

Détermination Du Profil Electrophorétique De L'Hémoglobine Chez Les Enfants Diagnostiqués Au CEFA/MONKOLE A Kinshasa En R D Congo

Marie Musembu Nkika¹, Marie Nyakala Ibuayolo², Eugénie Pitshilu Kanganga³, Daddy Wangima Atila^{4*}

¹Apprenant en Biologie Médicale de l'Université Pédagogique Nationale. BP 8815 Kinshasa I. RD Congo

²Institut Supérieur des Techniques Médicales d'Ilebo. BP 166 Ilebo

³Institut Supérieur des Techniques Médicales d'Ilebo. BP 166 Ilebo

⁴ Université Pédagogique Nationale. Faculté des Sciences de la Santé. BP 8815 Kinshasa I. RD Congo.

Corresponding Author : Daddy Wangima Atila email; daddy.wangima@upn.ac.cd



Abstract – The general objective of this article is to determine the electrophoretic profile of hemoglobin in children diagnosed at CEFA/Monkole. The results showed that only the 3 male subjects had sickle cell disease, i.e. 6.5% and the presence of one case of sickle cell disease in each age group.

Keywords – Determination, electrophoretic profile, hemoglobin, child and diagnosis.

I. INTRODUCTION

La drépanocytose représente l'hémoglobinopathie la plus répandue dans le monde [1]. En pratique clinique courante, les professionnels sont confrontés de plus en plus souvent à ces affections en raison de l'accroissement des brassages matrimoniaux entre les personnes d'origines diverses et les flux migratoires aidant. Habituellement, la manifestation la plus patente est l'anémie dont la cause sous-jacente doit toujours être déterminée, pour une prise en charge efficiente. C'est également l'occasion pour le professionnel de santé de donner un conseil génétique et, si nécessaire, porter un diagnostic anténatal [2].

Les anomalies de l'hémoglobine se répartissent en deux grands groupes : les anomalies quantitatives constitutionnelles et les anomalies qualitatives constitutionnelles de la synthèse de globine. Dans le premier cas, ce sont les syndromes thalassémiques qui se traduisent par une diminution ou une absence de synthèse d'une ou de plusieurs chaînes de globine. On distingue les β -thalassémies qui se caractérisent par une diminution ou absence de la synthèse des chaînes β ; les α -thalassémies où l'expression clinique est variable selon le nombre de gènes délétés. Dans le deuxième cas, il s'agit des anomalies qualitatives constitutionnelles de la synthèse de globine.

Il existe plus de 400 types d'hémoglobines mutées dont la plupart n'ont pas une signification clinique, ni électrophorétique. La plus répandue est la drépanocytose ou hémoglobinose S, qui est caractérisée par une anomalie de structure de la chaîne β de globine résultant d'une substitution d'un acide aminé en position 6 du polypeptide (β 6Glu \rightarrow Val). Les autres hémoglobinoses sont l'hémoglobinose C due à une substitution d'un acide aminé en position 6 : β 6Glu \rightarrow Lys ; l'hémoglobinose E, suite à une substitution d'un acide aminé en position 26 : β 26Glu \rightarrow Lys ; l'hémoglobinose D qui dérive d'une substitution d'un acide aminé en position 121 : Punjab β 121Glu \rightarrow Gln, [3].

Selon les données de l'organisation mondiale de la santé, 7 % de la population mondiale est porteuse d'un gène anormal de globine et dans certaines régions du monde jusqu'à 1 % des nouveau-nés sont atteints d'une pathologie de l'hémoglobine [3].

La drépanocytose est une affection génétique dont la prévalence estimée RDC (République Démocratique du Congo) est de 2% dans la population générale et 15‰ naissance vivantes [1].

Face à cette situation nous nous sommes posé la question de recherche suivante : Quelle est la prévalence de la drépanocytose chez les enfants diagnostiqués au Centre de Formation et d'Appui Sanitaire (CEFA) à Monkole ? Au regard de ce qui procède, nous vivons dans un monde où la plupart de la population congolaise ne se fait pas dépister sur le type d'hémoglobine, la prévalence de la drépanocytose serait supérieure à 5%.

L'objectif général de la présente étude est de Déterminer le profil électrophorétique de l'hémoglobine chez les enfants diagnostiqués au CEFA/Monkole. Les deux objectifs spécifiques sont les suivantes :

- ❖ De dépister la drépanocytose chez les enfants fréquentant le CEFA/Monkole et
- ❖ D'identifier le profil électrophorétique de l'hémoglobine selon le sexe et la tranche d'âge la plus touchée par cette pathologie.

La présente étude portant sur la détermination du profil électrophorétique de l'hémoglobine a été conduite au CEFA/Monkole et a couvert une période allant de Décembre 2023 à Février 2024 soit 3 mois.

II. MILIEU, MATERIEL ET METHODES

II.1 Milieu d'étude

Notre milieu d'étude est situé au numéro 4804 de l'avenue Ngafani dans la commune de Mont-Ngafula dans le district de Lukunga. Il s'agit d'une des plus grandes institutions médicales à Kinshasa.

II.2 Matériel

Les matériels utilisés sont répartis en matériels biologique et matériels de laboratoire

II.2.1 Matériel biologique

Le matériel biologique était constitué du sang des 46 enfants.

II.2.2 Matériels de laboratoire

Le matériel de ponction veineuse était constitué de garrot, de coton hydrophile, de l'éthanol dénaturé par l'éther (désinfectant) et de seringue montée d'une aiguille stérile, afin de garantir l'asepsie. Le tube à hémolyse a constitué le matériel de recueil et l'anticoagulant calciprivo EDTA a été nécessaire pour chélater les ions calciques (Ca^{2+}) indispensables dans la constitution des complexes enzymatiques qui naissent durant le processus de la coagulation plasmatique. L'automate Capillarys 2 Flex piercing (SEBIA) assure l'analyse des hémoglobines sur 8 capillaires en parallèle, permettant 8 migrations simultanées. Il s'agit de capillaires en silice fondue de diamètre interne inférieur à 100 μm . Les kits Capillarys 2 Flex Piercing Hémoglobine fournissent différents réactifs nécessaires à l'analyse :

- ❖ tampon basique (pH 9,4) ;
- ❖ solution hémolysante, pour dilution et hémolyse des hématies ;
- ❖ solution de lavage ;
- ❖ cupules réactif ;
- ❖ filtres, pour filtration du tampon, de la solution de lavage et de l'eau distillée ou déminéralisée ;
- ❖ boîtes pour cupules usagées, permettant la récupération automatique de cupules réactives usagées ;
- ❖ étiquettes code-barres pour identification de la solution hémolysante.

Bien que non fourni dans le kit hemoglobine, un contrôle Hb A2 normal est également nécessaire. Il est obtenu à partir d'un pool de sangs humains normaux et est conservé sous forme lyophilisée. Ce réactif est utilisé comme contrôle de migration avant toute nouvelle série d'analyses. Le contrôle Hb A2 normal sert aussi de contrôle de qualité de la méthode de dosage de l'hémoglobine humaine A2. Il est pour cela recommandé d'inclure ce contrôle dans chaque série d'analyses.

II.3 Méthodes

Il s'est agi d'une étude quantitative prospective basée sur le dépistage de la drépanocytose dans la population reçue au CEFA/Monkolé. Une électrophorèse à pH alcalin d'hémoglobine a été réalisée pour chaque échantillon sanguin. Il s'agit d'une technique électrophorétique qui consiste à faire migrer l'hémoglobine et à analyser les variations du taux de cette protéine dans le sang en fonction du temps de migration. Pour notre recherche, la population est constituée de 68 personnes de tout âge confondu et nous avons tirés un échantillon de 46 enfants.

II.3.1 Technique

Pour chaque enfant, un volume \leq à 2 millilitres de sang veineux a été prélevé sur l'anticoagulant éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). Une ponction veineuse a été réalisée au pli du coude ou du dos de la main de chaque enfant, à l'aide d'une seringue montée d'une aiguille stérile après avoir désinfecté le site à l'alcool dénaturé.

Il consiste à réaliser une ponction veineuse, au pli du coude, à l'aide d'un corps de prélèvement vacutainermonté d'une aiguille stérile et sur une région d'intérêt désinfectée à l'alcool dénaturé. Ce sang est ensuite recueilli dans un tube contenant l'anticoagulant (EDTA). Le prélèvement se réalise avec la technique suivant :

- 1° Posez un garrot légèrement serré au-dessus du pli de coude.
- 2° Observez le réseau veineux au pli du coude.
- 3° Palpez délicatement les veines en profondeur à la recherche de la meilleure veine.
- 4° Enfillez une paire de gants.
- 5° Passez un tampon imbibé de désinfectant sur la zone choisie en allant du centre vers la périphérie (sans repasser sur la zone déjà désinfectée).
- 6° Positionnez l'aiguille fixée sur l'adaptateur (vacutainer).
- 6° Immobilisez la veine, entrez dans celle-ci en formant un axe à un angle de 30° environ.
- 7° Enfoncez le tube vacutainer (contenant de l'EDTA) dans l'adaptateur déjà positionné (le sang est aspiré par le vide que contient le tube).
- 8° Retirez le premier tube et mélangez immédiatement le sang avec l'EDTA en retournant 2 à 3 fois le tube. (Introduisez le tube suivant en prenant soins d'immobiliser l'adaptateur afin que l'aiguille ne bouge pas au niveau de la veine (cas de plus d'un prélèvement).
- 9° Placez au niveau du point de piqure de l'ouate propre et sec.
10. Retirez l'aiguille d'un coup sec en appuyant sur le site de piqure.
- 11° Prélevez une goutte de sang et déposez-la sur la surface d'une lame porte-objet propre et dégraissée.
- 12° Placer le sparadrap sur le lieu de prélèvement pour arrêter l'hémorragie.

II.3.2 Procédure analytique de l'électrophorèse capillaire d'hémoglobine

Classiquement, l'électrophorèse capillaire est pratiquée dans un capillaire de silice fondue recouvert d'une couche de polyimide de 20 à 200 μm de diamètre interne et de 20 à 200 cm de longueur. Le capillaire, placé dans un système de thermostatisation, est rempli d'une solution tampon et plonge dans deux réservoirs contenant cette même solution. Chaque réservoir est connecté à une électrode reliée à un générateur de courant. Une forte différence de potentiel (plusieurs milliers de volts) est appliquée aux bornes de chaque capillaire pour séparer les molécules sur la base de leur rapport charge/masse. L'appareillage comporte également un système de détection, le plus souvent un spectrophotomètre UV-visible, en lien avec la longueur d'onde d'absorption spécifique des hémoglobines à 415 nm.

Cette technique, basée sur une séparation électrocinétique, est caractérisée par l'interface solide-liquide entre la paroi du capillaire en silice et l'électrolyte qui le remplit. En fonction du pH du tampon, les groupements silanols de la silice s'ionisent, conférant à la paroi des charges négatives à l'origine du flux électro-osmotique, plus ou moins important, orienté vers la cathode. D'autre part, chaque molécule chargée est caractérisée par sa propre mobilité électrophorétique dans un tampon de pH donné, celle-ci étant fonction de la charge, taille et forme de la molécule et de la viscosité du tampon. Dans un tampon de pH donné, les molécules chargées sont alors séparées en fonction du flux électrophorétique, dépendant de la mobilité électrophorétique de la molécule et du champ électrique appliqué, et en fonction du flux électro-osmotique.

II.3.3 Interprétation des profils électrophorétiques

A la fin de l'analyse, les profils électrophorétiques s'affichent sur le logiciel Phoresis fourni par la société Sebia, où ils font l'objet d'une interprétation visuelle à la recherche d'éventuelles anomalies. Une quantification relative des différentes fractions de l'hémoglobine est automatiquement réalisée. Afin de faciliter l'interprétation des profils électrophorétiques, le pic d'hémoglobine A est positionné au centre de la fenêtre de reprise. Les pics d'Hb A, Hb A2, Hb F, Hb S et Hb C sont identifiés de façon automatique. Les positions des autres variantes de l'hémoglobine sont repérées à l'écran au niveau d'autres zones. Une liste des variantes connus potentiellement présents dans chaque zone apparaît lorsque l'on place le curseur sur cette zone en haut de l'écran.

III. RESULTATS

Répartition des enfants dépistés selon le sexe

Tableau 1 : Répartition des enfants selon le sexe

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Féminin	20	43,5%
Masculin	26	56,5%
Total	46	100,0%

Sur un total de 46 sujets, 56,5% était de sexe masculin et 43,5% de sexe féminin avec un ratio était de 1,3.

Tableau 2 : Répartition des enquêtés selon la tranche d'âge

Tranche d'âge (ans)	Fréquence	Pourcentage
1-5 ans	7	15,2%
6-10	18	39,1%
11-15	21	45,7%
Total	46	100,0%

La tranche d'âge la plus représentative est celle de 11 à 15 ans avec 45,7% des cas. Suivie de la tranche d'âge de 6 à 10 ans avec 39,1% et la tranche d'âge de 1 à 5 ans avec 15,2%.

Tableau 3 : Répartition des enfants dépistés selon les résultats d'électrophorèse de l'hémoglobine

Résultats	Fréquence	Pourcentage
AA	28	60,9%
AS	15	32,6%
SS	3	6,5%
Total	46	100,0%

La drépanocytose a été observée chez 6,5% des enquêtés. Le trait drépanocytaire représentait 32,6% et 60,9% des enfants dépistés étaient normale.

Tableau 4 : Résultats de types d'hémoglobine selon les tranches d'âge

Tranches d'âge (ans)	Types d'hémoglobine			
	AA	AS	SS	TOTAL
11-15 ans	14 (30,4%)	6 (13%)	1 (2,2%)	21 (45,7%)
6-10 ans	10 (21,7%)	7 (15,2%)	1 (2,2%)	18 (39,1%)
1-5 ans	4 (8,7%)	2 (4,4%)	1 (2,2%)	7 (15,2%)
Total	28 (60,8%)	15 (32,6%)	3 (6,6%)	46 (100,0%)

Les résultats du tableau 4 montrent la présence d'un cas dans chaque tranche d'âge présentant la drépanocytose.

Tableau 5: Résultats de types d'hémoglobine selon le sexe des enquêtés

Sexe	Types d'hémoglobine			
	AA	AS	SS	TOTAL
Féminin	13 (28,3%)	7 (15,2%)	0 (0,0%)	20 (43,5%)
Masculin	15 (32,6%)	8 (17,4 %)	3 (6,5%)	26 (56,5%)
Total	28 (60,9%)	15 (32,6%)	3 (6,5%)	46 (100,0%)

Seuls les 3 sujets masculins qui présentaient la drépanocytose soit 6,5%.

IV. DISCUSSION

Des participants à la présente étude, la proportion des sujets masculins était prédominante (sex-ratio = 1,3) ; ce résultat est similaire à celui de la référence [4] Diallo et la référence [2] Fofana avec respectivement la sex-ratio de 1,2 et 1,28 en leur faveur. Toutes fois, l'étude de la référence [5] rapportait des proportions égales entre les 2 sexes.

Par contre, une prédominance masculine a été retrouvée par la référence [6] (sex-ratio = 1,26) avec respectivement la sex-ratio de 1,2 et 1,28 en leur faveur. L'étude a inclus les sujets âgés de 6 à 14 ans dans lesquels les plus fréquents étaient dans la tranche d'âge comprise entre 12 à 14 ans soient 45,7%.

La formes drépanocytaire homozygote SS représente 6,5% des cas, la forme hétérozygote AS (trait drépanocytaire) 32,6%, la forme normale homozygote AA présente la grande majorité avec 60,9%. Cette prédominance en deuxième lieu de la forme hétérozygote pourrait s'expliquer par le fait qu'il s'agit la forme retrouvée à un taux élevé dans les pays tropicaux tel que le nôtre. Ces résultats sont similaires à ceux des références [5] et [2] qui trouvent respectivement 54,6 et 45% pour la forme homozygote AA, 33,3% et 36,2% pour la forme AS et (12,1% et 18,8%) pour la forme SS.

V. REMERCIEMENTS

Nos remerciements s'adressent à tout le membre ayant participé à la réalisation de cet article. Notre sincère gratitude s'adresse au Docteur Daddy Wangima Atila.

DIVULGATION DE CONFLIT D'INTERETS

Tous les auteurs ont été impliqués dans la conception de l'étude, la recherche expérimentale et la rédaction scientifique de l'article.

REFERENCES

- [1] Abdala K, Mabilia B et Shindano M ,2018 : Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de la drépanocytose chez l'enfant à l'Hôpital général de référence de Kindu (HGRK). Rev.Afr.Méd&S.P|N°1 - Vol.2 pp1-8.
- [2] Fofana D, 2002 : Prise en charge de la drépanocytose chez les enfants de 0-15ans dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré. Thèse de Méd. Bamako N°32.
- [3] OMS, 2008 : Management of haemoglobindisorder.
- [4] Diallo D, 2004 : Suivi des enfants drépanocytaires de 0-15 ans dans le service de pédiatrie du CHU-GT, Thèse de Méd. Bamako : 04-M-16.
- [5] Dione L, 2007 : Les activités de l'unité fonctionnelle de prise en charge et de suivi des enfants drépanocytaires : Bilan d'une année dans le service de pédiatrie de CHU GT Thèse de Méd. Bamako.
- [6] Bouaré ,2006 : Aspects échographiques aucours de la drépanocytose chez l'enfant de 0 à 16 ans dans le service cardiologique du CHU Gabriel TOURE en à propos de 70 cas ; Thèse de Médecine ; Bamako ; N° 51.