

Confirmation de l'électrophorèse des sujets drépanocytaires SS et non drépanocytaires par PCR en temps réel au Burkina Faso

Marie Simone TRAORE^{1,2}, Pegdwendé Abel SORGHO^{1,2},
Abdoul Karim OUATTARA^{1,2}, Paul OUEDRAOGO³,
Albert Théophile YONLI^{1,2}, Hermann SOMBIÉ^{1,2},
Abdou Azaque ZOURE^{1,2,4}, Théodora M. ZOHONCON^{1,2,3,5},
Djénéba OUERMI^{1,2}, Jacques SIMPORE*^{1,2,3}

Résumé

La drépanocytose, maladie génétique très répandue dans le monde, a une prévalence élevée au Burkina Faso. Cette étude avait pour objectif de confirmer par PCR en temps réel l'électrophorèse des sujets drépanocytaires SS et non drépanocytaires afin de la proposer comme méthode de diagnostic précoce des hémoglobinopathies.

Au total 280 patients ont participé à cette étude dont 86 drépanocytaires âgés de 1 à 15 ans (sujets non enceintes) et 194 femmes enceintes dont le génotype de l'hémoglobine était inconnu mais après l'examen, aucune femme enceinte SS n'a été identifiée. Tous les patients ont effectué les tests de l'électrophorèse de l'hémoglobine (EHb) et la PCR pour la détermination de leurs génotypes. En sus, ceux qui portaient l'hémoglobine SS ont réalisé les analyses de fer sérique, de ferritine et d'hémogramme.

Le groupe des drépanocytaires étaient constitués de 41,9% de femmes et 58,1% d'hommes. Le génotypage par PCR chez les femmes enceintes a donné les fréquences génotypiques : AA(82,4%); AC(9,3%); AS(5,2%); CC(3,1%). Tous les tests d'EHb ont été confirmés à 100% par la PCR.

La PCR était sensible et spécifique à 100% par rapport aux tests de l'EHb. La PCR qui permet d'effectuer des analyses prénatales et périnatales, différencie également l'hémoglobine S de l'hémoglobine D, et l'hémoglobine C de l'hémoglobine A2. Par conséquent, le test PCR de l'hémoglobine peut être dorénavant recommandé pour les examens de routine des hémoglobinopathies.

Mots clés : drépanocytose, hémoglobinopathie, électrophorèse sur acétate de cellulose, PCR en temps réel, Burkina Faso

Electrophoresis confirmation of SS and non-sickle cell subjects using real-time PCR in Burkina Faso

Abstract

Sickle cell disease, a genetic disease that is widespread in the world, has a high prevalence in Burkina Faso. The aim of this study was to confirm the electrophoresis of SS and non-sickle cell subjects by real-time PCR in order to propose it as an early diagnosis method for hemoglobinopathies.

A total of 280 patients participated in this study, including 86 sickle aged 1 to 15 years (non-pregnant) cell patients and 194 pregnant women with unknown hemoglobin genotypes and no HbSS pregnant women was detected after

¹ Laboratoire de Biologie Moléculaire et Génétique (LABIOGENE), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

² Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), 01 BP 364 Ouagadougou 01, Burkina Faso

³ Hôpital Saint Camille de Ouagadougou (HOSCO), 09 BP 444 Ouagadougou 09, Burkina Faso

⁴ Laboratoire de Recherche Biomédicale (LaReBio), Département Biomédical et Santé Publique, Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST), 03 BP 7192 Ouaga03, Burkina Faso

⁵ Faculté de Médecine, Université Saint Thomas d'Aquin (USTA), 06 BP 10212 Ouagadougou 06, Burkina Faso.

***Auteur correspondant:** Prof. Jacques SIMPORE, Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA)/LABIOGENE, Université Joseph KI-ZERBO, 01 BP 364 Ouagadougou 01, Burkina Faso.

Tel: +226 25361232, Fax: +226 25363242.

Email : simpore93@gmail.com

ORCID of the authors : <https://orcid.org/0000-0002-0415-9161>

Hb genotype analysis. All patients underwent hemoglobin electrophoresis (EHb) and PCR tests to determine their genotypes. In addition, those with SS hemoglobin performed serum iron, ferritin, and hemogram tests. The sickle cell group consisted of 41.9% women and 58.1% men. PCR genotyping in pregnant women yielded the following genotype frequencies: AA (82.4%); AC (9.3%); AS (5.2%); CC (3.1%). All EHb tests were 100% confirmed by PCR.

PCR was 100% sensitive and specific compared to EHb tests. PCR, which allows for prenatal and perinatal testing, also differentiates hemoglobin S from hemoglobin D, and hemoglobin C from hemoglobin A2. Therefore, the PCR test for hemoglobin can now be recommended for routine exams of hemoglobinopathies.

Keywords: sickle cell disease, hemoglobinopathy, cellulose acetate electrophoresis, real-time PCR, Burkina Faso

Introduction

La drépanocytose, maladie autosomale récessive, est l'une des maladies génétiques la plus courante au monde (1,2). Elle présente deux types d'anomalies. L'anomalie structurelle (qualitative) qui donne une hémoglobine anormale S (HbS) ou C (HbC) et une anomalie de synthèse de l'hémoglobine (quantitative) provoquant un déficit de synthèse des chaînes de globine appelée thalassémie. Le gène qui code pour l'hémoglobine B est localisé sur le bras court du chromosome 11 en 11p15.5. Tandis que l'hémoglobine A est codée par les gènes HbA1 et HbA2 situés sur le chromosome 16 en 16p13. La forme β^S de la drépanocytose résulte d'une unique mutation génique de type « transition » du sixième codon du premier exon du gène de la β -globine (GAG en GTG) donnant comme conséquence la substitution de l'acide glutamique avec la valine. La forme β^c par contre est induite par une mutation génique de type « transversion » (GAG en AAG) conduisant à une substitution d'un acide glutamique par une lysine (3,4). Les Syndromes Drépanocytaires Majeurs (SDM) sont dus à la présence d'une homozygotie S ou d'une hétérozygotie S associée à une mutation touchant la deuxième chaîne β . On parle alors d'hétérozygote composite. Les gènes à l'origine des hémoglobinopathies (thalassémies et drépanocytose) se retrouveraient chez environ 5 % de la population mondiale (5). La majorité des personnes atteintes de la drépanocytose, vivent en Afrique noire avec des prévalences qui varient entre 10 et 40 % (6,4). Les individus atteints du SDM, sont souvent sujets à des crises vaso-occlusives (CVO) et sont plus sensibles aux infections d'origines parasitaires (paludisme) ou bactériennes (infections pulmonaires, osseuses et digestives.), etc. (7,8). Plus de 70% des enfants atteints de la drépanocytose dans le monde sont nés en Afrique subsaharienne. Elle tue chaque année près de 100.000 enfants noirs dans le monde (Simpore *et al.*, 2002). La prévalence néonatale de cette maladie est de 2 % en Afrique subsaharienne (7). A Ouagadougou, au Burkina Faso, la prévalence du gène S a été estimée à 9,5 % tandis que celle des syndromes drépanocytaires majeurs (SDM) était de 1,7 % en hospitalisation et de 0,2 % en ambulatoire (9).

Plusieurs techniques sont utilisées pour diagnostiquer la drépanocytose parmi lesquelles on note l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin, l'électrophorèse capillaire, la focalisation isoélectrique, la chromatographie liquide à haute pression ou CLHP (ou à haute performance), le test d'Itano ou test de solubilité de l'hémoglobine S, la technique de reverse dot-blot ou encore la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) en temps réel, (10,11) etc. La technique de la PCR se distingue des autres techniques du fait de sa sensibilité et de sa spécificité. La PCR qui permet d'effectuer des analyses prénatales et périnatales, différencie également l'hémoglobine S de l'hémoglobine D, et l'hémoglobine C de l'hémoglobine A2 pour une meilleure prise en charge thérapeutique. Le but de cette étude était de confirmer par PCR en temps réel l'électrophorèse de l'hémoglobine sur acétate de cellulose à pH alcalin des patients drépanocytaires SS et des sujets non drépanocytaires au Burkina Faso.

I. Méthodes et matériels

Population d'étude : cette étude a concerné 280 participants. Il s'est agi d'une part, d'une étude rétrospective qui s'est déroulée de janvier à juin 2019 et qui a inclus 86 enfants drépanocytaires SS de la cohorte pédiatrique de l'Hôpital Saint Camille de Ouagadougou (HOSCO) et, d'autre part, d'une étude prospective du mois d'août à septembre 2021 ayant concerné 194 femmes enceintes qui sont venues effectuer une électrophorèse de l'hémoglobine au Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA). Ont été inclus dans l'étude, les enfants drépanocytaires suivis médicalement à l'HOSCO et les femmes enceintes suivies au Centre Médical CANDAF et qui viennent effectuer leurs analyses biologiques au CERBA. Ces personnes ont donné leur consentement libre et éclairé pour participer à l'étude.

1.1. Collecte de données

Les paramètres étudiés étaient les données sociodémographiques (âge et sexe), les constantes physiques (poids, taille, indice de masse corporelle (IMC)), les données cliniques dont la crise vaso-occlusive (CVO) et les données biologiques (hémogramme, fer sérique, ferritine et électrophorèse de l'hémoglobine).

1.2. Collecte des échantillons

Après avoir recueilli le consentement libre et éclairé des patients ou de leur tuteur, 5 ml de sang veineux ont été recueillis dans des tubes EDTA pour déterminer l'électrophorèse de l'hémoglobine des patients grâce à la technique classique sur l'acétate de cellulose à pH alcalin selon le protocole du fabricant du réactif (*Cellogel Electrophoresis, CO. SRL, Milan, Italy*). La migration a été effectuée à 220 V pendant 45 minutes. Le reste du sang total a été centrifugé à 15000 g pendant 15 minutes et le culot sanguin obtenu a été conservé à -20 °C et utilisé plus tard pour l'extraction de l'ADN. L'extrait d'ADN a été utilisé pour la détection du génotype de l'hémoglobine par PCR en Temps réel en utilisant les sondes TaqMan.

1.3. Détermination de l'électrophorèse de l'hémoglobine par la méthode classique acétate de cellulose à pH alcalin

Un quart de volume de sang total fraîchement prélevé a été ajouté à trois quart de volume d'eau physiologique dans un tube à hémolyse. Le mélange est centrifugé à 2500 rpm pendant 5 minutes. Après la centrifugation le surnageant est jeté et le culot est recueilli en y ajoutant 500 µl de la solution de saponine 1 %. Le mélange est ensuite passé au vortex pour l'hémolyse des globules rouges et la libération de l'hémoglobine. Un petit spot du mélange est enfin déposé sur le gel de migration d'acétate de cellulose à l'aide d'un tube capillaire. La migration est effectuée de la borne négative vers la borne positive sous une tension de 220 volts sous 50 milliampères pendant 45 minutes. Des spots d'échantillons témoins de génotypes d'hémoglobines déjà connus ont été déposés sur le gel de migration en même temps que les échantillons inconnus permettant ainsi l'identification des génotypes des nouveaux échantillons par comparaison de leur profil de migration électrophorétique aux témoins.

1.4. Extraction de l'ADN génomique humain

L'ADN génomique humain a été extrait à partir de 200 µL du plasma en utilisant le kit d'extraction PureLink® Genomic DNA Extraction Kit (Life Technologies, CA USA) en suivant le protocole du fabricant. Seuls les extraits d'ADN avec un ratio d'absorbance A260/280 d'environ 1,8 ont été conservés -20 °C pour l'analyse PCR.

1.5. Détection du génotype de l'hémoglobine par PCR en Temps réel

Le génotypage des polymorphismes de l'hémoglobine S et C (rs334-HbS et rs33930165-HbC) a été fait par PCR en temps réel en utilisant la technique de discrimination allélique de TaqMan avec les sondes couplées aux fluorochromes FAM et VIC. Les sondes des allèles normaux (GAG) de référence étaient couplées au fluorochrome VIC tandis que les sondes des allèles mutants (GTG) de l'HbS et (AAG) de l'HbC étaient couplées au fluorochrome FAM. Un volume réactionnel de 14 µL a été préparé en mélangeant 5 µL d'ADN (2 µg/mL), 5 µL de TaqMan Universal PCR Master Mix (2X), 3.2 µL d'eau de grade biologie moléculaire et 0,8 µL du SNP mix (40X) selon le protocole du fabricant (la séquence des amorces et des sondes est indiquée dans le tableau 1. La PCR a été effectuée sur le thermocycleur QuantStudio5 de Applied Biosystems selon le programme suivant : 60 °C pendant 30 secondes et 95 °C pendant 10 minutes suivi de 40 cycles de 95 °C pendant 15 secondes et 60 °C pendant 1 minute et enfin une dernière étape de 60 °C pendant 30 secondes. Les résultats ont été analysés grâce au logiciel d'analyse Software version v.2.1 (Applied Biosystems) du QuantStudio5.

Tableau 1 : Séquence des amorces et sondes pour la PCR en temps réel

rs334 (HbS)	rs33930165 (HbC)
Forward-TCAAACAGACACCATGGTGCAT	Forward-AGCAACCTCAAACAGACACCAT
Reverse- CCCCACAGGGCAGTAACG	Reverse-CCCCACAGGGCAGTAACG
VIC- CTGACTCCTGAGGAGAA	VIC- CTGACTCCTGAGGAGAA
FAM-CTGACTCCTGTGGAGAA	FAM-ATCTGACTCCTAAGGAGAA

Les fréquences alléliques ont été calculées à partir des fréquences génotypiques absolues observées en utilisant les formules suivantes :

$$\beta^A = (2AA+AC+AS)/2N; \beta^C = (2CC+AC+SC)/2N; \beta^S = (2SS+AS+SC)/2N$$

Les fréquences génotypiques absolues ont été calculées en utilisant la formule de Hardy-Weinberg (HW) : $N(p+q+r)^2 \Rightarrow AA=Np^2; CC=Nq^2; SS=Nr^2; AC=2Npq; AS=2Npr; SC=2Nqr$.

1.6. Analyses statistiques

Les données ont été saisies sur Excel 7 et analysées à l'aide du logiciel Standard Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 21.0. Le test de Khi deux (X^2) a été utilisé pour les comparaisons et la différence était statistiquement significative pour la valeur $p \leq 0,05$. Les Odds ratio (OR) et les Intervalles de Confiance (IC) à 95% ont été calculés pour estimer les associations.

1.7. Considération éthique

Cette étude a reçu l'approbation du comité d'éthique pour la recherche en santé du Burkina Faso (CERS) en sa délibération N°2018-6-072 du 06 Juin 2018. Tous les patients ou tuteurs légaux des enfants ont donné leur consentement libre et éclairé selon la déclaration d'Helsinki. Les résultats ont été utilisés pour une prise en charge thérapeutique des patients.

II. Résultats

Données sociodémographiques et les constantes physiques

La population de la présente étude était constituée de 280 individus dont le génotype de l'hémoglobine a été détecté par électrophorèse et par PCR en temps réel. Elle était subdivisée en une sous population (SP1) de 30,71 % (86/280) de patients drépanocytaires connus ayant effectué un hémogramme pendant la période d'étude et une seconde sous population (SP2) de 69,29 % (194/280) d'individus dont le génotype de l'hémoglobine a été déterminé au cours de l'étude.

Le tableau 1 présente les paramètres sociodémographiques, les constantes physiques et biologiques de la SP1. Dans cette sous-population SP1, au moins une crise vaso-occlusive (CVO) a été enregistrée au cours de l'année chez chacun des 86 patients avec une moyenne de $1,72 \pm 2,07$. Les patients drépanocytaires étaient constitués de 41,90 % (36/86) de femmes et 58,10 % (50/86) d'hommes avec des moyennes d'âge, de poids, de taille et d'IMC respectivement de $7,76 \pm 3,93$ ans ; $22,34 \pm 9,77$ kg ; $120,75 \pm 22,05$ cm ; $14,49 \pm 2,38$ Kg/m² (tableau 1). L'indice de masse corporel d'une personne est maigre lorsqu'elle est inférieure à 18,5 Kg/m² ; normal quand elle est supérieure ou égal à 18,5 Kg/m² et inférieure à 25 Kg/m². Une personne est obèse lorsque son IMC est supérieur à 25 Kg/m². L'IMC moyen selon le sexe a donné $14,33 \pm 1,67$ Kg/m² pour les femmes et $14,61 \pm 2,78$ Kg/m² pour les hommes.

Tableau 2 : moyenne des paramètres sociodémographiques, anthropométrique et biologiques en fonction des classes d'âges chez les 86 enfants drépanocytaires SS

Classe d'âges		Age	Poids	Taille	IMC	CVO	Fer sérique	Ferritine	Globules Rouges	Hémoglobine	Hématocrite	VGM	TCMH	CCMH
		ans	Kg	cm	Kg/m ²		μmol/L	ng/mL	10 ⁴ /mm ³	g/dL	%	fL	pg	g/dL
0 à 5 ans*	Moyenne	3,52	13,52	97,34	14,26	1,45	18,64	489,80	324,61	8,40	24,32	75,90	26,27	34,60
		±1,31	±3,23	±11,54	±1,40	±1,89	±20,48	±494,82	±80,11	± 1,53	± 4,64	±6,85	±2,93	±1,65
6 à 14 ans ^	Moyenne	10,20	27,25	133,32	14,62	1,87	15,80	467,35	353,52	8,08	23,28	78,48	27,38	34,64
		±2,63	±8,67	±14,87	±2,78	±2,16	±12,03	±475,74	±354,50	±0,96	±2,60	±7,94	±3,21	±2,27
Total	Moyenne	7,76	22,34	120,75	14,49	1,72	16,80	475,26	342,79	8,19	23,66	77,52	26,97	34,63
		±3,93	±9,77	±22,05	±2,38	±2,07	±15,45	±479,12	±284,32	±1,20	±3,48	±7,60	±3,13	±2,04
X ² : * ---- > ^			P<0,001	P<0,001	0,285	0,177	0,269	0,762	0,462	0,104	0,071	0,024	0,019	0,895

Nonobstant l'indice de masse corporel (IMC) anormal de la plupart des drépanocytaires de cette étude, il existe dans leurs deux classes d'âges établies (0 à 5 ans et 6 à 14 ans) (Tableau 2), une évolution positive de paramètres physiques de poids ($p < 0,001$), de taille ($p < 0,001$), et biologiques (VGM (0,024) et de TCMH (0,019)) présentant des différences statistiquement significatives.

La sous population SP2 était constituée de 100 % (194/194) d'individus de sexe féminin avec une moyenne d'âge de $24,97 \pm 7,08$ ans. La patiente la plus âgée avait 41 ans et la plus jeune 17 ans. Elles étaient toutes de la ville de Ouagadougou.

Le tableau 2 présente les fréquences absolues observées, celles relatives observées et les fréquences géniques observées du gène de l'Hb A, C et S 9. Les méthodes antérieures utilisées étaient l'électrophorèse de l'hémoglobine sur acétate de cellulose à pH basique, le HPLC, l'isofocusing et la PCR classique etc.

Tableau 3 : fréquences génotypiques absolues et relatives observées et les fréquences alléliques

Génotypes	Fréquences génotypiques absolues observées*	Fréquences génotypiques relatives observées	Fréquences génotypiques absolues calculés**	Fréquences génotypiques relatives calculées	Allèles	Fréquences alléliques observées
AA	159	82,4	155	80,31	A	89,64%
AC	18	9,3	27	13,99	C	7,77%
AS	10	5,2	9	4,66	S	2,59%
CC	6	3,1	2	1,04	-	-
Total	193	100%	193	100%	-	100%

$X^2 * \dots > ** p = 0,272$

Le tableau 4 donne la moyenne des âges en fonction des génotypes.

Tableau 4 : moyenne des âges en fonction génotypes

Génotypes	N	Moyennes	Ecart-types
AA	159	24.52	6.21
AC	18	28.56	12.40
AS	10	24.00	6.70
CC	6	29.00	4.65
Total	193	25.01	7.07

Au total, deux cent quatre-vingts (280) échantillons ont été testés par l'électrophorèse de l'hémoglobine sur l'acétate de cellulose à pH alcalin et par la technique de la PCR en temps. Les génotypes AA, AC, AS, CC qui ont été détectés par les deux techniques concordent et aboutissent aux mêmes résultats : AA (82,4%); AC (9,3%); AS (5,2%); CC (3,1%). Le résultat d'un des échantillons est invalide pour l'électrophorèse de l'hémoglobine cependant il est détecté AC par la PCR (tableau 4).

Tableau 5 : Fréquences absolues et relatives des résultats de la PCR en temps réel et de l'électrophorèse de l'hémoglobine sur acétate cellulosé

Fréquences absolues	Fréquences relatives	Résultats tests PCR	Résultats d'électrophorèse de l'Hb sur acétate cellulosé
162	57,86	AA	AA
18	6,43	AC	AC
10	3,57	AS	AS
6	2,14	CC	CC
83	29,64	SS	SS
1	0,36	AC	Invalide
Total 280	100		

Le tableau 6 fait ressortir la corrélation entre la sensibilité et la spécificité de la PCR en temps réel et l'électrophorèse de l'Hb sur acétate cellulosé à pH alcalin.

Tableau 6 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité de la PCR en temps réel et de l'électrophorèse de l'Hb sur acétate de cellulose

	Traits drépanocytaires et drépanocytaires, positifs		Traits drépanocytaires et drépanocytaires SS, Négatifs (AA)
Résultat de la PCR en temps réel	Positif	Vrai Positif (VP) = 117	Faux positif (FP) = 0
	Négatif	Faux négatif (FN) = 0	Vrai négatif (VN) = 162

La sensibilité (Se) = $VP/VP + FN$

La sensibilité de la PCR (Se) = $117/117 + 0 = 100 \%$

La spécificité (Sp) = $VN/VN + FP$

La spécificité de la PCR (Sp) = $162/162 + 0 = 100 \%$

La valeur prédictive positive (VPP) = $VP/VP+FP$

La valeur prédictive positive (VPP) = $117/117 + 0 = 100 \%$

La valeur prédictive négative (VPN) = $VN/VN+FN$

La valeur prédictive négative (VPN) = $162/162 + 0 = 100 \%$

III. Discussion

Quatre-vingt-six (86) patients drépanocytaires suivis à l'HOSCO ayant pris part à notre étude, étaient des enfants d'un à 14 ans avec une moyenne d'âge de $7,76 \pm 3,93$ ans. La moyenne d'IMC était anormale ($14,49 \pm 2,38 \text{ kg/m}^2$) chez ces patients drépanocytaires. Bien que deux (02) d'entre eux avaient un IMC normal donc supérieure à $18,50 \text{ kg/m}^2$. Il a été enregistré au moins un cas de CVO dans l'année ($1,72 \pm 2,07$) chez chaque drépanocytaire. En conséquence, l'ensemble de ces résultats s'expliquent par le retard de croissance fréquent chez les enfants drépanocytaires SS d'Afrique subsaharienne. Ce retard de croissance pourrait être lié à l'anémie, à l'hyper hémolyse et aux CVO (12) dont sont victimes les enfants drépanocytaires SS. Il y avait plus de garçons (58,10 %) que de filles (41,90 %). Ces résultats seraient concordants avec les travaux de Yé et al., (13) au Burkina Faso ainsi que ceux de DIOP *et al.*, (14) au Sénégal, dont les sex-ratio étaient respectivement de 1,44 et 1,25 (13,14). Par contre une étude antérieure au Burkina Faso a montré qu'il y avait plus de femmes que d'hommes drépanocytaires (69,69 % contre 30,31 %) (4). Ces

chiffres du sex-ratio varient en fonction des pays et seraient en fonction de la population d'étude. La transmission de la drépanocytose n'est pas liée au sexe.

Le taux d'hémoglobine moyen chez les SS était de $7,70 \pm 1,15$ g/dL dans notre étude et corrobore les résultats obtenus par OUEDRAOGO-YUGBARE *et al.* (9) dont le taux d'Hb en ambulatoire était de 7,72 g/dL chez les homozygotes SS ainsi que de ceux de Yé *et al.* (13) à Ouagadougou qui était de $7,9 \pm 1,6$ g/dL chez les patients SS (13). Ils ont tous, de même une anémie modérée, avec la normale du taux d'Hb qui serait de 13 g/dL pour les hommes et 12 g/dL pour les femmes. On note une corrélation entre le taux d'Hb et les différentes valeurs du VGM, TCMH et CCMH qui sont faibles chez tous les patients de la population d'étude, ce qui renforcerait l'explication de leur anémie. Le volume globulaire moyen (VGM) des patients SS était de $77,52 \pm 7,60$ fL et la différence était statistiquement significative entre les deux classes d'âge ($p=0,024$). Les patients auraient donc une anémie modérée microcytaire. On note des résultats variables selon les différentes études rapportées dans la littérature. Les travaux de TRAORE *et al.* (4) ont montré une anémie modérée microcytaire parmi certains drépanocytaires SS ($81,86 \pm 12,82$ fL), tandis que THIAM *et al.* (16) ont noté une anémie microcytaire et pour DAHMANI *et al.* (15), 88,5 % des patients SS diagnostiqués étaient anémiés (13,15,3). Le poids moyen et la taille moyenne des sujets drépanocytaires SS étaient respectivement $22,34 \pm 9,77$ kg et $120,75 \pm 22,05$ cm, les différences étaient statistiquement significatives entre les deux classes d'âge pour le poids ($p < 0,001$) et la taille ($p < 0,001$). La **teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)** était anormale chez la majorité des sujets drépanocytaires et la différence entre les deux classes d'âge était statistiquement significative ($p=0,019$), ce qui vient appuyer l'hypothèse d'une anémie microcytaire. Étant anémiés par conséquent affaiblis, ils sont plus exposés aux infections tel que le paludisme, responsable de l'anémie sévère chez les enfants. Ces infections à répétition pourraient jouer sur leur croissance et justifierait également le fait que l'indice de masse corporelle (IMC) était anormal chez la plupart des drépanocytaires de cette étude (8,13).

Les fréquences génotypiques observées du gène de l'Hb A, C et S étaient respectivement AA (82,4%); AC (9,3%); AS (5,2%); CC (3,1%). Le taux élevé de la fréquence génique du gène de l'Hb A pourrait se justifier par le fait qu'il y a eu une absence des génotypes SS et SC dont les porteurs n'atteignent pas souvent l'âge adulte. D'où la nécessité très forte d'amélioration de l'offre de soin à tous les niveaux, notamment la mise en œuvre effective du dépistage néonatal, la formation des agents de santé, l'élaboration des protocoles de traitement, la sensibilisation des populations sur le dépistage prénuptial par un outil très spécifique comme la PCR.

La détermination des génotypes par l'électrophorèse de l'hémoglobine sur l'acétate de cellulose à pH alcalin et par la technique de la PCR en temps réel a donné des résultats concordants, sauf le résultat d'un échantillon qui est invalide par la méthode de l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin, et détecté AC par la PCR. Hors mis ce cas, il y a une concordance entre les résultats de ces deux techniques. En effet, il ressort de la littérature que l'électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose à pH alcalin (pH 8,6) est la technique couramment utilisée qui permet de séparer les hémoglobines A, S et C (16,17). Cependant, elle ne permet pas de différencier l'hémoglobine S de l'hémoglobine D, et l'hémoglobine C de l'hémoglobine A2. Avec l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin, il se pourrait qu'il ait eu une non-séparation des bandes des fractions Hb A₂ et Hb C lors de la migration. La sensibilité (Se) et la spécificité (Sp), la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) de la PCR étaient à 100 %. La PCR en temps réel demeure donc une technique fiable plus performante pour la détermination de l'électrophorèse de l'hémoglobine (18). Le génotype AC dans notre étude a pu bien être déterminé grâce à cette technique de discrimination allélique de TaqMan avec les sondes couplées aux fluorochrome de la PCR en temps réel.

Conclusion

De cette étude, on note que les malades de la drépanocytose sont très souvent anémiés et donc exposés aux infections qui peuvent affecter leur croissance. Avec la sensibilisation, les examens prénuptiaux, les suivis des femmes enceintes, les programmes d'enseignement scolaire etc., désormais, de nombreuses personnes se font dépister. Par ailleurs, il existe une amélioration de l'offre de soins des personnes dépistées avec un syndrome drépanocytaire majeur. Pour un diagnostic précoce, la PCR en temps réel qui est capable grâce à sa sensibilité et à sa spécificité élevées de détecter les hémoglobines fœtale et adultes (A2, S, C, E) peut être recommandé aux pays de l'Afrique de l'Ouest dont de nombreux habitants souffrent d'hémoglobinopathies.

Remerciements

Les auteurs remercient les participants à cette étude, HOSCO, CANDAF et le CERBA.

Références bibliographiques

1. **Rees DC, Williams TN, Gladwin MT.** Sickle-cell disease. *Lancet* [Internet]. 2010;376(9757):2018-31. Disponible sur: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61029-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X)
2. **Mattioni S, Stojanovic KS, Girot R, Lionnet F.** La drépanocytose en France. *RFL Rev Francoph des Lab* [Internet]. 2016;2016(481):61-6. Disponible sur: [http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30129-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30129-0)
3. **Labie D, Elion J.** Modulation polygénique des maladies monogéniques : L'exemple de la drépanocytose. *Medecine/Sciences*. 1996;12(3):341-9.
4. **Traore M, Zohoncon T, Ouedraogo P, Ouattara A, Obiri-Yeboah D, Tao I, et al.** Hemoglobin AE, AO-Arab and SO-Arab Genotypes in Burkina Faso: Hematological Parameters, Genotypic and Allelic Frequencies of Hemoglobinopathies. *J Hum Clin Genet*. 2020;2(1):23-30.
5. **OMS.** Soixantième session régionale de l'Afrique Malabo, Guinée équatoriale sur: la drépanocytose, une stratégie pour la région africaine de l'OMS. 2010.
6. **Thiam L, Dramé A, Coly IZ, Diouf FN, Seck N, Boiro D, et al.** Profils épidémiologiques, cliniques et hématologiques de la drépanocytose homozygote SS en phase inter critique chez l'enfant à Ziguinchor, Sénégal. *Pan Afr Med J*. 2017;8688:1-6.
7. **Ouédraogo/Yugbaré SO, Tiendrébéogo J, Belemsaga D, F. Koueta HS, Dao L, Kaboret S, et al.** Evaluation du coût médical direct de la prise en charge du syndrome drépanocytaire majeur de l'enfant à Ouagadougou. *Sci Tech Sci la santé*. 2013;36(1 et 2).
8. **Douamba S, Nagalo K, Tamini L, Traoré I, Kam M, Kouéta F, et al.** Syndromes drépanocytaires majeurs et infections associées chez l'enfant au Burkina Faso. *Pan Afr Med J*. 2017;26:2-7.
9. **Ouédraogo-Yugbaré SO, Tiendrebeogo J, Koueta F, Sawadogo H, Dao L, Ouédraogo P, et al.** Syndromes drépanocytaires majeurs chez les enfants de 0 à 15 ans à Ouagadougou: marqueurs génétiques et caractéristiques cliniques. *Pan Afr Med J*. 2014;19:2-6.
10. **Gouagna LC, Bancone G, Yao F, Yameogo B, Dabiré KR, Costantini C, Simporé J et al.** Genetic variation in human HBB is associated with Plasmodium falciparum transmission. *Nat Genet* [Internet]. 2010;42(4):328-31. Disponible sur: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.554>
11. **Mangano VD, Kabore Y, Bougouma EC, Verra F, Sepulveda N, Bisseye C, et al.** Novel

Insights into the Protective Role of Hemoglobin S and C Against Plasmodium falciparum Parasitemia. *J Infect Dis.* 2015;212(4):626-34.

12. Alexandre L, Offredo L, Diallo D, Diop S, Tolo A, Wamba G, et al. Étude de la croissance chez les enfants drépanocytaires de 5 pays d'Afrique subsaharienne au sein de l'étude CADRE. *La Rev Médecine Interne* [Internet]. 2016;37:A66-7. Disponible sur: <http://dx.doi.org/10.1016/j.revmed.2016.10.016>

13. Yé D, Kouéta F, Dao L, Kaboret S, Sawadogo A. Prise en charge de la drépanocytose en milieu pédiatrique: Expérience du centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles-de-Gaulle de Ouagadougou (Burkina Faso). *Cah Sante.* 2008;18(2):71-5.

14. Dahmani F, Benkirane S, Kouzih J, Woumki A, Mamad H, Azlarab M. Etude de l'hémogramme dans la drépanocytose homozygote: à propos de 87 patients. *Pan Afr Med J.* 2016;8688:1-10.

15. Diop S, Mokono SO, Ndiaye M, Touré Fall AO, Thiam D, Diakhaté L. La drépanocytose homozygote après l'âge de 20 ans: Suivi d'une cohorte de 108 patients au CHU de Dakar. *Rev Med Interne.* 2003;24(11):711-5.

16. Thiam L, Diatta A, Doupa D, Makalou D, I DL, Fn D, et al. Etude comparative entre la PCR et l'iso électrofocalisation dans le diagnostic de la drépanocytose chez l'enfant à l'Hôpital de la Paix de Ziguinchor (HPZ)/Sénégal. *African J Med Biol / Rev africaine Biol Médicale.* 2020;5(12):919-31.

17. Mabilia-Babela JR, Massamba A, Tsiba JB, Moulongo JGA, Nzingoula S, Senga P. Composition corporelle d'enfants drépanocytaires homozygotes congolais. Étude longitudinale à Brazzaville, Congo. *Bull la Soc Pathol Exot.* 2005;98(5):394-9.

18. Pierre Aubry; Bernard-Alex Gaüzère. Hemoglobinoses. *Med Trop.* 2020;23(3-4):520-2.