

Original Article

Valeurs de références de certains paramètres hématologiques chez l'enfant à Kinshasa

Nganga Nkanga Mireille¹, Longo-Mbenza Benjamin², Dieudonné Mumba Ngoyi³, Muwonga Masidi Jérémie¹, Sokolua Mvika Eddy¹, Susungu Etienne¹, Mapapa Cécile Roth⁴, Kayembe Nzongola-Nkasu Donatien¹

¹Département de Biologie Médicale, Cliniques Universitaires de Kinshasa, RD Congo. ²Faculty of Health Sciences, Walter Sisulu University, Mthatha, South Africa. ³Département des Maladies Tropicales, Cliniques Universitaires de Kinshasa, RD Congo. ⁴Service de Pédiatrie, CHU de Brazzaville, République du Congo.

Corresponding Author: Prof B. Longo-Mbenza, Walter Sisulu University, RSA.

E-mail: longombenza@gmail.com

J. innov. res. health sci. biotechnol. 2016; 1(4): 173 – 185.

doi: 10.18644/jiresb-biotech.0000023

ABSTRACT

Background: The aim of this study was to determine systemic haematologic reference values in children aged 4-13 years from the general population of Kinshasa in DRC. **Methods:** A cross sectional study was conducted from 30 September 2005 to 20 June 2006 in a randomly selected sample of school children from different school networks in the city of Kinshasa. Demographic data of interest were obtained and blood samples were collected; all data were analyzed using SPSS v21. **Results:** 409 children of which 195 boys and 214 girls (sex ratio of 1 boy: 1 fille) were enrolled. The mean age was 9.3 ± 2.6 years with a median of 9 years. Reference values were established for the following parameters: Hb (8 to 13.3 g / dL), hematocrit (30-42%), red cells (3.513 to $5.967 \times 10^6 / \text{mm}^3$), MCV (60-100 μm^3), MCHC (22 to 38%), MCH (16-3 pg), white cells (3.338 to $13.041 \times 10^3 / \text{mm}^3$), platelets (111 838 to 455 863 $\times 10^3 / \text{mm}^3$), neutrophils (18-69%), eosinophils (0 to 16%), basophils (0 to 2%), lymphocytes (23 to 71%), monocytes (0.49 to 16%). The lowest rates of Hb were observed in urban pupils ($p < 0.01$) whilst the rates of MCV and MCHC were lowest in the semi-urban and urban areas respectively ($p < 0.0001$). The values of Hb, hematocrit, RBC and eosinophils increased significantly with age ($p < 0.01$). In contrary, the values of WBC, platelets and monocytes decreased significantly with age ($p < 0.01$).

Conclusion: Intra-individual, inter-personal, intra-environmental and inter-environmental variabilities must be taken into account when elaborating specific reference values for Black children as compared to the reference values obtained from Caucasians.

Key words: reference values, haematology, physiological factors, Kinshasa, Africa.

RÉSUMÉ

Contexte : L'objectif de cette étude était de déterminer les valeurs de référence hématologiques chez les enfants âgés de 4 à 13 ans dans la population générale de Kinshasa, RDC. **Méthodologie :** Une approche transversale a été réalisée du 30 septembre 2005 au 20 juin 2006 dans un échantillon d'écoliers tiré de manière aléatoire et venant des différents réseaux scolaires de la ville de Kinshasa. Les facteurs démographiques d'intérêts ont été obtenus et des échantillons de sang ont été prélevés ; toutes les données ont été analysées par le logiciel SPSS v21. **Résultats :** 409 élèves ont été étudiés dont 195 garçons et 214 filles, avec un sex ratio de 1 garçon : 1 fille. L'âge moyen était de $9,3 \pm 2,6$ ans avec une médiane de 9 ans. Les valeurs de références étaient établies pour les paramètres suivants : Hb (8 à 13,3 g/dL), Ht (30 à 42 %), GR ($3,513$ à $5,967 \times 10^6 / \text{mm}^3$), VGM (60 à 100 μ^3), CCMH (22 à 38 %), TCMH (16 à 3 pg), GB ($3,338$ à $13,041 \times 10^3 / \text{mm}^3$), plaquettes (111, 838 à 455,863 $\times 10^3 / \text{mm}^3$), neutrophiles (18 à 69 %), éosinophiles (0 à 16 %), basophiles (0 à 2 %), lymphocytes (23 à 71 %), monocytes (0,49 à 16%). Les taux d'Hb les plus bas étaient observés chez les élèves urbains ($p < 0,01$); les taux de VGM et CCMH étaient plus bas dans les milieux semi-urbain et urbain respectivement ($p < 0,0001$). Les valeurs de l'Hb, de l'Ht, des globules rouges, des éosinophiles augmentaient de manière significative selon l'âge ($p < 0,01$). Au contraire, les valeurs des globules blancs, des plaquettes et des monocytes diminuaient de manière significative avec l'âge des élèves ($p < 0,01$). **Conclusion :** Les variabilités intra-individuelle, inter-individuelle, intra-environnementale, et inter-environnementale doivent être prises en compte dans l'élaboration des valeurs de référence spécifiques aux enfants noirs contre des valeurs de référence des populations caucasiennes.

Mots clés : valeur de référence, hématologie, facteurs physiologiques, Kinshasa, Afrique.

Submitted 29/08/2015, accepted 22/05/2016 <http://jiresb-biotech.edmgr.com>

INTRODUCTION

La ville de Kinshasa, capitale de la République Démocratique du Congo (R.D.C) est située à 450 mètres d'altitude au niveau de la mer, sous un climat tropical, chaud et humide. Elle abrite le brassage de plus de 450 ethnies de la RDC. Ces conditions climatiques particulières et la grande hétérogénéité ethnique expliquent la diversité dans les habitudes alimentaires.

Et pour les enfants nés dans la ville de Kinshasa, milieu en transition alimentaire, leur alimentation est devenue plus occidentalisée que traditionnelle ; constituée d'hydrates de carbone raffinés et graisses polysaturées. Si on ajoute la notion de variabilité biologique intra-individuelle, inter-individuelle, intra-ethnique, inter-ethnique, intra-environnementale, inter-environnementale, on comprend pourquoi l'usage actuel des valeurs de référence des populations caucasiennes expose au risque de diagnostic physiopathologique, par excès ou par défaut. On comprend aussi pourquoi la première tâche de tout biologiste clinicien est d'élaborer les valeurs de référence de sa population de travail (1).

A Kinshasa, en dehors de l'étude de Wane menée chez l'adulte jeune de 20 à 40 ans (2) et de l'étude de Kalemwa chez le nouveau-né (3) pour définir les valeurs de référence, d'autres études non jusque-là jamais été menées de façon systématique. Dans d'autres régions de l'Afrique sub-saharienne l'on a même confondu les valeurs de référence d'avec les valeurs normales, usuelles et fréquentes (1, 4-6).

Le manque des valeurs de référence hématologiques locales de la tranche d'âge de 4-13 ans oblige les cliniciens congolais à utiliser les valeurs de référence obtenues sur des populations étrangères. Alors qu'il est connu que le profil biologique d'un individu est tributaire de l'adaptation biologique à plusieurs facteurs, notamment environnementaux, alimentaires et génétiques (1, 7).

Ce qui justifie l'initiation de la présente étude qui se propose de déterminer les valeurs de référence et les facteurs physiologiques et environnementaux de la variation de certains paramètres hématologiques chez les enfants âgés de 4-13 ans dans la population générale.

MATERIEL ET METHODES

La présente étude, transversale et descriptive, a été réalisée entre le 30 septembre 2005 et le 20 juin 2006. Quarante huit complexes scolaires sélectionnés de manière aléatoire simple de la liste complète des écoles primaires de Kinshasa (n= 3698), appartenaient aux réseaux scolaires : catholique, protestant, kimbanguiste, officiel de la ville de Kinshasa et, ont servi de cadre à la présente étude. Les laboratoires LOMO médical et des CUK (Cliniques Universitaires de Kinshasa) ont servi de

cadre pour l'analyse des échantillons. Tous les élèves de la ville de Kinshasa, âgé de 4 à 13 ans, inscrits à l'école maternelle, aux degrés primaire et secondaire ont fait partie de cette étude. La taille de l'échantillon représentait 10% de la population cible évalués à 4800 élèves. L'échantillon à inclure étant de 480 soit 10 élèves par école. Il a d'abord été procédé à un tirage aléatoire simple de 48 écoles à partir de la liste de toutes les écoles de la ville de Kinshasa (n=3698) disséminées à travers toutes les communes de Kinshasa. Un tirage aléatoire systématique des élèves a été réalisé à partir des listes des écoles avec un pas de sondage de 10. Le numéro 12 a été tiré le premier, ensuite le numéro 22 jusqu'à *nk* pour constituer la taille de l'échantillon.

L'échantillon constitué a été soumis à un interrogatoire structuré et standardisé et un examen clinique en vue d'obtenir des renseignements sur les antécédents, les caractéristiques de l'état sanitaire actuel et l'anthropométrie de chaque enfant.

Les participants étaient inclus dans cette étude pour avoir répondu aux critères suivants : être noir Congolais, né dans la ville de Kinshasa et être âgé de 4 à 13 ans.

Les critères d'exclusion de cette étude étaient les suivants : avoir un poids à la naissance <2500g ou > 4000g, avoir une température axillaire > 37° C, avoir des antécédents morbides et n'avoir pas accepté de participer à l'étude. La présente étude a été réalisée selon les principes de la déclaration d'Helsinki. Le protocole de cette étude a été approuvé par le comité d'éthique et de recherche de l'Université de Kinshasa, RDC.

Les prélèvements ont été effectués sur rendez-vous auprès des élèves ayant été prévenus d'être à jeun, le matin entre 9 heures et 11 heures pour éliminer les variabilités liées au rythme circadien. Ils ont eu lieu dans les différentes écoles tirées au hasard.

Tous les prélèvements ont été faits chez des sujets en position assise qui est une position intermédiaire entre les positions debout et couchée. Pour les paramètres hématologiques, 3,5 mL de sang recueillis dans un flacon avec EDTA puis mélangés ont été suffisants.

Les frottis de sang périphérique pour la formule sanguine ont été confectionnés extemporanément sur lame porte objet, selon les techniques usuelles.

Du lieu de prélèvement, les échantillons ont été acheminés au laboratoire et mesurés immédiatement. La numération des globules rouges (GR), globules blancs (GB), plaquettes (PLT), le dosage de l'hémoglobine (Hb), la mesure de l'hématocrite (Ht) ont été mesurés par la méthode de variation d'impédance sur un automate type Hema Screen France. Cet appareil nous a fourni simultanément le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

(CCMH) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH). La lecture du frottis sanguin périphérique s'est faite au microscope multi tête type Olympus du laboratoire de Biologie Clinique des CUK, après leur coloration suivant la méthode habituelle au May-Grunwald-Giemsa (8).

Les paramètres d'intérêt ont été les suivants :

- données sociodémographiques : sexe, âge, commune de résidence, milieu d'habitation, type de réseau scolaire.
- données de l'hémogramme : GB, GR, PLT, Ht, Hb, VGM, CCMH, TCMH et la formule leucocytaire.

Les milieux d'habitation étaient définis par le regroupement des communes en milieu urbain constitué des routes, d'équipements modernes, de logements avec eau, d'électricité et d'activités commerciales et industrielles; en milieu semi-urbain comprenant des habitations précaires, construites en matériaux de récupération et situées autour d'une cité urbanisée. Et enfin en milieu rural ou campagne. Ainsi, les communes de la Gombe, Ngaliema, Kitambo, Bandalungwa, Barumbu, Lingwala, Kasa-vubu, Ngiri-ngiri, Kinshasa, Kalamu, Matete, Lemba et Limete sont urbanisées; tandis que les communes de Mont-ngafula, Makala, Bumbu, Selembao, Ngaba, Ndjili, Masina, Kimbanseke sont semi-urbanisées. Enfin, N'sele, Maluku et Kinsenso sont des communes rurales.

Les valeurs normales de chaque paramètre bioclinique étaient comprises entre le percentile 2.5 et le percentile 97.5. Les valeurs de référence ont été obtenues par les calculs suivants : (i) En cas de distribution normale : 2.5 Percentile = $X - 1.96 \times ET$; 97.5 Percentile = $X + 1.96 \times ET$. L'intervalle de confiance 0.90 pour chaque percentile : Limite inférieure = percentile - $2.81 \times ET / \sqrt{n}$; Limite supérieure = percentile + $2.81 \times ET / \sqrt{n}$. (ii) En cas de distribution asymétrique: transformation logarithmique de la moyenne et de l'écart type; reconversion des paramètres en utilisant la fonction inverse (antilogarithme); et le calcul des limites comme s'il s'agissait d'une distribution normale.

Le seuil d'alerte était compris dans le Quartile 1 si l'anomalie était définie par la baisse du paramètre bioclinique, sinon dans le Quartile 4. Le seuil de décision médicale était supérieur à la limite supérieure des valeurs de référence en cas d'anomalie vers la hausse, sinon inférieur à la limite inférieure des valeurs de référence en cas de baisse pour définir l'anomalie. La valeur médiane et la moyenne $\pm ET$ (écart type) ont été utilisées pour le seuil de décision clinique de certains paramètres en accord avec la plausibilité biologique (cas d'hémoglobine et hématocrite).

Analyses statistiques :

Après leur validation, les données ont été saisies et analysées sur micro-ordinateur. Les données qualitatives ont été représentées sous forme de proportions (%) et les données quantitatives sous formes de moyennes, médianes et écarts types (E.T). Le logiciel SPSS sur Windows version 21 a été utilisé et nous avons adopté un degré de significativité de 0,05.

Le test Chi-carré de Mantel-Haenszel a servi à comparer les proportions avec application du test exact de Fisher et du test corrigé de Yates là où c'était approprié. Le test-t de Student a servi à comparer les moyennes de deux groupes ayant des distributions normales et le test U de Mean et Whitney en cas de distributions asymétriques.

Les facteurs de variation des données biocliniques ont été définis par l'analyse des variances (ANOVA) pour la comparaison des moyennes de ces paramètres entre différentes catégories de facteurs de variation. Les variations d'un paramètre bioclinique expliquées par d'autres paramètres biocliniques et la prédiction du taux d'hématocrite pour usage clinique étaient estimées en analyse univariée (bivariée) à l'aide du coefficient de corrélation simple r de Pearson, du coefficient de détermination R^2 et de la droite de régression linéaire simple.

L'analyse multivariée par le modèle de régression linéaire multiple a permis d'identifier les déterminants indépendants expliquant les variations d'un paramètre bioclinique R^2 ajusté sur d'autres paramètres biocliniques afin d'exclure les facteurs de confusion et le biais.

La valeur de $p \leq 0,05$ était considérée comme le seuil de signification statistique; $p = 0,05 - 0,01$ comme seuil faiblement significatif et $p \leq 0,01$ comme seuil hautement significatif et $p \leq 0,001$ comme seuil très significatif.

RESULTATS

Au total, 409 élèves de la ville de Kinshasa ont été étudiés. Cette population d'étude se répartit en 195 garçons, soit 47,7% et 214 filles soit 52,3% avec un sex-ratio proche de 1 garçon : 1 fille. Les élèves provenaient de toutes les communes de la ville province de Kinshasa : La commune de Kinshasa était surreprésentée contre les communes de Masina et de Gombe sous-représentées. Selon le degré d'urbanisation des communes, les élèves étaient répartis en milieu urbain, semi-urbain et rural. Ceci nous a permis de nous faire une idée de leur niveau socio-économique.

L'âge moyen était de $9,3 \pm 2,6$ ans avec les extrêmes de 4 ans à 13 ans et la médiane de 9 ans. Les paramètres biochimiques suivants: hémoglobine, hématocrite, TCMH, GB, neutrophiles, plaquettes, lymphocytes avaient une distribution normale sinon presque symétrique pour certains. Le VGM, La CCMH, les basophiles et les plasmocytes avaient une distribution anormale. Le sexe n'exerçait aucune influence significative ($p > 0,05$) sur les

valeurs moyennes de tous les paramètres biochimiques étudiés. Le **Tableau 1** ci-dessous représente les principes

des méthodes utilisées, le coefficient de variation, ainsi que l'inexactitude des paramètres hématologiques.

Tableau 1 Principes des méthodes, coefficient de variation, inexactitude des paramètres hématologiques

PARAMETRES	PRINCIPE DES METHODES	CV (%)	μ (%)
GB	Automatique par variation d'impédance	2,4	4
GR		1,6	2
Hb		1,06	0,9
Ht		1,57	1,9
VGM		1,54	1
CCMH		0	0
TCMH		1,12	1,65
PLT		4,51	7,23

GB = Globule blanc; GR = Globule rouge; Hb = hémoglobine; Ht = hématocrite; volume globulaire moyen (VGM) ; concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ; teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) ; PLT = plaquettes ; CV = coefficient de variation

Tableau 2 Répartition de la population d'étude selon la commune de résidence

Communes	n	%
BANDALUNGWA	8	2
BARUMBU	14	3
BUMBU	20	5
GOMBE	4	1
KALAMU	12	3
KASA-VUBU	5	1
KIMBANSEKE	15	4
KISENSO	32	8
KINSHASA	41	10
KINTAMBO	32	8
LEMBA	12	3
LIMETE	8	2
LINGWALA	29	7
MAKALA	21	5
MALUKU	21	5
MASINA	2	2
MATETE	8	2
MONT-NGAFULA	13	3
NDJILI	24	6
NGABA	17	4
NGALIEMA	13	3
NGIRI-NGIRI	21	5
N'SELE	18	4
SELEMBAO	20	5

Pendant que le **Tableau 2** ci-dessus représente la répartition de la population d'étude selon la commune de résidence, Les **Tableaux 3 à 6** représentent les valeurs métrologiques des paramètres hématologiques chez l'enfant. Le **Tableau 7** par ailleurs représente les globules blancs, CCMH et types des réseaux scolaires. En plus, pendant que les **Figures 1 and 2** représentent respectivement le degré d'urbanisation des milieux de résidence ainsi que la répartition des élèves selon l'âge,

Figures 3 à 13 sont des histogrammes avec courbes soit symétriques soit asymétriques (selon chaque cas) des paramètres hématologiques chez l'enfant. **Figures 14 à 18** représentent certains paramètres hématologiques selon les tranches d'âge des enfants pendant que **Figures 19 à 21** représentent ces paramètres hématologiques selon les milieux d'habitation des ces enfants. Il en découle de ces résultats qu'une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) du nombre moyen des GR et éosinophiles mais une

Valeurs de référence de certains paramètres hématologiques chez l'enfant à Kinshasa
Nganga Nkanga et al., 2016

diminution hautement significative ($p < 0,01$) des plaquettes sont associées avec l'âge. Les résultats aussi montrent qu'une variation hautement significative ($p < 0,01$) des taux d'Hb a été observée entre les différents milieux d'habitation, avec le taux le plus bas chez les élèves urbains. Par ailleurs, une variation très significative ($p < 0,0001$) du VGM a été observée entre les différents

milieux d'habitation, avec le taux le plus bas étant observé dans le milieu semi-urbain. Enfin, une variation très significative ($p < 0,0001$) du niveau de la CCMH a été observée entre les différents milieux d'habitation, avec le taux le plus bas étant observé chez les élèves du milieu urbain.

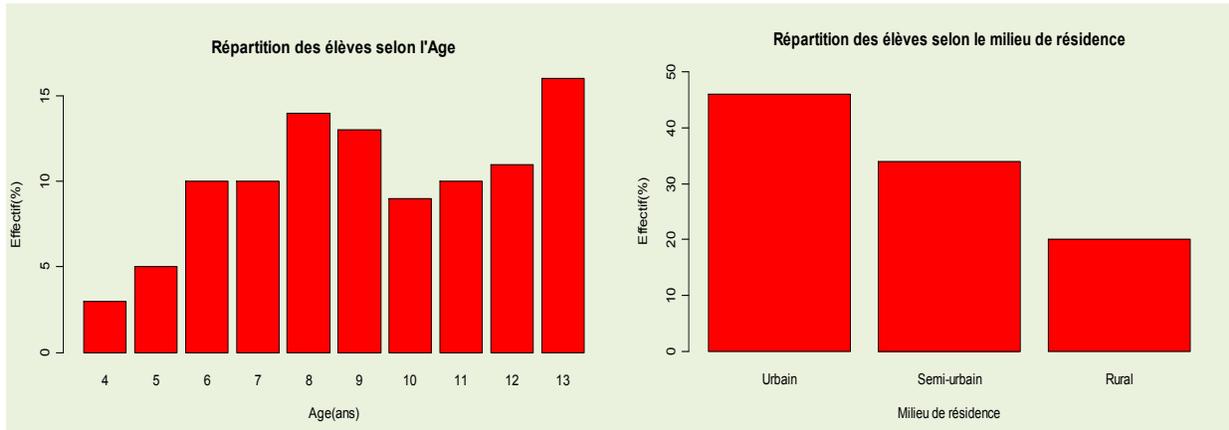
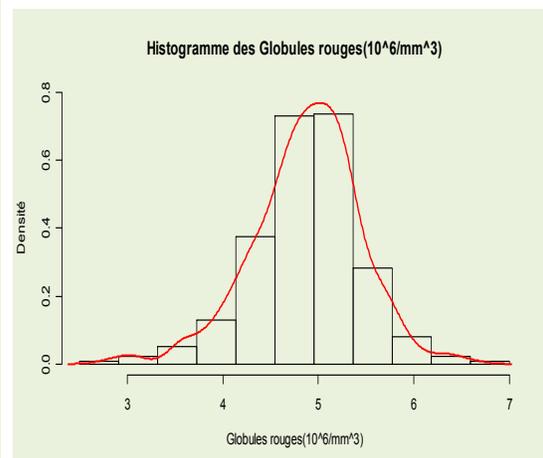
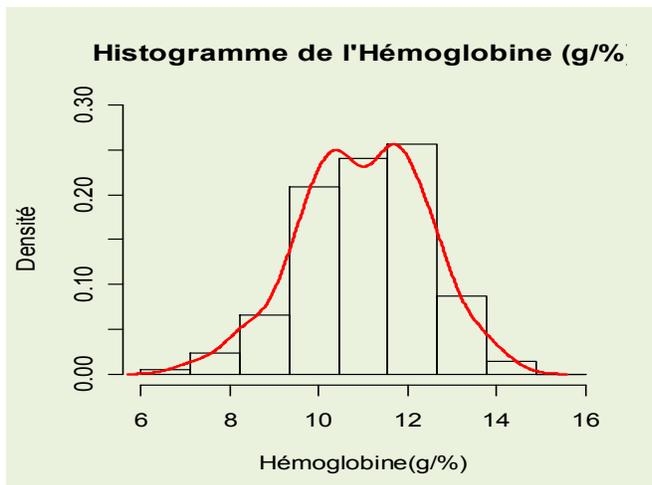


Table 3 Valeurs métrologiques de l'Hb, Ht, GR

Critères d'établissement	HB (g/dl)	Ht (%)	GR ($10^6/mm^3$)
Moyenne \pm ET	11,04 \pm 1,36	36,2 \pm 3	4,888 \pm 0,552
Interquartiles	10,1 à 12	34,4 à 38,3	4,575 à 5,240
Médianes	11,1	36,2	4,910
Valeurs de référence	8 à 13,3	30 à 42	3,513 à 5,967
Seuil d'alerte	< 11	< 36	< 5,240
Seuil de décision	< 10	< 34	< 4,575



Valeurs de référence de certains paramètres hématologiques chez l'enfant à Kinshasa
Nganga Nkanga et al., 2016

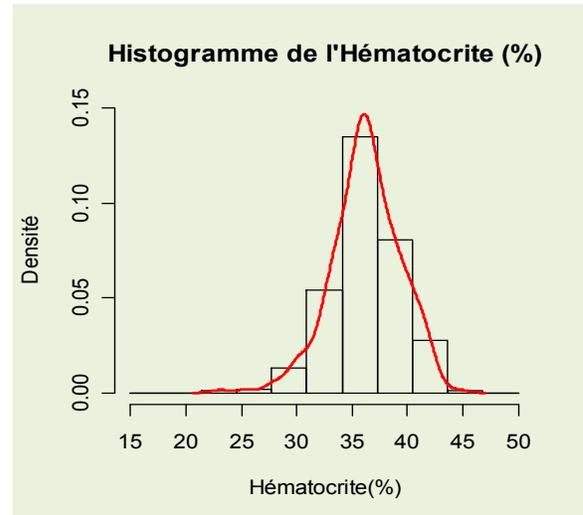
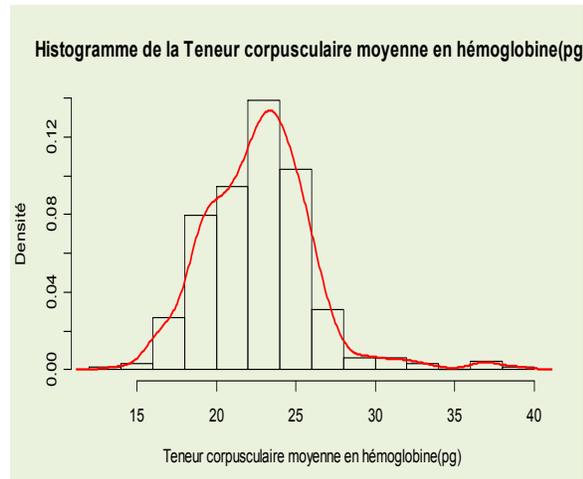


Table 4 Valeurs métrologiques des constantes érythrocytaires

Critères d'établissement	VGM (μ^3)	CCMH (%)	TCMH (pg)
Moyenne \pm ET	74,7 \pm 8,8	30,4 \pm 2,4	22,8 \pm 3,2
Interquartiles	70 à 79	28,4 à 32,2	20,7 à 24,8
Médianes	74	31,2	22,8
Valeurs de référence	60 à 100	22 à 38	16 à 31
Seuil d'alerte	< 74	< 31,2	< 22,8
Seuil de décision	< 70	< 28,4	< 20,7

Table 5 Valeurs métrologiques des globules blancs et des plaquettes

Critères d'établissement	GB ($10^3 / \text{mm}^3$)	Plaquettes ($10^3 / \text{mm}^3$)
Moyenne \pm ET	6,888 \pm 2,352	245,482 \pm 70,100
Interquartiles	5,400 à 7,950	194,000 à 285,501
Médianes	6,300	22,8
Valeurs de référence	3,338 à 13,041	111,838 à 455,863
Seuil d'alerte	> 7,950	> 285,500
	< 3,200	< 113,000
Seuil de décision	> 12,800	> 456,000
	< 3500	< 111,000

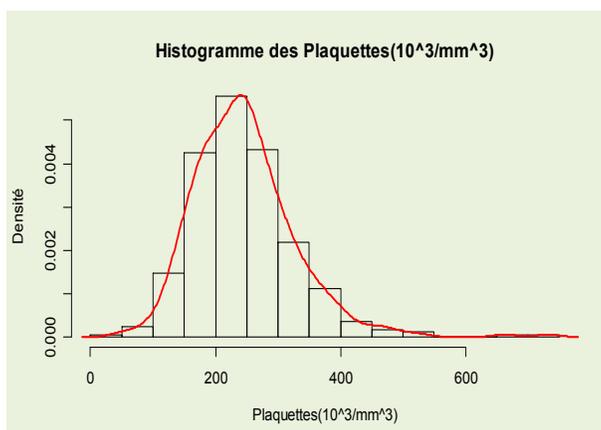
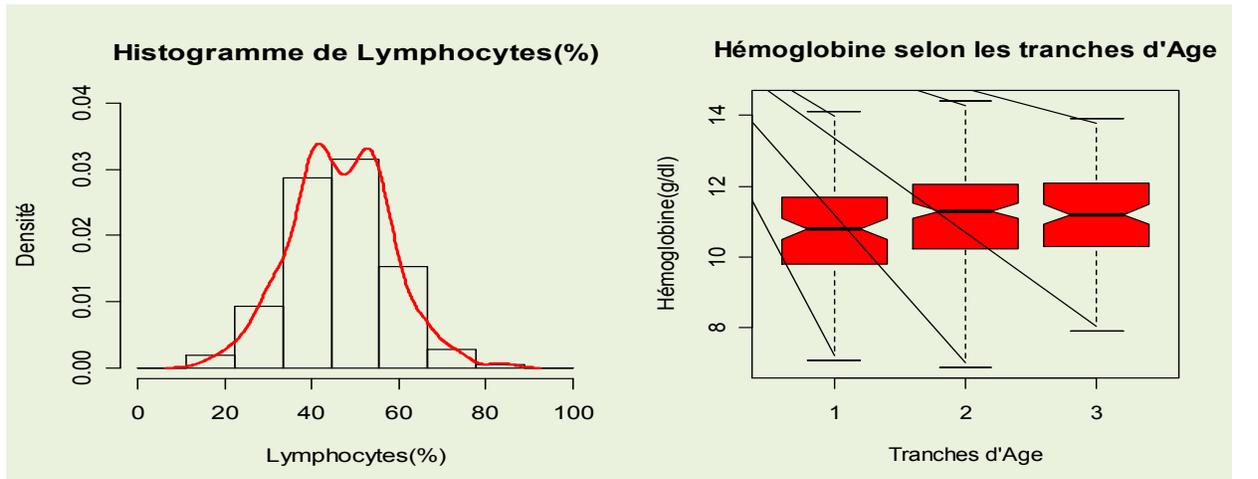
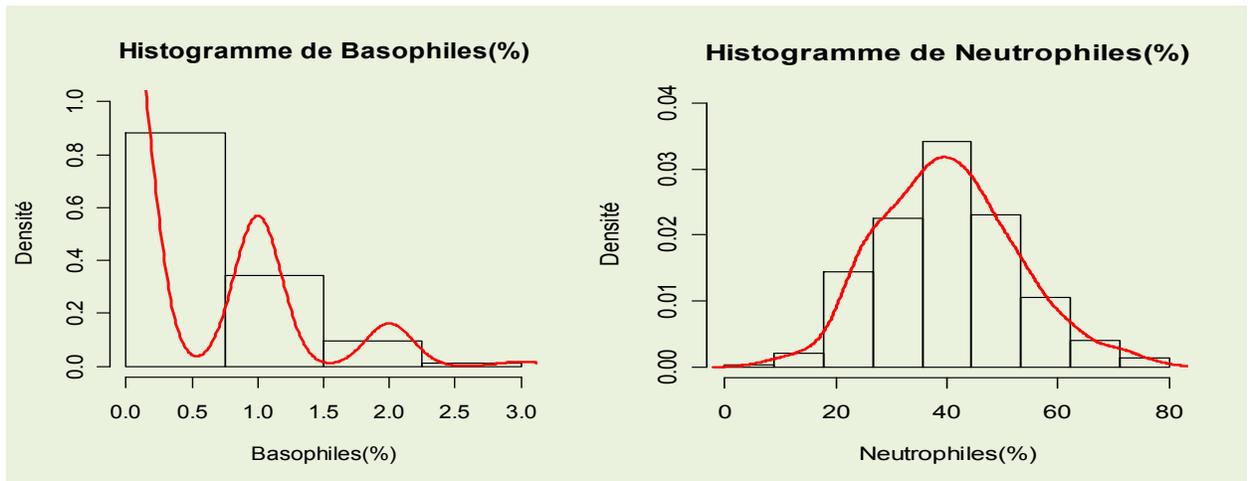
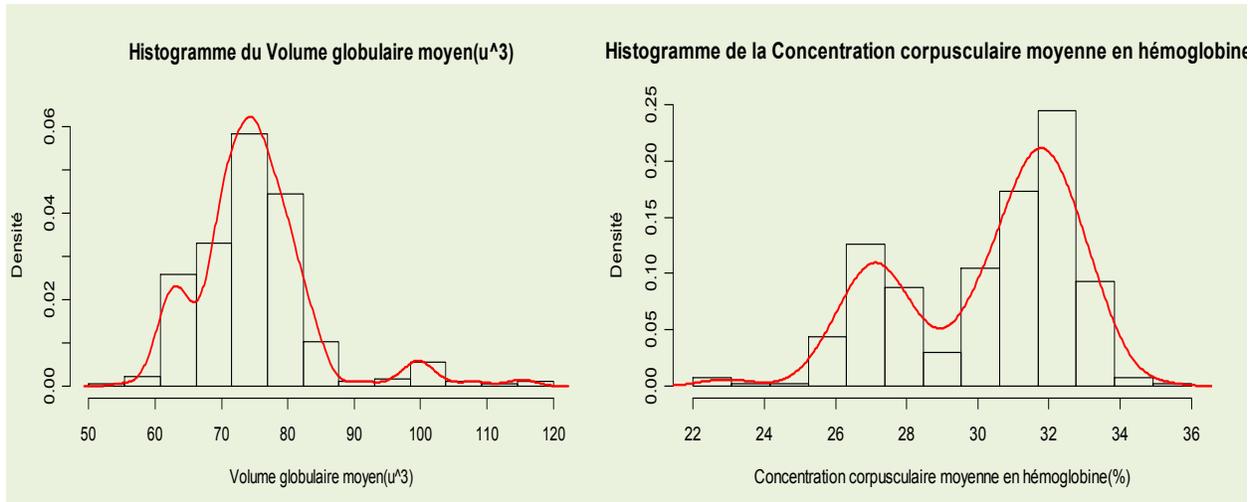


Table 6 Valeurs métrologiques des éléments de la formule leucocytaire

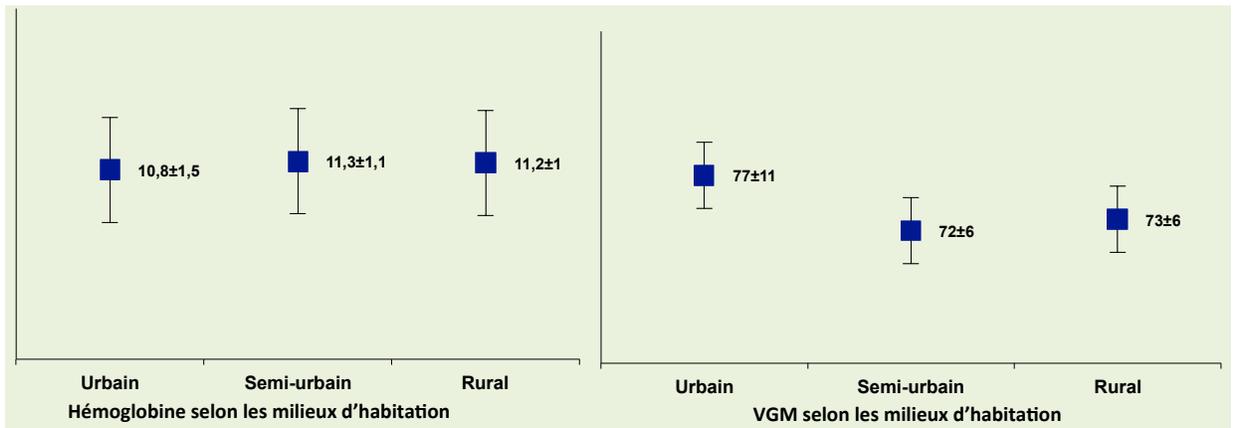
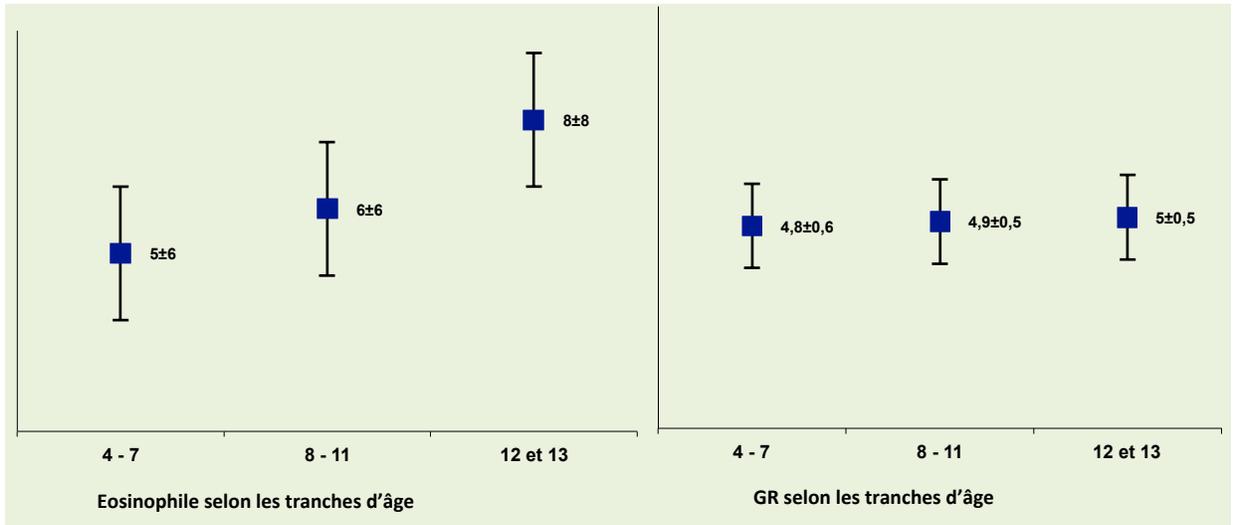
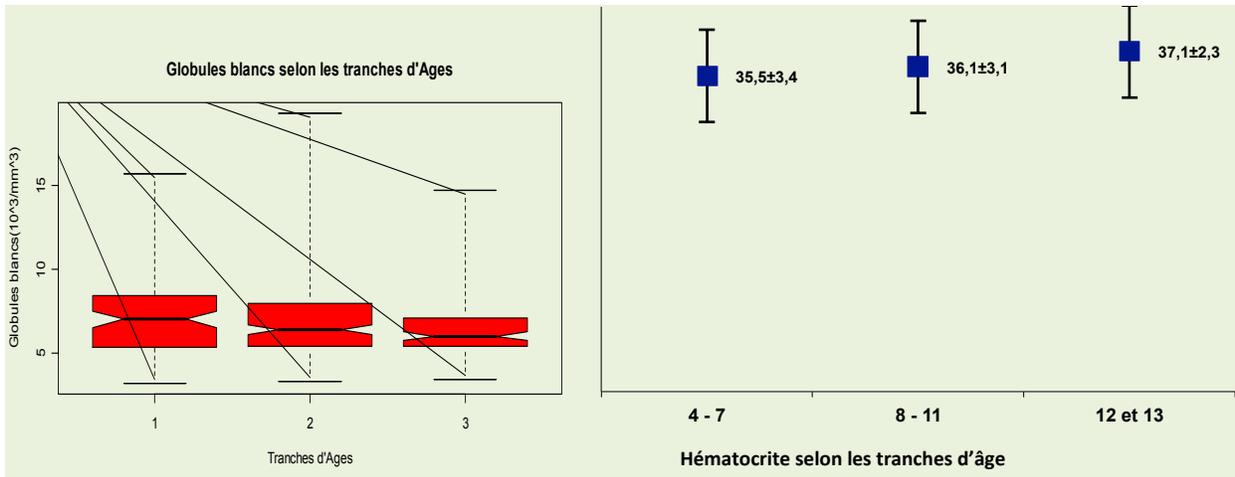
Critères d'établissement	N (%)	E (%)	B (%)	L (%)	M (%)	Plasmocyte
Moyenne ± ET	40±12	6±6	0,4±0,7	47±11	7 ±4	0
Interquartiles	32 à 48	2 à 9	0 à 1	40 à 54	4 à 8	0
Médianes	40	4	0	46	6	0
Valeurs de référence	18 à 69	0 à 16	0 à 2	23 à 71	0,49 à 16	0 à 1

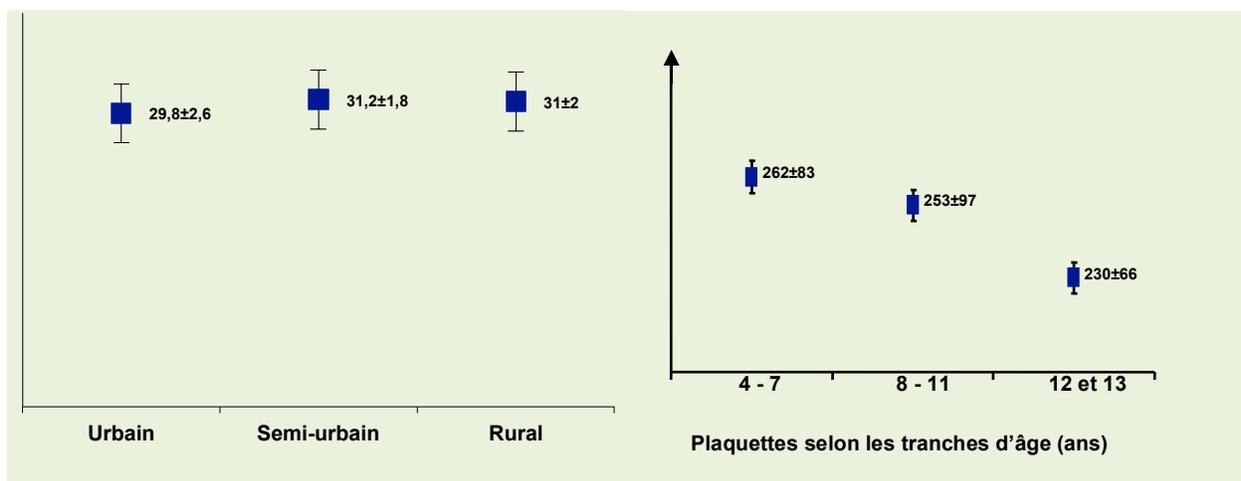
Table 7 Globules blancs, CCMH et types des réseaux scolaires

Réseaux scolaires	GB ($10^3/mm^3$)	CCMH (%)
Catholique	6,514 ± 1,912	29,6 ± 2,8
Protestant	7,118 ± 2,545	30,5 ± 2,4
Kimbanguiste	7,5 ± 2,658	31 ± 2,1
Officiel	7,43 ± 2,5	31 ± 1,4
Privé	6,426 ± 2,227	30,5 ± 2,4
ANOVA, p	< 0,01	< 0,001



Valeurs de référence de certains paramètres hématologiques chez l'enfant à Kinshasa
 Nganga Nkanga et al., 2016





DISCUSSION

La présente étude a défini les valeurs de référence de certains paramètres hématologiques des enfants en milieu scolaire de Kinshasa, capitale de la R.D.C. Elle a ensuite analysé les variations physiologiques liées à l'environnement de ces enfants. Ceci était réalisé conformément au rôle du biologiste dans la détermination des valeurs de référence de sa population.

En précisant les seuils d'alerte et de décision, les présentes données aideront les cliniciens à améliorer la prise en charge des anomalies hématologiques et biochimiques de l'enfant kinois. Ces données viennent aussi emboîter le pas aux différentes études menées en Afrique Sub-saharienne (1, 4-6).

Le sexe ratio proche de 1 reflète la représentativité des garçons et des filles du milieu scolaire de Kinshasa. L'époque est révolue où seuls les garçons étaient envoyés à l'école par les parents traditionalistes. Toutes les communes de la ville province de Kinshasa sont représentées dans cette enquête, la surreprésentation des élèves de la commune de Kinshasa s'expliquerait par le grand nombre d'élèves admis dans les classes dans cette commune. Tous les types des réseaux scolaires de la R.D.C. se retrouvent représentés dans cette enquête menée en milieu scolaire de Kinshasa. La période de pré-sensibilisation et de demande des autorisations administratives est à la base du taux de réponse de 85.2%.

Les valeurs de référence précisées dans ce travail constituent désormais des constantes et des repères médicaux spécifiques à la population des enfants de Kinshasa. Ces repères manquaient depuis plusieurs décennies, les médecins praticiens et les autres professionnels de santé utilisant plutôt les références des pays occidentaux. Le concept de valeur de référence date des années 1970 sous l'impulsion de l'école scandinave (9-15).

Les valeurs de référence viennent battre en brèche la notion de « valeurs normales », abusivement considérées comme valeurs de référence des sujets sains (16). Ces valeurs normales sont plutôt dites valeurs fréquentes selon Zender (17) ; valeurs moins sujettes à caution et mettant plus à l'aise les biologistes cliniciens (valeur fréquente, peu fréquente, rare, usuelle et peu usuelle). Mais selon les travaux fondateurs de la notion de constantes biologiques prise dans son acception première (9-15), la présente étude a pris en compte la distribution normale de chaque paramètre (percentile 2,5 et 97,5) à la base du calcul de limite de confiance de 90% de chaque percentile estimé (9-13).

Ainsi calculées, ces valeurs valent plus que la moyenne souvent influencée par les extrêmes. Elles tiennent aussi en compte la distribution normale (test paramétrique) et la distribution asymétrique (test non paramétrique). Il est clair que devant la diversité des situations rencontrées au plan bioclinique, la notion d'homogénéité de la population n'était plus assurée suite à la présence de distribution bimodale et la fréquence accrue des valeurs aberrantes (outliers). Ainsi, les valeurs de référence calculées dans la présente étude décrivent probablement mieux les distributions que les traditionnelles moyennes \pm ET et l'intervalle central à 95%, telles que Wane les avait déterminées (2).

Dans la présente étude, les paramètres comme GR, l'Hb, l'Ht, la TCMH, GB, les neutrophiles, les plaquettes, les lymphocytes, avaient une distribution normale ou symétrique. En revanche, le VGM, la CCMH, les basophiles, les Plasmocytes, étaient distribués asymétriquement : courbe bimodale et parfois la majorité des données comprises dans le 4e Quartile de la distribution

A côté de ces valeurs de référence ou limites de référence, la présente étude démontre l'importance de l'interquartile pour définir les seuils ou limites d'alerte et de décision (18). Les conditions climatiques, socio-économiques et environnementales de la ville de Kinshasa expliquent la

variabilité biologique intra-individuelle (Plaquettes) inter-individuelle (entre les différents milieux d'habitation, des âges et des types de réseau scolaire). En dépit de l'absence des habitudes alimentaires des enquêtés, limite relative, la présente étude prouve le risque encouru de diagnostic hématologique par excès ou par défaut en utilisant les repères biologiques des autres pays (1).

En effet, l'état de santé décrit chez les enfants enquêtés ne correspond pas avec clarté et précision à l'état de santé décrit en Occident (19). Par contre, les présentes données constituent désormais les valeurs de référence de l'enfant pour la ville de Kinshasa, l'échantillon représentatif étudié ayant été soigneusement décrit du point de vue de facteurs de variations potentiels à la base d'un biais dans la distribution de référence. Quant aux autres valeurs dites normales ou de référence utilisées dans la ville sont, soit représentatives de la population de Kinshasa, elles sont soit représentatives du laboratoire de biologie clinique ; ayant été mesurées sur un sous ensemble d'individus tout-venant ou hétérogènes ; mais en tenant néanmoins compte des facteurs contrôlables : cas des donneurs de sang (2).

Contrairement aux habitudes actuelles, les présentes données permettent un dialogue permanent et scientifique entre le biologiste clinicien (supposé uniquement aux tâches techniques) et le praticien clinicien. Elles apportent en plus des informations relatives aux méthodes d'analyse, leurs imprécisions, les limites des valeurs de référence et les seuils d'alerte ou de décision médicale tirés de la médiane comprise dans l'interquartile, et la moyenne \pm ET et du Quartile IV.

Le seuil d'alerte est défini par le biologiste clinicien en vue des stratégies de prévention (rôle actif du biologiste clinicien en santé publique) de l'anomalie pathologique dans la population de Kinshasa (Sujet asymptotique) ou à inviter le praticien clinicien à requérir des examens complémentaires. Le seuil de décision médicale ou limite de décision clinique sépare de manière dichotomique les patients (symptomatiques) à traiter de ceux à ne pas traiter ; il permet aussi à sérier de manière optimale les différentes catégories cliniques ou à établir les diagnostics différentiels de l'anomalie pathologique observée (16).

En accord avec la médecine factuelle (Evidence-Based Medicine) et la plausibilité biologique (degré de connaissance scientifique actuelle), la présente étude a tenu à définir la normalité avec des seuils d'alerte et de décision médicale dynamiques : limite changeant avec les spécificités physiologiques ou environnementales des enquêtés. La précision de la réalisation de l'hémogramme dans ce travail, comparable à celle de plusieurs études (20, 21), permet la comparaison de ces résultats à d'autres. L'utilisation de la méthode automatisée dans ce travail est à la base de la fiabilité des résultats de l'hémogramme. Les méthodes traditionnelles de mesures qualitatives/quantitatives de l'hémogramme peuvent

encore être utilisées dans les pays en voie de développement (absence d'automates), ou pour vérifier un résultat équivoque (22). Mais depuis plus de 30 ans, les pays industrialisés et certains pays africains organisés comme le Nigeria (23), utilisent des techniques de numération automatisées. Ces méthodes automatiques procurent un gain de temps important (moins de 30 secondes en cas d'hémogramme normal). Par contre, l'automatisation renferme certaines limites telles que la non identification des cellules hyperbasophiles d'un syndrome mono nucléosique, les lymphoblastes d'une leucémie aiguë, la présence des tricholeucocytes et l'hématozoaire du paludisme.

C'est pourquoi la présente étude a complété la quantification automatique par des données qualitatives issues de la lecture du frottis sanguin. La lecture de ces frottis au microscope optique a servi à définir la formule leucocytaire et à identifier les immunoblastes, les plasmocytes. Le temps imparti à la réalisation de ce travail n'a pas permis à la lecture, méthode de référence, de frottis sanguin de préciser d'éventuelles anomalies de forme, de taille, de contenu, de la coloration des globules rouges (hématies) des GB (leucocytes) et des plaquettes, non décelables par les automates de numération (22).

Aucun travail congolais (23) ou africain n'a été identifié par la recherche bibliographique abordant les valeurs normales ou de référence chez l'enfant. Ceci contraste avec l'importance de l'effort accordé aux valeurs normales de l'hémogramme de l'adulte africain (24-26). Les présentes valeurs normales ne diffèrent pas des valeurs recommandées par l'OMS (27), référence récemment utilisées dans l'enquête sur la prévalence de l'anémie en RDC (28). Pour l'hémogramme, un seuil $< 11g /dL$ selon l'OMS (27) définit l'anémie ; mais ce seuil est considéré comme seuil d'alerte dans la présente étude. Le présent seuil de décision médicale pour l'hémoglobine $< 10g /dL$ correspond au seuil retenu à Pointe-Noire pour définir l'anémie, en milieu tropical (21, 27, 29, 30).

Ce travail considère que le taux d'Hb des enfants peut différer selon l'origine ethnique ou environnementale. Ce qui indique le taux d'hémoglobine significativement plus élevé chez les enfants blancs que chez les enfants noirs des Etats-Unis (21, 29, 30). En fait, les taux limites d'hémoglobine selon l'OMS (31) ont été proposés pour leur facilité de mémorisation dans les pays en voie de développement (26).

Les limites $<$ des valeurs normales et de référence des globules blancs en général et des éléments de la formule leucocytaire en particulier chez les enfants à Kinshasa semblent plus basses que celles des enfants américains (31).

La leucopénie et l'hyperleucocytose (lymphocytose, granulocytose, éosinophilie) déjà rapportées chez les africains de l'époque coloniale (32) expliqueraient la tendance aux limites < plus basses et aux limites > plus élevées des valeurs normales et de référence de l'hémogramme des enfants enquêtés en proie aux diverses infections parasitaires et bactériennes (Paludisme, Fièvre thyroïde et autres).

Comparées aux populations caucasiennes et d'Afrique noire, les valeurs normales et de référence des indices érythrocytaires et des plaquettes des enfants de Kinshasa semblent plus basses à cause de la prédominance des déficiences en fer et des parasitoses intestinales (27). Le nombre plus faible observé chez les adultes noirs et indiens serait dû à l'environnement et /ou d'origine génétique (32).

La présente étude confirme qu'une grandeur biologique n'est pas une constante (18), mais plutôt une grandeur avec une variabilité. Et les éléments sur la variabilité des grandeurs biologiques connues depuis 1970 (11, 12, 33, 34) ont été pris en compte dans la sélection et la définition de la présente population apparemment saine (35). Aussi, plusieurs enfants ont-ils été exclus à partir des critères anamnestiques, cliniques et biologiques pour éviter le plus possible les variabilités liées aux maladies, traitement et comportement à risque.

En dépit de la rigueur de l'exclusion de ces sources de variation, il n'a pas été possible de tenir compte de sources de variations métaboliques, intra-individuelles, interindividuelles, physiologiques (génétique) et environnementales. Le sexe n'a pas été une source de variation physiologique de l'hémogramme des enquêtés. Ceci s'expliquerait par l'absence de maturation sexuelle (absence de ménarches et de puberté franche) de la présente population comme précisée ailleurs (21, 32).

Comme noté ailleurs (18, 21), l'âge a constitué un cas particulier dans la variabilité de l'hémogramme des enfants de Kinshasa. Dans la présente étude et dans d'autres retrouvées dans la littérature (18, 31), les valeurs de l'hémoglobine, de l'hématocrite et des globules rouges augmentaient avec l'âge. Les enfants kinois âgés de 4-7 ans, en période de croissance rapide (besoin de matériaux de construction) et plus vulnérables devant le paludisme, présentaient des valeurs inférieures d'hémoglobine, d'hématocrite et globules rouges comparés à celles de leurs collègues âgés de 8-13 ans. Par contre, les valeurs des globules blancs et des plaquettes diminuaient avec l'âge des enquêtés corroborant ainsi les données de Tarallo et Bao. Comparés aux enfants âgés de 8-13 ans, les enfants de 4-7, ans présentaient des valeurs plus basses des globules blancs à cause de l'immaturité de leur immunité (1).

Dans ce travail, la variabilité de l'Hb, de VGM, de CCMH et des globules blancs était liée au milieu d'habitation ; les

valeurs les plus basses étant observées en milieu urbano-rural plus vulnérable à la malnutrition, aux infections et au paludisme

CONCLUSION

Les présentes valeurs de référence ont été définies chez les enfants de Kinshasa selon les précautions méthodologiques d'usage. Les valeurs de référence, établies à partir des valeurs normales de cette population apparemment saine, n'ont pas échappé à la variabilité intra-individuelle, inter-individuelle et celle liée à et/ou à l'environnement. Le sexe n'a pas été identifié comme facteur de variation de tous les paramètres hématologiques mesurés. L'hémoglobine, l'hématocrite, les globules rouges augmentaient avec l'âge. En revanche les globules blancs, les plaquettes diminuaient avec l'âge. L'âge, les paramètres hématologiques variaient de manière significative avec l'environnement, à savoir le milieu d'habitation et le type de réseau scolaire. Les valeurs normales et de référence des paramètres hématologiques ont été comparées à celles décrites dans certaines populations caucasiennes et d'Afrique noire, sans différence significative pour la majorité des paramètres étudiés. Une diminution relative des globules blancs, et une augmentation des éosinophiles par rapport aux valeurs des caucasiens, suggèrent l'influence des infections parasitaires et bactériennes. Enfin ce travail démontre que la première tâche de tout biologiste clinicien est d'élaborer les valeurs normales, les valeurs de référence, les seuils d'alerte et le seuil de décision médicale de sa population. Ainsi, il participe activement, à la prévention, à l'évaluation et à la décision thérapeutique des maladies.

Conflit d'Intérêt

Aucun n'a été déclaré.

REFERENCES

1. Duffilut D, Lebreton T, Deronne., Mouray. Critères de sélection pour l'établissement des valeurs de référence en zone tropicale. Application aux protéines spécifiques CRP, HPT, TRF chez les enfants gabonais Libreville. 1996.
2. Wane J. Etude des valeurs de référence de quelques paramètres biologiques de l'adulte jeune en milieu urbain zaïrois. Mémoire de fin de spécialisation en Biologie Clinique., 1985.
3. Kalemwa D. Valeurs de référence de quelques paramètres du nouveau-né congolais à Kinshasa. Mémoire de fin de spécialisation en Biologie Clinique., 1998.
4. Rakoto Alson O, Ratsitorahina M, Pfister P, Laganier R, Dromigny JA. [Estimation of normal hemogram values in Madagascar]. Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar. 2000;66(1-2):68-71. PubMed PMID: 12463041. Estimation des valeurs normales de l'hémogramme à Madagascar.

5. Sakande J, Coulibaly JL, Njikeutchi FN, Bouabre A, Boukary A, Guissou IP. [Reference values of 15 clinical blood constituent for African adult from Ougadougou (Burkina Faso)]. *Annales de biologie clinique*. 2004 Mar-Apr;62(2):229-34. PubMed PMID: 15047477. Etablissement des valeurs de référence de 15 constituants biochimiques sanguins chez l'adulte burkinabe a Ouagadougou (Burkina Faso).
6. Yapo AE, Bonetto R, Ne Bavi-N'guessan GF, Konan Waidhet D, Diafouka F, Monnet D. Profil biochimique de référence normal de l'enfant ivoirien de 0 à 15 ans *Médecine d'Afrique noire*. 1999;46.
7. Delwaide PA. [Current concepts concerning reference values in clinical chemistry]. *Revue médicale de Liege*. 1978 May 1;33(9):309-26. PubMed PMID: 653168. Concepts actuels des "valeurs de référence" en chimie clinique.
8. Sebahoun G. *Hématologie Clinique et Biologique*,. Edition Arnette Paris. 2005.
9. Dybkaer R, Saris NE. Establishment and use of normal values *Scand. J Clin Lab invest*. 1999;110:62-3.
10. Dybkaer R, Grasbeck R. Editorial: Theory of reference values. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1973 Aug;32(1):1-7. PubMed PMID: 4765988.
11. Williams GZ, Young DS, Stein MR, Cotlove E. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. I. Objectives, subject selection, laboratory procedures, and estimation of analytic deviation. *Clinical chemistry*. 1970 Dec;16(12):1016-21. PubMed PMID: 5481561.
12. Harris EK. Distinguishing Physiologic Variation from Analytic Variation. *Journal of chronic diseases*. 1970 Dec;23(7):469-80. PubMed PMID: 26309917.
13. Cotlove E, Harris EK, Williams GZ. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. 3. Physiological and medical implications. *Clinical chemistry*. 1970 Dec;16(12):1028-32. PubMed PMID: 5481563.
14. Young DS, Harris EK, Cotlove E. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. IV. Results of a study designed to eliminate long-term analytic deviations. *Clinical chemistry*. 1971 May;17(5):403-10. PubMed PMID: 5573406.
15. Harris EK. Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. *Clinical chemistry*. 1974 Dec;20(12):1535-42. PubMed PMID: 4430131.
16. Solberg HE. Establishment and use of reference values in tietz textbook of clinical chemistry., Burtis, Er Ashwood, Eds, Philadelphia, W B, Saunders., 1994;2:454-84.
17. Zender R. [Normal values or frequent values]. *Annales de biologie clinique*. 1970;28(1):15-6. PubMed PMID: 5421246. Valeurs normales ou valeurs fréquentes.
18. Henny J, Petitclerc C, Fuentes-Arderiu X, Petersen PH, Queralto JM, Schiele F, et al. Need for revisiting the concept of reference values. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2000 Jul;38(7):589-95. PubMed PMID: 11028762.
19. Bao W, Dalferes ER, Jr., Srinivasan SR, Webber LS, Berenson GS. Normative distribution of complete blood count from early childhood through adolescence: the Bogalusa Heart Study. *Prev Med*. 1993 Nov;22(6):825-37. PubMed PMID: 8115341.
20. Garaway WT. Accuracy in clinical chemistry *Clin Chem*. 1971;17:63.
21. Cheze S, Leporrier M. [Hemogram: indications and interpretation. Diagnostic orientation]. *La Revue du praticien*. 2003 Jan 15;53(2):177-85. PubMed PMID: 12664852. Hemogramme: indications et interpretation. Orientation diagnostique.
22. Kotila TR. Automated techniques in haematology. *Nigerian journal of medicine : journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria*. 2006 Jan-Mar;15(1):30-3. PubMed PMID: 16649448.
23. Farid Z, Patwardhan V, Darby W. Parasitism and anaemia. *Am J Clin Nutr*. 1964;22:498-503.
24. Blistein. *Hématologie normale des noirs du Congo Belge Sang et moelle osseuse des adultes*. 1950.
25. Van den Berghe L. Contribution à la connaissance de l'hématologie normale des indigènes du Congo Belge. 1941.
26. Ringelhan B, Marcl J, Dagado, Sodhi S, . Values for blood constituents in Young Adult Ghanaian in Accra, With Comparative data from tropical and non-tropical countries *tropical Medicine and hygiene*. 1964;63(1):84-101.
27. Atanda HL, Bon JC, Force-Barge P, Rodier J. [Study of main pathogenic agents of dysenteric syndromes in children]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 1997 Jun;4(6):585. PubMed PMID: 9239281. Etude des principaux agents pathogenes des syndromes dysenteriques chez l'enfant.
28. RDC. République Démocratique du Congo, Ministère de la Santé PRONANUT Rapport d'analyse avec l'appui de l'UNICEF Kinshasa. République Démocratique du Congo, Ministère de la Santé PRONANUT Rapport d'analyse avec l'appui de l'UNICEF Kinshasa. 2005.
29. Garn SM, Smith NJ, Clark DC. Lifelong differences in hemoglobin levels between Blacks and Whites. *Journal of the National Medical Association*. 1975 Mar;67(2):91-6. PubMed PMID: 1133873. Pubmed Central PMCID: 2609411.
30. Williams D. Racial differences of haemoglobin concentration measurements of iron copper and zinc. *Ann J Clin* 1981;34:1694-700.
31. Cranendonk E, van Gennip AH, Abeling NG, Behrendt H, Hart AA. Reference values for automated cytochemical differential count of leukocytes in children 0-16 years old: comparison with manually obtained counts from Wright-stained smears. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry Zeitschrift fur klinische Chemie und klinische Biochemie*. 1985 Oct;23(10):663-7. PubMed PMID: 2415666.
32. Tarallo P. Plaquettes (Numération) in Siest G., Henny J. Schiele F. éditeurs *Réf en biologie Clinique Paris Elsevier*. 1990:473-83.
33. Bretau diere JP, Buret J, Favre R, Gueguen R, Petitclerc C, Sachs C, et al. Biological variations in laboratory tests (document D, stage 3). *Annales de biologie clinique*. 1979;37(4):229-39. PubMed PMID: 534395.
34. Bretau diere JP, Albert A. Influence des facteurs analytiques sur les valeurs de référence *Ann Biol Clin* 1985;2(43):306-9.
35. Gaumeton J. Profil proteique d'une population gabonaise thèse de pharmacie. Université de Paris sud-série U24. 1978.