



Tél : +243971868280/+250788750211/+25771375228

**REVUE « UNIVERSITE SANS FRONTIERES POUR UNE
SOCIETE OUVERTE » DE L'UNIVERSITE DISTANT
PRODUCTION HOUSE**
Parution bimensuelle : NO 006

ISSN 2313-285X

E-mail : info@dphu.org

Site Web : www.dphu.org

Uvira, Mars 2017

COMITE DE LA REVUE

No.	Nom et Prénom	Attribution
1	Distant Production House	Propriétaire de la Revue
2	Prof. Dr NIZEYIMANA Jean Baptiste	Rédacteur en Chef
3	Dr Diasivi MFULAMA Jean Berchmans	Membre
5	Prof. Dr NDIMUKAGA Etienne	Membre
6	Dr KABEMBA Maxime	Membre
7	Dr MUDEKE Charles	Membre
9	Dr OLIMBA Emedi Kavain	Membre
10	Dr NDALAPA MHANGO	Lecteur (peer Reviewer)
11	Dr H.MANTHOTO LEPHOTO	Lecteur (peer Reviewer)
12	Dr BOPELO BOITSHWARELO	Lecteur (peer Reviewer)
13	Dr JOHAN BECKMANN	Lecteur (peer Reviewer)
14	Dr STANLEY MODESTO	Lecteur (peer Reviewer)
15	Dr RONEL FERREIRA	Lecteur (peer Reviewer)
16	Dr BAGANETSI MMOLAWA	Lecteur (peer Reviewer)
17	Dr JOHAN HENDRIKZ	Lecteur (peer Reviewer)
18	Dr JAN NIEUWENHUIS	Lecteur (peer Reviewer)
19	Dr ELIFAS BISANDA	Lecteur (peer Reviewer)
20	Dr. Ir NDIKUMANA Déo	Lecteur (peer Reviewer)
21	Dt NGON MAGLOIRE	Lecteur (peer Reviewer)

EDITORIAL COMMITTEE

Prof. Dr NIZEYIMANA Jean Baptiste
 Dr Diasivi MFULAMA Jean Berchmans
 Dr. Ir NDIKUMANA Déo

« Variation de l'INR et du TCA chez les patients sous AVK à l'Hôpital Général de Douala-Cameroun »

“The variation of INR and TCA in patients under AVK at the Douala General Hospital-Cameroon”

Les auteurs

- 1-OLEMBA Clémence²
- 2-POUOKAM TASSE Estelle Flora¹
- 3-EWODO Symphorien^{2,5}
- 4-NOAH OWONA Appolonie³
- 5-TCHENTE NGUEFACK Charlotte²
- 6-ADA OWONA Eve Dominique⁴
- 7-NKUEDOUNG YIMELI Alvine Aimée¹
- 8-ADIOGO Dieudonné¹

Les institutions

- 1- Université de Douala, Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques - Cameroun
- 2- Hôpital Général de Douala - Cameroun
- 3- Programme National de Transfusion Sanguine - Cameroun
- 4- Hôpital Laquintinie de Douala - Cameroun
- 5- Université Distant Production House - RD Congo

Auteurs correspondants

- 1- EWODO Symphorien ; Laboratoire d'hématologie et banque de sang de l'Hôpital Général de Douala : ewodo_symphorien@yahoo.fr

Résumé

Les antivitamines K constituent le traitement anticoagulant oral le plus prescrit. Du fait de leur index thérapeutique étroit, les AVK exposent à deux risques principaux: la thrombose et l'hémorragie. L'objectif de cette étude était d'évaluer la prise en charge de la prévention et du traitement des maladies thromboemboliques chez les patients sous AVK à l'Hôpital Général de Douala. Le plasma a été recueilli chez 33 sujets. La détermination des valeurs d'INR, et de TCA/TCK a été effectuée deux fois par les réactifs néoplastine, CK prest, PTT automate et le chlorure de calcium du laboratoire STAGO lot N°= 113977. Le pourcentage d'INR dans la zone cible diminuait au cours du temps 33,33% à la première détermination à 32,25% à la deuxième détermination. Le risque de thrombose diminuait au cours du temps allant de 39,39% à la première détermination à 25,80% à la deuxième détermination. Le risque d'hémorragie augmentait avec au cours du temps allant de 27,27% à la première détermination à 41,93 % à la deuxième détermination. En conclusion, les valeurs d'INR et de TCA/TCK chez les patients sous AVK décroissent en fonction du temps.

Mots clés : antivitamine K, INR, TCK, TCA.

Abstract

Antivitamin K is the most prescribed oral anticoagulant therapy. Because of their narrow therapeutic index, AVKs have two main risks: thrombosis and haemorrhage. The objective of this study was to evaluate the management of the prevention and treatment of thromboembolic diseases in patients under AVK at the Douala General Hospital. Plasma was collected in 33 subjects. The INR and TCA / TCK values were determined twice by the neoplastin, CK prest, PTT automat and calcium chloride reagents of the laboratory STAGO lot No. 113977. The percentage of INR in the zone Target decreased over time 33.33% at the first determination to 32.25% at the second determination. The risk of thrombosis decreased over time from 39.39% at the first determination to 25.80% at the second determination. The risk of hemorrhage increased with time from 27.27% at the first determination to 41.93% at the second determination. In conclusion, the INR and TCA / TCK values in AVK patients decreased with time.

Keywords: antivitamin K, INR, TCK, TCA.

Introduction

Les Antivitamines K (AVK) constituent le traitement anticoagulant oral le plus prescrit. En 2011, (1,8 %) de la population française est traitée par AVK [1]. Les indications sont en nette progression avec la croissance démographique et surtout le vieillissement de la population. Elles sont essentiellement cardiaques (prothèse valvulaire mécanique, troubles du rythme, cardiopathie ischémique) ou liées à une maladie thromboembolique veineuse (thrombose veineuse, embolie pulmonaire) [1].

En raison des caractéristiques pharmacologiques complexes des AVK [2] et de leurs nombreuses interactions médicamenteuses [3], ce traitement est marqué par une importante variabilité inter- et intra-individuelle imposant le recours à une surveillance biologique de l'effet anticoagulant obtenu. Le paramètre mesuré est l'International Normalized Ratio (INR), fiable et reproductible d'un laboratoire à l'autre [4]. Dans la plupart des indications des AVK, l'INR cible est de 2,5 (entre 2,0 et 3,0), un INR inférieur à 2 traduit un sous dosage et un risque thromboembolique, alors qu'un INR supérieur à 3 est en faveur d'un risque hémorragique majoré [5]. Plus rarement, il est nécessaire d'atteindre des INR supérieurs à 3,0 (intervalle cible 3-4,5) pour limiter le risque thrombotique, notamment en présence de valves cardiaques mécaniques [6].

Du fait de leur index thérapeutique étroit, les AVK exposent à deux risques principaux: la thrombose et l'hémorragie. L'enquête épidémiologique réalisée par l'AFSSAPS en 2003 a montré que pour les indications donc l'INR cible est compris entre 2 et 3, 28% des sujets étaient à risque de thrombose et 25,9% étaient à risque d'hémorragie. Ces risques sont tels qu'ils placent les AVK au premier rang du risque iatrogène [2]. L'enquête ENEIS confirme que les anticoagulants, dont les AVK sont la première classe pharmacologique des médicaments responsables d'accidents iatrogènes graves (37 % en 2004 et 31 % en 2009). Les sujets âgés de 65 ans et plus sont majoritairement concernés [7].

Pour bien comprendre les enjeux de la surveillance du traitement par AVK, nous nous sommes proposés dans ce travail, d'évaluer la prise en charge de la prévention et du traitement des maladies thromboemboliques chez les patients sous AVK à l'hôpital général de Douala, d'où l'intitulé suivant : « Etude de la variation de l'INR et du Temps de céphaline activé chez les patients sous AVK à l'Hôpital Général de Douala ».

Matériels et méthodes

Type d'étude et sites de recrutement

Il s'agissait d'une étude de cohorte prospective. Elle s'est déroulée du 01 novembre 2015 au 30 juin 2016. Un centre hospitalier de référence de prise en charge des maladies thromboemboliques de la ville de Douala (capitale économique du Cameroun) a été associé au recrutement des patients sous traitement d'AVK : l'Hôpital General de Douala.

Population d'étude

Les patients inclus dans cette étude étaient ceux ayant aux moins 18 ans, sous traitement antivitamines K depuis au moins un mois, faisant l'objet d'un suivi à l'hôpital général de Douala et ayant donné librement leur consentement éclairé à participer à l'étude.

N'ont pas été inclus dans ces travaux, les patients de moins de 18 ans, et ceux sous AVK de moins d'un mois.

Déroulement de l'étude

Les patients venus en consultation, ont été recrutés entre 7h00 et 11h00 du matin dans le service de cardiologie. Après information du patient sur les modalités de l'étude et obtention de son consentement éclairé, une fiche d'enquête à remplir lui était soumise. Le prélèvement sanguin a été réalisé deux fois dans un tube CITRATE de 5 ml chez le patient dans le respect des bonnes pratiques d'analyses médicales. Le premier prélèvement le jour du recrutement, et le second un mois après. Les tubes étaient bien identifiés et les prélèvements ont été effectués chez le patient à jeun, en position assise et au repos depuis cinq minutes par ponction veineuse franche, au niveau du pli du coude. Ce prélèvement était analysé dans un délai de 3 heures conformément au mode opératoire fourni par les fabricants. Les échantillons prélevés étaient centrifugés à 1500g pendant 15 minutes, les plasmas recueillis étaient analysés par les réactifs de la trousse STAGO conservée à une température comprise entre 2 et 8°C.

Principe de la technique de l'Hémostase : (chlorure de calcium et néoplastine de stago)

C'est une technique fréquemment utilisée pour la surveillance thérapeutique des patients traités par AVK, et le diagnostic des syndromes hémorragiques. Elle consiste en la coagulation d'un plasma à 37°C en présence de la néoplastine tissulaire.

Taille de l'échantillon

Le recrutement s'est fait de manière consécutive, et la taille a été définie suivant la formule de Lorentz. Sur 1809 patients reçus en consultation cardiologique durant la période de l'étude nous en avons retenus 33.

Analyse des données

Les données ont été saisies dans une feuille Excel 2010 (Microsoft office, USA) et analysées avec le logiciel Stata. Les résultats ont été représentés sous forme de tableaux, figures : les variables quantitatives sous forme d'histogrammes et les variables qualitatives nominales sous forme de diagrammes circulaires. Le test de Khi-carré a été utilisé pour la comparaison des variables quantitatives discontinues (fréquences, proportions). Le test-T Student pour les variables quantitatives continues (moyenne et écart-type). Le niveau de relation entre les variables a été déterminé par le test de corrélation de Pearson et par la régression linéaire univariée. La différence sera considérée comme statistiquement significative pour une valeur de $p < 0,05$.

Considérations éthiques

Nous avons obtenu l'autorisation de réalisation de l'étude auprès du comité institutionnel d'éthique de l'Université de Douala, et du responsable de la structure sanitaire concernée. L'étude s'intégrait complètement dans la prise en charge du traitement des maladies thromboemboliques par les AVK du centre de recrutement suscité. Le financement de l'étude a été fait par nous et nos encadreurs. La gestion et le traitement informatisé des données ont été réalisés dans la stricte confidentialité et l'anonymat conservé en toute sécurité sans analyse primaire.

Résultats

Nous avons enregistré 1809 patients reçus en consultation cardiologique durant la période allant du 1^{er} novembre 2015 au 30 mai 2016. Parmi eux, 35 étaient soumis à un traitement AVK, soit une prévalence de 1.93%. Au total 33 patients avaient été retenus conformément à nos critères de sélection et ont été soumis à deux périodes de prélèvements sanguins. L'âge moyen de la population était de 58,3 ans pour un sexe ratio de 1,06 en faveur des sujets mâles (51.52%). Cependant, les sujets de plus de 60 ans étaient majoritairement représentés.

I: Les connaissances de la population étudiée sur le traitement par AVK

	Réponses	Fréquence	Total
Nom de la pathologie connu	OUI	16(48,48%)	100%
	NON	17(51,52%)	
Possession d'un cahier	OUI	8(24,24%)	100%
	NON	25(75,76%)	
Respect du rendez vous	OUI	28(84,85%)	100%
	NON	5(15,15%)	
Nom du médicament connu	OUI	27(81,82%)	100%
	NON	6(18,18%)	
Respect du dosage prescrit	OUI	32(96,97%)	100%
	NON	1(3,03%)	
Dosage fixe	OUI	23(69,70%)	100%
	NON	10(30,30%)	
Effets indésirables connus	OUI	12(36,36 %)	100%
	NON	21(63,64%)	
Test biologique	OUI	22 (66,67%)	100%
	NON	11 (33,33%)	
Co-prescription	OUI	31 (93,94%)	100%
	NON	2 (6,06%)	

Tableau II : Répartition des patients en fonction des indications et de l'INR cible au cours des deux déterminations

Les cibles thérapeutiques	Indications	INR< cible	Cible	INR> cible	Total
PREMIERE DETERMINATION		Effectifs (Fréquence)			
INR cible comprise entre 2 et 3	Fibrillation auriculaire	3(27,27%)	6(54,55%)	2(18,18%)	11(100%)
	AVC	2(40,00%)	1(20,00%)	2(40,00%)	5(100%)
	Thrombose veineuse	0(0,00%)	2(100%)	0(0,00%)	2(100%)
	Insuffisance cardiaque	1(33,33%)	0(0,00%)	2(66,67%)	3(100%)
	Contexte chirurgical	0(0,00%)	0(0,00%)	1(100%)	1(100%)
INR cible comprise entre 3 et 4,5	Cardiopathies emboligènes	2(100%)	0(0,00%)	0(0,00%)	2(100%)
	Prothèse valvulaire	5(62,50%)	2(25,00%)	1(12,50%)	8(100%)
	Valvulopathie mitrale	0(0,00%)	0(0,00%)	1(100%)	1(100%)

DEUXIEME DETERMINATION		Effectifs (Fréquences)			
INR cible comprise entre 2 et 3	Fibrillation auriculaire	3(30,00%)	5(50,00%)	2(20,00%)	10(100%)
	AVC	0(0,00%)	2(40,00%)	3(60,00%)	5(100%)
	Thrombose veineuse	0(0,00%)	2(100%)	0(0,00%)	2(100%)
INR cible comprise entre 3 et 4,5	Insuffisance cardiaque	1(33,33%)	0(0,00%)	2(66,67%)	3(100%)
	Cardiopathies emboligènes	2(100%)	0(0,00%)	0(0,00%)	2(100%)
	Prothèse valvulaire	2(25,00%)	1(12,50%)	5(62,50%)	8(100%)
	Valvulopathie mitrale	0(0,00%)	0(0,00%)	1(100%)	1(100%)

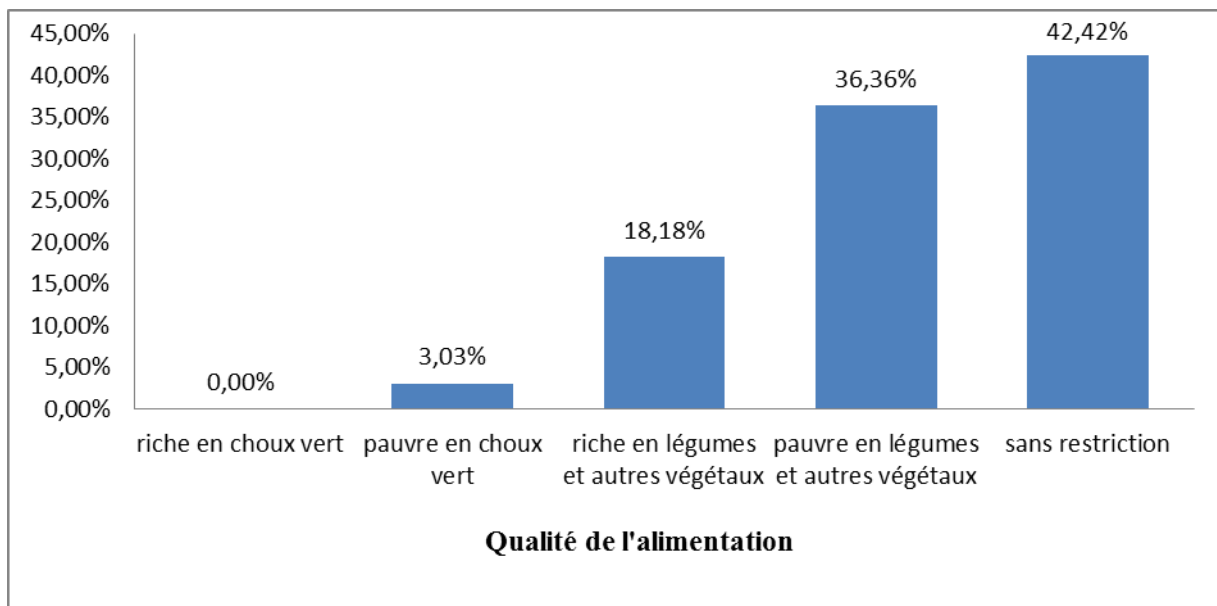


Figure 1 : Répartition de la population d'étude en fonction du régime alimentaire

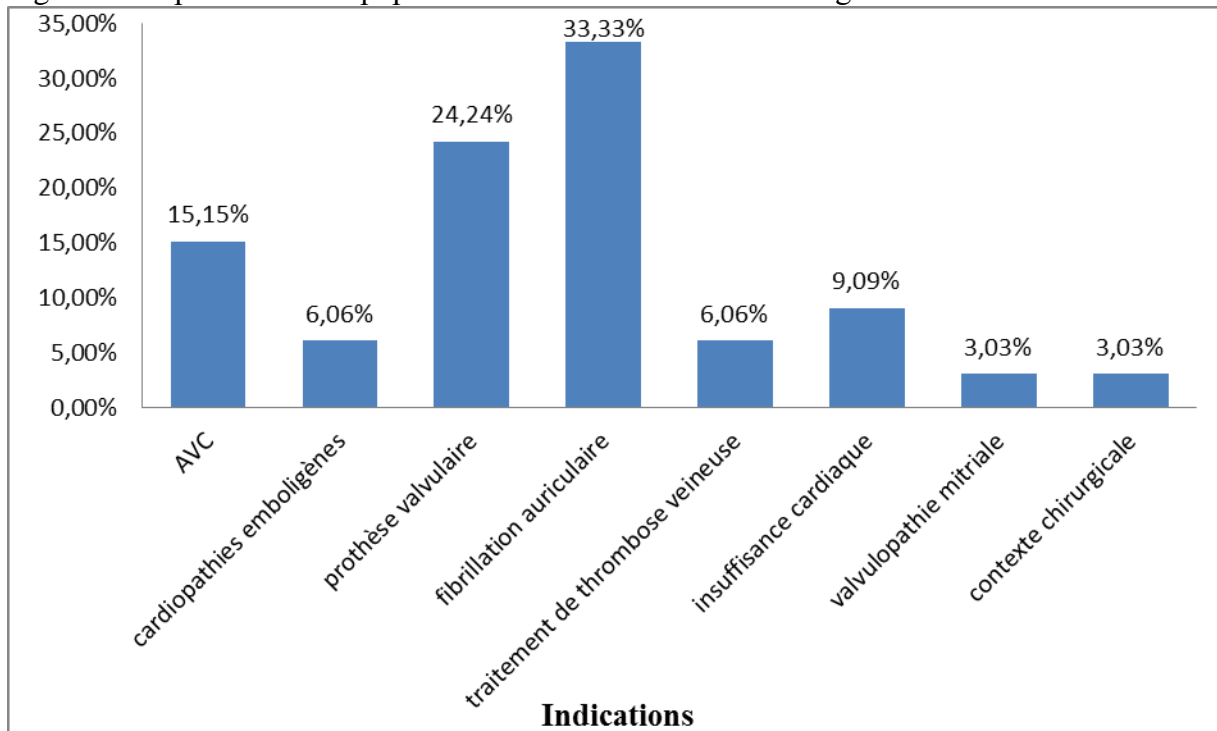


Figure 2 : répartition de la population d'étude en fonction des indications

Tableau III : fréquence d'utilisation des AVK et représentation de l'INR moyen en fonction de la molécule.

Médicaments	Fréquence de son utilisation	1 ^{ère} détermination		2 ^{ème} détermination	
		INR moyen (écart type)	P-Value	INR moyen (écart type)	P-Value
ACENOCOUMAROL	57.58%	3,36(2,15)	P=0,26	4,31(2,53)	P=0,14
FLUINDIONE	39.39%	2,37(1,01)		3,02(1,87)	
WARFARINE	3.03%	1,76(0)		-	

Tableau IV : Evaluation de la performance du TCA par rapport au TCK par les moyennes des deux déterminations.

		TCK pa/TCK te		
		Allongé	Normal	
TCA pa/ TCA te	Allongé	VP 16	FP 5	21
	Normal	FN 4	VN 8	12
		20	13	

Calcul de : la Sensibilité, de la spécificité des valeurs prédictives positive et négative du TCA par rapport au TCK

- *Sensibilité (S) = VP/VP+FN, S = 16/20, S = 80 %*
- *Spécificité (Sp) = VN/VN+FP, SP = 8/13 ; SP = 61,54%*
- *Valeurs Prédictives Positive (VPP) = VP/VP+FP ; VPP = 16/21 ; VPP = 76.19%*
- *Valeurs Prédictives Négative (VPN) = VN/VN+FN ; VPN = 8/12 ; VPN = 66.66%*

Tableau I: Corrélation entre le TCK et le TCA

TCK				TCA				
Première détermination								
	effectif	Moy+ET	IC	P-Value	Effectif	Moy+ET	IC	P-Value
Normal	15	1,16±0,43	(1,07-1,25)	P=0,001	12	1,16±0,21	(1,0-1,30)	P=0,023
Allongé	18	1,86±0,14	(1,57-2,16)		21	1,87±0,2	(1,45-2,29)	

DISCUSSION

La faible taille de notre échantillon et l'absence d'identification de la plupart des médicaments co-prescrits et susceptibles de modifier l'effet du traitement par les AVK, ont constitué les limites de notre étude. La prévalence des patients sous AVK à l'HGD est de 1,93 %. En effet 1,8% en 2011, de la population française était traitée par les AVK [1]. Cette légère augmentation pourrait s'expliquer d'une part par le fait que l'Hôpital Général de Douala abrite depuis environ 3 ans la mission de chirurgie cardiaque belge et les patients opérés dans ce cadre préfèrent se faire suivre par un cardiologue du dit hôpital. Et d'autre part par le fait qu'il s'agit d'un hôpital de référence ayant un département de cardiologie. Les cas de maladies thromboemboliques identifiés dans les autres hôpitaux de la ville de Douala y sont référés pour un suivi par le médecin spécialiste.

L'âge moyen des patients traités par AVK est évalué à 58,3 ans et 51,52% d'entre eux sont des hommes. Le sexe ratio H/F était égal à 1,06. En 2011, l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé en France avait trouvé l'âge moyen à 72,5 ans et 51,7% d'entre eux étaient des hommes. Cette différence d'âge s'explique par le fait que l'espérance de vie est plus longue en Europe qu'en Afrique, et le troisième âge est plus représenté, Soit 80 ans dans les pays développés contre moins de 60 ans en Afrique subsaharienne [8]. Nos travaux révèlent une prédominance des sujets hypertendus à 57,58%, résultat qui concorde avec celui obtenu par BEN AMEUR et al en Tunisie en 2006 où la prédominance des hypertendus était à 44% [9]. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'hypertension artérielle est une affection retrouvée en majorité chez les adultes avec une prévalence qui augmente avec l'âge.

Environ 42,42% des sujets de notre population d'étude ne présentaient aucune restriction alimentaire. Ce résultat est différent de celui obtenu par l'Association Française des CRPV à la demande de L'AFSSAPS en 2000 et 2003, qui étaient respectivement de 28,2% et 20,5% [10,11]. Cette différence est due au fait que l'éducation et l'information des patients sur l'impact de la consommation excessive d'aliments riches en vitamine K (choux, tomates, carottes, salades ou haricots verts) qui diminuerait l'efficacité du traitement par les AVK, n'est pas faite systématiquement lors des consultations [12].

Nous avons obtenu 48,48% des participants connaissant le nom de la pathologie ayant donné lieu à leur traitement anticoagulant. Aussi, 66,67% des participants connaissaient le nom du test biologique nécessaire à la surveillance de leur traitement anticoagulant, 24,24% possédaient un carnet de surveillance et seuls 36,36% connaissaient les effets indésirables des AVK. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par l'AFSSAPS en 2003 qui étaient

respectivement de 91,2%, 68,8%, 34,9% et 64,2% [11]. Cette différence peut s'expliquer en partie par le niveau de compréhension des patients car ce type de traitement concerne particulièrement la population âgée illettrée pour la plupart, chez qui on observe une diminution des fonctions cognitives, ajouté aux problèmes de compliance au traitement.

Dans cette étude 30,30% des sujets avaient des posologies journalières variables. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par l'AFSSAPS en 2000 et 2003 (30%)[10,11]. Le fractionnement des comprimés et/ou une posologie variable selon les jours sont des stratégies utilisées par le soignant pour équilibrer le traitement anticoagulant de son patient. La majorité des sujets avaient une co-prescription (90,93%). Ce résultat concorde avec celui d'ISSAM Serghini et al qui trouvait dans leur étude que la majorité (76,6%) des patients était poly-médicamentés [13]. Ceci s'explique par le fait que la prévalence de la poly-pathologie augmente significativement avec l'âge chez les hommes et les femmes et cette poly-pathologie expose les personnes âgées à une poly-médication.

Notre étude a montré que les indications du traitement AVK étaient variées avec une prédominance de la fibrillation auriculaire à 33,33% suivie de la prothèse valvulaire à 24,24%, résultats qui concordent avec ceux obtenus par Kamdem F et al en 2004 qui trouvait une prédominance à 25,9% de fibrillation auriculaire suivie de la prothèse valvulaire à 23,7% [14]. La forte représentation des pathologies comme la fibrillation auriculaire et l'insuffisance cardiaque s'explique par le fait que ce sont les pathologies dont la prévalence augmente avec l'âge [15]. La forte représentation des prothèses cardiaques et ou valvulaires dans notre étude est due au fait que l'Hôpital Général de Douala abrite depuis environ 3 ans la mission de chirurgie cardiaque belge et les patients opérés dans ce cadre préfèrent se faire suivre par un cardiologue dudit hôpital. Le médicament majoritairement prescrit était l'acénocoumarol à 57,58%, la fluindione à 39,39% et la WARFARINE à 3,03%. En 2011 l'agence nationale de sécurité du médicament des produits de santé en France [1] avait des taux de 81,4% des patients sous fluindione, 9,5% sous warfarine et 9,1% sous acénocoumarol. Cette différence s'explique par le fait que l'acénocoumarol à demi-vie courte et à posologie d'équilibre plus facile est idéale pour la l'observance de nos patients.

Le risque de thrombose dans notre population d'étude était de 39,39% à la première détermination et de 25,80% à la deuxième détermination. La diminution du risque de thrombose au cours de notre période d'étude témoigne de l'efficacité des molécules AVK en cours d'utilisation. Nous constatons que nos résultats sont différents de ceux obtenus par l'AFSSAPS en 2000 et 2003 ou le risque de thrombose était évalué à 25% et 28% [10,11].

Cette diminution s'explique par une meilleure connaissance par le traitant des facteurs de risque de récurrences des maladies thromboemboliques chez un patient sous AVK, d'une standardisation des objectifs et des moyens thérapeutiques. Le risque d'hémorragie augmentait dans notre population au cours du temps allant de 27,27% à la première détermination à 41,93 % à la deuxième détermination. Cependant que ce soit à la première détermination ou à la deuxième détermination nos résultats sont différents de ceux obtenus par l'étude pôle de gériatrie en 2005 [16] et par l'AFSSAPS en 2003 ou 21% et 25,9% des sujets étaient à risque d'hémorragie respectivement. Cette différence peut s'expliquer d'une part par la présence des poly-pathologies dans la population étudiée entraînant la polymédication et d'autre part par l'âge avancée des sujets, l'augmentation du risque d'hémorragie s'expliquant par le fait de l'existence d'une altération des fonctions cognitives chez le sujet âgé.

L'INR dans la zone cible à la première détermination et à la deuxième détermination des sujets étaient respectivement de 33,33% et 32,25%. L'étude ISAM (L'International Study of Anticoagulation Management) [17] avait trouvés les taux de 59,3% pour la France, 58 % aux États-Unis, 63 % au Canada, 65 % en Espagne et 70 % en Italie. Nos résultats sont significativement différents et des leurs. Ceci s'explique par le fait que les pays occidentaux, contrairement aux nôtres organisent des programmes de formations et possèdent des structures (cliniques d'anticoagulants) vouées à la formation et l'éducation des patients sur les AVK. La stabilité de l'INR dépend en partie de l'observance des patients favorisée par une éducation thérapeutique de qualité et à la prise en charge coordonnée de l'ensemble des professionnels de santé (infirmiers, médecins, pharmaciens et biologistes).

Dans notre étude malgré l'absence de différence statistique entre l'utilisation des différentes molécules d'AVK, l'acénocoumarol avait tendance à augmenter rapidement les INR (3,36 à la première détermination contre 4,31 à la 2^{ème} détermination) par rapport à la fluindione (2,37 à la première détermination contre 3,02 à la deuxième détermination). Penning-van Best [18] a démontré que le risque d'hémorragie était multiplié par 1,9 avec l'acénocoumarol qu'avec la phenprocoumon. Malgré le fait que cette comparaison n'ai pas été faite avec la fluindione, l'utilisation de l'acénocoumarol serait meilleure que celle de la fluindione pour les indications dont la cible est comprise entre 3 et 4,5 probablement à cause de l'effet cumulatif qui en découle.

Dans nos travaux, la sensibilité du TCA par rapport au TCK était de 80% et sa spécificité de 61,54% lors de la première détermination. Au cours de la deuxième

détermination la sensibilité du TCA par rapport au TCK était de 80,85% et sa spécificité de 60,00%. La corrélation entre les résultats obtenus avec le CK prest (donne le TCK) et le PTT Automate (donne le TCA) est statistiquement significative à la première détermination $p=0,0001$ et à la deuxième détermination $p=0,023$. Cette faible sensibilité est liée à l'activateur qui est la silice retrouvée dans le PTT automate. La corrélation s'explique par le fait le PTT automate ayant comme activateur la silice est plus sensible à l'héparine et moins sensible au déficit en facteur, alors que le CK Prest ayant pour activateur le kaolin est plus sensible aux déficits en facteurs de la voie endogène [19]. Par ailleurs l'étude de Sibley et al [12] a montré que les réactifs contenant la silice comme activateur ne détectaient pas un déficit mineur en facteur IX, alors que l'étude de Hathaway et al en 1979 [20] avait démontré le contraire.

CONCLUSION

La prise en charge des maladies thromboemboliques par les AVK reste insatisfaisante du fait d'une insuffisance d'informations, et de formation des patients sur ce traitement. Les pathologies relevant d'un traitement anticoagulant, comme l'AC/FA ou les maladies thromboemboliques veineuses, atteignent une population relativement âgée avec une prévalence qui augmente avec l'âge. Une différence statistiquement significative $p=0,001$ à la première détermination et $p=0,023$ à la deuxième détermination a été notée entre les résultats obtenus du TCK et du TCA. Une sensibilisation totale du personnel médical et du patient pourrait réduire le risque des maladies thromboemboliques et prévenir les syndromes hémorragiques.

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Rapport Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. bon usage des médicaments antivitaminé K [En ligne]. France, juillet 2012 [cité le 25 février 2016].11p.
Disponible:http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/6d550a9311848623e57d311cc0ebacbe.pdf
2. Rapport Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. les anticoagulants en France 2014: états des lieux, synthèse et surveillance [En ligne].France 2014 [cité le 25février 2016].78p.Disponible:http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/26ed375830c56499badf0014eb3bb81b.pdf
3. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral Anticoagulant Therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Chest.2012 Feb 6; 141(2 suppl):44–88.

4. Holbrook A, Pereira J, Labiris R, McDonald H, Douketis J, Crowther M, et al. Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions. Archives of internal medicine. 2005;
5. Organisation Mondiale de la Santé. Comité OMS d'experts de la standardisation biologique. Série de rapports techniques, N°687. 1983.
6. Oake N, Jennings A, Forster AJ, Fergusson D, Doucette S, van Walraven C. Anticoagulation intensity and outcomes among patients prescribed oral anticoagulant therapy: a systematic review and meta-analysis. Canadian Medical Association Journal. 2008 Jul 29;179(3):23–44.
7. Whitlock RP, Sun JC, Fries SE, Rubens FD, Teoh KH. Antithrombotic and Thrombolytic Therapy for Valvular Disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th edition: Clinical Practice Guidelines. Chest. 2012 Feb 6;141(2 suppl):e576S–e600S.
8. Bennett S, rédacteurs. L'espérance de vie a progressé de 5 ans depuis 2000, mais les inégalités sanitaires persistent. [en ligne] Communiqué de presse 19 MAI 2016 Genève. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/health-inequalities-persist/fr/>
9. Ben Ameer Y, Chaabane O, Zairi I, Longo S, Battikh K, Slimane ML. Les accidents graves sous antivitamines K. Etude descriptive et pronostique. [en ligne] La Tunisie Médicale - 2009 ; Vol 87 (n°011) : 763-769
Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20209835>.
10. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Les médicaments antivitamine K (AVK). Modalités de prescription des anticoagulants et connaissance des patients de leur traitement. Étude de 2000. Saint-Denis: Afssaps ; 2004. Disponible : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/d1f339cf6a3296be7d1bea049c9dbd2c.pdf
11. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Les médicaments antivitamine K (AVK). Modalités de prescription des anticoagulants et connaissance des patients de leur traitement. Étude de 2003. Saint-Denis : Afssaps ; 2004.
Disponible: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/d1f339cf6a3296be7d1bea049c9dbd2c.pdf
12. Sibley C, Singer J W, Wood RJ: comparison of activated partial thromboplastin reagents. AMJ clin pathol 59:581-586.1973.

13. Serghini I, Younés A, Youssef Q, Rachid S, Nourredine T, Jaafar Salim A et al. Les accidents aux AVK: étude rétrospective à propos de 30 cas. The pan african medical journal. 2012; 11: 24.
Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3325062/>
14. Kamdem F, Adoubi A, Ekra A. Les maladies cardiovasculaires sous les tropiques : utilisation des anticoagulants en Afrique sub-saharienne : expérience de l'institut de cardiologie d'Abidjan. 5ème congrès de scientifique de la société camerounaise de cardiologie ; 2006 février 15-17, Yaoundé Cameroun.
15. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Schéma commun antivitamines K information destinée au professionnel de santé. Juillet 2008 ; 25p.
16. Vogel T, Coriol V, Kaltenbach G, et al. Prospective study of oral anticoagulation control in 110 patient's very elderly hospitalized patients and risk factors for poll control. La presse médicale December 2008; 37, N°12: 1723-30.
17. Mahe I, Bal Dit Sollier C, Guru G, et al. Utilisation et suivi biologique des AVK en pratique courante : résultats français de l'étude internationale ISAM chez des patients ayant une fibrillation auriculaire. La Presse Médicale 2006 ; 35 : 1797-803.
18. Penning-Van B., Van Meegen E., Rosendaal F.R, Striker B.H.C. Characteristic of anticoagulant therapy and comorbidity related to overcoagulation. Thrombhaemost, 2001; 86: 569-74.
19. Meyer MS, Carol E, Conard J, Horellou MH, Elalamy I, Cadiou M et al. Cahier de formation biologie médicale: hémostase et thrombose. 20^e édition. [en ligne]. Paris : BIOFORMA ; septembre 2000. 201p. [consulté le 28 mars 2016]. Disponible sur: <http://perso.wanadoo.fr/bioforma>.
20. Hathaway, William E, Assumus, Sherry L, Montgomery, Robert R et al: the activated partial thromboplastin time and minor coagulopathies. ANJ clin path. 71, 22-25, 1979.

Malaria infection among HIV seropositive Cameroonians under HAART and its impact on their viral, immunohematological profile

Kamgain Mawabo Lugarde^{1,2,3*}, Assam Assam Jean-Paul^{2,3,4}, Kojom Foko Loick Pradel³, Elanga Njille Emmanuel^{2,6}, Calixte Yadufashije³, Ewodo Symphorien^{2,3,5}, Kamga Fouamno Henri Lucien^{2,3,7}

1: District hospital of Deido, Douala, Cameroon

2: Institut International d'Afrique Centrale (IIAC), Moudou, Chad

3: Distant Production House University (DPHU)-Ecole doctorale, RD Congo

4: Faculty of Sciences, University of Douala, Douala, Cameroon

5: Douala General Hospital, Douala, Cameroon

6: Centre Pasteur du Cameroun, Yaoundé, Cameroon

7: Faculty of Health Sciences, University of Bamenda, Bamenda, Cameroon

*: Corresponding author, Kamgain Lugarde, (+237) 699 91 34 05; E-mail: lugyk@yahoo.fr

Abstract

Introduction: Co-infections with malaria and HIV infection are common in Sub-Saharan countries. This study aimed at determining the effect of malaria infection on viral, immunohematological profile of people living with HIV (PLWHIV) and under antiretroviral treatment.

Material and Methods: A cross sectional and prospective study took place at the District hospital of Deido (Douala, Cameroon). 8 mL of venous blood were obtained from each patient by venipuncture and transferred into sterile EDTA tubes for performing biological analyses namely complete blood count, thick blood smear, HIV-based serology and CD4 cells count. In addition, sociodemographic data of the participants were documented.

Results: A total of 723 patients were included in the study. The mean age was 39.49 ± 11.17 years old (range: 4 and 74). Patients aged 20-49 years old accounted for 79.7% of the participants. The mean count of CD4 lymphocytes was 427 ± 257 (range: 6 - 1369 cells/ μ L). The malaria prevalence was 16.7% (121/723; 95%CI: 14.2%-19.6%). Hemoglobin and haematocrit were significantly lower in malaria infected individuals (p-value < 0.0001). Viral loads were significantly higher in infected males compared to their uninfected counterparts (65195.20 ± 978.04 versus 540 ± 91.24 copies/ μ L; P-value < 0.0001). The risk of anemia was twofold and about threefold higher in males (OR = 2.28; 95%CI = 1.58 – 3.29; P-value < 0.0001) and malaria parasites infected individuals (OR = 2.85; 95%CI = 1.28 – 4.78; P-value < 0.0001) respectively.

Conclusion: This study outlines the need for taking into account treatment of malaria episodes in PLWHIV during their management.

Keywords: Malaria, HIV, co-infection, impact, viral loads, immuno-hematological profile, Cameroon

Introduction

Malaria and human immunodeficiency virus infection (HIV) are both major public health concerns to date and are responsible for many millions of deaths every year. According to the world health organization, malaria-related mortality has decreased by half between 2000 and 2013 because of advances in prevention and management of population. In 2014, an estimated 212 million and 429,000 of cases and deaths were due to malaria. Sub-Saharan Africa concentrates 80% and 90% of all cases of morbidity and mortality respectively. Children, pregnant women are the most at risk groups of morbidity and mortality ([1], WHO, 2016). As regards HIV infection, 40 millions of individuals are newly diagnosed positive of which 3 millions die from this disease. In 2014, it was estimated 25.8 million people living with HIV in Sub-Saharan countries (SSA) [2], accounting for approximately 70 % of the global total. Cameroon has one of the highest prevalence of HIV infection in West and Central Africa. Indeed, there were about 600,000 people living with HIV in 2013 [3].

These diseases are considered to be cause and consequence of poverty in resources-constrained countries where there is a high probability to observe co-infections with malaria and HIV. Many authors pointed out a mutual interaction between the protozoan and the virus. Indeed, HIV infection may increase the risk of malaria episodes either by improving the susceptibility of host to the parasite or reducing the effectiveness of antimalarial drugs ([4], Gonzalez *et al.*, 2012). To be noted, the deleterious effects of HIV infection depend mainly on the level of antimalarial immunity prior to the HIV infection and nature of the host (child, pregnant woman and non pregnant adult) ([4, 5], Renia et Potter, 2006; Gonzalez *et al.*, 2012). Conversely, the effects of malaria infection on HIV patients are much more elusive in a mechanistic approach. However, studies outlined increased viral loads in patients suffering from acute malaria episode. This increasing in viral load has been found correlated with parasite density ([5, 6, 7] Urban *et al.*, 2005; Renia et Potter, 2006; Alemu *et al.*, 2013).

The prevalence of co-infection with malaria and HIV had earlier been reported in Douala ([8, Nkuo Akenji *et al.*, 2011) and others areas of Cameroon [9, 10, Bate *et al.*, 2016; Njunda *et al.*, 2016]. Globally, anemia was the main side effects encountered in co-infected individuals. Others authors reported none effects of malaria infection on hematological parameters ([11], Tchinda *et al.*, 2012). Thus, the nature of the relationship between malaria and HIV infection seems complex enough. There is a paucity of studies focused on the co-infection with these pathogens in Cameroon especially in the town of Douala. Thus, this study was designed to determine the prevalence and risk factors of malaria infection and its impact on immuno- hematological and viral profile in people living with HIV (PLWHIV) on antiretroviral therapy.

Material and methods

Study sites

This study took place in the town of Douala (Littoral Region, Cameroon). Douala is located 3°48'N, 10°08'E, near the Atlantic coast, within the Congo-Guinean phytogeographical zone characterized by a typical equatorial climate with two rainy seasons extending from March to June and from September to November ([12] Antonio-Nkondjio *et al.*, 2012). The city is 1 m above sea level and receives over 3,500 mm rainfall annually. Douala is a port city where many worse behaviors (liquors consumption, prostitution) significantly increase the risk of sexually-transmitted diseases (STDs) such as Human

immunodeficiency virus infection. Douala is the main business town of the country and is ranked sixth (5.5%) in terms of HIV prevalence rate ([13] EDS-MICS, 2012).

Participants were recruited at the district hospital of Deido which greets people coming from all parts of Cameroon owing to its strategic location and sustainable and constant supply with CD4 cells reagents and antiretroviral drugs for management of people living with HIV (PLWHIV).

Study population

The study population was made up of individuals aged between 5 and 49 years old of both sexes living with HIV and under HAART regimen. They were attending the District hospital of Deido where they were recruited in a convenient way by the investigators of the study. In total, 723 patients were included in the study. Any patient who did not meet any of these aforementioned criteria was not included in the study.

Study design

This cross-sectional and prospective study took place between August 2015 and March 2016. Participants included were attending the district hospital of Deido for routine control. Prior to their inclusion, they were given information, education and communication on malaria and HIV infection. Thereafter, an informed consent form was signed by each participant following explanation of objectives of the study to them. Approval of parents or guardians of children was also sought. A structured questionnaire was used to collect socio-demographic, clinic and biological data. Blood samples were collected and transported to the Laboratory of the district hospital of Deido for parasitological analyses. Investigative methods included a questionnaire approach, clinical and parasitological analyses.

Questionnaire

Patients or their parents/guardians were interviewed for 10-15 minutes upon obtaining informed consent forms. A structured questionnaire was used to document patients' information about sociodemographic, clinic and biological data.

Blood collection

A total of eight milliliters (8 mL) were collected from each participant by venipuncture into sterile plastic syringes. Afterwards, blood samples were transferred into dry (4 mL) and EDTA (4 mL) tubes for all laboratory analyses. All tubes were labeled with the

patients' barcode and pathology number. Blood contained in dry tubes was centrifuged at 3000 rpm for 3-5 minutes and sera obtained were tested for HIV presence meanwhile blood sample contained in EDTA tubes was used to perform malaria diagnosis, complete blood count and CD4 cells count.

Laboratory procedures

Confirmation of HIV infection

Prior to their inclusion in the study, the participants were tested for HIV infection for confirmation. HIV diagnosis was performed using Determine Alere HIV 1/2 rapid diagnosis test followed by ELISA-based Immunocomb HIV1/2 (Organics) accordance to the national guidelines (Figure 1). The former test is an immuno-chromatographic rapid test for qualitative detection of antibodies specific to HIV in human serum, plasma or whole blood.

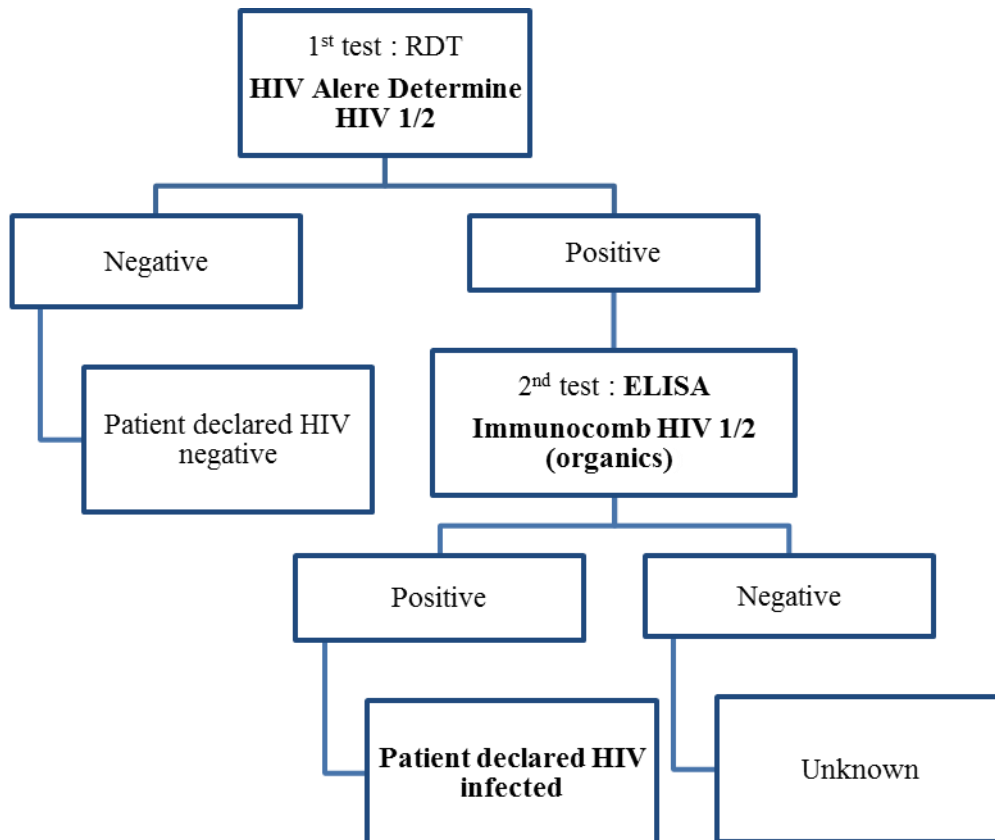


Figure 1: Algorithm used for HIV infection testing

Malaria diagnosis

Thick blood films were performed using the protocol previously used by Koanga and colleagues. Briefly, thick smears that were air-dried for 30 minutes, was stained with 10% Giemsa for 20 minutes. Thereafter, stained slides were allowed to air dry and stored not more than one day until microscopic examination. Microscopy was used for identification of malaria parasites by a senior microscopist. Thick blood films were considered positive when asexual forms (trophozoites and schizonts) and or gametocytes were present in the blood film. Slides were declared negative after observing at least 100 high power fields without detecting any parasites. In order to ensure quality assurance of parasitological data, thick smears-based results were classified as valid (positive or negative slides) and invalid (not read slides) as outlined in literature ([14] Koanga *et al.*, 2016).

Complete blood count

Blood samples contained in EDTA tubes were used to perform this activity. Complete blood count was performed using an automated hematological analyzer Hema Screen18 (Hospitex Diagnostics, Sesto Fiorentino, Florence, Italy). Parameters of interest were hemoglobin, haematocrit, white blood cells and platelets. Normative values or threshold of these blood parameters are presented as follows: Hemoglobin (Male: 12.5-16 mg/dL; Female: 12-16 mg/dL), Haematocrit (Male: 37.5- 48 %; Female: 37 – 45%), WBC ($4 - 10 \times 10^3/\mu\text{L}$) and Platelets ($150 - 400 \times 10^3/\mu\text{L}$).

CD4 cells count

CD4+ T lymphocytes were counted with a flow cytometer CyFlow® (Partec Görlitz, Germany) according to the manufacturer's instructions. Briefly, 20 μL of phycoerythrine-conjugated monoclonal antibody to human CD4 (mAb PE MEM241, Partec GmbH, Görlitz, Germany) were slightly mixed with 20 μL of whole blood into a test tube and incubated for 15 minutes at room temperature, protected from light. Then, 800 μL of no-lyse buffer were added to the mixture. After homogenizing the content, the tube was introduced into the CyFlow Counter for automatic counting [15]. The CD4 results were grouped into as followed: < 200; 200-350; 350-500 and > 500 cells/ μL .

Viral load

Abbott RealTime HIV-1 system was used to determine viral load in this study. It is an in vitro quantification system relying on RT-PCR for quantification of HIV-1 in plasma sample of infected individuals. This system is used in association with clinical figure and others laboratory markers as proxy for prognosis of the disease and the effectiveness of antiretroviral regimen. It allows determining viral loads between 40 and 10, 000,000 copies/mL. Briefly, 4 mL of venous blood was centrifuged at 3000 rpm for 3 to 5 minutes and obtained plasma was used to extract viral RNA. The automated Abbott m2000sp system was used for extraction, preparation and amplification of viral RNA. Results were expressed as number of copies of RNA per milliliters (copies/mL). Quality control and assurance measures were respected.

Ethical statements

An ethical clearance was obtained from the institutional review board (IRB) of Douala under N° CEI-UD/273/10/2015/T. In addition, administrative clearance was also obtained from the officials of the District hospital of Deido. Only individuals who signed an informed consent form for their participation were enrolled. Participation in the study was strictly voluntary and patients were free to decline answering any question or totally withdraw if they so wished at any time. Patients diagnosed with malaria were treated with Artesunate-Amodiaquine as first line treatment regimen used in Cameroon.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with Graphpad version 5.01. Data were summarized in table as percentages or mean \pm standard deviation (SD) for qualitative and quantitative variables respectively. Student's test was used to compare differences for normally-distributed variables between two groups. Chi-square test (χ^2) or Fisher's exact probability were used to compare categorical variables. Significance was set at *p-value* < 0.05.

Results

Baseline characteristics of participants

Most of the patients were females (74.3%; *p-value* < 0.0001). The mean age was 39.49 \pm 11.17 years old (range: 4 and 74). Patients aged 20-49 years old accounted for 79.7% of the participants, followed by more than 49 years (18.5%) and less than 19 years old (1.8%). All patients studied had a CD4 cells count ranging between 6 and 1369 cells/ μ L, with a mean CD4 count of 427 \pm 257 cells/ μ L. 122 (16.9%) patients had CD4 below 200 cells/ μ L, 192

(26.6%) between 200 and 350 cells/ μ L, 171 (23.7%) between 200 and 350 cells/ μ L and 238 (32.9%) had CD4 > 500 cells/ μ L (P-value < 0.0001).

Prevalence of malaria

The malaria prevalence was 16.7% (121/723; 95%CI: 14.2%-19.6%). Malaria prevalence was higher in females (12.9%) compared to their male counterparts (11.5%) as depicted in Table 1. On average, malaria prevalence was increasing with age of participants. Malaria prevalence was 0%, 12.7% and 13.4% in below 19 years old, 19-49 years old and above 49 years old respectively. Furthermore, none statistically significant differences were found (Table 1).

Table 1: Malaria prevalence with respect to gender, age and CD4 cells counts

Variables	Total	Positive§ (%)	P-value
Gender			
Female	541	70 (12.9)	0.6220
Male	182	21 (11.5)	
Age (years)			
≤ 19	13	0 (0)	0.3750
[20 - 50[576	73 (12.7)	
≥ 50	134	18 (13.4)	
CD4 count (cells/μL)			
< 200	122	29 (23.8)	0.0991
200 - 350	192	32 (20.0)	
350 - 500	171	22 (12.9)	
> 500	238	38 (15.9)	

Data are presented as frequency (percentage). Independent chi square was used to compare proportions. P-value < 0.05 was considered as significant. §: malaria prevalence was calculated based on the gold standard (Giemsa-stained blood films).

Association between CD4 count and malaria infection

Globally, a negative association between CD4 cells count and malaria prevalence (Figure 2). Nevertheless, no statistically significant difference was found (P-value = 0.0991). Furthermore, the mean CD4 count was slightly higher in malaria uninfected patients compared to their infected counterparts (432.6 ± 249.2 cells/ μ L versus 400.7 ± 262.7 cells/ μ L respectively, Student's test p-value = 0.2042).

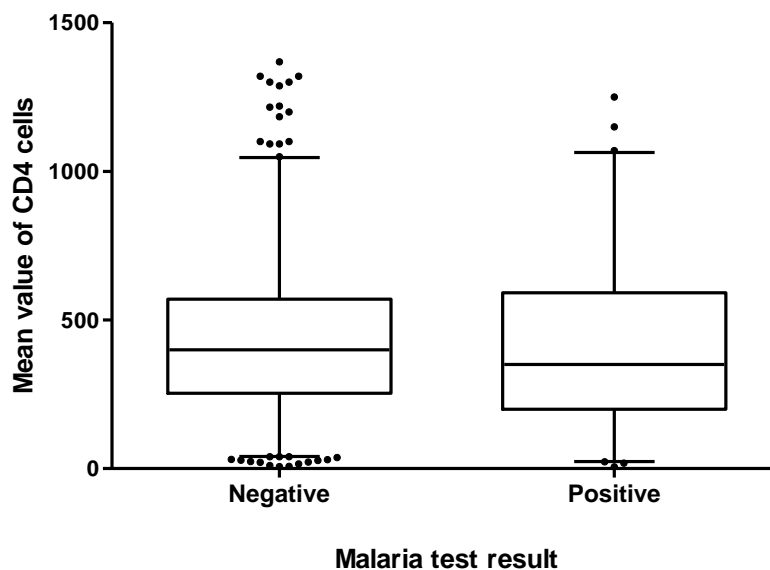


Figure 2: Association between malaria infection and CD4 cells count. Outliers are represented as dots.

Impact of malaria infection on hematological profile of the participants

Hemoglobin and haematocrit were significantly lower in malaria infected people on average. Indeed as presented in Table 2, hemoglobin was of 12.17 ± 1.82 mg/dL and 11.05 ± 2.31 mg/dL in malaria-related negative and positive respectively patients (p -value < 0.0001). Furthermore, the fraction of participants having low levels of hemoglobin (anemia) was higher in malaria infected participants compared to their malaria parasites uninfected counterparts (64.46% versus 44.19%, p -value < 0.0001). This pattern was also observed for haematocrit (82.64% versus 73.42%, p -value < 0.0001) (Table 3). None statistically significant difference was found regarding mean value and fraction of the participants for the others parameters investigated in this study (Tables 2 and 3).

Effect of malaria infection on hematological parameters with respect to gender

As presented in Table 4, mean value of hemoglobin and haematocrit were significantly higher in males irrespective of malaria infection (13.16 ± 1.90 mg/dL versus 11.84 ± 1.67 mg/dL and 12.49 ± 2.50 mg/dL versus 10.60 ± 2.06 mg/dL for hemoglobin in malaria uninfected and infected patients respectively). Besides, statistically significant difference was found for these both blood parameters in females only. Indeed, hemoglobin and haematocrit were lower in malaria infected females compared to their uninfected counterparts (Table 4).

Effect of malaria infection on hematological parameters with respect to age

Mean values of haematocrit were significantly increasing with respect to age group irrespective of malaria infection as presented in Table 5. The same pattern was observed for hemoglobin in malaria uninfected patients only. Furthermore, haematocrit was significantly lower in patients aged 20-49 years old and malaria infected than their counterparts of same age group but uninfected with malaria parasite (Table 5).

Viral load and malaria prevalence with respect to gender and age

Viral loads were significantly higher in infected males compared to their uninfected counterparts (65195.20 ± 978.04 versus 540 ± 91.24 copies/ μL ; P-value < 0.0001) as summarized in Table 6. In addition, viral loads were significantly higher in males compared to females in infected patients group only (P-value = 0.02026). The trend was inverted in uninfected patients (P-value = 0.00166). As regards age group, viral loads were significantly higher (P-value < 0.0001) in malaria infected patients aged over 49 years old (Table 6). Conversely, these were higher in uninfected patients aged 20-49 years old (P-value < 0.0001).

Factors associated with anemia in PLWHIV

Univariate and multivariate regression models were used to perform this association analysis as presented in the Table 7. Hemoglobin was used for the diagnosis of anemia in this study. All factors tested were found associated with the risk of anemia in persons living with HIV. Indeed, the risk of anemia was significantly twofold and about threefold higher in males (OR = 2.28; 95%CI = 1.58 – 3.29; P-value < 0.0001) and malaria parasites infected people (OR = 2.85; 95%CI = 1.28 – 4.78; P-value < 0.0001) respectively. Besides, the risk of anemia was increasing with age and CD4 counts (Table 7).

Table 2: Mean values of hematological parameter with respect to malaria diagnosis

Hematological parameters	Negative	Positive	P-value
	(n = 602)	(n = 121)	
Hemoglobin (mg/dL)	12.17 ± 1.82	11.05 ± 2.31	< 0.0001*
Haematocrit (%)	34.81 ± 5.01	31.93 ± 6.12	< 0.0001*
White blood cells ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4.07 ± 1.46	4.18 ± 1.75	0.4455
Platelets ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	318.32 ± 85.88	304.82 ± 103.71	0.1286
CD4 (cells/ μL)	432.60 ± 249.23	400.75 ± 262.74	0.2042

Data are presented as mean \pm standard deviation; Unpaired Student's t test was used to compare groups;

*: significant

Table 3: Variation of blood parameters with respect to malaria diagnosis and threshold

Hematological parameters	Categories	Negative (n=602)	Positive (n=121)	P-value
Hemoglobin (mg/dL)	Low (n = 344)	266 (44.19%)	78 (64.46%)	< 0.0001*
	Normal (n = 379)	336 (55.81%)	43 (35.54%)	
Haematocrit (%)	Low (n = 542)	442 (73.42%)	100 (82.64%)	0.0380*
	Normal (n = 181)	160 (26.58%)	17 (17.36%)	
Platelets (x 10³/L)	Low (n = 16)	10 (1.91%)	6 (4.96%)	0.0795
	Normal (n = 652)	546 (90.69%)	106 (87.60%)	
	Elevated (n = 55)	46 (7.44%)	9 (7.44%)	
CD4 count (cells/μL)	<200	93 (15.45)	29 (23.96)	0.0991
	200-350	160 (26.58)	32 (26.45)	
	350-500	149 (24.75)	22 (18.18)	
	> 500	200 (33.22)	38 (31.41)	

Data are presented as frequency (percentage). Independent chi square was used to compare proportions.

*: significant.

Table 4: Effect of malaria infection on blood parameters with respect to gender

Parameters	Negative		Positive	
	Female	Male	Female	Male
Hemoglobin (mg/dL)	11.84 ± 1.67 ^{b‡}	13.16 ± 1.90 ^{a‡}	10.60 ± 2.06 ^{b#}	12.49 ± 2.50 ^{a‡}
Haematocrit (%)	33.74 ± 4.48 ^{b‡}	37.96 ± 5.15 ^{a‡}	30.69 ± 5.56 ^{b#}	35.86 ± 6.26 ^{a‡}
White blood cells (x 10 ³ /μL)	4.00 ± 1.47 ^{a‡}	4.26 ± 1.40 ^{a‡}	4.14 ± 1.81 ^{a‡}	4.31 ± 1.56 ^{a‡}
Platelets (x 10 ³ /μL)	317.90 ± 86.80 ^{a‡}	319.57 ± 83.40 ^{a‡}	303.73 ± 105.75 ^{a‡}	308.28 ± 98.65 ^{a‡}

Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Two types of pairwise comparisons were used. The former consisted in comparison of the parameters between male and females with regard to malaria diagnosis result (negative or positive). Thus, values of the same line having the same letter were not statistically significant. The latter consisted in comparison of the parameters between uninfected and infected patients with respect to gender (male or female). Thus, values of the same column having the same symbol were not statistically significant. ANOVA, Mann Whitney and Kruskal Wallis tests were used to perform pairwise comparisons. Significance was set at P-value < 0.05.

Table 5: Effect of malaria infection on blood parameters with respect to age group

Parameters	Negative			Positive		
	[0 - 19]	[20 - 49]	≥ 50	[0 - 19]	[20 - 49]	≥ 50
Hemoglobin (mg/dL)	10.65 ± 2.05 ^{a‡}	12.13 ± 1.77 ^{b‡}	12.50 ± 1.96 ^{b‡}	10.65 ± 2.48 ^{a‡}	10.87 ± 2.32 ^{a‡}	11.72 ± 2.22 ^{a‡}
Haematocrit (%)	32.68 ± 3.52 ^{a‡}	34.74 ± 5.10 ^{b‡}	35.36 ± 4.61 ^{b‡}	31.27 ± 7.86 ^{ab‡}	31.27 ± 6.50 ^{a#}	34.32 ± 6.10 ^{b‡}
White blood cells (x 10 ³ /μL)	5.31 ± 2.01 ^{a‡}	4.01 ± 1.43 ^{b‡}	4.19 ± 1.46 ^{b‡}	4.00 ± 1.13 ^{a‡}	4.15 ± 1.77 ^{a‡}	4.29 ± 1.76 ^{a‡}
Platelets (x 10 ³ /μL)	313.36 ± 69.45 ^{a‡}	319.20 ± 86.51 ^{b‡}	314.91 ± 85.13 ^{b‡}	364.00 ± 217.79 ^{a‡}	306.48 ± 13.85 ^{a‡}	294.31 ± 98.14 ^{a‡}

Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Two types of pairwise comparisons were used. The former consisted in comparison of the parameters between the three age groups with regard to malaria diagnosis result (negative or positive). Thus, values of the same line having the same letter were not statistically significant. The latter consisted in comparison of the parameters between uninfected and infected patients with respect to the same age group. Thus, values of the same column having the same symbol were not statistically significant. ANOVA, Mann Whitney and Kruskal Wallis tests were used to perform pairwise comparisons. Significance was set at P-value < 0.05.

Table 6: Effect of malaria infection on viral load with respect to gender and age

Variables	Categories	Malaria diagnosis		P-value
		Negative	Positive	
Gender	Female	130403.16 ± 470.98	12217.79 ± 661.14	0.0751
	Male	540 ± 91.24	65195.20 ± 978.04	< 0.0001
	<i>P-value</i>	0.00166	0.02026	
Age (Years)	[0 - 19]	/	20924 ± 144.19	Not available
	[20 - 49]	146053 ± 3613.19	13725.45 ± 43.04	< 0.0001
	> 49	44 ± 0.00	46445.87 ± 263.60	< 0.0001
	<i>P-value</i>	0.4921	0.7111	

Data are presented as mean ± standard deviation (SD). ANOVA, Mann Whitney and Kruskal Wallis tests were used to perform pairwise comparisons. Significance was set at P-value < 0.05.

Table 7: Factors associated with anemia in PLWHIV

Factors	Categories	Raw OR (95%CI)	P-value	Adjusted OR (95%CI)	P-value
Gender	Female	1		1	
	Male	2.34 (1.65 - 3.31)	< 0.0001	2.28 (1.58 - 3.29)	< 0.0001
Age (years)	≤ 19	1		1	
	[20 - 50[3.80 (1.04 - 13.97)	0.0441	4.07 (1.04 - 16.35)	0.0478
	≥ 50	3.54 (0.93 - 13.43)	0.0633	4.08 (0.98 - 16.98)	0.0529
CD4 count (cells/μL)	< 200	1		1	
	200 - 350	2.94 (1.79 - 4.82)	< 0.0001	2.84 (1.71 - 4.74)	< 0.0001
	350 - 500	4.13 (2.49 - 6.88)	< 0.0001	3.77 (2.24 - 6.35)	< 0.0001
	> 500	5.19 (3.19 - 8.43)	< 0.0001	5.05 (3.06 - 8.34)	< 0.0001
Malaria infection [#]	Uninfected	1		1	
	Infected	2.43 (1.29 - 4.65)	< 0.0001	2.85 (1.28 - 4.78)	< 0.0001

Univariate and multivariate regression models were used to perform this association analysis. PLWVIH = Person living with human immunodeficiency virus; OR = Odds ratio, 95%CI = Confidence interval with 95%, P-value < 0.05 are considered statistically significant. Hemoglobin was used for the diagnosis of anemia.

Discussion

Distribution of malaria and HIV infection overlap in Africa and therefore co-infection are common. This study was designed to determine the prevalence of *P. falciparum* malaria and its impact on hematological and viral profiles in people living with HIV (PLWHIV) on HAART and living in Douala.

Most of participants were females (74.83%; p < 0.0001). This result is in line with previous reports that outlined a “feminization” of HIV infection especially in Cameroon. Indeed, this finding previously reported in Cameroon by a nationwide health study (EDS-

MICS, 2012) and some authors such as Mbanya *et al.* (2008) and Mbopi-Kéou *et al.* (2012) in the country ([16-17]).

The malaria prevalence was 16.7% in the participants. This value is lower than that found by many reports ([18-20] Amuta *et al.*, 2012; Iroezindu *et al.*, 2012; Omoti *et al.*, 2013). These authors found 31.76%, 24.0% and 74.3% respectively. Conversely, our value is higher than the 11.75% found by Tay and colleagues (2015) in Ghana [21]. Differences in sample size, study design, study period, study area along with genetic background and behavioral patterns of individuals can explained the discrepancies observed. These factors are well known modulate the malaria epidemiology in general population along with HIV-infected population ([22-24] Mitangala *et al.*, 2008 ; Rogier *et al.*, 2009 ; Gupta *et al.*, 2014).

Hemoglobin and haematocrit were significantly lower in malaria infected people on average (p-value < 0.0001). Furthermore, the fraction of participants having low levels of hemoglobin was higher in malaria infected participants compared to their malaria parasites uninfected counterparts (64.46% versus 44.19%, p-value < 0.0001). This pattern was also observed for haematocrit (82.64% versus 73.42%, p-value < 0.0001). These findings outline that the both pathogens can induce anemia each. Physiopathological mechanisms associated with anemia elicited by the virus consist of i) induction of gastric disorders which are consequently responsible for malabsorption of nutrients as Vitamin B12 and iron that essential for hemoglobin production, ii) infiltration of the virus in bone marrow responsible for production of all cells of the body especially blood cells; and iii) HAART treatment especially Tenofovir is known induce deleterious effects such as anemia in the body ([25] Naing *et al.*, 2016). The anemia-induced physiopathology of malaria parasites mainly involves the destruction of red blood cells following the liberation of newly produced merozoites from these blood cells. These need hemoglobin for their nutrition and thus the lifecycle is maintained ([26] White *et al.*, 2014). These results also mean that deleterious effects on hemoglobin and red blood cells are more important in co-infected individuals.

Besides, mean values of hemoglobin and haematocrit were significantly higher in males than females irrespective of malaria infection. This could be explained by the fact females periodically face blood lost at the time of their period. In addition, statistically significant difference was found for these both blood parameters in females only. Indeed, hemoglobin and haematocrit were lower in malaria infected females compared to their uninfected counterparts. None difference was found to be statistically significant. These results strengthen our assumption about a greater susceptibility to malaria infection in females.

Mean values of haematocrit were significantly increasing with respect to age group irrespective of malaria infection. The same pattern was observed for hemoglobin in malaria uninfected patients only. Furthermore, haematocrit was significantly lower in patients aged

20-49 years old and malaria infected than their counterparts of same age group but uninfected with malaria parasite. These results outline the confounding effect of age on relationship between malaria infection and blood parameters especially hemoglobin and haematocrit.

We have reported a higher proportion of thrombopenia in co-infected people (4.96% versus 1.91%) even though no significant difference was found (p -value = 0.0795). Platelets play an important role wound healing and therefore the risk of hemorrhages might be higher in HIV-infected people co-infected with malaria parasites. This assumption is worth investigating in depth in further studies.

Besides, the mean CD4 count was slightly higher in malaria uninfected patients compared to their infected counterparts (432.6 ± 249.2 cells/ μ L versus 400.7 ± 262.7 cells/ μ L respectively, Student's test p -value = 0.2042). The role of these cells as helpers for immune response acting in its development, regulation and effectiveness outline the need for treating all cases of malaria in PLWHIV given the increased risk for opportunistic diseases as tuberculosis, toxoplasmosis and pneumonia in these patients.

The inclusion of malaria diagnosis in PLWHIV during their management seems to be selected for because we observed a few participants having detectable viral load. Most of them were malaria parasites infected (P -value < 0.0001). This finding is in line with many reports on the topic. Indeed, many studies outlined viral load was found increases in malaria infected individuals a few weeks after an effective antimalarial treatment. This increasing was found to be correlated with parasite density. Many mechanisms have been proposed to explain this relationship. In vitro studies assumed improved susceptibility to infection and viral replication due to malaria parasites. *Plasmodium falciparum* can increase expression of CCR5, a membrane co-receptor crucial to allow the penetration of the virus into its host cells. Besides, malaria parasites can elicit the production of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) which may boost the ability of infected cells to produce more viral particles. Furthermore, malaria pigment so called hemozoin is responsible for increasing in the production of TNF- α and therefore would be also involved in an enhanced production of viral particles ([4, 7] Gonzalez *et al.*, 2012; Alemu *et al.*, 2013). Urban and colleagues reported malaria infection was found associated with functional impairing of dendritic cells. These immune cells are important antigen presenting cells (APCs) which are cells a heterogeneous group of immune cells that mediate the cellular immune response by processing and presenting antigens for recognition by certain lymphocytes such as T cells. Thus, their alteration might negatively affected the immune response against HIV and create a favorable environment for its replication and survival ([6] Urban *et al.*, 2005). To be noted, studies reported contradictory results on relationship between viral load and malaria infection ([5] Renia et Potter, 2006). Thus, this relationship is may be more complex than expected and further studies are needed to enlighten the current state of the art about the topic.

To be noted, viral loads were significantly higher in malaria infected males compared to their female counterparts (P-value = 0.02026). Conversely, the pattern was inverted in malaria uninfected patients (P-value = 0.00166). these findings tend to mean that malaria infection increase the risk of viral replication in male and that once malaria parasites cleared from host, females become more at risk. We think that sample size and factors such as those related to behavior, genetic background and treatment regimen could be explain this finding. Further studies are needed to confirm or infirm this assumption.

Conclusion

Thus, this study was designed to determine the prevalence of *P. falciparum* malaria and its impact on immuno- hematological and viral profiles in people living with HIV (PLWHIV) on HAART and living in Douala. Malaria has further impaired hematological profile of the participants especially hemoglobin and haematocrit. This study outlines the need for taking into account treatment of malaria episodes in PLWHIV during their management.

Acknowledgments: The authors are grateful patients and parents who accepted to participate in the study. We are also grateful to the staff of the District hospital of Deido for the technical assistance.

Conflicts of interest: The authors declare having no competing interests.

References

1. World Health Organization (2016) WHO Global Malaria Programme: World Malaria Report. Geneva: World Health Organization: 186.
2. UNAIDS. Fact sheet 2015. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20150901_FactSheet_2015_en.pdf. Accessed 15 Feb 2015.
3. UNAIDS. Cameroon: Epidemiological fact sheet on HIV and AIDS. <http://www.unaids.org/sites/default/files/epidocuments/CMR.pdf>. Accessed 15 Feb 2015.
4. Gonzalez R, Ataide R, Nanicje D, Menéndez C, Mayor A. (2012). HIV and malaria interactions: where do we stand? *Expert Rev Anti Infect*. 10 (2): 153-165.
5. Renia L, Potter SM. (2006). Co-infection of malaria with HIV: an immunological perspective. *Parasite Immunol*. 28 (11): 589–595.
6. Urban BC, Ing R, Stevenson MM. (2005). Early interactions between blood-stage plasmodium parasites and the immune system. *Curr Top Microbiol Immunol*. 297 : 25-70.
7. Alemu Abebe, Shiferaw Yitayal, Addis Zelalem, Mathewos Biniam, Birhan Wubet. (2013). Effect of malaria on HIV/AIDS transmission and progression. *Parasites and Vectors*. 6:18.

8. Nkuo-Akenji T, Tevoufouet EM, Nzang F, Ngufor N, Fon E. (2008). High prevalence of HIV and malaria co-infection in urban Douala, Cameroon. *Afr J AIDS Res.* 7 (2): 229–235.
9. Bate A, Kimbi HK, Lum E, Lehman LG, Ndip LM, Njabi CM, Tonga C, Wempnje GB, Ndip RN, Onyoh EF, Bessong PO. (2016). Malaria infection and anaemia in HIV infected children in Mutengene, Southwest Cameroon: a cross sectional study. *BMC Infectious Diseases.* 16: 523.
10. Njunda AL, Njumkeng C, Nsagha SD, Nguedia Assob JC, Kwento TE. (2016). The prevalence of malaria in people living with HIV in Yaounde, Cameroon. *BMC Public Health,* 16: 964.
11. Tchinda GG, Atashili J, Eric A. Achidi, Kamga HL, Ndumbe PM. (2012). Impact of Malaria on Hematological Parameters in People Living with HIV/AIDS Attending the Laquintinie Hospital in Douala, Cameroon. *PLoS ONE.* 7(7): e40553.
12. Antonio-Nkondjio C, Defo-Talom B, Tagne-Fotso R, Tene-Fossog B, Ndo C, Lehman LG, Tchuinkam T, Kengne P, Awono-Ambene P. (2012). High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala, Cameroon. *BMC Infect Dis.* 12: 275-282.
13. EDS-MICS. 2012. Rapport Préliminaire sur la prévalence du VIH. *Enquête Démographique et de Santé et à Indicateurs Multiples 2011,* 13 pages.
14. Koanga MLM, Kojom FLP, Assokom EVO, Embolo EE, Ngono Ngane AR. (2016). High risk of transfusion-transmitted malaria (TTM) from student blood donors living in the town of Douala, Cameroon. *J Clinl Infect Dis Pract.* 1: 108.
15. Guidelines for CyFlow counter. Accessed 15 August 2015. Available: www.sysmex-partec.com
16. Mbanya D, Sama M, Tchounwou P. (2008). Current Status of HIV/AIDS in Cameroon: How Effective are Control Strategies? *Inter J Environ Res Pub Health.* 5 (5): 378-383.
17. Mbopi-kéou F-X, Dempouo Djomassi L, Monebenimp F. (2012). Aspects descriptifs du VIH / SIDA chez les sujets âgés de 50 ans et plus suivis au Centre de Traitement Agréé de Bafoussam – Cameroun. *The Pan Afr Med Jl.* 12 (107): 1-10.
18. Amuta, EU, Houmsou, RS, Diya AW. (2012). Malarial infection among HIV patients on antiretroviral therapy (ART) and not on ART: a case study of Federal Medical Centre Makurdi, Benue State, Nigeria. *Asian Pac J Trop Biomed.* S378-S381.
19. Iroezindu Michael O, Agaba Emmanuel I, Okeke Edith N, Daniyam Comfort A, Obaseki Daniel O, Isa Samson E, Idoko John A. (2012). Prevalence of Malaria Parasitaemia in Adult Hiv-infected Patients in Jos, North-central Nigeria. *Nigerian J Med.* 21 (2): 209-213.

20. Omoti Caroline E, Ojide Chiedozi K, Lofu Patrick V, Eze Emeka, Eze Joy C. (2013). Prevalence of parasitemia and associated immunodeficiency among HIV-malaria co-infected adult patients with highly active antiretroviral therapy. *Asian Pac J Trop Biomed.* 12: 126-130.
21. Tay Sammy CK, Badu Kingsley, Mensah Anthony A, Gbedema Stephen Y. The prevalence of malaria among HIV seropositive individuals and the impact of the co-infection on their hemoglobin levels. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* 2015, 14:10.
22. Mitangala NP, Hennart P, D’Alexandro U, Donnen P, Porignon D, Bisimwa BG, Dramaix WM. (2008). Malnutrition protéino-énergétique et morbidité liée au paludisme chez les enfants de 0-59 mois dans la région du Kivu, République Démocratique du Congo. *Med Trop.* 68 : 51-57.
23. Rogier C, Henry M-C, Trape J-F. Evaluation épidémiologique du paludisme en zone d'endémie. *Médecine Tropicale.* 2009, 69 : 123-142.
24. Gupta SC, Patel AG, Patel TG. Association of ABO groups in malaria infection of variable severity. *J Vector Borne Dis.* 2012, 49, 78–81.
25. Naing Cho, Kaur Sandhu Nisha, Nyunt Wai Victor. The Effect of Malaria and HIV Co-Infection on Anemia: A Meta-Analysis. *Medicine.* 2016, 95 (14): 1-10.
26. White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. (2014). Malaria. *Lancet.* 383 (9918), 723-735.