

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR,
DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION TECHNOLOGIQUE



FACULTE DE MEDECINE

Année 1995-1996

MÉMOIRE

pour l'obtention du

**CERTIFICAT D'ÉTUDES SPÉCIALES (C.E.S.)
HÉMATOLOGIE (BIOLOGIE)**

ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GLOBULES ROUGES AU COURS DE LA DREPANOCYTOSE

Présenté et soutenu le 23 Novembre 1996

Par Dr SALIOU DIOP

Responsable du CES : Professeur AMADOU Sangaré

Directeur de mémoire : Professeur AMADOU Sangaré

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I: RAPPELS HEMATOLOGIQUES	4
I- EPIDEMIOLOGIE	5
II- PHYSIOPATHOLOGIE	6
III- SIGNES CLINIQUES	9
IV- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	11
V- ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GLOBULES ROUGES	15
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	20
I- MATERIEL	21
II- METHODES	21
II-1 Technique d'étude: le frottis sanguin	22
II-2 Critères de jugement	24
II-3 Analyse des résultats	24

CHAPITRE III- RESULTATS	25
I- PRESENTATION DES PATIENTS SÉLECTIONNES	26
I-1 Age	26
I-2 Sexe	26
I-3 Type d'hémoglobinopathie	26
I-4 Motif de consultation	27
II- FREQUENCE GLOBALE DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES	28
II-1 Anomalies de la structure générale	28
II-2 Anomalies de taille, de forme, et de contenu	29
III- ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR EN FONCTION DU TYPE D'HEMOGLOBINOPATHIE	30
III-1 Anomalies de la structure générale	30
III-2 Anomalies de taille, de forme, et de contenu	31
IV- ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR EN FONCTION DES COMPLICATIONS	32
IV-1 Anomalies de la structure générale	32
IV-2 Anomalies de taille, de forme, et de contenu	33
CHAPITRE IV- DISCUSSION	35
CONCLUSION	39
BIBLIOGRAPHIE	42

INTRODUCTION.

La drépanocytose est une anomalie héréditaire de l'hémoglobine (Hb) dans laquelle le 6^e acide aminé de la chaîne bêta (l'acide glutamique, est remplacé par un résidu valine (6^{glu}→^{val})). L'Hb anormale est dénommée HbS.

C'est la plus fréquente des anomalies de l'Hb et elle frappe avec prédilection les sujets de race africaine.

Sur le plan génétique, l'anomalie correspond à une mutation d'une base du triplet du 6^e codon de la chaîne bêta, GAG remplacé par GUG.

Il existe plusieurs formes cliniques de drépanocytose:

- * la forme homozygote SS
- * la forme double hétérozygote SC
- * les formes associées à la Bêta-thalassémie:
 - SAFA₂ et SFA₂
- * la forme hétérozygote AS.

Le diagnostic biologique repose sur l'hémogramme, les tests de falciformation dont le plus important est le test d'Emmel et enfin l'électrophorèse de l'Hb.

L'examen morphologique des globules rouges sur frottis sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa constitue un bon élément d'orientation. Cependant, cette étape de l'hémogramme est le plus souvent négligée, à tort, par les praticiens de laboratoire.

L'objectif général de notre travail est de montrer l'intérêt que peut représenter l'examen morphologique des globules rouges au cours de la drépanocytose.

Pour ce faire, nous nous sommes fixés 3 objectifs spécifiques:

1. Décrire les aspects morphologiques des globules rouges au cours de la drépanocytose.
2. Corréler les anomalies morphologiques des globules rouges aux différentes formes de drépanocytose.
3. Corréler les anomalies morphologiques des globules rouges aux différents types de complications (hémolytiques, infectieuses, et vaso-occlusives).

Ce travail comportera 4 chapitres:

- Dans un premier chapitre, nous ferons un rappel sur la drépanocytose et sur l'examen morphologique des globules rouges.
- Dans un second chapitre, nous présenterons notre matériel d'étude et nos méthodes de travail.
- Les résultats seront présentés dans le 3^e chapitre.
- Le 4^e chapitre sera celui de la discussion de nos résultats.

CHAPITRE I:
RAPPELS
HEMATOLOGIQUES.

I- EPIDEMIOLOGIE

I-1 Fréquence

C'est l'hémoglobinopathie la plus fréquente au monde, plus de 100 millions de personnes atteintes (1).

I-2 Répartition géographique

La distribution de l'HbS est ubiquitaire mais les plus hautes fréquences se répartissent en 2 types de foyers:

- Les foyers originels où l'anomalie hémoglobinique a toujours existé. Ce sont:

- * l'Afrique noire
- * le sous continent indien
- * la péninsule arabique

En Afrique, il existe une zone comprise entre le 15^e parallèle nord et le 20^e parallèle sud appelée ceinture sicklémique de LEHMANN (3). Tous les pays compris dans cette ceinture ont une fréquence de plus de 10% de la population porteurs de l'HbS.

Hors de la ceinture sicklémique, les porteurs de l'HbS constituent 2% de la population. En Côte d'Ivoire, 12% de la population sont porteurs de l'HbS (4). La tare est plus fréquente au Nord, à l'Est, et au Centre. Elle est rare à l'Ouest.

- Les foyers secondaires: ce sont les régions peuplées de drépanocytaires par mouvement d'immigration; ce sont l'Amérique et l'Europe.

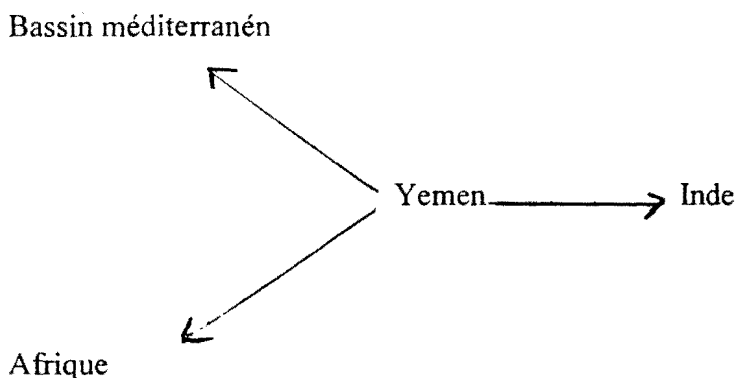
I-3 Mode de transmission

La transmission se fait selon le mode autosomal récessif. Ainsi, les 2 sexes sont également touchés. La maladie n'est symptomatique que dans sa forme homozygote et elle est totalement asymptomatique dans sa forme hétérozygote.

I-4 L'origine de l'HbS

Il existe 2 théories:

- La théorie de LEHMANN qui stipule que la drépanocytose serait née dans la péninsule arabique (au Yemen actuel). A partir de là, les migrations vont coloniser l'Inde, le Bassin méditerranéen, et l'Afrique via l'Ethiopie.



- La 2^e théorie stipule qu'il existe 2 foyers originels: l'Afrique et l'Inde. Cette théorie est actuellement appuyée par la biologie moléculaire.

II- PHYSIOPATHOLOGIE

Le fait physiopathologique fondamental est que l'HbS soit capable de se polymériser. Il se produit alors une déformation des hématies en drépanocytes, entraînant l'apparition du cortège de manifestations et de lésions pathologiques qui caractérisent la drépanocytose (5).

II-1 Phénomènes de gélification

Il correspond à la polymérisation des molécules d'Hb lorsque l'hématie est soumise à certaines conditions (Baisse de la PaO₂, l'acidose, l'augmentation de la température, et la déshydratation). Cette gélification est dans un premier temps réversible, puis elle devient irréversible.

II-2 La falciformation

C'est la déformation morphologique des globules rouges qui est une conséquence directe de la gélification. Le GR va prendre la forme de faucille (faucille = drépanos en grec). Cette falciformation est d'abord réversible, puis irréversible.

II-2-1 Facteurs favorisant la falciformation

Ce sont:- l'hypoxie

- l'acidose

- l'hyperthermie

- la déshydratation

- l'association de certaines hémoglobines avec l'HbS (l'HbC, Bêta-Thalassémie, HbO arab., HbE, HbC ziguinchor, Hb lepore)

II-2-2 Facteurs inhibant la falciformation

Ce sont: - l'oxygénation

- l'alcalose

- certaines Hb telles que l'HbA et l'alpha-thalassémie.

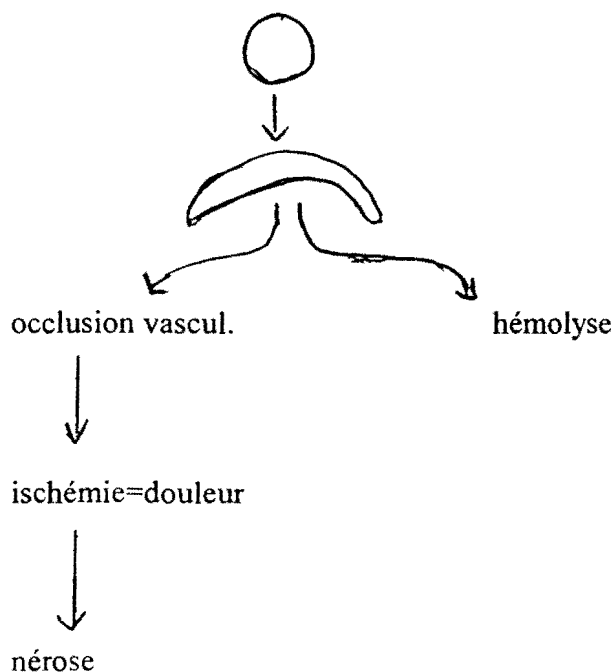
II-2-3 Conséquences de la falciformation

* Conséquences immédiates. Ce sont:

-L'altération membranaire du GR. Ainsi le GR va devenir rigide.

-L'occlusion vasculaire qui va intéresser les petits vaisseaux. Cette occlusion vasculaire va entraîner une ischémie dont la traduction clinique est la douleur. Lorsque l'ischémie se répète, il y a un risque d'infarctus ou de nécrose.

-L'hémolyse: les drépanocytes irréversibles sont piégés par la rate et détruits (hémolyse intra-tissulaire).



* Conséquences à long terme.

La répétition des crises vasculo-occlusives peuvent à la longue altérer certains tissus.

-L'altération de la rate entraîne une asplénie fonctionnelle. On assistera à un trouble de l'opsonisation vis à vis des germes encapsulés. Il s'en suit une susceptibilité aux infections (car la rate ne secrète plus assez d'Ig, de tuftisine, de fraction C₃ du complément, et de properdine; toutes ces substances intervenant dans la défense de l'organisme aux infections).

Les germes les plus fréquemment rencontrés sont le Pneumocoque, l'Haemophilus influenzae, et les Salmonelles.

-L'atteinte de l'os est à la source de nécroses qui intéressent le plus souvent la tête fémorale.

-Tous les autres organes peuvent être altérés: l'oeil, le rein, le poumon, etc...

III- SIGNES CLINIQUES

III-1 La forme homozygote SS

Les signes débutent aux alentours de 6 mois et évoluent en 2 phases:

***La phase intercritique (permanente)**

C'est un tableau d'**anémie hémolytique chronique** avec anémie, ictère ou subictère, et splénomégalie (Triade de Chauffard).

***La phase épisodique:**

C'est la **crise aiguë vaso-occlusive** qui va se traduire par une douleur.

-Le début de cette douleur remonte à l'enfance

-C'est une douleur épisodique qui disparaît avec ou sans traitement en moins de 10 jours.

-Il existe toujours un facteur déclenchant. Il s'agit de tout facteur susceptible d'induire une hypoxie, une acidose, une augmentation de la température ou une déshydratation.

Ces facteurs sont:

- * le froid, par le biais de la vaso-contriction et de l'hypoxémie.
- * l'effort physique intense ou prolongé par le biais de l'acidose.
- * la haute altitude par diminution de la pression artérielle en O₂ (PaO₂).
- * la fièvre quelque soit sa cause.
- * la déshydratation importante.

* certains médicaments (anesthésiques généraux, diurétiques à forte dose, certains vaso-constricteurs)

* la grossesse.

-Le siège de la douleur concerne les organes à vitesse circulatoire basse et varie selon l'âge:

. chez le nourrisson, la douleur siège au niveau des extrémités des membres: c'est le syndrome pieds-mains qui est un gonflement douloureux des extrémités des membres.

. chez l'enfant au-delà de 2 ans, les douleurs sont essentiellement abdominales et peuvent revêtir plusieurs formes (occlusion, invagination, appendicite).

. chez le grand enfant et l'adulte, les douleurs sont localisées au niveau des membres, du rachis, du bassin et du thorax (3).

L'évolution de la forme SS est émaillée de multiples complications (4) :

- Les complications anémiques qui sont:

. l'anémie aiguë (par des crises hémolytiques sévères, les crises de séquestration splénique et l'érythroblastopénie transitoire, ou syndrome de Owren Gasser, qui serait favorisée par le Parvovirus B₁₉).

. l'anémie chronique qui est une source de lithiase biliaire, d'ulcère de jambe ou de cardiopathie anémique etc...

- Les complications infectieuses: les germes les plus fréquemment rencontrés sont le pneumocoque, l'*haemophilus influenzae*, les salmonelles.

- Les complications ischémiques à type de nécroses osseuses (tête fémorale), d'atteinte oculaire ou de priapisme.

Le pronostic de la drépanocytose s'est beaucoup amélioré grâce à un dépistage précoce en période néonatale (16), et à une prise en charge régulière dans un centre spécialisé (7).

III-2 La forme double hétérozygote SC

Le début des signes cliniques est tardif: autour de 5 ans. L'anémie est absente, il n'y a pas de phase intercritique. Le tableau clinique se résume par des crises vaso-occlusives épisodiques.

Sur le plan évolutif, on n'observe ni complications anémiques ni complications infectieuses. Les seules complications sont d'ordre ischémiques et les plus fréquentes et les plus graves sont l'atteinte oculaire et la nécrose de la tête fémorale.

III-3 Les formes associées à la Bêta-thalassémie

On en distingue 2 formes:

- La forme **S-Bêta⁰ thalassémie: SFA₂**:

Elle est indentique à la forme SS sur le plan clinique et évolutif. Cependant, la splénomégalie est plus accentuée et plus durable.

- La forme **S-Bêta⁺ thalassémie: SAFA₂** :

C'est la moins grave des formes majeures et les signes débutent aux alentours de 8 ans. Elle ressemble à la forme SC tant sur le plan clinique qu'évolutif.

III-4 L'hétérozygote AS

C'est une forme totalement asymptomatique (14): les patients sont dits porteurs du trait drépanocytaire.

IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic repose sur 3 examens essentiels:

- l'hémogramme
- l'électrophorèse de l'hémoglobine
- les tests de falciformation.

VI-1 L'hémogramme

Il montre une anémie qui peut être modérée ou prononcée suivant le phénotype. Cependant, aucune particularité n'est observée au niveau des globules blancs et des plaquettes.

- La forme homozygote SS:

L'hémogramme met en évidence une anémie relativement prononcée avec un taux d'Hb entre 4 et 10 g/dl, toujours normochrome normocytaire, et fortement régénérative. L'étude morphologique des hématies sur frottis sanguin met en évidence une poïkilocytose et une anisocytose, et surtout la présence de nombreux drépanocytes (figure 1a). Parfois on note la présence de corps de Jolly et d'anneaux de Cabot traduisant une asplénie fonctionnelle, ou une érythroblastose qui est témoin d'une régénération médullaire.

- La forme double hétérozygote SC:

L'anémie est absente ou modérée et elle est hypochrome microcytaire.

Sur le frottis, on note la présence de cellules cibles et de drépanocytes (figure 1b).

- Les formes associées à la thalassémie:

Dans la forme S bêta⁰ thalassémie, l'anémie est toujours hypochrome microcytaire. On note sur le frottis les mêmes anomalies que dans la forme SS avec un peu plus d'annulocytes et de cellules cibles.

Par contre dans la forme S Bêta⁺ thalassémie, il n'y a généralement pas d'anémie, mais une hypochromie et une microcytose.

L'examen du frottis met en évidence des annulocytes et des cellules cibles (figure 1c).

- Le trait drépanocytaire AS:

L'hémogramme est strictement normal. Lorsque la forme AS est associée à une alpha-thalassémie, la microcytose est toujours présente.

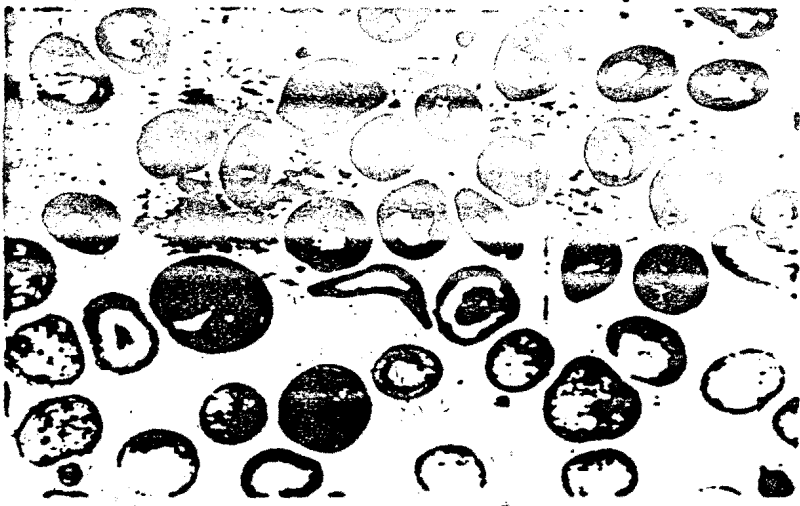


Fig 1b : SC

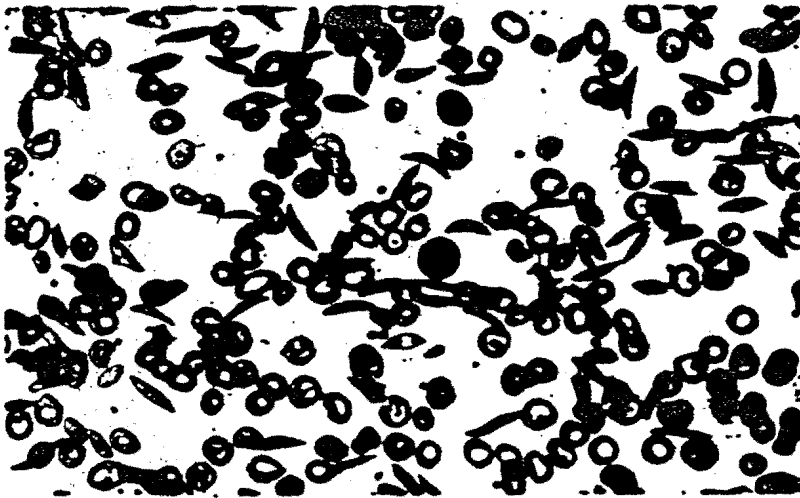


Fig 1a : Sujet SS

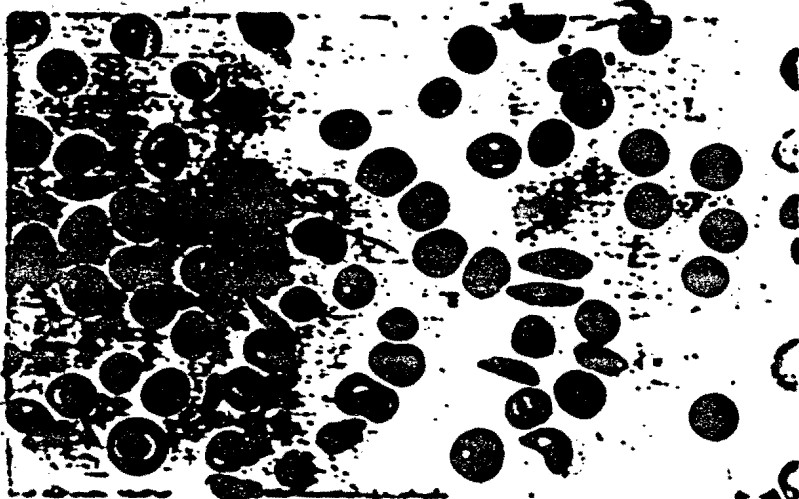


Fig 1c : SAFA₂

Figure 1. Anomalies morphologiques des GR

IV-2 L'électrophorèse de l'hémoglobine

C'est l'examen de certitude. Elle se fait d'abord à pH alcalin puis à pH acide (9).

-Dans les formes SS_{FA_2} , on a généralement un taux d'HbS > 80%, un taux d'HbF légèrement augmenté, le plus souvent < 20% et un taux de A_2 normal:

S ~ 80 %

F ~ 20 %

A_2 normale: 2 à 3 %

-Dans la forme SC, la fraction C équivaut à la fraction S, et il existe parfois une fraction F soit normale (0-1%), soit légèrement augmentée.

-Dans les formes associées à la Bêta-thalassémie :

.La forme S Bêta₀ thalassémie SFA_2 est caractérisée par un taux d'HbS d'environ 80%, un taux d'HbF > 20% et une HbA_2 normale (2 à 3%) ou augmentée.

S ~ 80%

F > 20%

A_2 = 2-3% ou augmentée.

.La forme S Bêta⁺ thalassémie $SAFA_2$ est caractérisée par un taux d'HbS compris entre 47 et 77%. L'HbA entre 15 et 25%, l'HbF entre 4 et 20% et enfin, l'HbA₂ est légèrement augmentée entre 4 et 8%.

S = 47-77%

A = 15-25%

F = 4-20%

A_2 = 4-8%.

-Dans la forme hétérozygote AS, le taux d'HbA est supérieur à celui d'HbS qui lui-même est supérieur à 35%. $A > S > 35\%$.

Si le taux d'HbS est inférieur à 35%, il faut rechercher une microcytose à l'hémogramme car il peut s'agir d'une Alpha-thalassémie associée à une hétérozygotie AS.

IV-3 Les tests de faciformation

Ils ont pour principe général l'induction de la falciformation des globules rouges portant l'HbS dans le sang. Ce sont des tests de confirmation de l'hétérozygote AS mais ne peuvent préjuger du phénotype. Selon l'inducteur on peut avoir:

-Le test d'Emmel: l'inducteur est le métabisulfite de sodium à 2%.

-Le test de Scriven et Vaugh: l'inducteur est ici l'hypoxie. On attache un garrot au doigt du malade et on laisse celui-ci se cyanoser.

Le prélèvement d'une goutte de sang au bout du doigt observé au microscope entre lame et lamelle, montre des drépanocytes.

V. ETUDE MORPHOLOGIQUE DES GLOBULES ROUGES

L'étude cytologique des éléments du sang est en général réalisée après étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre et coloration. Celle-ci est choisie de façon à teinter différemment le noyau, le cytoplasme et ses inclusions selon le principe des colorations dites panoptiques.

C'est un examen capital dans l'étude des anémies, car il permet une orientation étiologique.

Chez un sujet normal, toutes les hématies ont la même taille et la même forme. Les hématies apparaissent comme des cellules anuclées de 7 à 9 microns de diamètre en forme de disque biconcave, d'où leur pâleur centrale sur les frottis.

On distingue plusieurs types d'anomalies morphologiques des globules rouges.

V-1 Anomalies de la structure générale

- La taille: on réalise une étude comparative de la taille des globules rouges, et lorsque les globules sont de taille différente, on parle d'ANISOCYTOSE.

- La forme: lorsque les globules rouges sont de forme différente, on parle de POIKILOCYTOSE.

- La coloration: lorsque les globules rouges sont de coloration différente, on parle d'ANISOCHROMIE.

- Les rouleaux érythrocytaires: ce sont des hématies empilées les unes sur les autres comme des piles d'assiettes. Ils sont présents en cas d'hyperprotidémie.

V-2 Anomalies de taille

-*Annulocyte*: globule rouge de petite taille, insuffisamment chargé en hémoglobine avec une couronne réduite et un centre clair plus important.

C'est l'anomalie principale des anémies hypochromes microcytaires, dont les causes sont:

- . anémie par carence en fer
- . anémie inflammatoire
- . thalassémies
- . hémoglobinoase C

-*Sphérocyte*: c'est une hématie de petite taille uniformément colorée.

Dans la sphérocytose héréditaire, ou maladie de Minkowski Chauffard, au moins 30% des hématies sont des sphérocytes.

Un pourcentage de sphérocytes inférieur à 30% se retrouve dans les anémies hémolytiques.

-*Macrocyte*: c'est une hématie de grande taille uniformément colorée. Cette anomalie se retrouve dans les anémies macrocytaires et dans les myélodysplasies.

V-3 Anomalies de forme

- Les drépanocytes sont des cellules en forme de faucille. Ils se voient dans la drépanocytose.

- Les ovalocytes ou elliptocytes sont des hématies qui ont une forme elliptique ou ovale. Elles se rencontrent au cours de l'elliptocytose héréditaire qui est la seule anomalie de membrane chez le Noir.

Lorsque leur taux est inférieur à 30% des hématies, on devra éliminer un artéfact avant de rechercher d'autres causes possibles telles que les anémies par carence martiale, les myélofibroses et les anémies mégaloïdiques.

- Les schizocytes sont des hématies fragmentées, et se rencontrent dans certaines anémies hémolytiques congénitales, ou d'origine mécanique (microangiopathie, valves cardiaques).

- Le dacrocyte est une hématie ayant la forme d'une goutte de larme. Il se retrouve dans les syndromes myéloprolifératifs en général et plus particulièrement dans la splénomégalie myéloïde.

- L'échynocyte: ce sont des hématies dont la membrane est hérissée de fines spicules. Leur présence est liée soit à un artéfact (frottis longtemps séché), soit à un déficit en pyruvate kinase.

- L'acanthocyte: leur membrane est également hérissée de spicules mais qui sont plus profondes que celles de l'échynocyte. Leur présence témoigne soit d'un artéfact, soit d'un trouble du métabolisme des phospholipides.

- Les stomatocytes sont des globules rouges dont le centre a une dépression leur donnant une forme d'orifice buccal.

V-4 Anomalies du contenu

V-4-1 Après coloration ordinaire.

- Les hématies en cible ou "target cells", ont une mince couronne hémoglobinique entourant un centre pâle ou à peine coloré. Elles invitent à rechercher soit une thalassémie

(où l'association cellules cibles+annulocytes est caractéristique), soit une hémoglobinose C,E ou O Arab.

- Les corps de Howell-Jolly sont des petits reliquats nucléaires facilement visibles dans l'hématie. On les rencontre après splénectomie ou en cas d'asplénie fonctionnelle telle que réalisée dans la drépanocytose.

- L'anneau de cabot: il s'agit de la persistance de la membrane nucléaire à l'intérieur de l'hématie. Il reconnaît les mêmes causes que les corps de Howell-Jolly.

- Les hématies à punctuations basophiles sont des hématies contenant de petits points basophiles, épais, de taille variable. On les retrouve dans les intoxications saturnines et dans les dysérythropoïèses dont elles constituent un bon signe d'orientation.

- Les hématies polychromatophiles ont une alternance dans leur cytoplasme de zones acidophiles et de zones basophiles. Ce sont des hématies très jeunes, proches ou égales au réticulocyte. Elles se voient dans les anémies hémolytiques très régénératives.

- Les hématies contenant un parasite: ce parasite pouvant être un plasmodium, un trypanosome etc...

V-4-2 Après coloration spéciale.

- *Le bleu de crésyl brillant.*

Cette coloration permet de rechercher des réticulocytes qui sont des hématies jeunes, de grandes taille, à cytoplasme polychromatophile et contenant des formations granulo-filamentées qui sont des restes d'ARN.

- *Le sulfate de Bleu de Nil ou la coloration à la phénylhydrazine.*

Ces deux colorations permettent la recherche des corps de Heinz qui sont des précipités d'hémoglobine sous forme de granulations bleues, marrons ou jaunes.

Ces corps de Heinz se rencontrent dans: - le déficit en G₆PD.

- l'alpha-thalassémie

- les hémoglobines instables.

- *La coloration au Bleu de Prusse ou à la ferrocyanure de potassium.*

Cette coloration recherche des granules de fer dans les hématies: ces hématies s'appellent alors des sidérocytes. Elles se voient dans les états d'hypersidérémie (thalassémie, anémie sidéroblastique).

CHAPITRE II:
MATERIEL ET
METHODES.

I. MATERIEL

Cette étude a concerné 110 patients recrutés dans le service d'hématologie clinique du C.H.U. de Yopougon (consultation et hospitalisation), entre le 1^{er} Février et le 31 Mai 1996 (soit 4 mois).

I-1 Critères d'inclusion

-Patient atteint d'une des 4 hémoglobinopathies majeures: Drépanocytose homozygote SS, double hétérozygote SC, et Bêta thalasso-drépanocytose S Bêta⁺ thalassémie (SFA₂) ou S Bêta₀ thalassémie (SFA₂).

-Le diagnostic de ces hémoglobinopathies a été porté par l'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin et acide éventuellement aidée d'un hémogramme, d'un test d'Emmel, et d'une enquête familiale.

-Le motif de la consultation était soit un rendez-vous pour un contrôle (consultation régulière), soit une crise vaso-occlusive, soit une complication infectieuse, soit une crise hémolytique.

I-2 Critères d'exclusion

Nous avons exclu les patients présentant une crise mixte (association de plusieurs types de complications: infectieuses, vaso-occlusives, et/ou hémolytiques)

II. METHODES

Il s'est agi d'une étude prospective et ouverte. Nous avons voulu apprécier les anomalies morphologiques des globules rouges sur frottis sanguin au cours des hémoglobinopathies.

Pour ce faire, tous nos patients ont bénéficié d'un prélèvement sanguin sur tube avec l'EDTA comme anticoagulant, en vue d'une numération globulaire et d'un frottis sanguin coloré au May-Grunwald-Giemsa.

II-1 Technique d'étude: le frottis sanguin

* Confection du frottis

- Matériel:

. les lames et les lamelles doivent être propres et parfaitement dégraissées. Pour cela, il faut les tremper dans un mélange alcool-éther et les essuyer avec un linge fin.

. les étais sont des lames de verre mûle, épaisses la plus étroites que les lames ordinaires à bords extrêmement rodés.

. un vaccinostyle ou une lanette peuvent être utilisés pour le prélèvement sanguin capillaire, c'est-à-dire fait de sang "natif", non anticoagulé, obtenu par effraction de la barrière cutanée.

- Technique:

. recueillir une petite goutte de sang sur une lame, à un centimètre environ de son extrémité

. tenir l'étaioir incliné à 45° .

. l'appuyer sur la lame par un de ses côtés

. le rapprocher de la goutte de sang

. attendre que la goutte de sang fuse par capillarité contre l'étaioir

. pousser l'étaioir en entraînant la goutte qui s'étale: ce mouvement doit être lent et régulier (figure 2 gauche). Certains auteurs préfèrent étirer la goutte en l'écrasant avec l'étaioir (figure 2 droite).

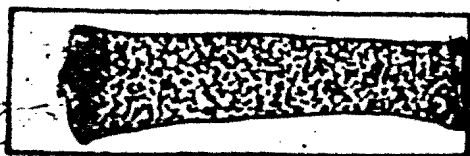
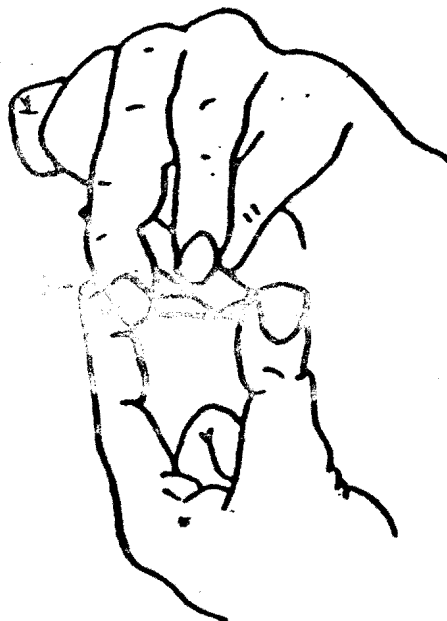
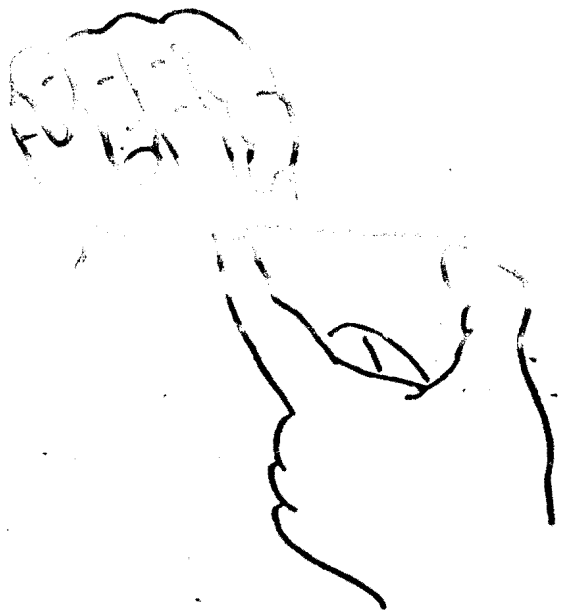
. le frottis terminé doit être séché par agitation rapide.

Un bon examen cytologique impose l'obtention d'un frottis parfait: mince, régulier, et complet.

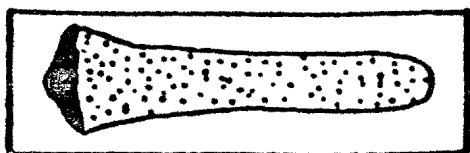
* Coloration du frotis

-Fixation: le frottis est placé dans une boîte de Pétri. Il est recouvert de May-Grunwald (x gouttes par exemple). La boîte de Pétri est refermée et on laisse agir cette solution méthylique de colorant pendant 3 minutes.

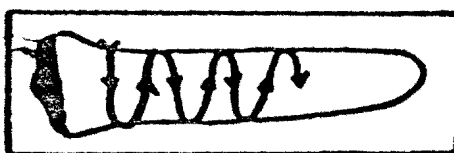
-Première coloration: on ajoute sur le colorant de l'eau distillée neutralisée (x gouttes par exemple). L'ensemble doit être homogénéisé et laissé en contact 1 à 2 minutes.



MAUVAIS
ETALEMENTS



ETALEMENT CORRECT



EXPLORATION "EN ZIG-ZAG"

FIGURE 1 - CONFECTION D'UN FROTTIS SANGUIN

-Deuxième coloration: le colorant de May-Grunwald est rejeté, et sans laver, le frottis est recouvert d'une dilution aqueuse de Giemsa préparée extemporanément (3 gouttes de giemsa dans 2 ml d'eau distillée neutralisée). Après 15 à 20 minutes de contact, on lave rapidement à l'eau ordinaire et on laisse sécher.

* Lecture du frottis

Il est recommandé de commencer d'abord à une lecture du frottis coloré à un faible grossissement, ce qui permet de juger de la coloration pour éventuellement la reprendre, et d'apprécier la distribution des cellules.

Par la suite, la lecture doit se faire à l'objectif à l'immersion x 100 dans une goutte d'huile.

II-2 Les critères de jugement

Nous avons apprécié:

-Les fréquences relatives des anomalies de la structure générale (poïkilocytose, anisocytose, anisochromie, et rouleaux érythrocytaires)

-Les anomalies de taille, de forme, et de contenu ont été jugées à partir d'un décompte de 1.000 hématies rapportées au 100.

-Les différentes anomalies morphologiques des globules rouges ont été appréciées

.d'abord globalement

.ensuite en fonction du type d'hémoglobinopathie

.enfin en fonction de l'existence ou non de complications (infection, hémolyse, ou crise vaso-occlusive).

II-3 Analyse des résultats

Toutes les données ont été recueillies et analysées sur le logiciel EPI-INFO version 5.0. (O.M.S./C.D.C). Les moyennes ont été calculées avec un intervalle de confiance à 95%. Pour le croisement des différentes variables, une valeur de p inférieure ou égale à 0,05 à été exigée pour que la différence soit significative. L'analyse de variance a été effectuée grâce au test de Kruskal-Wallis.

CHAPITRE III:
RESULTATS.

I- PRESENTATION DES PATIENTS

SELECTIONNES.

Sur les 110 patients sélectionnés, 95 frottis ont finalement pu être interprétés, et ont fait l'objet de notre étude. Les 15 autres frottis (13,6%) ont été exclus soit par le fait d'une mauvaise technique, soit par l'existence de nombreux artefacts.

I-1 Age des patients

L'âge était compris entre 1an et 43 ans, avec une moyenne d'âge de 13,26% (écart type = 8,38).

I-2 Sexe

49 patients étaient de sexe masculin, soit 50,5% alors que 47 cas étaient de sexe féminin soit 49,5%.

I-3 Type d'hémoglobinopathie

Les 4 types d'hémoglobinopathie majeure étaient représentés dans notre échantillon (tableau I).

Tableau I: Répartition selon le type d'hémoglobinopathie.

Type d'Hb	Nombre de cas	Pourcentage (%)
SAFA ₂	18	18,9
SC	26	27,4
SFA ₂	26	27,4
SS	25	26,3
Total	95	100

I-4 Motif de consultation.

La répartition des patients selon le motif de consultation est résumée dans le tableau II.

Tableau II: Répartition selon le motif de consultation.

Motif de consultation	Nombre de cas	Pourcentage (%)
Cons. régulière	29	30,5
Crise vaso-occlusive	27	28,4
Crise hémolytique	17	17,9
Infection	22	23,2
Total	95	100

II-FREQUENCE GLOBALE DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES.

II-1 Anomalies de la structure générale

Les anomalies de la structure générale sont représentées dans le tableau III.

Tableau III: Fréquence des anomalies de la structure générale.

Anom. struct. générale	Nombre de cas/ 95	Pourcentage (%)
Poïkilocytose	93	97,9
Anisocytose	89	93,7
Anisochromie	64	67,4
Rouleaux érythrocyt.	5	5,3

Remarques:

- Les anomalies de la structure générale les plus fréquentes sont respectivement la poikilocytose, l'anisocytose et l'anisochromie.

- La présence de rouleaux érythrocytaires est peu fréquente (5,3% seulement).

II-2 Anomalies de taille, de forme, et de contenu

Les valeurs moyennes des différentes anomalies morphologiques des GR sont représentées dans le tableau IV.

Tableau IV: Valeurs moyennes des anomalies morphologiques des GR.

Anom. morph.	Valeurs moyennes (%)	Ecart type
- Annulocyte	11,19	10,64
- Sphérocyte	0,97	2,35
- Macrocyte	2,01	4,01
- Drépanocyte	14,67	6,74
- Ovalocyte	1,95	3,15
- Schizocyte	2,70	3,50
- Dacryocyte	0,03	0,23
- Echynocyte	3,28	2,98
- Acanthocyte	0,17	0,71
- Cellule-cible	13,65	10,37
- Corps de Howell-Jolly	4,96	6,18
- Hématie à ponc. basoph.	0,00	0,00
- Hématie polychromatoph.	2,21	4,00
- Hématie + Plasmodium	0,67	1,87
- Anneau de Cabot	0,83	2,13
- GR normaux	40,71	20,29
Total	100	

Remarque: Les drépanocytes, les cellules-cibles, et les annulocytes sont les anomalies morphologiques des GR les plus fréquemment retrouvées sur le frottis.

III- ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR

EN FONCTION DU TYPE

D'HEMOGLOBINOPATHIE

III-1 Anomalies de la structure générale

Les fréquences relatives des anomalies de la structure générale en fonction du type d'hémoglobinopathie sont représentées dans le tableau V.

Tableau V: Fréquences relatives des anomalies de la structure générale en fonction du type d'hémoglobinopathie.

Type d'Hb/ Anom. morph.	SS (%)	SFA ₂ .(%)	SC (%)	SAFA ₂ .(%)
Poïkilocytose	100	100	92,3	100
Anisocytose	100	100	84,6	88,9
Anisochromie	92	76,9	38,5	61,1
Rouleaux eryth.	16	3,8	0	0

Remarques:

- La poïkilocytose est très fréquente quelque soit le type d'hémoglobinopathie.
- L'anisocytose et l'anisochromie sont plus fréquentes dans les formes anémiques (SS et SFA₂), que dans les formes non anémiques (SC et SAFA₂.)
- Les rouleaux érythrocytaires sont rares et ne sont retrouvés que dans les formes anémiques (SS et SFA₂).

III-2 Anomalies de forme, de taille, et de contenu des GR

Les valeurs moyennes de ces différentes anomalies en fonction du type d'hémoglobinopathie sont représentées dans le tableau VI.

Tableau VI: Valeurs moyennes des différentes anomalies morphologiques des GR en fonction du type d'hémoglobinopathie.

Anom. morph.	Valeurs moyennes en fonction du type d'hémoglobinopathie.			
	SS (%)	SFA ₂ . (%)	SC (%)	SAFA ₂ .(%)
Annulocyte	0,00	20,31	9,85	15,45
Sphérocyte	0,16	1,58	0,42	2,00
Macrocyte	5,60	1,46	0,50	0,00
Drépanocyte	21,04	14,15	11,81	10,22
Ovalocyte	3,40	2,50	0,50	1,22
Schizocyte	5,60	3,04	1,28	0,72
Dacryocyte	0,00	0,00	0,12	0,00
Echynocyte	5,48	3,62	1,81	1,89
Acanthocyte	0,24	0,42	0,04	0,17
Cellule-cible	0,68	23,77	15,39	14,83
C.de howell-Jo.	11,60	5,89	0,52	0,67
H.à ponc. baso.	0,00	0,00	0,00	0,00
H. polychroma.	6,04	1,88	0,15	0,33
H. cont plasm.	1,08	0,50	0,65	0,39
An. de Cabot	2,68	0,19	0,00	0,00
GR normaux	36,40	20,69	56,96	52,11
	100	100	100	100

Remarques: Les anomalies morphologiques les plus fréquentes sont:

-Pour la forme SS: les drépanocytes (21,04%), les corps de Howell Jolly (11,6%), les hématies polychromatophiles (6,04%), les macrocytes (5,6%), les schizocytes (5,6%).

-Pour la forme SFA₂ : les cellules-cibles (23,77%), les annulocytes (20,31%), les drépanocytes (14,15%), les corps de Howell-Jolly (5,89%).

-Pour la forme S₁: les cellules-cibles (15,39%), les drépanocytes (11,81%), et les annulocytes (9,85%).

-Pour la forme S₂SFA₂ : les annulocytes (15,45%), les cellules-cibles (14,83%), et les drépanocytes (10,22%).

IV- ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR **EN FONCTION DES COMPLICATIONS.**

IV-1 Anomalies de la structure générale

Les fréquences relatives des anomalies de la structure générale en fonction de l'existence ou non et du type de complication sont représentées dans le tableau VII.

Tableau VII: Anomalies de la structure générale en fonction de l'existence ou non et du type de complication.

Motif de cons./ Anom. morph.	Consultation régulière (%)	Crise hémolytique(%)	Crise vaso- occlusive (%)	Complications infectieuses (%)
Poïkilocytose	93,10	100	100	100
Anisocytose	89,6	100	96,2	90,2
Anisochromie	72,4	100	68,2	69,6
Rouleaux eryth.	0,00	29,4	0,00	0,00

Remarques:

- La crise hémolytique entraîne une augmentation des taux de poïkilocytose, d'anisocytose, d'anisochromie, et des rouleaux érythrocytaires.

- Les complications vasculo-occlusives et infectieuses augmentent le taux de poïkilocytose et d'anisocytose, mais n'influencent pas l'anisochromie et la présence de rouleaux érythrocytaires.

IV-2 Anomalies de taille, de forme, et de contenu des GR

Les valeurs moyennes de ces différentes anomalies en fonction de l'existence ou non et du type de complications sont représentées dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Valeurs moyennes des anomalies de taille, de forme, et de contenu des GR en fonction du type de complications.

Anom. morph.	Valeurs moyennes en fonction du type de complications.(%).			
	Consultation régulière.	Crise hémolytique.	Crise vaso-occlusive.	Complications infectieuses.
Annulocytose	11,03	7,29	14,66	11,68
Sphérocytose	1,44	1,50	0,33	0,68
Macrocytose	2,24	5,29	0,25	1,31
Drépanocytose	12,64	21,15	12,37	14,68
Ovalocyte	2,20	4,29	1,07	0,86
Schizocyte	3,20	7,47	1,13	2,27
Dacryocyte	0,00	0,00	0,11	0,00
Echynocyte	3,03	6,41	2,00	2,86
Acanthocyte	0,10	0,29	0,25	0,04
Cellule-cible	11,07	13,47	16,33	13,63
C.de howell-Jo.	4,89	6,35	2,04	4,45
H.à ponc. baso.	0,00	0,00	0,00	0,00
H. polychroma.	0,55	6,76	1,18	2,13
H. cont plasm.	0,00	0,29	0,00	2,78
An. de Cabot	1,13	1,37	0,25	0,63
GR normaux	46,48	18,07	47,63	42,00
Total	100%	100%	100%	100%

Remarques:

- En cas de crise hémolytique, il y a une réduction importante du nombre de GR normaux et d'annulocytes, alors que les drépanocytes, les macrocytes, les schizocytes, les hématies polychromatophiles et les ecchynocytes sont plus fréquents sur le frottis.

- La crise vaso-occlusive n'influence pas l'aspect du frottis sanguin.

- Le frottis sanguin a permis de mettre en évidence des plasmodiums chez quelques patients venus pour hyperthermie.

CHAPITRE IV:
DISCUSSION

Ce travail nous a permis d'apprécier les anomalies des GR au cours des hémoglobinopathies: d'abord globalement, ensuite en fonction du type d'hémoglobinopathie, et du type de complications. Les résultats obtenus suscitent des commentaires que nous allons exposer dans ce chapitre.

I- CONCERNANT LA TECHNIQUE DU FROTTIS SANGUIN

13,6% de nos frottis n'ont pu être interprétés pour cause, soit d'une mauvaise coloration, soit de l'existence de nombreux artéfacts. Même si le frottis sanguin est un examen simple, ce travail nous a permis de constater que sa réalisation doit cependant être entourée d'un certain nombre de précautions:

- le prélèvement: il est mieux de réaliser un prélèvement capillaire et d'éviter le contact du sang avec l'anticoagulant.

- le frottis doit être régulier, mince et bref.

- les colorants utilisés doivent être de bonne qualité. Sur les 15 frottis qui ont pu être interprétés, 11 ont été réalisés en fin de semaine avec les mêmes bacs de colorants ayant servi pour toute la semaine.

- la lecture devra se faire de préférence le plus tôt possible, et par un examinateur averti.

Ces précautions remplies, le frottis sanguin donne de précieux renseignements sur la morphologie des GR (1,2).

II- CONCERNANT LA FREQUENCE GLOBALE DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR.

Les anomalies de structure générale les plus fréquemment rencontrées sont par ordre: la poïkilocytose, l'anisocytose, l'anisochromie, alors que les rouleaux érythrocytaires sont rares. Les drépanocytes, les cellules-cibles, et les annulocytes sont les anomalies morphologiques des GR les plus fréquemment rencontrées au cours de ces hémoglobinopathies.

III- CONCERNANT LA FREQUENCE DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR EN FONCTION DU TYPE D'HEMOGLOBINOPATHIE.

Ces résultats concordent avec ceux de la littérature (4); en effet:

- La forme homozygote SS se caractérise par la présence de drépanocytes, de corps de Howell-Jolly, qui témoignent de l'hyposplénie fonctionnelle. La présence d'hématies polychromatophiles, de macrocytes et de schizocytes résulte de l'anémie hémolytique.

- Les cellules-cibles et les annulocytes sont très fréquents dans les formes bêta-thalasso-drépanocytaires. Leur présence est la conséquence de la réduction plus ou moins importante de la synthèse de l'hémoglobine A, proportionnellement au déficit de synthèse de la globine B.(13,10)

- La forme double hétérozygote SC se caractérise surtout par l'association de cellules-cibles, de drépanocytes, et d'annulocytes.

Ces différents aspects retrouvés au niveau du frottis sanguin permettant ainsi de s'orienter vers telle ou telle forme d'hémoglobinopathie, en attendant de réaliser une électrophorèse de l'hémoglobine.

IV- CONCERNANT L'INFLUENCE DES COMPLICATIONS SUR LES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES GR.

- La crise hémolytique se caractérise par l'accentuation de la poïkilocytose, de l'anisocytose, de l'anisochromie. Le nombre de GR normaux est réduit, alors que les drépanocytes, les macrocytes, les schizocytes, et les hématies polychromatophiles voient leur taux augmenter. L'ensemble de ces anomalies traduisent l'hémolyse et leur taux est proportionnel à l'importance de l'hémolyse (15). En plus de ces différentes anomalies, l'importance de

l'érythroblastose est également très évocatrice et traduit une régulation médullaire importante, mais qui n'arrive pas à compenser le degré de l'hémolyse (12).

Le décompte, de ces érythroblastes parmi les leucocytes par les appareils automatiques, est très souvent à l'origine d'une fausse hyperleucocytose qui doit être prise en compte pour l'interprétation de l'hémoграмme chez le drépanocytaire.

- La crise vaso-occlusive n'influence pas l'aspect du frottis sanguin. Elle est la conséquence d'une falciformation de l'hématie sous l'influence de certains facteurs comme l'hypoxie, la déshydratation, la fièvre, et l'acidose (5). Ces hématies en faucille entraînent une occlusion des petits vaisseaux, ce qui est à la source de la douleur. On peut donc comprendre que l'aspect du frottis sanguin ne soit pas très affecté à la phase aiguë de cette crise, mais probablement plus tard lorsque les hématies vont subir des cycles répétés de désoxydation-oxygénation avec altérations membranaires pour devenir des drépanocytes irréversibles

- Enfin, les complications infectieuses ne modifient pas l'aspect morphologique des GR. Cependant, le frottis a permis de mettre en évidence la présence de plasmodium dans quelques cas où l'hyperthermie était secondaire à un accès palustre. Ceci a permis un raccourcissement du délai du diagnostic, et un traitement plus rapidement institué. Nos résultats sont corroborés par ceux de HADDY (11) qui ne note qu'un fléchissement de l'Hb et des réticulocytes, sans variation significative de l'aspect morphologique des GR par rapport à ceux du drépanocytaire à l'état basal.

CONCLUSION

L'examen morphologique des globules rouges sur frottis sanguin coloré au May-Grunwald-Giemsa, constitue un bon élément d'orientation dans le diagnostic des hémoglobinopathies. Cependant, c'est un examen qui est le plus souvent négligé à tort par les praticiens du laboratoire.

L'objectif de notre étude était de montrer l'intérêt que peut représenter l'examen morphologique des globules rouges au cours de la drépanocytose.

Nous avons travaillé sur un échantillon de 110 patients recrutés dans le service d'hématologie clinique du CHU de Yopougon entre le 1^{ier} Février et le 31 Mai 1996 (soit 4 mois).

Trois aspects ont été étudiés:

1. Les aspects morphologiques des globules rouges au cours de la drépanocytose: l'étude a montré que les anomalies de la structure générale les plus fréquentes sont par ordre de fréquence: la poikilocytose (97,9%), l'anisocytose (93,7%), l'anisochromie (67,4%). Les autres anomalies sont représentées par les drépanocytes (14,67% de l'ensemble des cellules du frottis), les cellules-cibles (13,65%) et les annulocytes (11,19%).

2. La corrélation des anomalies morphologiques des GR en fonction du type d'hémoglobinopathie: l'étude a montré que si la poikilocytose est présente quelque soit le type d'hémoglobinopathie, l'anisocytose ainsi que l'anisochromie sont plus fréquentes dans les formes anémiques (SS et SFA₂) que dans les formes non anémiques (SC et SAFA₂). Les formes anémiques présentent en outre des anomalies des GR liées à l'asplénie fonctionnelle et à l'anémie.

La présence d'annulocytes, de cellules-cibles, et de drépanocytes est très caractéristique des formes associées à la Bêta-thalassémie.

3. L'influence des complications sur les anomalies morphologiques des GR: l'étude a montré qu'en cas de crise hémolytique, on assiste à une accentuation des anomalies morphologiques des GR proportionnellement au degré de l'anémie.

La crise vaso-occlusive ne modifie pas l'aspect du frottis sanguin.

Quant aux complications infectieuses, elles ne modifient pas l'aspect morphologique des GR, mais le frottis sanguin permet éventuellement de mettre en évidence des plasmodiums en cas d'infestation palustre.

Ainsi, l'étude morphologique des GR sur frottis sanguin reste un examen capital pouvant apporter d'importants éléments dans le diagnostic et le suivi de la drépanocytose dans toutes ses formes et à tous les stades de son évolution. Il importe que cet examen morphologique soit plus vulgarisé et que sa pratique soit plus courante pour éviter toutes les difficultés pouvant se rencontrer dans l'interprétation de ses résultats.

BIBLIOGRAPHIE.

1. BERCHEL et Coll.

Histoire naturelle de la drépanocytose.

Rev. Prat., (Paris). 1992. 42, 15.

2. DESSIS M.

Reinterprétation des frottis sanguins.

Masson, Paris, 1976.

3. CABANNES R., LONDORSFER J., SANGARE A.

La Drépanocytose.

Popul. Santé Trop. 1986; 21:1-5

4. CABANNES R., MAUNAR A., PENNORS H., NICOLAS C.

Hemoglobinopathies in the Ivory Coast.

A.J. Hum. Genet. 1974; 15:630-635.

5. CABANNES R., SANGARE A., GARNIERE A., KPLE-FAGET P., ABISSEY S.

Physiopathologie de la drépanocytose

Méd. d'Afr. Nre; 1981, 28,5:277-284

6. CAVILL I., RICKETTS C., et al.

Erythropoiesis and the effect of transfusion in homozygous B-thalassemia

New Engl.J. Med., 1978, 298: 776-781.

7. EZAN A.

Profil évolutif de la drépanocytose régulièrement suivie: Expérience du service d'hématologie clinique du CHU de Yopougon.

Thèse Med. N 08 . Année 1996-1997 Univ. de Cocody Côte d'Ivoire.

8. FABRITIUS H., SANGARE A., KPLE-FAGET F.P. et CABANNES R.

Les hémoglobinopathies anormales et la drépanocytose en Côte d'Ivoire.

Physiopath. Resp. 1983, 13: 382-383.

9. FABRITIUS H., et CABANNES R.

Méthode pour la détection et l'identification des anomalies structurales de l'hémoglobine.

Application en Afrique de l'ouest.

Médecine et Armées, 1983, II,3.

10. GALACTEROS F. et BEUZARD Y.

Thalassémies et Hémoglobinopathies anormales in Hématologie de Bernard Dreyfus

Ed Flammarion 1992, p 359-406.

11. HADDY T.B., LUSHER J.M. et al.

Erythropoiesis in sickle cell anemia during acute infection and crisis.

Scand. J. Haematol., 1979, 2: 289-294.

12. LESSIN L.S., BESSIS M.

Morphology of the erythron. in V.J William, F. Bentler, A.J. Erslev et al: Hematology

Mc Graw-Hill Book, New York, 2nd edition, 1977, p103.

13. MODELL B et al.

Haemoglobin synthesis in Beta-thalassemia.

Brit. J. Haematol., 1969,17: 4-9.

14. SANGARE A.

Traitement et prophylaxie de la crise aiguë drépanocytaire. A propos de 150 cas.

Thèse Médecine N^o 152, Année 1977-1978.

15. STEINBERG M.H., DREILING B.J., et al.

Sickle cell-anemia: erythrokinetics, blood volumes and study of possible determinants of severity.

Ann. J. Haematol., 1977, 2: 17-22.

16. VICTORINSKY et al.

Newborn screening for sickle cell disease: effect on mortality pediatrics.

Ann. of Pediat. 1988, 81: 749-755.