes techniques d'électrophorèse et autres analyses qui concourent au diagnostic précoce et au suivi de la drépanocytose et des autres hémoglobinopathies en général.

Le laboratoire du CERPAD est constitué d'une unité de microbiologie et d'une grande salle polyvalente qui regroupe trois entités en son sein : l'hématologie, la biochimie et l'immunologie. La majeure partie des activités du laboratoire reposent sur deux entités : d'une part l'hématologie et d'autre part la biochimie qui est composée de la biochimie générale, de l'enzymologie et d'une paillasse dédiée aux techniques d'électrophorèse que sont l'IEF et l'électrophorèse capillaire en plus de la chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Le personnel médical du CERPAD est composé d'un professeur titulaire en pédiatrie spécialisé en hématologie, d'un maître-assistant en pédiatrie, d'un maître-assistant en biochimie, d'un assistant en hématologie. Le personnel paramédical est constitué de deux techniciens supérieurs de santé en biologie médicale et de deux techniciennes en analyses biologiques. (Figure 17).



Figure 16: Photo du CERPAD de Saint Louis

1.2 Types et période d'étude

Nous avons mené une étude prospective comparative, descriptive et analytique qui s'est déroulée durant la période allant du 1^{er} février au 30 avril 2018.

1.3. Population d'étude

Notre population d'étude était constituée des enfants de parents porteurs du gène de la drépanocytose.

Critères d'inclusion : étaient inclus dans l'étude, tous les enfants âgés de 4 mois à 15 ans ayant un TE positif et après un consentement éclairé des parents.

Critères de non inclusion : n'ont pas été inclus dans l'étude :

- Les nouveau-nés et les patients âgés de plus de 15 ans.
- Les enfants de famille non consentante.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Entretien avec les parents

La sélection d'un enfant était précédée d'un entretien avec la mère ou les 2 parents. Cet entretien avait pour but :

- De les informer sur la drépanocytose et sur les objectifs de l'étude
- D'obtenir leur consentement verbal pour y participer
- De remplir la fiche d'enquête (annexe1), si leur consentement était obtenu.

2.2. Prélèvements

Les prélèvements de sang total ont été faites sur tube EDTA. A partir du tube, quelques gouttes de sang étaient déposées sur du papier buvard sous forme de disques. Le buvard est ensuite séché à température ambiante et placé dans un sachet en plastique. Après séchage, plusieurs prélèvements pouvaient être regroupés dans une même enveloppe qui était conservée dans une salle, à température ambiante jusqu'à son expédition aux laboratoires d'analyse (HPZ et ensuite CERPAD de Saint Louis). Sur le tube EDTA et sur le papier buvard

étaient mentionnés le nom et le prénom de l'enfant ainsi que le numéro d'identification du prélèvement (Figure 18), ces mêmes informations étaient répertoriées sur les fiches d'enquête correspondantes.

2.3. Conservation des échantillons

Les conditions de conservation des tubes EDTA et du papier buvard sont résumées dans le tableau IV. Nos échantillons de papiers buvards ont été conservés à la température ambiante et pendant une durée variant de 3 à 10 mois avant la manipulation.

Tableau IV: produits et leurs températures de conservation

Echantillon	Sang total
Collection	EDTA tubes
Stockage	A 2-8°C
Transport	–
Durée de conservation	7 jours

Echantillon	Goutte de sang
Collection	Papiers buvards
Stockage	Température ambiante
Transport	Température ambiante
Durée de conservation	3 – 10 mois

a



b



Figure 17: Tube EDTA (a) et papier buvard (b)

2.4. Matériels et méthode de l'hémogramme

L'hémogramme de tous les enfants était réalisé par un technicien au laboratoire de l'HPZ à partir d'un contrôle de qualité (sang sysmex) du **Coulter Sysmex XN-350** (Figure 19).



Figure 18: Appareil pour l'hémogramme

2.5. Matériels et méthode de l'iso électrofocalisation [77]

L'iso électrofocalisation (IEF) consiste à séparer les différents types d'Hb qui migrent selon leur point iso électrique (pHi). C'est une technique d'électrophorèse de zone.

2.5.1. Matériels et solutions

Le modèle d'IEF utilisé est : RESOLVE Hemoglobin kit (Tableau V)

Prod.n° FR-9360 : 3600 - 4400 tests.

Selon le gabarit utilisé chaque trousse contient les composants suivants :

Tableau V: Composant de la trousse du RESOLVE Hemoglobin kit.

	FR-9360
	3600-4400 tests
COMPOSANT	
• Gel d'agarose pour IEF (Agarose IEF Gel)	50
SOLUTIONS	
• Solution d'anode	480 ml
• Solution de cathode	240 ml
• Solution d'élution de l'hb	240 ml
ACCESSOIRES	
• Mèche d'électrode d'IEF	2x80
• Papiers buvards (feuilles)	60
• Bandes buvards	–
• Gabarit d'échantillon	A commander séparément
• Etiquette à code – barre pour la microplaque	60

Matériels indispensables non fourni avec la trousse

- Gabarit d'échantillon pour FR9400 et FR9360
- Unité d'IEF multiphore II
- Plate- forme à balancement
- Bain à recirculation d'eau
- Alimentation électrique programmable
- Micropipettes et pipettes
- Embout (100µl- 1000µl)
- Embout (10µl-200µl)
- Embout (01µl-20µl)
- Microtubes à fond conique (1,5ml-2ml)
- Eprouvette graduée de 250ml
- Eprouvette graduée de 1000ml
- Eprouvette graduée de 20ml
- Jeux de plateaux de coloration ou de rinçage
- Acide trichloracétique
- Contrôle de position de l'Hb (Témoin AFSC)
- Système de coloration JB-2
- Etuve
- Solution d'élution de l'Hb
- Vêtements protecteurs appropriés
- Gants
- Lunettes de sécurité
- Tube EDTA
- Papiers buvards avec prélèvement sanguin/ carte standard

- Témoin AFSC
- Puncheur



Figure 19: Appareil et système de l'IEF

- Système d'IEF est faite d'un appareil qui n'a pas d'autonomie électrique

2.5.2. Principe

Le principe consiste à démontrer que de nombreuses variétés d'hémoglobines présentes dans le sang peuvent être isolées et identifiées par IEF sur gel en couche mince.

La séparation des fractions de l'hémoglobine (Hb) est réalisée par application d'un échantillon d'Hb sur une plaque de gel d'agarose contenant des ampholytes RESOLVE de pH 6 à 8. Les ampholytes RESOLVE sont composés de molécules amphotères de faible poids moléculaire avec divers points isoélectriques (pHi). Lorsqu'un courant électrique est appliqué au gel, ces molécules migrent dans le gel jusqu'à leur point isoélectrique (pHi) en formant un gradient de pH stable.

Les variétés d'Hb migrent également sur le gel jusqu'à ce qu'elles atteignent la zone où leur pHi est égal au pH du gel. A cet endroit d'équilibre, les charges de chaque variété d'Hb sont égales à zéro et la migration s'arrête. Le champ électrique neutralise la diffusion et chaque variété d'Hb forme une fine bande dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de cette fraction d'Hb présente dans l'échantillon.

L'ion cyanure (CN⁻) présent dans les solutions d'élution et de cathode contrecarre l'oxydation de la molécule de fer dans l'Hb F. cette dernière possède une grande affinité pour l'oxygène. L'oxydation partielle des molécules de fer entraîne l'apparition d'une bande de méthémoglobine F à l'emplacement de l'Hb S, conduisant à un faux positif pour l'Hb S. La présence de CN⁻ dans la solution de cathode garantit qu'une quantité suffisante sera présente pour contrecarrer la formation de méthémoglobine F durant l'IEF.

L'acide trichloracétique rompt la structure tertiaire de l'Hb, probablement en séquestrant des molécules d'eau internes. Une fois la structure tertiaire rompue, les acides aminés hydrophobes internes sont exposés, ce qui conduit à la coagulation et à la formation d'un précipité d'Hb.

Les bandes d'Hb peuvent être visualisées avec le système de coloration JB-2 qui contient de l'o-dianisidine qui est facilement oxydée par la portion hème de la molécule d'Hb en présence de peroxyde d'hydrogène. La réaction forme un précipité insoluble qui intensifie chaque bande.

La lecture des gels colorés ou non colorés permet d'apprécier les fractions d'Hb normale et anormale. L'estimation en pourcentage nécessite l'examen de gels non colorés par un système d'imagerie isoscan. Le système de coloration JB-2 entraîne la formation d'un dépôt non linéaire de chromophore ; les composants présents en faible concentration seraient donc surestimés.

2.5.3. Mode opératoire de l'IEF

IL existe plusieurs étapes successives :

- Prélèvement et traitement des échantillons

Il s'agit de prélever du sang total ou du sang cordonal dans un tube de prélèvement contenant de l'EDTA ou de l'héparine. Ensuite si le sang prélevé n'est pas manipulé immédiatement, il peut être conservé à une température entre +2 et +8° C pendant une durée n'excédant pas deux jours.

Ou bien il est également possible de recueillir des échantillons sanguins sur des disques de papier buvard puis laisser la tâche de sang séchée pendant au moins 3h de temps à température ambiante (+18 +25°C). Il faut éviter de chauffer, d'empiler les échantillons pendant le processus de séchage. C'est ce dernier procédé que nous avons utilisé dans notre étude.

- Préparation des échantillons

A partir de la tâche de sang sur le buvard, un disque de diamètre 3,2 millimètre est découpé à l'aide d'un puncheur, ensuite ce disque est placé dans un micro tube avant d'ajouter 25 µl de solution d'éluion de l'hémoglobine et d'agiter avec une plate-forme de balancement pendant

30 minutes. Cette méthode donne une concentration approximative d'hémoglobine de 51,2 μ g/ μ l, avec une marge acceptable de 40,6 à 63,5 μ g/ μ l.

- **Préparation de l'appareil**

L'unité d'électrophorèse, IEF doit être placée sur une surface plane et mise à niveau avant le dépôt du gel sur l'unité. La mise à niveau doit avoir lieu lors de l'installation et doit être également vérifiée après toute opération de maintenance ou en cas de déplacement de l'appareil. Il faut d'abord mettre en marche le bain de circulation d'eau et régler la température à +15°C. Ensuite il faut vérifier que la plaque de refroidissement de l'unité d'électrophorèse est propre avant de placer le gel sur la plaque. Après chaque dosage, nettoyer la plaque avec de l'eau distillé ou désionisé et une serviette sèche.

- **Préparation du gel en 10 étapes :**

1. Sortir un gel d'agarose IEF de son emballage en aluminium puis enlever le second emballage et retirer la feuille de protection. Ne pas séparer le gel de son support plastique. Ne pas toucher la surface du gel. Procéder d'abord à une inspection visuelle du gel.
2. Pipeter 3 ml d'eau distillée sur le centre de la plaque de refroidissement de l'unité d'électrophorèse. La quantité d'eau pipetée sur la plaque doit être suffisante pour ne pas piéger de bulles d'air et permettre une couverture complète sous l'intégralité du gel. Placer le gel sur la plaque en le tenant par ses coins opposés pour former une parabole (figure 21). Placer le bas de la parabole sur la goutte d'eau et distribuer lentement l'eau à l'aide du support du gel. Faire attention de ne pas emprisonner des bulles d'air entre le gel et la plaque de refroidissement.
3. Centrer le gel sur la plaque de refroidissement de l'unité d'électrophorèse.
4. Tout excès d'eau à la périphérie du gel doit être absorbé à l'aide d'une feuille de papier buvard.

5. Sécher délicatement mais minutieusement le gel avec un papier buvard pour gel. Attendre environ cinq secondes avant de décoller le papier de la surface du gel.

6. Sortir les mèches IEF de l'emballage. Pour les gels des trousseaux FR-9360 trois mèches sont nécessaires (deux seront utilisés comme mèches anodiques et le troisième comme mèche cathodique).

Remarque : éviter tout contact entre la solution d'anode et celle de la cathode. Prendre soin d'éviter la contamination des mèches.

7. Placer chacune des mèches anodiques sur un support propre et sec ou sur la face interne d'un compartiment du second emballage du gel. En cas de dosage simultané de plusieurs gels, il est possible de préparer plusieurs mèches anodiques en même temps. Saturer de manière régulière les mèches avec la solution d'anode (environ 3 – 4 ml/mèche). Sécher délicatement la ou les mèches avec une feuille de papier buvard pour éliminer l'excès de liquide. Les mèches doivent être à peine sèche avant d'être placées sur le gel. Placer les mèches anodiques sur le gel conformément à la grille d'alignement (figure 22). S'assurer que les mèches sont parallèles entre elles. Passer un doigt sur toute la longueur des mèches pour assurer un contact régulier entre la mèche et le gel.

Remarque : utiliser uniquement des feuilles blanches papier buvard. Car les papiers marron ou colorés peuvent faire exsuder leurs colorants dans la mèche électrode.

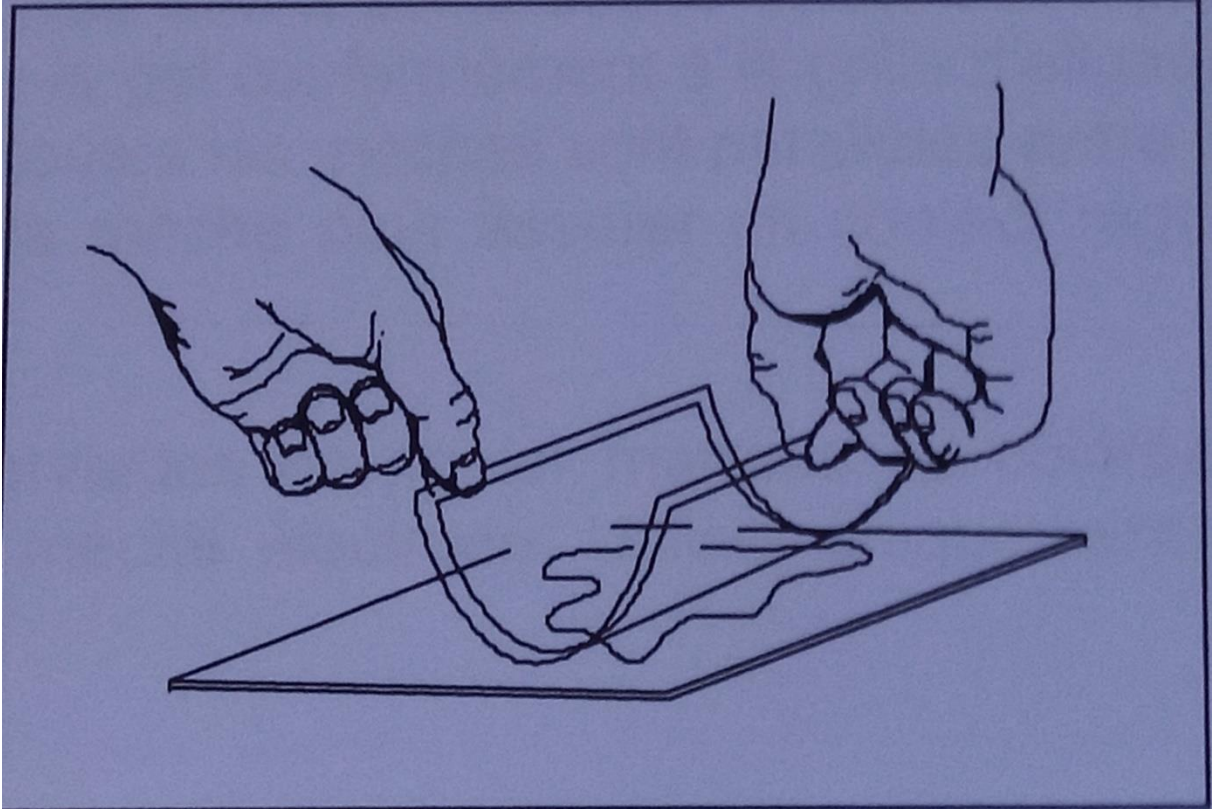
8. Placer la ou les mèches cathodiques sur un support sec et propre ou sur la face interne du compartiment opposé du second emballage du gel. En cas de dosage simultané de plusieurs gels, il est possible de préparer plusieurs mèches cathodiques en même temps. Saturer de manière régulière la ou les mèches avec la solution de cathode (environ 3-4ml /mèche). Sécher délicatement la ou les mèches avec une nouvelle feuille de papier buvard pour éliminer l'excès de liquide. Les mèches doivent être à

peine sèche avant d'être placées sur le gel. Placer les mèches cathodiques sur le gel conformément à la grille d'alignement (figure 22). S'assurer que les mèches sont parallèles entre elles. Passer un doigt sur toute la longueur des mèches pour assurer un contact régulier entre la mèche et le gel.

9. A l'aide de la technique de la parabole, positionner les gabarits d'échantillons sur le gel conformément à la grille d'alignement présentée dans la (figure 23). Passer légèrement le doigt sur le gabarit et entre les puits d'échantillons pour éliminer toutes les bulles d'air. Afin de limiter l'accumulation d'humidité dans les puits, susceptible d'entraîner une fuite des échantillons, une mèche d'électrode propre peut être placée à travers les puits et lisser en passant légèrement un doigt sur la surface de la mèche juste avant l'application des échantillons. Retirer la mèche avant d'appliquer les échantillons.

10. Distribuer 5,0 µl de volumes d'hémolysât de papier-buvard 3,2 mm (1/8) de patients dans les puits d'échantillons appropriés. Les volumes indiqués sont valables pour toute les tailles de gels disponibles avec gabarits d'échantillons pour FR-9360.

Remarque : il est strictement recommandé l'utilisation de contrôles de positions pour vérifier le bon fonctionnement du test. Les échantillons de contrôle doivent être déposés dans plusieurs puits. Utilisées de manière appropriée, les contrôles permettent également de vérifier la sensibilité du test.



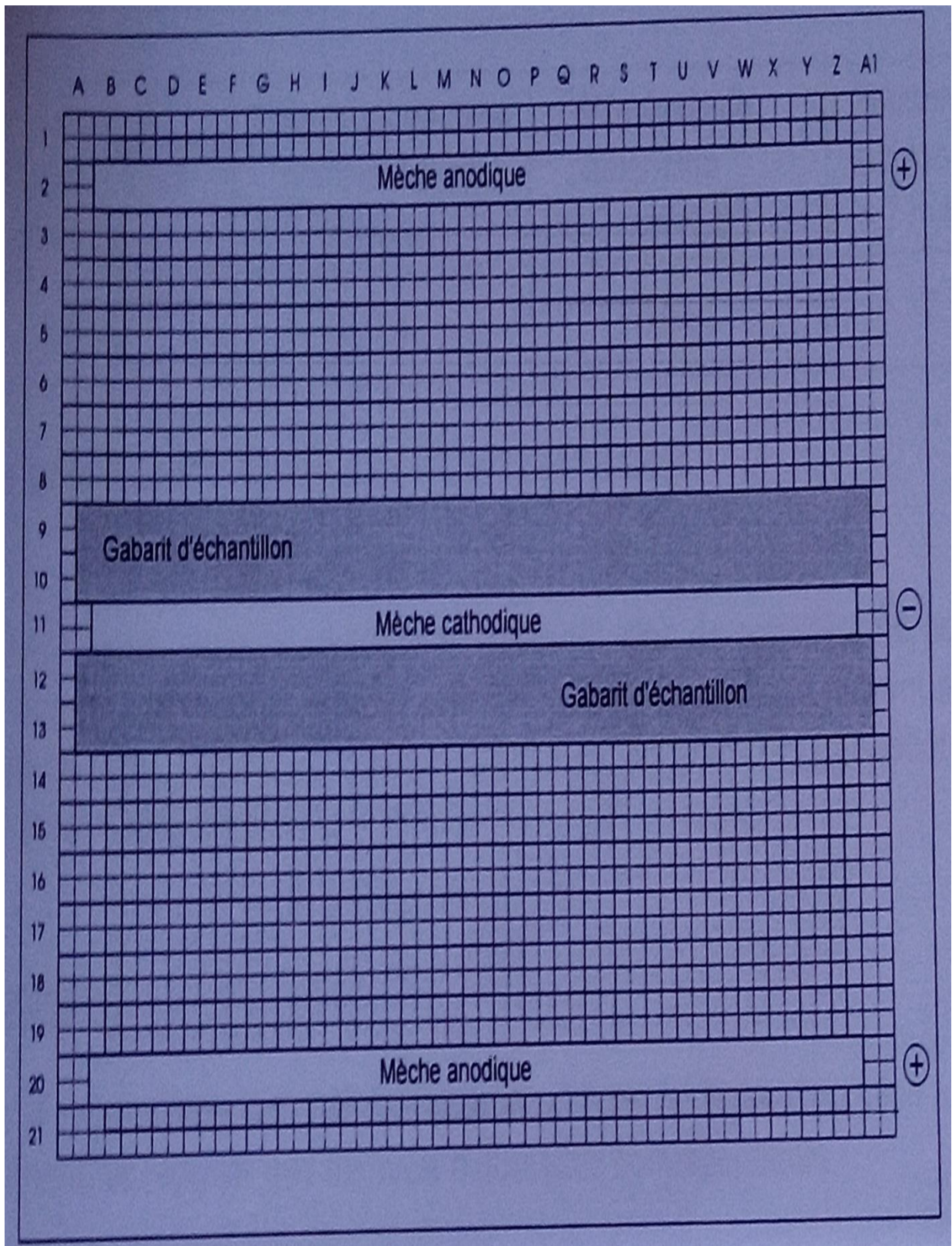


Figure 21: Photo de l'alignement des mèches d'IEF [77]

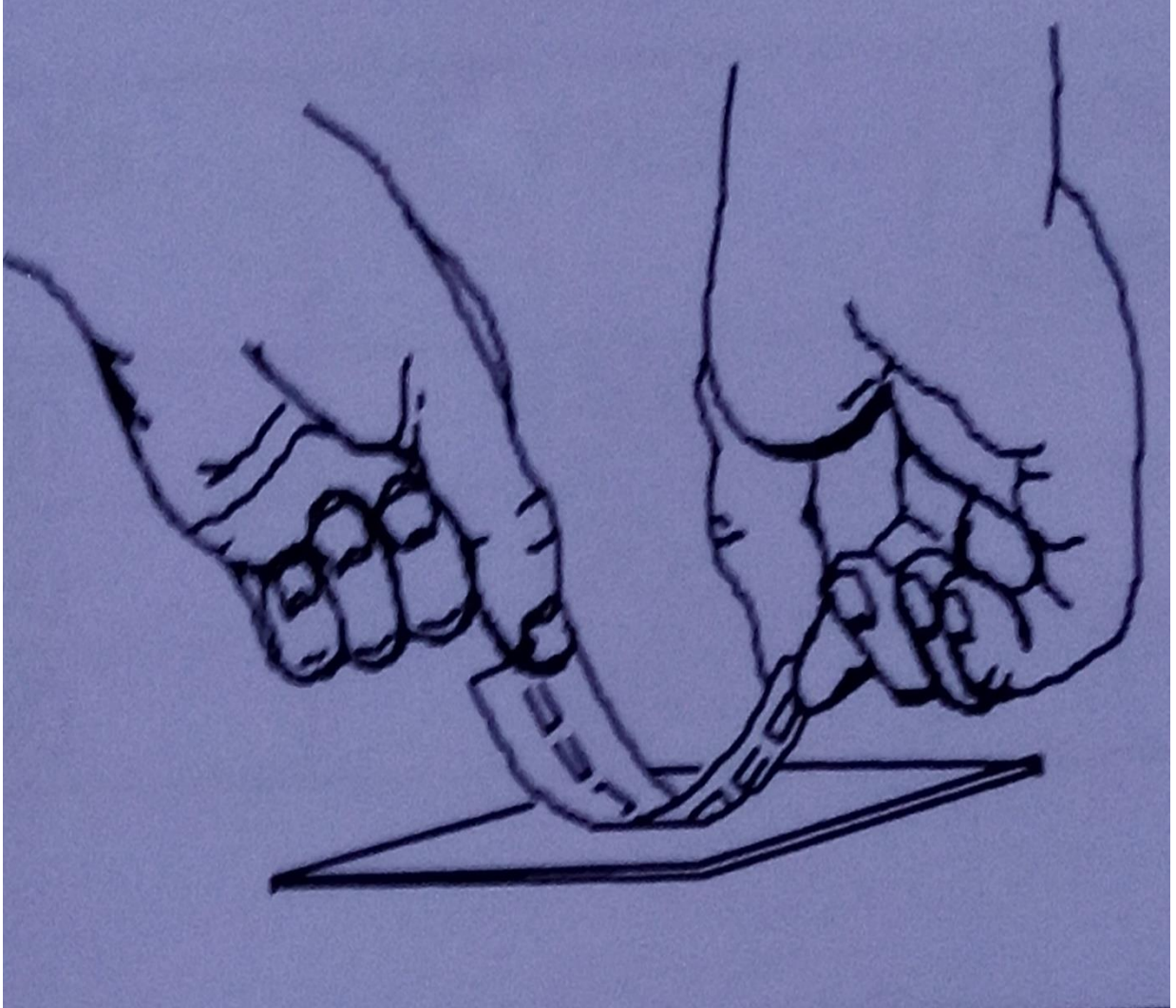


Figure 22: Mise en place du gabarit d'échantillon [77]

- Etapes de l'électrophorèse

Il existe 8 étapes dans la réalisation de l'électrophorèse

1. Placer le support d'électrodes au-dessus du gel et glisser les électrodes mobiles sur les mèches anodique et cathodique respectives. Centrer les électrodes de manière régulière sur mèches avant d'abaisser le support d'électrode.
2. Connecter les conducteurs d'électrode sur les conducteurs de l'unité d'électrophorèse. Pour les gels des trousse de FR9360, les deux électrodes anodiques (rouges) doivent se situer de part et d'autre en longitude sur le gel et l'électrode cathodique (noire) doit se situer au centre du gel en position parallèle avec les anodes.
3. Placer le couvercle de sécurité sur l'unité et brancher les conducteurs du couvercle à l'alimentation électrique. Raccorder le conducteur rouge sur la prise rouge (+) de l'alimentation et le conducteur noir sur la prise noir (-).
4. Programmer l'alimentation électrique pour qu'elle délivre une puissance constante conformément au tableau VI.

Remarque : deux gels peuvent être traités simultanément avec une seule alimentation électrique. Dans ce cas doubler la puissance à 20 watts pour les trousse FR-9400/FR-9360. Si l'alimentation électrique permet la mesure des volts/heures l'examen sera terminé lorsque la valeur 1000 volts/heures sera atteinte.

5. Lors de l'électrophorèse, garder les gabarits d'échantillons sur gel pendant les premières minutes. A la quinzième minute, mettre l'unité hors tension, retirer le couvercle de la chambre d'électrophorèse et retirer les gabarits. Placer le couvercle et poursuivre l'électrophorèse.

Il est également possible de laisser les gabarits pendant toute la durée du dosage. Après utilisation, les gabarits peuvent être désinfectés de la manière suivante avant d'être réemployés. Rincer les gabarits à l'eau distillée ou déionisée immédiatement

après utilisation. Ne pas utiliser de tensioactif pour le nettoyage. Désinfecter par rinçage minutieux à l'isopropanol à 3% ou l'équivalent. Laisser sécher les gabarits.

6. Sécher toute l'eau en excès pouvant apparaître sur le gel durant l'électrophorèse.
7. Mettre l'unité hors tension.
8. Retirer le couvercle de l'électrophorèse, débrancher les électrodes et retirer le support d'électrodes

Tableau VI: Les valeurs de l'alimentation électrique de l'IEF.

Trousse	Watts	Intensité	Volts	Temps (min) approximatif
FR-9360	10	75Ma	500	90

- Fixation et lavage des gels

Préparer une solution de TCA (acide trichloracétiques) à 7,67% (le volume utilisé pour la fixation est de 300ml).

Immédiatement après la focalisation, retirer les mèches et immerger le gel dans une solution de TCA à 7,67% pendant 10 minutes à l'aide de la plate-forme à balancement. Tremper ensuite le gel dans 500 ml d'eau distillée ou déionisée (changer l'eau au moins une fois) sous l'effet de la plate-forme à balancement. Si le gel n'est pas coloré, le faire tremper pendant au moins une heure ; s'il doit être coloré le faire tremper pendant environ 15 minutes. Les gels doivent être suffisamment rincés pour être claire.

- Coloration des gels

En fonction de l'application utilisée, il peut être nécessaire de colorer les gels à l'aide par exemple, du système de coloration JB-2 (tableau VII). La coloration se fait sur les gels humides.

Tableau VII: Préparation de la solution de coloration du système de coloration JB-2 pour FR9360

Coloration de gel	Tampon du colorant	Activateur du	Eau distillée
JB2 concentré	JB2	colorant JB2	
18ml	10ml	2ml	220ml

Après rinçage qui suit la fixation, immerger le gel dans une solution de colorant sous l'effet de la plate-forme à balancement pendant 7 minutes. Tremper ensuite le gel dans 500ml d'eau distillée ou désionisée pendant 60minutes (changer l'eau au moins deux fois à raison de 20minutes pour chaque rinçage) toujours sous l'effet de la plate-forme à balancement)

- Lecture des résultats

La lecture visuelle des gels est une procédure générale, pouvant être appliquée à la fois aux gels humides et séchés. Les gels sont généralement séchés pendant une nuit à une température de 55 °C à l'étuve.

- Analyse des résultats

Le diagramme de la figure 24 facilite l'identification des cas d'hémoglobinopathies lors de l'IEF. D'autres directives pour l'interprétation des résultats sont fournies dans le guide de séparation et d'identification des variétés d'hémoglobine par électrophorèse d'IEF [77]. Cet ouvrage contient une vaste liste de conditions normales et anormales et présente les gels correspondant à des échantillons de différentes variétés d'hémoglobine.

Il est strictement recommandé de faire migrer un contrôle d'hémoglobine contenant les variétés Hb A, F, S et C en différents points du gel pour disposer de marqueurs de position. Si d'autres variétés d'Hb telles que Hb G, E, H, D et Bart's sont identifiées, des contrôles de positions supplémentaires, si disponibles, sont recommandés pour une identification plus exacte. Comme les variétés d'Hb se séparent en fonction des pHi, la confirmation d'une variété provoquant des hémoglobinopathies nécessite un dosage par un séquençage des acides aminés, une HPLC ou une spectrométrie de masse.

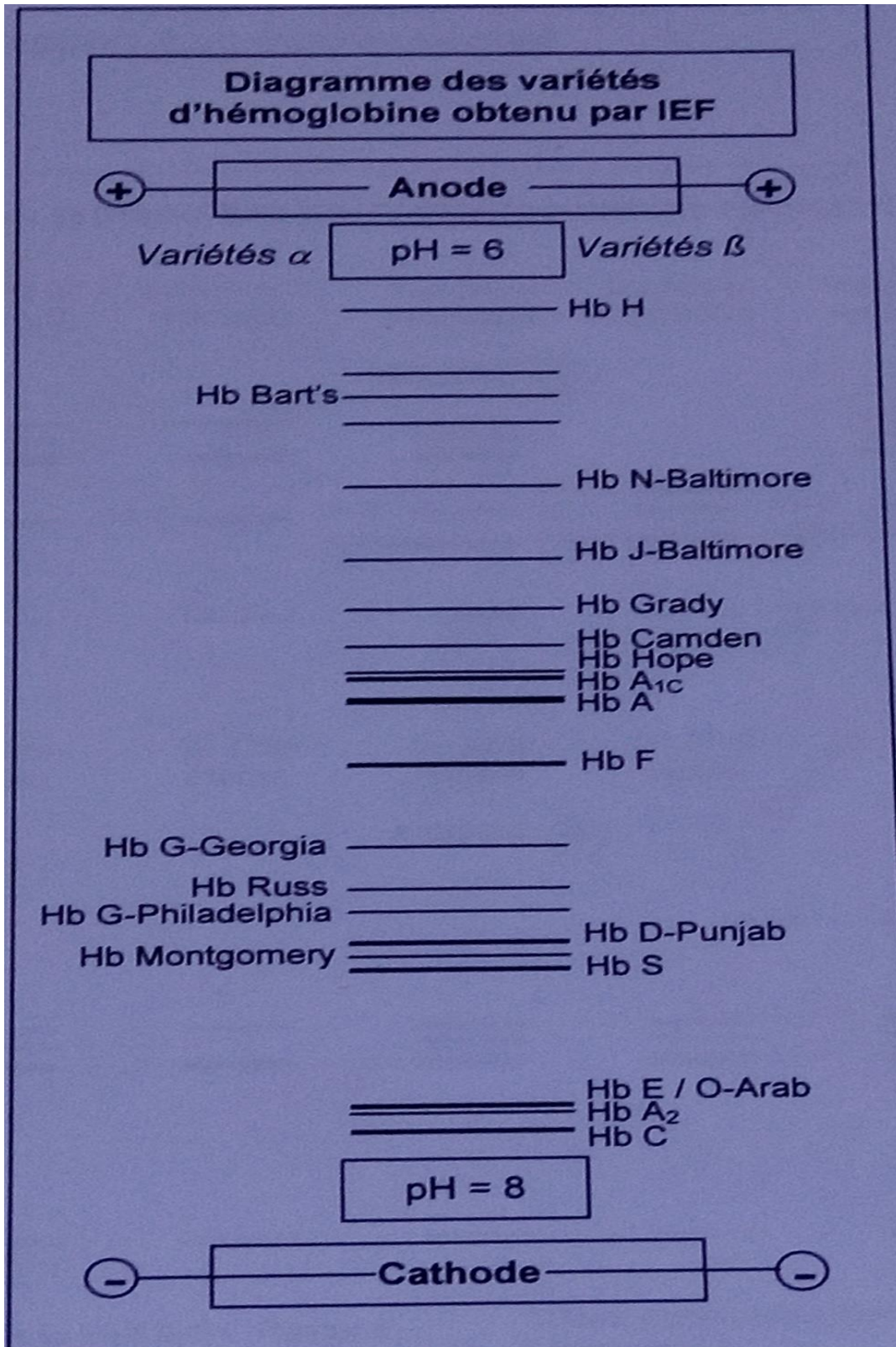


Figure 23: Diagramme des variétés d'hémoglobine obtenue par IEF [77]

2.6. Matériels et méthode de la PCR [113]

La PCR est une technique d'amplification enzymatique qui permet à partir d'un fragment d'ADN d'obtenir un grand nombre de copies identiques de ce même fragment. Et à partir de là, retrouver le gène responsable de la maladie. Il existe plusieurs techniques. Pour les besoins de l'étude nous avons utilisé la technique du KIT de la « Mutation S et C de l'hémoglobine humaine LAMP »

2.6.1. Compositions du Kit LAMP

Le KIT de la Mutation S et C de l'hémoglobine humaine LAMP contient 5 flacons (figure 25). Ces flacons ont été établis en 1982 comme la première biotechnologie au Japon.

- Un flacon noir (NIPPON GENE),
- Un flacon vert (contrôle négatif),
- Un flacon rouge (contrôle positif) et
- Deux flacons jaunes (tampon de lyse).

Pour chaque analyse les contrôles positif et négatif doivent être inclus pour surveiller les performances du test.

Le contrôle positif est essentiel pour évaluer l'efficacité de la procédure. Il permet de vérifier la qualité des réactifs (par exemple : intégrités des sondes et des amorces, activités enzymatique). Le contrôle positif consiste en un ADN plasmidique contenant la séquence mutée Hb S et Hb C et la séquence de type sauvage Hb A (tableau VIII).

Le contrôle négatif est essentiel pour détecter les réactifs contaminés ou la contamination de l'environnement par les acides nucléiques. Le contrôle négatif est une eau de qualité PCR et ne devrait générer ni amplification ni pics de la courbe de fusion.

Les kits sont expédiés congelés, arriver congeler et doivent être conservés congelés à -20°C

Ne soumettez pas les réactifs a plus de 8 jours de congélation.

Une fois ouvert, nos kits peuvent être conservés pendant 12 semaines à la température de 2 à 8°C ou jusqu'à la date de péremption à -20°C. Ne recongeler pas les réactifs conservés à 4°C.

Réduisez l'exposition des réactifs à la lumière.

La machine de la PCR a une autonomie électrique de 3 heures de temps.

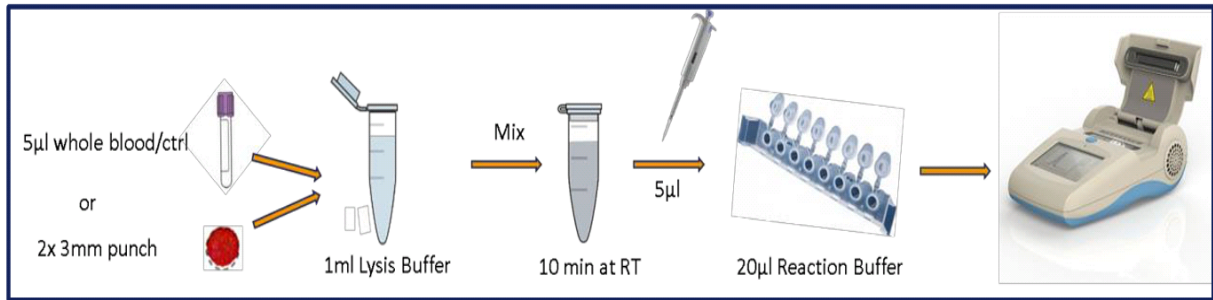
En plus du Kit, il y'a du matériel accessoire indispensable à la réalisation du test (figure 26).



Figure 24: KIT de la Mutation S et C de l'hémoglobine humaine LAMP

Tableau VIII: Les réactifs de la PCR

Nom	Description	Nombre de tube	Volume	Couleur de l'étiquette
1. LC-HbS/C-LB	Tampon de lyse	1	12000 μ L	Jaune
1. LC-HbS/C-LB	Tampon de lyse	1	12000 μ L	Jaune
2. LC-HbS/C-RB	Réaction Buffer	1	480 μ L	Noire
3. LC-HbS/C-Ctrl+	Positive Control	1	30 μ L	Rouge
4. LC-HbS/C-Ctrl-	Négative Control	1	30 μ l	Vert



Laboratory equipment and disposables

- LC-Genie III v3.17
- Micropipettes
- Timer
- Microcentrifuge tubes 1.5ml (DNA free)
- Optional: Vortex mixer
- Minicentrifuge

Figure 25: Machine de PCR et matériel accessoire indispensable à la réalisation du test

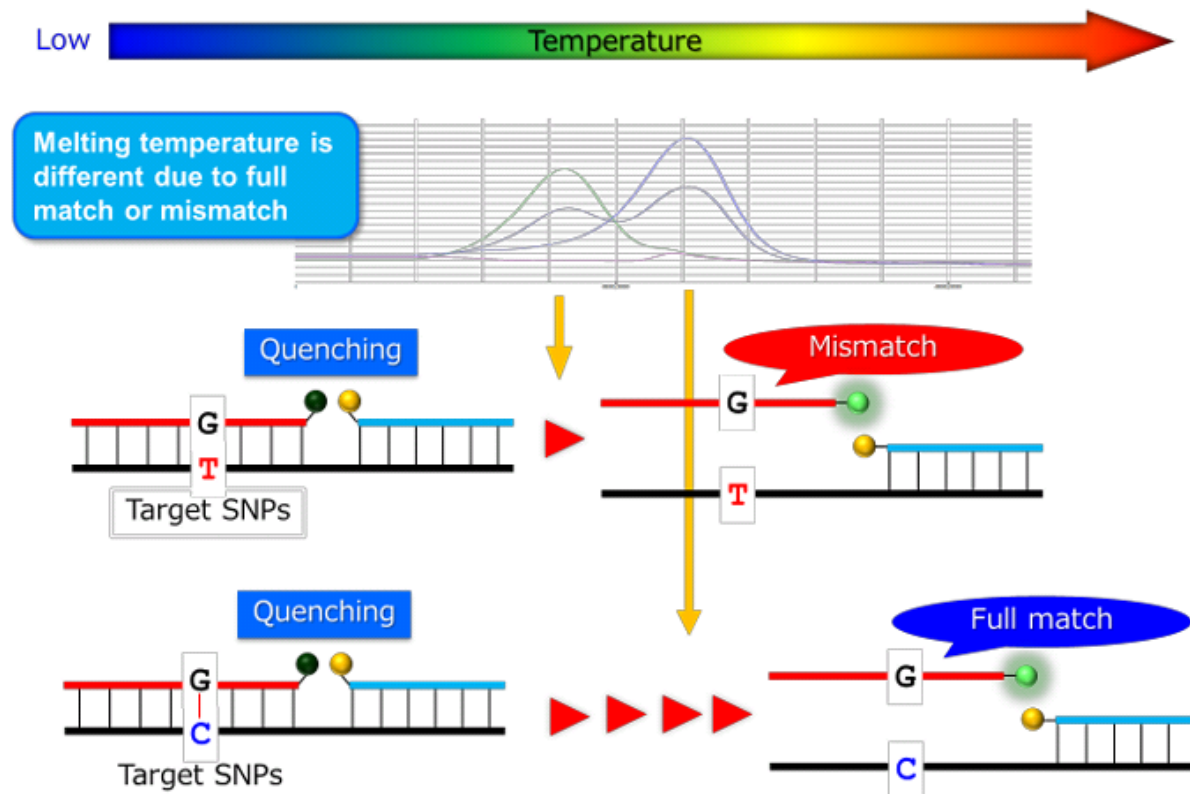
(REF LC-HbS/C-LP-24)

2.6.2. Principe du LAMP

Le Kit LAMP contient 6 amorces spécifiques permettant l'amplification en boucle d'une région spécifique entourant les polymorphismes. Chaque séquence cible amplifiée est détectée par une sonde spécifique de la mutation Hb S par détection de l'extinction de la fluorescence. Après amplification, la température est diminuée et la sonde hybride le fragment amplifié, amenant le fluorochrome et l'extincteur à proximité, entraînant une atténuation de la fluorescence. Au cours de l'analyse de la courbe de fusion, la température est augmentée progressivement tandis le changement de l'émission de fluorescence est mesuré. Etant donné que l'Hb C amplifiée ou le fragment d'ADN de type sauvage ne correspond pas parfaitement à la sonde spécifique de la mutation Hb S, la sonde sera libérée à une température plus basse à partir de fragments d'ADN de type Hb C et sauvage que pour le fragment d'ADN amplifiée de l'Hb S. Par conséquent le changement de fluorescence sera observé à une température plus basse ce qui permettra de faire la différence entre Hb S, Hb A et Hb C (figure 27).

Les 6 types d'amorces se sont conçus pour hybrider des régions distinctes entourant le polymorphisme : les amorces FIP et F3 du coté 3' et les amorces BIP et B3 du coté 5'. De plus, il existe deux amorces de boucle : l'amorce de boucle F et l'amorce de boucle B (tableau IX).

Principle of melting curve analysis:



In the LAMP Human Hemoglobin S/C KIT the probe has been designed to hybridize HbS mutated DNA fragment.

Figure 26: Principe de l'analyse de la courbe de fusion [113].

Tableau IX: Les 6 types d'amorce

FIP	L'amorce interne avant (FIP) comprend la région F2 (à l'extrémité 3') complémentaire de la région F2c et la même » séquence que la région F1c à l'extrémité 5'
F3 PRIMER	L'amorce externe avant comprend la région F3 complémentaire de la région F3c
BIP	Amorce interne arrière (BIP) comprend la région B2 (à l'extrémité 3') complémentaire de la région B2c et la même » séquence que la région B1c à l'extrémité 5'
B3 PRIMER	L'amorce externe arrière comprend la région B3 complémentaire de la région B3c
LOOP PRIMER F	Séquence complémentaire de la région de boucle simple brin entre les régions F1 et F2
LOOP PRIMER B	Séquence complémentaire de la région de boucle simple brin entre les régions B1 et B2

2.6.3. Mode opératoire

Il faut toujours vérifier si tout le matériel est au complet. Ensuite suivre les recommandations suivantes avant de commencer :

- Manipuler le tampon de réaction dans une zone éloignée ou au moins séparer de la salle d'amplification.
- Décongeler les réactifs et les échantillons à la température ambiante.
- Avant de préparer la réaction, vortexer brièvement et centrifuger brièvement toutes les solutions du kit après décongélation.
- Effectuer toutes les étapes le même jour.
- Le fait de garder des échantillons lysés à température ambiante pendant une longue période peut entraîner une dégradation des acides nucléiques, et par conséquent, réduire l'efficacité de la LAMP.

La première étape consiste à préparer la solution « échantillon lysé »

- Pipeter de haut en bas pour homogénéiser le tampon de lyse (LC-HbS /C-LB).
- Distribuer 1000µL de tampon de lyse (LC-HbS /C-LB) dans les micro tubes de 1,5ml.
- Ajouter un morceau de 3 à 5 mm de la carte de sang séché dans le tampon de lyse.
- Vortexer pour homogénéiser et attendre 10 minutes à température ambiante.
- Vortexer deux ou trois fois pendant ces 10 minutes.
- Utilisez cette solution comme « échantillon lysé »

La deuxième étape est la préparer des contrôles positif et négatif comme suit :

- Distribuer 1000µL de tampon de lyse (LC-HbS /C-LB) dans deux micro tubes de 1,5ml
- Ajouter 5µl de contrôle positif (LC-HbS /C-Ctrl +) et 5µl de contrôle négatif (LC-HbS /C-Ctrl -) au tampon de lyse.
- Vortexer pour homogénéiser et incubé pendant 10 minutes à température ambiante.

- Utiliser ces 2 solutions comme « contrôles de réaction »

La troisième étape est la préparation de la réaction de la LAMP comme suit :

- Ajouter 5µl de « spécimen lyse ou contrôle de la réaction » au 20µl de tampon de la réaction (LC-HbS /C-RB) précédemment distribués dans les bandelettes de 0,2ml de LC-Genie sur une bandelette tubulaire.
- Éviter la formation de bulles lors du pipetage.
- Fermer correctement les tubes avec bouchons.
- Charger le tube sur le système adapté de la machine LC-Génie et fermer le couvercle.
- Afin de valider une analyse, les contrôles positif et négatif doivent être inclus dans chaque analyse.

La configuration du système de la machine LC-Genie III

- Lire et suivre les instructions du manuel LC-Genie III fourni avec la machine LC-Genie III avant de la configurer.
- Allumer l'instrument LC-Genie III à l'aide de l'interrupteur situé à l'arrière de l'instrument.

Insertion des tubes appuyez sur le bouton situé à l'avant de l'appareil et le couvercle doit s'ouvrir vers le haut.

- Fermer le couvercle après avoir déposé la bande, en abaissant et en appuyant fermement.
- Utilisez uniquement les bandelettes LC-Genie
- Recommandées, les autres tubes et barrettes ne vous iront pas.

2.6.4. Interprétation des résultats

Une fois l'exécution terminée, une présentation graphique des résultats est disponible dans l'onglet « détecter ». Les températures de fusion correspondant aux pics qui sont présentées dans l'onglet « résultats ». Dans l'onglet « interpréter », les résultats sont interprétés et un génotype suggéré est donné.

Le génotype final doit toujours être basé sur le génotype suggéré, associé à la présentation graphique des résultats (figure 28, tableau X, tableau XI).

Les contrôles positif et négatif sont automatiquement vérifiés pour un résultat valide.

Lorsque le résultat n'est pas valide pour l'un des contrôles, le logiciel bloque les résultats des échantillons et indique en rouge le contrôle non valide.

Remarques :

Aucun génotype ne devrait être accepté sans contrôle visuel de la courbe de fusion.

Les échantillons dont la température de fusion est en dehors des critères (un ou plusieurs pics sous le niveau seuil ; pics mal séparés ou plus de deux pics) sont considérés comme non valide.

Il est possible de créer un rapport PDF contenant toutes les informations sur les analyses et les résultats en cliquant sur le bouton PDF dans la fenêtre « interpréter ». Le rapport est enregistré dans le dossier « RAPPORT » ou sur une clé USB inséré dans la machine.

Les températures de fusion des pics peuvent être exportées au format CSV en cliquant sur le bouton CSV dans la fenêtre « interpréter ». Le fichier est enregistré dans le dossier « REPORT ». Ce fichier peut être utilisé pour une importation dans Excel pour une analyse plus approfondie des températures de fusion, le cas échéant.

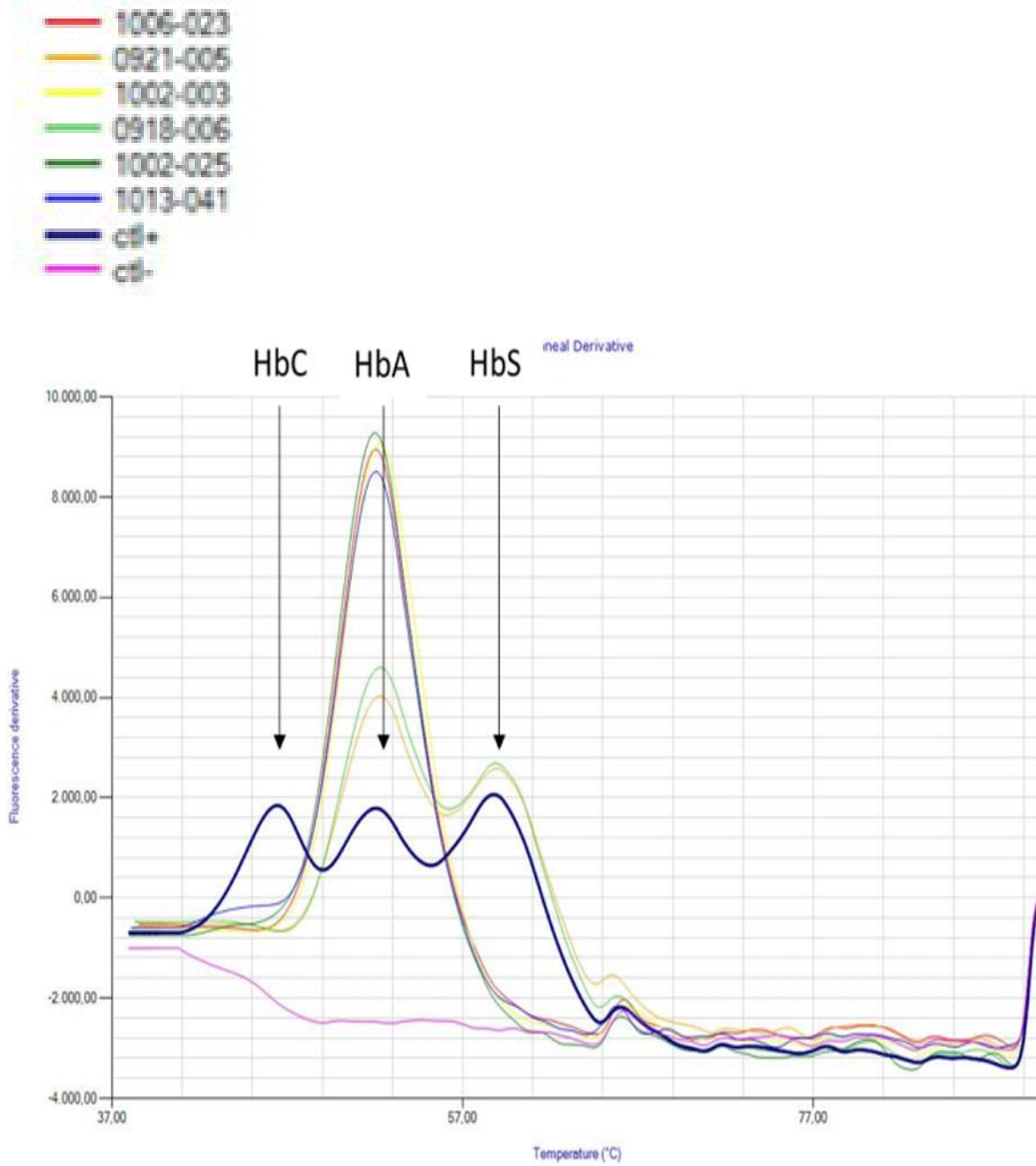


Figure 27: Interprétation des résultats [113].

Tableau X: Température de fusion et niveau de fluorescence pour l'interprétation d'échantillons de sang frais et séché.

Echantillons	Peaks-tm(°C)	Niveau de fluorescence fluorescence
Positive control	46.4+/-1°C	Up500
	52.0+/-1°C	Up500
	58.7+/-1°C	Up500
Negative control	Pas de peak sur le seuil	Pas de peak sur le seuil

Tableau XI: Génotypes selon la température de fusion et du niveau de fluorescence pour les échantillons de sang frais et séché

Genotype	Peaks – Tm (°C)	Niveau de fluorescence
HbA/HbC	46.6 +/- 1°C	Up 500
	52.1 +/- 1°C	Up 500
HbA/HbS	52.1 +/- 1°C	Up 500
	59.1 +/- 1°C	Up 500
HbS/HbC	46.6 +/- 1°C	Up 500
	59.1 +/- 1°C	Up 500
HbS/HbS	59.1 +/- 1°C	Up 500
HbA/HbA	52.1 +/- 1°C	Up 500

3. Collecte et paramètres étudiés

Les données ont été recueillies à partir d'une fiche d'enquête (annexe) établie à cet effet. Sur cette fiche, ont été précisé :

- Les données épidémiologiques ; sociodémographiques et économiques
 - L'âge de l'enfant déterminé à partir d'un document officiel (extrait de naissance, carnet d'accouchement, carnet de vaccination) ;
 - Le sexe, l'ethnie et l'origine géographique de l'enfant (Ziguinchor ou hors commune de Ziguinchor)
 - La consanguinité parentale et le niveau socioéconomique (NSE) de la famille, déterminé grâce à un score calculé à partir d'un logiciel (R). Les paramètres analysés par le logiciel étaient les biens de la famille (télévision, frigo, voiture, téléphone, maison personnelle), l'accès à l'eau et à l'électricité et la profession des parents. Ainsi on distingue trois groupes :
 - Groupe 1 ou NSE bas, lorsque le score se situe entre -2 et -0,5
 - Groupe 2 ou NSE moyen, lorsque le score se situe entre -0,5 et 1
 - Groupe 3 ou NSE bon, lorsque le score se situe entre 1 et 2
- Les données cliniques
 - Les antécédents
 - Les circonstances de découverte
 - Le syndrome d'hémolyse
- Les données biologiques
 - L'hémogramme
 - La PCR
 - L'Iso électrofocalisation.

4. Analyse et saisie des données

Les données ont été saisies à l'aide du logiciel Microsoft Access. Le traitement des données a été effectué grâce au logiciel Epi Info version 6 de la CDC.

Les variables ont été analysées en déterminant les caractéristiques suivantes : fréquence, moyenne, minimum, maximum et pourcentage.

L'analyse statistique des relations a été effectuée grâce au test khi-deux et de Fischer. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

5. Résultats

Durant la période d'étude, 286 échantillons ont été manipulés dont 59 étaient non interprétable. Au terme de l'étude, 227 échantillons d'enfants ont été retenus.

5.1. Données épidémiologiques sociodémographiques et économiques

5.1.1. Répartition des enfants selon le sexe

L'échantillon est composé de 121 garçons (53,3%) et 106 filles (46,7%). Le sex-ratio était de 1,14 (Figure 29). On note donc une légère prédominance masculine.

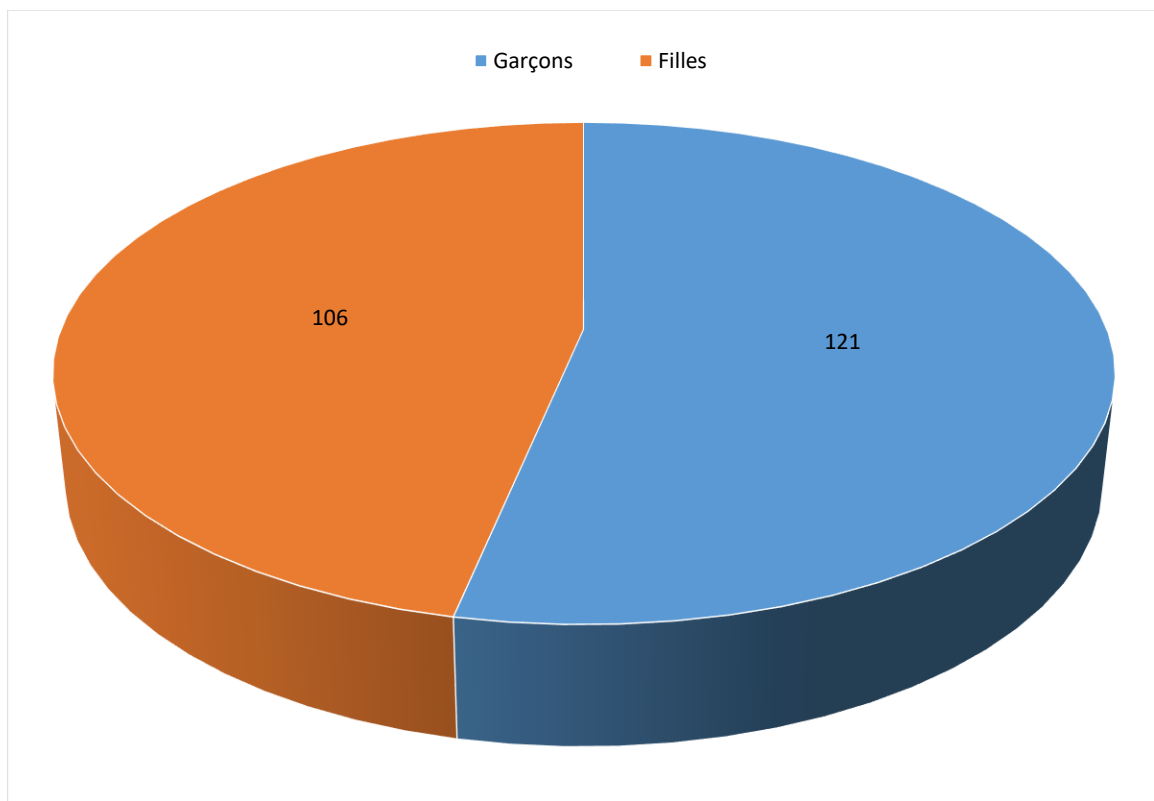


Figure 28: Répartition selon le sexe des enfants de la population

5.1.2. Répartition des enfants les groupes d'âge

L'âge moyen des enfants était de 7 ans avec des extrêmes allant de 04 mois à 15 ans. L'écart type de l'âge était 4ans. La majorité des enfants (77,5%) étaient âgés de moins de 10 ans. La tranche d'âge 5-10 ans a été la plus représentative (figure 30).

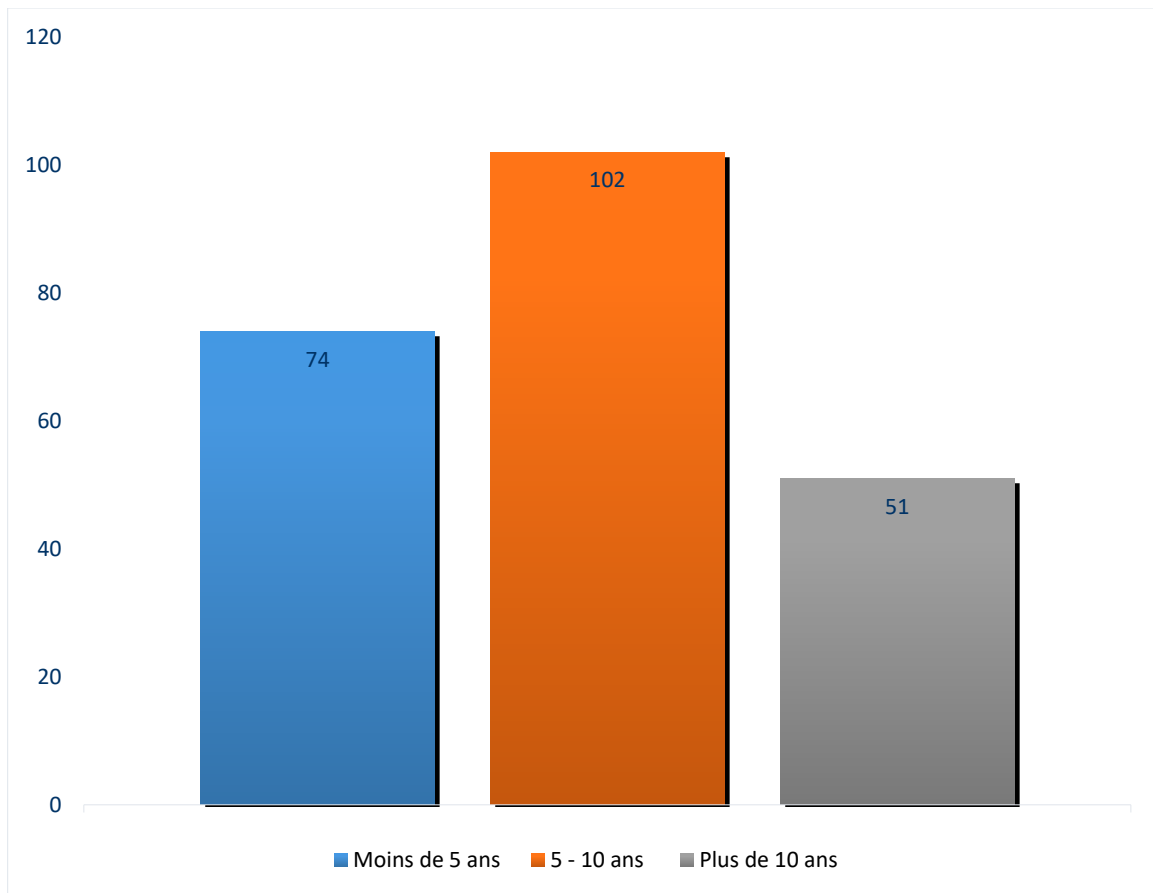


Figure 29: Répartition des enfants selon les groupes d'âge

5.1.3 Répartition des enfants selon le groupe ethnique

Dans notre étude, l'ethnie la plus représentée a été les diolas avec 64 cas, soit 33% (figure 31).

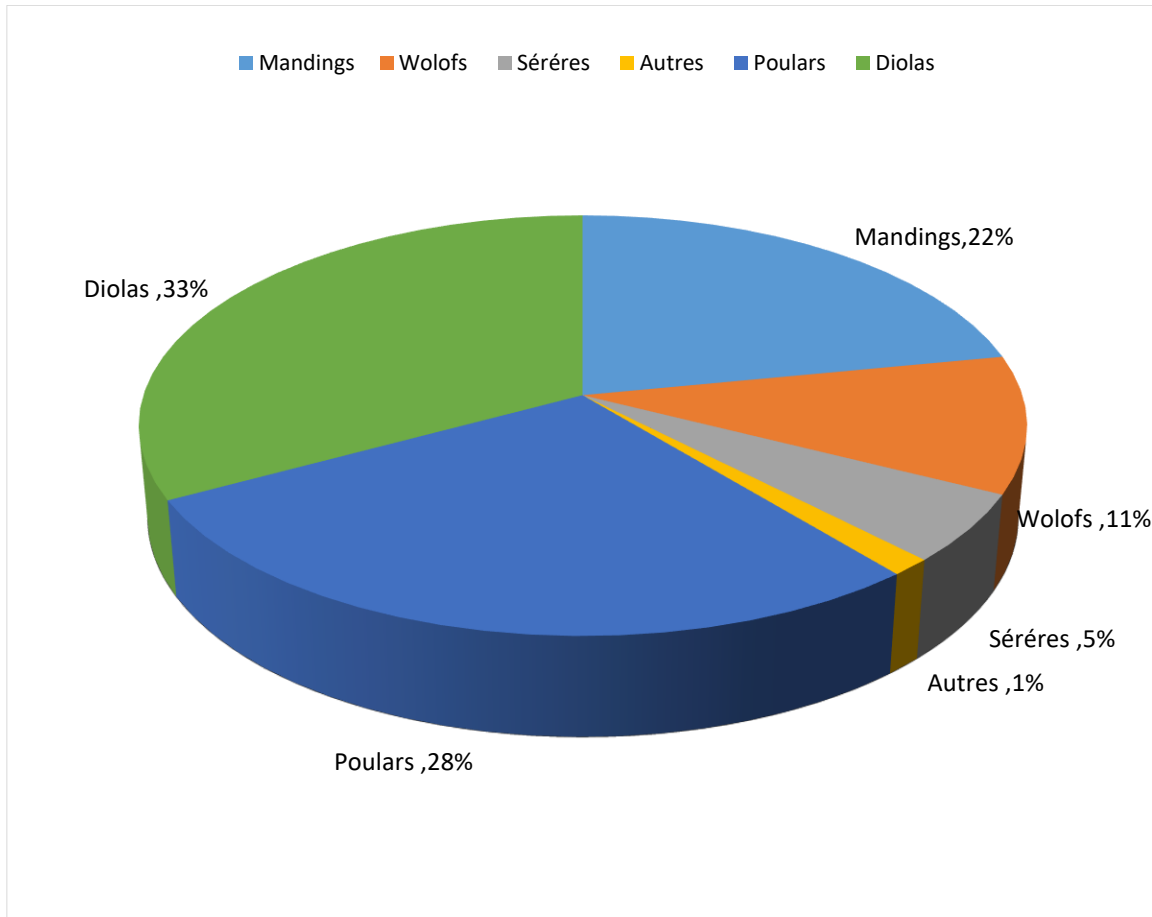


Figure 30: Répartition des enfants selon le groupe ethnique

5.1.4 Répartition des enfants selon l'origine géographique de la mère

La majeure partie des enfants provenait de la commune de Ziguinchor (Figure 32). Environ ¼ des patients venaient des régions comme Sédhiou, Kolda et de la sous-région (Guinée, Gambie...).

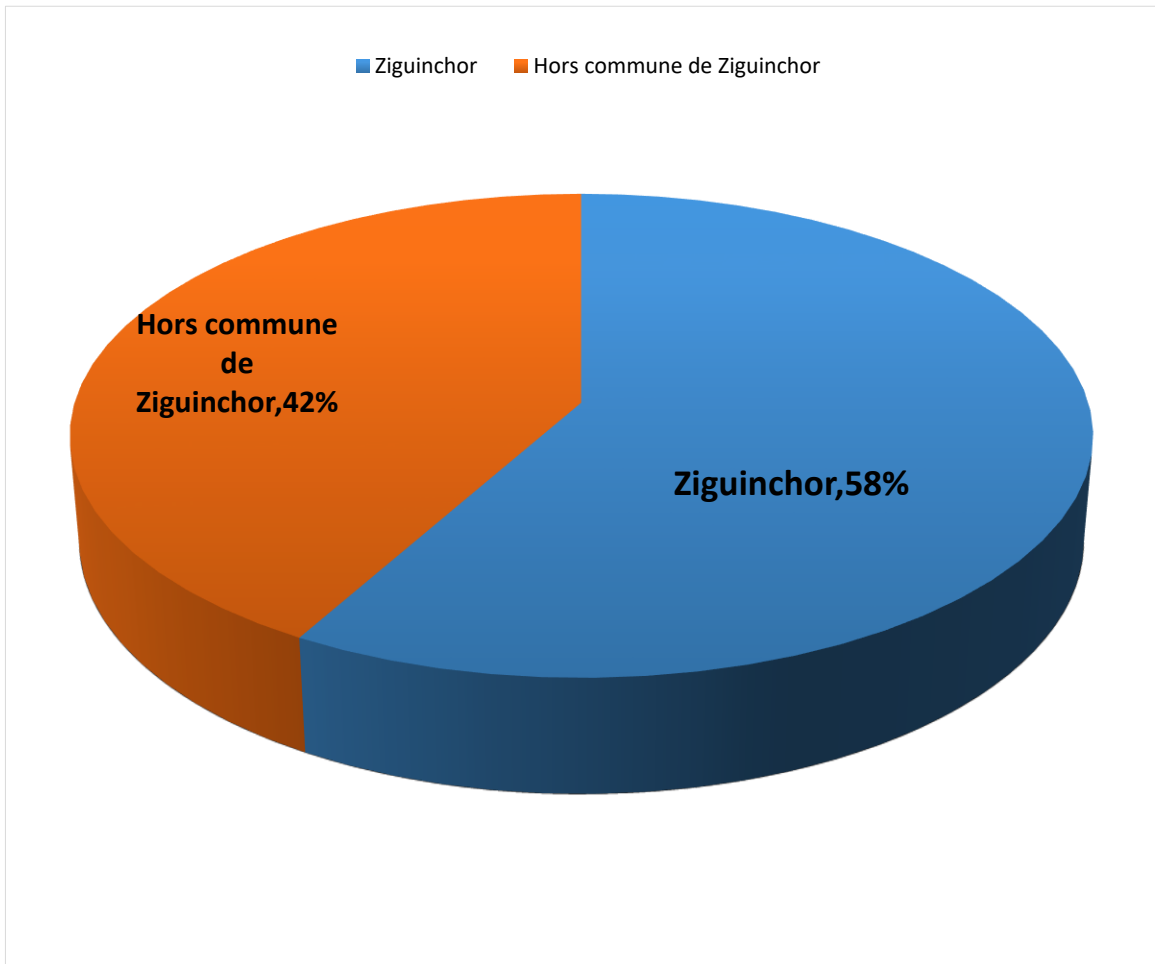


Figure 31: Répartition des enfants selon l'origine géographique

5.1.5. Répartition des enfants selon l'existence d'une consanguinité entre les parents

Soixante-trois (63) enfants étaient issus d'un mariage consanguin.

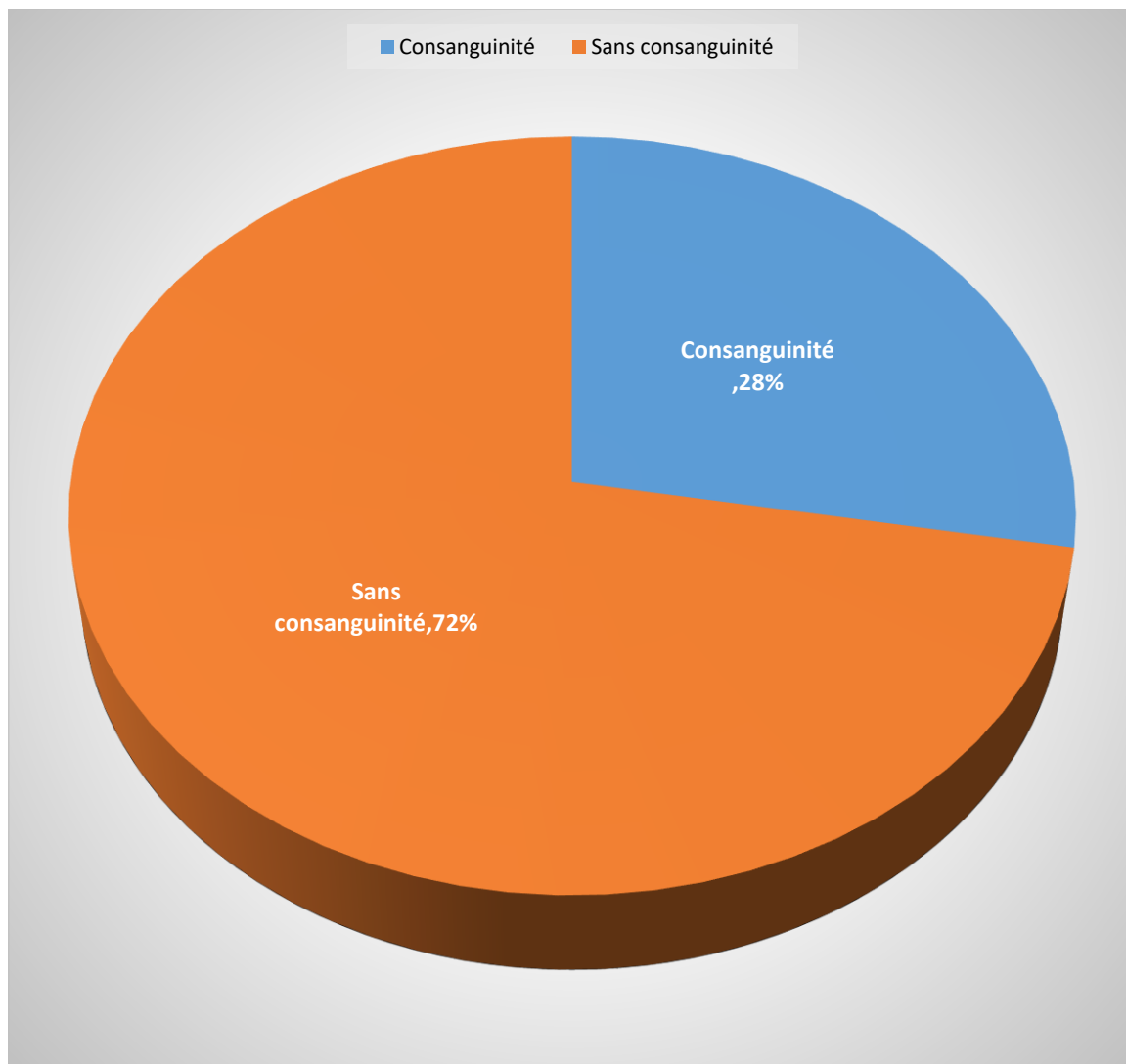


Figure 32: Répartition des enfants selon l'existence d'une consanguinité entre les parents

5.1.6. Répartition des enfants selon le niveau socioéconomique des familles

Le niveau socioéconomique des familles était bas dans environ 2/3 des cas.

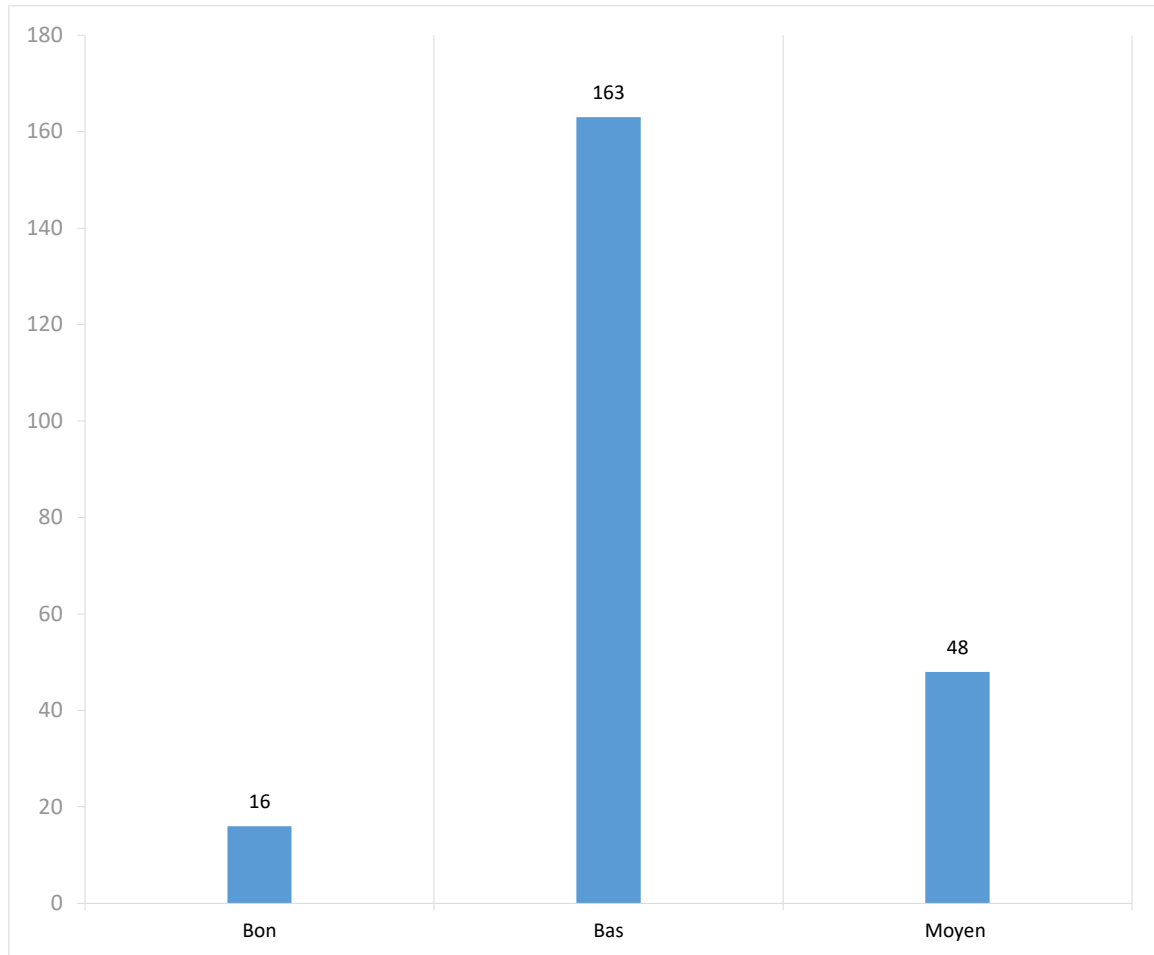


Figure 33: Répartition des enfants selon le niveau socioéconomique des familles

5.2. Données cliniques

5.2.1. Répartition des enfants selon les circonstances du diagnostic

Plus de la moitié (59%) des enfants présentait des symptômes cliniques.

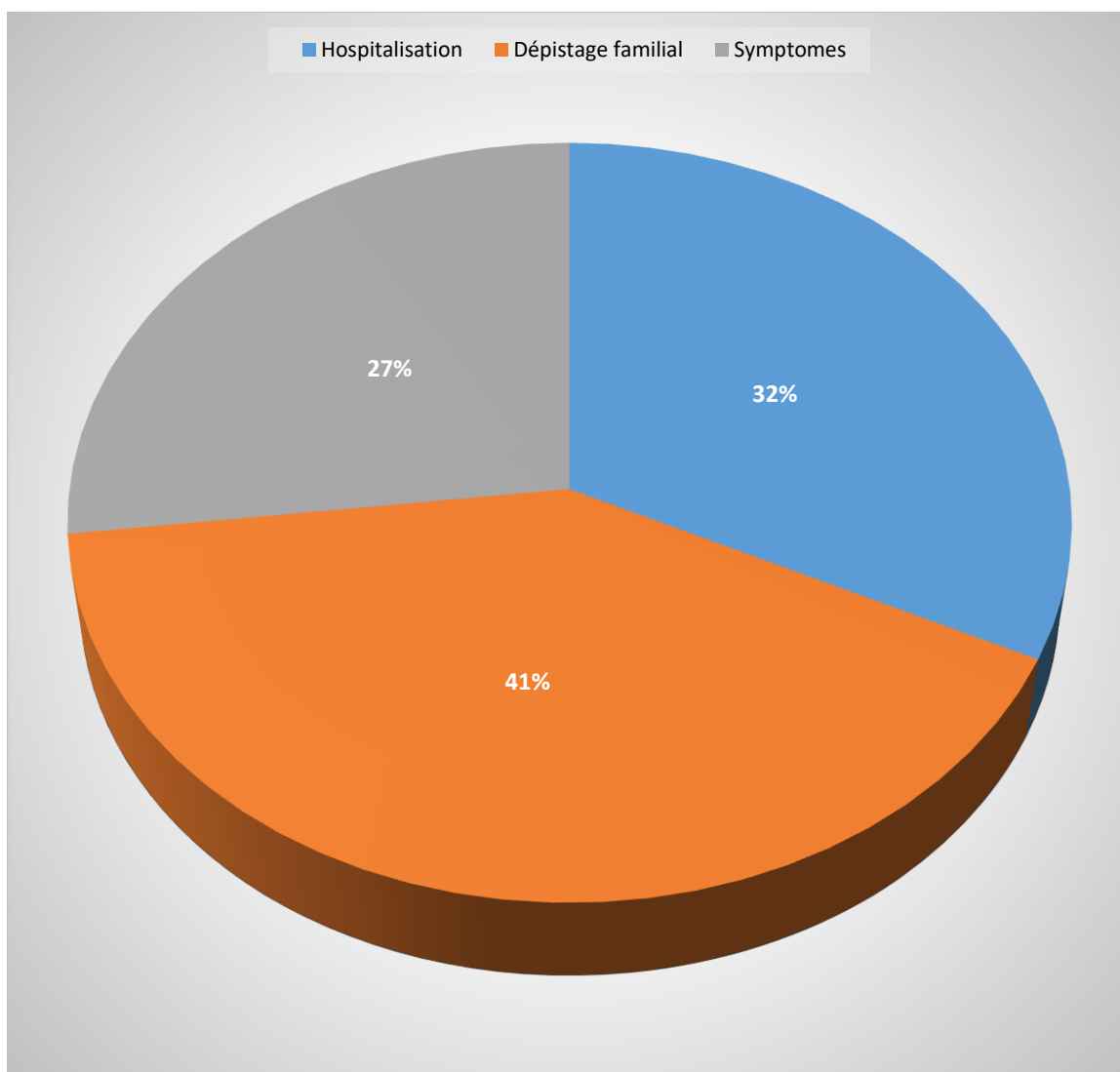


Figure 34:Répartition des enfants selon les circonstances du diagnostic

5.2.2. Répartition des enfants selon les antécédents et les signes cliniques

Plus de la moitié (119 soit 52,4%) des enfants avait des crises douloureuses osseuses et/ou abdominales. Quinze (15) malades avaient été transfusés dans les trois mois qui précèdent le diagnostic biologique. (Tableau XII)

Tableau XII: Répartition des enfants selon les antécédents et les signes cliniques

Antécédents/symptômes	Effectif	Pourcentage
Hospitalisation	41	18,1
Transfusion	15	06,6
Syndrome pied-main	31	13,7
Autre crise vaso-occlusive	88	38,8
Hémolyse chronique	118	52,0

5.3. Données biologiques

5.3.1. Répartition des enfants selon la validité des tests de l'IEF et de la PCR

Deux cent vingt-sept (227) échantillons au total étaient valides pour les deux techniques

Tableau XIII: Répartition des enfants selon la validité des résultats du test

Echantillon manipulé	PCR		IEF	
	Valide	Non interprétable	Valide	Non interprétable
Sang total	80	00	00	00
Sang séché	147	00	227	59
Total	227	00	227	59

5.3.2. Répartition des enfants selon le type d'échantillon manipulé et selon la technique

Tous les échantillons ont été manipulés à partir du sang séché pour l'IEF et environ les 2/3 (147) des échantillons ont été manipulés à partir du sang séché pour la PCR.

Tableau XIV : Répartition des enfants selon le type d'échantillon et selon la technique.

Echantillon manipulé	PCR		IEF	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Sang total	80	35,2	0	00
Sang séché	147	64,7	227	100
Total	227	100	227	100

5.3.3. Répartition des enfants selon les résultats de la PCR comparer à l'IEF

On notait une corrélation entre les résultats des deux techniques utilisées.

Sur les 227 échantillons inclus (TE positif), il y'avait 10 échantillons de faux positif. C'est-à-dire TE positif, alors qu'à la PCR et à l'IEF, on obtenait un profil AA et AC.

Tableau XV: Répartition des enfants selon les résultats de la PCR et de l'IEF

Effectif	Pourcentage	PCR	IEF
116	51	SS	SS
98	43	AS	AS
09	04	AA	AA
01	00	AC	AC
03	01	SC	SC

5.3.4. Répartition des enfants selon la concordance entre les deux techniques

On notait une concordance dans 100% des cas entre l'IEF et la PCR

Tableau XVI: Concordance des résultats entre PCR et IEF selon le phénotype

Profil	Effectifs à la PCR	Effectifs à l'IEF	Concordance des résultats en %
SS	116	116	100
AS	98	98	100
AA	09	09	100
AC	01	01	100
SC	03	03	100

5.3.5. Comparaison des deux techniques selon les autres paramètres

Le délai de temps d'une manipulation est plus court pour la PCR comparé à l'IEF.

Tableau XVII: Comparaison des 2 techniques selon le coût des réactifs, la durée et le nombre d'échantillons par manipulation.

	PCR	IEF
Nombre d'échantillon par manipulation	6 échantillons	68 échantillons
Durée moyenne de la manipulation	1 heure	2 heures
Prix unitaire d'un kit (franc CFA)	4500	3600
Prix total d'une manipulation (franc CFA)	27 000	244 800

5.3.6. Répartition des enfants selon la valeur du taux des globules blancs

L'hyperleucocytose supérieure à 10 000 leucocytes/mm³ était retrouvée chez 135 malades (soit 59,5%).

Tableau XVIII: Répartition des enfants selon la valeur du taux des globules blancs

GB (éléments/mm ³)	Effectif	Pourcentage
Inférieur à 5 000	09	04
5 000 – 10 000	83	36,6
10 000 – 15 000	49	21,6
Plus de 15 000	86	37,9
Total	227	100

5.3.7. Répartition des enfants selon la valeur du taux d'hémoglobine

Cent soixante-cinq (165) enfants (soit 72,7%) au total présentaient une anémie avec un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl. L'anémie était normocytaire dans 57,5% des cas (n = 95) et microcytaire dans 42,4% des cas (n = 70). Elle était normochrome dans 69,7% des cas (n = 115) et hypochrome dans 30,9% des cas (n = 51). L'anémie était régénérative dans 71,5% des cas (n = 118) et arégénérative dans 28,5% des cas (n = 47).

Tableau XIX: Répartition des enfants selon la valeur du taux d'hémoglobine

Hb (g/dl)	Effectif	Pourcentage
Inférieur à 5	15	06,6
5 – 8	125	55,1
8 – 10	25	11
Supérieur à 10	62	27,3
Total	227	100

5.3.8. Facteurs associés aux phénotypes

Le phénotype de l'enfant était significativement associé à la valeur du taux d'hémoglobine.

Avec une Valeur de p du profil SS en fonction du taux d'Hb = 0,00.

77 cas de phénotypes SS avaient un taux inférieur à 8 g/dl d'Hb.

Tableau XX: Répartition des phénotypes selon le taux d'hémoglobine

Phénotype Hb (g/dl)	AA	AC	AS	SC	SS	Total
Inférieur à 5	00	00	00	00	14	14
5 – 8	01	00	10	00	63	74
8,1 – 10	04	00	42	01	35	82
Supérieur à 10	04	01	46	02	04	57
Total	09	01	98	03	116	227

Tableau XXI: Répartition des phénotypes selon la tranche d'âge

Phénotype Age	AA	AC	AS	SC	SS	Total
Moins 5 ans	05	00	31	01	37	74
5 – 10 ans	02	01	41	01	57	102
11 – 15 ans	02	00	26	01	22	51
Total	09	01	98	03	116	227

Valeur de p du profil SS en fonction de la tranche d'âge = 0,7269

Tableau XXII: Répartition des phénotypes selon le sexe

Phénotype Sexe	AA	AC	AS	SC	SS	Total
Masculin	04	01	48	03	65	121
Féminin	05	00	50	00	51	106
Total	09	01	98	03	116	227

Valeur de p du profil SS en fonction du sexe = 0,8100

6. Discussion

6.1. Population d'étude et échantillon

Notre travail s'intègre dans le cadre d'une étude comparative de deux techniques de diagnostic de la drépanocytose chez les enfants. Elle vise à comparer la technique moléculaire à l'iso électrofocalisation dans le diagnostic de la drépanocytose.

Notre population d'étude était constituée d'enfants de la région naturelle de la Casamance. Cette région est caractérisée par des conditions socio sanitaires défavorables et une inaccessibilité géographique. Le laboratoire de l'hôpital de la paix, en collaboration avec le laboratoire du CERPAD, a mis en place cette étude. L'objectif final est de valider la méthode moléculaire dans le laboratoire de l'hôpital de la Paix de Ziguinchor sur des échantillons caractérisés par une méthode de référence qu'est l'IEF. Notre étude portait sur 227 échantillons. Cet échantillon était assez significatif, comparé à d'autres études [3, 114]. En France, 6 laboratoires regroupés sous la forme d'un réseau « Pathologie héréditaire de l'érythrocyte » ont effectué des analyses moléculaires spécialisées pour le diagnostic génotypique des hémoglobinopathies [114].

Au Mali, 42 échantillons venant de sujets drépanocytaires ont été traités par les techniques de l'électrophorèse et celle de la PCR [3].

Notre échantillonnage assez significatif pourrait s'expliquer par le fait qu'à Ziguinchor, l'opportunité de cette étude a permis d'enregistrer plus de cas.

6.2. Données épidémiologiques sociodémographiques et économiques

6.2.1. Sexe

La prédominance était légèrement masculine dans notre étude, mais la répartition était assez équilibrée dans les deux sexes. Nous avons retrouvé un sex-ratio de 1,14 pas loin de celui rapporté par DIAGNE et coll et celui rapporté par Dème et coll au Sénégal [115, 116].

Cependant la transmission de la drépanocytose n'est pas liée au sexe, les différences observées dans chaque étude seraient liées aux données démographiques de chaque pays.

6.2.2. Âge

Dans notre cohorte, l'âge moyen au moment du diagnostic de la drépanocytose était de 7 ans. Presque comme l'âge moyen retrouvé par Dème à Dakar, qui avait retrouvé un âge moyen de 6 ans au moment du diagnostic de la drépanocytose [116].

En outre, la majorité de nos patients (77,5%) étaient âgés de moins de 10 ans. La tranche d'âge des 5-10 ans étaient la plus représentée comme dans l'étude d'Adegoke [117]. Elle correspond à la période où la fréquence de CVO osseuse et/ou abdominale augmente.

Ces résultats témoignent du diagnostic tardif et donc du suivi tardif avec une morbi-mortalité élevé de la drépanocytose dans notre contexte.

6.2.3. Ethnie, consanguinité et niveau socio-économique

Les résultats de notre étude montrent une diversité ethnique au niveau de la région naturelle de la Casamance avec une prédominance de diola (33%) suivie de poular (28%) et de mandingue (22%). Soixante-trois enfants (28%) étaient issus d'un mariage consanguin. Et enfin plus de deux tiers des malades (71,8%) sont issus de familles ayant un faible niveau socioéconomique. Ces résultats correspondent avec ceux du service régional de la prévention et de la statistique de la région de Ziguinchor [118].

Cependant l'enquête démographique et de santé (EDS) de 2017 montre une prédominance de mandingue dans la sous-région de la Casamance [119]. Comparer à d'autres études faites au Sénégal, l'ethnie des patients drépanocytaires dépend du milieu géographique [114].

Le niveau Socio-économique des familles de la plupart des enfants était bas. A comparé à la situation de la région naturelle de la Casamance, le NSE de notre population d'étude reflète un peu la pauvreté de la Casamance. Et cette pauvreté a un impact négatif sur le suivi de ces patients. Cependant, notre travail démontrait que pour 163 cas des familles, au moins l'un des

parents avait un emploi rémunéré. Nous n'avons pas précisé le secteur d'activité professionnel mais en général, celui-ci génère un revenu faible et irrégulier [115].

Dans nos pays, le suivi à domicile de l'enfant est surtout assuré par la mère. Le contexte socio-culturel fait que parfois, les pères s'impliquent peu dans l'éducation thérapeutique (or son efficacité dans la prévention des complications a été démontrée). Très souvent, ces derniers se contentent d'être un appui financier.

La totalité des frais médicaux incombent le plus souvent aux parents contrairement à la France où le SDM est totalement pris en charge par l'assurance maladie dès le diagnostic posé [120]. Cela reflète bien la pauvreté voire l'inexistence de la Couverture Maladie Universelle. L'adhésion aux mutuelles de santé est faible chez nos patients.

Néanmoins depuis 2013, le gouvernement sénégalais travaille à mettre en œuvre une stratégie nationale de développement de la Couverture Maladie Universelle [121].

6.2.4. Origine géographique

La majeure partie des patients provenait de la ville de Ziguinchor (58%). Ces résultats diffèrent de ceux observés dans une étude précédente de DIAGNE, où les patients provenant de la banlieue étaient plus nombreux [115]. Cela pourrait s'expliquer par le contexte d'accessibilité qui conduit les patients de la ville de Ziguinchor à être majoritaire.

6.3. Données cliniques

Dans notre étude, les symptômes cliniques étaient les motifs principaux de circonstance de découverte de la drépanocytose dans 59% des cas.

Nous avons aussi étudié leurs antécédents depuis le début de l'étude et durant l'année qui a précédé notre travail (2017). En effet, les patients de cette série sont relativement symptomatiques et certains parmi eux reviennent assez souvent en consultation durant l'année, malgré le fait que l'haplotype Sénégal soit mieux toléré que les autres haplotypes.

La crise douloureuse osseuse et/ou abdominale était le signe clinique le plus retrouvé avec 119 soit 52,4%. Le mécanisme de cette douleur dans la drépanocytose est bien établi [122]. En effet, elle témoigne d'un accident vaso-occlusif. Ainsi lors du suivi, des mesures préventives doivent être mises en place pour éviter la survenue de cette crise douloureuse. Pour nos patients, il s'agissait souvent d'épisodes douloureux persistants non calmés par la prise d'antalgiques à domicile.

La douleur est une expérience personnelle, décrite et ressentie exclusivement par le patient. Chez l'enfant, son expression est spécifique et varie en fonction de l'âge ; de cris et pleurs chez le petit enfant à un silence ou un changement de comportement chez d'autre [123]. A l'égard du praticien, son intensité reste subjective d'autant plus qu'en pratique, les méthodes d'évaluation de la douleur sont rarement appliquées dans notre contexte.

La drépanocytose constitue une véritable pathologie de la douleur, de ce fait la crise douloureuse est attendue et fréquemment rencontrée dans le milieu hospitalier. Cependant nos résultats sont largement supérieurs à ceux de DIAKITE qui retrouvait 70 cas de crises douloureuses dans une cohorte de 70 patients [124].

Dans une étude faite aux USA, 39 % des patients n'avaient aucune douleur dans l'année, 1 % avait plus de six épisodes par an et 5,2 % des patients avaient 3 à 10 épisodes par an [125].

D'autres signes, tels que l'hémolyse chronique (ictère, pâleur, splénomégalie, souffle systolique) était retrouvée chez nos patients, dans 118 cas (52%). Cependant, les chiffres d'antécédent de transfusion sanguine étaient aussi significatifs avec 15 cas soit 0,06%.

La transfusion reste un traitement majeur de la drépanocytose. Elle est indiquée lorsque le taux d'Hb de base diminue en dessous de 2 points et devant toute situation d'anémie aiguë [59]. Certains auteurs utilisent sa fréquence comme l'un des paramètres définissant un score de sévérité de la drépanocytose [126].

Quarante-un enfants (41 soit 18,1%) avaient déjà été hospitalisés dans notre étude. Les principaux motifs d'hospitalisations étaient les CVO et les infections. Adegoke et coll notaient une fréquence d'hospitalisation à 52,9% dans une étude faite au Nigéria [126].

6.4. Données biologiques

6.4.1. Etude comparative PCR ET IEF

Afin de valider la technique de biologie moléculaire (PCR) dans le diagnostic de la drépanocytose au laboratoire de l'hôpital de la Paix de Ziguinchor, nous l'avons comparé à une technique de référence qu'est l'IEF sur un échantillon de 227 cas.

L'ensemble des échantillons manipulé par la technique moléculaire s'est confirmé à l'IEF. Nous n'avons observé aucune différence entre ces deux techniques quant au diagnostic de la drépanocytose. Nos résultats sont comparables à ceux retrouvés par une étude faite au Mali. Dans cette étude, les auteurs ont retrouvé les mêmes résultats en comparant la PCR et l'électrophorèse de l'hémoglobine chez 42 patients [3]. Ailleurs notre échantillon d'étude est 5 fois plus importante.

L'utilisation de la PCR dans le diagnostic de la drépanocytose à l'hôpital de la paix présente quatre avantages :

- La disponibilité de l'appareil comme seul moyen de diagnostic biologique de confirmation de la drépanocytose, disponible dans toute la région naturelle de la Casamance, dans les établissements publics de santé.
- La rapidité technique de la PCR. L'ouverture d'un kit de PCR est possible avec 6 échantillons de prélèvements de malade et les résultats sont disponible au bout de 1 heure. Alors que pour l'IEF, l'ouverture d'un kit est faite à partir de 68 prélèvements de malade et les résultats sont disponible au bout de 2 heure de temps.
- La machine de la PCR a une autonomie électrique de 3 heures de temps

- Les réactifs ne sont pas cancérigènes comparé à l'IEF, qui dont l'exposition à l'activateur de colorant JB2 est toxique et à la longue (cancérigène) [127]. Ceci explique le nombre élevé d'échantillons lors d'une série de manipulation (68 échantillons) et ainsi diminué les expositions en réduisant les jours de manipulation.

Il y avait 59 échantillons non interprétables à l'IEF, ce qui pourrait s'expliquer par : la longue durée et la mal conservation des papiers buvards.

- La durée de conservation des papiers buvards. Nos échantillons ont été conservé pendant plus de 3 mois avant la manipulation. En effet pour qu'un résultat soit de qualité, il faut que les échantillons sur papier buvard soient manipuler dans un délai d'un mois à compter de la date du prélèvement.
- La température de séchage. Le séchage à l'étuve peut détériorer l'hémoglobine
- Les conditions de conservations. La conservation des papiers buvards dans un milieu humide peut rendre non interprétable les résultats.

Par contre aucun invalide n'a été noté sur échantillon de sang frais dans tube EDTA.

Concernant le traitement des échantillons, d'une part le prélèvement sur tube EDTA est plus simple, mais d'autre part il est plus facile de transporter les papiers buvards, que de transporter les tubes EDTA.

Ailleurs, sur 227 cas avec TE positif, il y'avait 10 cas de faux positif, c'est-à-dire TE positif alors qu'à la PCR et à l'IEF on obtient un profil normal, Hb AA. Nos résultats rejoignent ceux d'une étude faite au Bénin, sur 415 échantillons les auteurs notaient 7 cas de faux négatif et 4 cas de faux positif [128].

Ces résultats nous permettent de remettre en cause les limites de nos critères d'inclusion montrant que le TE négatif n'est pas discriminatoire puisque y'a beaucoup de faux positif. En effet, le TE est souvent négatif chez les hétérozygotes AC.

Dans notre étude les phénotypes majoritaires étaient ceux des SDM (syndrome drépanocytaire majeur) avec au total 118 cas soit 52% dont 116 cas homozygotes SS et 3 cas hétérozygotes composites SC. Puis il en suit les hétérozygotes ou trait drépanocytaire avec 98 (43%) cas AS et 1 cas AC. Nos résultats différents de ceux de l'étude faite au Mali où sur 42 cas ils y'avait que 1 cas de drépanocytose homozygote SS et tout le reste étaient hétérozygotes AS [3]. Cela peut s'expliquer par le fait que notre étude s'est déroulée en milieu hospitalier sur un plus grand échantillon.

Parmi les 118 enfants présentant un SDM, il y avait 96 (81,3%) enfants âgés de moins de 10 ans. Cette tranche d'âge de moins de 10 ans que nous avons trouvé était identique à celle de Diagne à Dakar (âge médian 8 ans) [5]. Dans cette étude, l'auteur a noté que 65% des enfants drépanocytaires de sa série avaient moins de 10 ans.

6.4.2. Données de l'hémogramme

Plus de la moitié de nos enfants drépanocytaires (n = 135 soit 59,5%) avaient une hyperleucocytose supérieure à 10 000 leucocytes/mm³ avec une moyenne de 12 465 éléments/mm³. En effet l'hyperleucocytose est physiologique dans la drépanocytose et s'expliquerait par l'hyperactivité de la moelle et les phénomènes inflammatoires [129, 130]. Des résultats similaires sont retrouvés dans la littérature [131, 132, 133].

L'anémie, avec un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, était retrouvée chez 165 enfants (soit 72,7%). Le taux d'hémoglobine variait de façon générale entre 1,5 à 13,4 g/dL, rejoignant les études faites par Samira [134], Bouzaid [92] et Harack [135].

Le taux d'Hb le plus bas (< 8 g/dl d'Hb) était noté chez les drépanocytaires SS (77 échantillons). Cela rejoint les résultats retrouvés dans l'étude de Diagne et Coll. En effet, cet état d'anémie constante et basse chez le drépanocytaire surtout SS, même en dehors des crises est bien connue. Il est maintenu en partie à cause de la réduction de la durée de vie des hématies, définissant l'hémolyse chronique. La variation du taux d'hémoglobine de base

observée dans les différentes populations africaines s'expliquerait par les caractéristiques des différents haplotypes rencontrés [136]. 39 cas de phénotypes SS avaient un taux bien toléré entre 8 et plus de 10 g/dl de taux d'Hb.

L'anémie était normochrome dans 69,7% des cas et normocytaire dans 57,5% des cas. Elle était régénérative dans 71,5% des cas. Ces résultats sont proches de ceux rapporté par l'étude de Diagne et Coll [114]. Ils peuvent s'expliquer par une hémolyse chronique chez l'enfant drépanocytaire.

CONCLUSION

La drépanocytose est une maladie génétique héréditaire de l'hémoglobine caractérisée par une substitution d'un acide aminé de la chaîne bêta de la globine.

Le diagnostic biologique de la drépanocytose a beaucoup évolué ces dernières années. Aujourd'hui au Sénégal, le diagnostic de la drépanocytose est généralement réalisé par les techniques électrophorétiques. Cependant, les nourrissons de moins de 6 mois ne peuvent bénéficier d'un diagnostic sur base de ces techniques en raison de l'interférence de l'hémoglobine fœtale. Ainsi d'autres méthodes sont indispensables pour un diagnostic précoce. C'est dans cette dynamique de diagnostic et de prise en charge précoces, que le laboratoire de l'hôpital de la Paix de Ziguinchor, en collaboration avec le Centre de Recherche et de Prise en charge Ambulatoire de la Drépanocytose (CERPAD) de Saint Louis, nous a permis de faire une étude comparative entre la PCR et l'IEF.

Au terme de cette étude, nous avons abouti aux résultats suivants :

1. Sur le plan épidémiologique, sociodémographique et économique

La population d'étude était composée de 121 garçons (53,3%) et 106 filles (46,7%). Le sex-ratio était de 1,14. On notait donc une légère prédominance masculine.

L'âge moyen des enfants était de 7 ans avec des extrêmes allant de 4 mois à 15 ans. L'écart type était 4 ans. La majorité des enfants (77,5%) étaient âgés de moins de 10 ans. La tranche d'âge 5-10 ans a été la plus représentative.

Dans notre étude, l'ethnie la plus représentée a été les diolas avec 64 cas, soit 33%.

La majeure partie des enfants provenait de la commune de Ziguinchor. Environ ¼ des patients venaient des régions comme Sédhiou, Kolda et de la sous-région (Guinée, Gambie...)

Vingt-huit pourcents (28%) des enfants étaient issus de mariage consanguin.

Le niveau socioéconomique des familles était bas dans environ 2/3 des cas.

2. Sur le plan clinique

Plus de la moitié (59%) des enfants présentait des symptômes cliniques qui constituèrent les circonstances de découverte les plus fréquentes. Cent dix-neuf (soit 52,4%) des enfants avait des crises douloureuses osseuses et/ou abdominales. Quinze (15) malades avaient été transfusés dans les trois mois qui précédaient le diagnostic biologique.

3. Sur le plan biologique

Deux cent vingt-sept (227) échantillons au total étaient valides pour les deux techniques.

Tous les échantillons ont été manipulés à partir du sang séché pour l'IEF.

Environ 2/3 des échantillons (147) ont été manipulés à partir du sang séché pour la PCR.

On notait une concordance de 100% entre les résultats des deux techniques utilisées.

Il y avait 9 échantillons de faux positif au TE à l'inclusion.

Le coût d'une manipulation était plus élevé pour l'IEF comparé à la PCR.

Le phénotype de l'enfant était significativement associé à la valeur du taux d'hémoglobine (P value = 0,00). Le taux d'Hb le plus bas (< 8 g/dl d'Hb) était noté chez les drépanocytaires SS avec (77 échantillons).

L'hyperleucocytose supérieure à 10 000 leucocytes/mm³ était retrouvée chez 135 malades (soit 59,5%).

Cent soixante-cinq (165 soit 72,7%) enfants au total présentaient une anémie avec un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl. L'anémie était normocytaire dans 57,5% des cas (n = 95) et microcytaire dans 42,4% des cas (n = 70). Elle était normochrome dans 69,7% des cas (n = 115) et hypochrome dans 30,9% des cas (n = 51). L'anémie était régénérative dans 71,5% des cas (n = 118) et arégénérative dans 28,5% des cas (n = 47).

Ces différents résultats ont permis de faire les conclusions suivantes :

- La rapidité technique de la PCR par rapport à l'IEF.

- La validité de cette technique de biologie moléculaire sur notre échantillon caractérisé par la méthode de référence.
- Le coût financier de 27 000 francs CFA pour un kit d'Hb pour la PCR, qui est plus accessible que le coût financier de 244 800 francs CFA pour un kit d'hémoglobine pour l'IEF.
- L'utilisation des échantillons sur papier buvard d'une durée de 1 mois de conservation donne de meilleurs résultats.

Ces conclusions nous ont permis de faire les recommandations suivantes.

RECOMMENDATIONS

Au terme de cette étude, nous formulons quelques recommandations dans le but d'améliorer le diagnostic et la prise en charge précoce de la drépanocytose chez l'enfant à Ziguinchor :

- À l'endroit des chercheurs
 - Faire la même étude sur le diagnostic de la drépanocytose en incluant tous les enfants sans distinction d'âge et ayant un test d'Emmel négatif ou positif.
 - Faire la même étude sur le diagnostic de la drépanocytose chez les nouveau-nés en fin de mettre en place un dépistage néonatal systématique dans la région naturelle de la Casamance.
- À l'endroit du personnel médical et paramédical des structures sanitaires de la région naturelle de la Casamance.
 - Sensibiliser la population de la région naturelle de la Casamance sur les techniques de diagnostic biologique de la drépanocytose
 - Sensibiliser la population de la région naturelle de la Casamance sur les mesures préventives des crises douloureuses osseuses et/ou abdominales de la drépanocytose
 - Faire des conseils génétiques à l'endroit des populations de la région naturelle de la Casamance
 - Définir un circuit de prélèvements des malades
 - Assurer la gestion des kits de PCR et autres intrants du diagnostic biologique de la drépanocytose
 - Conserver les échantillons de sang sur papier buvard maximum 1 mois.

- Aux autorités sanitaires des régions médicales de la région naturelle de la Casamance
 - Organiser des formations continues pour le personnel médical et paramédical sur les techniques de diagnostic biologique de la drépanocytose
 - Encadrer sur le plan administratif la mise en place de cette technique de biologie moléculaire dans le diagnostic biologique de la drépanocytose
- Au Ministère de la santé et de l'action sociale
 - Mettre en place un programme de dépistage néonatal, de diagnostic précoce de la drépanocytose dans la région naturelle de la Casamance ;
 - Assurer la gratuité du dépistage familiale de la drépanocytose
 - Rendre disponible la machine de la PCR dans tous les laboratoires des structures sanitaires de la région naturelle de la Casamance
 - Subventionner ou créer un programme d'appui de l'achat des réactifs.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Rapport du directeur regional OMS : Comité régional de l'Afrique, 60. (2011) .

Drépanocytose : une stratégie pour la Région africaine de l'OMS. [Consulté le 06/05/2019].

Disponible sur internet : <https://apps.who.int/iris/handle/10665/1727>.

2. Herrick JB.

Peculiar elongated and sickle- shaped red corpuscles in a case of severe anemia.

Arch Intern Med 1910;6:517-21.

3. Diawarra DA.

Etude comparative de la PCR et l'Electrophorèse dans le diagnostic de la drépanocytose.

[Thèse en pharm]. Mali :université de Bamako faculté de pharmacie ;2006.

4. OMS.

Rapport de l'OMS sur la Prévalence mondiale de la drépanocytose, 24 avril 2006. Disponible

sur internet : [apps.who.int> A59_9-fr](https://apps.who.int/A59_9-fr). [consulté le 6/05/2019].

5. Diagne I, Ndiaye O, Moreira N, Signate-sy H, Camara B, Diouf S, et al.

Les syndromes drépanocytaires majeurs en pédiatrie à Dakar (Sénégal).

Arch Pediatr 2000;7(1):16-24.

6. Emmel VE.

A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with sickles haped red blood corpuscles.

Arch Intern Med 1917;20:586-98.

7. Hahn EV, Gillepsie EB.

Sickle cell anemia. Report of a case greatly improved by splenectomy. Experimental study of sickle cell formation.

Arch Intern Med 1927;39:233-54.

8. Labie D.

Histoire génétique de la drépanocytose.

Rev prat 1992;15(42):1879-84.

9. Ingram M.

Abnormal human haemoglobins. The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobins.

Biochim Biophys Acta 1959;36:402-11.

10. Nellj V.

The inheritance of sickle cell anemia.

Science 1949;110:64.

11. Pauling L, Itano A, Singers T, Wells G.

Sickle cell anemia: a molecular disease.

Science 1949;110:543-548.

12. Dhondt JL, Farriaux JP.

La fabuleuse histoire du dépistage néonatal.

Ann Biol Clin 2000;58:267-276.

13. ONU.

La drépanocytose, priorité de santé publique.

Assemblée générale ,63ème session. Point 155 de l'ordre du jour. 18 décembre 2008.

14. Kany W, Golbusm S, Trecartinr.

Prenatal diagnosis of sicklecell anemia.

N Engl J Med 1976;294:1039-1040.108 52.

15. Mbodj M, Ndoye O, Diarra M, Mbaye BN, Sow Touré H, Diouf L, et al.

Dépistage néonatal de la drépanocytose au CHU de Dakar : premier bilan.

Dakar Med. 2003;48(3):202-5.

16. Galacteros F, Beuzard Y.

Thalassémies et hémoglobines anormales. In Hématologie de Bernard Dreyfus (3èmeédition).

Paris; Flammarion Médecine-Sciences;1992: 359-393.

17. Berchel C, Diara JP, Loret H, Foucan L, Le Turdu C, Samuel Y.

Natural history of sickle cell anemia.

Rev prat 1992;42(15):1885-1891.

18. Klugs WS, Cummigs MR.

Concepts of Genetics 5th Edition.1997, Pearson: 235-241

19. Lehmann H, Huntsman RG.

Man's Haemoglobins. Amsterdam, North Holland Publishing Co. 1974,(35)331.

20. World health organization.

Sickle cell anaemia.

Agenda item 11.4. 59th World Health Assembly; 27 May 2006; WHA59.20.

21. Labie D, Wajczman H.

Biologie de la drépanocytose S in : la maladie drépanocytaire Ed Sandoz. 1984, 14-64

22. World map of thalassemia.

Disponible sur internet: <https://www.semanticscholar.org/paper/Thalassemia-Minor-and-Major%3A%C2%A0CurrentManagement.Choudhry/54376b138d572df30b4a3e8735ac344f328c1780/figure/1> [Consulté le 12 /05/ 2019].

23. Bardakjian J, Benkerrou M, Bernaudin F, Briard ML, Ducrocq R et al.

Neonatal screening of sickle cell anemia in metropolitan France.

Arch Pediatr 2000;7(12):1261-3.

24. Serjeant GR.

The natural history of sickle cell disease.

Cold Spring Harb Perspect Med 2013;1(3):153-7.

25. Gaye AK.

Contribution à l'étude médico-sociale de la drépanocytose en milieu scolaire sénégalais.

[These Med].1986, Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N°45.

26. Thiam L, Drame A, Coly IZ, Diouf FN, Seck N, Boiro D, et al.

Profils épidémiologiques, cliniques et hématologiques de la drépanocytose homozygote SS en phase inter critique chez l'enfant à Ziguinchor, Sénégal.

Revue hémato-onco 2017; 5 :130-5.

27. Thiamago JC.

Dépistage néonatal de la drépanocytose au Sénégal : étude préliminaire au niveau de deux maternités à Dakar. [Thèse Med] 2006, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N°12.

28. Thiam L, Boiro D, Ndongo AA, Niang B, Seck N, Dem/ly I, et al.

Complications aiguës des syndromes drépanocytose majeur à l'hôpital de la paix de Ziguinchor.

Médecine Thérapeutique pédiatrique. 2018;21(4):233-7.

29. Bolsover S, Hyams K, Shephard E, White H, Wiedeman C.

Biologie moléculaire et cellulaire. 2006 Chapitre 4.

30. Population genetic et epigenetic.

Disponible sur internet : <https://thealevelbiologist.co.uk/genetics-control-homestasis/population-genetics-and-epigenetics/> [consulté le 12 /05/2019].

31. Bernard J, Levy JP, Varet B, Claudel JP, Rain JD, Sultan Y.

Hématologie.

Masson éditeur 1983; ed 6:47.

32. Deisseroth A, Nienhuis A, Turner P, Velez R, Anderson WF, Ruddle F, et al.

Localization of the human α globin structural gene to chromosome 16 in somatic cell hybrids by molecular hybridization assay.

Cell. 1977;1:205-18.

33. Deisseroth A, Nienhuis A, Lawrence J, Giles R, Turner P, Ruddle FH.

Chromosomal localization of human globin gene on human chromosome 11 in somatic cell hybrids.

Proc Natl Acad Sci U S A 1978;75(3):1456-60.

34. Lebo RV, Carrano AV, Burkhart-Schultz K, Dozy AM, Yu LC, Kan YW.

Assignment of human and globin genes to the short arm of chromosome 11 by chromosome sorting and DNA restriction enzyme analysis.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1979;76(11):5804-8.

35. Fritsch EF, Lawn RM, Maniatis T.

Molecular cloning and characterization of the human γ -like globin gene cluster.

Cell 1980, 19(4): 959-72.

36. Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW.

Hemoglobin switching. In Hemoglobin switching. Edit. par G.N. Stamatoyannopoulos AW. Nienhuis PW, Majerus Varmus H. Philadelphia: Saunders 1994;107-136.

37. Kladny B, Williams A, Gupta A, Gettig EA, Krishnamurti L.

Genetic counseling following the detection of hemoglobinopathy trait on the newborn screen is well received, improves knowledge, and relieves anxiety.
Genet Med 2011;13(7):658-61.

38. Ferreira TD, Freire AS, Silveira-Lacerda Ede P, Garcia-Zapata MT.

A model of genetic guidance for hemoglobinopathy patients and laboratory diagnosis of family members as educational and preventive measures.
Rev Bras Hematol Hemoter 2012;34(5):339-44.

39. Loovers HM, Tamminga N, Mulder AB, Tamminga RY.

Clinical Course of Two Children with Unstable Hemoglobins: The Effect of Hydroxyurea Therapy.
Hemoglobin. 2016, 40(5) :341-4.

40. Kan YW, Dozy AM.

Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta-globin structural gene: relationship to sickle mutation.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1978;75(11):5631-5.

41. Gueye Tall F, Ndour EHM, Cissé F, Gueye PM, Ndiaye Diallo R, Diatta A, et al.

Perturbations de paramètres lipidiques au cours de la drépanocytose.

Rev CAMES SANTE 2014;2(2):35-41.

42. Gueye PM, Gueye-Tall F, Seck M, Kane MO, Ndiaye-Diallo R, Diatta M et al.

Aggravation de l'anémie et polymorphisme de l'haptoglobine au cours de la drépanocytose au Sénégal.

Int J Biol Chem Sci 2014 ; 8 (3) : 975-982.

43. Antonarakis SE, Boehm CD, Giardina PJ, Jr Kazazian HH.

Nonrandom association of polymorphic restriction sites in the beta-globin gene cluster.

Proc Natl Acad Sci USA 1982;79(1):137-41.

44. Mears JG, Beldjord C, Benabadji M, Belghiti Y, Baddou MA, Labie D, et al.

The sickle gene polymorphism in North Africa. Blood 1981;58(3):599-601.

45. Pagnier J, Mears JG, Dunda-Belkhodja O, Schaefer-Rego KE, Beldjord C, Nagel RL, et al.

Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa.

Proc Natl Acad Sci USA 1984;81(6):1771-3.

46. Smith JA.

The natural history of sickle cell disease. In : Whitten CF. ed. Sickle Cell Disease. New York : Annals of the New York Academy of Sciences;1989. P.104-8.

47. Jeffreys AJ.

DNA sequence variants in the G gamma, A gamma, delta and beta globin genes of man.

Cell 1979;18(1):1-10.

48. Fong C, Lizarralde-Iragorri MA, Rojas-Gallardo D, Barreto G.

Frequency and origin of haplotypes associated with the beta-globin gene cluster in individuals with trait and sickle cell anemia in the Atlantic and Pacific coastal regions of Colombia.

Genet Mol Biol 2013;36(4):494-7.

49. Nagel RL, Labie D.

DNA haplotypes and the S globin gene.

Prog Clin Biol Res 1989;316:371-93.

50. Thomas JJ, Kutlar A, Scott DF, Lanclos KD.

Inhibition of gene expression by the G 5' flanking region of the Bantu S chromosome.

Am J Hematol 1998;59(1):51-6.

51. Gilman JG, Huisman TH.

DNA sequence variation associated with elevated fetal G globin production.

Blood 1985;66(4):783-7.

52. Garner C, Tatu T, Reittie JE, Littlewood T, Darley J, Cervino S, et al.

Genetic influences on F cells and other hematologic variables: a twin heritability study.

Blood 2000;95(1):342-6.

53. Lee K, Godeau B, Bachir D, Roudot-Thoroval F, Bernaudin F, Gane P et al.

La gravité des syndromes drépanocytaires majeurs est-elle atténuée en cas de déficit en molécules d'adhésion CD36 (glycoprotéine IV) ? Résultats d'une étude cas-témoins

Rev Med Int 2000;21(4):449.

54. Labie D, Pagnier J, Lapoumeroulie C, Rouabhi F, Dunda- Belkhodja O., Chardin P et al.

Common haplotype dependency of high G globin gene expression and high Hb F levels in thalassemia and sickle cell anemia patients.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1985, 82(7) : 2111-4.

55. Nagel RL.

Hematology: Clinical Principles and Applications

Semin Hematol 1991.

56. Griot R, De Montalembert M.

Drépanocytose chez l'enfant, EMC- Pédiatrie 2006. 4-080-A-20

57. Labie D, Elion J.

Physiopathologie de la drépanocytose. In : Najman A, Verdy E, Potron G, Isnard-Grivaux F.

ed. Hématologie. Précis des maladies du sang. Paris : Ellipses, 1994 : 334 - 344.

58. Haute Autorité de Santé.

Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant et l'adolescent.

Paris : HAS;2005.

59. Boulat C.

La transfusion du drépanocytaire.

Transfusion Clinique et Biologique 2013;20:68–71.

60. Bachir D.

La drépanocytose.

Revue Française des Laboratoires 2000;324:29-35.

61. Renaudier P.

Physiopathologie de la drépanocytose.

Transfusion Clinique et Biologique 2014;21(4-5):178-81.

62. Brugnara C, De Franceschi L.

Essais cliniques de nouvelles thérapeutiques pharmacologiques de la drépanocytose.

Hématol 2006;12(4):239-45.

63. Elion J, Labie D.

Drépanocytose et adhérence cellulaire.

Hématol 1998;4(3):201-11.

64. Tshilolo L, Mukendi R, Girot R.

La drépanocytose dans le Sud du Zaïre, étude de deux séries de 251 et 340 malade suivis entre 1988 et 1992.

Arch Pediatr 1996;3(2):104-11.

65. Benkerou M, Denamur E, Elion J.

Information génétique et diagnostic prénatal dans la drépanocytose. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, ed. La drépanocytose. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. P.293-301.

66. Haute Autorité de la Sante.

Syndromes drépanocytaires majeurs de l'enfant et de l'adolescent : Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare.

Janvier 2010.

67. Collet P.

Manifestations ostéo-articulaires des anémies.

EMC-Rhumatologie Orthopédie 2005;2:376-93.

68. Mary P.

Complications ostéo-articulaires de la drépanocytose.

Arch Pediatr 2008;15:639-41.

69. Sy A.

Photo enfant présentant un syndrome pieds- mains pris à l'hôpital d'enfants Albert Royer de Fann de Dakar.

70. Hau I, Coïc L.

L'enfant drépanocytaire aux urgences.

Médecine Thérapeutique pédiatrique 2008;11(1):35-42.

71. Ferster A, Kentos A, Bradstreet C, Vertongen F, Gulbis B.

Drépanocytose: diagnostic et paramètres biologiques.

JEUR 2005;18:228-9.

72. Wajcman H.

Diagnostic et dépistage de la drépanocytose.

Rev prat 2004;54:1543-7.

73. Maier-Redelsperger M, Bardakjian-Michau J, Neonato M-G, Girot R.

Diagnostic biologique des syndromes drépanocytaires. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, ed.

La drépanocytose. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p. 13-29.

74 : Diarra Z.

Electrophorèse de zone : techniques et applications dans le domaine biomédical.

[Thèse Pharm]. Dakar : UCAD ; 2016 ; N° 34.

75. Basset P, Beuzard Y, Garel MC, Rosa J.

Isoelectric focusing of human hemoglobin: its application to screening, to the characterization of 70 variants, and to the study of modified fractions of normal hemoglobins.

Blood 1978;51:971-82.

76. Ducrocq R.

De l'hémoglobine SS à SF: intérêt de l'hydroxyurée dans la prise en charge de la drépanocytose chez 2 enfants congolais et revue de la littérature.

Arch Péd 2001;8(5):474-80.

77. Perkin Elmer.

The separation and identification of hemoglobin variants by isoelectric focusing electrophoresis: an interpretive guide, Resolve hemoglobin kit 13905253-13.

78. Benkerou M.

Erythroblastopenie chez les enfant. In: Girot R, Bégue P, Galactéros F, ed. La drépanocytose.

Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p.97-104.

79. Diagne I, Diagne-Gueye NR, Fall AL, Deme I, Sylla A, Coly JI, et al.

Aspects épidémiologiques et évolutifs de la splénomégalie chez les enfants et adolescents porteurs de syndrome drépanocytaire majeur au Sénégal.

Arch pediatri 2010;17:1017-25.

80. Couloumbel L.

Erythroblastopenie chez les enfants.

Rev Prat 1989;24(39):2138-41.

81. Labie D, Elion J.

La drépanocytose, problème de l'Afrique.

Med Trop 2010;70:449-53.

82. Begue P, Castello-Herbretau B.

Infections graves chez l'enfant drépanocytaire: aspects cliniques et prévention.

Arch pediatr 2001;8:732-41.

83. Habibi A, Bachir D, Godeau B.

Complications aiguës de la drépanocytose.

Rev Prat 2004;54:1548-56.

84. Gouveia ME, Soares NB, Santoro MS, Marques de Azevedo FC.

Hyperhemolysis syndrome in a patient with sickle cell anemia: case report.

Rev bras hematol hemoter 2015;37(4):266-8.

85. Lesprit E, Reinert P.

Prévention des infections chez l'enfant drépanocytaire. Développement et santé :

revue de perfectionnement médical et sanitaire en pays tropical 2006;182:20-2.

86. Parrot A, Maitre B.

Syndrome thoracique aiguë de l'adulte. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, ed. La drépanocytose. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p. 135-143.

87. Beauvais P, Verlhac S, Bernaudin F.

Complications neurologiques et vasculopathie cérébrale au cours de la drépanocytose. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, ed. La drépanocytose. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p. 145-60.

88. Bachir D, Virag R.

Priapisme drépanocytaire. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, dir. La drépanocytose. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p. 183-94

89. Diagne I, Badiane M, Moreira C, Signate-Sy H, Ndiaye O, Lopez-Sail P et al.

Lithiase biliaire et drépanocytose homozygote en pédiatrie à Dakar (Sénégal).

Arch Pediatr 1999;6:1286-92.

90. Mery L, Aractingi S.

Les ulcères au cours de la drépanocytose. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, dir. La drépanocytose. Paris: John Libbey Eurotext; 2003. p. 211-220.

91. Goldberg MF.

Classification and pathogenesis of proliferative sickle retinopathy.

Am J Ophthalmol 1971;71(3):649-65.

92. Diop S, Monoko SO, Ndiaye M, Touré Fall AO, Thiam D, Diakhaté L.

La drépanocytose homozygote après l'âge de 20 ans: suivi d'une cohorte de 108 patients au CHU de Dakar.

Rev Méd Interne 2003; 24 (11): 711-5.

93. Diop S, Cisse M, Touré Fall AO, Thiam D, Fall K, Gadj M, et al.

La drépanocytose homozygote à Dakar: influence du taux d'HbF, des facteurs socioculturels et économiques.

Dakar Med 1999;44: 171-4.

94. Baledent F.

Génétique et diagnostic biologique de la drépanocytose. Développement et santé : revue de perfectionnement médical et sanitaire en pays tropical 2006. [Consulté le 20/12 2019]. Disponible sur internet : <https://devsante.org/articles/genetique-et-diagnostic-biologique-de-la-drepanocytose>

95. Allison AC.

Polymorphism and natural selection in human populations.
Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1964;29(24):137-149

96. Sangare A, Sanogo I, Ebongo E, Meite M, Kple Faget P, Sawadogo S.

Contribution à l'étude des relations entre la drépanocytose et le paludisme.

Med Afr N 1990, 37(51) : 268-73

97. Luzzatto L.

Sickle Cell Anaemia and Malaria. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases 2012. 4(1). [consulté le 2 janvier 2020]. Disponible sur internet : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3499995/>

98. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, et al.

Sickle Cell disease.

Nat Rev Dis Primers 2018;4(18010).

99. Haldane JBS.

The rate of mutation of human genes. Proc. VIIIth Intern Congress on Genet. and Bered. Suppl 1949;35:267-73.

100. Beauvais P, Beauvais B.

Drépanocytose et Paludisme : données actuelles.
Arch Pédiat 1986;43:279-82.

101. Vandepitte J, Delaisse J.

Sicklémie et paludisme.
Ann Soc Belge Med Trop 1957;37:703-35.

102. Beutler E, Dern RJ, Larkin C.

Effect of sickle-cell trait on resistance to malaria.
Brit Med J 1955;2:1189-91.

103. Foy H, Brass W, Moore RA, Timms GL, Kondi A, Oluoch T.

Two surveys to investigate the relation of sickle-cell and malaria.
Brit Med J 1955;11:1116

104. Médecins experts Burkina Faso, Madagascar, Mali, Mauritanie, Niger, Sénégal.

Guide de prise en charge de la drépanocytose en Afrique. Juin 2018.

105. Bachir D, Virag R, Lee K, Belloy M, de Montalembert M, Denis L, et al.

Prévention et traitement des troubles érectiles de la drépanocytose.
Rev Med Interne 1997;18:46-51.

106. Roupret M, Beley S, Traxer O, Kirsch-Noir I, Jouannet P, Jardin A et al.

Prise en charge du priapisme chez les patients drépanocytaires.

Progr Urolog 2005;15 :392-7.

107. Bachir D.

Traitement par hydroxyurée chez l'adulte drépanocytaire en Afrique. Réflexions pour un consensus de prise en charge entre les pays du Nord et du Sud.

Communication Paris, 07.06.2011.

108. De Montalembert M.

Traitement de la drépanocytose par l'hydroxyurée.

Hématol 2002;8(1):28-34.

109. De Montalembert M.

Traitement des patients drépanocytaires par hydroxyurée : efficacité et tolérance. Transfusion Clinique et Biologique 2008;15:34-8.

110. Bernaudin F.

Greffe dans la drépanocytose : résultats, perspectives.

Arch Pediatr 2008;15:633-5.

111. Cornu G, Vermeylen Y, Ferster A, Brichard B, Ninane J, Ferrant A et al.

La greffe de cellules souches hématopoïétiques dans la drépanocytose.

Arch Pediatr 1999;6(2):345-7.

112. M JM. Drépanocytose : essai franco-américain de thérapie génique.

Revue Francophone des Laboratoires. 2015;2015(468):14

113. LaCAR: Life and Care Advanced Research.

Kit reference: LC-HBS/C-LP last revision date 08/05/2017.

114. Aguilar-Martinez P, Angastiniotis M, Eleftheriou A, Gulbis B, Mañú Pereira Mdel M, et al.

Haemoglobinopathies in Europe health & migration policy perspectives.

Ann Biol Clin 2010;68:455-64.

115. Diagne I, Ndiaye O, Moreira C, Signate-Sy H, Camara B, Diouf S, et al.

Les syndromes drépanocytaires majeurs en pédiatrie à Dakar (Sénégal).

Arch Pediatr 2000;7(1):16-24.

116. Déme/Ly I, Ba ID, Thiongane A, Guéye/Tall F, Ba Ai, Ba Ab, et al.

Profil épidémiologique et clinique des enfants et adolescents atteints de drépanocytose homozygote admis en situation d'urgence en consultation drépanocytose à Dakar.

J Afr Pediatr Genet Med 2017;3:44-9.

117. Adegoke SAD, Adeodu OO, Adekile AD.

Sickle cell disease clinical phenotypes in children from South-Western, Nigeria.

Niger J Clin Pract 2015;18:95-101.

118. République du Sénégal. Service regional de la prévention et de la statistique de la region de Ziguinchor.

Edition 2004. [consulté le 20/12/2019]. Disponible sur internet:

http://www.ansd.sn/ressources/ses/SITECOZIGUIN_2014.pdf.

119. Enquête démographique et de santé du Sénégal. [consulté le 08/01/2020].

Disponible sur internet: <https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR331/FR331.Tableaux.pdf>.

120. Haute Autorité de la Santé.

Syndromes drépanocytaires majeurs de l'enfant et de l'adolescent: Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Janvier 2010.

121. Couverture Maladie Universelle (CMU). [Consulté le 11/11/2019].

Disponible sur internet: <http://www.gouv.sn/couverture-maladie-universelle-CMU.html>.

122. Galacteros E.

Bases physiopathologiques de la drépanocytose, prise en charge et actualités thérapeutiques.

Bull Soc Pathol Exot 2001;94(2):77-9.

123. Josset-Raffeta E, MK YIB, Benkerrouaa M.

La trajectoire corporelle et psychique de la douleur chez l'enfant atteint de drépanocytose.

Neuropsychiatr Enfance Adolesc 2016;64(2):131-8.

124. Diakite AA, Coulibaly I, Dicko-Traore F, Traore B, Togo B, Dembele A, et al.

Prise en charge de la douleur au cours de la drépanocytose selon les critères OMS.

Mali Med 2009;14(2):25-7.

125. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, Milner PF, Rosse FW, Vichinsky E, et al.

Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors.

N Engl J Med 1991;325:11-6.

126. Adegoke SA, Kuti BP.

Evaluation of clinical severity of sickle cell anaemia in Nigerian children.

J Appl Haematol 2013;4:58-64.

127. Dumas.L

Evaluation des risques toxiques professionnel dans les laboratoires du CHU de Grenoble

[Thèse Med]. Faculté de médecine et de pharmacie de grenoble ; 2004 N°31.

128. Assoumanou M, Issifou D, Akpona A.

Le test de précipitation en milieu réduit : une alternative au test d'Emmel dans le dépistage de l'hémoglobine S.

Intern J Biol Chem Sci 2010;4(2):354-61.

129. Girotr.

Thalassemie chez l'enfant. EMC pédiatrie.

Paris: Elsevier masson SAS;1999.p.6p.

130. Chies JA, Nardi NB.

Sickle cell disease: a chronic inflammatory condition

Med Hypotheses 2001; 57 (1): 46-50.

131. Bouzaid M.

Prise en charge de la drépanocytose homozygote au service d'hémo-oncologie pédiatrique de l'hôpital des enfants Araba. [Thèse Med]. Araba: Faculté de médecine de Araba; 2007 N° 207.

132. Abderrahim MM.

La drépanocytose chez l'enfant au service de pédiatrie à l'hôpital Alfarabi Oujda Fés [Thèse Med]. Université Sidi Mouhamed Ben Abdallah. Faculté de médecine de Fés; 2013. N°083.

133. Okoko AR, Odzebe AS, Moyen E, Okouyabowassa G, Oko AP, Bika-cardorel A, et al.

Priapism in children and adolescent hematology with homozygote sickle cell disease in Brazzaville.

Prog Urol 2014;24(1):57-61.

134. Samira O.

Drépanocytose homozygote chez l'enfant à l'hôpital provincial de Tangé à propos de 10 cas [Thèse Med]. faculté de médecine et de pharmacie de Tangé; 2015 N° 84.

135. Harrak A, Ouahmane S, Benhsaien I, Maani K, Hachim J, Hadjhalifa H.

Drépanocytose chez l'enfant à l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique au CHU Ibn Roshd Casablanca entre 2000 et 2006.

Arch Pediatr 2010;17(6):157.

136. Ngasia B, Sica L, Makani J, Loko G, Shrinkande W, Gonzalez JP, et al.

L'hémogramme du drépanocytaire de l'Afrique centrale, Martinique et de l'Inde au cours des phases stationnaires. REDAC, 19 février 2013, Fort de France, Martinique.

ANNEXES

FICHE D'ENQUETE
ETUDE COMPARATIVE ENTRE LA PCR ET
L'ISOELECTROFOCALISATION DANS LE DIAGNOSTIC DE LA
DREPANOCYTOSE CHEZ L' ENFANT À L'HÔPITAL DE LA PAIX DE
ZIGUINCHOR

➤ **Etat civile**

Numéro Malade :

Nom :
.....

Prénom :.....

....

Sexe: M / F

Date de naissance : / / /

Age au diagnostic :
.....

Ethnie : Diola mandingue peul sérère wolof Balante

Origine géographique :

➤ **Données cliniques**

➤ **Antécédents**

○ ***Personnels***

Suivie de la grossesse : O/N
d'accouchement : H/B

Lieu d'accouchement : D/P/C/H/C

Voie

Poids de naissance : /...../g

Taille de naissance : /...../cm

SFA : O/N

Hospitalisation néonatale : O/N

Ictère

néonatal : O/N

Anémie néonatale : O/N

Transfusion néonatale : O/N

Type d'alimentation : Exclusif/artificiel/Mixte

Age de diversification : /...../mois

Modalité de diversification :

Age du sevrage : /...../mois

Modalité du sevrage :

Vaccination PEV: O/N

Vaccination antipneumo: O/N
antiméningo : O/N

Vaccination anti Typhim : O/N

Vaccination

Développement psychomoteur : B/R

Niveau de scolarisation/...../

Antécédent de syndrome pied-main : O/N

Antécédent d'ictère : O/N

Antécédent de douleur abdominale : O/N
O/N

Antécédent de douleur osseuse :

Antécédent d'infection grave : O/N
répétition : O/N

Antécédent d'infection à

Antécédent d'anémie : O/N

Antécédent de transfusion : O/N

° **Familiaux**

Rang dans la fratrie : /..... /

Nombre de sœurs /..... /

Statut des sœurs : P/N/NC

Nombre de frères /..... /

Statut des frères : P/N/ NC

Age de la mère /..... /ans

Gestité /..... /

Parité /..... /

Avortement /..... /

Nombre de décès /..... /

Niveau de scolarisation de la mère /..... /
tate : O/N

Statut de la mère : P/N/NC

Autre

Age du père /.../ans
mariage : PG/MG

Statut du père : P/N/NC

Autre tate : O/N

Régime du

Consanguinité : O/N

Niveau socioéconomique : Bas/Moyen/Bas

➤ **Circonstances du diagnostic** : *symp* *dépit* *hosp*

➤ **Syndome d'hémolyse**

- Pâleur
- Ictère
- Douleur abdominal et/ou
membres :.....
- Splénomégalie :.....
- Hépatomégalie :.....
- Autres :.....

➤ Données biologiques

○ Hémogramme

- Hb :.....
.....
- VGM :.....
.....
- TCMH :.....
.....
- CCMH :.....
.....
- Plaquettes :.....
.....
- Taux de
réticulocyte :.....
.....

○ PCR

- Profil de
l'hémoglobine :.....
.....

○ Isoélectrofocalisation

- Profil de l'hémoglobine :
.....
.....
- %
HbS :.....
.....
- %
HbA2 :.....
.....
- %
HbF :.....
.....

SERMENT D'HIPPOCRATE

<< En présence des Maîtres de cette école et de mes chers condisciples, je

promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail.

Admise à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma

langue taira les secrets qui me seront confiés ; et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueuse et reconnaissante envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.>>

PERMIS D'IMPRIMER

VU :

VU :

LE Président du jury

Le Doyen de

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Université Assane Seck de Ziguinchor,
Et par Délégation

Le directeur de l'UFR Science de la Santé

RÉSUMÉ

Introduction:

la drépanocytose pose un problème de santé publique au Sénégal. Il existe de nombreux techniques (iso électrofocalisation, biologie moléculaire) de diagnostic précoce, pour améliorer la prise en charge. C'est dans cette dynamique de diagnostic et de prise en charge précoces, que le laboratoire de l'HPZ, en collaboration avec le CERPAD de Saint Louis, nous a permis de faire une étude comparative, entre la PCR et l'iso électrofocalisation (IEF), dont le but était d'apprécier la validité de la technique de biologie moléculaire pour le diagnostic de la drépanocytose à l'hôpital de la paix de Ziguinchor.

Méthodologie:

il s'agissait d'une étude prospective comparative, du 1^{er} février au 30 avril 2018, entre la PCR et l'IEF, dans le diagnostic de la drépanocytose de l'enfant. Etaient inclus tous les enfants âgés de 4 mois à 15 ans ayant un TE positif et après un consentement éclairé des parents. N'étaient pas inclus les enfants de famille non consentante. L'IEF était fait par le modèle « RESOLVE Hemoglobin kit » au laboratoire du CERPAD de Saint Louis ; la PCR était faite par la technique du KIT de la « Mutation S et C de l'hémoglobine humaine LAMP ». Pour chaque enfant, nous avons étudié les données épidémiologiques, cliniques et biologiques.

Résultats:

la population d'étude était composée de 121 garçons (53,3%) et 106 filles (46,7%). L'âge moyen des enfants était de 7 ans [4 mois-15 ans]. La majorité des enfants (77,5%) étaient âgés de moins de 10 ans. Plus de la moitié (59%) des enfants présentait des symptômes cliniques et 165 (72,7%) enfants présentaient une anémie avec un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl. Tous les échantillons ont été manipulés à partir du sang séché pour l'IEF. Environ 2/3 des échantillons (147) ont été manipulés à partir du sang séché pour la PCR.

Au total 227 échantillons étaient valides pour les deux techniques. On notait une concordance de 100% entre les résultats des deux techniques utilisées. Le délai d'une manipulation était plus rapide pour la PCR comparé à l'IEF. Le phénotype de l'enfant était significativement associé à la valeur du taux d'hémoglobine (P value = 0,00).

Conclusion: nous recommandons la PCR par la technique du KIT de la « Mutation S et C de l'hémoglobine humaine LAMP » pour le diagnostic, par biologie moléculaire à l'hôpital de la Paix de Ziguinchor.

Mots clés: drépanocytose, enfant, iso électrofocalisation, PCR