

# APPORT DU TEST DE KLEIHAUER DANS LE DIAGNOSTIC DES ANOMALIES QUANTITATIVES DE L'HÉMOGLOBINE

A.Y. SEGBENA\*, I. KUEVIAKOE\*, S. MOSSIYAMBA\*, A.K. MESSIE\*\*, A. VOVOR\*\*

## RÉSUMÉ

Il s'agit d'une étude réalisée de Septembre 1994 à Mai 1995 au laboratoire des hémoglobines du C.H.U. Campus de Lomé ayant pour objectif d'apprécier l'apport du test de Kleihauer dans le diagnostic des thalassémies et autres hémoglobines apparentées. 10 patients de sexe féminin et 5 de sexe masculin ont été inclus dans cette étude, ils avaient entre 4 et 42 ans avec une moyenne d'âge à 23 ans. L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin, l'hémogramme et le test de Kleihauer ont été réalisés chez chaque patient. Nos résultats montrent que la fraction A de l'hémoglobine est dans tous les cas supérieure à la fraction F confirmant ainsi la rareté des formes majeures de thalassémie en Afrique noire. La classification tenant compte des 3 paramètres étudiés a noté 3 cas de PHHF, 6 cas de bêta-thalassémie intermédiaire, 1 cas de bêta-thalassémie mineure et 5 cas de delta-bêta-thalassémie.

*Mots clés : test de kleihauer, bêta-thalassémie, persistance héréditaire de l'hémoglobine F (PHHF).*

## ABSTRACT

*Kleihauer test in the diagnosis of hemoglobin quantitative anomaly*

It's a study realised from September 1994 to May 1995 in the hemoglobin laboratory of Lome Campus teaching hospital in order to determine the contribution of Kleihauer test in the diagnosis of thalassemia and related abnormal hemoglobin. 10 femals and 5 males were included in this study, they have beetween 4 and 42 years old with an average at 23. Hemoglobin alkaline electrophoresis, blood cells count and Kleihauer test were performed in each patient. Our results showed that A fraction is superior to F fraction confirming the rarity of major thalassemia form in black Africa. The classification showed 3 cases of hereditary persistence of

**fœtal hemoglobin, 6 cases of intermediate beta-thalassemia, 1 case of minor beta-thalassemia and 5 cases of delta-beta-thalassemia.**

*Key-words : Kleihauer test, Beta-thalassemia, hereditary persistence of fœtal hemoglobin.*

## INTRODUCTION

L'hémoglobine constitue 33% du poids de l'hématie. Sa fonction essentielle est le transport des gaz du sang. La baisse du taux d'hémoglobine détermine un syndrome anémique. Les anémies hémolytiques congénitales posent un important problème de santé publique dans les pays en voie de développement où elles contribuent à la mortalité et à la morbidité (1). L'une des causes de ces anémies est la bêta-thalassémie qui existe en Afrique tropicale, sa fréquence varie de 0,3 à 2% selon CABANNES (2). Le test de Kleihauer, dont le principe est la résistance de l'hémoglobine fœtale aux solutions acide, est utilisé pour détecter la présence d'hémoglobine F dans les hématies. Cette étude a permis de préciser l'apport du test de Kleihauer dans le diagnostic des anomalies quantitatives de l'hémoglobine au C.H.U. de Lomé.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce travail a été réalisé dans l'unité d'électrophorèse et étude de l'hémoglobine du laboratoire du C.H.U. Campus. Il s'agit d'une étude prospective réalisée de Septembre 1994 à Mai 1995 portant sur 15 cas de thalassémie/PHHF diagnostiqués au C.H.U. Campus sur un total de 2734 électrophorèses de l'hémoglobine réalisées durant cette période.

Les patients sélectionnés sont ceux qui sont venus au laboratoire pour faire à la demande d'un médecin une électrophorèse de l'hémoglobine. Lorsqu'une augmentation de l'hémoglobine F et/ou A2 est constatée à l'électrophorèse,

\* Laboratoire d'Hématologie du C.H.U. CAMPUS

\*\* Laboratoire d'Hématologie du Service de Microbiologie du C.H.U. TOKOIN

le patient est convoqué pour un prélèvement de sang veineux sur tube contenant de l'EDTA pour des tests complémentaires à savoir hémogramme et test de Kleihauer.

**Electrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin :** la technique utilisée est celle des laboratoires HELENA dont le principe est fondé sur le déplacement d'ions ou de particules chargés en solution ou en suspension sous l'influence d'un champ électrique. Les protéines étant des corps amphotères, leur mobilité dépend du pH de la solution. Ainsi à pH alcalin, la protéine se comporte comme un acide et devient un donneur de proton; la protéine migre alors de la cathode vers l'anode et sa mobilité est dite négative.

**Hémogramme :** c'est l'étude quantitative et qualitative des éléments figurés du sang. L'étude quantitative est faite à l'aide d'un automate d'hémoglobine : appareil COULTER T 540. Le taux d'hémoglobine (Hb), le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ont été utilisés pour classer les bêta-thalassémies.

**Test de KLEIHAUER :** le principe est basé sur la non élution de l'hémoglobine F contenue dans les hématies en milieu acide (3). Le test utilise l'éthanol à 80% pour la fixation, une solution acide d'hématoxyline pour l'élution de l'hémoglobine A et de l'éosine à 0,5% pour la contre coloration. La lecture se fait à l'objectif 10 et 40 pour l'étude de la répartition des cellules contenant de l'hémoglobine F (cellules F) sur le frottis et à l'objectif 100 pour la numération des cellules F. Les globules rouges ne contenant pas l'hémoglobine F sont incolores, seul leur contour est visible. Ceux qui contiennent l'hémoglobine F sont nettement colorés en rouge ou rose. On parle de répartition hétérogène de l'hémoglobine F quand l'Hb F est présente dans certaines hématies seulement et de répartition homogène quand l'Hb est présente dans toutes les hématies. Le sang doit dater de 24 heures au plus. L'étalement fixé peut être conservé 8 jours à 4° C avant d'être coloré.

Les données recueillies ont été regroupées dans un dossier individuel comportant les données épidémiologiques (identité, sexe, âge) et les examens du diagnostic. L'analyse statistique a comporté le calcul de la moyenne et de l'écart type.

## RÉSULTATS

L'âge des patients a varié de 4 à 42 ans avec une moyenne de 23 ans et un écart type de 10,48. 73,33 % des patients étaient des adultes. 10 patients étaient de sexe féminin et 5 de sexe masculin.

L'électrophorèse de l'hémoglobine a noté la présence de la fraction A (taux variant entre 69,6 et 90%) chez tous les patients avec un pourcentage toujours supérieur à celui de la fraction F (taux variant entre 9,1 et 28,7%).

L'étude de l'hémogramme a concerné la lignée érythrocytaire et a noté : taux d'hémoglobine moyen de 11,7g/dl (8,7 - 15,1 g/dl, SD : 2,41), VGM moyen de 84,32 fl (59,2 - 90,7 fl, SD : 7,96), TCMH moyenne de 26,1 pg (17,1 - 29,3 pg, SD : 3,09), CCMH moyenne de 31,57 g/dl (28,9 - 33 g/dl, SD : 0,94). L'étude du frottis sanguin a noté une poïkilocytose, la présence de cellules cibles et d'annulocytes sur certains frottis. Le désordre hématologique absurde n'a pas été retrouvé.

Le test de KLEIHAUER a noté une répartition homogène dans 3 cas (20%) et une répartition hétérogène dans 12 cas (80%). L'analyse des différents résultats fournis par l'électrophorèse de l'hémoglobine, l'hémogramme et le test de KLEIHAUER a permis de réaliser une classification (tableau 1). Nous notons 3 cas de PHHF (20%), 6 cas de bêta-thalassémie intermédiaire (40%), 5 cas de delta-bêta thalassémie hétérozygote (33,33%) et un cas de bêta-thalassémie mineure (6,67%).

## DISCUSSION

Sur la période d'étude 2734 électrophorèses de l'hémoglobine ont été réalisées et il a été relevé 15 cas de  $\beta$ -thal / PHHF, soit 2,56% de l'ensemble dont 3 cas de PHHF (20%) et 12 cas de  $\beta$ + thalassémie (80%).

Les 12 cas de  $\beta$ + thalassémie se répartissent en 6 cas de  $\beta$  thal intermédiaire, 5 cas de  $\delta\beta$  thal hétérozygote et 1 cas de  $\beta$  thal mineure.

L'étude de l'hémoglobine a montré que chez tous les patients étudiés, la synthèse de la chaîne  $\beta$  n'est pas annulée ; par ailleurs on ne note aucun cas où la fraction F est plus élevée

en pourcentage que la fraction A. On a donc une électrophorèse de type AFA2, ceci confirme la rareté de la  $\beta$ -thalassémie majeure en Afrique noire (2). Cependant, CONDAT J.M. (4) trouve en Côte d'Ivoire à propos d'une étude de 11 cas de  $\beta$  thalassémie une électrophorèse de type FAA2. Que ce soit une électrophorèse de type AFA2 ou FAA2, la synthèse de la chaîne  $\beta$  n'est pas totalement annulée, confirmant ainsi les travaux de CABANNES (2) qui remarquent que chez le noir thalassémique la synthèse des chaînes  $\beta A$  n'est jamais totalement déprimée sauf dans certains cas de thalasso-drépanocytose.

L'étude de l'hémogramme a montré en cas d'anomalie une anémie microcytaire ou normocytaire normochrome ou hypochrome. Cette constatation est en concordance avec celle de CONDAT qui trouve une anémie hémolytique microcytaire ou normocytaire normochrome ou hypochrome, tandis que les données de l'O.M.S. (1) rapportent que dans la majorité des cas de  $\beta$ -thalassémie, il y a une anémie microcytaire hypochrome, ce qui est plus conforme aux données de la littérature. Cette discordance pourrait être expliquée par le faible nombre de cas de notre série, ceci ne permettant qu'une comparaison limitée.

La classification de  $\beta$  thalassémies est basée sur les résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine notamment le pourcentage des différentes fractions, l'hémogramme (VGM, TCMH, CCMH) et le test de KLEIHAUER(1,2,5). En cas de PHHF, la répartition de l'Hb F dans les hématies est homogène, tandis qu'en cas de  $\beta$  thalassémie, on note une répartition hétérogène.

Cette classification a montré :

- 3 cas de PHHF (20%)
- 12 cas de  $\beta$ - thalassémie (80%) avec :
  - \* 6 cas de  $\beta$  thalassémie intermédiaire (50%)
  - \* 5 cas de  $d\beta$  thalassémie hétérozygote (41,67%)
  - \* 1 cas de  $\beta$  thalassémie mineure (8,33%).

On note ainsi l'absence de forme homozygote de  $\beta$  thalassémie, ce hiatus avait déjà été remarqué par CABANNES et coll. (2) qui constataient que la thalassémie dans sa forme majeure reste très modeste parmi les africains de race noire.

Le gène  $\beta$ -thalassémique est présent au Togo et dans cette étude sa fréquence est de 2,45 %, ce pourcentage concorde avec celui de CABANNES qui trouve qu'au Togo, la fréquence de ce gène est de 2,4 à 9%. AMEGNIZIN (6) trouve sur une étude de 2684 sujets au Togo une fréquence de 3,4%.

L'incidence de ce gène en Afrique Noire se situe à peu près dans la même marge, ainsi on trouve 5 à 10 % au Bénin (2), 5% à Khartoum (2), 4 à 6 % au Libéria (7), 1,7 à 11 % au Ghana (8), 14% au Cameroun (2), 1 à 4 % au Tchad (2), 1% en Ouganda (2) et 2,3 à 11 % en Côte d'Ivoire (2).

Cette étude a montré aussi l'existence de la PHHF au Togo avec une fréquence de 0,1% soit 3 cas sur 2734 électrophorèses de l'hémoglobine ; cette PHHF apparaît dans sa forme hétérozygote, on note l'absence de forme homozygote. AMEGNIZIN (6) trouvait une fréquence de 3,3% de PHHF dans son étude. ORSINI (9) remarquait déjà que les noirs constituent la principale ethnie affectée par cette anomalie. La fréquence de 0,1% permet d'affirmer avec ORSINI qu'elle est nettement inférieure à la fréquence de la drépanocytose et de l'hémoglobinose C.

## CONCLUSION

Ce travail a permis d'apprécier l'apport diagnostique du test de KLEIHAUER en hématologie, test utile dans le diagnostic des  $\beta$ -thal/PHHF.

Il a contribué à une meilleure connaissance de l'aspect biologique de  $\beta$ -thal/PHHF.

La prévalence du gène  $\beta$ -thalassémique est de 2,45% contre 0,1% de PHHF, l'électrophorèse de l'hémoglobine est de type AFA2 dans l'ensemble, confirmant l'absence de formes majeures de  $\beta$ -thalassémie au Togo.

L'hémogramme a montré une anémie microcytaire ou normocytaire normochrome ou hypochrome. Dans les 15 cas étudiés, on a noté des cas de PHHF; de  $\beta$ -thalassémie notamment de  $\beta$ -thalassémie intermédiaire, de  $d\beta$  thalassémie et de  $\beta$ - thalassémie mineure ou trait thalassémique.

**Tableau I : Tableau récapitulatif et classification des  $\beta$ -thal/PHHF**

N°	Hb g/dl	VGM - fl	TCMH- pg	CCMH - %	Electrophorèse de l'Hb % des fractions		Kleihauer	Classification
					A	F		
1	10,7	83,6	26	31,2	A F A2	76,9 21,5 1,6	RHE	$\beta$ -thal intermédiaire
2	8,7	89,5	28,6	31,9	A F A2	84,7 13,4 1,9	RHE	d- $\beta$ -thal hétérozygote
3	12,4	90,7	29,3	32,3	A F A2	77 21,2 1,8	RHE	$\beta$ -thal intermédiaire
4	11,9	85,3	27,7	32,5	A F A2	90 9,1 8,9	RHE	trait $\beta$ -thal ( $\beta$ -thal mineure)
5	10,1	88,2	28,3	32,1	A F A2	85,5 13,3 1,2	RHO	PHHF hétérozygote
6	12,7	84,2	26,2	31,2	A F A2	86,1 11,8 2,1	RHE	d- $\beta$ -thal hétérozygote
7	15,1	81	27	33	A F A2	72,8 21,3 5,2	RHE	$\beta$ -thal intermédiaire
8	10	86,3	26,5	30,7	A F A2	69,6 28,7 1,7	RHE	$\beta$ -thal intermédiaire
9	10,3	86,3	26,8	31	A F A2	82,3 15,2 5,1	RHE	d- $\beta$ -thal hétérozygote
10	10,9	90	28	31,1	A F A2	70,4 24,5 5,1	RHE	$\beta$ -thal intermédiaire
11	13,9	87,4	28,3	32,3	A F A2	81,7 16,4 1,9	RHE	d- $\beta$ -thal hétérozygote
12	9,9	59,2	17,1	28,9	A F A2	84,2 14,3 1,5	RHO	PHHF hétérozygote
13	12,8	88,4	28	31,7	A F A2	79,4 17,6 3	RHE	d- $\beta$ -thal hétérozygote
14	11	91	22	32	A F A2	83,6 14,2 2,2	RHO	PHHF hétérozygote
15	12,2	73,7	23,3	31,6	A F A2	74,5 24,2 1,3	RHE	$\beta$ -thal intermédiaire

RHO = Répartition Homogène; RHE = Répartition Hétérogène

**BIBLIOGRAPHIE**

- 1 - D.WEATHERALL.  
Anémies héréditaires bases génétiques, caractéristiques cliniques diagnostic et traitement.  
Bulletin de l'O.M.S. 61-(2). Genève, O.M.S., 1983 : 179-198.
- 2 - R.CABANNESZ.  
La bêta-thalassémie de l'africain.  
Ann.Univ.Abidjan, Série B (Med) 1987, tome XI.
- 3 - Y.BROSSARD.  
Dépistage, prévention des incompatibilités fœo-maternelles érythrocytaires : rôle du biologiste.  
Eurobiologiste Sept.Oct.1993 : 207
- 4 - J.M.CONDAT.  
La bêta thalassémie intermédiaire. Aspects particuliers à propos de 11 cas recensés en Côte d'Ivoire.  
Méd.d'Afrique Noire, 1980, 27 (5) : 461-470.
- 5 - R.PERELMAN.  
Conférence de pathologie médicale hématologie V. Paris, Maloine et Cie Ed.1973.
- 6 - K.P.E.AMEGNIZIN.  
Les anomalies de l'hémoglobine au Togo. Étude de 2684 sujets.  
Rev. des sciences Med. et Biologiques du Togo Sept 1981, 2 (5).
- 7 - J.V.NEEL, A.R.ROBINSON, W.W.ZVELZER et coll.  
The frequency of evaluation in the A2 and fetal hemoglobin fractions in the native of Liberia.  
Am.J.of Human Genet.,1961, 13 : 262.
- 8 - B.RINGELHANN, A.L.RUDWICK.  
Thalassemia major with complete suppression of Hb A production in a Ghanaian girl.  
Act. Haemat., 1972, 47 : 118.
- 9 - A.ORSINI.  
Hématologie pédiatrique.  
Paris, Flammarion Med. Sciences 1982 : 174 - 177.