



Article Original

La Lactoferrine Salivaire dans l'Évaluation de l'État Bucco-Dentaire des Enfants Malnutris

Study of Salivary Lactoferrin to Assess Oral Health in Malnourished Children

Nibeye Yannick Carine Brice^{1,2,3,4}, Mbono Samba Esther^{1,3,5}, Ouambo Hervé⁶, Nchinda Godwin⁶, Bengondo Messanga Charles^{1,2,7}, Koki Ndombo Paul^{1,8}.

RÉSUMÉ

Introduction. La lactoferrine est une glycoprotéine multifonctionnelle présente dans le lait de la plupart des mammifères. Elle joue un rôle majeur dans la défense non immunologique de la cavité buccale. Une mauvaise alimentation serait responsable d'une invasion microbienne. L'étude vise à évaluer les conséquences causées par la malnutrition protéino-énergétique sur la lactoferrine salivaire chez l'enfant. **Matériel et méthodes.** Une étude transversale descriptive et analytique a été menée de Mai 2019 en Août 2020, chez 108 enfants du groupe sous-alimenté et 75 enfants du groupe témoin, âgé de 06 à 59 mois. L'indice poids-taille a été utilisé selon les normes de l'OMS pour identifier les enfants ayant une malnutrition aigüe-sévère (MAS). La méthode Elisa a permis de mettre en exergue les conséquences de la malnutrition protéino-énergétique (MPE) sur la santé orale. L'analyse des données a été faite à l'aide du logiciel R version 4.3.1 et du test de Fisher. Le seuil de significativité a été fixé à 0,05. **Résultats.** la tranche d'âge la plus touchée par la malnutrition est celle de 06-16 mois avec une prédominance féminine à 62(57,4%). Concernant la santé orale, 75,92% présentaient des abrasions dentaires et 27,77% des caries dentaires. Le taux en lactoferrine salivaire des enfants malades était supérieur avec 13,4 (7,0) µg/ml comparé à celle des enfants témoins 9,5 (7,6) µg/ml. **Conclusion.** Il existe une augmentation importante des pathologies buccales et du taux de sécrétion en lactoferrine salivaire chez les enfants malnutris.

ABSTRACT

Introduction. Lactoferrin is a multifunctional glycoprotein present in the milk of most mammals. It plays a major role in the non-immunological defense of the oral cavity. Poor nutrition is thought to be responsible for microbial invasion. The aim of this study was to assess the impact of protein-energy malnutrition on salivary lactoferrin in children. **Material and methods.** A descriptive and analytical cross-sectional study was conducted from May 2019 to August 2020, in 108 children in the undernourished group and 75 children in the control group, aged 06 to 59 months. The weight-for-height index was used according to WHO standards to identify children with acute-severe malnutrition (ASM). The Elisa method was used to highlight the consequences of protein-energy malnutrition (PEM) on oral health. Data analysis was performed using R software version 4.3.1 and Fisher's test. The significance level was set at 0.05. **Results.** The age group most affected by malnutrition was 06-16 months, with a female predominance of 62 (57.4%). Regarding oral health, 75.92% had dental abrasions and 27.77% dental caries. Salivary lactoferrin levels in sick children were higher, at 13.4 (7.0) µg/ml, than in control children, at 9.5 (7.6) µg/ml. **Conclusion.** There is a significant increase in the rate of salivary lactoferrin secretion and the presence of oral pathologies in malnourished children.

1 Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales (FMSB), Université Yaoundé 1 (UY1), Cameroun
 2 Département de Chirurgie Buccale, Maxillo-faciale et Parodontologie de la FMSB, UY1, Cameroun
 3 Centre de Recherche et de Formation Doctorale en Sciences de la Vie, Santé et Environnement, Université de Yaoundé 1, Cameroun.
 4 Hôpital de District d'Efoulan, Yaoundé, Cameroun
 5 Hôpital Central de Yaoundé, Yaoundé Cameroun
 6 Centre Internationale de Reference Chantal Biya, Yaoundé, Cameroun
 7 Centre Hospitalier Universitaire, Yaoundé, Cameroun
 8 Centre Mère et Enfant, Fondation Chantal Biya, Yaoundé, Cameroun

Auteur correspondant :

Nibeye Yannick Carine
 Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales (FMSB), Université Yaoundé 1 (UY1), Cameroun
 Tel : 00237 690 97 24 67
 Email : yannbricy@gmail.com

Mots-clés : Salive, Malnutrition, Enfants, Lactoferrine.

Keywords : Saliva, Malnutrition, Children, Lactoferrin.

POINTS SAILLANTS**Ce qui est connu du sujet**

Une mauvaise alimentation serait responsable d'une invasion microbienne et entraînerait des pathologies au sein de la cavité buccale.

La question abordée dans cette étude

Evaluer les conséquences causées par la malnutrition protéino-énergétique (MPE) sur la lactoferrine salivaire chez l'enfant.

Ce que cette étude apporte de nouveau

1. Le taux en lactoferrine salivaire des enfants malades était supérieure avec 13,4 (7,0) µg/ml comparé à celle des enfants témoins soit 9,5 (7,6) µg/ml.

Les implications pour la pratique, les politiques ou les recherches futures.

Faciliter le diagnostic des enfants malnutris.

INTRODUCTION

La malnutrition infantile est une pathologie systémique aux multiples conséquences et étiologies [1]. Elle constitue un véritable problème de santé publique qui touche près de 20 millions d'enfants de moins de cinq ans dans le monde entier [2]. Elle est le premier responsable d'un tiers des cas de décès survenant chez les enfants en bas âge dont le nombre atteint presque 8 millions chaque année selon l'UNICEF en 2019 [3].

Chez les enfants souffrant de malnutrition aigüe-sévère, certains systèmes immunitaires tels que la fonction des lymphocytes T, les IgA sécrétoires et le complément sont considérablement inhibés [4]. Une étude a montré que la malnutrition protéino-énergétique chronique au cours de la période de croissance et de développement de la cavité buccale provoque une perturbation permanente des glandes salivaires [5]. Certains de ces changements sont apparemment dus à un stress nutritionnel. Ainsi, toute rupture d'équilibre induit des modifications qui peuvent devenir pathologiques. La cavité buccale contient la salive dans laquelle baignent des protéines de défenses telles que la lactoferrine. Un élément clef du système de défense inné de l'hôte [6]. Cependant de nombreux agents pathogènes infectieux ont tendance à pénétrer dans l'organisme à ce niveau. Nous rapportons ici le rôle protecteur de la Lactoferrine (Lf) dans différentes pathologies buccales, telles que la pathologie carieuse. Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'influence de la malnutrition protéino-énergétique sur la lactoferrine salivaire chez les enfants.

PATIENS ET MÉTHODES**Population d'étude**

L'étude a été réalisée de Mai 2019 en Août 2020 sur un échantillon de 183 enfants recrutés à l'hôpital région annexe de Mokolo, de l'hôpital de district de Garoua-boulai et du Centre Mère et Enfant de la Fondation Chantal Biya (CME-FCB). Il s'agissait d'une étude transversale, descriptive et analytique menée au laboratoire de vaccinologie du Centre International de Référence Chantal Biya (CIRCB) pour évaluer la

concentration en lactoferrine salivaire chez les enfants malnutris et sains.

Échantillonnage

Les critères d'inclusion étaient principalement ceux des enfants âgés de 06-59mois ayant une taille inférieure à 120cm, pour un périmètre brachial (PB) < 180mm et un poids par rapport à la taille compris entre -2 et -3 z-score avec présence ou non des œdèmes bilatéraux. Et comme critère d'exclusion, c'est tout enfant dont le parent a retiré son consentement éclairé ou décédé pendant l'étude.

Après information et signature volontaire du consentement éclairé des parents, la collecte de la salive s'est faite suivant la méthode standard décrite dans la littérature et modifiée par la suite. Les participants se sont abstenus de manger et de boire de l'eau, une heure avant le prélèvement.

Procédure

Nous avons utilisé des seringues de 5ml pour prélever 2ml de salive dans la bouche de ses enfants. Et par la suite ce liquide a été déversé dans un tube à essai à capuchon rouge et déposer dans une glacière à +4°C et après pour être transporté au laboratoire. La salive a été ensuite centrifugée pendant 10min à 1000- 2000xg afin de séparer le culot du liquide surnageant et des particules gênantes. Le liquide surnageant a été retiré puis mis dans des eppendorf pour congélation à -20°C.

L'examen endo-buccal s'est fait à l'aide du matériel de consultation. Celui-ci étant constitué de 03 éléments un plateau de consultation, une sonde et un miroir. Par la suite un examen systématique intéressant toutes les régions de la cavité buccale a pu être effectué. L'évaluation des dents s'est faite à l'aide de l'indice CAO_d. En tenant compte que le C représente des dents cariées, le A les dents absentes et le O les dents obturés ou soignées.

Tous les échantillons et les réactifs ont été ramenés la même température ambiante (18-25°C) avant utilisation. Il y'a eu dilution du tampon de lavage concentré 25 à 1X Solution de travail, ensuite la dilution de l'étalon de référence à différentes concentrations. La dilution de la détection Ab/Ag 100X bionylée à 1X solution de travail a été effectuée pendant 15minutes plus tôt avant la fin de l'étape 2. Le lecteur de microplaques a été préchauffé au début de l'étape 6. Afin d'effectuer le dosage de la lactoferrine, 100µl de standard ou d'échantillon dans chaque puits a été réalisé. Par la suite l'incubation à 90 minutes à 37°C. Le retrait du liquide 100µl d'Ab/Ag de détection biotinylé a été effectué, puis incubé en 1h à 37°C. Il a été fait une aspiration et un lavage de 03fois. Ensuite l'ajout de 100µl de conjugué HRP. Et après incubation de 30minutes à 37°C, aspiration et lavage. Et par la suite un ajout de 90µl de réactif de substrat et puis incubation pendant 15minutes à 37°C. Et enfin Ajouter 50µl de solution d'arrêt, puis déterminer la valeur OD à 450nm immédiatement. Le calcul de la concentration de chaque longueur d'onde a été effectué au travers du logiciel graph pad prism 8.

Analyse statistique des données

La saisie des données a été faite à partir du logiciel Anthroplus et du logiciel Excel 2013 pour les paramètres anthropométriques et les autres données relatives. L'analyse des données a été faite à l'aide du logiciel R version 4.3.1 et du test de Fisher. Le seuil de significativité a été fixé à 0,05.

Considérations éthiques et administratives

Nous avons obtenu une clairance éthique du comité institutionnel d'éthique (CIER) de la FMSB et des autorisations de recherche auprès des hôpitaux du district annexe de Mokolo, du district de Garoua-boulai et du Centre Mère et Enfant de la Fondation Chantal (CME-FCB).

RÉSULTATS

Population d'étude selon l'âge

Les enfants âgés de 06-38 mois étaient les plus représentés dans le groupe d'enfants malnutris avec pour sex ratio 1,11.

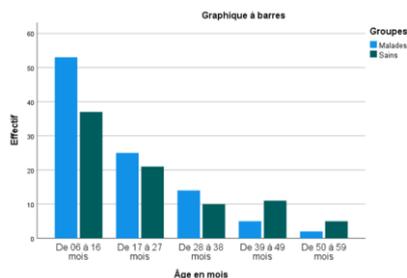


Figure 1 : Répartition de la tranche d'âge de la population d'enfants malnutris et sains

Population d'étude selon le sexe

Les enfants atteints de malnutrition aigüe-sévère étaient à 52 (28,4%), avec une prédominance féminine à 31 (59,6%) et un seuil de significativité de P=0,045 (tableau 1).

Population d'étude classifiée en fonction de l'état nutritionnel

Notre population d'étude présentait, 52 (28,4%) enfants atteints de malnutrition sévère, 26 (14,2%) de malnutrition

Tableau I : répartition du sexe en fonction du z-score

| z-score | | Sévère | Modéré | Leger | Normal | P |
|---------|----------|------------|------------|------------|------------|-------|
| N | | n=52 | n=26 | n=30 | n=75 | |
| Sexe | Féminin | 31 (59,6%) | 12 (46,2%) | 19 (63,3%) | 29 (38,7%) | 0,045 |
| | Masculin | 21 (40,4%) | 14 (53,8%) | 11 (36,7%) | 46 (61,3%) | |

Tableau II : répartition du taux en lactoferrine salivaire

| Degré de malnutrition | Sévère | Modéré | Leger | Normal | p-value |
|-----------------------|------------|------------|------------|-----------|---------|
| N= 96 | n=32 | n=14 | n=14 | n=36 | |
| Lactoferrine (µg/ml) | 13,4 (7,0) | 14,4 (7,2) | 11,0 (7,3) | 9,5 (7,6) | 0,076 |

modérée, 30 (16,4%) de malnutrition légère et 75 (41%) indemne de malnutrition.

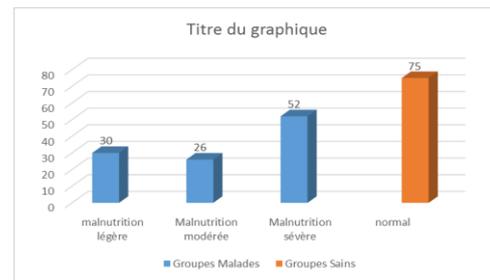


Figure 1: Répartition de l'état nutritionnel en fonction du z-score

Pathologies buccales de la population d'étude

Les pathologies carieuses les plus prédominantes chez les enfants malades étaient les hypoplasies de l'émail 63(87,5%) et les abrasions dentaires 51 (66,23%).

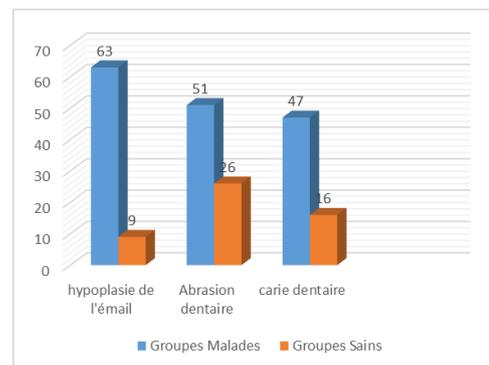


Figure 3 : Répartition des pathologies buccales chez les enfants

Concentration de la lactoferrine chez les enfants malnutris et sains

Le taux de lactoferrine chez les enfants dénutris sévère est de 13,4 (7,0) µg/ml contre 9,5 (7,6) µg/ml chez les enfants normaux (tableau 2).

DISCUSSION

Les résultats du test statistique ont montré une variation du taux de lactoferrine chez les enfants malnutris. La lactoferrine étant une protéine antimicrobienne très importante dans la défense innée non immunologique de la cavité buccale. Compte tenu des difficultés à recueillir la salive des enfants malnutris, ceci étant dû au fait de la présence de la sècheresse buccale. Nous estimons que nous devons poursuivre cet essai clinique sur une plus grande période avec un plus grand échantillon, pour améliorer la précision des résultats en considérant l'aspect sus-cité.

Notre population d'étude présentait une prévalence de 52 (28,4%) enfants atteints de malnutrition aigüe-sévère. Ceci s'explique par le fait que l'association entre malnutrition et insécurité alimentaire semble évidente puisque la quantité et la qualité de l'alimentation dépendent de la sécurité alimentaire. Nos résultats se rapprochent de celui de Rasoamananjara J. et al, qui avaient trouvé une prévalence de la malnutrition aigüe sévère à 78,9%, $p < 0,001$.

La tranche d'âge de notre échantillon la plus touchée était celle de 06-16 mois. Les tendances similaires sont observées au Sénégal et au Bénin où les enfants de cette tranche d'âge présentaient des prévalences de retard de croissance respectives de 49,3 % et 27 %. Une rencontre internationale, qui a eu lieu les 7 et 9 mars 2009 à Ouagadougou, estime qu'en Afrique, 30% des enfants de moins de cinq (5) ans ont une ration alimentaire insuffisante.

La différence statistique était significative pour les pathologies carieuses moyennes entre les groupes d'enfants de cette étude ($p = 0,007$). Nos résultats montrent une prédominance d'abrasion d'émail et de carie dentaire dans le groupe d'enfants malades avec 82 (75,92%) et 30 (27,77%) comparé à ceux des enfants sains qui présentaient 53 (39,75%) et 16 (12%). Ceci se justifie en particulier, par le fait que la flore microbienne buccale est modifiée ce qui favorise les infections buccales, en particulier celle des caries dentaires. Car les mesures d'hygiène bucco-dentaires de ces enfants sont à revoir. Bien que la carie de la petite enfance (CPE) soit une maladie infectieuse, le régime alimentaire joue un rôle déterminant dans l'acquisition et l'évolution de l'infection [7]. Les enfants atteints de CPE ont en effet une consommation fréquente et prolongée de sucres sous forme liquide. Or les sucres qui favorisent la carie (comme le sucrose, le glucose et le fructose), et que contiennent les jus de fruit et bon nombre de préparations pour nourrissons comme l'amidon, sont rapidement métabolisés par *S. mutans* et les lactobacilles en acides organiques qui déminéralisent l'émail et la dentine [7].

Reporté aux résultats de notre étude montrant un taux en lactoferrine très élevé dans le groupe d'enfants présentant une malnutrition protéino-énergétique à 13,4 (7,0) $\mu\text{g/ml}$ contre 9,5 (7,6) $\mu\text{g/ml}$ retrouvé dans le groupe d'enfants normaux, Il y avait une différence significative du taux moyen de lactoferrine salivaire entre les 02 groupes d'étude ($p=0,004$). Il est important de savoir que la lactoferrine remplit de nombreuses fonctions biologiques

importantes, notamment la promotion de la prolifération et de la différenciation cellulaires [6]. Elle est une protéine antibactérienne, antivirale et antiparasitaire. Elle a été identifiée dans les sécrétions des glandes exocrines ainsi que dans des granules spécifiques de neutrophiles [6]. La lactoferrine est une protéine séquestrant le fer, ce qui en prive les bactéries qui en ont besoin pour leur métabolisme [8]. De plus, elle se lie à des sites-cibles sur beaucoup d'espèces bactériennes. Il est intéressant de noter que la lactoferrine agit comme un antimicrobien sélectif en tuant les agents pathogènes et en stimulant la croissance de micro-organismes bénéfiques tels que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* [9]. Mais nos résultats ne sont pas similaires avec ceux retrouvés par Johansson et al. Ils avaient trouvé un taux en lactoferrine salivaire de 8,13 (6,79) $\mu\text{g/ml}$ chez les enfants normaux et 5,80 (4,19) $\mu\text{g/ml}$ chez des enfants souffrant de malnutrition aigüe-sévère avec $p = 0,005$. Cette différence s'explique parce que, ces enfants sécrètent des quantités plus faibles de glycoprotéine agglutinante *S mutans* de lactoferrine et d'anti-*S. mutans* IgA dans la salive entière non stimulée comparé à ceux des enfants témoins [2]. En effet, parmi les produits métaboliques synthétisés par les bactéries de la cavité buccale, le sulfure d'hydrogène présente un intérêt considérable [10]. Car en réagissant avec le fer disponible dans la salive, dans des conditions pathologiques, c'est à dire du trouble du métabolisme du fer, il forme des précipités noirs constitués de sulfure ferrique [10]. Ces précipités se lient à la surface des dents, tendant à former une strie qui suit généralement le contour de la gencive avec une intensité chromatique disgracieuse et variable [10].

CONCLUSION

La malnutrition protéino-énergétique a influencé la concentration en lactoferrine salivaire des enfants. Et entraînant le déséquilibre du microbiote oral. Par la même occasion, une augmentation des caries dentaires a été remarquée chez les sujets présentant une malnutrition.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Koki Ndombo Paul et Nibeye Yannick Carine ont conçu l'idée et dirigé le travail.

Nibeye Yannick Carine et Eba Eddy. ont procédé au recrutement des participants, à l'examen physique et à la collecte des échantillons de salive.

Nibeye Yannick Carine., Mbono Samba. et Ouambo Hervé., ont effectué le dosage des indices salivaires.

Nibeye Yannick Carine et Ouambo Hervé, Nchinda Godwin, Bengondo Messanga Charles, Koki Ndombo Paul., ont contribué à l'analyse des données et à la rédaction du manuscrit.

Tous les auteurs ont revu le manuscrit.

DECLARATION DE CONFLITS D'INTERET

Déclaration de conflit d'intérêts des auteurs : les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts potentiel en ce qui concerne la rédaction et/ou la publication de cet article.

RÉFÉRENCES

1. O. Sangho, A. Doumbia, M. N. Samaké, F. B. Traoré, M. Traoré, and A. A. Iknane, "Prévalence de la

malnutrition aigüe chez les enfants de 6-59 mois dans le district sanitaire de Barouéli,” *Mali Santé Publique*, vol. 3, no. 01, pp. 76–79, 2013, [Online]. Available: <http://revues.ml.refer.org/index.php/msp/article/view/1912>.

2. I. Johansson, M. Lenander-Lumikari, and A. K. Saellström, “Saliva Composition in Indian Children with Chronic Protein-Energy Malnutrition,” *J. Dent. Res.*, vol. 73, no. 1, pp. 11–19, 1994.

3. Educi ; Barry I I Koolo, D. Ml, and B. Mamadou Ciré, “Déterminants de la létalité hospitalière liée à la malnutrition aigüe sévère avec complications à l’Institut de Nutrition et de Santé de l’Enfant (INSE) à Conakry. In-hospital death determinants related to severe acute malnutrition with complications at t,” *Rev int sc méd-RISM*, vol. 19, pp. 278–285, 2017.

4. S. Monroe and R. Polk, “Antimicrobial use and bacterial resistance,” *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 3, no. 5, pp. 496–501, 2000,

5. I. Farooq and A. Bugshan, “The role of salivary contents and modern technologies in the remineralization

of dental enamel: a narrative review [version 3; peer review: 3 approved],” *F1000Research*, vol. 9, pp. 1–14, 2021,

6. A. M. Lynge Pedersen and D. Belstrøm, “The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota,” *J. Dent.*, vol. 80, pp. S3–S12, Jan. 2019,

7. Robert J. Berkowitz, “Causes, traitement et prévention de la carie de la petite enfance en perspective microbiologique,” *J. l.*, vol. 69, no. 5, 2003,

8. Y. Zhang, C. Lu, and J. Zhang, “Lactoferrin and its detection methods: A review,” *Nutrients*, vol. 13, no. 8, Aug. 2021,

9. S. A. González-Chávez, S. Arévalo-Gallegos, and Q. Rascón-Cruz, “Lactoferrin: structure, function and applications,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 33, no. 4, pp. 301.e1-301.e8, 2009,

10. L. Rosa et al., “Lactoferrin and oral pathologies: A therapeutic treatment,” *Biochem. Cell Biol.*, vol. 99, no. 1, pp. 81–90, 2021.