

# Hémoglobinoses C au Maroc : A propos de 111 cas

## Hemoglobinosis C in Morocco : A report of 111 cas

Zhor Ouzzif <sup>1</sup>, Aissam El Maataoui <sup>2</sup>, Nadia Oukhedda <sup>1</sup>, Nezha Messaoudi <sup>3</sup>, Mohamed Mikdam <sup>4</sup>, Mohamed Abdellatif <sup>5</sup>, Kamal Doghmi <sup>4</sup>.

1-Service de Biochimie et de Toxicologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V-Rabat

2- Faculté de Médecine et Pharmacie, Agadir

3- Service d'hématologie biologique de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V-Rabat.,

4-Service d'hématologie Clinique de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V-Rabat. /

5-Laboratoire Ibn Sina Rabat

### RÉSUMÉ

**Objectif** – L'objectif de ce travail est de rapporter les cas d'hémoglobinoses C colligés au cours de ces douze dernières années au Laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V (HMIMV).

**Méthodes.** – Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive, portant sur 111 cas d'hémoglobinoses C colligés au laboratoire de biochimie de l'HMIMV sur 12 années. Une fiche d'exploitation est renseignée (données épidémiologiques, renseignements cliniques, résultats des explorations biologiques). L'étude de l'hémoglobine a inclus des examens biochimiques et hématologiques.

**Résultats.** – Le sex-ratio est de 1,22. L'âge au moment du diagnostic varie entre 4 et 80 ans et l'âge moyen est de 38 ans. Les régions du Nord-Ouest du Maroc semblent les plus touchées. Les motifs de prescription les plus fréquents sont les anomalies biologiques, la splénomégalie et le syndrome anémique. L'anémie hémolytique est majoritairement objectivée. Le frottis sanguin révèle très souvent une anisopoikilocytose et des hématies cibles. Les examens biochimiques concourent indéniablement au diagnostic et révèlent divers groupes étiologiques : les hétérozygotes A/C (75%), les homozygotes C/C (8%), les hétérozygotes composites S/C (9%), C/β+-thal (6%), et C/O-Arab (2%).

**Conclusion.** – Les résultats de la présente étude concordent, dans la majorité des cas, avec les données de la littérature. L'importance du conseil génétique et de l'instauration au Maroc d'un programme national de dépistage néonatal systématique est indéniable.

### Mots-clés

Hémoglobine C – Hémoglobinopathie – Diagnostic biologique – Electrophorèse de l'hémoglobine

### SUMMARY

**Background** – Hemoglobin C is a hemoglobin variant encountered worldwide. The regions with high prevalence are West Africa and South-East Asia. The objective of this study is to report cases of hemoglobin C disease brought together during these last twelve years in the Laboratory of Biochemistry and Toxicology of Rabat Military Hospital Mohammed V (MHIMV).

**Methods.** – This was a retrospective study including 111 cases of hemoglobin C disease collected in the Laboratory of Biochemistry of the MHIMV over the past 12 years. A questionnaire was fulfilled with the epidemiological data, clinical data and the results of the biological explorations. The screening of the hemoglobin variant in this study included several biochemical (hemoglobin electrophoresis at acid and alkaline pH) and hematological tests.

**Results.** – Sex-ratio was equal to 1,22. The age at the time of diagnosis ranges between 4 and 80 years old, with the mean of 38. North-West regions of Morocco seem most affected. The most frequent reasons for prescription of the hemoglobin's study were: biological abnormalities, splenomegaly and anemic syndrome. Blood smear reveals frequently anisopoikilocytosis and red blood target. The biochemical tests contribute to the diagnosis and reveal various and varied etiological groups: heterozygous A/C (75%), homozygous C/C (8%), double heterozygous S/C (9%), C/β+-thal (6%) and C/O-Arab (2%).

**Conclusion** – The results of the present descriptive study are in line with the literature data. The importance of genetic counseling and the installation of a national card of systematic neonatal tracking seem to be unavoidable.

### Key- words

Hemoglobin C – Hemoglobinopathy – Biological diagnosis – Hemoglobin electrophoresis.

Les hémoglobinopathies (7% de porteurs dans le monde) sont les maladies monogéniques les plus répandues dans le monde [1, 2]. Elles sont définies par la présence d'anomalies pouvant affecter soit la structure de l'hémoglobine et sa fonction (les hémoglobinoses), soit les mécanismes de sa synthèse (les thalassémies). Il existe cependant des anomalies mixtes et des associations. Actuellement, les hémoglobinopathies constituent un véritable problème de santé publique. L'hémoglobine C est l'anomalie la plus fréquemment rencontrée après l'hémoglobine S [3, 4]. La prévalence de l'hémoglobine C atteint 40-50% en Afrique de l'Ouest. Elle est retrouvée aussi au Bénin (20%), aux États-Unis (3%) et en Afrique du Nord (1 à 10%)[5]. Dans le présent travail, nous rapportons les cas d'hémoglobinose C colligés au cours de ces douze dernières années au Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V (HMIMV) de Rabat.

## MÉTHODES

### Matériel

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive, portant sur 111 cas d'hémoglobinose C colligés au Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie de l'HMIMV de Rabat sur une période de 12 années (de Janvier 2004 à Mars 2016).

Le registre de l'unité « Électrophorèse/Immunotypage » du Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie, a été utilisé pour collecter les cas d'hémoglobinose C. Une demande d'étude de l'hémoglobine a été formulée pour chaque patient par le médecin prescripteur. Une fiche d'exploitation est établie et comporte plusieurs paramètres : les renseignements cliniques, la numération formule sanguine avec le frottis sanguin, les résultats du bilan martial dont la ferritine associée ou non à la CRP, la bilirubine, les lactates déshydrogénases. Les demandes exploitées dans la présente étude ont été adressées au laboratoire, par divers services cliniques de l'hôpital ou encore par des cliniciens du secteur privé, dans le cadre de leur suivi médical systématique, pour étude de l'hémoglobine. Les patients ont été pris en charge à l'occasion d'une simple consultation ou d'une hospitalisation.

### Méthodes

Les explorations biologiques ont, dans la présente étude, inclus un bilan hématologique (hémogramme, frottis sanguin) réalisé au laboratoire d'hématologie de l'HMIMV ainsi que des examens biochimiques (électrophorèse de l'hémoglobine aux pH alcalin et acide, quantification des fractions de l'hémoglobine par technique chromatographique CLHP et analyse génotypique le cas échéant).

L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin, sur Capillarys® Sebia a montré la présence d'un pic

surnuméraire migrant de façon contigüe de la fraction A2. La co-migration de plusieurs variants d'hémoglobine au niveau de cette position a nécessité l'association de l'électrophorèse à pH acide (6,0) sur Hydrasys® Sebia et/ou de la Chromatographie Liquide Haute Performance CLHP (sur le Variant II® de Bio-Rad ou sur le G7® de chez Tosoh). Dans le cas de la double hétérozygotie C/O-Arab, une analyse génotypique par les techniques de biologie moléculaire (Polymérase Chain Reaction-séquençage) a été réalisée après l'obtention du consentement éclairé du patient.

## RÉSULTATS

Le sex-ratio est égal à 1,5 au profit des hommes (66 hommes/44 femmes). L'âge des patients au moment du diagnostic fluctue entre 4 et 80 ans. L'âge moyen au diagnostic est de  $39.93 \pm 19.48$  ans. La plupart des patients sont originaires des régions de Rabat-Salé-Zemmour-Zaër et Gharb-Cherarda-Béni Hssen, qui représentent respectivement 44 et 28% des cas. Les autres régions sont représentées par touchées celles de Tanger-Tétouan (12% des cas), Meknès-Tafilalet (10% des cas) et Chaouia-Ouardigha (6% des cas).

Les différents signes révélateurs, cliniques et/ou biologiques, qui ont constitué les motifs les plus fréquents de prescription de l'étude de l'hémoglobine sont représentés par la splénomégalie, le syndrome anémique et les anomalies biologiques.

L'étude de l'hémoglobine, basée sur les données biochimiques (électrophorèse de l'hémoglobine, CLHP, analyse génotypique) a classé les patients en cinq groupes étiologiques (Tableau 1). Les variants d'hémoglobine C retrouvés en fonction de leurs pourcentages sont l'hémoglobinose C hétérozygote (67,3%), l'association HbC/bêta thalassémie hétérozygote (19.1%), l'association S/C (7,3%), l'hémoglobinose C homozygote (5,5%), l'association C/O Arabe (0.9%).

L'association HbC/bêta thalassémie hétérozygote est celle qui présente le plus d'anomalies hématologiques à savoir une anémie avec une microcytose et une hypochromie. Le groupe étiologique hémoglobinose C homozygote montre une microcytose associée à une hypochromie (Tableau 2). Les patients avec l'association HbA/C et HbC/O-arab ne présentent pas d'anomalies des paramètres hématologiques précités. Différentes anomalies morphologiques des globules rouges ont été observées sur le frottis sanguin (figure 1), notamment des hématies en cible abondantes, des schizocytes chez les patients C/O-Arab, ou encore de rares drépanocytes dans les cas S/C. Des anomalies de taille (anisocytose) et de forme (poïkilocytose) sont également notées (Figure 1). Le tableau 3 résume le pourcentage des différentes fractions de l'hémoglobine dans les différents groupes étiologiques.

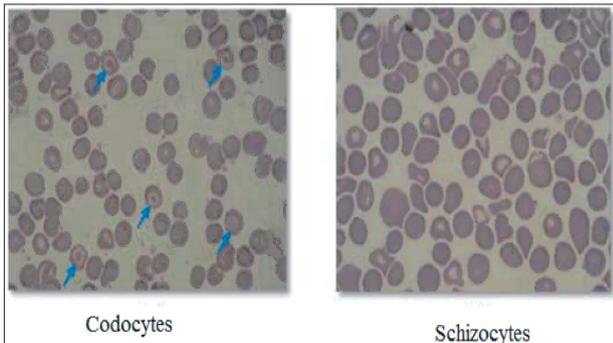


Figure 1: Les différentes anomalies du globule rouge

Tableau 1 : Les différents variants d'hémoglobine C

	Effectifs	Pourcentage
Hémoglobinoses C hétérozygote	74	67,3
Hémoglobinoses C homozygote	6	5,5
Hémoglobinoses S/C	8	7,3
Hémoglobinoses C/O Arabe	1	0,9
HbC/bêta thalassémie hétérozygote	21	19,1
Total	110	100

### DISCUSSION

L'hémoglobine C est formée suite à une mutation ponctuelle au niveau du premier nucléotide du codon 6 (GAG AAG) dans le gène bêta globine [6]. Il s'agit d'une substitution de la guanine par l'adénine, ce qui a pour conséquence le remplacement de l'acide glutamique

(sixième acide aminé de la chaîne β) par une lysine : α2β2 6Glu→Lys[7]. La présence de la lysine (monoacide diaminé) dans la chaîne polypeptidique entraîne le remplacement de deux charges négatives par deux charges positives. Ainsi, l'hémoglobine C migre moins vite que l'Hb S, à pH alcalin.

L'Hb C, originellement décrite au niveau du plateau voltaïque, a gagné au gré des migrations humaines le golfe de Guinée et l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie). Elle est surtout répandue dans les régions malariques de l'Afrique Occidentale (Ghana, Côte d'Ivoire, Burkina Faso, Togo, Bénin, Nigéria) où son rôle dans la protection vis-à-vis du paludisme à Plasmodium falciparum a été largement démontré. La prévalence de l'Hb C est inférieure à 1% en Afrique centrale et nulle en Afrique de l'Est[7, 8]. Le sud de l'Europe, notamment l'Italie et la Turquie, est également concerné [6]. L'Hb C est aussi retrouvée aux Antilles françaises (environ 3%) ainsi que chez les populations d'origine africaine vivant aux États-Unis (prévalence = 2.400/100.000 habitants noirs [9]) ou dans les Caraïbes (prévalence = 3,5%). Elle est occasionnellement rencontrée dans la péninsule arabique, au Proche-Orient, dans les Balkans, en Sicile. Les érythrocytes contenant de l'hémoglobine C sont partiellement déshydratés (avec perte d'eau et efflux de K<sup>+</sup>), de petite taille mais avec une charge en hémoglobine normale[8]. Lorsque la concentration en hémoglobine augmente, il s'en suit une formation de cristaux intra-érythrocytaires rhomboédriques et une perturbation des échanges ioniques transmembranaires. Ceci aboutit à une hyperviscosité du GR. La résistance mécanique est ainsi diminuée tandis que la résistance osmotique reste

Tableau 2 : le bilan hématologique des différents variants de l'hémoglobine C

	Hémoglobine hétérozygote (n=54)	Hémoglobine homozygote (n=6)	hémoglobine S/C (n=6)	hémoglobine C/O Arab (n=1)	HbC/bêta thalassémie hétérozygote (n=18)	Valeurs de références
GR (106/μl) ±SD[IC]	4,94±0,46[4,83-5,05]	4,86±0,31[4,53-5,19]	4,46±0,39[4,05-4,86]	4,5	4,87±0,6[4,57-5,17]	4-5,2
Hb (g/dl) ±SD[IC]	12,95±1,88[12,5-13,4]	12,36±1,49[10,79-13,93]	12,2±1,63[10,48-13,9]	14	10,6±2,177[8,64-12,67]	12-16
Hématocrite ±SD[IC]	39,47±4,46[38,4-40,5]	38,01±3,97	37,15±4,33[32,59-41,7]	42	33,27±6,28[27,46-39,1]	Homme : 37 - 51 % Femme : 34 - 47 % Enfant : 32 - 45 %
VGM (fl) ±SD[IC]	80,58±6,56[79,01-82,16]	78,3±7,5	83,45±6[77,14-89,75]	88	71,37±9,22[62,84-79,9]	82-98
TCMH (pg)±SD[IC]	26,78±2,73[26,13-27,43]	26,28±4,3	27,8±2,38[25,29-30,30]	33	22,9±3,33[19,81-25,98]	27-33

Tableau 3 : Résultats de l'exploration biochimique (électrophorèse capillaire) des cas d'hémoglobinoses C

	Hémoglobine hétérozygote C	Hémoglobine homozygote C	hémoglobine S/C	Heterozygote HbC/bêta thalassemia	hémoglobine C/O Arab	Valeurs de référence
Hb A (%)	61,579 ± 2,28(n=62)	--	--	51,34 ± 19,11(n=21)	--	96,8-97,8
Hb A2 (%)	2,55 ± 1,19 (n=40)	2,3 ± 1,36(n=4)	3,17 ± 0,26(n=6)	4,51 ± 0,44(n=21)	2,9 (n=1)	2,2-3,2
Hb F (%)	0,629 ± 0,65 (n=40)	0,85 ± 0,07 (n=4)	2,83 ± 0,26 (n=6)	2,29 ± 4,36(n=21)	0,80 (n=1)	≤ 0,5
Hb C (%)	37,48 ± 2,40 (n=40)	95,60 ± 2,60 (n=4)	43,86 ± 1,20 (n=6)	70,40 ± 1,76 (n=21)	53 (n=1)	
Hb O (%)	--	--	--	--	43,20 (n=1)	
HbS (%)	--	--	50,30 ± 1,21 (n=6)	--	--	

bonne. L'Hb C présente une tendance thrombotique plus qu'une tendance hémolytique. Cette tendance hémolytique existe cependant avec les conséquences cliniques et biologiques qui en découlent.

Les individus hétérozygotes pour l'Hb C (génotype A/C ou trait C) sont, comme dans la série étudiée, asymptomatiques et peuvent présenter sur le plan hématologique une microcytose modérée en rapport avec le phénomène de déshydratation [8, 9]. L'examen du frottis sanguin, révèle une proportion importante d'hématies cibles. Il n'y a ni anémie, ni splénomégalie [9]. Le diagnostic repose, comme dans la présente étude, sur la mise en évidence de l'Hb C à l'électrophorèse de l'Hb aux pH alcalin (Hb A : 58,6-62,4%, Hb C : 35,08-40% et Hb A<sub>2</sub> : 0,5-2%) et acide. Les séries des patients homozygotes sont rares. Ces sujets présentent généralement une anémie hémolytique, légère à modérée en général bien compensée, associée à une discrète microcytose et une fréquente splénomégalie [6]. On observe parfois des vagues de douleurs abdominales et articulaires, et des atteintes rénales. Les cas d'homozygotie C/C de cette étude ne présentaient aucun symptôme douloureux à leur admission. L'anémie hémolytique avec microcytose ainsi que la splénomégalie ont toutefois été notées. La découverte de ce profil phénotypique est souvent tardive [9], comme dans la présente étude où l'âge moyen de découverte était de 43 ans avec des extrêmes de 20 et 55ans. Des GR déformés par la présence de cristaux d'Hb C, des microsphérocytes, des GR en forme de bâtonnet et une augmentation de la résistance des GR à la lyse in vitro peuvent être observés [10]. La durée de vie des GR est habituellement modérément diminuée. Dans la présente cohorte, seules les cellules cibles et une anisopoïkilocytose ont été observées chez les homozygotes. Le taux de réticulocytes très augmenté traduit le caractère régénératif de l'anémie. À l'électrophorèse de l'Hb à pH alcalin (sur Capillarys), le taux d'Hb C est compris entre 93 et 98,2%, l'Hb A est absente et l'Hb F est inférieure à 5%. Cela concorde avec les données de la littérature.

Les hétérozygotes composites C/ $\beta$ -thalassémiques sont marqués par la présence d'hématies microcytaires et hypochromes, et par la tendance à une pseudo-polyglobulie. Le taux de plaquettes est souvent normal sauf dans quelques cas d'hypersplénisme qui s'accompagnent de thrombopénie [10]. L'association de l'Hb C avec la  $\beta^+$ -thalassémie donne un tableau clinique comparable à celui de l'homozygotie C/C. Elle se caractérise, notamment par une anémie modérée à sévère (50% des patients C/ $\beta^+$ -thal de cette étude) et une splénomégalie (100% des patients C/ $\beta^+$ -thal des cas dans la présente étude). Les anomalies biologiques caractéristiques de ce groupe étiologique (cellules cibles, anisocytose, poïkilocytose) ont été relevées. Les hémogrammes révèlent, conformément à la littérature,

une anémie hypochrome microcytaire. Le taux de réticulocytes est habituellement modérément élevé (11) traduisant le caractère régénératif de l'anémie [10]. Chez ces patients, l'hémoglobine majeure est l'Hb C (67,0-72,1% dans cette cohorte) associée à l'Hb F à un taux supérieur à 0,5%. L'Hb A<sub>2</sub> a été ici identifiée à des taux compris entre 4-6%.

L'association de l'Hb C à l'Hb O-Arab donne généralement un tableau clinique comparable à celui de l'homozygote C/C, avec notamment une anémie hémolytique bien compensée et une splénomégalie due à l'hémolyse chronique [12]. Une étude ivoirienne réalisée en 1992, a pourtant rapporté que les patients C/O-Arab ne présentent aucune manifestation clinique ni hématologique [13]. Le seul cas ici rapporté, présente une splénomégalie et des anomalies au frottis sanguin (anisopoïkilocytose, nombreuses cellules cibles et quelques schizocytes), sans anémie. À l'électrophorèse à pH alcalin, l'Hb A est absente.

La double hétérozygotie C/S constitue un syndrome drépanocytaire majeur. Le tableau clinique est comparable à celui de la drépanocytose homozygote S/S, quoique légèrement atténué. Il comporte une anémie hémolytique chronique modérée, des crises vaso-occlusives moins fréquentes voire absentes, et un risque de syndrome thoracique aigu diminué [7]. Les complications qui peuvent être certes plus tardives, mais tout aussi sévères voire plus sévères, demeurent les mêmes et sont même plus fréquentes que chez les patients drépanocytaires (ostéonécroses épiphysaires, rétinopathie proliférante avec possibilité d'hémorragie du vitré et de décollement rétinien, infarctus spléniques répétés, risque d'accident vasculaire cérébral, perte d'audition)[6, 7]. Les formes sévères S/C sont caractérisées par une fréquence élevée de crises douloureuses (66% des patients S/C de la présente étude) et/ou de syndromes thoraciques aigus. L'existence d'une splénomégalie est fréquente dans le génotype S/C au-delà de 5 ans et souvent à l'âge adulte et peut entraîner des complications telles l'infarctus, ou la séquestration splénique[7]. On note également chez ces patients une augmentation de la viscosité sanguine, entraînant au cours de la grossesse des complications vaso-occlusives (crise douloureuse, syndrome thoracique aigu, toxémie gravidique) qui nécessitent une prise en charge adaptée (échange transfusionnel) [6]. L'espérance de vie des formes S/C dépasse 65 ans [7]. Le diagnostic est posé à l'aide de l'hémogramme qui montre une anémie modérée normochrome normocytaire régénérative, comme dans cette étude, parfois hypochrome microcytaire. L'étude du frottis montre la coexistence d'hématies en cible et de rares drépanocytes. Le taux de réticulocytes est habituellement de 100-200 G/L (14). L'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin révèle dans la présente étude, des taux d'Hb S compris entre 49,09 et 51,51% et d'Hb C entre 42,66 et

45,06%. L'Hb A est absente, le taux d'Hb F est normal ou  $\pm$  augmenté (valeur moyenne dans cette étude est de  $2.83 \pm 0.26$  %). L'Hb A<sub>2</sub> est présente à un taux oscillant entre 2,91 à 3.43%. Ces résultats sont en accord avec la littérature. Près de 50% des patients S/C de la population étudiée ont été dépistés précocement. Pour les 50% restants, le diagnostic a été porté tardivement suite à l'apparition des signes révélateurs précédemment énumérés. En ce qui concerne la répartition en fonction du sexe dans le présent travail, nous soulignons la contribution du mode de recrutement des malades et de l'effectif pour expliquer la discordance par rapport au mode de transmission autosomal qui prédit une répartition égale entre les deux sexes.

## CONCLUSION

L'hémoglobinose C peut être considérée comme une hémoglobinopathie bénigne. Au Maroc, les patients, qui en sont atteints, sont originaires pour la plupart du Nord-Ouest marocain et, souvent dépistés après 30 ans. Les groupes étiologiques génotypiques qui se dessinent sont variés avec la présence des traits drépanocytaires,  $\beta$ -thalassémiques et O-Arab. Les résultats de la cohorte étudiée corroborent les tableaux d'expression clinique et biologique habituellement décrits dans la littérature. Le rôle du biologiste apparaît plus important que jamais puisqu'il est celui qui doit exploiter les signes cliniques et les utiliser ainsi que l'ensemble des éléments cytologiques et biochimiques pour conduire efficacement le diagnostic et participer ainsi au conseil génétique.

## Références

1. Wajzman H, Moradkhani K. Abnormal haemoglobins: detection & characterization. *Indian J Med Res* 2011 Oct;134:538-46. Review. PubMed PMID: 22089618; PubMed Central PMCID: PMC3237254.
2. Weatherall DJ. Hemoglobinopathies worldwide: present and future. *Curr Mol Med* 2008 Nov;8(7):592-9. Review. PubMed PMID: 18991645.
3. Benkirane Agoumi N, Sebar A. Hemoglobin disorders in Morocco. *Arch Pediatr* 2003 Jul;10(7):654-5. French. PubMed PMID: 12907081.
4. Piel FB, Howes RE, Patil AP, Nyangiri OA, Gething PW et al. The distribution of haemoglobin C and its prevalence in newborns in Africa. *Sci Rep* 2013;3:1671. doi: 10.1038/srep01671. PubMed PMID: 23591685; PubMed Central PMCID: PMC362816
5. Bachir D, Galacteros F. Hemoglobin C. *Orphanet Encyclopedia* 2004. 2013.
6. Cotton F, Wolff F, Gulbis B. Automated capillary electrophoresis in the screening for hemoglobinopathies. *Methods Mol Biol* 2013;984:227-35. doi: 10.1007/978-1-62703-296-4\_16. PubMed PMID: 23386347.
7. Steinberg MH, Chui DH. HbC disorders. *Blood* 2013 Nov 21;122(22):3698. doi:10.1182/blood-2013-09-526764. PubMed PMID: 24263962.
8. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2011 Aug;108(31-32):532-40. doi: 10.3238/arztebl.2011.0532. Epub 2011 Aug 8. PubMed PMID: 21886666; PubMed Central PMCID: PMC3163784.
9. Bruyneel M, De Caluwé JP, des Grottes JM, Collart F. [Hemoglobinopathy C and splenomegaly in an Ivory Coast patient. Value of splenectomy]. *Rev Med Brux* 2003Apr;24(2):105-7. French. PubMed PMID: 12806878.
10. Hafsia R, Marrakchi O, Ben Salah N, Gouider E, Ben Lakhal R et al. Hemoglobin C disease: report of 16 Tunisian cases. *Tunis Med* 2007 Mar;85(3):209-11. French. PubMed PMID: 17668575.
11. Ghosh K, Colah R, Manglani M, Choudhry VP, Verma I et al. Guidelines for screening, diagnosis and management of hemoglobinopathies. *Indian J Hum Genet* 2014 Apr;20(2):101-19. doi: 10.4103/0971-6866.142841. Review. PubMed PMID:25400338; PubMed Central PMCID: PMC4228561.
12. El Maataoui A, Ouzzif Z. Haemoglobin C/OArab: About a family. *Pathol Biol (Paris)* 2012 Oct;60(5):320-1. doi: 10.1016/j.patbio.2011.05.002. Epub 2011 Nov9. French. PubMed PMID: 22078176.
13. Hafsia R, Gouider E, Ben Moussa S, Ben Salah N, Elborji W et al. Hemoglobin O Arab: about 20 cases. *Tunis Med* 2007 Aug;85(8):637-40. French. PubMed PMID: 18254282.
14. Oliver M, Wolf A, Roche C, Moalic JL. Hemoglobinopathy. Laboratory diagnosis. *Med Trop (Mars)* 2011 Jun;71(3):217-22. French. PubMed PMID:21870542.