



L'haptoglobine chez les enfants atteints de paludisme grave a *Plasmodium falciparum* de 0 à 15 ans : relations avec l'âge, la parasitémie et le taux d'hémoglobine

Hien S², Angbo K MA³, Dasse SR⁴, Yeboah Or⁵, N'guessan K⁶, Kouacou APV⁷, Sombo MF¹

1- Professeur Titulaire d'Immunologie, UFR Sciences Médicales UFHB Cocody, Chef du Service d'Immunologie et d'Hématologie, CHU Cocody.

2- Attaché de Recherches en Immunologie, UFR Sciences Médicales UFHB Cocody

3- Attachée de Recherches en Biochimie Médicale, UFR Sciences Médicales UFHB Cocody

4- Maître Assistant en Immunologie, UFR Sciences Médicales UFHB Cocody

5- Interne des Hôpitaux au Service d'Immunologie et d'Hématologie du CHU de Cocody

6- Assistant Chef de Bioclinique en Immunologie, UFR Sciences Médicales UFHB Cocody

7- Assistante Chef de Bioclinique en Immunologie, UFR Sciences Médicales UFHB Cocody

Correspondance : Dr. HIEN Sansan, B.P. V166 Abidjan, UFR Sciences Médicales, Laboratoire d'Immunologie, CHU Cocody. République de Côte d'Ivoire. Tél : (225) 40 28 76 53, (225) 07 44 30 36,

E-mail : hien_sansan73@yahoo.fr

Original submitted in on 25th January 2014. Published online at www.m.elewa.org on 30th April 2014.

<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v76i1.9>

RESUME :

Objectifs : Cette étude avait pour objectifs d'évaluer l'haptoglobine chez les enfants âgés de 0 à 15 ans atteints de paludisme grave à *Plasmodium falciparum*, et de rechercher les relations entre cette protéine de l'inflammation avec l'âge, la densité parasitaire et le taux d'hémoglobine.

Méthodologie et résultats : Il s'agissait d'une étude prospective transversale chez 70 enfants atteints de paludisme grave à *Plasmodium falciparum* dont l'âge variait entre 0 et 15 ans recrutés aux services de Pédiatrie des Centres Hospitaliers et Universitaires (CHU) de Cocody et de Yopougon (Abidjan). Les résultats ont montré qu'au cours du paludisme grave à *Plasmodium falciparum* chez les enfants, on notait une hypohaptoglobulinémie chez la majorité des malades (69,44 à 88,2%). Le taux moyen d'haptoglobine est plus bas chez les enfants de 0 à 5 ans, traduisant une hémolyse plus importante. Le taux moyen de cette protéine était proportionnel à l'âge et au taux moyen d'hémoglobine, mais inversement proportionnel à la densité parasitaire moyenne.

Conclusion et application des résultats : Cette étude a montré qu'au cours du paludisme grave à *Plasmodium falciparum* chez les enfants, le taux d'haptoglobine était associé à l'âge, à la parasitémie et au taux d'hémoglobine. Dans les pays en développement où l'anémie palustre est cause du décès de milliers d'enfants de moins de 5 ans par an, l'haptoglobine pourrait être un excellent marqueur pour le suivi des états inflammatoires et de la réémission des hémolyses intra vasculaires en pratique pédiatrique.

Mots clés : Paludisme grave à *Plasmodium falciparum*, haptoglobine, enfants.

ABSTRACT :

Haptoglobin in children with severe falciparum malaria, aged from 0 to 15 years old: Relationships according to age, parasitemia and hemoglobin rate.

Objectives: This study was assaying haptoglobin in children aged 0-15 years with severe *Plasmodium falciparum* malaria and the relationship between this protein of inflammation according to age, parasitemia and hemoglobin rate.

Methodology and results: It was a prospective study in 70 children with severe *Plasmodium falciparum* malaria aged between 0 and 15 years recruited in the services of Pediatric Hospitals and University (CHU) of Cocody and Yopougon (Abidjan). COBAS INTEGRA 400 turbidimetric test was used for the measurement of Haptoglobin in human serum. Anti-Haptoglobin antibodies when mixed with samples containing Haptoglobin, formed insoluble complexes. These complexes caused an absorbance change, dependent upon the Haptoglobin concentration of the patient sample that could be quantified by comparison from a calibrator of know Haptoglobin concentration. The results showed that during severe falciparum malaria, most of children (69.44 to 88.2%) had hypohaptoglobinemia. The average rate of Haptoglobin was lower in children 0-5 years, reflecting a higher hemolysis. The average rate of this protein was proportional to age and mean hemoglobin, but inversely proportional to the mean parasite.

Conclusion and application of results: This study showed that in children with severe *Plasmodium falciparum* malaria, there was relationship between Haptoglobin levels and age, parasitemia and hemoglobin rate. In developing countries where malaria anemia causes death of many children every year, Haptoglobin could be an excellent marker for medical aftercare of inflammatory diseases and intravascular hemolysis remission in pediatric practice.

Key words: Severe *falciparum* malaria, Haptoglobin, children.

INTRODUCTION

Le paludisme demeure encore de nos jours, un problème de santé publique dans les pays en développement. Dans les zones d'endémie palustre, cette affection reste l'une des principales causes de morbidité et de mortalité chez l'enfant. En Côte d'Ivoire le paludisme est hyper endémique et est transmis toute l'année, avec une recrudescence pendant les saisons pluvieuses. Sa morbidité y est de 42,28% pour une mortalité de 15,29% chez les enfants de moins de 5 ans. Parmi les espèces plasmodiales qui infectent l'homme, *Plasmodium falciparum* est la plus répandue dans le monde et pratiquement la seule capable de provoquer un paludisme grave pouvant conduire à la mort, surtout chez l'enfant de moins de 5 ans. L'haptoglobine est une glycoprotéine principalement synthétisée par le foie. Sa concentration plasmatique augmente dans les syndromes inflammatoires et diminue jusqu'à atteindre parfois zéro au cours des hémolyses intra vasculaires. Elle se fixe avec une grande affinité à l'hémoglobine libérée lors

d'épisodes hémolytiques pour former un complexe Haptoglobine-Hémoglobine (Hp-Hb). La formation de ce complexe et son élimination grâce à sa fixation sur le récepteur CD163 des monocytes macrophages permet de prévenir l'hémoglobinurie, la perte de fer et les dommages médiés par le fer au niveau du parenchyme rénal. C'est une protéine présente chez tous les mammifères, mais son polymorphisme n'a été retrouvé que chez l'homme. Le gène de l'haptoglobine humaine comprend deux allèles Hp1 et Hp2 codominants qui conduisent à trois phénotypes Hp1-1, Hp2-1, Hp2-2. La tendance actuelle des travaux de recherche sur l'haptoglobine vise à élucider l'influence de ces différents phénotypes sur les manifestations cliniques et biologiques au cours des maladies non-infectieuses et infectieuses, particulièrement d'origine parasitaire. Une étude effectuée au Mali chez deux ethnies, a montré que chez l'une d'entre elles, les sujets de phénotype Hp1-1 étaient susceptibles à l'infection au *Plasmodium falciparum*, alors que chez l'autre,

c'était plutôt les sujets de phénotype Hp2-2 (Perdijk et al, 2013). Une autre étude menée en Tanzanie chez des enfants de moins de 5 ans atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum*, a montré que la chute du taux plasmatique d'haptoglobine était plus marquée chez les sujets de phénotype Hp2-2 (Bénigni & Gwakisa, 2013). Vu la place qu'occupe l'hémolyse au cours du paludisme, la surveillance de l'haptoglobine trouve ici son intérêt car l'anémie pernicieuse due à cette hémolyse, provoque en Afrique sub-saharienne

entre 190 000 et 974 000 décès d'enfants de moins de 5 ans par an. La présente étude était une contribution à la prise en charge du paludisme grave à *Plasmodium falciparum* chez l'enfant. Elle avait pour objectifs d'évaluer l'haptoglobine (Hp) chez 70 enfants âgés de 0 à 15 ans, atteints de paludisme grave à *Plasmodium falciparum*, et de rechercher les relations de cette protéine de l'inflammation avec l'âge, la parasitémie et le taux d'hémoglobine.

PATIENTS ET METHODES

Il s'agissait d'une étude prospective transversale effectuée d'août à octobre 2010, chez 70 enfants aux services de Pédiatrie des Centres Hospitaliers et Universitaires (CHU) de Cocody et de Yopougon (Abidjan). Ces malades dont l'âge variaient entre 0 et 15 ans, souffraient de paludisme grave à *Plasmodium falciparum* confirmé par une goutte épaisse et un frottis sanguin et n'avaient pas encore bénéficié d'un traitement anti malarique. Les enfants souffrant de la drépanocytose ont été exclus. Pour chaque enfant admis dans ces services et répondant à nos critères d'inclusion, une fiche d'enquête a été remplie avec l'accord d'un membre de sa famille. Les prélèvements ont été effectués lors de la pose d'une perfusion en tenant compte de l'état général du patient et sur la demande du médecin traitant en vue d'exams de laboratoire. Le sang prélevé au pli du coude était recueilli dans des tubes contenant de l'EDTA pour la goutte épaisse, le frottis, l'hémogramme et dans des tubes secs pour le dosage de l'haptoglobine par Immunoturbidimétrie. Le Test Immunoturbidimétrique pour le dosage de l'haptoglobine a été effectué sur COBAS INTEGRA 400. Les modes de mesure et de calcul effectués par l'appareil sont respectivement par absorbance à 340 nm et au point final. Un portoir a été utilisé pour les échantillons à doser et l'autre pour les réactifs. Chaque portoir avait son emplacement dans l'appareil. Les réactifs comprenaient un Tampon phosphate pH 7.2 (R1), l'Anticorps de lapin anti-haptoglobine humaine (R2), le contrôle et le calibrateur. Après avoir sélectionné l'examen à réaliser sur les échantillons, il a été opéré le choix du portoir et l'emplacement des échantillons qui s'y trouvaient. Le pré dilutions au 1/21^{ème} des échantillons, du contrôle

avec NaCl à 9.0 % et du calibrateur avec l'eau distillée ont été effectuées par l'appareil. Les paramètres de pipetage étaient : 100 µl de R1, 5.5 µl d'échantillon, 50 µl de R2 et 14.5 µl d'eau distillée. Après avoir validé l'examen programmé, l'exécution a été lancée. A la fin de l'exécution par l'appareil, celui-ci a affiché les résultats sur l'écran. La détermination de la parasitémie a été faite à l'aide d'un microscope binoculaire Leitz modèle LABORLUX K à l'objectif 100 à immersion, en comptant le nombre de parasites pour 200 leucocytes et en admettant que la leucocytémie moyenne était de 6000/µl. La multiplication du nombre de parasites comptés par 30, donne approximativement le nombre de parasites par microlitre. Le frottis a permis d'identifier l'espèce plasmodiale et de ne prendre en compte que les infections à *Plasmodium falciparum*. La numération globulaire a été réalisée à l'automate d'hématologie Sysmex KX-21N®. Chaque échantillon de sang total a été bien homogénéisé grâce à l'agitateur rotatif et ensuite introduit dans l'appareil qui prélève une petite quantité puis réalise une dilution au 1/80 000 avec une solution isotonique. Après analyse, les résultats de la numération et des différentes constantes hématologiques sont affichés sur l'écran. L'analyse statistique des données a été effectuée sur les logiciels Statistica 10 et Excel 2007 pour un intervalle de confiance de 95%. Les moyennes, écarts types, médianes, coefficients de corrélation et droites de régression ont été obtenus avec Excel 2007. La comparaison des coefficients de corrélation et des taux moyens des différents paramètres dosés dans les deux tranches d'âge a été réalisée avec les tests d'homogénéité de Statistica 10, pour des valeurs normalement distribuées.

RESULTATS

Les résultats ont d'abord été traités globalement de 0 à 15 ans chez les 70 patients (Tableaux 1 & 2 ; Figures 1,2 & 3).

Tableau 1 : Valeurs des paramètres dosés chez les 70 patients de 0 à 15 ans.

Paramètres dosés	Minimum	Moyenne	Maximum	Ecartype
Haptoglobine (g/l)	0	0,38	4,49	0,91
Parasitémie (Trp/ μ l)	90	67729,23	400 000	94202,63
Hémoglobine (g/dl)	1,90	6,29	12,50	2,17

Le taux moyen d'haptoglobine chez les 70 patients était situé pratiquement à la limite inférieure de l'intervalle de référence. Dans l'ensemble, l'anémie était présente.

Tableau 2 : Différents types d'haptoglobulinémie dans la population étudiée.

Types d'haptoglobulinémie	Intervalle de variation	Effectif	Pourcentage	Taux moyen d'haptoglobine (g/l)
Hypohaptoglobulinémie	0 – 0,25	55	78,57	0,03
Haptoglobulinémie normale	0,5 – 1,48	10	14,29	0,84
Hyperhaptoglobulinémie	2,17 – 4,49	5	7,14	3,27

Chez la majorité des patients soit 78,57%, on notait une hypohaptoglobulinémie. Les cas d'haptoglobulinémie normale et d'hyperhaptoglobulinémie étaient en plus faibles proportions.

La recherche des corrélations entre les différents paramètres dosés est représentée par les figures 1 ; 2 et 3.

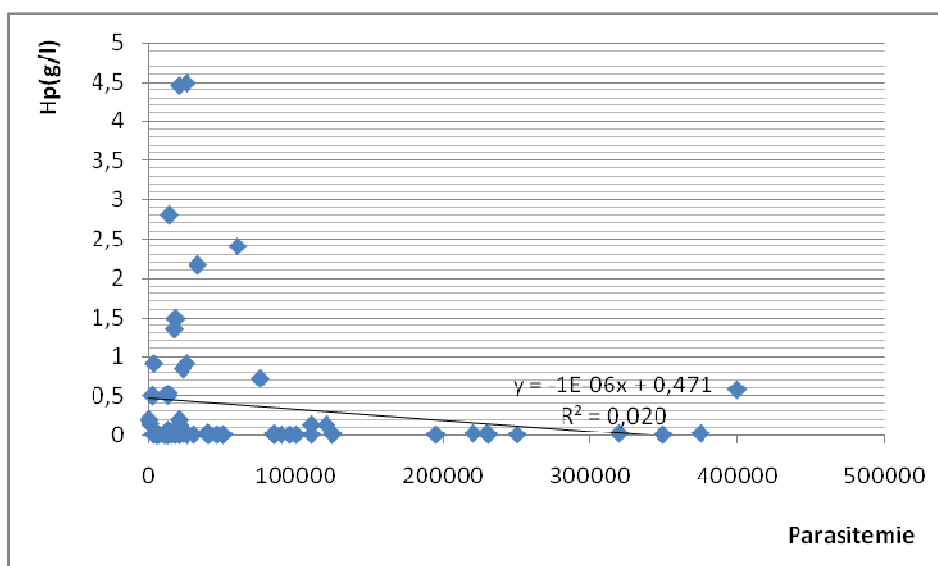


Figure 1 : Évolution du taux d'haptoglobine en fonction de la parasitémie chez les 70 enfants.

Le taux d'haptoglobine est inversement proportionnel à la densité parasitaire (Figure 1) et faiblement corrélé négativement à la densité parasitaire ($R = -0,14$; $p = 0,25$).

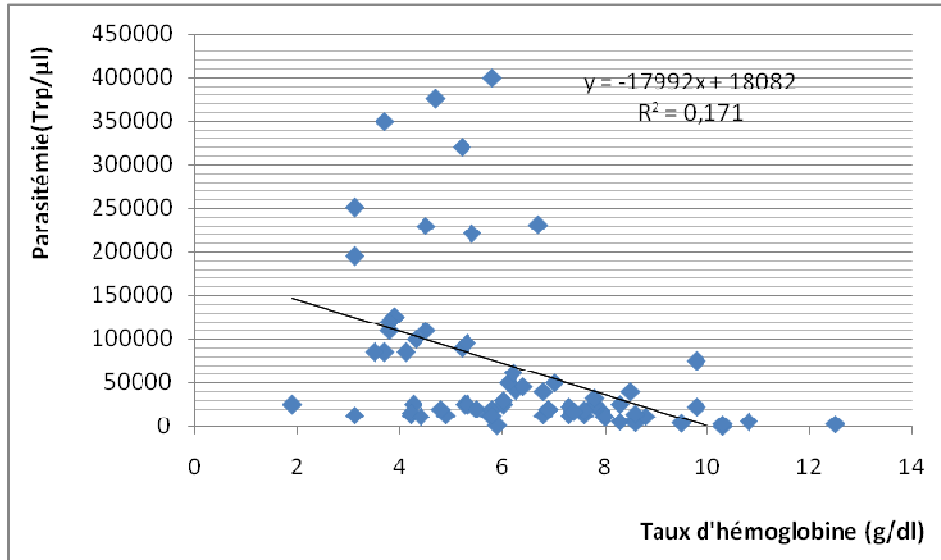


Figure 2 : Évolution du taux d'hémoglobine en fonction de la parasitemie

La densité parasitaire est inversement proportionnelle au taux d'hémoglobine (Figure 2) et corrélée négativement au taux d'hémoglobine ($R = -0,41$; $p < 10^{-3}$).

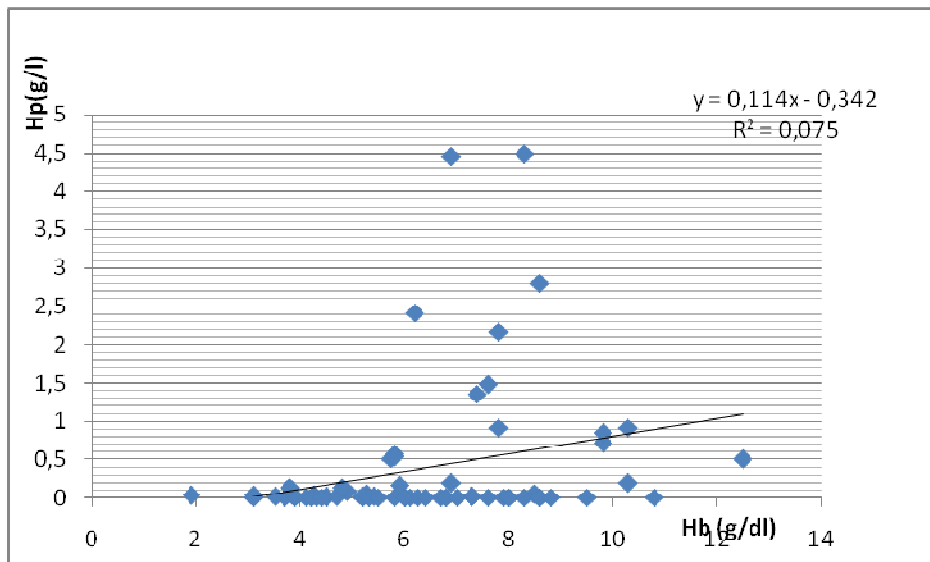


Figure 3 : Évolution du taux d'haptoglobine en fonction du taux d'hémoglobine chez les 70 enfants.

Le taux d'haptoglobine est proportionnel au taux d'hémoglobine (Figure 3) et corrélé positivement au taux d'hémoglobine ($R = 0,28$; $p = 0,019$). Les résultats ont été ensuite exploités selon deux tranches d'âge comme l'indiquent les tableaux 3 et 4 afin de comparer

les moyennes des paramètres mesurés dans la tranche d'âge de [0 à 5] ans qui reste la plus sensible pour l'enfant en zone d'endémie palustre, à ceux de la tranche de]5 à 15].

Tableau 3 : Répartition des malades selon le taux d'haptoglobine et l'âge.

Tranches d'âge (années)	Haptoglobine (g/l)	Effectif	Pourcentage (%)
[0 - 5]	0 – 0,13	30	88,20
	0,5 – 0,72	4	11,80
	Total	34	100
] 5 - 15]	0 – 0,25	25	69,44
	0,5 – 1,48	6	16,67
	2,17 – 4,49	5	13,89
	Total	36	100

Quelle que soit la tranche d'âge, la majorité des malades (69,44 à 88,2%) avait un taux d'haptoglobine inférieur à l'intervalle de référence qui se situe entre 0,3 et 2 g/l (Tableau 3). En faibles proportions, on notait

des cas d'haptoglobinémie normale dans les deux tranches d'âge et d'hyperhaptoglobinémie seulement dans la tranche d'âge de]5 - 15] ans.

Tableau 4: Taux moyens des paramètres biologiques dosés selon l'âge.

Paramètres dosés	Tranche d'âge (années)		Valeurs de p
	[0 – 5] N = 34] 5 - 15] N = 36	
Haptoglobine (g / l)	0,09	0,65	< 0,05
Parasitémie (Trp / µl)	111301,65	26577,50	< 0,05
Hémoglobine (g / dl)	5,24	7,27	< 0,05

En dehors de la parasitémie qui était élevée dans la tranche d'âge de [0 à 5] ans, les taux d'haptoglobine et d'hémoglobine quant à eux étaient plus bas que ceux de la tranche d'âge de]5 à 15] ans. Le taux moyen d'haptoglobine chez les enfants de plus de 5 ans était pratiquement 10 fois plus élevé que ceux de 0 à 5 ans. La comparaison des valeurs moyennes des paramètres biologiques dosés entre les deux tranches d'âge

(Tableau 4) a montré que les différences observées étaient significatives. Pour la comparaison des coefficients de corrélation par tranche d'âge, ont été pris en compte les corrélations significatives dans la population étudiée, Haptoglobine/Hémoglobine ($r = 0,28$; $p = 0,019$) et Parasitémie/Hémoglobine ($r = -0,41$; $p < 10^{-3}$).

Tableau 5: Valeurs des coefficients de corrélation entre paramètres dosés selon les tranches d'âge.

Corrélation entre :	[0 – 5] ans] 5 – 15] ans	Valeurs de p
Haptoglobine / Hémoglobine	0,39	0,15	0,15
Parasitémie / Hémoglobine	- 0,23	- 0,63	0,023

Au Tableau 5, la corrélation positive entre l'haptoglobine et l'hémoglobine était plus forte dans la tranche d'âge de 0 à 5 ans. Par contre on notait une

corrélation négative plus forte entre la parasitémie et l'hémoglobine dans la tranche d'âge de 5 à 15 ans. Dans le second cas la différence est significative.

DISCUSSION

Dans l'ensemble, la majorité des malades avait une hypohaptoglobinémie, et cela quelle que soit la tranche d'âge (Tableau 3). En effet, l'haptoglobine lors de l'hémolyse, se fixe à l'hémoglobine libre pour former un complexe Hp-Hb (Bowman & Kurosky, 1982). La clairance des complexes Hp-Hb de l'organisme au niveau des hépatocytes et du récepteur CD163 des monocytes/macrophages (Kristiansen, 2001 ; Graversen, 2002), provoque une baisse de sa concentration plasmatique (Engler, 1988 ; Freya *et al.*, 2006). L'effondrement du taux d'haptoglobine dû à cette clairance des complexes Hp-Hb, traduit chez ces malades la survenue d'une hémolyse intra vasculaire (Ahiboh *et al.*, 2008). Le taux moyen d'haptoglobine était proportionnel à l'âge (Tableau 4). Ce constat avait déjà été fait par Freya (Freya *et al.*, 2006). Chez les malades de la tranche d'âge de [0 à 5] ans, la parasitémie était plus élevée que celle de la tranche d'âge de [5 à 15] ans (Tableau 4). Cette différence avait été également observée par certains auteurs (Freya, 2006 ; Marielle, 2009 ; Yapi, 2010). Cela est dû au fait que chez l'enfant vivant en zone d'endémie palustre, la prémunition contre le paludisme, qui s'acquiert progressivement avec l'âge, est suivie d'une diminution de la densité parasitaire (Richard & Lagardère 1991). Le taux moyen d'haptoglobine était inversement proportionnel à la densité parasitaire moyenne. Il en était de même pour la densité parasitaire moyenne et le taux moyen d'hémoglobine (Figure 1 ; Tableaux 4 et 5). Ces observations confirmaient respectivement celles de Freya (Freya *et al.*, 2006) et de Yapi (Yapi *et al.*, 2010). La baisse du taux moyen d'hémoglobine liée à la Parasitémie est due au fait que l'hémoglobine soit une source importante d'acides aminés nécessaires pour la synthèse des protéines du *Plasmodium* (Rosenthal & Nelson, 1992). Il est communément

admis que l'invasion et le développement du *Plasmodium* dans les érythrocytes, conduisent à leur éclatement. Ce mécanisme constitue la principale cause de la baisse du taux d'hémoglobine. Il a été par ailleurs constaté que le taux moyen d'haptoglobine était proportionnel au taux moyen d'hémoglobine (Figure 3 ; Tableau 4). Les travaux de Lim (Lim, *et al.*, 2001) ont également révélé une telle association. En effet, une hémolyse massive libère une grande quantité d'hémoglobine, suivie d'une baisse de son taux. La libération de l'hémoglobine favorise la formation des complexes Hp-Hb qui provoquent une baisse du taux d'haptoglobine. Ces deux mécanismes pourraient expliquer le lien entre taux d'hémoglobine et taux d'haptoglobine. Chez les enfants de 0 à 5 ans où l'on a observé un taux moyen d'haptoglobine nettement plus bas, on pourrait dire que l'hémolyse des hématies au cours du paludisme grave à *Plasmodium falciparum* était plus importante que chez les enfants de plus de 5 ans. C'est ce qui explique ce taux moyen d'haptoglobine nettement plus bas chez les enfants de 0 à 5 ans, suivi d'une baisse consécutive du taux d'hémoglobine. Le tableau 5 montre une corrélation positive plus forte dans cette tranche d'âge entre haptoglobine et hémoglobine. Chez les enfants de plus de 5 ans les 13,89% d'hyperhaptoglobinémie observée au Tableau 3 pourraient être dus à un état inflammatoire. Néanmoins le taux moyen d'haptoglobine dans cette tranche d'âge était inclus dans l'intervalle de référence. Des travaux ont milité en faveur d'une réponse adaptée à l'hémolyse chez les enfants plus âgés, par une augmentation de la production d'haptoglobine (Raynes, *et al.*, 1991). En effet l'activation de la production d'haptoglobine induite par l'IL-6 est liée au degré d'hémolyse.

CONCLUSION

Cette étude contributive à la prise en charge du paludisme grave à *Plasmodium falciparum* chez les enfants, a permis de constater que le taux d'haptoglobine était associé à l'âge, à la parasitémie et au taux d'hémoglobine. L'hypohaptoglobinémie

observée dans la majorité des cas, pourrait être due à la survenue d'une hémolyse intra vasculaire. Cette hémolyse serait plus importante chez les enfants de 0 à 5 ans.

REFERENCES

- Ahiboh H, Oga AS, Yapi HF *et al.*, 2008. Anémie, métabolisme du fer et protéines de la réaction inflammatoire au cours du paludisme (Abidjan, Côte d'Ivoire). *Bull Soc Pathol Exot*, **101** (1) : 25-28.
- Benigni Alfred et Gwakisa P, 2013. Haptoglobin gene polymorphism influences the effect of malaria infection on host haptoglobin plasma level but not susceptibility to the disease. *African Journal of Biotechnology* **12**(10):1115-20.
- Bowman BH. et Kurosky A, 1982. Haptoglobin: the evolutionary product of duplication, unequal crossing over, and point mutation. *Adv Hum Genet*, **12**: 189-61.
- Engler R, 1988. Protéines de la réaction inflammatoire. Fonctions régulatrices. *Ann Biol Clin*, **46**: 336-42.
- Freya JIF, † Heather I, † Migot-Nabias F *et al.*, 2006. Association of haptoglobin levels with age, parasite density, and haptoglobin genotype in a malaria-endemic area of gabon. *Am J Trop Med Hyg*, **74** (1) : 26 –30.
- Graversen JH, Madsen M, Moestrup SK, 2002. CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-haemoglobin complexes from plasma. *Int J Biochem Cell Biol*, **34** (4): 309-14.
- Kristiansen M., Graversen JH, Jacobsen C *et al.*, 2001. Identification of the hemoglobin scavenger receptor. *Nature*, **409** (6817): 198-01.
- Lim SK, Ferraro B, Moore K *et al.*, 2001. Role of Haptoglobin in free haemoglobin metabolism. *Redox. Rep*, **6**: 219-27.
- Marielle K B, Arnaud DE, Eric K *et al.*, 2009. Impact of *Plasmodium falciparum* infection on the frequency of moderate to severe anaemia in children below 10 years of age in Gabon. *Malaria Journal* 2009, **8**:166.
- Perdijk O, Charles A, Pablo G *et al*, 2013. Haptoglobin phenotype prevalence and cytokine profiles during *Plasmodium falciparum* infection in Dogon and Fulani ethnic groups living in Mali. *Malaria Journal* **12**:432.
- Raynes JG, Eagling S, Mcadam K, 1991. Acute-phase protein synthesis in human hepatoma cells: differential regulation of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin by interleukin-1 and interleukin-6. *Clin Exp Immunol*, **83**: 488–91.
- Rosenthal P. et Nelson RG, 1992. Isolation and characterization of a cysteine proteinase gene of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, **51**:143-52.
- Yapi HF, Ahiboh H , Koffi D *et al.*, 2010. Assessment of inflammatory and immunity proteins during *falciparum* malaria infection in children of Côte d'Ivoire. *Am J Sci Ind Res*, **1**(2): 233-37.