

## Synthèse

# Anémie hémolytique congénitale par déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase

Mura M<sup>1</sup>, Saidi R<sup>2</sup>, Wolf A<sup>3</sup>, Moalic JL<sup>2</sup>, Oliver M<sup>2</sup>

1. Service de pathologie infectieuse et tropicale,

2. Fédération des laboratoires,

3. Service de pharmacie hospitalière,

Hôpital d'instruction des armées Alphonse Laveran, Marseille.

*Med Trop* 2009 ; **69** : 551-555

**RÉSUMÉ** • Le déficit en G6PD est un déficit enzymatique fréquent avec des conséquences cliniques variables mais potentiellement sévères. Il existe de nombreux facteurs déclenchant les crises hémolytiques, dont une liste importante de médicaments. Le dépistage de ce déficit enzymatique est un préalable nécessaire à l'utilisation de certaines molécules, particulièrement la primaquine ou la dapsone.

**MOTS-CLÉS** • Glucose-6-phosphate déshydrogénase. Anémie hémolytique. Dépistage.

**CONGENITAL HEMOLYTIC ANEMIA DUE TO GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE DEFICIENCY**

**ABSTRACT** • Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency is a common enzyme defect with a wide range of clinical manifestations that can be severe. A variety of factors including many medications can induce hemolytic episodes. Screening for G6PD deficiency is required before use of some drugs especially primaquine or dapsone.

**KEY WORDS** • Glucose-6-phosphate dehydrogenase. Hemolytic anemia. Diagnosis.

Les anémies hémolytiques sont caractérisées par une destruction périphérique des globules rouges. Elles peuvent être acquises ou congénitales, corpusculaires ou extra-corpusculaires. Les anémies hémolytiques acquises sont surtout extra-corpusculaires, d'étiologie immunologique, toxique ou infectieuse dans la plupart des cas. Les anémies hémolytiques congénitales sont le plus souvent dues à une hémoglobinopathie mais il ne faut pas négliger les anomalies de membrane (sphérocytose, elliptocytose,...) et les enzymopathies. Parmi les déficits enzymatiques touchant la lignée érythrocytaire, le déficit en Glucose-6-Phosphate-Déshydrogénase (G6PD) reste le plus significatif par sa fréquence et ses implications cliniques. En effet, la prise de certains médicaments (dapsone, cotrimoxazole, primaquine,...), la consommation de certains aliments (fèves), et une variété d'infections (rickettsioses, infections à *Escherichia coli*,...) entraînent chez les personnes déficitaires une anémie hémolytique d'intensité et de gravité variables. Le déficit en G6PD est particulièrement fréquent dans les pays méditerranéens, en Afrique et en Asie tropicale mais peut être rencontré dans toutes les zones géographiques en rai-

son des mouvements de populations. Il touche environ 420 millions de personnes dans le monde (1). Son dépistage est accessible à tous les laboratoires de biologie médicale avec des techniques simples à mettre en œuvre ne nécessitant qu'un spectrophotomètre. Cependant, l'interprétation des résultats peut parfois être délicate, particulièrement en période d'hémolyse. Cette revue a pour objectif de faire le point sur les anémies hémolytiques par déficit en G6PD.

### Généralités

#### Physiopathologie du déficit enzymatique en G6PD

La G6PD est une enzyme de la voie des pentoses mono-phosphates. Elle catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate en 6-phospho-gluconate avec réduction concomitante du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP<sup>+</sup>; NADPH, H<sup>+</sup>). Dans l'hématie, la G6PD est la seule source de production du NADPH, H<sup>+</sup>, coenzyme de la glutathion réductase. Le NADPH réduit permet la régénération du glutathion, dont le rôle est la neutralisation des peroxydes, très toxiques pour le globule rouge. Le maintien du pool de glutathion réduit à un niveau normal est nécessaire à la lutte contre le stress oxydatif. Les

hématies des sujets présentant un déficit de l'activité G6PD produisent moins de NADPH, H<sup>+</sup> nécessaire à la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme. Elles sont donc plus sensibles à l'hémolyse lors d'agressions oxydatives variées (infections, ingestion de certains médicaments ou aliments).

Le déficit en G6PD est le deuxième déficit enzymatique héréditaire par ordre de fréquence. Le gène de cette enzyme est localisé sur le chromosome Xq28. La transmission est donc liée au sexe : les hommes hémizygotes sont toujours symptomatiques et les femmes, qui transmettent l'anomalie, sont en général cliniquement indemnes. Toutefois, le déficit peut être symptomatique chez les femmes, soit homozygotes dans les populations où la fréquence génique est élevée, soit hétérozygotes en fonction de l'inactivation de l'un ou l'autre des deux chromosomes X (2).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une classification phénotypique de ces déficits en fonction de l'activité enzymatique résiduelle qui conditionne le risque d'hémolyse et donc la sévérité de la maladie (Tableau 1). La classe I OMS comprend les déficits responsables d'une anémie hémolytique chronique. Ces déficits sont rarement retrouvés et n'ont pas de spécificité de population. La classe II OMS rassemble les déficits sévères dans lesquels l'activité enzymatique est infé-

• Correspondance : manuela.oliver@santarm.fr  
• Article reçu le 2/09/2009, définitivement accepté le 2/10/2009.

Tableau 1. Classification OMS des variants enzymatiques de la G6PD en 5 classes, dont 3 déficitaires.

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

rieure à 10 % de l'activité enzymatique normale. La classe III OMS regroupe les variants dont l'activité enzymatique est comprise entre 10 et 60 % de la normale. Les classes IV et V regroupent des variants non pathogéniques.

Le déficit en G6PD présente un grand polymorphisme avec plus de 400 variants génotypiques. La G6PD B est la forme sauvage, normale avec une demi-vie de 62 jours (3). La G6PD A est une variante fréquente à activité normale où l'aspartate remplace l'asparagine en position 126. Lorsqu'une seconde mutation est présente sur ce même allèle, on parle de variant G6PD A-. La fréquence de la G6PD A- est voisine de 20 % dans les populations noires africaines. Son activité est modérément diminuée (classe III OMS) et sa demi-vie est de 13 jours. La variante méditerranéenne ou G6PD B- (Ser 188 Phe) est présente dans le pourtour méditerranéen, le Proche- et le Moyen-Orient où elle touche 10 à 25 % de la population. Son activité est fortement diminuée (classe II OMS) avec une demi-vie de 8 jours. Dans le sud-est asiatique, les variants Mahidol, Canton, Viangchan et Kaiping sont prédominants et 10 à 15 % de cette population est déficitaire (4-6). Seules les méthodes de biologie moléculaire permettent de caractériser les variants avec certitude.

### Conséquences clinico-biologiques

Une hémolyse d'intensité variable peut être déclenchée par l'exposition à un oxydant. L'intensité des manifestations cliniques dépend du variant enzymatique et des facteurs déclenchants.

#### • Facteurs déclenchants

De nombreux médicaments sont impliqués dans le déclenchement des crises hémolytiques. L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) a publié en février 2008 (Tableau 2) des recommandations sur le niveau de risque des principaux médicaments incriminés. L'implication de certains médicaments, notamment du paracétamol,

est parfois controversée. En effet, s'il est admis qu'un surdosage en paracétamol est à l'origine d'une crise hémolytique, les cas d'hémolyse retrouvés aux doses thérapeutiques sont souvent imputables à une infection sous jacente. On ne peut cependant pas exclure une implication directe de cette molécule dans le déclenchement de la crise (7). La plus grande prudence s'impose donc.

L'infection est probablement une cause sous-estimée d'hémolyse chez le sujet déficient en G6PD (8). Les agents infectieux les plus fréquemment associés aux crises hémolytiques sont *Escherichia coli*, le streptocoque bêta hémolytique, les rickettsies et les hépatites virales.

L'ingestion de fèves est responsable de crises aiguës sévères ou favisme, en particulier chez les variants méditerranéens.

L'acido-cétose diabétique est un facteur déclenchant discuté d'hémolyse (8).

#### • Hémolyse aiguë (9)

Dans la forme typique, une hémolyse aiguë modérée survient dans les 24 à 48 heures après exposition à un oxydant. Les protéines du stroma et la globine sont dénaturées par oxydation et précipitent sous forme de corps de Heinz. Les globules rouges, plus rigides, sont alors séquestrés par la rate et éliminés de la circulation. Les signes biologiques d'anémie hémolytique sont présents : chute de l'haptoglobine, réticulocytose, hyperbilirubinémie libre et élévation des LDH. Des tableaux cliniques plus sévères sont possibles, associant une hémoglobinurie et un état de choc avec une insuffisance rénale aiguë, comme dans le favisme.

Cependant, le tableau biologique peut parfois être trompeur. En effet, en présence d'un syndrome inflammatoire associé à un épisode hémolytique modéré, notamment lorsque le facteur déclenchant est un agent infectieux, l'haptoglobine peut se situer dans des valeurs normales basses. La réticulocytose peut être inférieure à 100 000/mm<sup>3</sup> si l'analyse est réalisée rapidement après le début de l'hémolyse. Ainsi, les marqueurs biologiques doivent être recontrôlés lorsque le tableau

clinico-biologique est discordant ou incomplet.

Chez le sujet de classe III OMS (type G6PD A-), le processus hémolytique est généralement bref, malgré la poursuite de l'exposition à l'élément oxydant. Les réticulocytes, riches en G6PD, viennent compenser le déficit qui touche uniquement les hématies âgées en raison de la diminution de la demi-vie de l'enzyme. Il existe une phase d'équilibre entre régénération et hémolyse (8).

Chez le sujet de classe II OMS (type méditerranéen), le tableau clinique est habituellement plus sévère et ne cède pas spontanément. Malgré la présence d'une réticulocytose, l'activité G6PD est très diminuée et l'hémolyse persiste. L'arrêt du facteur déclenchant est impératif. Le recours aux transfusions de culots globulaires est fréquent.

Le sujet de classe I OMS, plus rare, présente une anémie hémolytique chronique à début précoce, souvent néonatal. La durée de vie des hématies est très diminuée. L'évolution chronique est émaillée de poussées hémolytiques aiguës. Les complications habituelles des hémolyses chroniques sont rapportées : lithiase biliaire, hémossidérose.

#### • Ictère hémolytique néonatal

Il est particulièrement fréquent en Afrique et Asie tropicale et sub-tropicale. La physiopathologie n'est à ce jour pas bien élucidée (immaturité hépatique, ingestion de médicament oxydant par la mère dans le pré-partum,...) (2). Le risque principal est l'ictère nucléaire et le décès du nouveau-né. L'exsanguino-transfusion peut s'avérer nécessaire.

### Déficit en G6PD et protection contre le paludisme

Les déficits en G6PD de classe II ou III OMS assurent une relative protection contre le paludisme. En effet, les zones de déficit en G6PD de classe II et III se superposent avec la zone d'infestation par *Plasmodium falciparum*. En Afrique et Asie du sud-est, où l'infection à *Plasmodium fal-*



*ciparum* est endémique, l'incidence du déficit en G6PD est estimée à plus de 10% de la population. Au contraire, au Japon, au Nord de la Chine et en Europe du Nord, zones géographiques historiquement indemnes de paludisme, l'incidence du déficit en G6PD est inférieure à 0,1%. Il existe également des incidences très variables entre les ethnies d'une même région (Vietnam du Nord) selon qu'elles vivaient traditionnellement en dehors ou au sein des zones d'endémie palustre (10). La défaillance des mécanismes de défense érythrocytaires contre les oxydants est un handicap pour le développement du parasite, particulièrement sensible aux agents oxydants. Celui-ci s'adapte rapidement mais sa fragilité persiste (11).

### Déficit en G6PD et traitement du paludisme

L'AFSSAPS déconseille l'utilisation de la chloroquine et de la quinine en cas de déficit en G6PD du fait du risque d'hémolyse aiguë. La chloroquine est utilisée en prophylaxie du paludisme en zone 1 OMS (absence de résistance développée par *P. falciparum*) et en traitement curatif du paludisme à *P. vivax* et *P. ovale*. La quinine est utilisée en traitement curatif du paludisme à *P. falciparum*, essentiellement par voie intra-veineuse, dans les formes graves ou en présence d'une intolérance alimentaire. En l'absence d'alternative thérapeutique, le traitement pourra être entrepris mais impose un suivi médical rapproché.

L'association atovaquone-proguanil peut être utilisée en prophylaxie et en traitement curatif sans risque pour les patients déficitaires en G6PD, de même que la méfloquine et la doxycycline.

La primaquine est la seule molécule actuellement disponible efficace contre les formes hépatiques quiescentes de *Plasmodium vivax* et *ovale*. Le nombre de cas ne cesse d'augmenter en France en raison de l'augmentation du tourisme et de la présence des troupes militaires françaises en zone d'endémie. En 2008, le Haut Conseil de la santé publique évalue le nombre de cas en France métropolitaine à 500-550/an (12). La primaquine peut être utilisée en prophylaxie terminale permettant d'éviter les accès de reviviscence, en cure radicale entreprise après un ou deux accès de reviviscence mais également en prophylaxie causale (13). En France, elle est actuellement disponible en Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) pour cure éradicatrice à la suite immédiate du traitement schi-

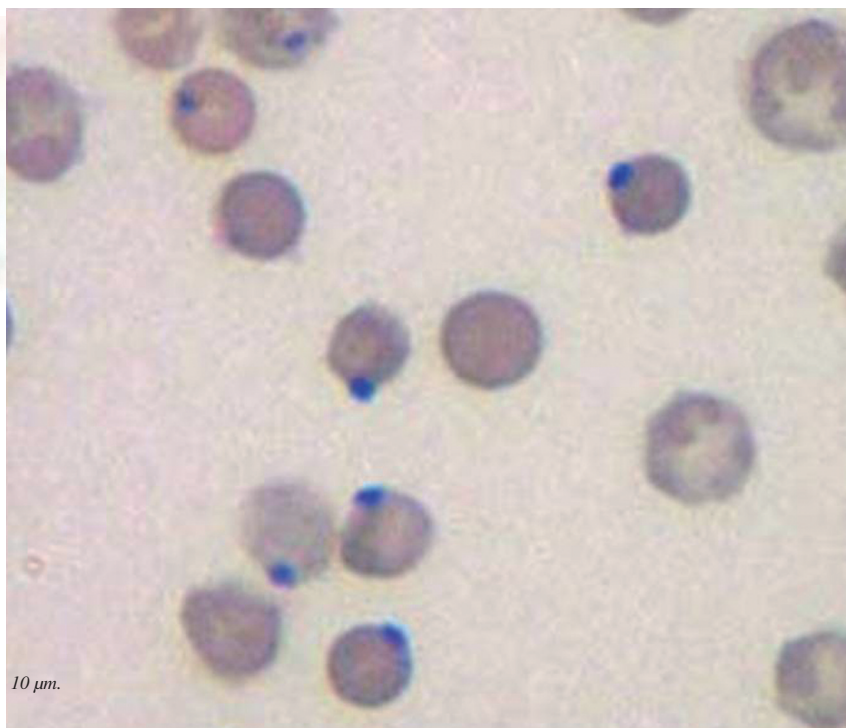


Figure 1. Corps de Heinz au nouveau bleu de méthylène (x500).

zonticide érythrocytaire d'un premier accès à *P. vivax* ou *ovale* à la posologie de 30 mg/jour pendant 14 jours (12). Sa place dans l'arsenal thérapeutique est longtemps restée en suspens du fait du risque d'hémolyse, nécessitant l'utilisation d'un schéma posologique particulier chez les sujets modérément déficitaires en G6PD (classe III OMS) (13). La primaquine ne doit pas être utilisée chez les sujets de classe I et II OMS. Le dépistage de ces sujets est donc un préalable jugé indispensable à l'administration de cette molécule (14).

### Exploration au laboratoire

Le déficit en G6PD est actuellement recherché dans trois situations distinctes : le dépistage néonatal, l'exploration diagnostique d'une anémie hémolytique aiguë ou chronique et le dépistage avant traitement par primaquine, dapsonne ou autres thérapeutiques à risque. Les tests de dépistage doivent toujours être confirmés, en cas de positivité, par la détermination de l'activité enzymatique de la G6PD. Au cours d'une hémolyse aiguë, l'examen du frottis sanguin par coloration supra-vitale (crystal violet, nouveau bleu de méthylène,...) peut orienter le diagnostic en montrant la présence de

corps de Heinz (Fig.1), inconstants. En effet, leur présence sur le frottis est transitoire car ils sont rapidement séquestrés dans la rate. Ils sont par ailleurs non spécifiques car retrouvés également dans les hémoglobinopathies à hémoglobine instable (Hb Köln) et dans les déficits en glutathion réductase.

### Prélèvement et conservation des échantillons

Le prélèvement doit être effectué à distance de toute transfusion (3 mois). En cas de détermination pendant une crise réticulocytaire, il est nécessaire de pratiquer une détermination concomitante de l'activité pyruvate kinase pour l'interprétation des résultats. Le sang veineux est recueilli sur un tube de 5 mL avec anticoagulant, en général l'EDTA (acide éthylènediamine tétracétique). La fragilité de l'enzyme *in vitro* doit faire réaliser les analyses dès réception du prélèvement. L'utilisation d'ACD (adénine citrate dextrose) est préférable car elle permet une meilleure stabilité des enzymes *in vitro*. Dans ce cas, la conservation se fera à +4°C. Cependant, il faut prendre en compte le facteur de dilution introduit par le volume présent initialement dans le tube de prélèvement.

Tableau 2. Médicaments et déficit en glucose-6-phosphate-déshydrogénase (AFSSAPS – février 2008).

Contre-indiqué*		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide nalidixique</li> <li>• Dapsone</li> <li>• Nitrofurantoiné</li> <li>• Noramidopyrine / Métamizole sodique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rasburicase</li> <li>• Sulfadiazine (voie orale)</li> <li>• Sulfafurazol</li> <li>• Sulfaguandine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfaméthoxazole (voies orale et injectable)</li> <li>• Sulfasalazine</li> <li>• Triméthoprimé (voies orale et injectable)</li> </ul>
Déconseillé (sauf situation particulière) en raison de cas observés d'hémolyse aiguë		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chloroquine</li> <li>• Ciprofloxacine (voies orale et injectable)</li> <li>• Dimercaprol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glibenclamide</li> <li>• Lévofloxacine (voies orale et injectable)</li> <li>• Norfloxacine (voie orale)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phytoménadione (vitamine K1)</li> <li>• Spiramycine (voies orale et injectable)</li> <li>• Sulfadiazine (voie locale)</li> </ul>
Utilisation possible après analyse des données disponibles (littérature et pharmacovigilance)		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bleu de méthylène (voies buccale et ophtalmique)</li> <li>• Bupivacaïne</li> <li>• Chloramphénicol (voie ophtalmique)</li> <li>• Ciprofloxacine (voies ophtalmique et auriculaire)</li> <li>• Colchicine</li> <li>• Dihydroquinidine</li> <li>• Diményhydrinate</li> <li>• Doxorubicine</li> <li>• Fève de Saint -Ignace</li> <li>• Isoniazide (voies orale et injectable)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lévodopa</li> <li>• Méfloquine</li> <li>• Monoxyde d'azote</li> <li>• Morpholine</li> <li>• Nitroprussiate• Diéthylamine</li> <li>• Norfloxacine (voie ophtalmique)</li> <li>• Ofloxacine (voies ophtalmique et auriculaire)</li> <li>• Para-aminosalicylate de sodium (PAS)</li> <li>• Phénazone (voie auriculaire)</li> <li>• Phénylbutazone</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phénytoïne</li> <li>• Probenécide</li> <li>• Proguanil</li> <li>• Propylène glycol</li> <li>• Pyriméthamine</li> <li>• Quinidine</li> <li>• Streptomycine</li> <li>• Succimer</li> <li>• Thiamphénicol</li> <li>• Trihexyphénidyle</li> </ul>
Déconseillé (sauf situation particulière) en raison de l'appartenance à une classe pharmacologique à risque, ou d'un risque potentiel d'hémolyse		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide pipéridique</li> <li>• Carbutamide</li> <li>• Enoxacine</li> <li>• Fluméquine</li> <li>• Glibornuride</li> <li>• Gliclazide</li> <li>• Glimépiride</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glipizide</li> <li>• Hydroxychloroquine</li> <li>• Loméfloxacine</li> <li>• Moxifloxacine</li> <li>• Ofloxacine (voies orale et injectable)</li> <li>• Péfloxacine (voies orale et injectable)</li> <li>• Phénazone (voie locale)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prilocaïne</li> <li>• Quinine</li> <li>• Sulfacétamide</li> <li>• Sulfadoxine</li> <li>• Sulfaméthizol</li> </ul>
Déconseillé à posologie élevée		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide acétylsalicylique</li> <li>• Acide ascorbique</li> <li>• Bénorilate</li> <li>• Carbasalate calcique</li> <li>• Paracétamol</li> </ul>		

\* Bien qu'elle ne soit pas citée dans le tableau de l'AFSSAPS, l'utilisation de la primaquine est contre-indiquée chez le sujet déficitaire. Cependant, l'OMS propose un schéma thérapeutique adapté utilisable chez les sujets présentant un déficit modéré.

Une mauvaise conservation de l'échantillon pourra être à l'origine d'une valeur faussement basse du fait de la fragilité *in vitro* de la G6PD. Dans l'idéal, l'analyse doit être faite dès réception du prélèvement après un acheminement rapide.

#### Réalisation d'un hémolysat

Avant la réalisation de l'hémolyse, le culot globulaire doit être soigneusement lavé par du chlorure de sodium 9% à plusieurs reprises, pour éliminer stromas cellulaires et protéines plasmatiques. En règle générale, les coffrets commerciaux contiennent une solution hémolysante, comme la digitonine. Il est également possible d'utiliser la technique « eau distillée froid » (15).

#### Tests de dépistage

Le « Fluorescent Spot Test » ou « Spot Test de Beutler », retenu par l'International Committee of Standardization in Haematology (16) est un test biochimique simple de dépistage. Ce test est d'utilisation

aisée chez le nourrisson, à partir d'une microponction de sang au talon, ou sur le cordon à la naissance. De réalisation pratique, il s'agit du test le plus utilisé dans le dépistage néonatal. Il consiste à faire incuber un hémolysat en présence de glucose-6-phosphate (G6P) et de NADP, puis à en déposer une goutte sur un papier filtre et à l'examiner à la lumière ultra-violette (UV). La production de NADPH est attestée par l'apparition d'une tâche fluorescente. Il s'agit donc d'un test visuel permettant une distinction fiable entre les sujets fortement déficitaires ne présentant pas de fluorescence en lumière UV, et les sujets normaux présentant une fluorescence.

Parmi les autres tests de dépistage, il faut citer le test de réduction de la méthémoglobine en présence de bleu de méthylène où le taux de réduction est proportionnel à l'activité de la G6PD érythrocytaire ; ou encore le test de réduction du MTT, dérivé du tétrazolium, en un précurseur pourpre insoluble, le formazan (17, 18).

La positivité du test de dépistage doit toujours être confirmée par la mesure de l'activité enzymatique, technique de référence.

#### Confirmation par détermination de l'activité enzymatique (méthode de référence)

L'hémolysat est mis en incubation avec du glucose-6-phosphate et un mélange réactionnel contenant du NADP. En présence de NADP, le G6P est oxydé en 6 Phosphogluconolactone par la G6PD. Il y a production concomitante de NADPH, H<sup>+</sup> qui absorbe à 340 nm, contrairement au NADP. La variation d'absorbance en fonction du temps est proportionnelle à l'activité G6PD. Cette activité s'exprime en unités internationales (UI)/g d'hémoglobine (Hb). Dans les globules rouges normaux, l'activité G6PD mesurée à 37°C est de 7 à 10 UI/g d'hémoglobine.

#### Interprétation des résultats

Toute recherche de déficit en G6PD doit s'accompagner de renseignements cliniques concernant le patient : origine géographique, circonstances cliniques (dépistage, hémolyse aiguë). Le statut

## Anémie hémolytique congénitale par déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase

transfusionnel doit être connu ainsi que les résultats de la numération formule sanguine avec une numération réticulocytaire en cas d'anémie.

En règle générale, le dépistage du déficit en G6PD ne doit pas être effectué en période régénérative car le déficit est prédominant dans les hématies âgées et le résultat pourra être faussement normal du fait d'une présence excessive d'hématies jeunes. Cependant la comparaison de l'activité enzymatique G6PD à l'activité enzymatique pyruvate kinase peut parfois permettre de dépister un déficit en période régénérative par la discordance des activités enzymatiques. Ainsi, lors d'une crise réticulocytaire, une activité G6PD dans les limites des valeurs usuelles associée à une activité pyruvate kinase très élevée peut faire suspecter un déficit. Chez le sujet sain, le pourcentage d'augmentation observée pour la G6PD est en général similaire à celui observé pour l'activité pyruvate kinase.

### Cas particulier de la femme hétérozygote

Les méthodes disponibles permettent d'affirmer de façon fiable un déficit chez les sujets masculins hémizygotés et chez les sujets féminins homozygotes. Elles peuvent parfois être prises en défaut chez les femmes hétérozygotes (9). En effet, le sang des femmes hétérozygotes comporte des cellules normales et des cellules déficitaires en proportion variable en fonction de l'inactivation de l'un ou l'autre des deux chromosomes X (2). L'activité G6PD mesurée peut donc varier d'un taux normal à un taux proche du sujet déficitaire. Différentes méthodes biochimiques ont été développées pour le dépistage des femmes hétérozygotes mais aucune n'est suffisamment fiable à ce jour (9).

### Biologie moléculaire

L'étude des mutations génétiques par analyse de l'ADN est un test coûteux, réservé à certains laboratoires spécialisés et agréés. La biologie moléculaire permet de caractériser le défaut responsable du déficit et de prédire le degré de sévérité clinique encouru par le patient, si la mutation est déjà connue et étudiée. La majorité des variants résulte de mutations ponctuelles de type faux-sens. On dénombre près de 160 mutations différentes (19). Celles-ci modi-

fient le plus souvent la zone d'interface de formation du D-dimère enzymatique et/ou la zone d'interaction de la G6PD avec le NADPH (20). L'absence de G6PD est probablement létale in utero. En effet, l'absence totale d'enzyme n'a jamais été observée.

L'analyse moléculaire par enzyme de restriction nécessite de connaître précisément la mutation recherchée. Si la mutation causant le déficit n'est pas connue, il est alors nécessaire d'effectuer un séquençage des treize exons du gène. Les mutations les plus fréquentes seront cherchées en premier lieu, en fonction de l'origine géographique du sujet (A-, méditerranéen, ...).

Ces études moléculaires ne dispensent pas des analyses de caractérisation comportementale de l'enzyme lorsqu'une nouvelle mutation est découverte, afin d'étudier l'impact de la mutation sur la sta-

bilité de l'enzyme, son niveau d'activité et son affinité pour un substrat.

Le conseil génétique vise à dépister les couples à risque afin de les informer et d'organiser les conditions d'un diagnostic précoce des enfants atteints.

### Conclusion

Le dépistage du déficit en G6PD est facilement réalisable. Sa confirmation par dosage enzymatique, indispensable, peut être réalisée par tout laboratoire possédant un spectrophotomètre. La réalisation de l'analyse doit être rapide en raison de la vitesse de dégradation de l'enzyme *in vitro*. L'interprétation des résultats en période d'hémolyse est délicate et impose parfois de contrôler le résultat à distance de l'épisode aigu. ■

### RÉFÉRENCES

1. AFSSAPS. Médicaments et déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. 2008.
2. Mégarbane B. Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase : quand y penser et quelles précautions prendre ? *Réanimation* 2008 ; 17 : 399-406.
3. Wajcman H, Galacteros F. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: a protection against malaria and a risk for hemolytic accidents. *C R Biol* 2004 ; 327 : 711-20.
4. Vulliamy TJ, Wanachiwanawin W, Mason PJ, Luzzatto L. G6PD mahidol, a common deficient variant in South East Asia is caused by a (163) glycine-serine mutation. *Nucleic Acids Res* 1989 ; 17 : 5868.
5. Nuchprayoon I, Sanpavat S, Nuchprayoon S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Thailand: G6PD Viangchan (871G>A) is the most common deficiency variant in the Thai population. *Hum Mutat* 2002 ; 19 : 185.
6. Beutler E. G6PD: population genetics and clinical manifestations. *Blood Rev* 1996 ; 10 : 45-52.
7. Oliver M, Coton T, Badens C, Dehan C, Lena-Russo D, Moalic JL. Homozygous G6PD deficiency and propacetamol induced hemolysis. *Haematologica* 2001 ; 86 : 987-8.
8. Beutler E. G6PD deficiency. *Blood* 1994 ; 84 : 3613-36.
9. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. *Blood* 2008 ; 111 : 16-24.
10. Matsuoka H, Nguon C, Kanbe T, Jalloh A, Sato H, Yoshida S, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Cambodia: G6PD Viangchan (871G>A) is the most common variant in the Cambodian population. *J Hum Genet* 2005 ; 50 : 468-72.
11. Usanga EA, Luzzatto L. Adaptation of *Plasmodium falciparum* to glucose 6-phosphate dehydrogenase-deficient host red cells by production of parasite-encoded enzyme. *Nature* 1985 ; 313 : 793-5.
12. Avis relatif à l'élargissement des prescriptions de la primaquine dans le cadre du traitement du paludisme à *P. vivax* et *P. ovale*. Haut Conseil de la Santé Publique. 17 octobre 2008.
13. Hill DR, Baird JK, Parise ME, Lewis LS, Ryan ET, Magill AJ. Primaquine: report from CDC expert meeting on malaria chemoprophylaxis I. *Am J Trop Med Hyg* 2006 ; 75 : 402-15.
14. Oliver M, Simon F, de Monbrison F, Beavogui AH, Pradines B, Ragot C, et al. New use of primaquine for malaria. *Med Mal Infect* 2008 ; 38 : 169-79.
15. Oliver M, Ragot C, Moalic JL. Hémoglobinopathies. Diagnostic au laboratoire, pièges de l'interprétation. Expérience de l'Hôpital d'Instruction des Armées Laveran. *Feuillets de biologie* 2008 ; 49 : 5-13.
16. Beutler E, Blume KG, Kaplan JC, Lohr GW, Ramot B, Valentine WN. International Committee for Standardization in Haematology: recommended screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. *Br J Haematol* 1979 ; 43 : 465-7.
17. Knutsen CA, Brewer GJ. The micro-methemoglobin reduction test for G6PD deficiency. A simple field screening procedure. *Am J Clin Pathol* 1966 ; 45 : 82-4.
18. Gibbs WN. The methylene blue reduction test : evaluation of a screening method for G6PD deficiency. *Am J Trop Med Hyg* 1974 ; 23 : 1197-202.
19. Mason PJ, Bautista JM, Gilsanz F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood Rev* 2007 ; 21 : 267-83.
20. OMIM. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (+305900). Online Mendelian Inheritance in Man, 2008.