

Hémoglobinopathies. Diagnostic au laboratoire

Oliver M, Wolf A, Roche C, Moalic JL

Laboratoire de Biochimie Hôpital d'Instruction des Armées Alphonse Laveran, Marseille

Med Trop 2011 ; 71 : 217-222

RÉSUMÉ • Les hémoglobinopathies sont les maladies génétiques les plus fréquentes. Leur répartition géographique est superposée aux zones d'endémies palustres. Les syndromes drépanocytaires graves et les thalassémies majeures nécessitent un diagnostic rapide. L'objectif de cet article est de décrire les techniques de diagnostic de première intention disponibles dans les laboratoires non spécialisés et de sensibiliser le lecteur aux pièges de l'interprétation.

MOTS-CLÉS • Drépanocytose. Thalassémie. Diagnostic. Hémoglobinopathies.

HEMOGLOBINOPATHY. LABORATORY DIAGNOSIS

ABSTRACT • Hemoglobinopathies are the most common genetic diseases in the world. They are most frequent in areas where malaria is endemic. Sickle cell disease and severe thalassemia require prompt diagnosis. The purpose of this article is to describe first-line techniques for diagnosis in non-specialized laboratories with special emphasis on the pitfalls of interpreting results.

KEY WORDS • Sickle cell disease. Thalassemia. Hemoglobinopathies. Diagnosis.

Les hémoglobinopathies représentent les maladies génétiques les plus fréquentes au monde. Elles sont transmises de façon autosomique et sont en général retrouvées dans les zones d'endémie palustre en raison de la protection qu'elles confèrent contre le paludisme. Schématiquement, elles sont divisées en deux grands types, les anomalies qualitatives ou hémoglobinoses et les anomalies quantitatives ou thalassémies. Le diagnostic de ces pathologies est important quand elles ont une traduction clinique mais également pour le dépistage des hétérozygoties asymptomatiques en vue d'un éventuel conseil génétique.

Selon le contexte, l'exploration des hémoglobinopathies passe par la mise en œuvre de techniques de première intention dont les examens réalisables en urgences, puis des techniques de deuxième intention. Si les techniques de première intention sont accessibles à tous les laboratoires, l'interprétation des résultats peut être plus délicate et nécessite une méthodologie rigoureuse.

Mécanismes moléculaires à l'origine des hémoglobines anormales

Les substitutions d'une base au niveau de l'ADN ou mutations ponctuelles

sont responsables d'un changement d'acide aminé, en général à l'origine des anomalies qualitatives de l'hémoglobine. Le rapport entre les chaînes α et les chaînes non α est respecté.

La mutation peut avoir lieu sur les gènes β de la globine, c'est le cas de l'hémoglobine S (GLU $\beta 6 \rightarrow$ VAL), premier mutant par ordre de fréquence retrouvé en Afrique, de l'hémoglobine C (GLU $\beta 6 \rightarrow$ LYS), deuxième mutant par ordre de fréquence retrouvée en Afrique; ou sur les gènes α .

L'insertion ou la délétion d'un nombre de bases différent de trois, à l'origine d'un décalage du cadre de lecture, les grandes délétions, les mutations touchant les promoteurs des gènes se traduisent en général par une insuffisance de synthèse de la protéine codée par le gène muté. Le rapport des chaînes alpha et non alpha est alors non respecté et ces anomalies moléculaires se traduisent par un syndrome thalassémique.

Dans le cas particulier de l'hémoglobine E retrouvée dans le sud-est asiatique, la mutation GLU $\beta 26 \rightarrow$ LYS active un site d'épissage cryptique normalement non utilisé. Ce site entre en compétition avec le site d'épissage normal et aboutit à la synthèse d'un transcrit anormal qui n'est pas traduit. Le site normal d'épissage reste actif et une certaine proportion d'ARN messa-

gers sont correctement traduits, aboutissant à la synthèse d'hémoglobine E. Au total, la quantité de chaînes β synthétisée est insuffisante par rapport aux chaînes α , expliquant le caractère thalassémique de cette hémoglobinopathie.

Conséquences clinico-biologiques

Les conséquences de la présence d'une hémoglobine anormale sont très variables selon l'hémoglobinopathie en cause. Il faut distinguer les hémoglobinopathies à l'origine de manifestations cliniques graves de celles responsables d'anomalies biologiques accompagnées parfois d'une discrète splénomégalie, d'un subictère conjonctival. Le tableau 1 résume les caractéristiques clinico biologiques et la répartition géographique des principales hémoglobinopathies.

Les syndromes drépanocytaires graves

Ils sont dus à la présence d'une homozygotie S ou d'une hétérozygotie S associée à une mutation touchant la deuxième chaîne β . On parle alors d'hétérozygote composite. C'est le cas des hétérozygotes S/C, S/D Punjab, S/Oarab, S/ β_0 thalassémie, S/ β_+ thalassémie.

L'hémoglobine S est moins stable en solution que l'hémoglobine A. Lorsque le globule rouge est déshydraté, lors d'hy-

• Correspondance : manuelaoliver@bbox.fr
• Article reçu le 29/05/2011, définitivement accepté le 06/06/2011

poixie ou d'augmentation de la température, cette hémoglobine se polymérise et précipite dans le globule rouge. Celui-ci prend alors une forme de faucille et devient moins déformable. Il est résulte d'une part une hémolyse responsable de l'anémie chronique et d'autre part, une obstruction des petits vaisseaux entraînant l'apparition de crises vaso-occlusives (1).

La symptomatologie de la drépanocytose comporte trois versants : le versant anémique, le versant vaso-occlusif et le ver-

sant infectieux. Chez l'enfant, les crises douloureuses abdominales, les accidents vaso-occlusifs graves notamment neurologiques ou ostéo-articulaires, les épisodes d'anémie aiguë et les complications infectieuses (septicémies, méningites, ostéomyélites) sont les complications les plus fréquentes. Chez l'adulte, outre les complications aiguës décrites précédemment, s'ajoutent les complications chroniques (hypertension artérielle pulmonaire, rétinopathies, néphropathies, ostéonécrose de

la hanche ou de la tête humorale, ulcères cutanés, accidents neurologiques ischémiques ou hémorragiques...).

Les syndromes thalassémiques (2)

Ils résultent d'un déséquilibre de synthèse entre les chaînes α et non α . Dans les α thalassémies, le rapport α /non α est inférieur à 1, dans les β thalassémies ce même rapport est supérieur à 1. Les α thalassémies ne sont jamais compensées car les

Tableau 1. Principales anomalies de l'hémoglobine, origines géographiques, traduction biologique (d'après (1, 2)).

	Génotype	Répartition géographique	Traduction biologique	Electrophorèse de l'Hb
Syndromes drépanocytaires graves	Hb SS	Afrique, Antilles, Amérique du Nord et du Sud (Brésil), Maghreb, Grèce, Moyen Orient, Inde	Drépanocytes, Hb : 7-9 g/dL, normo voire macrocytose, réticulocytose	Hb A1 = 0 %, Hb F = 2-20 %, Hb S = 75-95 %, Hb A2 = 2-5 %
	HbS/C	Afrique, Antilles	Hb : 10-12 g/dL, normo voire macrocytose, réticulocytose	Hb A1 = 0 %, Hb F = <5 %, Hb S ≈ 50 %, Hb C ≈ 50 %, Hb A2 = 2-3 %
	HbS/D	Afrique		Hb A1 = 0 %, Hb F = <5 %, Hb S ≈ 50 %, Hb D ≈ 50 %, Hb A2 = 2-3 %
	HbS/OArab (14, 15)	Afrique	Hb : 7-9 g/dL, normocytose, réticulocytes 100-300. 10 ³ /mm ³	Hb A1 = 0 %, HbF = 5-15 %, Hb S = 45-55 %, Hb O Arab = 45- 50 %, Hb A2= 2-3 %
	HbS β_0 thalassémie	Afrique	Hb : 7-9 g/dL, VGM : 70-90 fL, réticulocytes : 200-400. 10 ³ /mm ³	Hb A1 = 0 %, HbF = 5-15 %, Hb S = 80-90 %, Hb A2 = 4-6 %
	HbS $\beta+$ thalassémie	Afrique	Hb : 9-12 g/dL, VGM : 70-90 fL, réticulocytes : 100-300. 10 ³ /mm ³	Hb A1 = 1-25 %, HbF = 5-15 %, Hb S = 55-90 %, Hb A2 = 4-6 %
Hémoglobinopathies peu ou asymptomatiques	Hb O Arab O Arab (14, 15)	Balkans, Bassin méditerranéen, Moyen Orient, Afrique, Antilles	Anémie hémolytique chronique modérée	Hb A1 = 0 %, Hb F = <5 % Hb O Arab : 95-98 %, Hb A2 = 2-3 %
	HbCC	Afrique	Anémie hémolytique chronique modérée	Hb A1 = 0 %, Hb F = 1-2 %, Hb C : 95 %, Hb A2 = 2-3 %
	HbEE	Asie	Anémie microcytaire hypochrome, pseudopolyglobulie possible	Hb A1 = 0 %, Hb F = 1-2 %, Hb E : 95 %, Hb A2 = 2-3 %
	HbAS HbAC	Afrique, Antilles	Absence d'anomalie	Hb A1 ≈ 55 %, Hb F = 1-2 %
	HbAE	Asie	Absence d'anomalie ou pseudopolyglobulie possible	Hb anormale ≈ 40 % Hb A2 = 2-3 %
Syndromes thalassémiques majeurs	β_0 thalassémie homozygote (Maladie ou anémie de Cooley)	Bassin méditerranéen Asie du sud et de l'est Moyen Orient	Hb : <7 g/dL, VGM 60-65 fL	Hb A1 : 0 %, Hb F 98 %, Hb A2 = 2 %
	α thalassémie 4 gènes atteints --/--	Asie du Sud Est, Chine	Hb : 2-6 g/dL, VGM 100-120 fL	Hb Bart 's (γ_4) = 80 %, Hb H (β_4)=10 %, Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$) = 10 %
Thalassémies intermédiaires	α thalassémie 3 gènes atteints α -- (Hb H) Hb Constant Spring	Asie du Sud Est, Chine, Bassin méditerranéen	Hb : 6-10 g/dL. microcytose.	Hb H (β_4) = 10-30 %, Hb A : 70-90 % Hb A2 : diminuée
	β_+ thalassémie homozygote	Afrique	Hb : 7,5-9 g/dL, microcytose	Hb A1 : 35-68 %, Hb F = 30-60 %, Hb A2 = 2-5 %
	Lepore homozygote			Lepore 30 %; Hb F : 70 %, Hb A2 : 0 %
	Lepore / β thalassémie			Lepore 15 %, Hb F : 84 %, Hb A2 : 1 %
	HbE/ β thalassémie (16)	Asie	Hb : 6-9,5 g/dL, microcytose	Hb A1 = 0 %, Hb F = 35 %, Hb E = 65 %
	Thalassémies mineures	α_+ thalassémie homozygote (α -/ α -)		
α_0 thalassémie hétérozygote (--/ α)		Afrique équatoriale, Antilles, Asie du Sud Est, Bassin Méditerranéen	Pseudopolyglobulie microcytaire hypochrome	Hb A2 diminuée ou normale
α_+ thalassémie hétérozygote ($\alpha\alpha$ -/ α)				
β thalassémie hétérozygote		Bassin méditerranéen Asie du sud et de l'est Moyen Orient, Afrique de l'Ouest Antilles	Pseudopolyglobulie microcytaire hypochrome	Hb A2 augmentée
$\beta\delta$ thalassémie Persistance héréditaire d'HbF Hb Lepore hétérozygote		Bassin méditerranéen		

chaînes α sont présentes dans tous les types de globine. Plus de 50 mutations touchant les gènes α ont été décrites.

Il faut distinguer trois tableaux de thalassémies (tableau 1) :

- les thalassémies majeures comme la maladie de Cooley ou β_0 thalassémie homozygote, ou l'*hydrops foetalis* dues à la délétion des quatre gènes α et entraînant l'absence totale de synthèse de chaînes α létale *in utero* ou peu après la naissance ;

- les thalassémies intermédiaires qui rassemblent l'hémoglobine H et la β_+ thalassémie homozygote (représentant 5 à 10% des β thalassémies homozygotes) dans laquelle il existe une synthèse résiduelle de chaînes β ;

- les thalassémies mineures, alpha ou bêta, en général asymptomatiques, que l'on peut évoquer devant une pseudopolycythémie microcytaire hypochrome et qui nécessitent toutefois d'être dépistées en vue d'un éventuel conseil génétique.

Etudes des hémoglobines

En milieu tropical, la recherche d'une hémoglobine anormale est en général indiquée devant des manifestations cliniques graves : anémie aiguë, syndrome douloureux osseux, abdominal, ... Dans les pays plus avancés, la recherche d'anomalie de l'hémoglobine peut également entrer dans le cadre de l'exploration d'une hémolyse compensée, d'une anomalie de l'héogramme (pseudopolycythémie microcytaire hypochrome), elle peut être réalisée en vue d'un bilan d'aptitude chez le militaire, d'un bilan préopératoire ou d'un dépistage néonatal chez un sujet appartenant à une population à risque. Enfin il peut s'agir d'une enquête familiale à la suite de la mise en évidence d'une anomalie de l'hémoglobine chez un membre de la famille.

Prélèvement

Le prélèvement se fait en général sur EDTA, parfois sur héparinate de lithium. L'utilisation d'ACD (adénine citrate dextrose) comme anticoagulant permet une meilleure conservation de l'échantillon. Un volume de 5 mL de sang est suffisant pour une étude de l'hémoglobine par les techniques de première intention. Le sang total se conserve huit jours environ au réfrigérateur, 1 mois à -20°C et quelques mois à -80°C , cependant la suspicion d'une hémoglobine instable doit faire réaliser les analyses dès la réception du prélèvement.

L'étude des hémoglobines doit se faire à distance (4 mois) de toute transfusion et en l'absence de carence martiale de préférence. En effet lors d'une carence martiale, la fraction A2 de l'hémoglobine est la première touchée. Cette carence peut donc masquer une bêta thalassémie hétérozygote ou conduire à évoquer à tort la présence d'une alpha thalassémie mineure. Lors de la recherche d'une hémoglobinose, l'exploration peut être réalisée même en présence d'une carence martiale.

Une demande d'étude de l'hémoglobine doit s'accompagner de renseignements cliniques tels que l'origine géographique du sujet, les circonstances motivant l'examen, les statuts martial et transfusionnel du patient, les résultats de la numération formule si non pratiquée dans le même laboratoire.

Les examens disponibles en urgence

Il s'agit d'examens peu coûteux, facilement réalisables dans des laboratoires peu équipés, de mise en œuvre rapide. Ces examens sont facilement disponibles en zone tropicale.

En urgence il s'agit d'identifier la présence d'hémoglobine S. Pour cela deux tests sont disponibles : le test d'Emmel et le test d'Itano (3). Ces deux tests sont basés sur la mise en évidence de la précipitation de l'hémoglobine S lorsqu'elle est désoxygénée. L'utilisation d'un réactif réducteur permet d'accélérer *in vitro* cette désoxygénation.

Dans le test d'Emmel, une goutte de sang du patient est mise en présence d'une goutte de métabisulfite de sodium à 2%. Le mélange est recouvert d'une lamelle lutée à l'aide de paraffine ou de vernis à ongle incolore pour éviter les échanges

gazeux. La lame est alors observée au microscope au grossissement 40. Après 30 minutes, l'hémoglobine S désoxygénée précipite, les hématies prennent une forme de faux ou de croissant (figure 1). La précipitation est moins rapide (1 à 2 heures) chez les sujets hétérozygotes.

Le test d'Itano (3) se pratique sur un hémolysat d'hémoglobine ajusté à 4%. En présence d'hydrosulfite de sodium, l'hémoglobine S précipite. Après centrifugation, on observera donc un culot rose et un surnageant limpide en présence d'hémoglobine S. En l'absence d'hémoglobine S, le surnageant sera rouge. Ce test doit être réalisé parallèlement sur un témoin normal et idéalement sur un sang témoin contenant de l'hémoglobine S, ce qui n'est pas toujours réalisable en pratique. Ce test n'est pas spécifique de l'hémoglobine S. Il conduit à la précipitation des hémoglobines instables notamment l'hémoglobine H. Mais ces deux hémoglobines anormales sont bien séparées en électrophorèse à pH alcalin (figure 2). De plus leur zone de répartition est différente : l'hémoglobine S est présente en Afrique, l'hémoglobine H, plutôt en Asie.

Les résultats obtenus par ces tests doivent être interprétés avec prudence : en effet, en présence d'une proportion importante d'hémoglobine fœtale, chez le nourrisson de moins de six mois en particulier ou en présence d'une pathologie responsable d'une augmentation de l'hémoglobine F, ils peuvent être pris en défaut (4).

Les techniques séparatives

Le but est de séparer et de quantifier les différentes hémoglobines. Le dosage de l'hémoglobine A2 est utile pour le diagnostic des thalassémies mineures, alpha ou bêta.

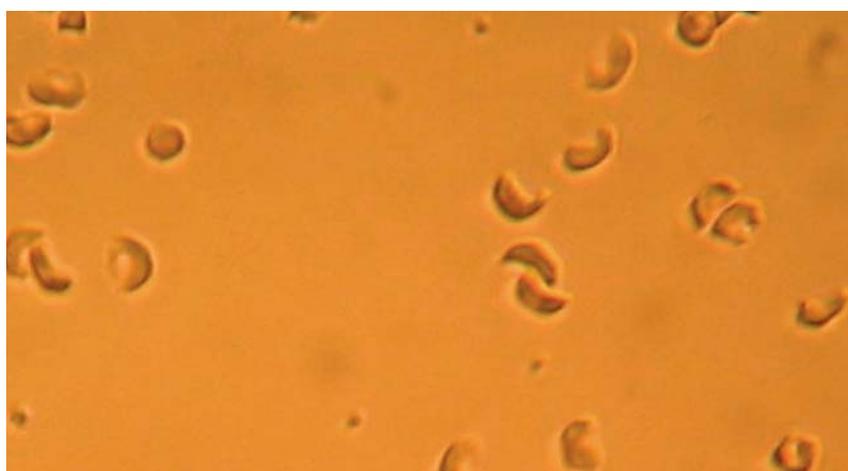


Figure 1. Test d'Emmel. Aspect en faucille des hématies (microscope X40).

En France, il est recommandé (5) de pratiquer deux techniques séparatives différentes (électrophorèse et chromatographie liquide haute performance ou HPLC) car un profil normal que ce soit en HPLC ou en électrophorèse n'élimine pas la présence d'un variant ; d'autre part plusieurs variants peuvent avoir la même migration. Cependant pour des laboratoires non spécialisés ou dans les pays en développement, l'HPLC n'est pas toujours disponible.

Pour des laboratoires généralistes, l'examen de choix est l'électrophorèse à pH alcalin. Il est indispensable de déposer sur la plaque d'électrophorèse un témoin normal et un ou plusieurs témoins contenant des fractions anormales (F, S, C par exemple). Il peut s'agir de solutions commerciales. Il est également possible d'utiliser un hémolysat de patient préalablement identifié. La présence d'une fraction anormale pourra conduire à pratiquer une électrophorèse à pH acide.

En Afrique, le variant le plus fréquemment retrouvé est l'hémoglobine S, bien séparé de l'hémoglobine A1 en électrophorèse à pH alcalin. La pratique d'une électrophorèse à pH alcalin et d'un test d'Emmel par exemple peut suffire à porter le diagnostic, si le test d'Emmel est positif.

Les augmentations de l'hémoglobine A2 sont facilement mises en évidence par l'électrophorèse de zone, mais cette technique n'est pas adaptée à la mise en évidence des diminutions de l'hémoglobine A2 ni à la quantification de faibles taux d'hémoglobine F.

La chromatographie liquide haute performance, l'électrophorèse capillaire (6, 7) sont des techniques plus résolutive pour séparer les hémoglobines et permettent une bonne quantification de l'hémoglobine A2 et de l'hémoglobine F.

L'isoélectrofocalisation est une électrophorèse pratiquée sur un gel contenant un gradient de pH. Les molécules s'immobilisent quand elles atteignent le pH correspondant à leur point isoélectrique (8). Il s'agit d'une technique très résolutive, permettant l'identification d'un plus grand nombre de variants qu'en électrophorèse classique mais qui ne permet pas la quantification des fractions.

Dosage de l'hémoglobine F

Le dosage de l'hémoglobine F sera idéalement pratiqué par une technique chromatographique (8) ou par électro-

phorèse capillaire (6-8). Il est également possible d'utiliser des techniques spectrophotométriques basées sur la résistance de l'hémoglobine F à la dénaturation alcaline, accessibles à tous les laboratoires (9) et valables si la proportion d'hémoglobine F est inférieure à 15%.

Recherche d'hémoglobine instable

La recherche d'hémoglobine instable doit être pratiquée très rapidement après le prélèvement. Le test de précipitation à l'isopropanol (10), facile à mettre en œuvre, est basé sur la diminution de stabilité de l'hémoglobine en milieu de polarité réduite. Il est pratiqué sur un hémolysat à 4% d'hémoglobine. En présence d'isopropanol à 17% (v/v) et à 37°C, l'hémoglobine A précipite en 50 minutes environ alors que les hémoglobines instables précipitent plus rapidement (entre 5 et 20 minutes).

Biologie moléculaire

La biologie moléculaire est utile à l'identification d'un variant rare, la différenciation d'une drépanocytose homozygote et d'une bêta 0 thalasso drépanocytose mais aussi parfois au diagnostic de certitude des alpha thalassémies mineures. Seuls des laboratoires spécialisés et agréés la pratiquent. Ces techniques de biologie moléculaire sont coûteuses et ne sont pas toujours accessibles dans les pays les moins avancés dans lesquels les examens sont à la charge du patient.

Interprétation

L'interprétation doit tenir compte de l'âge du sujet exploré, le pourcentage de chaque fraction variant avec l'âge chez le nouveau né. L'origine géographique du patient peut orienter le biologiste (tableau 1). Par exemple, devant une fraction anormale migrant en position S/D à l'électrophorèse à pH alcalin (figure 2 (11)) retrouvée chez un sujet d'origine africaine, il conviendra de pratiquer une recherche d'hémoglobine S. Devant une anémie très microcytaire chez un sujet du sud-est Asiatique et en l'absence d'anomalie à l'électrophorèse, il faudra évoquer la présence d'une hémoglobine H, instable, pas toujours retrouvée si l'analyse est faite à distance du prélèvement.

Les données de l'hémogramme sont souvent utiles pour l'interprétation des résultats ; ainsi, une pseudopolyglobulie microcytaire hypochrome doit faire évoquer la présence d'une thalassémie alors que le volume globulaire moyen est généralement dans les limites de la normale voire élevé dans les anomalies qualitatives de l'hémoglobine.

Cependant, dans certains états pathologiques associés, ces anomalies typiques de l'hémogramme peuvent être absentes. Ainsi, une macrocytose pourra être observée en présence d'une réticulocytose importante et une microcytose en présence d'une carence martiale. Chez le sujet thalassémique, la microcytose pourra être absente lors d'une carence en vitamine B9 ou en vitamine B12 (4), de traitement

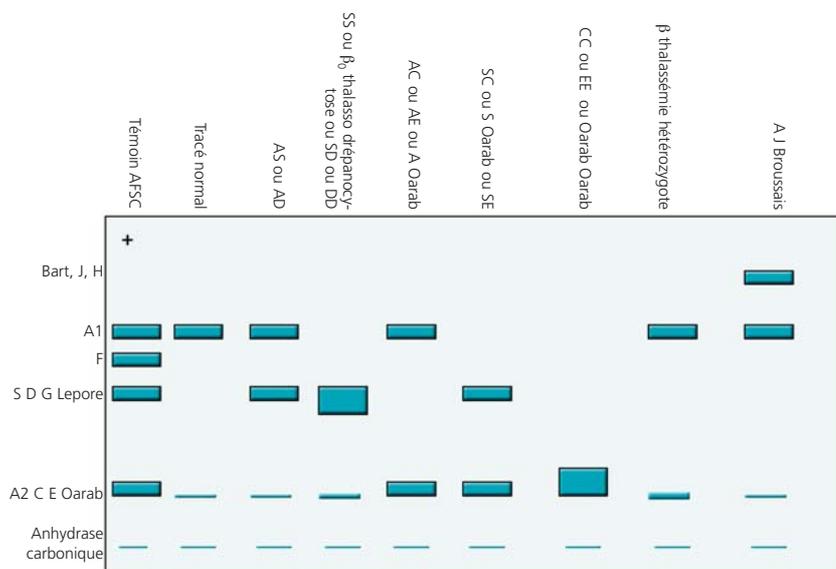


Figure 2. Electrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin, position des principaux variants (repris de (11))

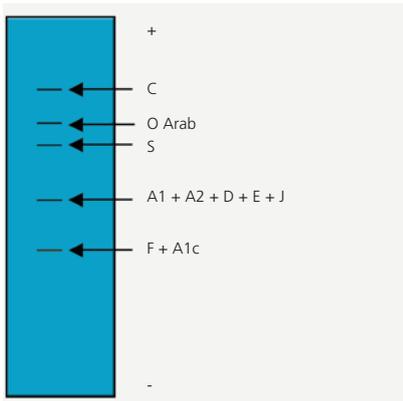


Figure 3. Position des principaux variants de l'hémoglobine en électrophorèse à pH acide (repris de (11)).

antirétroviral (4), et en général de toute pathologie accompagnée d'une macrocytose (alcoolisme par exemple).

Pour l'interprétation il faut toujours garder à l'esprit que :

- des hémoglobines anormales peuvent migrer de la même façon que les hémoglobines normales si la mutation n'entraîne pas de modification de la charge électrique globale de la molécule ;

- plusieurs types d'hémoglobine peuvent avoir la même migration électrophorétique à pH alcalin. C'est le cas de l'hémoglobine S qui co-migre avec l'hémoglobine D. C'est également le cas des hémoglobines C, E, O Arab qui migrent au même niveau que l'hémoglobine A2 (figure 2). Le biologiste doit alors mettre en œuvre des techniques complémentaires d'identification comme l'électrophorèse sur agarose à pH acide qui permet notamment de séparer les hémoglobines C des hémoglobines E et O Arab, les hémoglobines S des hémoglobines D (figures 3 et 4).

Schématiquement, l'absence d'HbA doit faire suspecter une anomalie majeure de l'hémoglobine : la présence exclusive d'HbF fait suspecter une bêta-thalassémie majeure ; la présence d'HbF et d'HbS fait suspecter un syndrome drépanocytaire majeur. La présence d'HbA en association avec une fraction anormale fait suspecter une hétérozygotie ou une anomalie mineure.

En règle générale, les sujets hétérozygotes présentent plus de 35 % de la fraction anormale, les sujets homozygotes présentent plus de 75 % de fraction anormale.

La présence d'une fraction inférieure à 20 % migrant en position S/D à l'électrophorèse à pH alcalin doit faire évoquer la présence d'une hémoglobine Lepore (crossing over entre les gènes bêta et delta de globine responsable de la synthèse d'une

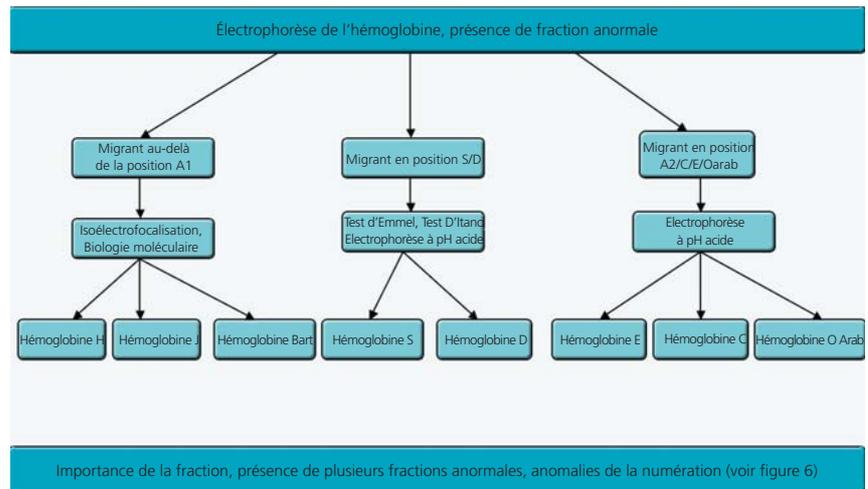


Figure 4. Arbre d'aide à l'identification des fractions anormales retrouvées les plus fréquemment à l'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin (11).

chaîne de globine anormale comportant une extrémité C-terminale de type bêta et une extrémité N-terminale de type delta).

• Cas des hétérozygotes composites ou double hétérozygotes

Un patient peut être porteur de plusieurs anomalies de l'hémoglobine. S'il est relativement aisé d'identifier les porteurs de deux anomalies qualitatives, il faut savoir évoquer l'association d'une Hb anormale et d'une thalassémie. Ainsi, une pseudopolyglobulie associée à la présence d'une fraction anormale à l'électrophorèse doit faire évoquer la présence d'une thalassémie associée (sauf pour les sujets porteurs d'une hémoglobine E parfois d'expression thalassémiant). Pour les anomalies portant sur les chaînes bêta de globine, un pourcentage d'hémoglobine A1 résiduelle inférieur à celui attendu pour une hétérozygotie simple, associé à une pseudopolyglobulie

microcytaire doit faire évoquer l'association à une bêta thalassémie. L'association à une alpha thalassémie doit être évoquée si le pourcentage de la fraction anormale est inférieur à celui attendu, en présence d'une pseudopolyglobulie microcytaire (figure 5).

• Interprétation des dosages d'hémoglobine A2

L'interprétation doit tenir compte des données hématologiques et du statut martial du patient (figure 6). Les taux d'hémoglobine A2 généralement retrouvés dans les principales hémoglobinopathies sont rapportés dans le tableau 1.

Certains sujets peuvent présenter une hémoglobine A2 dite particulière, c'est-à-dire présentant une mobilité électrophorétique différente. La présence d'une hémoglobine A2 particulière n'a pas de conséquence clinico-biologique.

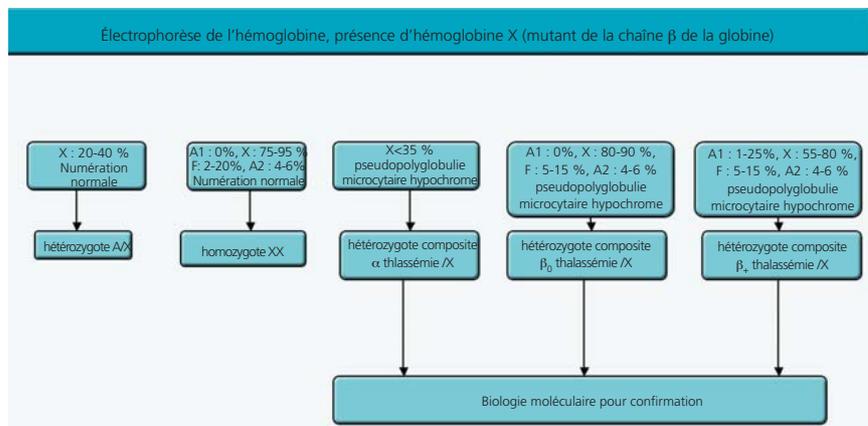


Figure 5. Arbre d'aide à l'interprétation de l'exploration de l'hémoglobine en présence d'un mutant bêta (S, C, E) (repris de (11)).

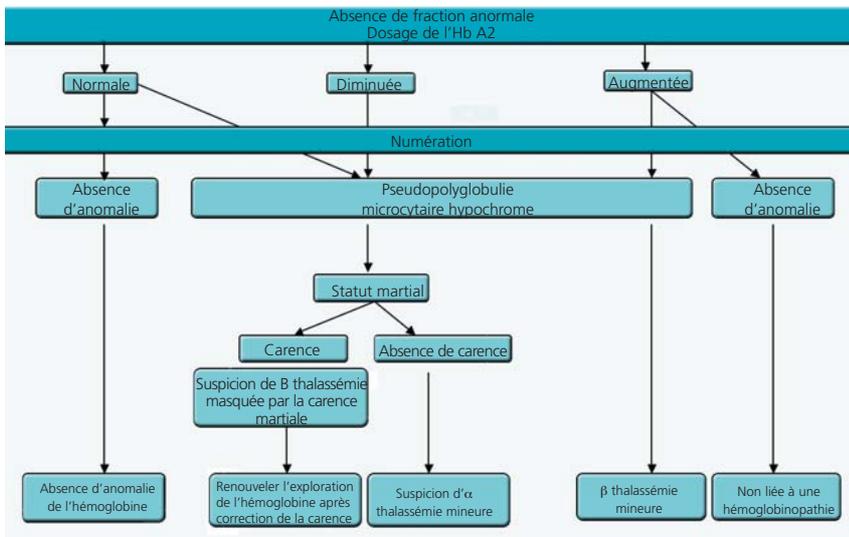


Figure 6. Arbre d'aide à l'interprétation du dosage de l'hémoglobine A2 (repris de (11)).

Cependant, en présence d'une hémoglobine A2 normale et d'une hémoglobine A2 particulière, les deux fractions doivent être additionnées pour obtenir le taux de A2 total (4).

En l'absence d'hémoglobinopathie, l'hémoglobine A2 peut être augmentée dans les hyperthyroïdies (12), l'infection par le VIH ou les traitements antirétroviraux (13) et les anémies mégalo-blastiques (12).

• *Interprétation des taux d'hémoglobine F*

Le pourcentage d'hémoglobine F est compris entre 70 et 85 % à la naissance, de 10 % à 6 mois et de 5 % à un an. La proportion d'hémoglobine F est de moins de 1 % à partir de 5 ou 6 ans et chez l'adulte.

En dehors des hémoglobinopathies, l'hémoglobine F peut être augmentée dans les syndromes myélodysplasiques, lymphoprolifératifs, les anémies

mégalo-blastiques, les pathologies thyroïdiennes (12) et lors de crise réticulocytaire, qu'elle fasse suite à une crise hémolytique aigue, à une hémolyse chronique, à une hémorragie ou à la reprise d'une érythropoïèse efficace lors d'une supplémentation vitaminique chez le carencé (fer, vitamine B12, folates).

Une élévation de l'hémoglobine F est également observée durant la grossesse.

Conclusion

En zone d'endémie, particulièrement en Afrique, il faut pouvoir diagnostiquer les syndromes drépanocytaires graves, en particulier la drépanocytose homozygote, en raison de sa fréquence et de sa gravité. L'examen le moins coûteux est dans ce cas, le test d'Emmel qui peut toutefois être pris en défaut en particulier chez le nourrisson. Les examens de première intention d'exploration de l'hémoglobine doivent être accessibles à tous les laboratoires de biologie médicale. Il convient de connaître les pièges du diagnostic des hémoglobinopathies en particulier lors de la présence d'anomalies associées pour pouvoir se référer à un centre spécialisé. ■

RÉFÉRENCES

1. Arnal C, Girot R. Drépanocytose chez l'adulte. *EMC-Hématologie* 2002; 13-006-D-16.
2. De Montalembert M. Syndromes thalassémiques. *EMC-Hématologie* 2002; 13-006-D-17.
3. Itano HA. Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. *Arch Biochem Biophys* 1953; 47 : 148-59.
4. Bain BJ. Haemoglobinopathy diagnosis: Algorithms, lessons and pitfalls. *Blood Reviews* (In Press). Corrected Proof.
5. Bardakdjian-Michau J, Dhondt JL, Ducrocq R, Galacteros F, Guyard A, Huchet FX *et al.* Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. *Ann Biol Clin* 2003; 61 : 401-9.
6. Jenkins M, Ratnaik S. Capillary electrophoresis of hemoglobin. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41 : 747-54.
7. Gulbis B, Fontaine B, Vertongen F, Cotton F. The place of capillary electrophoresis techniques in screening for haemoglobinopathies. *Ann Clin Biochem* 2003; 40 : 659-62.
8. Mario N, Baudin B, Aussel C, Giboudeau J. Capillary isoelectric focusing and high-performance cation-exchange chromatography compared for qualitative and quantitative analysis of hemoglobin variants. *Clin Chem* 1997; 43 : 2137-42.
9. Betke K, Marti HR, Schlicht I. Estimation of small percentages of foetal haemoglobin. *Nature* 1959; 184 : 1877-8.
10. Carrell RW, Kay R. A simple method for the detection of unstable haemoglobins. *Br J Haematol* 1972; 23 : 615-9.
11. Oliver M, Ragot C, Moalic J. Hémoglobinopathies: Diagnostic au laboratoire, pièges de l'interprétation Expérience de l'Hôpital d'Instruction des Armées Laveran. *Feuil Biol* 2008; 49 : 5-13.
12. North ML, Piffaut MC, Duwig I. Hémoglobinopathies: actualisation du diagnostic biologique. *Rev Franc Lab* 1995; 1995 : 107.
13. Wilkinson MJ, Bain BJ, Phelan L, Benzie A. Increased haemoglobin A2 percentage in HIV infection: disease or treatment? *Aids* 2007; 21 : 1207-8.
14. Rachmilewitz EA, Tamari H, Liff F, Ueda Y, Nagel RL. The interaction of hemoglobin O Arab with Hb S and beta+ thalassemia among Israeli Arabs. *Hum Genet* 1985; 70 : 119-25.
15. Zimmerman SA, O'Branski EE, Rosse WF, Ware RE. Hemoglobin S/O(Arab): thirteen new cases and review of the literature. *Am J Hematol* 1999; 60 : 279-84.
16. Vichinsky E. Hemoglobin e syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007: 79-83.