

DISS. ETH N° 22058

Anaemia and iron deficiency in sub-Saharan Africa: Aetiologies and treatment strategies

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Dominik Glinz

MSc. in Infection Biology and Epidemiology

of the University of Basel

born 12.1.1983

citizen of Muttenz BL, Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Michael B. Zimmermann, examiner

Prof. Dr. Richard. F. Hurrell, co-examiner

Prof. Dr. Marcel Tanner, co-examiner

Dr. Rita Wegmüller, co-examiner

2014

Summary

Background

Anaemia affects about 1.6 billion people worldwide. There are several causes of anaemia; in sub-Saharan Africa the most important causes are iron deficiency (ID), malaria, *Schistosoma* and hookworm infections. Young children, women of childbearing age and pregnant women are at highest risk of anaemia. The main adverse health consequences of severe anaemia are, increased maternal and infant mortality, as well as decreased productivity and work performance. Iron deficiency anaemia the risk increases risk of in poor pregnancy outcome, impairs cognitive development in children and weakens the immune system. Body iron is solely regulated by intestinal iron absorption, because iron cannot be actively excreted. Hcpidin, a peptide hormone mainly produced by the liver, is the key regulator of iron homeostasis, including iron absorption. When serum hepcidin is increased by iron sufficiency or inflammation as a result of infections, it reduces both dietary iron absorption and systemic iron recycling.

Objectives

The aim of the present thesis was to better understand how iron absorption and iron utilization for erythropoiesis are influenced by several common tropical infections. In addition, potential strategies to combat anaemia in young children living in areas of perennial malaria transmission were investigated. The specific objectives were:

- In Ivorian adolescents, to quantify the effect of *P. falciparum*, hookworm or *Schistosoma haematobium* infection on iron absorption and iron utilization.
- In anaemic Malawian toddlers recovering from uncomplicated *P. falciparum* malaria, to quantify iron absorption from iron supplementation started immediately after treatment of malaria or started after a delay of two weeks.
- In a nine-month intervention study in young Ivorian children, to investigate the impact of an iron fortified complementary food and intermittent preventive treatment (IPT) for malaria, on haemoglobin concentration, anaemia and iron status.

Experiments

Intestinal iron absorption and iron utilization for erythropoiesis was quantified in Ivorian school-age children using a stable iron isotope method. Children aged 11 – 17 years with afebrile *P. falciparum* (n = 17), hookworm (n = 16), or *S. haematobium* infection (n = 8) consumed a syrup containing 3 mg ⁵⁷Fe as ferrous sulphate and received an intravenous infusion of 50 µg ⁵⁸Fe as ferrous

citrate. Children were treated for their respective infections and four weeks later, iron absorption and utilization were again measured as before with the administration of iron isotopes. Geometric mean iron absorption in the afebrile malaria, hookworm, and *S. haematobium* groups were 12.9%, 32.2%, and 20.2% ($P < 0.001$) before treatment and 23.6%, 30.0%, and 20.2% ($P = 0.206$) after treatment, respectively. Treatment of afebrile malaria significantly improved iron absorption (geometric mean 12.9% vs. 23.6%, $P = 0.003$) and significantly reduced inflammation and serum hepcidin concentration. Neither treatment of hookworm nor *S. haematobium* infection affected inflammation biomarkers or altered iron absorption. None of the three infections impaired iron utilization measured as incorporation of the intravenous iron dose into erythrocytes. We conclude that in children, hookworm and *S. haematobium* infection do not incite inflammation or increase serum hepcidin, and do not influence iron absorption or utilization. On the other hand, afebrile malaria causes inflammation, increases serum hepcidin, and reduces iron absorption but not utilization.

In the second study, intestinal iron absorption from iron supplements was quantified in forty-eight Malawian toddlers (aged 12 – 24 months) with post-malarial anaemia. The toddlers were assigned to two groups: group A was provided with iron supplements (30 mg Fe daily) as a ferrous sulphate-containing syrup for 8 weeks starting immediately after completion of malarial treatment; group B was given the syrup after a two-week delay. Iron absorption from the syrup was measured in both groups at three time points: on the first day of iron supplementation, and after 2 and 8 weeks. At these three time points, we administered an oral dose of 27 mg unlabeled Fe and 3 mg ^{57}Fe , both as ferrous sulphate, instead of the normal iron supplementation. Iron and inflammation biomarkers were assessed every 2 weeks. Geometric mean iron absorption by groups A and B did not differ on the first day of supplementation and cumulative iron absorption over the 8 week supplementation period estimated from the three time points did not differ (6.0% vs. 7.2%, $P = 0.124$). Haemoglobin concentration increased significantly in both groups two weeks after malaria treatment and did not differ between the groups after 8 weeks of supplementation. Inflammation biomarkers were increased directly after treatment, but subsided two weeks after malaria treatment. We conclude that a two-week delay in starting iron supplementation had no apparent benefit on iron absorption or haemoglobin concentration.

The third study was an intervention trial in infants and young children in rural Côte d'Ivoire. We conducted a 9-month cluster-randomised, single-blinded, placebo-controlled 2x2 trial in 12-36 month-old children ($n = 502$). The intervention groups were as follows: a) daily consumption of an iron-fortified complementary food (CF) providing 2 mg iron as NaFeEDTA and 3.8 mg as ferrous fumarate; b) intermittent preventive treatment (IPT) of malaria at 3 month intervals using

sulfadoxine-pyrimethamine in combination with amodiaquine; c) both CF and IPT; or d) neither. The primary outcomes were the increase in concentration of haemoglobin and anaemia prevalence at 6 and 9 months. Secondary outcomes were iron deficiency prevalence, concentrations of plasma ferritin, inflammation indices, and prevalence of *P. falciparum*. At baseline, the prevalence of anaemia, ID and malaria were 82.1, 40.8 and 58.7% respectively. Compliance to treatments was $\geq 90\%$. There were no significant treatment effects of CF on Hb concentration or anaemia. There was no significant treatment effect of IPT on Hb concentration, but IPT, with or without CF, significantly reduced anaemia prevalence compared to control (OR=0.30, 95% CI 0.14 – 0.65 and OR=0.41, 95% CI 0.19 – 0.90). IPT also reduced malaria prevalence at 6 months (OR=0.46, 95% CI 0.22 – 0.97) but not at 9 months. CF increased PF significantly at 6 months but did not significantly increase PF at 9 months, and significantly reduced the prevalence of iron deficiency from 40% at baseline to 4% at 9 months compared to control (OR=0.08, 95% CI 0.02 – 0.38). There were no significant treatment interactions on any of the primary or secondary outcomes in the 2x2 analysis. We conclude that IPT in young children in West Africa modestly reduced anaemia and *P. falciparum* prevalence. Although, CF sharply decreased iron deficiency, it did not reduce anaemia. IPT did not improve efficacy of CF against anaemia.

Conclusion

This was the first time that intestinal iron absorption and hepcidin concentration in children with light- to moderate-intensity of hookworm infection or with light- to heavy-intensity *S. haematobium* infection was quantified. Hookworm and *S. haematobium* infections did not cause low-grade inflammation, did not increase plasma hepcidin, and did not impair intestinal iron absorption or utilization. Hence, our findings suggest that the anaemia associated with hookworm and *S. haematobium* infections is predominantly due to iron deficiency as a result of faecal or urinary blood loss caused by these parasites. Moreover, our findings confirm that afebrile *P. falciparum* malaria increases hepcidin and decreases dietary iron absorption. Thus, decreased iron absorption may contribute to malarial anaemia, which is primarily due to malaria impaired erythropoiesis, lysis of erythrocytes and the retention of iron in the cells of the reticuloendothelial system.

The Malawian absorption study demonstrates for the first time that a two-week delay in iron supplementation in infants with post-malarial anaemia had no benefit in relation to iron absorption or the recovery of haemoglobin concentration. Our findings support the current practice of immediate iron supplementation after malaria treatment, considering that providing supplementation immediately after malaria treatment is generally thought to increase compliance.

Although we combined two highly effective strategies in the intervention study to counteract anaemia among young children in rural Côte d'Ivoire, we found no interaction between the two strategies. Only a modest reduction of anaemia prevalence in children receiving IPT of malaria was found. Although iron fortification significantly decrease iron deficiency, anaemia prevalence was not decreased. This finding suggests that malaria and possibly other infectious diseases are the major cause of anaemia in this setting. We suggest that the reduction of malaria transmission, including vector control strategies such as indoor residual spraying, insecticidal bed nets and removal of potential breeding sites, and improvement of sanitation and basic health care should be a central component to improve the efficacy of IPT and to decrease anaemia among young children in rural Côte d'Ivoire.

Zusammenfassung

Hintergrund

Anämie betrifft weltweit über 1.6 Milliarden Menschen. Die Ursachen die zu Anämie führen sind vielfältig. In Afrika südlich der Sahara sind die Gründe hauptsächlich Eisenmangel, Malaria, *Schistosoma*- und Hakenwurm-Infektionen. Kleine Kinder, Frauen im gebärfähigen Alter und schwanger Frauen sind am meisten von Anämie betroffen. Schwere Anämie führt zu erhöhter Mutter- und Säuglingssterblichkeit, aber auch zu verminderter körperlicher Leistungsfähigkeit. Eisenmangelanämie erhöht das Risiko eines Schwangerschaftsabbruchs, vermindert die geistige Entwicklung im Kindesalter und schwächt das Immunsystem. Der Eisengehalt im Körper ist nur durch die Eisenabsorption im Dünndarm geregelt. Eisen kann nicht aktive ausgeschieden werden. Die Eisenabsorption spielt deshalb eine zentrale Rolle beim Erhalt des Eisengehalts im Körper. Heparin ist ein Peptidhormon das hauptsächlich in der Leber produziert wird und dirigiert den Eisenhaushalt, und so auch die Eisenabsorption. Die Plasma Heparin-Konzentration steigt an, wenn entweder genügend Eisen im Körper ist, oder bei einer Entzündungsreaktion. Die erhöhte Plasma Heparin-Konzentration verringert die Eisenabsorption, stört aber auch den Eisenhaushalt im Körper, wobei der Prozess des Eisenrecyclings blockiert wird und weniger Eisen für die Erythropoese zur Verfügung steht. Chronische Entzündung oder Infektion kann zur Anämie führen obwohl genügend Eisen im Körper vorhanden wäre.

Zielsetzung

Das Ziel dieser Dissertation war, besser zu verstehen wie die Eisenabsorption und die Eisennutzung für die Erythropoese während gewöhnlichen tropischen Infektions-krankheiten beeinflusst sind. Zusätzlich untersuchten wir potentielle Strategien gegen Anämie und Eisenmangel in kleinen Kindern, die in einer Region leben wo Malaria ganzjährig übertragen wird. Die spezifischen Zielsetzungen waren:

- Den Einfluss von Malaria, Hakenwurm und *Schistosoma haematobium* auf die Eisenabsorption und Eisennutzung für die Erythropoese zu messen in Ivorianischen Jugendlichen.
- Zu untersuchen ob eine acht-wöchige Eisensupplementation in anämischen Kleinkindern nach einer Malariaerkrankung besser absorbiert wird, wenn sie direkt an Anschluss der Malariabehandlung gegeben werden, oder ob das Eisen besser absorbiert wird wenn die acht-wöchige Eisensupplementation mit einer Verzögerung von zwei Wochen verabreicht wird.

- Zu untersuchen ob eine eisenangereicherte Beikost (BK) und periodische präventive Behandlung von Malaria die Hämoglobin-Konzentration, die Anämie-Prävalenz und den Eisenstatus von kleinen Ivorianischen Kindern beeinflusst.

Versuche

Die Eisenabsorption und Eisennutzung für die Erythropoiese wurden mit Hilfe der stabilen Eisenisotopen-Methode gemessen. Ivorianischen Jugendlichen im Alter von 11 – 17 Jahren mit einer fieberfreien *P. falciparum*- (Malaria) (n = 17), Hakenwurm- (n = 16) oder *S. haematobium*-Infektion (n = 8) tranken einen Sirup mit 3 mg ^{57}Fe in der Form von Eisensulfat und erhielten eine intravenöse Infusion mit 50 μg ^{58}Fe in der Form von Eisenzitrat. Die Kinder wurden gegen ihre Infektion behandelt und vier Wochen später wurde die Eisenabsorption und Eisennutzung für die Erythropoiese nochmals gemessen, wobei nochmals Isotope wie beim ersten Mal verabreicht wurden. Die geometrischen Mittelwerte für die Eisenabsorption während der fieberfreien Malaria-, der Hakenwurm-, und der *S. haematobium*-Infektion waren 12.9%, 32.2%, und 20.2% ($P < 0.001$) und vier Wochen nach der Behandlung 23.6%, 30.0%, und 20.2% ($P = 0.206$). Mit der Behandlung von der fieberfreien Malaria hat sich die Eisenabsorption signifikant verbessert (geometrischer Mittelwert 12.9% vs. 23.6%, $P = 0.003$) und hat die Entzündungsreaktion sowie die Hcpidin-Konzentration signifikant verringert. Infektionen mit Hakenwürmern oder *S. haematobium* haben die Eisenabsorption nicht beeinflusst, keine Entzündungsreaktion provoziert und die Hcpidin-Konzentration nicht erhöht. Keine der drei Infektionen hat die Eisennutzung für die Erythropoiese beeinflusst. Wir schliessen daraus, dass Jugendliche, infiziert mit Hakenwürmern oder *S. Haematobium*, zeigen keine Entzündungsreaktion, keine erhöhte Hcpidin-Konzentration und keine beeinträchtigte Eisenabsorption zeigen. Hingegen, provoziert eine fieberfreie Malaria eine Entzündungsreaktion, erhöht die Hcpidin-Konzentration und verringert die Eisenabsorption.

Die zweite Studie untersuchte die Eisenabsorption von Eisensupplementen in 48 anämischen Kleinkindern (Alter 12 – 24 Monate) in Malawi nachdem sie die Behandlung gegen eine klinische Malaria-Infektion abgeschlossen hatten. Die Kleinkinder wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Gruppe A erhielt Eisensupplemente (tägliche 30 mg Fe in Form von Eisensulfat in 2 ml Sirup) für 8 Wochen, direkt nachdem sie die Malaria-Behandlung abgeschlossen hatten; Gruppe B erhielt die gleichen Eisensupplemente, begann aber zwei Wochen später, ebenfalls für 8 Wochen. Eisenabsorption wurde in beiden Gruppen, jeweils am ersten Tag der Eisentherapie, nach zwei Wochen und am letzten Tag nach acht Wochen gemessen. An jedem der drei Zeitpunkte erhielten die Kleinkinder 27 mg normales Eisensupplement und 3 mg ^{57}Fe , anstelle des normalen Eisensupplements. Alle zwei Wochen wurden Eisen- und Entzündungsbiomarker untersucht. Der geometrische Mittelwert der Eisenabsorption von Gruppe A und B hatten sich nicht unterschieden am ersten Tag der

Eisentherapie und die kumulative Eisenabsorption von den drei Zeitpunkten war ebenfalls nicht unterschiedlich (6.0% vs. 7.2%, $P = 0.124$). In den ersten zwei Wochen nach der Malariabehandlung stieg die Hämoglobin-Konzentration in beiden Gruppen signifikant an. Die Entzündungsbiomarker waren direkt nach der Malariabehandlung erhöht, and waren nach zwei Wochen signifikant abgeschwächt. Wir schliessen daraus, dass eine zweiwöchige Verzögerung der Eisensupplementation zu keinen Vorteil für die Eisenabsorption des Eisensupplements oder der Regenerierung der Hämoglobin-Konzentration beiträgt.

Die dritte Studie, die Interventionsstudie, wurde in kleinen Kindern in einer ländlichen Region in Côte d'Ivoire durchgeführt. Wir führten eine neunmonatige, cluster-randomisierte, einfach-geblindete, Placebo-kontrollierte 2x2 faktorielle Studie mit 502 Kinder im Alter von 12 – 36 Monaten durch. Die Studiengruppen waren wie folgt: a) täglicher Konsum von einer eisenangereicherten Beikost (BK) die 2 mg NaFeEDTA-Eisen und 3.8 mg FeSO₄ enthielt; b) periodische präventive Behandlung (IPT) gegen Malaria mit sulfadoxine-pyrimethamine und amodiaquine alle drei Monate; c) beide Interventionen kombiniert, BK + IPT; und d) die Kontrollgruppe. Das primäre Ziel war es einen Anstieg in der Hämoglobin-Konzentration and eine Verringerung der Anämie-Prävalenz nach sechs und neun Monaten zu messen. Die sekundären Ziele waren Eisenmangel-Prävalenz, Plasma Ferritin-Konzentration, Entzündungsbiomarker und *P. falciparum*-Prävalenz. Am Studienbeginn war die Prävalenz von Anämie, Eisenmangel und die Malaria 82.1%, 40.8% and 58.7%. Der Einhalt der gewünschten Einnahmehäufigkeit beider Interventionen war mehr als 90%. Die BK hatte keinen Einfluss auf die Hämoglobin-Konzentration oder Anämie-Prävalenz. IPT hatte keinen Einfluss auf die Hämoglobin-Konzentration, aber IPT, mit oder ohne BK, verringerte die Anämie-Prävalenz verglichen zur Kontrollgruppe signifikant (OR=0.30, 95% CI 0.14 – 0.65 und OR=0.41, 95% CI 0.19 – 0.90). IPT verringerte die Malaria-Prävalenz nach sechs Monaten signifikant (OR=0.46, 95% CI 0.22 – 0.97), aber nicht nach neun Monaten. BK erhöhte die Plasma Ferritin-Konzentration nach sechs Monaten, aber nicht nach neun Monaten, und BK verringerte die Eisenmangel-Prävalenz von 40% zu Beginn der Studie auf 4% am Ende der Studie nach neun Monaten verglichen mit der Kontrollgruppe (OR=0.08, 95% CI 0.02 – 0.38). Es konnte keine signifikante Interaktion zwischen beiden Behandlungen auf einen der primären oder sekundären Ziele statistisch in der 2x2 Faktoranalyse gemessen werden. Wir schliessen daraus, dass IPT in jungen Kindern in Westafrika einen bescheidenen, aber signifikant reduzierenden Effekt auf die Anämie- und Malaria-Prävalenz hatte. Die BK hat zwar den Eisenmangel behoben, hatte aber keinen Einfluss auf Anämie-Prävalenz. IPT hatte die Wirksamkeit der BK gegen Anämie nicht verbessert.

Schlussfolgerung

Es ist das erste Mal, dass die Eisenabsorption und Hepcidin-Konzentration in Jugendlichen mit leichter bis moderater Hakenwurm-Infektionsintensitäten oder mit leichter bis schwerer *S. haematobium*-Infektionsintensitäten gemessen wurde. Hakenwürmer- und *S. haematobium*-Infektionen bewirken keine unterschwellige Entzündungsreaktion, erhöhen die Plasma Hepcidin-Konzentration nicht und beeinträchtigen weder die Eisenabsorption, noch die Eisennutzung für die Erythropoiese. Daraus schlussfolgern wir, dass Anämie die auf Hakenwürmer- und *S. haematobium*-Infektionen zurück zu führen ist, vorwiegend durch Eisenmangel verursacht ist, weil die Parasiten einen chronischen Blutverlust im Stuhl und Urin bewirken. Des Weiteren bestätigen unsere Beobachtungen, dass fieberfreie *P. falciparum*-Malaria die Plasma Hepcidin-Konzentration erhöht und die Eisenabsorption verringert. Als Folge könnte die verringerte Eisenabsorption zur Anämie während der Malaria-Infektion beitragen. Der Hauptgrund der während der Malariainfektion zur Anämie führt ist aber vorwiegend die Blockierung von recyceltem Eisen im Reticuloendothelialsystem, verursacht durch die erhöhte Plasma Hepcidin-Konzentration. Dies wiederum stört die Erythropoiese und führt zu Anämie.

In der Absorptionsstudie in Malawi wurde das erste Mal gezeigt, dass eine für zwei Wochen verzögerte Eisensupplementation keinen Einfluss auf die Eisenabsorption oder auf die Regenerierung der Hämoglobin-Konzentration hat. Unsere Beobachtungen bestätigen die aktuelle Empfehlung der Verabreichung von Eisensupplementen anschliessend an die Malariabehandlung in anämischen Kleinkindern.

Für die Interventionsstudie hatten wir zwei Strategien angewendet, um Anämie in Kleinkindern im ländlichen Côte d'Ivoire zu bekämpfen. Wir hatten keine statistisch signifikante Interaktion zwischen den Behandlungen gemessen. Die periodische präventive Behandlung gegen Malaria hatte nur einen bescheidenen Effekt auf die Anämie-Prävalenz. Die eisenangereicherte Beikost hatte zwar den Eisenmangel unter den Kinder beträchtlich verringert, hatte aber keinen Einfluss auf die Anämie. Wir vermuten, dass der dominante Grund für Anämie unter den kleinen Kindern im ländlichen Côte d'Ivoire vor allem Infektionskrankheiten, wahrscheinlich vor allem Malaria ist, und Eisenmangel erst ein sekundärer Grund ist. Leider hatte die präventive Behandlung gegen Malaria alle drei Monate nur einen bescheidenen Effekt, wahrscheinlich weil die Übertragungsrate in dieser Region von *P. falciparum* zu hoch ist und die Kinder schnell wieder infiziert werden. Wir empfehlen daher, dass eine periodisch präventive Malariabehandlung mit Vektorkontrollmassnahmen (gegen die Malariamücken), wie Besprühen der Wohnräume, Insektizid-imprägnierte Bettnetze und Verringerung der Brutplätze von Mücken, kombiniert werden sollte um die Anämie-Prävalenz in kleinen Kinder in Côte d'Ivoire effizient zu bekämpfen.

Résumé

Contexte

L'anémie concerne environ 1.6 milliards de personnes à travers le monde. Il y a plusieurs causes d'anémie; en Afrique sub-saharienne, les causes les plus importantes sont la carence en fer, le paludisme, les schistosomiasis et les infections aux ankylostomes. Les jeunes enfants, les femmes en âge de procréer et les femmes enceintes sont les plus à risque de souffrir d'anémie. L'anémie se traduit bien souvent par une fatigue générale et, au niveau d'une population, par une mortalité maternelle et périnatale augmentée. L'anémie par carence en fer peut en outre être source de complications durant la grossesse, ainsi que d'une diminution du développement cognitif et des défenses immunitaires.

Le contenu corporel en fer est régulé uniquement par l'absorption intestinale de fer car ce dernier ne peut être excrété activement. C'est pourquoi le mécanisme d'absorption du fer a un rôle central dans le maintien d'un niveau intra-corporel en fer adéquat. L'hepcidine, une hormone peptidique principalement produite par le foie, a été identifiée comme étant le régulateur-clé de l'homéostasie ferrique et notamment de l'absorption du fer. La production d'hepcidine augmente lorsque la quantité intracorporelle de fer est suffisante ou lors d'un état inflammatoire tel que dans le cas d'une infection.

Objectifs

Le but de cette thèse était de mieux comprendre comment l'absorption du fer et son utilisation dans le corps humain sont influencées par des maladies infectieuses tropicales spécifiques. De plus, nous avons étudié différentes stratégies permettant potentiellement de diminuer, voire éliminer, la prévalence de l'anémie chez de jeunes enfants vivant dans des zones d'endémie palustre avec une transmission stable. Les objectifs spécifiques étaient les suivants:

- Quantifier l'effet des infections à *Plasmodium falciparum*, *Schistosoma haematobium* et aux ankylostomes sur l'absorption intestinale et l'utilisation du fer chez des adolescents ivoiriens.

- Mesurer l'absorption intestinale de fer suite à une supplémentation en fer débutée immédiatement ou avec un délai de 2 semaines après le traitement d'une infection à *P. falciparum* sans complication chez des enfants malawiens en bas âge souffrant d'anémie.

- Evaluer, lors d'une étude d'intervention de 9 mois, l'impact d'un aliment complémentaire fortifié en fer et d'un traitement préventif intermittent contre le paludisme (IPT) sur la concentration en hémoglobine, l'anémie et le statut ferrique chez de jeunes enfants ivoiriens.

Expériences

Dans la première étude, l'absorption intestinale et l'utilisation de fer pour l'érythropoïèse furent quantifiées chez des enfants ivoiriens d'âge scolaire en utilisant une méthode d'isotope de fer stable. Des enfants âgés de 11 à 17 ans souffrant soit d'une infection afébrile à *P. falciparum* (n=17), soit d'une infection à ankylostomes (n=16), ou d'une infection à *S. haematobium* (n=8) ont ingéré un sirop contenant 3mg de ⁵⁷Fe sous forme de sulphate ferreux et ont reçu une perfusion intraveineuse de 50ug de ⁵⁸Fe sous forme de citrate ferreux. Les enfants furent ensuite traités pour leurs infections respectives et l'absorption de fer mesurée une nouvelle fois 4 semaines plus tard en utilisant la même méthode. Les moyennes géométriques de l'absorption du fer chez les groupes atteints d'une infection à *P. falciparum*, à ankylostomes et à *S. haematobium* étaient respectivement de 12.9%, 32.2% et 20.2% ($P < 0.001$) avant le traitement, et de 23.6%, 30.0% et 20.2% ($P = 0.206$), respectivement, après le traitement. Le traitement de l'infection afébrile à *P. falciparum* permit une amélioration significative de l'absorption du fer (moyenne géométrique de 12.9% vs 23.6%, $P = 0.003$) et réduit de manière significative le taux d'inflammation et la concentration de l'hepcidine sérique. Ni le traitement des ankylostomes ni le traitement de l'infection à *S. haematobium* n'ont permis d'influencer les marqueurs biologiques de l'inflammation ou de modifier l'absorption du fer. Aucune des trois infections n'ont altéré l'utilisation du fer administré par voie intraveineuse et incorporé dans les erythrocytes. Nous avons conclu que, chez les enfants, les infections aux ankylostomes et à *S. haematobium* ne provoquent pas d'inflammation, n'augmentent pas le taux d'hepcidine sérique et n'influencent pas l'absorption de fer ou son utilisation. En revanche, l'infection afébrile à *P. falciparum* cause une inflammation, augmente l'hepcidine sérique et réduit l'absorption du fer sans en réduire son utilisation.

Dans la seconde étude, l'absorption intestinale de fer à partir de suppléments en fer fut quantifiée chez 48 enfants malawiens en bas âge souffrant d'une anémie post-palustre. Les enfants âgés de 12 à 24 mois furent répartis en deux groupes : le groupe A reçut un supplément oral de fer (30mg Fe par jour) sous forme de sirop contenant du sulphate ferreux durant 8 semaines, et ce immédiatement après l'achèvement du traitement anti-palustre. Le groupe B reçut le sirop seulement deux semaines après la fin du traitement anti-palustre. L'absorption du fer issu du sirop fut mesurée dans les deux groupes à trois reprises : au premier jour de la supplémentation en fer, puis après 2 et 8 semaines. Lors de ces trois mesures, nous avons administré une dose orale de 27mg de fer non marqué et 3mg de ⁵⁷Fe, les deux sous forme de sulphate ferreux, en lieu et place de la dose normale de supplémentation en fer contenue dans le sirop. Le statut ferrique et les marqueurs biologiques de l'inflammation furent mesurés toutes les deux semaines. La moyenne géométrique de l'absorption du fer au premier jour de la supplémentation fut identique dans les deux groupes, et

l'absorption cumulative de fer durant les 8 semaines de supplémentation estimée à partir des 3 points de mesures ne montra également aucune différence (6.0% vs 7.2%, $P=0.124$). La concentration de l'hémoglobine était augmentée de manière significative dans les deux groupes deux semaines après la fin du traitement anti-palustre et était similaire entre les deux groupes après 8 semaines de supplémentation. Alors que la concentration des marqueurs biologiques de l'inflammation étaient encore élevée juste après le traitement anti-palustre, ce n'était plus le cas deux semaines après. Nous concluons qu'un délai de deux semaines avant de débiter une supplémentation en fer n'apporte aucun bénéfice mesurable à la capacité d'absorption du fer ou à la concentration en hémoglobine.

La troisième étude fut une étude d'intervention auprès d'enfants en bas âge et jeunes enfants dans une région rurale de Côte d'Ivoire. Nous avons mené une étude comparative réalisée avec répartition aléatoire par grappes, menée en simple-aveugle et contrôlée contre placebo (étude factorielle 2x2) durant 9 mois auprès de 502 enfants âgés de 12 à 36 mois. Les 4 groupes d'intervention étaient composés de la manière suivante : a) consommation journalière d'un aliment complémentaire fortifié en fer (CF) fournissant 2mg de fer sous forme de NaFeEDTA et 3.8mg sous forme de fumarate ferreux; b) traitement préventif intermittent du paludisme (IPT) à 3 mois d'intervalle avec de la sulfadoxine-pyriméthamine et de l'amodiaquine; c) aliment complémentaire (CF) et traitement préventif (IPT); ou d) aucune intervention. Les premiers indicateurs (de résultats) mesurés étaient la concentration de l'hémoglobine et la prévalence de l'anémie à 6 et 9 mois. Les indicateurs secondaires étaient la prévalence de la carence en fer, les concentrations de ferritine plasmatique et des marqueurs de l'inflammation, ainsi que la prévalence de *P.falciparum*. Initialement, la prévalence de l'anémie, de la carence en fer (ID), et de l'infection à *P. falciparum* était respectivement de 82.1%, 40.8% et 58.7%. L'adhésion aux traitements fut de plus de 90%. Il n'y eut pas d'effet significatif de l'aliment complémentaire fortifié en fer (CF) sur la concentration en hémoglobine ou sur l'anémie. Il n'y eut pas d'effet significatif de l'IPT sur la concentration en hémoglobine mais l'IPT, avec ou sans CF, permit de réduire de manière significative la prévalence de l'anémie comparé au groupe contrôle (OR=0.30, 95% CI 0.14 – 0.65 and OR=0.41, 95% CI 0.19 – 0.90). L'IPT permit également de réduire la prévalence de l'infection à *P. falciparum* à 6 mois (OR=0.46, 95% CI 0.22 – 0.97) mais pas à 9 mois. Le CF permit d'augmenter la ferritine plasmatique de manière significative à 6 mois mais pas à 9 mois et diminua la prévalence de la carence en fer de 40% initialement à 4% à 9 mois (OR=0.08, 95% CI 0.02 – 0.38). Nous n'avons noté aucune interaction de traitement significative sur aucun des indicateurs primaires ou secondaires lors de l'analyse factorielle. Nous concluons que l'IPT administré à de jeunes enfants de zones rurales (d'Afrique de l'Ouest) où la transmission de *P. falciparum* est stable a permis de réduire modestement la prévalence de l'anémie et des infections à *P. falciparum*, et, bien que le CF a drastiquement réduit la

carence en fer, il n'a pas eu d'effet sur la prévalence de l'anémie. L'IPT n'a pas amélioré l'efficacité du CP contre l'anémie.

Conclusion

C'est la première fois qu'une étude quantifie l'absorption intestinale de fer et la concentration plasmatique de l'hepcidine chez des enfants d'Afrique sub-saharienne atteints d'infection à ankylostomes légère à modérée et d'infection à *S. haematobium* légère à sévère. Les infections aux ankylostomes et à *S. haematobium* ne causent pas d'inflammation de bas grade, n'augmentent pas la concentration de l'hepcidine plasmatique et n'altèrent pas l'absorption intestinale de fer ou son utilisation. Nos résultats suggèrent que l'anémie due aux infections à ankylostomes et à *S. haematobium* est principalement due à la carence en fer résultant d'une perte sanguine fécale ou urinaire provoquée par ces parasites. De plus, nos résultats confirment que l'infection afebrile à *P. falciparum* augmente la concentration d'hepcidine plasmatique et réduit l'absorption du fer issu de l'alimentation. L'anémie liée au paludisme est donc due à l'érythroïèse altérée, la lyse des érythrocytes et à la rétention du fer dans les cellules du système réticuloendothélial.

L'étude d'absorption au Malawi démontre pour la première fois qu'une supplémentation en fer retardée de 2 semaines chez des enfants souffrant d'une anémie post-palustre n'améliore pas l'absorption du fer ou la concentration en hémoglobine en comparaison avec une supplémentation immédiate. Nos résultats confortent la pratique actuelle d'une supplémentation en fer immédiatement après la fin d'un traitement anti-palustre, en prenant compte qu'une action immédiate et conjointe au traitement permet une adhésion thérapeutique plus efficace.

Bien que nous ayons combiné deux stratégies de lutte contre l'anémie hautement efficaces dans notre étude d'intervention chez de jeunes enfants de zones rurales de Côte d'Ivoire, nous n'avons pas observé d'interaction entre les deux stratégies. Nous n'avons identifié qu'une réduction modeste de la prévalence de l'anémie grâce à l'IPT. Bien que la fortification en fer a permis de réduire significativement la carence en fer, elle n'a eu aucun effet sur la prévalence de l'anémie. Ces résultats suggèrent que le paludisme, et éventuellement d'autres maladies infectieuses, sont la cause principale de l'anémie chez les jeunes enfants dans ce contexte. Nous prétendons qu'une réduction de la transmission du paludisme, grâce notamment à des stratégies de lutte anti-vectorielle comme la pulvérisation d'insecticides des à effet rémanent à l'intérieur des habitations, les moustiquaires imprégnées d'insecticide et l'élimination des sources potentielles de reproduction des vecteurs, de même que l'assainissement et l'amélioration des soins de santé primaires, doivent être considérés comme des éléments centraux afin d'améliorer l'efficacité de l'IPT et diminuer la prévalence de l'anémie chez les jeunes enfants des régions rurales de Côte d'Ivoire.