

UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline: Sciences des Aliments

UMR 204 – NUTRIPASS - IRD – UM2 - UM1 - SupAgro

Présentée et soutenue publiquement

par

Antonio Geraldo CIDRÃO DE CARVALHO

Le 20 avril 2010

**Importance d'un complément associant le fer
et la vitamine E dans le traitement de l'anémie
ferriprive chez de jeunes enfants brésiliens**

Jury

**Dr Josiane ARNAUD
Dr Jacques BERGER
Dr. Patrick BOREL
Pr. Bertrand CAPORICCIO**

**Rapporteur
Directeur de thèse
Rapporteur
Examineur**

Aos meus pais, Maria Aldira Cidrão de Carvalho (in memoriam) e Geraldo Antão Reis de Carvalho, exemplos de responsabilidade, humildade e perseverança, pelos ensinamentos que orientam minha vida.

À Fátima, o fator de equilíbrio de que sempre preciso, pelo amor, companheirismo e dedicação transmitidos ao longo desta jornada, os quais foram imprescindíveis para que eu alcançasse o meu objetivo e conseguisse superar todas as adversidades.

Mes sincères remerciements à **Monsieur Claude Louis LÉGER**, pour m'avoir permis de vivre une très belle expérience en France. Les conseils éclairés que vous avez pu me prodiguer au cours de la direction de cette thèse, m'ont toujours été utiles et je vous en remercie profondément.

Je remercie à **Monsieur Jacques BERGER** pour m'avoir permis d'intégrer l'UR 106 NALIS l'Institut de Recherche pour le Développement – IRD dans le cadre de ma thèse, pour son soutien tout au long de ce travail, sa disponibilité aux moments importants, et de m'avoir fait bénéficier des ses qualités scientifiques qui ont contribué à l'amélioration de ce travail de thèse.

Je tiens à remercier le **Docteur Josiane ARNAUD** et le **Docteur Patrick BOREL** pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'être les rapporteurs de cette thèse.

Je remercie le **Professeur Bertrand CAPORICCIO** d'avoir bien voulu accepter de participer au Jury de cette thèse.

Je tiens à remercier particulièrement les **Professeurs Maria Luiza Martins ALÉSSIO, Marília de Carvalho LIMA** et **Pedro Israel Cabral de LIRA** pour leur gentillesse et leur patience à mon égard, ainsi que pour ses connaissances scientifiques qui m'ont permis de résoudre les nombreux problèmes rencontrés.

Je souhaite également remercier à **Mme M.A CARBONNEAU** pour son aide précieuse, ses conseils avisés, sa disponibilité, et son soutien tant scientifique que moral.

Je suis très reconnaissante à **Mme Catherine PHILIBERT** pour sa générosité, sa disponibilité et pour tout le soutien qu'elle m'a apporté.

Je remercie la **CAPES-COFECUB (Coopération France-Brésil)** et tout particulièrement les coordinateurs français et brésiliens, **Monsieur Claude Louis LÉGER** et **Mme Maria Luiza Martins ALÉSSIO** qui ont permis la réalisation de ce travail et son financement.

J'adresse mon amitié et mes remerciements à **Mme Annie RODRIGUEZ** et **Monsieur Laurent CENTENE** pour leur aide précieuse pour leur soutien durant

ces quelques années passées en leur compagnie qui ont facilité mon adaptation à Montpellier.

J'associe à ces remerciements tous **les membres de ma famille** et tous **les amis** qui, de près ou de loin, m'ont témoigné leur affection et apporté leur soutien pendant ce travail.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans la participation **des enfants du Projet Santé et Nutrition Infantile**. Qu'ils soient ici remerciés pour leur participation anonyme.

Aux Professeurs du Département de Physiothérapie de l'Université Fédérale de la Paraíba, et plus particulièrement pour la discipline **Pratique Thérapeutique Supervisée II (Maria das Mercês Oliveira, Neide Maria Gomes de Lucena e Moema Teixeira Maia)**, qui ont suivi mes travaux, rendu possible mon éloignement et m'ont permis de vivre intensément de nouvelles et singulières expériences de vie ainsi que l'approfondissement de mes connaissances.

Et, enfin une pensée particulière pour **Nicole, Rafaella, Débora, César** et **Felipe**, sans qui rien ne serait pareil...

“Cada um que passa em nossas vidas deixa um pouco de si mesmo e leva um pouco de nós mesmos.

Há os que deixam pouco, mas não há os que não deixam nada.

Há os que levam pouco, mas não há os que não levam nada.

Esta é a grande realidade da vida e a certeza de que as almas não se encontram por acaso.”

Vinícius de Moraes

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DES FIGURES	13
ABREVIATIONS	14
INTRODUCTION	16
1. Anémie ferriprive	17
1.1. Épidémiologie de l'anémie ferriprive dans le monde	19
1.2. Épidémiologie de l'anémie ferriprive au Brésil	20
1.3. Facteurs associés qui affectent la prévalence de l'anémie ferriprive à l'enfance	23
1.3.1. Aspects physiologiques durant la grossesse, l'allaitement et la diversification alimentaire	26
1.3.2. Aspects pathologiques	26
1.3.2.1. Infestations parasitaires	26
1.3.3. Aspects nutritionnels	27
2. Caractéristique générale du fer	29
2.1 Métabolisme du fer	31
2.1.1. La transferrine	32
2.1.2. Le récepteur soluble de la transferrine	33
2.1.2.1. Le récepteur soluble de la transferrine et carence en fer	36
2.1.2.2. Le récepteur soluble de la transferrine et évolution de la carence en fer	36
2.1.3. La ferritine	37
2.1.4. Hémosidérine	38
2.1.5. La protéine HFE et l'hepcitine	38
2.1.6. Protéine de transport de métal divalent 1 ou DMT1	41
2.2. Absorption du fer	41
2.2.1. Les systèmes d'acquisition du fer contrôlent la charge en fer de l'organisme	42
2.2.2. Régulation de l'absorption du fer	44
2.2.3. Mécanismes concernés dans la régulation de l'absorption du fer	45
2.3. Stockage du fer	47
2.4. Élimination physiologique du fer	48
3. Conséquences de la carence en fer	49
3.1. Croissance et développement	50

3.2. Fonctions immunitaire	51
4. Méthodes d'évaluation de la carence en fer	51
4.1. Hémoglobine et l'hématocrite	52
4.2. Ferritine	52
4.3. Fer sérique	53
4.4. Capacité totale de liaison du fer	53
4.5. Le récepteur soluble de la transferrine	54
4.6. Saturation de la transferrine	54
4.7. Protoporphyrine érythrocytaire libre (PEL)	54
5. Recommandations nutritionnelles	55
6. Les vitamines	56
6.1. La vitamine A ou rétinol	56
6.2. Formes chimiques et nomenclature	56
6.3. Absorption intestinale et le métabolisme d'absorption des caroténoïdes et la vitamine A	58
6.4. Fonctions de la vitamine A dans l'organisme	62
6.5. Anémie ferriprive et vitamine A	63
6.6. Indicateurs du statut vitaminique a et apports nutritionnels conseilles chez le fœtus, le nourrisson et l'enfant	64
7. La vitamine E	65
7.1. Formes chimiques et nomenclature	65
7.2. Métabolisme et transport de la vitamine E	67
7.3. Fonction antioxydante	69
7.4. Fonction non-antioxydante	71
7.5. Indicateurs du statut et apports nutritionnels conseilles	71
7.5.1. Apport alimentaire et déficience en vitamine E chez l'homme	71
7.5.2. Apport alimentaire et déficience en vitamine E chez l'enfant	73
OBJECTIFS ET JUSTIFICATIONS DE L'ÉTUDE	75
MATÉRIEL ET MÉTHODES	83
1. Quelques rappels de géographie	84
2. Présentation de d'étude	85
2.1. Une randomisation individuelle	85
2.2. Une intervention contrôlée	86
2.3. Une étude en double aveugle	87
3. Critères d'inclusion dans le protocole	87

4. Taille de l'échantillon	87
5. Les compléments	88
5.1. Fabrication	88
5.2. Composition	88
5.3. Quantités de micronutriments (en mg) administrés par semaine à chacun des trois groupes de l'étude d'intervention	89
6. Les indicateurs mesurés	90
6.1. Rappels	90
6.2. Méthodes d'évaluation	90
6.2.1. Recueil des données sanguines	90
6.2.2. Recueil des données anthropométriques	91
6.2.3. Recueil des données sur la situation familiale	92
6.2.4. Méthodes de dosage	92
6.2.4.1. Principe du dosage d'hémoglobine	92
6.2.4.2. Principe du dosage de la ferritine	93
6.2.4.3. Principe du dosage du récepteur de la transferrine	93
6.2.4.4. Dosage simultané des vitamines A (rétinol) et E (<i>RRR</i> - α -tocophérol) plasmatiques	93
6.2.4.5. Autres indicateurs	95
6.2.4.5.1. Principe du dosage de la transferrine, du fer sérique et de la capacité totale de liaison du fer	95
6.2.4.5.2. Principe du dosage de la Protéine C-réactive	96
6.2.4.6. Caractéristiques anthropométriques, socioéconomi-ques, démographiques et sanitaires.	96
7. Valeurs seuils des indicateurs utilisés	96
8. Validation des données	97
9. Traitement et analyse des données	97
10. Considérations éthiques	98
11. Institutions participantes	98
RESULTATS	99
PARTIE 1 - (PUBLICATION I)	100
Résumé de la Publication I	100
Diagnosis of iron deficiency anemia in children through different hematological and biochemical parameters	101
PARTIE 2 - (PUBLICATION II)	117
DISCUSSION ET CONCLUSION	141
BIBLIOGRAPHIE	156

ANNEXES	191
Annexe 1 – Plan du Brésil	192
Annexe 2 – Caractéristiques des enfants et recrutement	193
Annexe 3 – Questionnaire socio-économique et démographique	194
Annexe 4 – Données d’allaitement maternelle	197
Annexe 5 – Contrôle de las manifestations secondaires	198
Annexe 6 – Données anthropométriques	200

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:	Catégorie de l'importance d'anémie en réseau populationnel selon la prévalence d'anémie définie par points de coupure de concentration d'hémoglobine dans le sang	18
Tableau 2:	Niveaux d'hémoglobine indicatifs d'anémie dans des populations qui habitent au niveau de la mer.	20
Tableau 3:	Prévalence d'anémie chez des enfants de moins de six ans au Nord-Est du Brésil, selon les études sélectionnées.	21
Tableau 4:	Prévalence d'anémie chez des enfants de moins de six ans au Sud-Est du Brésil, selon les études sélectionnées.	22
Tableau 5:	Prévalence d'anémie chez des enfants de moins de six ans au Nord, Centre-Ouest et Sud du Brésil, selon les études sélectionnées.	23
Tableau 6:	Évolution des facteurs de conversion entre les caroténoïdes provitaminiques et le rétinol.	62

RÉSULTATS - PARTIE 1 - (PUBLICATION I)

Table I:	Frequency of anemia and iron deficiency in children from daycare centers.	114
Table II:	Biochemical and hematological parameters according to age groups of children from daycare centers.	115
Table III:	Biochemical and hematological parameters according to inflammation status of children from daycare centers.	116

RÉSULTATS - PARTIE 2

Tableau 1:	Caractéristiques des enfants et des mères au moment du recrutement.	123
Tableau 2:	Caractéristiques socio-économiques et environnementales de la cohorte à T ₀ .	124
Tableau 3:	Comparaison des caractéristiques biochimiques et hématologiques des enfants au moment du recrutement.	125
Tableau 4:	Caractéristiques des trois groupes des enfants.	127

Tableau 5:	Caractéristiques socio-économiques et environnementales des trois groupes des enfants au début de l'étude.	128
Tableau 6:	Paramètres biochimiques et hématologiques des enfants à T ₀ dans les groupes étudiés.	129
Tableau 7:	Anthropométrie des enfants à T ₀ .	130
Tableau 8:	Paramètres biochimiques et hématologiques des enfants après les trois mois de prise de complément.	131
Tableau 9:	Anthropométrie des enfants après les trois mois de prise de complément.	132
Tableau 10:	Paramètres biochimiques et hématologiques des enfants avant et après les trois mois de prise de complément.	133
Tableau 11:	Les teneurs en l'hémoglobine, ferritine, vitamine A et vitamine E sériques, après la prise de complément suivant les teneurs en hémoglobine à T ₀ .	134
Tableau 12:	Paramètres biochimiques et hématologiques à T ₀ et T ₃ pour la classe des valeurs de l'hémoglobinémie à T ₀ inférieures à 90 g/L (Classe I). Niveaux de signification des différences prenant en compte l'interaction temps x groupe.	135
Tableau 13:	Paramètres biochimiques et hématologiques à T ₀ et T ₃ pour la classe des valeurs de l'hémoglobinémie à T ₀ inférieures à 110 g/L (Classe II). Niveaux de signification des différences prenant en compte l'interaction temps x groupe.	136
Tableau 14:	Paramètres biochimiques et hématologiques à T ₀ et T ₃ pour la classe des valeurs de l'hémoglobinémie à T ₀ égale ou supérieure à 110 g/L (Classe III). Niveaux de signification des différences prenant en compte l'interaction temps x groupe.	137
Tableau 15:	Les teneurs en l'hémoglobine, ferritine, vitamine A et vitamine E sériques, après la prise de complément suivant les teneurs en vitamine A à T ₀ .	138
Tableau 16:	Prévalence de l'anémie, de la carence en fer et de l'anémie par carence en fer chez les enfants avant et après la prise de complément.	139
Tableau 17:	Prévalence des déficits en vitamine A et E chez les enfants avant et après la prise de complément.	140

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Diagramme conceptuel entre la relation de carence en fer, anémie et anémie par carence en fer dans une population hypothétique.	17
Figure 2: Distribution et recyclage du fer dans l'organisme.	30
Figure 3: Modes d'investigation des compartiments métaboliques du fer.	31
Figure 4: L'organisation générale de la molécule.	34
Figure 5: Cycle d'endocytose de la transferrine diferrique.	35
Figure 6: Régulation de l'homéostasie du fer.	39
Figure 7: Acquisition du fer par l'entérocyte duodénal et le macrophage.	43
Figure 8: Régulation du métabolisme cellulaire du fer.	47
Figure 9: Structure du rétinol et du β -carotène.	58
Figure 10: Absorption et transport des caroténoïdes.	60
Figure 11: Tocophérols, tocotriénols et molécules apparentées.	67
Figure 12: Le transport de la vitamine E dans l'organisme.	69
Figure 13: Réactions de la lipoperoxydation.	70
Figure 14: Le rôle de las vitamines dans le métabolisme du fer et de l'érythropoïèse.	81

RESULTATS - PARTIE 2

Figure 1: Recrutement et repartition des enfants à T_0 dans les trois groupes recevant chacun l'un des trois compléments alimetaire.	123
Figure 2: Repartition des enfants dans les trois groupes et analyses effectuées.	127

ABREVIATIONS

BCMO1	$\beta\beta$ – Carotène 15,15'- Monooxygénase
BCMO2	$\beta\beta$ – Carotène 9',10'- Monooxygénase
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CM	Chylomicrons
CMM	Complément Multivitaminique et Mineral
CRBP- II	Cellular Retinol Binding Protein de type II
CTLF	Capacité Totale de Liaison du Fer
Dcytb	Duodenal cytochrome b like ferrereductase
DMT1	Transporte de Metal Divalent-1
ER	Équivalent Rétinol
ETM	Ecartype
FPN	Ferroportine
FS	Ferritine Sérique
Hb	Hémoglobine
HDL	Hight Density Lipoprotein
ID	Iron Deficient
IDA	Iron-Deficient Anemia
IRE	Iron Responsive Element
IRP	Iron Regulatory Protein
LPL	Lipoprotein Lipase
LDL	Low Density Lipoprotein
OMS	Organisation Mondial de la Santé
PED	Pays En Développement
PCR	Protéine C- Réactive
RBP1	Retinol Binding Protein, Type I
RBP2	Retinol Binding Protein, Type II
RE	Retinol
RRR-α-T	La forme naturelle de l' α -tocophérol
R-CM	"Remnants" de CM

ST	Saturation de la Transferrine
sTfR	Récepteur soluble de la transferrine
T₀	Avant le début de l'intervention
T₃	Après l'intervention
Tf	Transferrine
TfR	Récepteur de la Transferrine
TfR1	Récepteur 1 de la Transferrine
VCM	Volume Corpusculaire Moyen
VITE	Vitamine E
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

1. Anémie ferriprive

La carence en fer est considérée comme le principal déterminant nutritionnel causal des anémies, ce qui fait de l'anémie par carence en fer, ou anémie ferriprive (dénommée en anglais iron-deficient anemia, IDA), la maladie de carence la plus importante au niveau mondial. Dans certains pays, l'anémie ferriprive touche l'ensemble de la population, constituant un problème de santé publique d'une extrême importance (Neuman *et al.*, 2000; WHO, 2001; Hallberg, 2001; Oliveira *et al.*, 2002; Lutter, 2008).

L'anémie ferriprive est le résultat de l'interaction de multiples facteurs étiologiques qui mènent à un déséquilibre entre les besoins de l'organisme et la quantité de fer absorbée (Oliveira *et al.*, 2007). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'anémie ferriprive n'est qu'une partie de la carence en fer et se rapporte à des conditions d'approvisionnement insuffisantes de la moelle osseuse en fer, avec une réduction considérable de l'hémoglobinémie (WHO, 2001).

Figure 1 - Diagramme conceptuel entre carence en fer, anémie et anémie ferriprive dans une population hypothétique



D'après l'OMS, (WHO, 2001).

La carence en fer dans l'organisme survient théoriquement de façon graduelle et progressive en suivant trois étapes (Hallberg *et al.*, 1993; Simões *et al.*, 1999; Paiva *et al.*, 2000) jusqu'à ce que l'anémie se manifeste. Le premier niveau, la déplétion en fer, touche les réserves et représente une période de plus grande vulnérabilité, pouvant progresser jusqu'à une carence plus grave avec des conséquences fonctionnelles. Le deuxième niveau est caractérisé par une

érythropoïèse perturbée et est caractérisé par des altérations biochimiques qui reflètent la carence en fer dans la production normale d'hémoglobine et dans d'autres composés ferriques, encore que la concentration d'hémoglobine ne soit pas réduite. Le troisième et dernier niveau, l'anémie ferriprive, est caractérisé par la diminution ou absence des réserves de fer (diminution de la ferritinémie), par une faible concentration en fer dans le sérum, par la faible saturation de la transferrine, par la diminution significative de l'hémoglobinémie et la réduction de l'hématocrite, accompagnés de dommages fonctionnels d'autant plus graves que ces variables biologiques seront plus profondément affectées (Cook et Finch, 1979; Cook, 1990; Desai et Choudhry, 1993; Monteiro et Conde, 2000).

Selon la morphologie du globule rouge (GR), les anémies sont microcytiques, normocytiques et macrocytiques. Selon la concentration d'hémoglobine présente dans GR, les anémies sont classées en hypochromiques et normochromiques. Par définition, l'anémie ferriprive est hypochromique et microcytique (Wintrobe *et al.*, 1993).

Dans une population normale la variation espérée des valeurs de l'hémoglobinémie mène à une courbe de distribution où 2,5% des individus présentent des valeurs d'hémoglobine inférieures au seuil proposé (à peu près deux écarts type au-dessous de la moyenne). Selon l'OMS une prévalence d'anémie de plus de 5,0% dans la population est anormale et doit être considérée (Tableau 1, WHO, 2001).

Tableau 1 – Gravité de l'anémie dans une population selon la prévalence de l'anémie*

L'anémie est:	Quand sa prévalence (en %) dans la population est de:
Normale	≤ 5,0
Légère	5,0 – 19,9
Modérée	20,0 – 39,9
Grave	≥ 40,0

* Selon le point de coupure, en conformité avec le **Tableau 2**.

1.1. Épidémiologie de l'anémie ferriprive dans le monde

On estime que plus de deux milliards de personnes dans le monde sont carencées en fer – à quel que degré que ce soit –, soit un tiers de la population mondiale (Zimmermann et Hurrell, 2007; Pereira *et al.*, 2007; Beard et Murray-Kolb, 2009). L'anémie ferriprive touche les populations d'à peu près tous les pays, mais dans les pays en développement cette forme d'anémie est généralement beaucoup plus grave (Neuman *et al.*, 2000; WHO, 2001; Oliveira *et al.*, 2002; Peirano *et al.*, 2009).

Selon les estimations de l'OMS la prévalence de l'anémie ferriprive en Afrique et en Asie est supérieure à 40%, dans les deux Amériques de 19% et en Europe de 10% environ (Delange et West, 2003).

En France, la carence en fer et l'anémie ferriprive affectent respectivement 29% et 4% des enfants âgés de moins de 2 ans. Aux USA, 2% des enfants âgés de 1 à 2 ans ont une anémie ferriprive (Hercberg *et al.*, 2001; CDC, 2002; Zimmermann et Hurrell, 2007).

D'après des données brésiliennes (Nordeste) et vietnamiennes, les nourrissons, les enfants d'âge pré-scolaire, les adolescents et les femmes en gestation ou en attente de gestation sont les groupes généralement les plus atteints par l'anémie ferriprive (Oliveira *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2002; Ninh *et al.*, 2002). Pour les enfants et les femmes en gestation, on estime que la prévalence de l'anémie ferriprive se situe entre 20 et 25% dans les pays développés et entre 40 et 60% dans les pays en développement (WHO, 2001).

On définit l'anémie chez un sujet lorsque celui-ci présente une hémoglobinémie qui se situe en deçà de deux déviations standard par rapport à la moyenne d'une population de référence de la même classe d'âge, de même sexe, vivant à la même altitude et dans la même situation physiologique pour la femme (WHO, 2001). Des facteurs comme la race et le tabagisme influent sur l'hémoglobinémie. Dans le Tableau 2 sont présentées les valeurs seuils d'hémoglobine indicatives d'anémie utilisées par l'OMS (WHO, 2001).

Tableau 2 – Niveaux d'hémoglobine indicatifs d'anémie dans des populations qui habitent au niveau de la mer

Age ou état physiologique	Concentration de Hb (g/L)
6 à 59 mois	< 110
5 à 11 ans	< 115
12 à 14 ans	< 120
≥ 15 ans)	< 130
Femmes non enceintes (> 15 ans)	< 120
Femmes en gestation	< 110

1.2. Épidémiologie de l'anémie ferriprive au Brésil

Au Brésil, au cours des trois dernières décennies, il y a eu une amélioration importante de la santé infantile, surtout en ce qui concerne la réduction de la prévalence de la dénutrition (Monteiro et Benicio, 1997; Monteiro et Conde, 2000). Cependant, la diminution de la dénutrition infantile n'a pas été suivie d'une baisse des cas d'anémie (Batista Filho et Rissin, 2003). L'anémie ferriprive constitue le principal problème nutritionnel des enfants âgés de moins de 5 ans au Brésil, celui-ci présentant même une tendance à l'aggravation (OMS, 1980; Brasil, 2000; Pereira *et al.*, 2007). Les données disponibles dans le pays montrent également que l'anémie ferriprive varie d'une région à l'autre, selon l'âge et les couches sociales.

Les tableaux 3, 4 et 5 présentent la prévalence de l'anémie dans les dernières quarante années chez des enfants âgés de moins de 6 ans et d'âge scolaire, dans les différentes régions du Brésil. Malgré la grande variation observée, les études sur les deux dernières décennies montrent que chez les nourrissons la prévalence de l'anémie ferriprive est proche de 65 %, avec des valeurs encore plus élevées dans la classe d'âge de 6 à 12 mois, tandis que pour les enfants d'âge pré-scolaire celle-ci est de 30 à 50%. Pour les enfants d'âge scolaire, les études sont plus rares et les prévalences varient entre 5 et 60%, avec prédominance de valeurs entre 15 et 20% (Lira et Ferreira, 2007).

Tableau 3 – Prévalence d’anémie ferriprive chez des enfants de moins de six ans au Nord-Est du Brésil, selon les études sélectionnées

Source	Etat	Âge*	Échantillon (n)	Anémie (%)
Salzano, 1974 ^a	Pernambuco	6-60 m	310	47,0
Dricot <i>et al.</i> , 1984 ^a	Paraíba	0-59 m	**	19,3
Lira <i>et al.</i> , 1985	Pernambuco	<6 a	976	38,9
Salzano <i>et al.</i> , 1985 ^a	Pernambuco	6-60 m	1306	55,1
Benigna, 1987 ^a	Pernambuco	6-11 m	780	22,3
Mariath <i>et al.</i> , 1988 ^a	Pernambuco	1-4 a	573	41,9
Assis <i>et al.</i> , 1990 ^a	Bahia	<5 a	**	22,4
Romani <i>et al.</i> , 1991 ^a	Pernambuco	6-24 m	459	83,4
		6-72 m	1161	54,5
Assis <i>et al.</i> , 1997	Bahia	1-72 m	745	22,2
Ministério da Saúde, 1998 ^a	Pernambuco	6-59 m	827	46,7
Perez <i>et al.</i> , 1998 ^a	Pernambuco	<36 m	**	81,0
Soares <i>et al.</i> , 2000	Fortaleza	<24 m	110	60,0
Ferreira <i>et al.</i> , 2000 ^a	Pernambuco	12 m	610	78,9
Osório <i>et al.</i> , 2001	Pernambuco	6-23 m	777	61,8
Gov. do Estado-SE, 2001 ^a	Sergipe	6-59 m	720	31,4
Oliveira <i>et al.</i> , 2002	Paraíba	0-59 m	1287	36,4
Ferreira <i>et al.</i> , 2003	Pernambuco	6-23 m	293	77,5
Ferreira <i>et al.</i> , 2003 ^a	Pernambuco	<5 a	145	90,3
Assis <i>et al.</i> , 2004 ^a	Bahia	<5 a	603	46,3
Assis <i>et al.</i> , 2004 ^b	Bahia	<12 m	553	62,8
Lima <i>et al.</i> , 2004	Pernambuco	12 m	245	73,5
Spinelli <i>et al.</i> , 2005	Piauí e Bahia	6-12 m	296	65,4
Batista Filho <i>et al.</i> , 2005 ^a	Paraíba	6-59 m	502	37,1
Lira <i>et al.</i> , 2005 ^a	Pernambuco	6-59 m	628	46,3
Leal et Osório, 2005	Pernambuco	6-23 m	421	89,1
Oliveira <i>et al.</i> , 2007	Pernambuco	6-49 m	746	40,6
Vieira <i>et al.</i> , 2007	Pernambuco	6-59 m	162	55,6
Batista Filho <i>et al.</i> , 2007 ^a	Pernambuco	6-59 m	1406	34,0
Eickmann <i>et al.</i> , 2008	Pernambuco	4-24 m	76	65,8
Carvalho <i>et al.</i> , 2010	Pernambuco	6-30 m	335	91,9

* Âge (a - ans et m - mois).

** Données non disponibles.

^a Publications citées dans des compilations de recherches développées au Brésil (Devincenzi *et al.*, 1999; Lira et Ferreira, 2007).

Tableau 4 – Prévalence d'anémie ferriprive chez des enfants de moins de six ans au Sud-Est du Brésil, selon les études sélectionnées

Source	Etat	Âge*	Échantillon (n)	Anémie (%)
Sigulem <i>et al.</i> , 1985	São Paulo	<2 a	**	35,0
Guerra <i>et al.</i> , 1985	São Paulo	6-18 m	182	72,0
		<3 a		38,9
Monteiro et Szarfarc, 1987	São Paulo	24-60 m	912	35,6
Sichieri, 1988	São Paulo	<2 a	307	57,0
		2-5 a		26,0
Freitas, 1990 ^a	São Paulo	<2 a	178	58,2
		6 m - 6 a		29,6
Rodrigues <i>et al.</i> , 1997	Rio de Janeiro	12-18 m	288	50,0
Torres <i>et al.</i> , 1994	São Paulo	6-23 m	2992	59,1
Torres <i>et al.</i> , 1996	São Paulo	6-42 m	269	62,3
Lamounier, 1998 ^a	Minas Gerais	6 m - 6 a	400	47,2
Devincenzi, 1999	São Paulo	<36 m	**	63,1
Monteiro <i>et al.</i> , 2000	São Paulo	6-59 m	1256	46,9
Sigulem <i>et al.</i> , 2001 ^a	São Paulo	<24 m	**	66,7
Ribeiro, 2001 ^a	São Paulo	13-14 m	**	69,0
Nogueira-de-Almeida <i>et al.</i> , 2001	São Paulo	12-72 m	115	68,7
Lacerda et Cunha, 2001	Rio de Janeiro	12-18 m	288	50,0
Silva <i>et al.</i> , 2001	Minas Gerais	0-36 m	266	47,8
Lessa <i>et al.</i> , 2003	São Paulo	12-26 m	57	69,5
Miranda <i>et al.</i> , 2003	Minas Gerais	12-60 m	171	63,2
Almeida <i>et al.</i> , 2004	Espirito Santo	6-60 m	119	65,2
Capanema, 2001 ^a	Minas Gerais	6 m - 6 a	322	47,8
Matta <i>et al.</i> , 2005	Rio de Janeiro	0-60 m	865	47,3
Spinelli <i>et al.</i> , 2005	Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo	6-12 m	2715	65,4
Torres <i>et al.</i> , 2006	São Paulo	3-6 m	242	37,5
Silva <i>et al.</i> , 2007	Minas Gerais	6-12 m	204	57,6
Engstrom <i>et al.</i> , 2008	Rio de Janeiro	5-12 m	297	60,64
Camillo <i>et al.</i> , 2008	Minas Gerais	6-72 m	211	46,6
Coutinho <i>et al.</i> , 2008	São Paulo	6-24 m	108	75,0
Shibukawa <i>et al.</i> , 2008	São Paulo	12-18 m	118	41,5
Bagni <i>et al.</i> , 2009	Rio de Janeiro	12-60 m	254	45,4

* Âge (a - ans et m - mois).

** Données non disponibles.

^a Publications citées dans des compilations de recherches développées au Brésil (Devincenzi *et al.*, 1999; Lira et Ferreira, 2007).

Tableau 5 – Prévalence d’anémie ferriprive chez des enfants de moins de six ans au Nord, Centre-Ouest et Sud du Brésil, selon les études sélectionnées

Source	Etat	Âge*	Échantillon (n)	Anémie (%)
Nord				
Neves <i>et al.</i> , 2005	Pará	6-24 m	365	55,1
Spinelli <i>et al.</i> , 2005	Acre e Amazonas	6-12 m	464	65,3
Orellana <i>et al.</i> , 2006	Rondônia - Mato Grosso	6-59 m	268	84,0
Centre-Ouest				
Brunken <i>et al.</i> , 2002	Mato Grosso	<3 a	271	63,1
Hadler <i>et al.</i> , 2002	Goiás	6-12 m	110	60,9
Brunken <i>et al.</i> , 2004	Mato Grosso	0-36 m	178	41,0
Morais <i>et al.</i> , 2005	Mato Grosso	6-120 m	167	62,3
Spinelli <i>et al.</i> , 2005	Mato Grosso e Brasília	6-12 m	447	60,2
Hadler <i>et al.</i> , 2008	Goiás	6-24 m	219	56,1
Sud				
Neuman <i>et al.</i> , 2000	Santa Catarina	<36 m	476	54,0
Silva <i>et al.</i> , 2001	Rio Grande do Sul	<36 m	557	47,8
Uchimura <i>et al.</i> , 2003	Paraná	<12 m	587	58,0
Santos <i>et al.</i> , 2004	Rio Grande do Sul	<6 a	304	53,0
Kmetiuk, 2005	Paraná	<6 a	156	42,9
Spinelli <i>et al.</i> , 2005	Paraná e Rio Grande do Sul	6-12 m	486	59,7
Vitolo et Bortolini, 2007	Rio Grande do Sul	6-12 m	369	63,7

* Âge (a - ans et m - mois).

1.3. Facteurs associés qui affectent la prévalence de l’anémie ferriprive à l’enfance

L’anémie ferriprive chez l’enfant a pour origine une combinaison de facteurs qui affectent l’équilibre de l’organisme entre ingestion, besoins et pertes en fer (Ramakrishnan et Yip, 2002). D’une manière générale l’anémie ferriprive est étroitement liée aux problèmes socio-économiques et à ses déterminants immédiats. Cependant, au niveau d’une population, les facteurs de risque de

l'anémie ferriprive sont essentiellement en rapport avec les aspects physiologiques, pathologiques et nutritionnels.

Au Brésil, les études de santé publique associent l'anémie ferriprive à la partie de la population possédant un faible revenu, vivant plutôt dans des régions rurales, dont les conditions d'habitation sont précaires, ne bénéficiant pas de l'assainissement public et dans laquelle la mère de famille possède un faible niveau scolaire (Lira *et al.*, 1985; Assis *et al.*, 1997; Neuman *et al.*, 2000; Osório *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2004; Lima *et al.*, 2004; Spinelli *et al.*, 2005).

1.3.1. Aspects physiologiques durant la grossesse, l'allaitement et la diversification alimentaire

Les aspects physiologiques sont ceux qui affectent les équilibres entre ingestion, absorption et mise en réserve du fer et qui permettent la couverture des besoins en fer caractéristiques d'un état physiologique (Cançado et Guerra, 2006).

Les besoins en fer sont considérablement augmentés durant la grossesse (FAO/WHO, 1989; Hercberg *et al.*, 2001), du fait de l'augmentation physiologique de la masse érythrocytaire foetale (nécessitant environ 500 mg de fer), de la constitution des tissus (environ 90 mg) et du placenta (environ 25 mg). Ces besoins spécifiques viennent s'ajouter à la compensation des pertes basales (soit 220 mg pour l'ensemble de la gestation). Au total, c'est de plus de 1000 mg de fer dont la femme enceinte a besoin pour équilibrer son bilan en fer au cours de la grossesse, ce qui correspond à des besoins journaliers de 2,5 à 5,2 mg en fonction du niveau des réserves en fer au début de la gestation (Coudray et Hercberg, 2001). Le stockage du fer d'origine maternelle s'effectue chez le fœtus pendant le troisième trimestre de la grossesse (Beaufrère *et al.*, 2001). La carence du minéral dans la diète se répercute sur les réserves en fer maternelles, augmentant la mobilisation des stocks pour garantir les besoins du fœtus (Hallberg, 2001). Les besoins en fer sont peu importants chez l'enfant né à terme pendant les 3 à 4 premiers mois de sa vie en raison de l'hémolyse physiologique néonatale, qui permet la mobilisation puis la réutilisation métabolique du fer contenu dans les GR (Beaufrère *et al.*, 2001). En revanche, les enfants prématurés ont un risque élevé de carence en fer en raison du fait que le stockage du fer s'effectue chez le fœtus lors du 3ème trimestre de la grossesse (Beaufrère *et al.*, 2001; Beard, 2003).

Les enfants nés à terme ont leurs besoins physiologiques pleinement satisfaits pendant les six premiers mois de vie par l'allaitement maternel du fait de la grande biodisponibilité du fer présent dans le lait (Monteiro *et al.*, 2000a; Beaufrère *et al.*, 2001; Osório *et al.*, 2001; Romani et Lira, 2004). Si la durée d'allaitement exclusif est écourtée, la biodisponibilité du fer d'une alimentation diversifiée ou d'un lait artificiel étant généralement plus faible, la carence en fer peut apparaître entraînant une anémie ferriprive (Cardoso, 2006; Lira et Ferreira, 2007). Certains ont observé que le risque d'anémie est plus grand chez les enfants recevant un allaitement artificiel, ce qui est attribué à la moins grande quantité et la faible biodisponibilité du fer des formules lactées offertes, notamment dans les PED (Lira et Ferreira, 2007). D'autres ont montré que l'introduction précoce du lait de vache représentait un facteur de risque pour la carence en fer car, outre sa teneur faible en fer, ce lait causerait des saignements gastro-intestinaux (WHO, 2001).

En raison de la croissance staturopondérale importante entre 4 mois et 3 ans, les besoins en fer sont plus élevés, pouvant même provoquer l'apparition d'anémie. Le risque de carence en fer est plus important chez les enfants de 6 à 12 mois, période à laquelle les besoins en fer connaissent une augmentation de l'ordre de 50 à 70% due à la croissance des tissus. A 1 an, l'enfant a des besoins en fer comparables à ceux d'un homme adulte (ANC de 7 mg/j contre 9 mg/j chez adulte d'après Coudray et Hercberg, 2001). À partir du sixième mois de vie, la diversification alimentaire joue donc un rôle décisif pour couvrir les besoins en fer (Osório *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2006). La transition entre l'allaitement exclusif et l'alimentation de base de la famille représente donc pour les enfants une période de vulnérabilité, Elle nécessite des aliments complémentaires appropriés présentant une grande densité énergétique et contenant des nutriments hautement biodisponibles (Davidsson, 2003).

1.3.2. Aspects pathologiques

Ce sont des facteurs qui agissent sur l'augmentation de la prévalence d'anémie, soit par perte de sang, soit à cause d'une diminution de l'absorption du fer. Les plus importants sont présentés ci-après.

1.3.2.1. Infestations parasitaires

Les infestations parasitaires peuvent jouer un rôle important dans l'étiologie de l'anémie ferriprive (Cardoso, 2006). Des études montrent en effet que les vers intestinaux causent l'anémie, surtout chez les populations des régions tropicales et subtropicales qui représentent la grande majorité des PED (Caçado et Guerra, 2006).

En termes d'infestations on accepte la perte de 1,2 mg par jour pour 1.000 œufs par gramme de fèces pour le *A. duodenale* et 0,8 mg par jour pour 1.000 œufs par gramme de fèces de *Necator americanus*. Ceci signifie, en termes pratiques, un milligramme par jour pour 1.000 œufs par grammes de fèces. Quant au *Trichuris trichiura*, on admet la perte de 0,25 mL de sang pour 1.000 œufs par grammes de fèces. Les auteurs parlent encore d'anémie ferriprive en conséquence de *Schistosoma mansoni* par multiples mécanismes tels que: processus inflammatoires intestinaux, fibrose hépatique, hypertension portale et hémorragie (Caçado et Guerra, 2006).

On admet que la verminose ait une importance secondaire dans l'étiopathogénie de l'anémie ferriprive, fait de grande valeur du point de vue socio-économique et de santé publique (Caçado et Guerra, 2006).

D'autres infections, chroniques ou récurrentes, peuvent interférer sur l'ingestion ou dans l'utilisation du fer. Dans ces infections sont inclus la diarrhée chronique et le paludisme (Gillespie, 1998; Cardoso, 2006).

L'apparition de diarrhée à l'enfance, même dans des situations modérées, a un rapport avec le plus petit taux d'absorption de fer, dont la conséquence est la réduction dans la concentration d'hémoglobine (Reeves *et al.*, 1984; Levy *et al.*, 2005). La diarrhée peut causer perte sanguine intestinale et l'apparition récente de cette infection est suggérée comme une marque de diarrhée chronique (Beresford *et al.*, 1971). Cependant, le rapport causal entre état nutritionnel de fer et susceptibilité à des infections, demeure controversé (Walter *et al.*, 1997).

Le paludisme cause la rupture des érythrocytes parasités et normaux, hyperfonction du réticule endotéliale et compromission de l'érythropoïèse. L'infection malarique pouvant donc aggraver une carence pré-existante en fer (Cardoso *et al.*, 1994).

L'apparition de diarrhées – même modérées – chez l'enfant peut avoir pour conséquence une diminution de l'absorption du fer accompagnée d'une baisse de l'hémoglobininémie (Reeves *et al.*, 1984; Levy *et al.*, 2005). Beresford *et al.*, 1971 ont observé que la diarrhée chronique peut être la cause de la présence précoce de sang dans les selles. Cependant, le lien causal entre statut martial et syndrome diarrhéique est controversé (Walter *et al.*, 1997), car la diarrhée chronique implique un syndrome inflammatoire qui génère l'anémie et de profonds changements dans le métabolisme du fer en grande partie médié par les cytokines de l'inflammation.

Le paludisme peut aggraver une carence pré-existante en fer, car il entraîne l'éclatement des GR parasités et affecte l'érythropoïèse. L'infection paludique et la carence en fer sont des causes importantes de l'anémie au Brésil (Cardoso *et al.*, 1994).

La présence de *Helicobacter pylori* au niveau préduodéal est associée chez des enfants à l'anémie ferriprive (Fernández-Bañares *et al.*, 2009). Fayed *et al.* (2008) montrent que la prévalence de *H. pylori* avec anémie ferriprive chez l'enfant est de 48 % en Egypte.

1.3.3. Aspects nutritionnels

La carence en fer est la plus fréquente des carences nutritionnelles et la principale cause de l'anémie dans les pays en développement. Elle atteint 20 à 30 % des enfants au cours des 3 premières années de la vie, en particulier dans certains groupes à risque de la population: antécédents de prématurité, retard de croissance intra-utérin, gémellité, multiparité, intervalle entre les 2 dernières grossesses inférieur à 2 ans (Beaufrère *et al.*, 2001; Cardoso, 2006; Cançado et Guerra, 2006).

Chez l'homme, les voies de pénétration du fer dans la muqueuse intestinale sont différentes, selon que le fer alimentaire est sous forme héminique ou non héminique. Le fer héminique, qui fournit de 10 à 15 % du fer alimentaire

consommé dans les pays industrialisés, se trouve dans l'hémoglobine et la myoglobine des produits carnés. Il est particulièrement biodisponible (environ 25 %). Le fer non héminique se trouve dans les céréales, les légumes secs, les fruits, les légumes et les produits laitiers. L'absorption du fer non héminique est très variable (souvent très inférieure à 10 %) et dépend de la nature du repas (Coudray et Hercberg, 2001; Cardoso, 2006).

L'anémie, plus fréquente dans les pays en développement, est due surtout au fait que le fer absorbé provient majoritairement des végétaux et non des animaux comme dans les pays développés (Cançado et Guerra, 2006).

Les constituants du régime qui interfèrent sur la biodisponibilité du fer intraluminal peuvent être classés en stimulateurs et inhibiteurs de l'absorption du fer (Cardoso, 2006).

Certains facteurs affectent la biodisponibilité du fer non héminique. Selon ces facteurs, l'absorption du fer peut varier de 1 à 20 % chez des individus ayant un statut en fer comparable. La viande, la volaille, les poissons et différents acides organiques, la vitamine C, stimulent l'absorption du fer non héminique. En revanche, les polyphénols – et en particulier les tannins –, les phytates, le calcium, le zinc et certains types de protéines, ainsi que différentes formes de fibres alimentaires, diminuent l'absorption du fer non héminique. Parmi les aliments qui contiennent ces substances et dont on a pu vérifier expérimentalement qu'elles altèrent l'absorption du fer, il est possible de citer le thé, le café, le jaune d'oeuf et le son. Enfin, l'absorption du fer non héminique est également influencée par le statut en fer de l'organisme: des réserves faibles en fer contribuent à augmenter son absorption, mais ce phénomène compensatoire est limité (Coudray et Hercberg, 2001; Hallberg, 2001; Cardoso, 2006).

Les teneurs en fer du lait de femme et du lait de vache sont respectivement de l'ordre de 0,5 et 1 mg/L. L'absorption intestinale du fer provenant du lait de femme est élevée, de l'ordre de 30-50 % alors, voire plus, alors que seulement 5 à 10 % du fer contenu dans le lait de vache est absorbé. Il est possible que la faible biodisponibilité du fer du lait de vache soit due aux teneurs plus élevées en calcium et phosphoprotéines, elles-mêmes associées à de plus faibles teneurs en vitamine C que celles du lait de femme (Cardoso, 2006). En conformité avec ce

qui a été dit précédemment, aucun complément en fer n'est nécessaire chez l'enfant né à terme et nourri au sein jusqu'à l'âge de 6 mois (Makrides *et al.*, 1998).

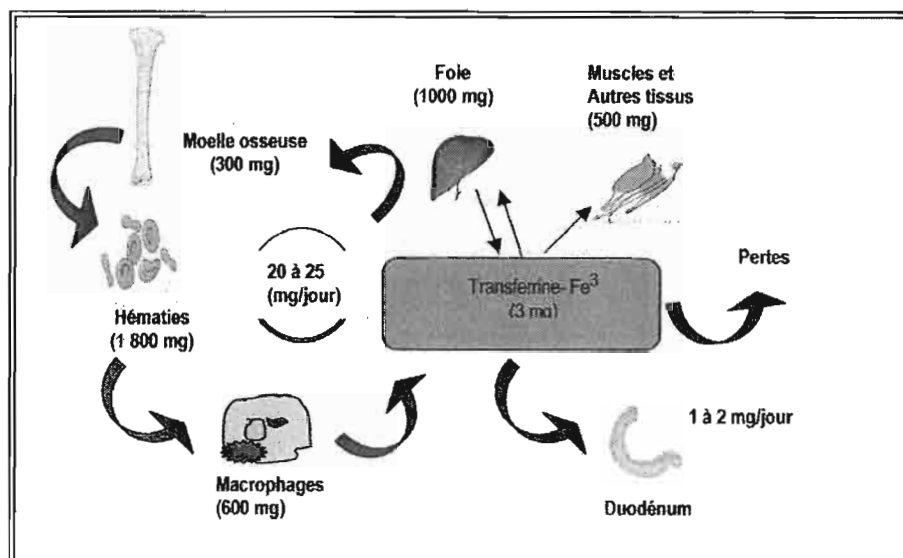
2. Caractéristique générale du fer

Le fer est le 3ème métal le plus abondant de la terre, après la silice et l'aluminium (Harrison et Arósio, 1996). C'est un oligo-élément indispensable à la vie. Il joue un rôle crucial dans des processus vitaux tels que le transport de l'oxygène, le transfert des électrons et la catalyse enzymatique. Son métabolisme est caractérisé par un recyclage permanent, permettant de satisfaire les besoins quotidiens. Dans toutes les étapes du métabolisme (transport extracellulaire, échanges intracellulaires, passage trans-membranaire, stockage), le fer est obligatoirement lié à des protéines appropriées afin d'éviter l'action pro-radicalaire toxique du fer ferreux (Fe^{2+}) (Omar *et al.*, 2006 ; voir aussi la partie Objectifs et justifications de ce mémoire).

Chez l'homme, le pool total de fer est estimé à environ 35 à 45 mg/kg, soit approximativement 3 à 5 g chez un adulte de 70 kg (Andrews, 1999; 2000; Lafond et Arnaud, 2000). Le fer est principalement localisé au niveau des érythroblastes médullaires et des hématies circulantes (2100 mg), ce qui représente 50 à 60 % du pool total. Le reste est réparti entre les hépatocytes et les macrophages du système réticulo-endothélial (1600 mg), principaux sites de stockage du fer, et la myoglobine des muscles squelettiques (300 mg). Une faible partie (10 mg) est combinée à diverses protéines héminiques et non héminiques cellulaires (Brissot *et al.*, 1998; Lafond et Arnaud, 2000; Omar *et al.*, 2006). Le fer circulant, qui intervient dans les échanges entre les différents sites d'utilisation et de stockage, constitue la fraction la plus faible (4 mg), ce qui correspond à environ 0,1 % du pool total. Les échanges s'effectuent principalement entre les GR et les macrophages du système réticulo-endothélial avec un turnover quotidien évalué à 20 mg. Les macrophages phagocytent les hématies sénescents et dégradent leur hémoglobine. Le fer libéré est soit stocké dans la ferritine, soit relargué dans la circulation lié à l'apo-transferrine en vue d'une réutilisation médullaire (Andrews, 2000). L'activité ferroxidasique de la céruloplasmine est impliquée dans ces échanges, mais son intervention est encore mal comprise. Parallèlement, il existe des échanges plus faibles (5 mg/jour) entre les hépatocytes et le fer circulant

(Andrews, 2000). Ces échanges obligatoires assurent le recyclage permanent et la constance de la sidéremie dans les différents compartiments de l'organisme (Figure 2).

Figure 2 - Distribution et recyclage du fer dans l'organisme

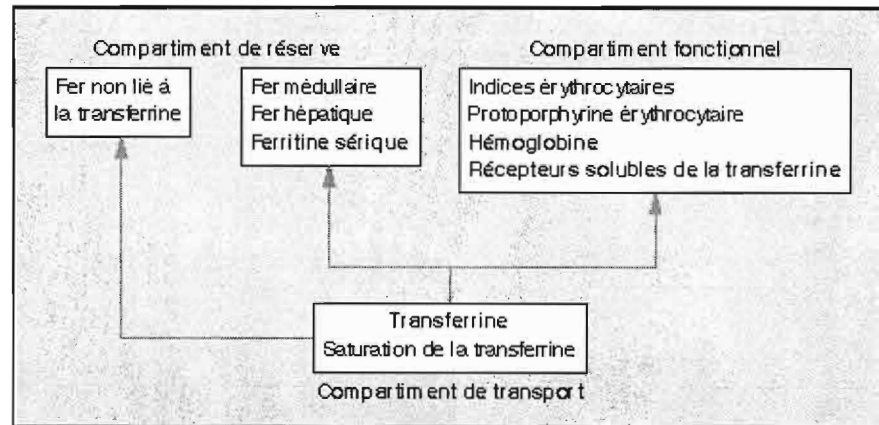


D'après Omar *et al.*, 2006 (Ann Biol Clin 2006; 64:523-34)

Le fer est principalement localisé au niveau de l'érythron (défini comme la masse totale des GR, de ces précurseurs et des tissus qui les produisent) et des sites de stockage (macrophages et foie). La transferrine assure la captation du fer libéré essentiellement par les macrophages et sa distribution aux différents tissus, particulièrement la moelle osseuse. Seule une faible quantité de fer est absorbée au niveau intestinal, permettant de compenser les pertes inévitables. La majeure partie du fer fonctionnel provient du recyclage macrophagique (Omar *et al.*, 2006).

Le fer se répartit schématiquement en trois compartiments principaux: le compartiment fonctionnel, le compartiment de réserve et le compartiment de transport. Le compartiment fonctionnel est le fer impliqué dans le métabolisme cellulaire. Il est principalement contenu dans l'hémoglobine et la myoglobine. La diminution du contenu en fer de ce compartiment conduit à l'anémie responsable des principales manifestations cliniques: altération de la résistance à l'effort, des capacités intellectuelles (Cook et Lynch, 1986; Vernet, 1999). Les différents paramètres biologiques utilisables sont rappelés sur la Figure 3.

Figure 3 - Modes d'investigation des compartiments métaboliques du fer



D'après Vernet, (Ann Biol Clin 1999; 57:9-18)

Le compartiment de réserve est le fer séquestré dans la ferritine et l'hémosidérine sous forme non toxique. Il ne joue aucune fonction précise si ce n'est de pourvoir le compartiment fonctionnel en fonction des besoins.

Ces deux compartiments sont reliés par un compartiment de transport, principalement sous forme de transferrine. Lorsque les réserves sont épuisées et que les besoins du compartiment fonctionnel excèdent l'absorption, le niveau du fer lié à la transferrine s'effondre. Inversement, quand les réserves sont surchargées, le compartiment circulant est totalement saturé entraînant une production anormale de fer non lié à la transferrine capté par les hépatocytes (Vernet, 1999).

2.1. Métabolisme du fer

Pour que le fer soit utilisé par l'organisme, il faut qu'il soit capté, internalisé dans la cellule où il doit être sous une forme soluble. Dans l'organisme humain, les principales protéines qui ont la fonction de capter, transporter et stocker le fer, garantissant sa biodisponibilité, sont: la protéine HFE et l'hepcidine (captation), la transferrine et la protéine de transport de métal divalent 1 (divalent metal transporter 1 ou DMT1) (transport), la ferritine et l'hémosidérine (stockage) (Sheth et Brittenham, 2000; Beaumont, 2004; Donovan et Andrews, 2004).

2.1.1. La transferrine

La majorité du fer plasmatique est lié à la transferrine (Tf sous forme de fer ferrique Fe^{3+}). Cette glycoprotéine d'environ 80 kD est constituée de 679 acides aminés (AA). Son gène est situé au niveau du chromosome 3 (Andrews, 2000). Elle est synthétisée essentiellement au niveau du foie (Beard *et al.*, 1996; Ponka *et al.*, 1998; Ponka, 1999). La transferrine existe sous 4 formes circulantes d'abondance décroissante: l'apo-transferrine, la Tf monoferrique fixant un atome de fer à l'extrémité N-terminale, la Tf diferrique et la Tf monoferrique fixant un atome de fer à l'extrémité C-terminale. Au niveau du plasma (pH alcalin) (Sheth et Brittenham, 2000) chaque molécule de Tf peut lier au maximum 2 atomes de fer (Ponka *et al.*, 1998; Ponka, 1999). À l'opposé, à pH acide (vacuoles d'endocytose intracellulaires), le fer est libéré de la Tf. Dans les conditions physiologiques, environ un tiers des sites de Tf sont occupés et seulement 10% de la protéine est à l'état diferrique (Ponka *et al.*, 1998).

La transferrine capte le fer des cellules de la muqueuse gastro-intestinale et le transporte surtout vers les cellules spécialisées dans la synthèse d'hémoglobine. La Tf capte aussi le fer des dépôts de stockages dans le recyclage journalier des réserves de fer (Aisen, 1982; Harrison et Arosio, 1996). La liaison du fer à la Tf nécessite l'intervention d'une activité ferroxidasique (notamment celle de la céruloplasmine (Ponka, 1999). Parallèlement à la captation du fer tissulaire, la Tf permet de délivrer le fer à l'ensemble des tissus, surtout à la moelle osseuse, dont l'approvisionnement en fer est strictement tributaire de la Tf (Ponka *et al.*, 1998; Ponka, 1999).

La liaison de la transferrine au fer contribue à protéger l'organisme de l'intoxication par fer élémentaire et augmente sa solubilité dans le plasma (Aisen, 1982).

La saturation de la transferrine est déterminée dans le plasma par la quantification sites disponibles de liaison du fer, constituant la capacité totale de liaison du fer – CTLF du plasma. Dans des circonstances normales, seul un tiers de la CTLF se trouve saturé, la quantité totale de transferrine dans le plasma étant d'environ 300 mg/100 ml (Duffy, 2005).

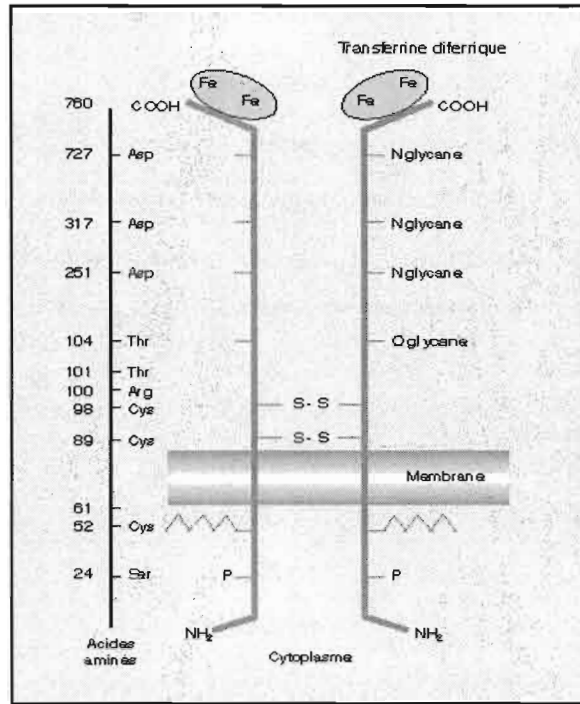
2.1.2. Le récepteur soluble de la transferrine

Le récepteur de la transferrine (TfR) est une glycoprotéine transmembranaire ubiquitaire (mais elle est absente des GR matures), de structure homodimérique, de masse moléculaire égale à 190 kDa (Trowbridge *et al.*, 1984; Andrews, 2000; Cançado et Guerra, 2006). Chaque monomère contient 760 acides aminés répartis en trois domaines: le domaine cytoplasmique comporte l'extrémité amino-terminale, il contient 61 acides aminés ; le domaine transmembranaire contient 28 acides aminés à prédominance hydrophobique; et le domaine carboxyterminal extracellulaire contient 671 acides aminés (May et Cuatrecasas, 1985; Baynes *et al.*, 1994). Les deux monomères sont unis par deux ponts disulfure en position 89 et 98 (Vernet, 1999; Andrews, 2000).

Le récepteur de la transferrine est une protéine indispensable à l'internalisation du fer lié à la transferrine. La charge en fer de la transferrine exerce un rôle majeur dans l'affinité du récepteur pour son ligand. La constante d'association de la transferrine diférique est respectivement 30 fois et 500 fois plus élevée que celle de la transferrine monoférique ou celle de l'apo-transferrine (Ponka *et al.*, 1998). Il en résulte que l'apport de fer aux cellules s'effectue principalement par la transferrine diférique dont la concentration circulante dans le plasma normal est suffisante pour saturer tous les TfR. Chaque molécule de récepteur internalise 4 atomes de fer (Vernet, 1999).

La Figure 4 montre la structure du récepteur de la transferrine. L'extrémité aminotermine est dans le cytoplasme. Le domaine extracellulaire comporte deux ponts bisulfure unissant les deux monomères, trois sites de N-glycosylation et un site d'O-glycosylation. Le récepteur sérique circulant (sTfR) est une forme du TfR tronquée par protéolyse entre les acides aminés 100 et 101 (Vernet, 1999). Sa concentration plasmatique est proportionnelle à la concentration de TfR dans la membrane plasmique.

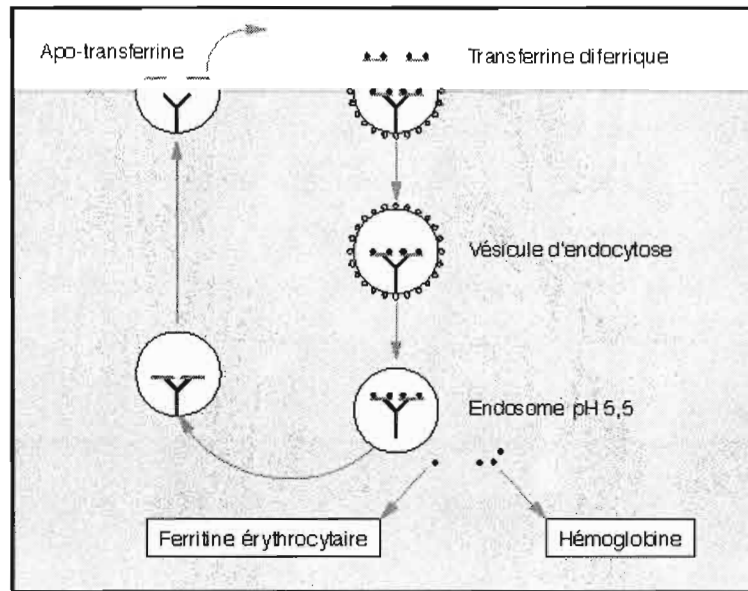
Figure 4 - L'organisation générale de la molécule



D'après Vernet, (Ann Biol Clin 1999; 57:9-18)

Les TfR liés au ligand sont concentrés dans les puits tapissés de clathrine (clathrin-coated pits) qui se trouvent dans la membrane plasmique des cellules, et l'intégrité de la membrane est indispensable à l'endocytose. On ignore les éléments déclenchant ce phénomène, le calcium et la calmoduline pourraient initier l'endocytose. Les puits contenant le complexe transferrine-récepteur s'invaginent pour former des vésicules d'endocytose (**Figure 5**) ou endosomes qui subissent une protonation progressive ATPase-dépendante.

Figure 5 – Cycle d'endocytose de la transferrine diferrique



D'après Vernet, (Ann Biol Clin 1999; 57:9-18)

Le pH plus acide du compartiment intracellulaire entraîne une libération du fer dans le cytosol qui rejoint un pool métabolique labile mal défini. Dans les cellules érythroïdes médullaires, la majeure partie du fer libéré est utilisée pour la synthèse de l'hémoglobine, tandis que l'excès est mis en réserve sous forme de ferritine (Huerbes et Finch, 1987). Au pH acide de l'endosome, l'apo-transferrine a une forte affinité pour le récepteur, le complexe apo-transferrine-récepteur échappant à la digestion lysosomiale retourne à la surface de la cellule. A ce niveau, le pH devient neutre ou faiblement alcalin, ce qui entraîne une chute de l'affinité et une dissociation du complexe et la transferrine retourne dans le plasma. Le transit du complexe Tf-TfR ne dure que 10 min (Thorstensen et Romslo, 1990). On estime que le tiers des TfR se trouve à la surface des cellules, les deux tiers restants sont impliqués dans le phénomène d'endocytose (Huerbes et Finch, 1987; Sheth et Brittenham, 2000).

Chez le nouveau-né, la concentration de sTfR est plus du double de celle de l'adulte (Kuiper-Kramer *et al.*, 1998). Il n'existe aucune corrélation avec le poids de naissance. Il est possible que les sTfR expriment non seulement l'activité médullaire érythropoïétique, mais aussi la prolifération d'autres types cellulaires.

La variabilité biologique intra-individuelle de sTfR a été étudiée, soit sur une durée d'un mois avec prélèvement hebdomadaire, soit durant un an avec prélèvement mensuel. Elle est élevée (entre 12 et 15 %), proche du double de la variabilité due à l'analyse. Elle est nettement inférieure à celle de la ferritine, du fer et du coefficient de saturation de la transferrine (Cooper et Zlotkin, 1996; Maes *et al.*, 1997), ce qui constitue l'une des justifications de son utilisation dans le diagnostic de l'anémie ferriprive.

2.1.2.1. Le récepteur soluble de la transferrine et carence en fer

La carence en fer s'accompagne d'une augmentation des sTfR par mise en jeu du mécanisme régulateur post-transcriptionnel consécutif à la diminution du contenu intracellulaire en fer. Elle intervient plus précocement que les modifications du volume globulaire moyen, de l'indice de distribution des érythrocytes, de la protoporphyrine érythrocytaire. Le nombre de récepteurs circulants est normalement conditionné par la taille du secteur médullaire érythroïde, diminué dans les hypoplasies et augmenté dans les hyperplasies (Vernet, 1999).

2.1.2.2. Le récepteur soluble de la transferrine et évolution de la carence en fer

Le degré de carence en fer nécessaire pour induire une augmentation des sTfR a été établi en soumettant des sujets sains et volontaires à des saignées répétées (Skikne *et al.*, 1990). Il est observé une chute rapide de la ferritine sérique durant la phase de déplétion des réserves, contrastant avec la stabilité des sTfR. Lorsque la ferritinémie atteint une valeur sub-normale, la concentration des sTfR augmente. Cette augmentation se poursuit tout au cours des saignées alors que la ferritine sérique reste constante et effondrée. Elle signe la carence tissulaire en fer fonctionnel (Cook et Lynch, 1986).

La carence en fer évolue donc selon trois étapes essentielles:



2.1.3. La ferritine

La ferritine, protéine de stockage du fer. Les systèmes d'acquisition du fer ont considérablement évolué entre les espèces et se sont adaptés à la forme chimique sous laquelle le fer se trouve dans l'environnement (Nelson, 1999). La ferritine est constituée d'une protéine dénommée apo-ferritine et par le fer. L'apo-ferritine est une protéine sphérique de poids moléculaire d'environ 450000 daltons, qui communique avec la superficie intracellulaire de l'entérocyte par six canaux, par lesquels le fer peut entrer ou sortir et se déposer sous la forme de microcristaux d'oxyde ferrique (Baynes *et al.*, 1994; Harrison et Arosio, 1996). Chaque molécule de ferritine peut stocker jusqu'à 4500 atomes de fer (Sheth et Brittenham, 2000). La concentration de la ferritine reflète les réserves de fer à l'intérieur de la moelle osseuse (Harrison et Arosio, 1996; Duffy, 2005).

L'apo-ferritine est composée de 24 sous-unités qui peuvent être de deux types: sous-unités H - de haut poids moléculaire et sous-unité L - de bas poids moléculaire (Harrison et Arosio, 1996). Les apo-ferritines plus riches en sous-unités L sont trouvées surtout dans le foie, la rate et dans le placenta. Les apo-ferritines plus riches en sous-unités H sont trouvés dans le cœur, dans les erythrocytes, dans les lymphocytes et dans les monocytes (Halliday *et al.*, 1994).

Harrison *et al.* (1987) décrivent que lorsque le fer de l'organisme augmente, il existe une élévation préférentielle de la synthèse des apo-ferritines riches en sous-unités L, qui constituent la principale forme de stockage du fer.

La mobilisation du fer de la ferritine demande l'action d'agents chélatants et réducteurs comme l'acide ascorbique, le glutathion et la cystéine qui pénètrent dans l'intérieur de la molécule par les canaux de la ferritine, atteignant son noyau dans lequel ils réduisent le fer ferrique en fer ferreux (Harrison *et al.*, 1987).

La diminution des réserves de fer de l'organisme est suivie de la réduction de la ferritinémie et, de l'augmentation simultanée de l'expression des récepteurs de la transferrine (Punnonen *et al.*, 1997; Suminen *et al.*, 1998; Thomas et Thomas, 2002; Marković *et al.*, 2007).

2.1.4. Hémosidérine

L'hémosidérine est également une protéine de stockage du fer strictement cellulaire que l'on trouve essentiellement dans les lysosomes des cellules phagocytaires de type histiocytaire et des cellules de Kupffer dans le foie. A l'inverse de la ferritine, elle est insoluble et se colore en rouge en présence du bleu de Prusse (Halliday *et al.*, 1994; Harrison et Arosio, 1996).

Le fer libéré de la ferritine qui n'est pas utilisé immédiatement à des fins métaboliques s'assemble en « grumeaux ». Ces grumeaux s'agglutinent à leur tour dans les lysosomes associés à l'hémosidérine, protéine encore mal connue qui serait un complexe constitué notamment de ferritine et de ferritine dénaturée (Halliday *et al.*, 1994; Harrison et Arosio, 1996).

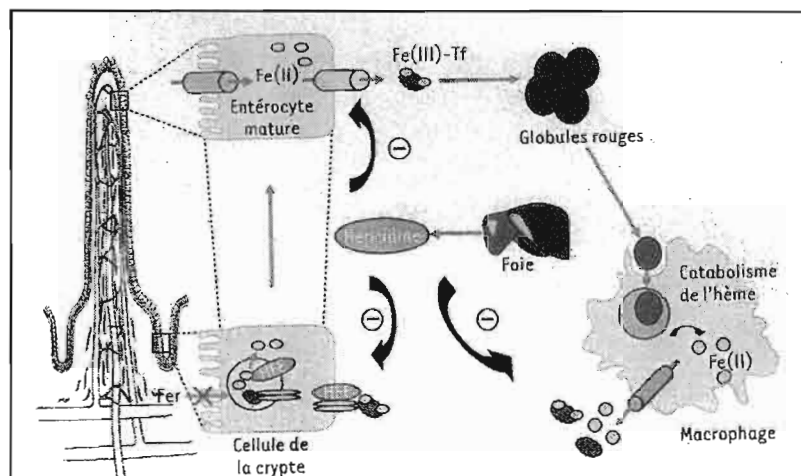
2.1.5. La protéine HFE et l'hepcitine

La protéine HFE, dont une mutation est responsable de l'hémochromatose génétique, est une molécule HLA de classe I non classique (Feder *et al.*, 1996). La protéine HFE est exprimée à la surface de la plupart des cellules de l'organisme (à l'exception du cerveau), en particulier celles des cryptes duodénales. C'est précisément au niveau du duodénum que l'absorption du fer est maximale (Sheth et Brittenham, 2000).

Des expériences de co-cristallisation et de co-immunoprécipitation ont clairement démontré que la protéine HFE s'associe avec le récepteur de la transferrine (Andrews, 1999; Ramalingam *et al.*, 2000), facilitant ainsi l'endocytose du complexe fer-apo-transferrine et modulant la quantité de fer reçue par les cellules. La mutation Cys282Tyr de la protéine HFE, retrouvée chez la majorité des patients atteints d'hémochromatose héréditaire, empêche son ciblage à la membrane et conduit à sa dégradation rapide. L'absence d'HFE fonctionnelle diminuerait la quantité de fer reçue par les cellules, en particulier par les cellules indifférenciées des cryptes duodénales, qui percevraient cette situation comme un signal de carence en fer et continueraient à exprimer les protéines de transport du fer, malgré des réserves en fer tissulaires supérieures à la normale (Figure 6). Ce modèle a cependant été remis en question par la découverte récente de l'hepcidine, un régulateur majeur de l'homéostasie du fer, et par la mise en

évidence du rôle de la protéine HFE dans l'expression de l'hepcidine (Beaumont, 2004; Darshan et Anderson, 2007).

Figure 6 – Régulation de l'homéostasie du fer



D'après Beaumont, (Medicine/Sciences 2004; 20:68-72)

Une autre explication pourrait en effet être avancée. L'hepcidine augmente, directement ou indirectement, l'exportation du fer hors des cellules. (Nicolas *et al.*, 2001). Il est proposé que, dans le cas où la protéine HFE fonctionnelle fait défaut, l'activation de la synthèse d'hepcidine habituellement due à l'augmentation des réserves en fer ne se déroule plus normalement, entraînant une surcharge en fer (Beaumont, 2004).

L'hepcidine est synthétisée par le foie sous forme d'un précurseur de 80 acides aminés, puis sécrétée dans le plasma sous forme d'un peptide mature de 20-25 acides aminés fortement réticulé en raison de la présence de 4 ponts disulfure (Hunter *et al.*, 2002; Darshan et Anderson, 2007). La confirmation de son rôle dans le contrôle de l'homéostasie du fer est venue de l'étude de souris qui présentaient accidentellement une inactivation du gène codant pour l'hepcidine (Nicolas *et al.*, 2001). Le défaut d'expression d'hepcidine entraîne chez les animaux une surcharge en fer progressive du foie et du pancréas, ainsi qu'une déplétion des réserves en fer des macrophages tissulaires. L'hepcidine circulante pourrait être le régulateur des dépôts en fer recherché, capable notamment de contrôler l'exportation du fer des entérocytes duodénaux et des macrophages. Son mode d'action précis est encore mal connu

L'importance de l'hepcidine chez l'homme a été démontrée par la mise en évidence de mutations inactivatrices de ce peptide chez deux familles atteintes d'hémochromatose juvénile (Roetto *et al.*, 2003). Par ailleurs, le passage transplacentaire du fer semble pouvoir être inhibé par l'hepcidine, puisque des souris transgéniques surexprimant l'hepcidine présentent une anémie néonatale sévère et meurent quelques heures après la naissance (Nicolas *et al.*, 2002a). La similarité phénotypique (surcharge hépatique en fer et diminution du contenu en fer des macrophages) des souris déficientes en protéine HFE ou déficientes en hepcidine a dès le début suggéré que les deux protéines intervenaient sur une même voie de transduction du signal entre le fer tissulaire et l'entérocyte. Cette hypothèse a été renforcée par la mise en évidence, chez la souris (Nicolas *et al.*, 2003) comme chez l'homme (Bridle *et al.*, 2003), d'un défaut d'activation de la synthèse d'hepcidine en réponse à une surcharge en fer lorsque la protéine HFE est mutée ou inactivée. L'ensemble de ces résultats suggère que la protéine HFE participe à la régulation de l'expression de l'hepcidine en réponse à la charge en fer de l'organisme. Des modèles murins, ainsi que des dosages d'hepcidine urinaire chez l'homme, ont montré que les états inflammatoires ou infectieux stimulent très fortement l'expression de l'hepcidine (Nemeth *et al.*, 2003; Nicolas *et al.*, 2002b), suggérant que celle-ci pourrait également contribuer aux anémies fréquemment associées à ces situations pathologiques (Darshan et Anderson, 2007).

Enfin, la répression de la synthèse de l'hepcidine observée au cours d'une anémie hémolytique expérimentale ou en situation d'hypoxie (Nemeth *et al.*, 2003) est probablement une condition nécessaire, mais pas nécessairement suffisante, à la stimulation de l'absorption intestinale du fer après activation de l'érythropoïèse. Il est intéressant de noter que les érythropoïèses inefficaces avec hémolyse intramédullaire stimulent très fortement l'absorption intestinale du fer, contrairement aux hémolyses périphériques (Andrews, 1999), par un mécanisme qui demeure inconnu (Beaumont, 2004).

2.1.6. Protéine de transport de métal divalent 1 ou DMT1

La DMT1 se situe au pôle apical des entérocytes duodénaux. Elle est considérée actuellement comme la principale protéine responsable du transport du fer de la lumière intestinale vers l'intérieur des entérocytes et de l'endosome de l'érythroblaste vers le cytoplasme (Andrews, 1999; Sheth et Brittenham, 2000; McKie *et al.*, 2001; Darshan et Anderson, 2007). Il s'agit d'une glycoprotéine transmembranaire monocaténaire à 12 domaines transmembranaires. La partie glycosylée se situe entre les domaines transmembranaires 7 et 8 (Andrews, 1999).

2.2. Absorption du fer

Un régime équilibré apporte quotidiennement 10 à 15 mg de fer, mais seul 10 à 20% du fer ingéré est absorbé (Brittenham, 1991; Brittenham *et al.*, 2001).

Nous avons vu précédemment que le fer est incorporé dans des protéines hémiques et non hémiques. Les principales protéines non hémiques sont les protéines fer-soufre (Fe-S), les enzymes ferro-dépendantes telles que la prolyl hydroxylase (biosynthèse du collagène), la ribonucléotide réductase (synthèse de l'ADN) et la xanthine oxydase (oxydation des purines en acide urique et réoxydation de la céruloplasmine), ainsi que la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase, impliquées dans la synthèse des eicosanoïdes (Brissot *et al.*, 1998). La majorité du fer fonctionnel est incorporée dans l'hème de l'hémoglobine où le fer participe à la fixation et à la libération de l'oxygène. Les autres protéines hémiques sont la myoglobine qui assure une réserve en oxygène pour le muscle squelettique, les catalases, les peroxydases qui jouent un rôle protecteur vis-à-vis des radicaux libres ainsi que les différents cytochromes, impliqués dans la respiration cellulaire ou le métabolisme cellulaire (Brissot *et al.*, 1998; Andrews, 2000; Hentze *et al.*, 2004). Le fer hémique est présent essentiellement dans les protéines animales sous forme de fer ferreux complexé à l'hémoglobine et la myoglobine (viande, foie, poisson). Le fer non hémique, en majorité à l'état ferrique, est présent principalement dans les oeufs et certains végétaux (riz, maïs, épinards et féculents).

L'absorption digestive du fer est maximale au niveau du duodénum (voir ci-dessus). Elle représente le principal facteur déterminant le capital de l'organisme

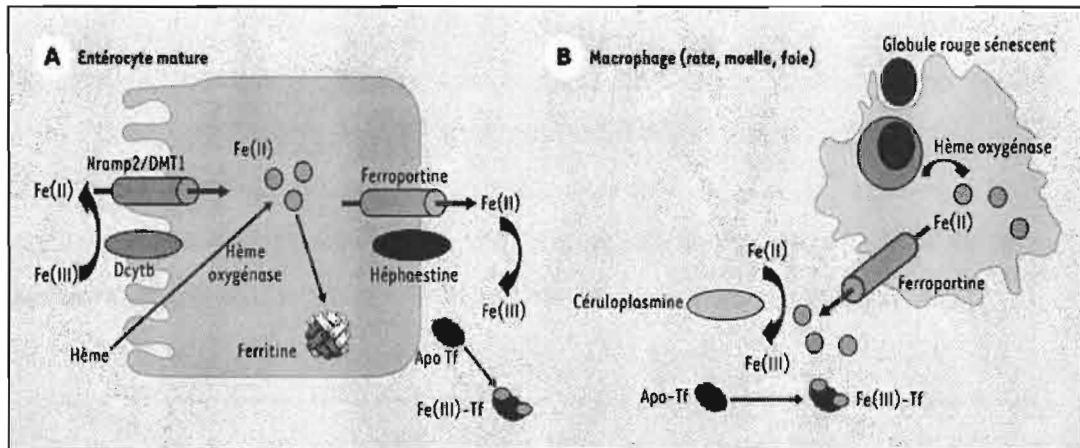
en fer. Elle met en jeu de nombreuses protéines de transport et de régulation (DMT1, la ferroportine - FPN, héphaestine, Dcytb, hepcidine et la protéine HFE). L'expression de ces protéines est régulée par des signaux renseignant sur les réserves et les besoins en fer, dont la nature et les mécanismes impliqués ne sont que partiellement connus (Omar *et al.*, 2006).

2.2.1. Les systèmes d'acquisition du fer contrôlent la charge en fer de l'organisme

Il n'existe pas de moyen pour l'organisme d'éliminer le fer absorbé en excès, et la constitution d'une surcharge en fer de l'organisme ne peut être évitée que par un contrôle fin de l'absorption intestinale (Figure 7A) et du recyclage macrophagique (Figure 7B). Les mécanismes de régulation de l'absorption intestinale du fer sont restés longtemps méconnus, mais des progrès notables ont été accomplis par l'identification du gène muté de la protéine HFE responsable de l'hémochromatose d'origine génétique, et dernièrement par la découverte de l'hepcidine, un peptide circulant jouant un rôle majeur dans l'homéostasie du fer.

Un modèle de régulation de l'absorption intestinale a été évoqué précédemment. Il suggère que les cellules indifférenciées de la crypte reçoivent des signaux émis par l'organisme, leur permettant d'exprimer, au cours de leur différenciation et de leur migration le long de la villosité intestinale, les protéines nécessaires à l'absorption du fer, à un niveau adapté aux besoins de l'organisme. Rappelons que ces signaux sont de deux types: ils permettraient soit de moduler l'absorption en fonction du niveau des réserves en fer (store regulator) ou soit de moduler l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse (erythroid regulator) (Andrews, 1999). La nature moléculaire de ces signaux doit encore être élucidée (Beaumont, 2004).

Figure 7 – Acquisition du fer par l'entérocyte duodénal et le macrophage



D'après Beaumont, (Medicine/Sciences 2004; 20:68-72)

Figure 7A. Les entérocytes matures, au sommet de la villosité duodénale, absorbent le fer à partir des aliments et assurent son transfert vers le plasma. Au pôle apical, ferri-reductase (Dcytb), une réductase membranaire, réduit le Fe (III) en Fe (II) (McKie et al., 2001), celui-ci étant par la suite transporté à travers la membrane par transporteurs de cations divalents (Nramp2/DMT1) (Gunshin et al., 1997; Fleming et al., 1997; Andrews, 1999; Canonne-Hergaux et al., 1999; McKie et al., 2002; Li et al., 2008). Un transport vectoriel du fer cytoplasmique, par un mécanisme encore inconnu, permet au fer d'être ciblé vers le pôle basolatéral et exporté vers le plasma par la ferroportine. Le fer est ensuite réoxydé par l'héphaestine (Vulpe et al., 1999; Anderson et al., 2002) et pris en charge par la transferrine plasmatique (Apo Tf). Le fer non transféré au plasma est stocké par la ferritine, puis éliminé par désquamation des entérocytes matures. Le fer héminique absorbé au pôle apical sera libéré par l'hème oxygénase et exporté de la même façon que le fer non héminique.

Figure 7B. L'organisme d'un être humain adulte contient environ 4 g de fer, dont plus de la moitié est associée à l'hémoglobine des érythrocytes circulants. La phagocytose des globules rouges sénescents par les macrophages assure un recyclage efficace des atomes de fer vers le plasma (Knutson et Wessling-Resnick, 2003; Knutson et al., 2005): environ 25 mg de fer pourraient ainsi être recyclés quotidiennement pour participer à l'érythropoïèse. Ce mécanisme

concerne principalement les macrophages de la rate et de la moelle osseuse et, dans une moindre mesure, les cellules de Kupffer. Le fer libéré par le catabolisme de l'hème assuré par l'hème oxygénase peut être stocké par la molécule de ferritine ou recyclé vers le plasma.

Les mécanismes de recyclage du fer dans les cellules (en particulier histiocytaires et macrophagiques) sont encore mal connus, mais la protéine ferroportine/IREG1/MTP1, une protéine transmembranaire qui exporte le fer ferreux semble jouer un rôle important dans ce processus (Abboud et Haile, 2000; Donovan *et al.*, 2000; McKie *et al.*, 2000; Montosi *et al.*, 2001; Devalia *et al.*, 2002). Le fer ferreux est ensuite oxydé en fer ferrique par la céruloplasmine sérique (Harris *et al.*, 1999) et celui-ci se lie à la transferrine. Il est probable que la céruloplasmine est également impliquée dans les échanges de fer entre plusieurs tissus, des malades porteurs d'une acéruloplasminémie héréditaire développant progressivement une surcharge en fer qui s'accompagne d'un diabète, d'une dégénérescence rétinienne ou de symptômes neurologiques (Harris *et al.*, 1998).

2.2.2. Régulation de l'absorption du fer

Les réserves en fer de l'organisme semblent être le facteur principal de la régulation de l'absorption du fer. Ainsi, la réduction des réserves en fer de l'organisme détermine une augmentation de l'absorption intestinale, alors que l'augmentation de ces réserves induit une diminution de l'absorption intestinale (Farkas et Riche, 1987; Osler *et al.*, 1998; Hallberg *et al.*, 2000, Hallberg, 2001; Darshan et Anderson, 2007).

L'activité érythropoïétique de la moelle osseuse est un autre facteur qui exerce une influence sur l'absorption intestinale du fer. La diminution de l'érythropoïèse est associée à la réduction de l'absorption du fer et l'augmentation de l'érythropoïèse à l'augmentation de l'absorption entérocytaire de ce métal (Magnusson *et al.*, 1981; Finch, 1994; Hallberg, 2001; Darshan et Anderson, 2007).

2.2.3. Mécanismes concernés dans la régulation de l'absorption du fer

La régulation du fer cellulaire est basée principalement sur un contrôle de la synthèse de la ferritine et du TfR1 (la forme diférique) (Sheth et Brittenham, 2000; Pantopoulos, 2004), sous la dépendance du pool labile du fer cellulaire. Ce contrôle s'exerce à un stade post-transcriptionnel et fait appel à une famille de protéines nommées *iron regulatory protein* (IRP) (Eisentein, 2000; Pantopoulos, 2004). La fixation des IRP sur des séquences nucléotidiques de reconnaissance non codantes, *iron responsive element* (IRE ou élément de réponse au fer), situées dans les régions 5' ou 3' UTR (*untranslated regions*) respectives de l'ARNm de la ferritine et du TfR1, module l'expression des gènes de structures correspondants. Ces IRE sont constitués de 6 nucléotides ayant une structure en boucle caractéristique (Klausner *et al.*, 1993; Ponka *et al.*, 1998; Ponka, 1999; Eisentein, 2000; Pantopoulos, 2004). Le mode d'interaction le mieux documenté entre les IRP et les IRE est celui de la sous-classe IRP-1. Les IRP-1 possèdent en leur centre, à l'instar des aconitases mitochondriales, un groupement fer-soufre [4Fe-4S] (Klausner *et al.*, 1993). La présence ou l'absence du fer dans le centre Fe-S de l'IRP-1 conditionne sa fixation sur les IRE. Lorsque la teneur en fer du pool labile cytoplasmique est faible, les IRP-1 perdent leur centre fer-soufre et se fixent sur l'extrémité 5' et 3' respectives de l'ARNm de la ferritine et du TfR1 (Klausner *et al.*, 1993; Ponka, 1999). Cette fixation inhibe la traduction de l'ARNm de la ferritine et favorise celle de l'ARNm du TfR1 en le protégeant de l'action des ribonucléases, d'où la diminution du stockage et l'augmentation de la captation du fer. À l'opposé, lorsque le pool labile en fer est normal ou élevé, les IRP-1 conservent leur centre fer-soufre et ne peuvent se fixer sur les IRE. Par conséquent, l'ARNm de la ferritine sera traduit alors que celui du TfR1, naturellement instable, sera dégradé par les ribonucléases cytoplasmiques (Klausner *et al.*, 1993; Ponka *et al.*, 1998; Hentze *et al.*, 2004). Ceci reflète la tendance naturelle des cellules non érythroblastiques à lutter contre toute surcharge en fer labile, en favorisant le stockage dans la ferritine et en limitant la captation du fer par le TfR1. D'autres facteurs peuvent influencer l'interaction IRP/IRE. Le monoxyde d'azote et les espèces réactives de l'oxygène semblent favoriser la liaison des IRP aux IRE en déstabilisant le groupement Fe-S des IRP-

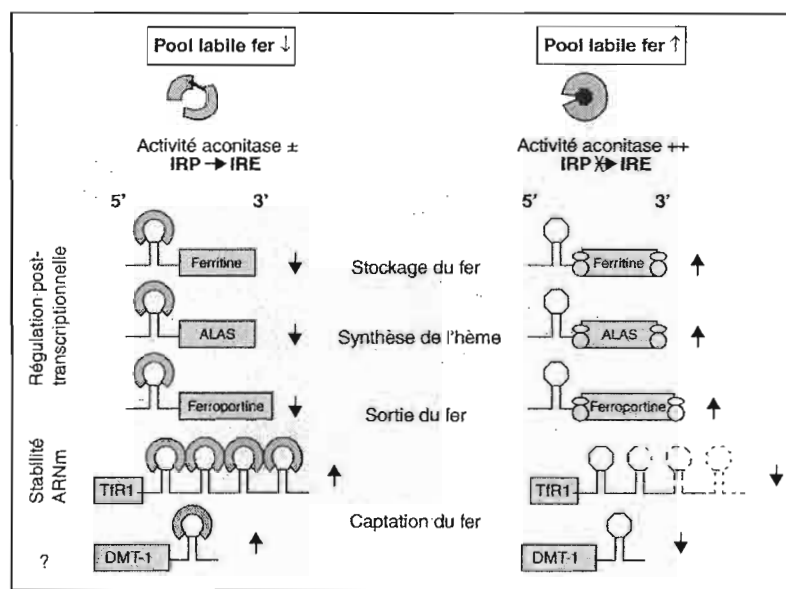
1. Ceci stimule la captation, inhibe le stockage du fer et aggrave les réactions de peroxydation (Hentze et Kuhn, 1996; Ponka *et al.*, 1998).

Par contre, les cytokines pro-inflammatoires et les hormones thyroïdiennes diminuent la liaison des IRP aux IRE, ce qui augmente la synthèse de la ferritine et rend compte de l'hyperferritinémie des états inflammatoires chroniques et des hyperthyroïdies (Ponka *et al.*, 1998; Ponka, 1999). L'interaction IRP/IRE peut être également influencée par des mutations ponctuelles de l'IRE de la ferritine. Des mutations au niveau des IRE des chaînes L et H de la ferritine ont été rapportées. Une mutation dans l'IRE de la chaîne L a pour conséquence une production excessive de L-ferritine qui va être responsable d'une hyperferritinémie avec cataracte du fait de la présence de ferritine en excès dans le cristallin. Par contre celle de la chaîne H va entraîner un phénotype de surcharge en fer comparable à celui de l'hémochromatose génétique probablement du fait de l'activité oxydase de la sous-unité H qui pourrait entraîner un stockage inapproprié de fer dans la ferritine produite en excès (Kato *et al.*, 2001). Elle est responsable du **syndrome héréditaire cataracte-hyperferritinémie** (Beaumont *et al.*, 1995; Ferrate *et al.*, 2005; Papanikolaou *et al.*, 2006; Loffeld, 2007).

Une séquence de type IRE existe au niveau de l'ARNm de plusieurs protéines impliquées dans le métabolisme du fer telles que le DMT1, la delta aminolévulinate synthase et FPN, protéines impliquées dans l'exportation du fer cellulaire. Ceci montre que des séquences génomiques à activité IRE sont impliquées dans l'expression d'autres fonctions que celles liées au stockage cellulaire du fer.

Cependant, la synthèse du TfR2 n'est pas contrôlée par le système IRP/IRE, mais semble plutôt influencée par le degré de saturation de la Tf (Kawabata *et al.*, 1999). La **figure 8** illustre la régulation du métabolisme cellulaire du fer par le couple IRP/IRE en fonction de l'importance du pool cytoplasmique du fer labile.

Figure 8 – Régulation du métabolisme cellulaire du fer



D'après Omar et al., 2006 (Ann Biol Clin 2006; 64:523-34)

Figure 8. La régulation est contrôlée par le couple iron regulatory protein (IRP)/iron responsive element (IRE) en fonction de la teneur du pool labile en fer. Lorsque la teneur est faible, l'IRP perd son fer et son activité aconitase. Il se fixe sur l'IRE en 5' de la ferritine, de l'acétyl-coenzyme A synthétase (ALAS) et de la ferroportine, bloquant leur traduction, ainsi que sur l'IRE en 3' du récepteur de la transferrine de type 1 (Tfr1) et du divalent metal transporter-1 (DMT-1), favorisant leur traduction. Il en résulte une augmentation de l'entrée cellulaire et une réduction du stockage et de la sortie du fer et de la synthèse d'hème. En revanche, en cas d'augmentation du pool labile en fer, l'IRP conserve son activité aconitase et ne se fixe pas sur l'IRE. La ferritine, l'ALAS et la ferroportine sont normalement traduites et l'ARNm du Tfr1 est dégradé par les ribonucléases cytosoliques. Ceci réduit l'entrée cellulaire et favorise la synthèse de l'hème, ainsi que le stockage et l'exportation du fer (Omar et al., 2006).

2.3. Stockage du fer

Le fer est stocké dans l'organisme sous la forme de ferritine ou d'hémosidérine, présentes dans les cellules phagocytaires mononucléées (CPM) de la moelle osseuse, de la rate et du foie, dans les cellules du parenchyme

hépatique et les myocytes des muscles squelettiques (Andrews, 1999; Lönnerdal et Kelleher, 2007).

Ce stockage a deux finalités: pourvoir à une réserve interne qui puisse être mobilisée lorsque les besoins en fer dépassent l'apport de l'alimentation, et protéger l'organisme des effets toxiques du fer libre lorsque la quantité de fer absorbée dépasse les quantités perdues et celles nécessaires pour la synthèse de composés fonctionnels de fer (Andrews, 1999).

Environ 25 % du fer présent chez un adulte normal est sous une forme de stockage, dont 2/3 sont liés à la ferritine et le 1/3 restant à l'hémosidérine (Pantopoulos, 2004). Cependant, dans des cas d'accumulation anormale de fer dans l'organisme, le stockage du fer se fait surtout dans l'hémosidérine. Celle-ci constitue la principale forme de stockage du fer dans des situations de cumul excessif (Pietrangelo, 2004).

Le fer stocké dans les CPM a une capacité d'échange plus grande que dans d'autres cellules. Outre leur rôle de stockage, les CPM jouent un rôle fondamental dans la dynamique du fer de l'organisme (Cançado et Guerra, 2006).

2.4. Elimination physiologique du fer

Contrairement aux autres minéraux, l'organisme humain n'a pas de mécanisme d'excrétion du fer (Beaumont, 2004; Darshan et Anderson, 2007). Les pertes physiologiques de fer chez l'homme adulte se font toujours par la sécrétion et la desquamation épithéliale du tractus gastro-intestinal, par les selles, par la sueur et la desquamation des cellules, représentant environ 0,1% du fer stocké, représentant en moyenne une perte de 1 à 2 mg/j (Brittenham, 1991; Darshan et Anderson, 2007).

Chez les femmes en âge de procréer, les pertes sanguines au terme de chaque cycle menstruel représentent une perte en fer de 12 à 15 mg (Brittenham, 1991). Des pertes menstruelles élevées, la multiparité, l'allaitement et la méthode contraceptive utilisée sont des facteurs aggravant la carence en fer et l'anémie ferriprive (Brittenham, 1991; Guerra et Guerra, 1993; Hallberg, 2001; Duport *et al.*, 2003; Donovan et Andrews, 2004). A ces facteurs s'ajoutent des facteurs d'ordre nutritionnel: une alimentation pauvre en produits d'origine animale, riche en céréales, les régimes végétariens et, plus encore, les régimes végétaliens

Physiologiquement, l'organisme humain possède une très faible capacité à augmenter l'élimination de fer, même dans des situations de surcharge. De ce fait, l'augmentation progressive de l'apport en fer, soit *per os*, soit par voie parentérale ou par transfusions sanguines, a pour résultat inévitable une surcharge en fer (Harrison *et al.*, 1987; Pietrangelo, 2007; Vermylen, 2008). Dans ces conditions, on peut estimer que la principale voie par laquelle l'organisme élimine le fer est celle qui passe par la perte des entérocytes à la partie apicale des villosités ou desquamation villositaire (Pietrangelo, 2004; 2007).

3. Conséquences de la carence en fer

Les symptômes les plus fréquents sont : dyspnées d'effort, étourdissements, vertiges, céphalées pulsatives, bourdonnements, palpitations, syncopes, fréquents épisodes de fatigue, altérations du sommeil, troubles d'humeur et réduction de la capacité de concentration et de mémorisation (Duffy, 2005). L'anorexie est commune et peut être suivie de perte de poids significative (Fayed *et al.*, 2008). Des atteintes physiques peu spécifiques s'ajoutent à ces symptômes, comme paleur de la peau et des muqueuses (signe de sensibilité et spécificité limitées), stomatite angulaire, atrophie des papilles, tachycardie modérée et augmentation de la pression au pouls (Duffy, 2005). L'anémie ferriprive peut causer une dilatation cardiaque (Cançado et Guerra, 2006). Les conséquences de l'anémie ferriprive ne se limitent pas seulement aux signes et symptômes cités et ne sont pas restreints aux cas d'anémie, mais aussi aux situations de déficits de fer sans anémie (Lira et Ferreira, 2007).

Il existe un consensus sur le fait que l'anémie ferriprive peut avoir encore d'autres conséquences importantes. Il faut citer des déficits de croissance (Chwang *et al.*, 1988; Hallberg, 2001; Ninh *et al.*, 2002; Faber, 2007) et la diminution de la résistance aux infections (Cook *et al.*, 1994; Berger *et al.*, 2000; Ninh *et al.*, 2002), l'augmentation de la morbi-mortalité fœtale et du risque de retard de croissance intra-utérin (Scholl et Hediger, 1992; Oliveira *et al.*, 2002), la baisse de l'activité physique, la diminution de la capacité au travail (Li *et al.*, 1994; Oliveira *et al.*, 2002; Beard et Murray-Kolb, 2009). Sont aussi rapportés des retards du développement psychomoteur infantile (Aukett *et al.*, 1986; Neuman *et al.*, 2000; Brunken *et al.*, 2002; Ninh *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2002, Antunes *et*

al., 2005; Lozoff, 2007; Mccann et Ames, 2007; Beard, 2008; Beard et Murray-Kolb, 2009), des difficultés dans l'apprentissage du langage, des troubles psychologiques et du comportement, un sentiment d'insécurité et l'augmentation de l'irritabilité (Walter *et al.*, 1989; Scholl *et al.*, 1994; Bruner *et al.*, 1996; Grantham-McGregor et Ani, 2001; Pollitt, 2001; Oliveira *et al.*, 2002; Walker *et al.*, 2007; Beard et Murray-Kolb, 2009).

3.1. Croissance et développement

L'association entre la carence en fer et le déficit de croissance chez les enfants a été constatée lors de la récupération de la croissance linéaire et du gain de poids (Donovan et Andrews, 2004, Faber, 2007) par l'administration de compléments contenant du fer dans les pays développés et dans les PED. Le fer est trouvé dans différentes régions du cerveau. Il y joue un rôle important, surtout lors de la rapide croissance neuronale (Pollitt, 1995; Georgieff, 2007). Des preuves existent de l'influence délétère de la carence en fer sur le développement psychomoteur conduisant à des retard de développement, et sur la fonction cognitive du nourrisson et de l'enfant d'âges pré-scolaire et scolaire (Grantham-McGregor et Ani, 2001; Black, 2003; Lozoff et Black, 2004; Mccann et Ames, 2007).

Des études établissent l'existence d'une corrélation entre le développement d'enfants de 5 ans et les niveaux de ferritine du cordon ombilical à la naissance. Elles montrent que les nouveaux-nés présentant une ferritinémie inférieure à la moyenne ont obtenu moins de points dans les tests de langage et de motricité que les autres enfants (Tamura *et al.*, 2002). Dans une autre étude, les enfants de femmes présentant une anémie ferriprive qui ont reçu pendant la gestation un complément contenant du fer ont obtenu de meilleurs résultats aux tests de motricité et de performance mentale à l'âge de 12 mois que les enfants issus de femmes n'ayant pas reçu le complément (Preziosi *et al.*, 1997).

Des enfants d'âge scolaire chez lesquels une anémie ferriprive a été diagnostiquée présentent des scores inférieurs et très faibles aux tests d'évaluation du coefficient d'intelligence et d'autres fonctions cognitives, en comparaison des enfants n'ayant pas souffert d'anémie ferriprive, même après ajustement par des facteurs socio-économiques. De plus, les écoliers anémiques

avec des résultats faibles aux tests de langage et en mathématiques n'ont pas été plus performants à ces tests après administration d'un complément contenant du fer, suggérant ainsi un effet prolongé de la carence en fer sur le développement infantile (Grantham-McGregor et Ani, 2001; Lozoff et Black, 2004).

3.2. Fonctions immunitaire

Le fer est essentiel pour le fonctionnement du système immunitaire. Des études ont constaté que la carence du minéral peut causer une dépression de la réponse immunitaire et une plus faible résistance aux infections (Semba *et al.*, 1992; Cook *et al.*, 1994; Sommer, 1996; Berger *et al.*, 2000; WHO, 2001; Ninh *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2007).

4. Méthodes d'évaluation de la carence en fer

Précédemment nous avons vu que plusieurs indicateurs hématologiques et biochimiques peuvent être utilisés pour évaluer les différents niveaux du statut en fer d'un individu. Cependant plusieurs de ces indicateurs comme par exemple la ferritine sont modifiés par la présence d'une infection ou d'une inflammation. De fait lorsqu'ils sont utilisés isolément aucun d'eux n'est suffisamment sensible ou spécifique (INACG, 1985; Cook *et al.*, 1992; Beard, 1994; Beard *et al.*, 1996; Cardoso, 2006).

La concentration d'hémoglobine, indicateur du diagnostic de l'anémie, est souvent utilisé seul lors des enquêtes en population (Lira et Ferreira, 2007), en particulier dans les pays en développement. Cependant, l'anémie n'est pas spécifique pour la carence en fer (Paiva *et al.*, 2000). Les prochains paragraphes vont donc présenter les différents indicateurs et montrer comment leur association permet de bien définir les causes de l'anémie.

4.1. Hémoglobine et l'hématocrite

Le paramètre utilisé universellement pour définir l'anémie est le taux d'hémoglobine sérique ou plasmatique. Mais cet indicateur ne possède pas une bonne spécificité et n'est pas suffisamment sensible pour évaluer le statut en fer, car il peut être altéré dans des conditions d'infection et/ou de syndrome inflammatoire, d'hémorragie, d'hémoglobinopathies, de dénutrition protéino-

calorique, de carence en folate et/ou vitamine B12, de l'usage de certains médicaments, de déshydratation, de gestation et de tabagisme (Sommer *et al.*, 1986; Cook *et al.*, 1992; Wijaya-Erhardt *et al.*, 2007).

De plus, la concentration d'hémoglobine varie entre individus en fonction de plusieurs critères dont le sexe, l'âge ou l'altitude. L'anémie est également caractérisée par une diminution du volume érythrocytaire et de l'hématocrite (Wieringa *et al.*, 2007; Wijaya-Erhardt *et al.*, 2007). Le plus grand avantage de la mesure de l'hémoglobinémie est son emploi dans l'évaluation de la réponse à des programmes d'intervention avec du fer dans des populations avec prévalence relativement élevée d'anémie (WHO, 2001). La mesure de l'hémoglobinémie est très utile lorsque le principal objectif de beaucoup de programmes d'intervention est de réduire la prévalence d'anémie, et non la carence en fer (Cardoso, 2006).

On a observé que l'hématocrite donne des informations similaires à la concentration d'hémoglobine. Ces deux variables peuvent être mesurées conjointement dans le diagnostic de l'anémie (Bhargava *et al.*, 1991; Rodríguez-Morales *et al.*, 2007).

4.2. Ferritine

La ferritinémie (F), facilement mesurable dans le serum ou la plasma, permet d'évaluer les réserves corporelles de fer car elle présente une forte corrélation avec le fer en dépôt dans les tissus, outre le fait d'être évalué par des méthodes de haute précision (radio-immuno-essai, enzyme-immuno-essai ou chimioluminescence) (Cook et Finch, 1979; Lunedo *et al.*, 2004).

Des valeurs de ferritinémie réduites sont indicatrices de déplétion des réserves en fer (Vendt *et al.*, 2007) alors que des valeurs élevées peuvent être provoquées par des infections, néoplasies, maladies hépatiques, leucémies, ingestion d'alcool, hyperthyroïdisme (Beard *et al.*, 1996; Cançado et Guerra, 2006; Wijaya-Erhardt *et al.*, 2007) ou un syndrome inflammatoire. Aussi, son utilisation doit être prudente chez l'enfant ou la femme enceinte, car dans ces cas les valeurs moyennes observées sont généralement proches de celles considérées comme indicatrices d'une déficience (Cook *et al.*, 1992).

4.3. Fer sérique

Bien qu'il soit encore utilisé, ce paramètre est instable et sujet à de nombreuses interférences (Paiva *et al.*, 2000; Cançado et Guerra, 2006). Ainsi, le matin les valeurs sont plus élevées que l'après-midi. Les valeurs normales varient en fonction de la méthode utilisée (Cançado et Guerra, 2006).

La concentration de fer sérique est altérée lors d'un processus infectieux. Dès le début d'un tel processus, elle peut diminuer fortement en quelques heures (Cook *et al.*, 1992, Asobayire *et al.*, 2001).

4.4. Capacité totale de liaison du fer

Elle est utilisée pour évaluer la quantité de transferrine libre dans la circulation (Cançado et Guerra, 2006). La capacité totale de liaison du fer (CTLF) sérique est affectée par de nombreux désordres du métabolisme du fer. Ainsi, elle est souvent augmentée en cas de déficience ferrique et elle est diminuée en cas d'inflammations chroniques ou de cancers, et souvent aussi en cas d'hémochromatoses (Tietz, 1999). Elle est cependant moins sensible que la ferritine sérique (Cook *et al.*, 1992).

4.5. Le récepteur soluble de la transferrine

Dernièrement on a utilisé la mesure de la concentration plasmatique (ou sérique) du récepteur soluble de transferrine (sTfR) comme indicateur de la carence en fer tissulaire (Cusik *et al.*, 2008), même en l'absence d'anémie. Kohgo *et al.*, (1986) ont d'abord proposé un dosage par radio-immunologique (RIA). Plus tard, Flowers *et al.* (1989) ont proposé plus tard un dosage enzyme-immunologique (ELISA).

Les récepteurs se trouvent augmentés dans la carence en fer, dans les anémies hémolytiques auto-immunes et dans les thalassémies et, sont réduits dans les anémies aplasiques (Beard, 1994; Kongo *et al.*, 1987; Skikne *et al.*, 1990). Des études montrent une bonne sensibilité du dosage de ces récepteurs (Akesson *et al.*, 1998; Kongo *et al.*, 1987; Skikne *et al.*, 1990; van den Broek *et al.*, 1998, Cusik *et al.*, 2008). De plus les valeurs obtenues sont hautement corrélées avec d'autres paramètres comme le CTLF et la ferritine sérique (Kongo *et al.*, 1987).

Skikne *et al.* (1990) et Lin *et al.* (2008) ont suggéré l'utilisation du rapport sTfR/ferritine sérique au lieu des deux paramètres séparément, car dans la carence en fer la concentration de la ferritine sérique est réduite et celle des sTfR est augmentée. Un autre avantage réside dans le fait que les deux dosages sont réalisés à l'aide du même type de méthode (ELISA).

Des études réalisées chez des femmes enceintes montrent l'avantage de ce paramètre pour détecter la carence en fer. Elles montrent que la concentration en sTfR, contrairement aux autres paramètres, n'est pas altérée par l'état a gestationnel, ni par des processus infectieux et inflammatoires (Cook *et al.*, 1992; Beard, 1994; van den Broek *et al.*, 1998; Lopéz *et al.*, 2006; Wijaya-Erhardt *et al.*, 2007). sTfR est un indicateur fiable de la carence en fer (Cook, 2005; Vendt *et al.*, 2009).

4.6. Saturation de la transferrine

La saturation de la transferrine (ST), obtenue par le rapport fer sérique/CTLF, possède aussi quelques limitations, puisqu'il est peu (ou pas) spécifique de la carence en fer du fait de son altération dans des états infectieux (INACG, 1985). Un autre désavantage réside dans le fait qu'elle dépend de la variabilité du fer sérique et de celle du CTLF (Cook, 1982; Cook *et al.*, 1992).

Le calcul de la saturation de la transferrine est utile dans le diagnostic différentiel de la thalassémie et de l'anémie ferriprive. Les deux pathologies présentent en effet une microcytose et hypochromie, mais la saturation de la transferrine est invariablement élevée dans la thalassémie (Cook *et al.*, 1992).

4.7. Protoporphyrine érythrocytaire libre (PEL)

Un autre paramètre d'évaluation du fer disponible au niveau des tissus est la protoporphyrine érythrocytaire libre. Le dosage de la PEL peut être augmenté lors des troubles de la synthèse de l'hème (p. ex. carence en fer, intoxication au plomb). Cependant, il ne permet pas de distinguer l'anémie ferriprive de celle des maladies chroniques et il a été largement remplacé par les dosages de la ferritine sérique (Cook et Finch, 1979; Cançado et Guerra, 2006).

La concentration de la protoporphyrine peut être déterminée directement en utilisant une seule goutte de sang à l'aide d'un hématofluorimètre (Cook et Finch,

1979; Hastka *et al.*, 1992; Cook *et al.*, 1992; Garrett et Worwood, 1994; Hastka *et al.*, 1994; Siegel et LaGrone, 1994).

5. Recommandations nutritionnelles

En général, le fer est faiblement biodisponible dans les régimes à base de céréales pauvres en vitamine C; la biodisponibilité du fer est intermédiaire quand les aliments végétaux prédominent en présence de faibles quantités de protéines d'origine animale et de vitamine C ; le fer est hautement biodisponible lorsque les protéines d'origine animale prédominent dans l'alimentation, et lorsque celles-ci sont accompagnées de fruits frais en quantités importantes (sources de vitamine C).

Pour améliorer la biodisponibilité du fer et augmenter les réserves de l'organisme en fer par l'alimentation, l'OMS (WHO, 2001) recommande les stratégies suivantes:

1. Augmenter la consommation de fer héminique;
2. Augmenter la consommation de stimulateur de l'absorption du fer comme par exemple la vitamine C en particulier lorsque le fer de la diète est principalement non héminique (à condition que la vitamine C soit dans sa matrice alimentaire d'origine) et d'autres stimulants de l'absorption du fer comme les produits d'origine animale (pour le fer héminique et leur richesse en vitamine B12;
3. Éviter autant que possible la consommation d'inhibiteurs de l'absorption du fer (thé, café, certains végétaux: riz, maïs, épinards et féculents, lait et dérivés) durant les 1 à 2 h qui suivent les deux principaux repas.

6. Les vitamines

Les vitamines sont présentes dans pratiquement tous les aliments. Mais, bien que certaines vitamines soient apportées en quantité équivalente par les aliments d'origine animale ou végétale (vitamines B1, B6, B8, A, K), certaines proviennent principalement (vitamines B2, B3, B5) ou exclusivement (vitamines B12, D) de produits d'origine animale, alors que d'autres sont apportées principalement (vitamines E, C, B9 et caroténoïdes) par les aliments d'origine végétale. Alors que de nombreuses études épidémiologiques suggèrent que des subcarences vitaminiques augmenteraient l'incidence d'un certain nombre de

pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies oculaires, maladies neurodégénératives...), il est remarquable de constater que les vitamines impliquées (E, C, B9) sont essentiellement celles qui sont retrouvées dans les produits végétaux (Borel, 2002).

6.1. La vitamine A ou rétinol

La découverte des caroténoïdes date de 1920, quand Herry Steenbock a proposé que le facteur liposoluble A était associé à un pigment jaune. En fait ce pigment jaune, le β -carotène, est converti par l'organisme en vitamine A, aussi dénommé rétinol (Ingraham et Steenbock, 1935). Le β -carotène fait partie de la famille des caroténoïdes. Actuellement, on connaît déjà plus de 1.000 types de caroténoïdes, mais seuls un peu plus de 60 peuvent être convertis métaboliquement en rétinol (Handelman, 2001).

Durant les années 1980, un grand intérêt a été apporté à l'action potentialisatrice de la vitamine A sur les défenses immunitaires à partir des observations faites sur les enfants recevant un complément de vitamine A (Sommer *et al.*, 1986; Sejas *et al.*, 2008).

6.2. Formes chimiques et nomenclature

La vitamine A dans l'alimentation de l'homme, existe sous forme de rétinol et de ses esters, exclusivement présents dans les produits animaux, et sous forme de caroténoïdes pro-vitaminiques, majoritairement d'origine végétale (Azaïs-Braesco et Grolier, 2001).

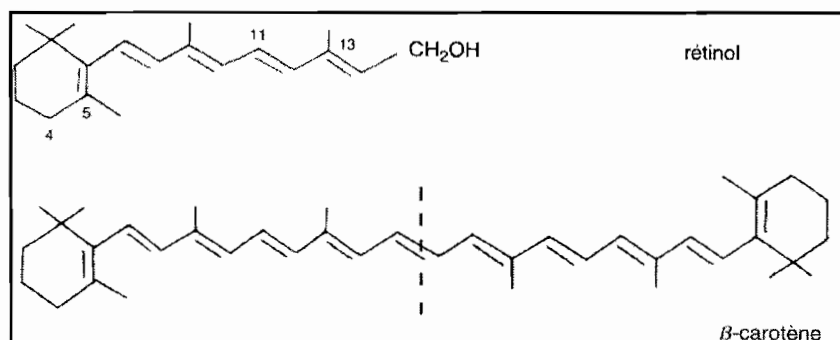
Le terme vitamine A recouvre l'ensemble des composés naturels présentant une activité biologique qualitativement comparable à celle du rétinol, qui est le principal représentant de cette famille (Means et Gudas, 1995; Glasziou et Mackerras, 1996; Tang *et al.*, 2007). L'appellation rétinoïdes, se rapporte aux formes naturelles de la vitamine A (formes alcool, ester, aldéhyde et acide, soit rétinol, rétinyl palmitate, rétinol et acide rétinoïque) et synthétiques (qu'ils aient ou non une activité vitaminique A) (Asakura *et al.*, 2006). Le rétinol et le rétinol se trouvent dans la rétine, l'acide rétinoïque dans les os et les muqueuses et le rétinyl palmitate dans le foie. (Azaïs-Braesco et Grolier, 2001; Krinsky et Johnson, 2005; Amiot *et al.*, 2007).

Le rétinol est formé d'un noyau β -ionone sur lequel se greffe une chaîne composée de deux unités isoprénoïques portant une fonction alcool terminale. Les dérivés biologiquement actifs sont obtenus par oxydation en rétinol ou en acide rétinoïque. L'estérification de la fonction alcool par un acide gras, le plus souvent l'acide palmitique, produit des esters de rétinol qui constituent la forme de stockage de la vitamine A dans l'organisme (particulièrement le foie). Seuls les tissus animaux contiennent naturellement du rétinol ou ses dérivés (Azaïs-Braesco et Grolier, 2001).

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles (dont les couleurs varient du jaune au rouge). Environ 600 structures existent dans le monde végétal, dont certaines, retrouvées dans notre alimentation quotidienne génère de la vitamine A par clivage central de la chaîne carbonée. Les principaux caroténoïdes provitaminiques A de notre alimentation sont l' α - et le β -carotène et la β -cryptoxanthine (Olson, 1991; Asakura *et al.*, 2006). Le clivage central de ces caroténoïdes est réalisé majoritairement par la β -carotène-15,15'-monooxygénase ou BCMO1 (Fierce *et al.*, 2008). Théoriquement, une molécule de β -carotène devrait donner 2 molécules de rétinol. En fait, il existe un consensus scientifique sur le facteur de conversion des caroténoïdes en rétinol: de 1/6 pour le β -carotène (6 mg de beta-carotène correspond à la même activité que 1 mg de rétinol) et de 1/12, pour les autres caroténoïdes provitaminiques A (Azais-Braesco et Grolier, 2001; Khan *et al.*, 2007).

La molécule de rétinol est sensible à la lumière et aux oxydants, ainsi la présence de vitamine E, anti-oxydante, stabilise la vitamine A (Wyss, 1995).

Figure 9 – Structure du rétinol et du β -carotène



D'après Wyss, 1995 (J Chromatogr B 1995; 671:381-425)

6.3. Absorption intestinale et le métabolisme d'absorption des caroténoïdes et la vitamine A

Les esters de rétinol et caroténoïdes provitaminiques A sont des molécules liposolubles: leur absorption intestinale suit donc des mécanismes voisins de ceux des lipides alimentaires (Blaner et Olson, 1994; Azaïs-Braesco et Grolier, 2001).

L'extraction des caroténoïdes de leur matrice alimentaire commence dans l'estomac où une fraction est transférée vers la phase lipidique du bol alimentaire (Tyssandier *et al.*, 2003). L'efficacité de ce transfert dépend probablement des caractéristiques de la matrice dans laquelle est incorporé le caroténoïde, de la lipophilie de ce caroténoïde, du pH du milieu, et de la nature des lipides (Rich *et al.*, 1998).

Après avoir dépassé le pylore, le bol alimentaire reçoit les sécrétions pancréatiques et biliaires. Une fraction des caroténoïdes encore présents dans les matrices végétales et la fraction de caroténoïdes transférés dans la phase lipidique durant la digestion gastrique sont alors incorporées dans les micelles mixtes. Le transfert des caroténoïdes de la phase lipidique vers les micelles mixtes (Borel *et al.*, 1996) dépend de trois facteurs principaux: le pH, la concentration en sels biliaires et la lipophilie des caroténoïdes. La lipase pancréatique conditionne de plus le transfert des carotènes vers les micelles (Borel *et al.*, 2005).

L'absorption des caroténoïdes s'effectuerait par l'intermédiaire d'un ou de transporteur(s) membranaire(s). Ainsi, l'absorption du β -carotène par des cellules Caco-2 est curviligne, saturable et dépendante du temps et de la concentration (During *et al.*, 2002). Par ailleurs, la lutéine est absorbée au cours d'un processus de diffusion facilitée qui ferait intervenir un récepteur, le scavenger receptor de classe B type 1 (SR-B1) (Reboul *et al.*, 2003; Reboul *et al.*, 2005).

Le β -carotène solubilisé dans les micelles mixtes avec des composants de la bile et les hydrolysats de lipides alimentaires est absorbée par les cellules intestinales. Le rétinol formé à partir du β -carotène est ensuite réduit en rétinol, lui-même estérifié en retinyl palmitate par une lecithine-rétinol acyltransférase (LRAT) impliquant le transfert de l'acide gras saturé en position 1 (l'acide palmitique) de la phosphatidylcholine. Les étapes de réduction et d'estérification sont largement dépendantes de la liaison du rétinol à la *cellular retinol binding protein de type II*

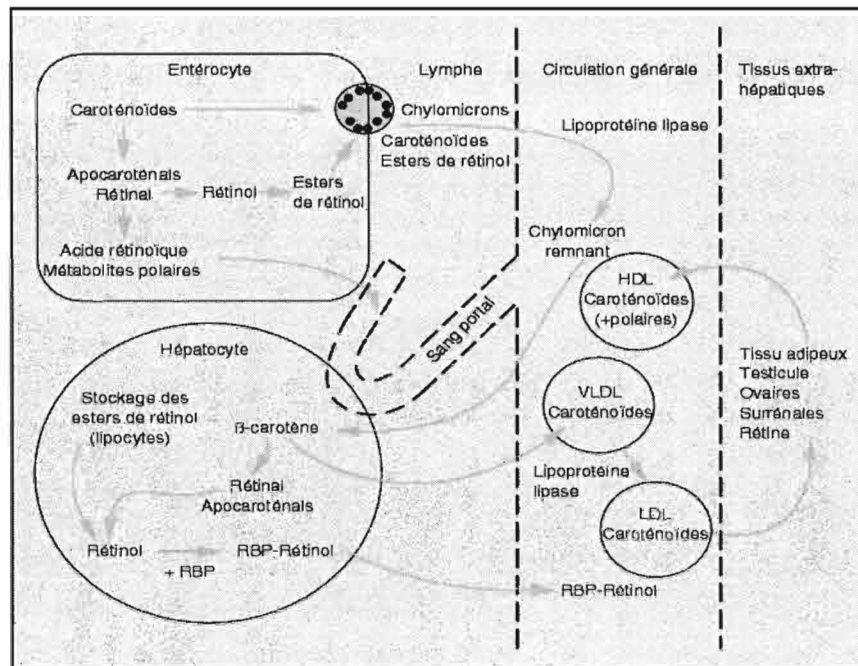
(CRBP-II) (Ong; 1993). Le rétinyl plamate est finalement incorporé dans les chylomicrons (Harrison et Hussain, 2001; Borel *et al.*, 2005).

Ainsi, le clivage de β -carotène dans les cellules intestinales est étroitement liée au métabolisme des lipides et des rétinoïdes (Nagoo, 2004).

Il faut préciser que si les caroténoïdes provitaminiques A sont clivés symétriquement (soit en 15-15') en rétinol par la BCMO1 (Leuenberg *et al* 2001; Wyss, 2004), ils peuvent également être clivés asymétriquement par la $\beta\beta$ -carotène-9',10'-monooxygénase (ou BCMO2), produisant ainsi les apo-caroténals. Il faut noter que, chez le rat, la BCMO1 est inhibée par des flavonoïdes (lutéoline, quercétine, rhamnétine) et activée par une alimentation enrichie en huile d'olive et huile de soja (Nagao, 2004). Le *CRBP1* agit comme un détecteur intracellulaire des rétinoïdes cellulaires. Dépourvu de rétinol, il stimule l'activité BCMO1 et la conversion des caroténoïdes en rétinoïdes. Le *CRBP2*, qui est à 56% identique à *RBP1*, n'influence pas l'activité BCMO1 (Fierce *et al.*, 2008).

Dans la cellule intestinale, le rétinyl palmitate, les caroténoïdes et les apocaroténals les moins polaires sont incorporés dans les chylomicrons, eux-mêmes sécrétés dans l'espace intercellulaire puis dans la lymphe pour rejoindre la circulation générale. Les caroténoïdes des chylomicrons parviennent au foie, mais la proportion échappant à cette voie métabolique (Parker, 1996) est inconnue. Ils peuvent en effet s'échanger avec d'autres lipoprotéines ou être captés par les tissus périphériques lors du catabolisme des chylomicrons par les lipases endothéliales. Comme le montre la **Figure 10**, les métabolites plus polaires, dont l'acide rétinoïque, passent directement dans le sang portal (Borel *et al.*, 2005).

Figure 10 - Absorption et transport des caroténoïdes



D'après Borel *et al.*, 2005 (Ann Biol Clin 2005; 63:165-77)

Les chylomicrons sont ensuite hydrolysés partiellement sous l'action de la lipoprotéine lipase (EC 3.1.1. 34). Les caroténoïdes ainsi libérés passent dans les tissus périphériques, en particulier le tissu adipeux (Frénot et Vierling, 2001), et les remnants de chylomicrons R-CM (avec le rétinyl palmitate qu'ils contiennent) sont captés rapidement par le foie. Une partie des caroténoïdes des tissus est transférée dans les HDL (*High Density Lipoproteins*), et reste dans la circulation générale (Parker, 1996; Yeum et Russel, 2002).

Dans le foie, les caroténoïdes sont utilisés pour produire la vitamine A, celle-ci étant stockée à 90% dans le foie (Combs, 2002; Harrison, 2005), grâce à la présence d'une oxygénase dont le fonctionnement sera détaillé plus loin, soit sécrétés dans la bile (Leo *et al.*, 1995). Mais les caroténoïdes peuvent également ou bien être resécrétés dans les VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) pour être distribués aux tissus périphériques, ou bien être stockés dans les lipocytes (cellules étoilées du foie appelées aussi cellules de Ito). Dans la circulation générale les caroténoïdes sont associé aux LDL (*Low Density Lipoproteins*) et aux HDL (Borel *et al.*, 2005).

La localisation des caroténoïdes à l'intérieur des chylomicrons joue un rôle dans leurs transferts vers les lipoprotéines sanguines et leur captation par les tissus hépatiques et extra-hépatiques pendant l'hydrolyse des triglycérides par la

lipoprotéine lipase. Les caroténoïdes comme le β -carotène et le lycopène, les plus apolaires, sont localisés préférentiellement dans le noyau hydrophobe des particules, alors que les molécules hydroxylées, tels les xanthophylles, sont localisées à la surface. Ces derniers s'échangent donc plus facilement à la fois entre les particules de lipoprotéines et semble-il aussi avec les tissus périphériques (Tyssandier *et al.*, 2002; Borel *et al.*, 2005).

Chez l'homme, les principales réserves de caroténoïdes sont constituées par le tissu adipeux (environ 80 % des caroténoïdes totaux) et le foie (environ 10 %). Cependant, d'autres organes présentent des concentrations importantes, notamment les testicules, les ovaires, les glandes surrénales (Kaplan *et al.*, 1990). Il semble que les tissus riches en récepteurs LDL : foie, surrénales, testicules, accumulent beaucoup de caroténoïdes, mais ils sont retrouvés aussi au niveau de nombreux autres tissus (peau, muqueuse buccale, membranes érythrocytaires, leucocytes) et organes (pancréas, rein, rate, cœur, thyroïde, rétine). La rétine a la particularité de contenir des quantités importantes de zéaxanthine et de lutéine (Bone *et al.*, 1997; Bone *et al.*, 2000). Dans le lait maternel la lutéine, la zéaxanthine, le lycopène et leurs métabolites ont été retrouvés (Khachik *et al.*, 2007).

Les mécanismes biochimiques impliqués dans la conversion des caroténoïdes en vitamine A font toujours l'objet de nombreux travaux. Nous avons déjà décrit le clivage des caroténoïdes provitaminiques A par la BCMO1 (et accessoirement BCMO2) au niveau des entérocytes qui président aux phénomènes d'absorption. Chez les vertébrés, le transcrit du gène codant pour la BCMO1 est également présent dans le foie, le rein, l'appareil reproducteur (testicules, utérus), la peau, l'épithélium pigmentaire de la rétine, suggérant l'existence d'une voie locale de production de rétinoïdes, particulièrement dans les tissus où ils s'avèrent indispensables, se superposant à la principale voie de production, extérieure à ces tissus, via l'entérocyte et les lipoprotéines circulantes (von Lintig *et al.*, 2005).

L'activité vitaminique A est exprimée en équivalent rétinol (ER). Un ER est égal à 1 mg de rétinol, ou 6 mg de β -carotène, ou encore 12 mg des autres caroténoïdes provitaminiques A (α -carotène, β -cryptoxanthine) (Azaïs-Braesco et Grolier, 2001).

Le β -carotène et les caroténoïdes ne sont pas absorbés totalement par la muqueuse intestinale. L'efficacité d'absorption présente une grande variabilité inter-individuelle.

Des études de cinétique du rétinol avec des charges en caroténoïdes, ou après absorption d'aliments dont le contenu en caroténoïdes était connu (De Pee *et al.*, 1998; van het Hof *et al.*, 1999; Khan *et al.*, 2007; De Pee et Bloem, 2007) ont montré que les coefficients de conversion des caroténoïdes en rétinol sont bien plus faibles que ceux communément admis (Tableau 6).

Tableau 6 - Évolution des facteurs de conversion entre les caroténoïdes provitaminiques et le rétinol

National research council (1989)	Institute of medicine (2000)
1 équivalent rétinol	1 équivalent rétinol
= 1 μg de rétinol tout- <i>trans</i>	= 1 μg de rétinol tout- <i>trans</i>
= 2 μg de β -carotène tout- <i>trans</i> pur	= 2 μg de β -carotène tout- <i>trans</i> pur
= 6 μg de β -carotène alimentaire	= 12 μg de β -carotène alimentaire
= 12 μg d'autres caroténoïdes provitaminiques A alimentaires	= 24 μg d'autres caroténoïdes provitaminiques A alimentaires

D'après Borel *et al.*, 2005 (Ann Biol Clin 2005; 63(2):165-77)

6.4. Fonctions de la vitamine A dans l'organisme

Elle joue un rôle important dans la vision, notamment dans l'adaptation de l'oeil à l'obscurité (le rétinol fait partie du récepteur phototonique de la rétine, la rhodopsine) , mais aussi dans la croissance osseuse, la reproduction et la régulation du système immunitaire (Azais-Braesco et Grolier, 2001; Krinsky et Johnson, 2005; Amiot *et al.*, 2007). Elle contribue à la santé de la peau et des muqueuses (yeux, voies respiratoires et urinaires, intestins) (Mathur, 2007; Biesalski et Tinz, 2008; Chen *et al.*, 2008; Dekaney *et al.*, 2008; Kawaguchi *et al.*, 2008), qui constituent notre première ligne de défense contre les bactéries et les virus (Coutsoudis *et al.*, 1991; Asakura *et al.*, 2006; Neves *et al.*, 2006; Mathur, 2007). Elle semble jouer un rôle dans la régulation des réponses inflammatoires (Amiot *et al.*, 2007). D'une façon plus générale, son caractère indispensable tient, outre son rôle dans la rétine, au rôle fondamental de l'acide rétinoïque dans la régulation du génome (Azais-Braesco et Grolier, 2001).

6.5. Anémie ferriprive et vitamine A

L'hypovitaminose A constitue selon l'OMS l'un des quatre fléaux nutritionnels majeurs dont souffre l'humanité, à côté de la malnutrition protéino-calorique, du goitre endémique iodoprive et des anémies nutritionnelles, affectant plus de 127 millions d'enfants en âge pré-scolaire dans le monde entier (Ingenbleek, 2002; Tanumihardjo, 2004).

Quelques études montrent une association entre les niveaux de vitamine A et anémie ferriprive, surtout dans des populations des pays en développement.

Mejia et Chew (1988) ont rapporté les résultats d'une étude de différents groupes d'intervention. Quatre groupes d'enfants anémiques (âgés de 1-8 année) ont été complétées pendant deux mois avec la vitamine A, fer, vitamine A plus fer et un placebo. La supplémentation en vitamine A a abouti une augmentation significative des concentrations sériques de rétinol, hémoglobine, hématocrite, éритроcytes, fer, saturation de la transferrine et n'a eu aucun effet sur la capacité totale de liason du fer et de la ferritine (Bloem *et al.*, 1990).

Dans une étude expérimentale, Mwanri *et al.*, (2000) ont suivi 136 enfants anémiques en Tanzanie et ont vérifié l'effet d'un complément alimentaire sur l'anémie et les indices anthropométriques. Ils ont observé que les enfants ayant reçu un complément vitaminique A avaient un poids, une taille et une hémoglobinémie plus élevée par comparaison avec les enfants du groupe contrôle.

Muslimatun *et al.*, (2001), dans une étude avec des femmes enceintes recevant un complément de fer et de vitamine A, ont détecté une augmentation dans la concentration de l'hémoglobine et une diminution dans la concentration de la ferritine sérique, probablement comme résultat de l'action de la vitamine A dans l'utilisation du fer dans l'hématopoïèse.

Dans une étude réalisée par Osório *et al.* (2004) avec 650 enfants, âgés de 6-59 mois dans l'État de Pernambuco, le niveau moyen d'hémoglobine (10 g/L) des enfants âgés de 6-23 mois était plus faible que celle des enfants âgés de 24-59 mois. Une analyse de régression linéaire multiple, fondée sur un modèle hiérarchique des facteurs associés à la concentration d'hémoglobine. Dans l'analyse de régression, le rétinol sérique était significativement associée à la concentration d'hémoglobine chez les enfants plus jeunes.

Soekarjo *et al.* (2004) ont réalisé une étude d'intervention de type randomisé avec 3616 participants, âgés de 12-15 ans. La supplémentation hebdomadaire a été réalisée pendant 14 semaines avec 60 mg de fer plus 250 µg d'acide folique (Groupe Fe, n = 978), 10 000 UI de vitamine A (groupe VA, n = 970), 60 mg de fer plus 250 µg d'acide folique plus 10 000 UI de vitamine A (groupe VAFe, n = 1042) et le (groupe contrôle, n = 626). L' intervention n'a pas changé le niveau d'hémoglobine. Toutefois, la concentration de rétinol sérique des participants dans le groupe supplémenté avec la vitamine A a augmenté et était statistiquement significative par rapport au groupe contrôle.

6.6. Indicateurs du statut vitaminique a et apports nutritionnels conseillés chez le fœtus, le nourrisson et l'enfant

Durant la grossesse, le besoin de la mère en vitamine A n'est que peu augmenté, même durant le dernier trimestre: les besoins fœtaux sont minimes et le foie fœtal accumule 1 à 2 mg de vitamine A. Le passage transplacentaire est peu efficace. En raison de ces faibles réserves à la naissance, il est particulièrement important d'assurer un apport adéquat au nourrisson: le lait maternel contient environ 0.5 ER*/ml, caroténoïdes compris, ce qui entraîne un besoin supplémentaire quotidien pour la mère de l'ordre de 375 ER pour volume de l'ordre de 750 ml. Un besoin similaire peut être retenu pour le nourrisson. Pour les enfants de 1 à 3 ans il est de l'ordre de 400 ER/j (Azaïs-Braesco et Grolier, 2001).

L'estimation du rétinol circulant, sur de grandes populations, reste un outil épidémiologique utile: une teneur plasmatique inférieure à 0.7 µmol/L (200 µg/L) dénote un risque de carence en vitamine A (Vanderjagt *et al.*, 1996). Au niveau de l'individu, cette teneur permet uniquement de diagnostiquer un déficit hépatique en vitamine A, à condition qu'ait été éliminée la présomption d'un apport protéique insuffisant, d'une atteinte hépatique et/ou d'une infection intercurrente.

7. La vitamine E

La vitamine E (tocophérols) a été découverte en 1922 par Evans et Bishop dans l'huile de germe de blé et son rôle reconnu dans les phénomènes de reproduction. En 1936, la vitamine E a reçu le nom de tocophérol, mot d'origine

grecque - *tokos* (crias enfant) et *pherein* (transporter), pour marquer son rôle essentiel dans la procréation et l'allaitement mis en évidence chez la souris (Asakura, 2006). Son autre propriété, liée à son action antioxydante, a été découverte plus tard et à fait l'objet de très nombreux travaux depuis la première publication en 1952.

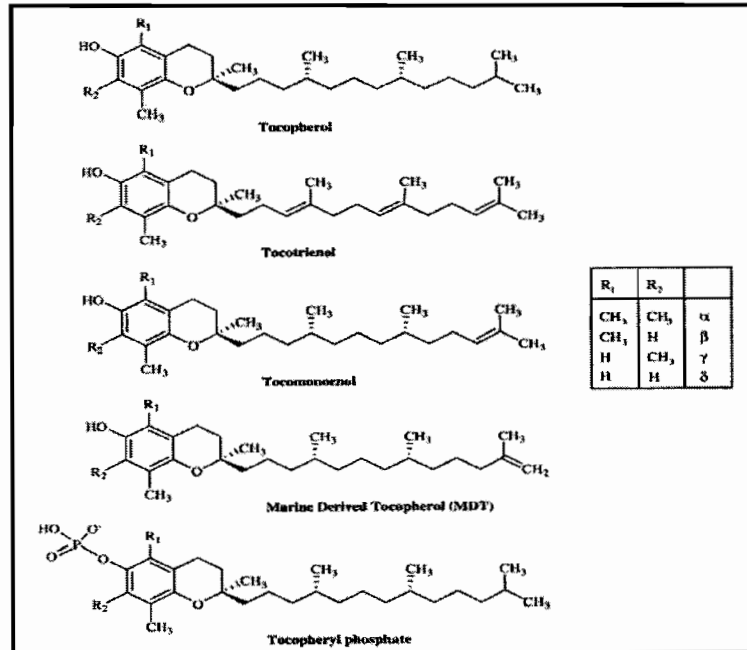
La vitamine E est l'antioxydant liposoluble majeur des lipides (Masson, 1977; Léger, 2000a; FAO/WHO, 2001; Wolf, 2005; Yoshida *et al.* 2007; Evans et Henshaw, 2008). Elle protège l'organisme d'une façon générale contre les radicaux libres (Phelps, 1987; Sonn *et al.*, 2005, Zhai *et al.*, 2005; Sheridan et Beck, 2008). Mais son rôle antioxydant protecteur s'exerce *in vivo* essentiellement au niveau des structures chimiques spécialement sensibles à l'oxydation: les doubles liaisons des acides gras polyinsaturés et les structures lipidiques condensées qui les contiennent: membranes cellulaires, lipoprotéines circulantes (Cummings et Mattill, 1931; Léger, 1992; 2000b).

7.1. Formes chimiques et nomenclature

Non synthétisée par l'homme, la vitamine E est d'origine végétale. Les végétaux contiennent huit vitamères de la vitamine E, formés d'une chaîne latérale isoprénique saturée (tocophérols) ou insaturée (tocotriénols) et d'un cycle 6-hydroxy-chromane (6-HC) tri-, di- ou monométhylé : ce sont les vitamères α -, β -, γ -, δ -tocophérols et α -, β -, γ -, δ -tocotriénols (**Figure 11**) (Azais-Braesco *et al.*, 2001; Yoshida *et al.* 2007, Zingg, 2007). L' α -tocophérol est le 6-HC méthylé en 5,7,8, le β -tocophérol en 5,8, le γ -tocophérol en 7,8 et le δ -tocophérol en 8. Les chaînes isopréniques sont portées par le carbone 2 du 6-HC. Cet atome de carbone est asymétrique. La chaîne isoprénique saturée porte deux autres atomes de carbone asymétriques, en 4' et 8'. Pour les tocophérols, ce sont les vitamères α et γ qui sont les plus abondants naturellement. Chaque vitamère de tocophérol se présente théoriquement sous formes de 8 stéréo-isomères, mais seul le stéréo-isomère *2R,4'R,8'R* (aussi noté *RRR*) est naturel. La forme *RRR*- α -tocophérol est retrouvée de façon largement prépondérante à la fois dans la circulation et les tissus chez les animaux comme chez l'homme (Clément *et al.*, 1995). Dans les populations d'Amérique du Nord, le *RRR*- γ -tocophérol peut atteindre des teneurs plasmatiques supérieures à celle du *RRR*- α -tocophérol en raison d'une

consommation élevée d'huile de maïs (riche en vitamère γ et pauvre en vitamère α) dans l'alimentation courante.

Figure 11 - Tocophérols, tocotriénols et molécules apparentées



D'après, Zingg, 2007 (Mol Asp Med 2007; 28:400-422)

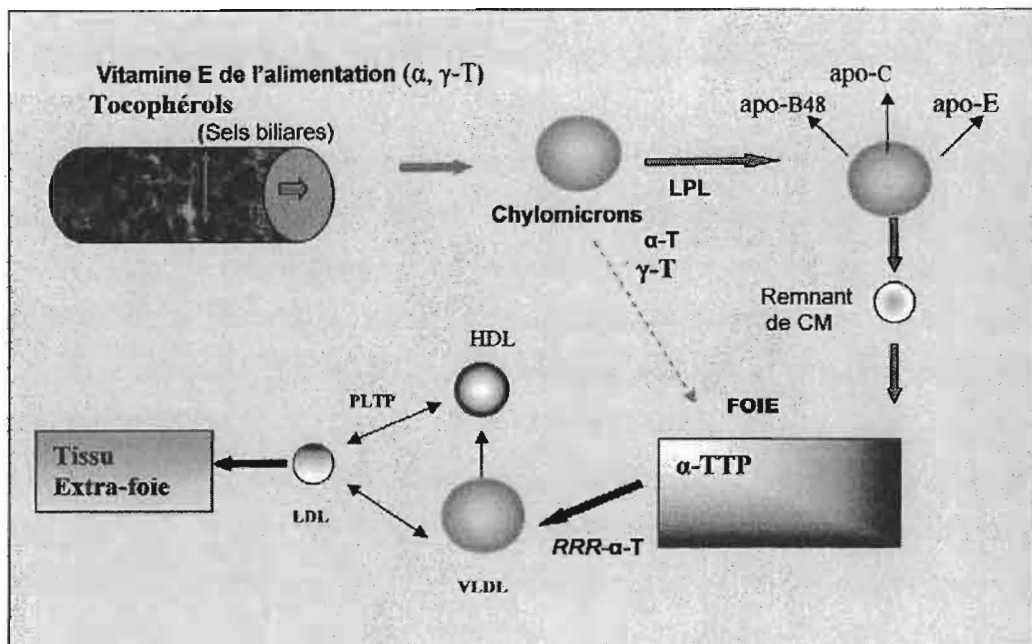
7.2. Métabolisme et transport de la vitamine E

Les tocophérols sont absorbés par les entérocytes en présence de sels biliaires après incorporation dans les micelles mixtes sels biliaires/phospholipides/lysophospholipides/acides gras/monoglycérides et ils sont exportés sous la forme de chylomicrons (CM) par les entérocytes dans le canal lymphatique jusqu'à la circulation générale où ils suivent le métabolisme des lipoprotéines. Dans le modèle cellulaire Caco-2 organisé en monocouche il a été récemment montré que l'absorption des deux vitamines *RRR*- α -tocophérol et *RRR*- γ -tocophérol, ainsi que du mélange racémique des vitamines 2*R* et 2*S*, étaient médiée, au moins pour partie, par le récepteur scavenger SR-BI (Reboul *et al.*, 2006). Ce résultat confirme l'idée généralement admise que, chez l'homme, il n'existe aucune discrimination entre les différentes formes de tocophérol lors du passage à travers la barrière intestinale. En revanche, d'autres résultats (Reboul *et al.*, 2006) suggèrent fortement que ce passage est le siège de phénomènes de compétition entre le *RRR*- α -tocophérol, le *RRR*- γ -tocophérol, le cholestérol et les caroténoïdes (principalement la lutéine et le β -carotène).

La LPL sous sa forme liée aux cellules (la LPL circulante ne joue pas ce rôle) est nécessaire au transfert de la vitamine E aux tissus (Traber *et al.*, 1985). Les HDL et les tissus périphériques peuvent ainsi s'enrichir en vitamine E lors de cette étape (Kayden et Traber, 1993). Après transfert de l'apo E des HDL aux remnants de chylomicrons, ces derniers sont captés par le foie, assurant ainsi la captation hépatique de la vitamine E. Celle-ci est ensuite libérée dans la circulation sanguine incorporée dans les VLDL synthétisées par le foie (Traber *et al.*, 1990a; Traber *et al.*, 1990b). Les VLDL sont à leur tour principalement « délipidées » par la LPL dans la circulation sanguine (elles se transforment alors en remnants de VLDL, ou R-VLDL), libérant ainsi la vitamine E et permettant son incorporation dans les tissus extra-hépatiques. Enfin, les R-VLDL retournent au foie, livrant ainsi une grande partie de la vitamine E exportée par l'entérocyte sous forme de chylomicrons.

A la différence des étapes de l'absorption intestinale et du transport de la vitamine E sous formes de CM jusqu'au foie, les étapes suivantes du métabolisme de la vitamine E vont être sélectives. L'incorporation de la vitamine E dans les VLDL exportées par le foie est en effet un processus spécifique. Il implique un enrichissement préférentiel des VLDL en *RRR*- α -tocophérol dû à l'action d'une protéine de transfert présente au niveau du foie, l' α -tocophérol transfer protein (α -TTP) (Sato *et al.*, 1991, 1993; Ouahchi *et al.*, 1995; Traber *et al.*, 1998; Rigotti, 2007) qui reconnaît spécifiquement le stéréoisomère *RRR* (figure 12). Ceci explique par ailleurs la raison pour laquelle le *RRR*- α -tocophérol, le stéréoisomère naturel de l' α -tocophérol, a une biodisponibilité 2 fois supérieure à celle des autres stéréoisomères (Burton *et al.*, 1998). Le *RRR*- α -tocophérol est progressivement libéré des VLDL et capté par les tissus extra-hépatiques, parallèlement à la « délipidation » progressive de ces derniers par la LPL conduisant à la formation des LDL. La forme *RRR*- α -tocophérol va donc se retrouver d'une façon largement prépondérante dans les LDL. Enfin, des échanges *in vivo* entre HDL et LDL permettent la répartition des différentes formes de tocophérol notamment grâce à la « phospholipid transfer protein » ou PLTP (Kayden et Traber, 1993; Desrumaux *et al.*, 1999).

Figure 12 – Le transport de la vitamine E dans l'organisme



Adapté de Azzi et Stocker (Prog Lipid Res 2000, 39: 231-255); Rigotti, Mol Aspect (Med 2007, 28:423-436)

La vitamine E est inégalement distribuée dans les tissus: le tissu adipeux (150 $\mu\text{g/g}$) constitue la principale réserve, mais elle se concentre également dans les corticosurrénales (132 $\mu\text{g/g}$, tissu), les autres tissus ayant une teneur moindre (Bauernfeind *et al.*, 1970; Rigotti, 2007). La voie biliaire est la principale voie d'excrétion de vitamine E. D'autres formes sont excrétés par la bile et l'urine, comme le carboxyéthyl hydroxychromane (CEHC). Le γ -CEHC semble être le principal métabolite éliminé à partir du γ -tocophérol, ce qui n'est pas le cas de l' α -CEHC à partir de l' α -tocophérol. Environ 50%, de la totalité, du γ -tocophérol est dégradé et excrété dans les urines (Swanson *et al.*, 1999; Brigelius-Flohé, 2002).

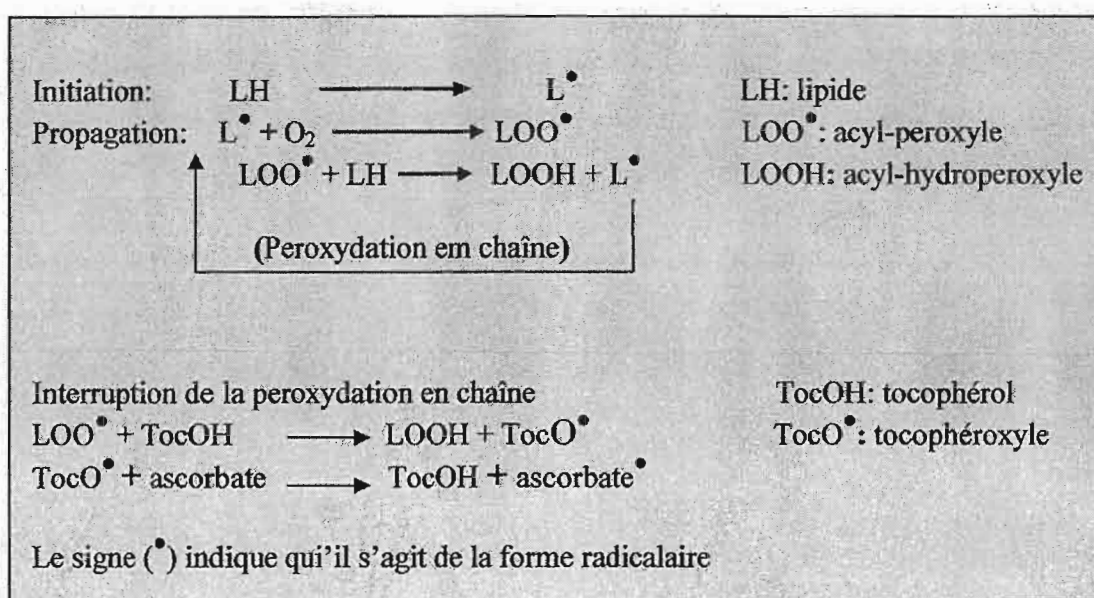
7.3. Fonction antioxydante

Le stress oxydatif peut être causé par le déséquilibre nutritionnel dû à un apport insuffisant en antioxydants de l'alimentation, à une faible activité ou une activité défectueuse des systèmes enzymatiques antioxydants, ainsi qu'à différentes situations: l'exposition trop intensive à des agents physiques (lumière), à des produits de l'environnement (certains toxiques, la pollution atmosphérique), la pratique d'une activité physique soutenue et des désordres héréditaires, de l'absorption des graisses par exemple. La vitamine E, en tant qu'antioxydant,

occupe une place importante dans la défense générale de l'organisme (Chow, 1991; Stahl et Sies, 1997; Ciocoiu *et al.*, 2007; Traber et Atkinson, 2007).

La vitamine E protège les lipides des membranes cellulaires et des LDL contre les attaques radicalaires (Thomas *et al.*, 1995; Abuja et Albertini, 2001). En effet la vitamine E, stabilisée par sa chaîne latérale (dans les membranes ou les LDL), a la capacité de céder un hydrogène de sa fonction hydroxyle à un radical libre tel un acyl-peroxy, et d'interrompre ainsi la chaîne de réaction de la lipopéroxydation, selon les réactions suivantes:

Figure 13 - Réactions de la lipopéroxydation



Le radical tocophéroxyle formé est relativement stable du fait de la délocalisation de l'électron célibataire sur le cycle aromatique (Abuja et Albertini, 2001). La vitamine E intervient en synergie avec la vitamine C (Milczarek *et al.*, 2000; Bruno *et al.*, 2005, Bruno *et al.*, 2006; Traber, 2007a). Ce processus a lieu

d'une façon permanente au niveau des sites d'action de la vitamine E (membranes plasmiques, transporteurs lipidiques présents dans le sang), à l'interface entre les lipides et l'eau. D'autres antioxydants hydrosolubles, particulièrement ceux présents dans l'alimentation, jouent un rôle analogue à celui de la vitamine C. Ce sont par exemple les flavonoïdes, les acides phénols et leurs dérivés. Toutefois, la forme oxydée de la vitamine C (déhydroascorbate), qui apparaît après régénération de la forme active de la vitamine E, a l'avantage d'être elle-même régénérable en sa forme réduite active (ascorbate) par un système enzymatique présent dans l'organisme, dépendant d'un autre composé réducteur, le glutathion, synthétisé par les cellules où il est présent généralement en excès (Tappel *et al.*, 1961; Packer *et al.*, 1979; Sies *et al.*, 1992; Léger, 2000a; Traber, 2007).

7.4. Fonction non-antioxydante

L' α -tocophérol (la plus importante composante de la vitamine E) intervient dans la régulation de mécanismes cellulaires, cette fonction étant sans lien avec sa fonction antioxydante (redox). Ainsi, l' α -tocophérol inhibe l'activité de la protéine kinase C (PKC), la croissance des cellules musculaires lisses et d'autres types cellulaires, l'agrégation plaquettaire, la production d'oxyde nitrique dans les cellules endothéliales, l'activité de la NADPH oxydase et la production de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ dans les neutrophiles et les macrophages; il diminue la transcription des gènes CD36 et la collagénase, augmente l'expression du facteur de croissance dans les tissus, active la protéine phosphatase 2A (PP2A), ce qui entraîne la déphosphorylation de la PKC et son inhibition, augmente l'expression de gènes, tel que celui de l' α -tropomyosine isoforme TMB α -2, conduisant à l'inhibition de la prolifération cellulaire (Cachia *et al.*, 1998; Brigelius-Flohé et Traber, 1999; Azzi et Stocker, 2000; Azzi *et al.*, 2001; Azzi *et al.*, 2002).

7.5. Indicateurs du statut et apports nutritionnels conseillés

7.5.1. Apport alimentaire et déficience en vitamine E chez l'homme

La biodisponibilité de la vitamine E dépend de l'apport lipidique au moment de l'absorption. Les tables de composition des aliments sont seulement indicatives

de la teneur en vitamine et ne permettent donc pas de tenir compte de la perte durant les phases de transformation et/ou de conservation. Environ 95 % des aliments aux USA et 70 % en Europe, subissent une transformation. Le procédé de conservation par irradiation- γ , notamment, initie les réactions en chaîne de lipopéroxydation, ce qui entraîne une perte de vitamine E (Gey, 1995).

Gey *et al.* (1993), Hensley *et al.* (2004) et Zingg (2007) suggèrent que l'apport en tocophérol alimentaire est optimal lorsque l' α -tocophérol plasmatique est supérieur à 25 – 30 $\mu\text{mol/L}$. Thurnham *et al.*, (1986) et Cheng *et al.*, (2005) constatent que la vitamine E plasmatique "normalisée" par le cholestérol (Vitamine E/cholestérol), supérieure à 2.25 $\mu\text{mol/mmol}$ peut être considérée comme optimale (Traber et Jialal, 2000; Traber, 2007). Les apports nutritionnels conseillés en France indiquent que la consommation de vitamine E la plus fréquente est de 9 à 11 mg/J chez l'homme et de 8 à 10 mg/J chez la femme, loin des niveaux d'apports carenciels (≤ 5 mg/J). Une partie de la population, notamment les personnes âgées et les moins de 18 ans, pourrait avoir une consommation proche de 5 mg/J (Léger, 2000a). Dans les pays développés, des déficiences vitaminiques ne sont pas rares chez des adultes en bonne santé apparente. Ces états de déficience, qui n'ont qu'une très faible traduction clinique, reflètent un déséquilibre nutritionnel (Guéant et Gastin, 1995).

Une déficience d'apport en vitamine E est associée à une augmentation de la formation de produits résultant de la peroxydation lipidique (Bell *et al.*, 2000; Lim *et al.*, 2008). La déficience marquée en vitamine E se traduit chez l'homme par de sévères troubles neurologiques (ataxie, aréflexie, perte de la proprioception) dues à des lésions neurologiques (Binder *et al.*, 1967; Harding *et al.*, 1985; Ben Hamida *et al.*, 1993a,b; Ricciarelli *et al.*, 2007; Rino *et al.*, 2007; Zingg, 2007).

Il a été suggéré sur la base d'études d'observation que la vitamine E (prise comme supplément ou apportée par une alimentation riche en vitamine E), diminue le risque d'accidents cardio-vasculaires (Vogelsang et Shute, 1946; Azzi, 2003; Tucker et Townsend, 2005; Traber, 2007b; Milman *et al.*, 2008), de diabète (Ando *et al.*, 1998; Bonnefont-Rousselot, 2004; Zitouni *et al.*, 2005; Hamdy *et al.*, 2009), de la mucoviscidose (Harrison *et al.*, 2003; Houglum *et al.*, 1997; Ricciarelli *et al.*, 2007), des maladies neurodégénératives, telle que la maladie d'Alzheimer (Berman et Brodaty, 2004; Morris *et al.*, 2005; Nishida *et al.* 2005; Ricciarelli *et al.*,

2007), de Parkinson (Fariss et Zhang, 2003) et la sclérose amyotrophique latérale (Bufferfield *et al.*, 2002). Des études expérimentales suggèrent que l'usage topique et oral de la vitamine E a des propriétés photoprotectrices et anti-tumorales (Thiele et Ekanayake-Mudiyanselage, 2007). L'effet bénéfique de la vitamine E est vu comme ayant un rapport avec d'autres maladies inflammatoires (Reiter *et al.*, 2007). Le stress oxydant est une des composantes essentielles de l'athérogénèse (Chertow, 2004; Munteanu et Zingg, 2007). Cependant, plusieurs études randomisées avec suppléments de vitamine E ne confirment pas ces résultats (Lawlor *et al.*, 2004). Lonn *et al.* (2005) ont publié les résultats d'une étude randomisée contrôlée par placebo sur l'effet de la vitamine E (400 IU/J) et l'apparition de cancers et d'accidents cardio-vasculaires majeurs. Cette étude, réalisée chez des patients de 55 ans ou plus, présentant une maladie vasculaire ou un diabète, n'a pas montré de différence quant à l'incidence de cancers ou d'accidents cardio-vasculaires entre le groupe vitamine E et le groupe placebo, et a montré en revanche une incidence accrue de l'insuffisance cardiaque.

Une méta-analyse récente d'études randomisées contrôlées suggère que des doses élevées de vitamine E (≥ 400 UI/J) pourraient augmenter le risque de mortalité toutes causes (Lonn *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2005).

7.5.2. Apport alimentaire et déficience en vitamine E chez l'enfant

Le taux moyen de vitamine E trouvé par Léger *et al.* (1998), chez des nouveau-nés français est de 3.51 mg/L. Chez des enfants nés à terme la normalisation de la concentration de la vitamine E se produit dès les premières semaines, avec le début de l'allaitement maternel. Les enfants qui sont allaités et qui consomment en moyenne 800 mL de lait/J ingèrent 2.7 mgTE/J. La FAO/WHO (2001) recommande chez l'enfant une consommation de vitamine E au moins égale à 0.3 mgTE/100 ml, soit 2.4 mg/J.

Différentes études montrent que des taux plasmatiques de vitamine E inférieurs à 5.0 mg/L indiquent une carence, ce qui ne garantit pas la protection antioxydante nécessaire au nouveau-né (Zipursky, 1984; Phelps, 1987, Galinier *et al.*, 2005). Karr *et al.* (1997), Allen *et al.*, (2000) et Cheng *et al.* (2005), considèrent qu'une concentration en vitamine E inférieure à 11.6 $\mu\text{mol/L}$ (soit 5.3 mg/L) chez des enfants âgés de 9 à 62 mois, est un signe d'insuffisance vitaminique E.

Turgut *et al.*, (2004) et Galinier *et al.* (2005), ont remarqué que des enfants nouveau-nés et en particulier les nouveau-nés prématurés constituent une population à risque en cas d'oxygénothérapie. Ce qui pourrait être dû aux faibles concentrations circulantes de vitamine E, notamment sous la forme liée aux LDL. Mais il faut noter que des LDL sont elles-mêmes présentes en faible concentration dans le plasma du nouveau-né, les faibles concentrations plasmatiques de vitamine E n'étant que la conséquence de cette faible concentration des LDL. Il a été proposé par ailleurs (Léger *et al.*, 1998) que, chez le nouveau-né, une valeur de la vitamine E normalisée par les lipides plasmatiques égale à 2.6 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ n'est pas un indicateur d'une carence en vitamine E. En fait, les carences chez l'enfant sont principalement le résultat d'un syndrome de malabsorption des lipides lié à différentes pathologies : la maladie coeliaque, la mucoviscidose, les abétalipoprotéïnémies et les cholestases primitives (Guéant et Gustin, 1995; Feki *et al.*, 2001), aggravée par l'administration de fer (Martinez *et al.*, 1981; Ibrahim *et al.*, 1997). De plus la carence en vitamine E entraînerait une diminution de l'internalisation du récepteur de la transferrine des lymphocytes, bloquant ainsi leur prolifération et leur participation à la réponse immunitaire (Pighetti *et al.*, 1998).

OBJECTIFS ET JUSTIFICATIONS DE L'ÉTUDE

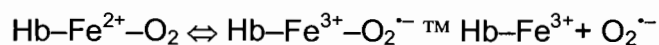
Le principal objectif de cette étude d'intervention a été d'établir si un apport complémentaire de vitamine E administrée seule ou avec un mélange multivitaminique plus Zn et Cu améliore l'hémoglobinémie et diminue la prévalence de l'anémie ferriprive chez 335 enfants (à l'inclusion dans le protocole) de 6 - 30 mois qui appartiennent à une population où l'anémie ferriprive est fortement prévalente et qui reçoivent pour cette raison un complément de sulfate ferreux (3 fois 30 mg/semaine). Pourquoi se fixer un tel objectif?

Le fer ferreux Fe^{2+} «décompartimentalisé» est un pro-oxydant puissant. Il joue un rôle majeur dans la réaction de Fenton et la production de OH^{\cdot} :



Le radical OH^{\cdot} est le radical libre le plus réactif connu à ce jour. Il réagit avec toutes les molécules qui l'entourent: il oxyde en particulier les bases puriques et pyrimidiques du DNA, les acides gras insaturés des membranes biologiques, conduisant à la formation de bases hydroxylées et de peroxydes d'acides gras. Il peut donc être notamment à l'origine de mutations ou de fuites membranaires. Par voie de conséquence, dans un environnement où le fer Fe^{2+} est présent à l'état libre (lumière intestinale; globule rouge du nouveau-né; sérum dans le cas de certaines pathologies) la simple présence de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 — et donc de son précurseur immédiat le radical anionique $O_2^{\cdot-}$ — déclenche des réactions d'oxydation importantes.

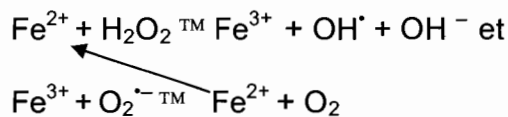
Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est produit par la dismutation de $O_2^{\cdot-}$ (l'anion superoxyde), dismutation spontanée lente mais accélérée par la superoxyde dismutase. L'origine de $O_2^{\cdot-}$ est ubiquitaire. On estime que 3% de l'hémoglobine ayant fixé une molécule d'oxygène (l'oxyhémoglobine $Fe^{2+}-O_2 \leftrightarrow Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}$) libère chaque jour $O_2^{\cdot-}$ selon la réaction



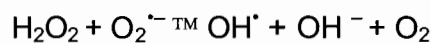
L'anion superoxyde est également produit par la fuite de la chaîne respiratoire mitochondriale, par réduction enzymatique de l'oxygène dépendante de NADPH due aux cellules de la réaction inflammatoire (monocytes, lymphocytes) et à la microflore intestinale, par oxydation de la xanthine ou de

l'hypoxanthine sous l'action de la xanthine oxydase présente dans la paroi des vaisseaux et de l'intestin. C'est le principal radical libre de l'inflammation (silencieuse et aiguë).

Du fait de sa configuration chimique, $O_2^{\cdot-}$ a des propriétés oxydantes ou réductrices selon le partenaire chimique avec lequel il réagit. Il réduit le fer Fe^{3+} en fer Fe^{2+} , permettant ainsi de régénérer Fe^{2+} et d'entretenir la réaction de Fenton



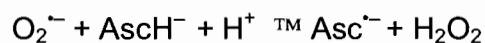
Le bilan ci-dessous de ces deux réactions (où $O_2^{\cdot-}$ réduit H_2O_2):



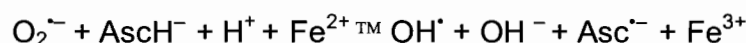
montre que Fe^{2+} peut être considéré comme un catalyseur d'oxydation dans la formation de OH^{\cdot} .

L'anion superoxyde réduit également une faible part du fer ferrique lié à la ferritine en fer ferreux, contribuant ainsi à élever le taux plasmatique de fer libre Fe^{2+} décompartimentalisé.

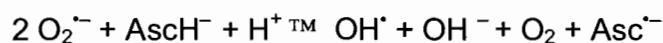
En revanche $O_2^{\cdot-}$ oxyde l'acide ascorbique ($AscH^{\cdot-}$) en produisant le radical peu réactif semidehydroxyascorbate ($Asc^{\cdot-}$) selon une réaction produisant H_2O_2 :



En présence de Fe^{2+} , cette réaction peut se poursuivre par la réaction de Fenton et produire OH^{\cdot} et Fe^{3+} . Dans ce cas le bilan des réactions s'écrit:



dans laquelle Fe^{3+} peut être réduit en Fe^{2+} par $O_2^{\cdot-}$ pour donner le bilan final:



Là encore, le fer Fe^{2+} joue le rôle de catalyseur d'oxydation de l'ascorbate $AscH^{\cdot-}$. Plus globalement, cette réaction indique que l'ascorbate piège («scavenge») l'anion superoxyde et joue ainsi son rôle antioxydant habituel, mais que cette action devient délétère (pro-oxydante) en présence de Fe^{2+} .

Le rôle pro-oxydant de Fe^{2+} est bien établi (Gutteridge et Halliwell, 1994). La forme sous laquelle il doit exister pour exercer son action pro-oxydante fait encore débat (Buettner, 1987). Mais il est généralement admis que Fe^{2+} doit être sous forme libre (non associée à une protéine) pour cette action. Même si les concentrations détectées in vivo sont le plus souvent micro/submicromolaires, son action a été vérifiée chez l'homme sain (Podmore *et al.*, 1998) et dans des situations pathologiques: la surcharge en fer d'origine génétique (hémochromatose), les pathologies vasculaires, neurologiques et des cancers (Valko *et al.*, 2006).

Cependant, l'association entre ferritine élevée et risque de maladie cardiovasculaire accru donne lieu à des résultats discordants¹ et fait l'objet de discussion (Galan *et al.*, 2006).

Du fait de la plus forte teneur en fer Fe^{2+} (et particulièrement en forme libre) de la lumière intestinale comparée à celle du sérum, les cancers colorectaux ont été mieux étudiés que les autres formes de cancer. Une association directe du risque de cancer colorectal avec des niveaux élevés d'ingestion de fer (ou des biomarqueurs de stockage du fer) a été le plus souvent établi. Certaines études ont abouti cependant à une conclusion inverse, montrant la complexité des phénomènes impliqués (se reporter en particulier à Cross *et al.*, 2006).

Chez le nouveau-né, des études ont montré l'existence d'une relation positive entre le fer libre soluble («nonprotein-bound iron») – qui est assimilable au fer ferreux libre – et les marqueurs du stress oxydant (Buonocore *et al.*, 1998; Signorini *et al.*, 2008). Une étude a été réalisée dans le but d'établir un lien statistique entre marqueur du stress oxydant et complémentation en fer (Braekke *et al.*, 2007). Ce lien n'a pas été établi par les auteurs. Sola et Rogido (2008) et Raghuvver et Buettner (2008) ont souligné par ailleurs les insuffisances de cette étude. En revanche, ce type de lien a été fortement suggéré chez des femmes

¹ Il est notamment légitime de poser la question de la pertinence de considérer comme indicateurs de statut martial des «constantes biologiques» qui sont étroitement régulés in vivo. Ainsi, le stress oxydant impliqué dans les maladies évolutives chroniques tend à réduire la charge en fer ferrique de la ferritine, mais régule aussi positivement l'expression génique de la ferritine H (MacKenzie *et al.*, 2008), donc l'activité ferroxidasique de la ferritine, entraînant une augmentation de sa charge en fer ferrique. D'une façon plus générale, les «iron regulatory proteins» (IRP) détectent la présence de fer ferreux libre (iron sensors), n'occupent pas le «iron responsive element» de l'ADN, ce qui permet la synthèse de la ferritine. En l'absence de fer, les IRP occupent IRE ce qui inhibe la synthèse de ferritine (Rouault, 2006).

enceintes recevant des doses élevées de fer et de vitamine C au troisième trimestre de gestation (Lachili *et al.*, 2001).

C'est donc en prenant en considération le rôle pro-oxydant de Fe^{2+} que nous avons envisagé le présent protocole fondé sur l'administration de doses de sulfates ferreux à de jeunes enfants. Pourquoi est-il intéressant de tester l'effet de l'apport simultané de vitamine E?

La vitamine E est un antioxydant capable de piéger de nombreuses espèces réactives de l'oxygène (ozone, oxygène singulet, superoxyde, hydroxyle) et de l'azote (monoxyde d'azote, peroxyde d'azote). Elle est le principal antioxydant des lipides de l'organisme présent dans les membranes biologiques et les lipoprotéines où elle prévient l'oxydation des acides gras polyinsaturés: soit en captant les espèces réactives responsables de leur oxydation, soit en interrompant la chaîne de réactions qui propage leur oxydation. On connaît la part prise par les processus de lipoperoxydation membranaire dans l'hémolyse des hématies et l'augmentation associée du taux sérique du fer ferreux libre décompartimentalisé consécutive à l'autoxydation de l'hémoglobine (Comporti *et al.*, 2002). Or la vitamine E protège des phénomènes d'hémolyse en arrêtant les processus de lipoperoxydation. Cette fonction a été reconnue dès les années cinquante (Rose et György, 1952) et largement confirmée ultérieurement (Binder *et al.*, 1967). Plus récemment, l'effet d'une complémentation en vitamine E sur hémoglobinémie a été recherché dans l'anémie hémolytique du prématuré recevant ou non un complément en fer. La plupart de ces travaux n'ont pas fourni de résultats convaincants, probablement en raison du fait que les groupes témoins recevaient une alimentation spéciale déjà enrichie en vitamine E (voir la revue de Fishman *et al.*, 2000), soulignant ainsi la nécessité d'un réexamen de cette question.

Outre ces propriétés antioxydantes, la vitamine E régule négativement la production de $O_2^{\cdot-}$ par une action directe sur les médiateurs de la signalisation (Cachia *et al.*, 1998) des cellules de l'inflammation. Elle est donc antioxydante à double titre: par ses propriétés redox, et par sa capacité à inhiber la production d'un radical libre dont le rôle dans les phénomènes d'oxydation est majeur.

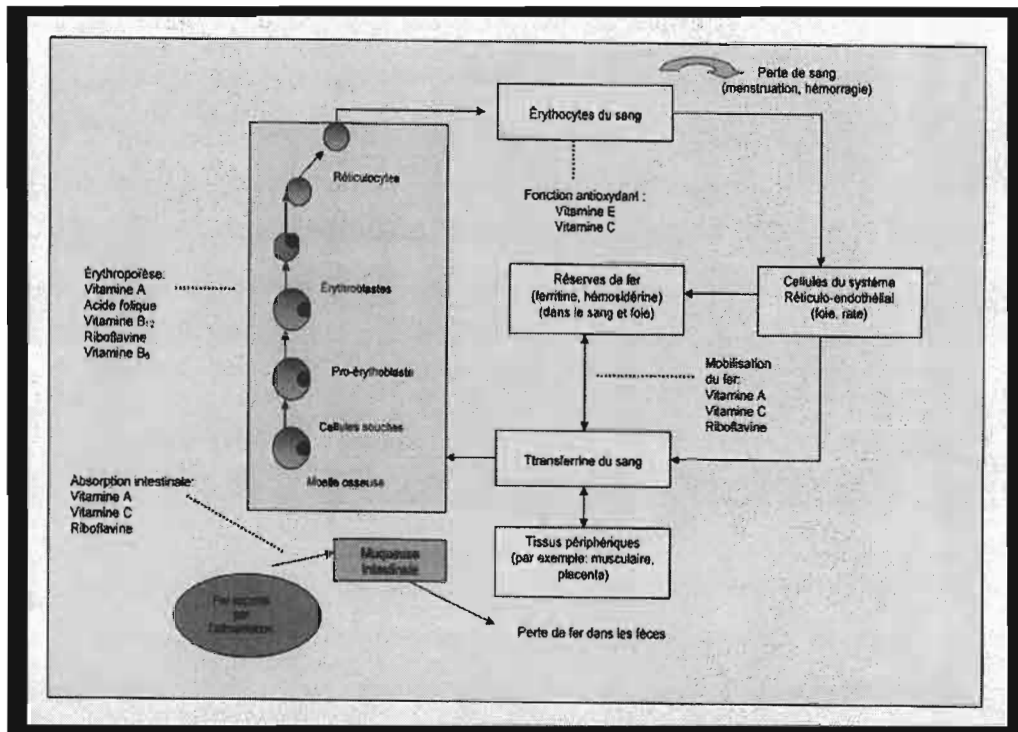
Ces rappels font apparaître qu'il est important de tester l'effet de la co-administration de fer ferreux et de vitamine E, et de comparer cet effet à celui de

l'administration de fer ferreux seul, afin de mettre en évidence le bénéfice supposé de la vitamine E dans un contexte de complémentation en fer de jeunes enfants.

La situation nutritionnelle des enfants du Nordeste est également une justification importante de ce travail. Il y a un peu plus de 10 ans, une étude du Ministère de la Santé du Brésil effectuée sur 751 enfants représentatifs de la population du Nordeste participant au «Programme des Agents Communautaires de Santé», a permis de montrer que la prévalence d'anémie était de 83 % à l'âge de 10 - 14 mois (Brasil, 1998). Plus récemment, une étude portant sur 777 enfants de 6 à 59 mois de l'Etat de Pernambuco (Nordeste) montre que la prévalence de l'anémie ferriprive est proche de 51 % en zone rurale, 40 % autour de la capitale Recife, et 36 % dans Recife (Osório *et al.*, 2001). L'anémie ferriprive est considérée au Brésil comme le principal problème nutritionnel chez les enfants de moins de 5 ans (Brasil, 2005). Cependant, des études récentes montrent que la carence en vitamine E pourrait être aussi un sujet de préoccupation. Assis *et al.* (2000) ont montré l'existence d'une proportion élevée (82 %) d'enfants de 12 - 14 mois présentant des taux faibles de vitamine E plasmatique (< 5 mg/L) dans la ville de Salvador (Nordeste). Barros *et al.* (2002) ont révélé que les teneurs du sang ombilical en vitamine E étaient inférieures à 4.64 µmol/L (soit 2 mg/L) dans 25 % des nouveau-né étudiés de la Zona da Mata (Nordeste), soulignant l'existence d'une déficience en vitamine E dans cette population.

Enfin, l'étude comparée des effets de la co-administration fer ferreux + vitamine E et de l'administration de fer ferreux seul a été complétée par la comparaison, à apport de vitamine E identique, des effets de la co-administration avec ceux de la multicomplémentation vitaminique et minérale. Le but était d'examiner si le bénéfice de la multicomplémentation est principalement attribuable, ou non, à la vitamine E. Les vitamines présentes dans le multicomplément interviennent à des titres divers sur la synthèse des hématies et le métabolisme du fer (Fig. 14).

Figure 14 - Le rôle de las vitamines dans le métabolisme du fer et de l'érythropoïèse



D'après, Fishman *et al.*, 2000 (Public Health Nutr 2000; 3:125-150)

La présence du cuivre et du zinc dans le multicomplément se fonde sur le double constat que l'anémie hypochrome et microcytaire (Auclair *et al.*, 2006), d'une part, et une plus grande sensibilité au stress oxydant (Powell, 2000), d'autre part, sont liés à un déficit alimentaire respectivement en Cu et en Zn. Le cuivre et le zinc sont par ailleurs constitutifs de la superoxyde dismutase cytosolique (érythrocytaire), dont l'activité est abaissée dans l'anémie ferriprive (Olivares, 2006). Or il a été montré chez l'animal que le déficit en cuivre est associé à une diminution de son activité dismutasique anti-radicalaire (Bartoli *et al.*, 1992; Auclair *et al.*, 2000), suggérant que le cuivre pourrait potentialiser cette activité.

Il est apparu en revanche ni éthiquement souhaitable (en se fondant sur les connaissances actuelles rappelées brièvement ci-dessus), ni approprié à l'objectif poursuivi, que la multicomplémentation vitaminique apporte un complément de vitamine C.

Enfin, trois objectifs complémentaires (secondary endpoints) ont été poursuivis sur ces 335 jeunes enfants. Il s'agissait de:

- Suivre l'évolution de caractéristiques biochimiques permettant de compléter les informations apportées par l'hémoglobinémie et d'apprécier les effets éventuels des compléments sur l'anémie, le statut martial et le statut inflammatoire: ferritine et fer sériques, volume corpusculaire moyen, récepteur soluble de la transferrine, hématrocrite, protéine C-réactive.
- Evaluer les caractéristiques anthropométriques et apprécier les facteurs socioéconomiques, démographiques et sanitaires susceptibles d'interagir avec les principaux biomarqueurs de l'anémie.
- Suivre l'évolution des teneurs en vitamines A et E du plasma sous l'influence des trois types de complémentation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Quelques rappels de géographie

Le Brésil est le plus grand pays de l'Amérique Latine. Il s'étend sur presque la moitié (47,3%) de l'Amérique du Sud, occupe une surface de 8.514.876,5 km² (IBGE, 2010). Le pays présente des frontières communes avec la Guyane Française, le Suriname, la Guyane, le Venezuela et la Colombie, au nord; avec l'Uruguay et l'Argentine, au sud; et avec le Paraguay, la Bolivie et le Pérou, à l'ouest. L'Océan Atlantique s'étend sur toute la côte est du pays, offrant 7.367 km² de littoral.

La République Fédérative du Brésil regroupe 26 états fédéraux et un district fédéral (Brasilia). Les états se répartissent en cinq régions administratives: le **Nord** (Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), le **Nord-Est** ou **Nordeste** (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe), le **Sud-Est** (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo), le **Sud** (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) et le **Centre-Ouest** auquel est rattaché le district fédéral de Brasilia (Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul) (**Annexe 1**).

La population brésilienne compte 191,5 millions d'habitants. La densité moyenne de la population est de 20 habitants au kilomètre carré, mais dans les faits, elle varie selon les régions (IBGE, 2010). Le Brésil est un pays multiracial et multiethnique. Le peuple brésilien est formé de trois grands groupes ethniques: les européens, les africains et les amérindiens (appelés «indiens»). Le portugais est l'idiome national.

En 2009, le Brésil se situait au 75^{ème} rang sur 182 pays d'après l'indice de développement humain (0,813, considéré élevé) du programme des nations unies pour le développement (PNUD, 2009). Si l'état de santé de la population s'est globalement amélioré, des écarts apparaissent entre catégories sociales, entre villes et campagnes et entre différentes régions du pays.

L'Etat du Pernambuco est l'un des états brésiliens où plusieurs pages de l'histoire du pays ont été écrites. Il occupe une surface de 98.526,6 km². L'état garde encore les marques du 17^{ème} siècle, période où il s'enrichit grâce à la production de canne-à-sucre. Détenteur de la deuxième économie de la région Nord-Est, la canne-à-sucre, activité séculaire pratiquée dans tout l'état, représente

encore 40% de l'économie de l'état. L'activité du tourisme, est apparue dans les années 90 et se développe régulièrement.

Capitale historique de l'État du Pernambuco, Olinda représente l'un des berceaux culturels brésiliens. Cette particularité, alliée à son architecture, des plus représentatives de la période coloniale, fit qu'elle fut classée par l'Unesco comme Patrimoine Culturel de l'Humanité en 1982.

La capitale actuelle de l'État du Pernambuco, Recife, occupe une surface de 217 km² (IBGE, 2010). La ville est dépositaire d'un patrimoine historique et architectural important. Elle compte de nombreuses constructions des XVII^{ème} et XVIII^{ème} siècles, héritage des colonisateurs portugais et hollandais. Le climat est chaud et humide, avec une température moyenne de 25,2°C.

La population de Recife compte 1,5 millions d'habitants. 87,9% des logements (et seulement 43,0% des ménages) sont liés au réseau général de collecte des eaux usées (IBGE, 2010).

La ville est traversée par les fleuves Capibaribe, Beberibe et Jordão. De nombreux ponts y facilitent la circulation, raison pour laquelle elle a été surnommée la Venise Brésilienne. La ville est moderne et culturellement la plus riches du Brésil.

2. Présentation de d'étude

Il s'agit d'une étude d'intervention de type essai clinique contrôlé, en double insu, conduite de juillet à décembre 2004, comportant trois groupes d'enfants recevant chacun un complément différent à base de sulfate ferreux. Elle répond aux trois critères fondamentaux requis pour ce type d'étude.

2.1. Une randomisation individuelle

La recherche a été développée dans treize crèches publiques municipales de la Ville de Recife. D'un total de 20 crèches, qui ont rencontré les enfants âgés de 0 à 30 mois, treize crèches ont été sélectionnés pour repartition aléatoire simples.

A partir d'un recensement des enfants des treize crèches, une liste de 335 enfants, garçons et filles de 6 à 30 mois, est établie. Un code est attribué à chaque enfant, allant de 1 à 335. Ces enfants sont distribués aléatoirement et

équitablement en trois groupes, grâce à une table de nombres aléatoires. Un registre des enfants est tenu par crèche.

Finalement, dans chacune des treize crèches, nous retrouvons les trois groupes d'enfants de l'étude. Cette randomisation avant le début de l'intervention devait donc permettre d'assurer une comparabilité des groupes à la phase initiale de l'étude.

2.2. Une intervention contrôlée

Le Laboratoire de la ROVAL Pharmacie de Manipulation a fabriqué les compléments destinés spécialement à l'étude. Ils ont été répartis dans des flacons ambrés sur lesquels étaient mentionnées les lettres A, B ou C correspondant à un code non connu des différents intervenants dans le protocole et au stade de l'analyse des échantillons, et permettant, après décodification, de faire correspondre l'un des trois compléments à chacune de ces trois lettres. Ces flacons ont été stockés dans des boîtes et gardés dans des locaux inviolables à température ambiante et protégés de la lumière. A chaque enfant étaient donc attribués un complément réparti dans deux flacons.

Les trois groupes d'enfants reçoivent les compléments trois fois par semaine, le lundi, le mercredi et le vendredi, pendant une période de 13 semaines. Les compléments sont donnés entre 7 h 30 et 9 h du matin dans une salle spécialement prévue à cet effet dans la crèche. Après vérifications de la photographie et des données personnelles de chaque enfant sur le livre de registre, l'assistant de recherche homogénéise le complément - qui se présente sous forme d'une solution - et administre par voie orale 1 ml de celui-ci à l'aide d'une seringue jetable de 1 ml. Si un enfant n'a pas bu tout le complément, ceci est inscrit par l'assistant de recherche dans la fiche individuelle de distribution du complément.

À la fin de la matinée, l'assistant de recherche responsable de la crèche relève le numéro des enfants absents. Il réserve les doses de complément non administrées pour raison d'absence et organise leur administration pour le lendemain. Il collecte les informations relatives à l'existence de manifestations secondaires et vérifie que l'usage d'autres compléments alimentaires n'a pas eu lieu.

La surveillance de l'administration des compléments a été assurée dans chaque crèche par les coordonnateurs de l'étude au Brésil et deux étudiants de thèse.

2.3. Une étude en double aveugle

Aucun intervenant direct dans l'étude, que ce soit au niveau des crèches ou en laboratoire, et aucun des chercheurs chargés de la rédaction et de l'interprétation des résultats, ne connaissait la signification du code. Le secret de la correspondance entre les lettres **A**, **B** et **C** et la nature des compléments administrés a été levé après réalisation de l'ensemble des analyses chimiques et statistiques.

3. Critères d'inclusion dans le protocole

Les enfants devaient être immatriculés dans les crèches, être âgés de 6 à 30 mois et ne pas souffrir de problèmes digestifs (en particulier d'absorption intestinale) et de problèmes neurologiques. Les noms des enfants inclus dans le protocole ont été enregistrés immédiatement et portés à cet effet dans un livre de registre. A chaque nom ont été attribués un numéro (de 1 à 335), une photo, une adresse et les données personnelles afin de faciliter leur l'identification au cours de l'étude.

4. Taille de l'échantillon

Pour le calcul de la taille de l'échantillon, les données du Projet de Lutte Contre l'Anémie Ferriprive (Brasil, 1998) ont été considérées puisque celui-ci portait sur des enfants de la même tranche d'âge que la présente étude. Considérant une hémoglobinémie moyenne de 94 g/L (ETM = 1.2) pour les enfants de 10 à 24 mois dans le Nordeste, les hypothèses suivantes ont été retenues pour la présente étude: une augmentation de 10 g/L après 3 mois de complémentation pour les groupes «fer+vitamine E» ou «fer+micronutriments», et de 5 g/L pour le groupe «fer». Pour calculer l'effectif des groupes ont été considérés une estimation de puissance de 80% et un niveau de signification de 5%, selon la formule suivante (Kirkwood, 1988):

$$n = (\mu + \nu)^2 \cdot (\delta_1^2 + \delta_2^2) / (\mu_1 - \mu_2)^2$$

μ : puissance de l'étude de 80% (0.84).

- ν : seuil de significativité de 5% (1.96).
 μ_1 : moyenne d'hémoglobine des groupes VITE et CMM (9.4+1.0g/dL=10.4g/dL).
 μ_2 : moyenne d'hémoglobine du groupe contrôle (9.4+0.5g/dL=9,9 g/dL).
 δ_1 : écart type du groupe VITE et CMM (1.2 g/dL).
 δ_2 : écart type du groupe traité au fer (1.2 g/dL).

Il en ressort que l'effectif minimal requis pour chaque groupe est de 90 enfants. Si l'on estime un taux d'abandon pendant l'étude d'environ 10%, l'effectif de chaque groupe doit donc être de 100 enfants, soit un total de 300 enfants pour l'ensemble de l'étude.

5. Les compléments

5.1. Fabrication

Les compléments ont fait l'objet d'une fabrication spécialement dédiée à la présente étude, par le Laboratoire de la ROVAL Pharmacie de Manipulation, entreprise brésilien, avec certification ISO 2001. Deux flacons de 30 ml de complément ont été préparés pour chaque enfant. Outre le code A, B ou C, chaque flacon portait le n° d'identification de l'enfant. Les composants des compléments ont été fournis par BASF Corporation (Frankfurt, Allemagne) pour le *RRR*- α -tocophérol (la forme naturelle de l' α -tocophérol) et DSM - Produits Pharmaceutiques (São Paulo, Brésil) pour les autres composants. Les composants fournis faisaient tous partie du même lot.

Des tests de contrôle de qualité ont été réalisés sur 10% des compléments par le Laboratoire des Produits Pharmaceutiques de l'Université Fédérale. Ils ont montré la conformité des compléments aux spécifications utilisées pour la fabrication.

5.2. Composition

▪ **Complément Fer (administré au groupe « contrôle »)**: il se présente sous forme d'une solution contenant 30,0 mg/ml de sulfate ferreux (poids exprimé en fer) (Brasil, 1998; WHO, 2001; Brasil, 2005).

▪ **Complément Fer + vitamine E (administré au groupe « VITE »)**: il se présente sous forme d'une solution contenant 30,0 mg/ml de sulfate ferreux (poids exprimé en fer) et 66,0 mg/ml de *RRR*- α -tocophérol (Brasil, 1998; Léger, 2000; WHO, 2001; Brasil, 2005).

▪ **Complément Fer + Complément multivitaminique et minéral (administré au groupe « CMM »)**: il se présente sous forme d'une solution contenant 30,0 mg/ml de sulfate ferreux (poids exprimé en fer), 66,0 mg/ml de *RRR- α* -tocophérol, 375 μ g RE/ml de vitamine A, 0,4 mg/ml de vitamine B1, 0,5 mg/ml de vitamine B2, 0,5 mg/ml de vitamine B6, 0,8 μ g/ml de vitamine B12, 5 μ g/ml de vitamine D3, 100 μ g/ml d'acide folique, 6 mg/ml de niacine, 5 mg/ml de zinc et 0,6 mg/ml de cuivre (Brasil et UNICEF, 1999).

L'administration des compléments trois fois par semaine, et non quotidienne, est justifiée par la réduction de manifestations secondaires (nausées, vomissements, douleur épigastrique, diarrhée, fèces foncées et le surgissement temporaire de taches foncées aux dents), une plus grande adhésion de la part des mères au traitement et une efficacité thérapeutique comparable à la distribution quotidienne.

5.3. Quantités de micronutriments (en mg) administrés par semaine à chacun des trois groupes de l'étude d'intervention

	Groupe «Controle»	Groupe «VITE»	Groupe «CMM»	Quantités équivalentes en mg/j
Sulfate ferreux	90	90	90	12,9
<i>RRR-α</i> -tocophérol		198	198	28,3
Vitamine A			1,125	0,16
Vitamine B1			1,2	0,17
Vitamine B2			1,5	0,21
Vitamine B6			1,5	0,21
Vitamine B12			2,4	0,34
Vitamine D3			0,015	0,002
Acide folique			0,3	0,043
Niacine			18	2,57
Zinc			15	2,1
Cuivre			1,8	0,26

6. Les indicateurs mesurés

6.1. Rappels

Indicateurs du statut en fer

Deux variables renseignent sur le statut en fer des individus: la ferritine et le TfR. Le dosage de la ferritine permet d'apprécier l'état des réserves en fer, mais le taux de ferritine augmente en cas de syndrome inflammatoire. Le récepteur libre de la transferrine permet d'évaluer les besoins en fer des cellules. Son taux plasmatique est abaissé en cas d'anémie inflammatoire, alors qu'il est augmenté dans le cas de l'anémie ferriprive, y compris dans le cas d'une anémie associant un syndrome inflammatoire et une carence en fer (WHO/CDC, 2004; Marković *et al.*, 2007).

Vitamines A et E plasmatiques

Les teneurs en rétinol et α -tocophérol plasmatiques sont des indicateurs couramment utilisés pour évaluer les déficiences en vitamines A et E, même si elles ne sont pas de bons indicateurs de l'état des réserves corporelles. Néanmoins, à notre niveau, comme nous agissons au niveau d'une population et non au niveau individuel, l'utilisation de cet indicateur est tout à fait acceptable (WHO, 1996; Karr *et al.*, 1997; Allen *et al.*, 2000)

Autres indicateurs

Les caractéristiques anthropométriques, socioéconomiques, démographiques et sanitaires des enfants ont été évaluées afin d'apprécier d'éventuelles interactions avec les principaux biomarqueurs de l'anémie et du statut en fer.

6.2. Méthodes d'évaluation

6.2.1. Recueil des données sanguines

Les données ont été récoltées au mois de septembre 2004, avant le début de l'intervention (T_0), puis 3 mois après, au mois de décembre 2004 (T_3). Les passages dans les crèches étaient répartis sur cinq jours de la semaine (du lundi au vendredi), ce qui représentait la visite d'une crèche par jour.

Les enfants se réunissaient dans la cour de la crèche et se présentaient l'un après l'autre, sans ordre pré-établi. L'identité des enfants était contrôlée puis une étiquette auto-collante avec leur prénom, nom et numéro dans le registre (de 1 à 335), encore dénommé code de l'enfant, était éditée. Le code était précédé du chiffre **1** pour les prélèvements à T_0 , et du chiffre **2** pour les prélèvements à T_3 .

L'enfant était conduit vers l'équipe de prélèvement de sang composée d'un technicien analyste et d'une assistante de recherche. La prise de sang était effectuée à jeun entre 7 et 9 h du matin. Pour chaque enfant, 5 ml de sang veineux étaient prélevés au pli du coude puis placés dans des tubes EDTA. Sur chaque tube étaient retranscrits le code complet et l'âge de l'enfant. Les tubes de sang étaient stockés immédiatement dans des boîtes isothermes à 0°C. Le transfert des échantillons de sang au laboratoire était effectué en fin de matinée pour analyses: hémoglobinémie, hématocrite, volume corpusculaire moyen (VCM), ferritine, protéine C-réactive (PCR), saturation de la transferrine, indice de saturation, capacité totale de liaison du fer et fer sérique.

L'après-midi même, l'hémogramme (hémoglobinémie, hématocrite et VCM) était réalisé grâce à un compteur cellulaire automatique (ABX Pentra 120 VEP 0027). Une fois l'hémogramme réalisé, les échantillons de sang étaient centrifugés à 3000 tours/mn pendant 10 mn. Le plasma obtenu était alors distribué dans des tubes destinés aux analyses biochimiques. Le plasma utilisé pour le dosage des vitamines A et E d'une part, et du TfR d'autre part, était placé dans deux tubes Eppendorf de 1,5 ml. L'ensemble de ces tubes était placé dans 16 boîtes numérotées de 1 à 16 et conservé à -80°C dans les congélateurs du laboratoire.

Tous les échantillons de plasma prélevés à T₀ et T₃ réservés aux dosages des vitamines A et E et de TfR ont été analysés au même moment à la fin de l'étude.

6.2.2. Recueil des données anthropométriques

Une fois la prise de sang effectuée, l'enfant est conduit vers l'équipe d'anthropométrie. Les mesures anthropométriques sont effectuées par deux techniciens spécialistes de l'anthropométrie, selon les recommandations de l'OMS. La taille est mesurée en position couchée pour les enfants de 0-24 mois et en position debout pour enfants de plus de 24 mois à l'aide d'un anthropomètre de 100 cm gradué en millimètre (Raven Equipment, Dunmow, Essex, England). La mesure est effectuée deux fois pour le même enfant, la différence entre chaque mesure ne pouvant excéder 0,5 cm. Si la différence est supérieure à 0,5 cm, une troisième mesure est prise. Pour l'analyse anthropométrique, les deux valeurs enregistrées les plus proches ont été retenues pour le calcul de la moyenne

lorsque 3 mesures avaient été effectuées. Le poids de l'enfant est mesuré à l'aide d'une balance digitale (Marte, modèle DM 160, Santa Rita do Sapucaí, Minas Gerais, Brésil), avec une charge maximale de 160 Kg et une graduation tous les 50 g. L'enfant est pesé habillé le plus légèrement possible et sans chaussures. L'âge de l'enfant est déterminé à l'aide du registre de la crèche.

Les rapports poids/âge et taille/âge ainsi que l'indice de masse corporelle (IMC) sont calculés à l'aide du logiciel Anthro-2005 de l'OMS (WHO, 2006).

6.2.3. Recueil des données sur la situation familiale

Lors du premier prélèvements effectués sur les enfants (à T₀), les deux assistants de recherche enquêtent auprès des mères à l'aide d'un questionnaire standardisé et pré-codifié sur la situation socio-économique, démographique, sanitaire et nutritionnelle de la famille. Ces données sont récoltées en fin de journée dans une salle spécialement prévue à cet effet (Annexes 2, 3, 4, 5 et 6).

6.2.4. Méthodes de dosage

6.2.4.1. Principe du dosage d'hémoglobine

La lecture a été réalisée grâce à un compteur cellulaire automatique, du type ABX Pentra modèle 120 VEP 0027, par l'impédansiométrie, spectrophotométrie et absorvância, déterminant les leucocytes les hémaces, l'hémoglobine, l'hémathocyte, les indices hématimétriques, les plaquettes, le comptage différentiel des leucocytes et la morphologie.

Les dosages se font à l'aide de kits: ABX cleaner, ABX eosinofix, ABX lyse, ABX basalyse et ABX diluant.

6.2.4.2. Principe du dosage de la ferritine

La lecture des échantillons contenant le plasma a été réalisée par chimioluminescence directe par l'équipement *Automated Chemiluminescence System* – ACS 180 de Bayer. On a utilisé les réagents suivants: lite ferritina ACS 180 et fase sólida ferritina ACS 180.

6.2.4.3. Principe du dosage du récepteur de la transferrine

Les échantillons de plasma ont été dilués dans une solution tampon contenant des anticorps spécifiques du récepteur de la transferrine. Après une période de 2 heures d'incubation, les échantillons ont été lavés avec la solution de lavage concentrée dans un cylindre gradué de 250 ml. Ensuite, le volume a été lavé avec de l'eau distillée et conservé à température ambiante. Les dosages du récepteur de la transferrine a été réalisée par dosage immuno-enzymatique d'après le protocole le kit de test Ramco.

6.2.4.4. Dosage simultané des vitamines A (rétinol) et E (RRR- α -tocophérol) plasmatiques

Préparation des réactifs

Les dosages simultanés des vitamines A et E sont effectués d'après le protocole développé par De Leenheer *et al.*, (1979).

Solution de rétinol (Sigma): M = 286.5

La solution mère à 1 mmol/L est réalisée en dissolvant 2,86 mg de rétinol dans 10 mL d'éthanol. La solution de travail à 10 μ mol/L est obtenue en diluant la solution mère au 1/100 dans l'éthanol. La concentration précise ($C_R = 10.55 \mu\text{M}$) est alors calculée en tenant compte du coefficient d'extinction molaire du rétinol à 325 nm ($\epsilon = 5.26 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l. cm}^{-1}$) par application de la loi de Beer-Lambert.

Solution de rétinyl acétate (RA = standard interne - Sigma): M = 328.5

La solution de travail à 11,04 μ mol/L est obtenue par dilution dans l'éthanol d'une solution mère à 36,27 mg de RA dans 10 mL d'éthanol qui est à son tour dilué au 1/1000 dans l'éthanol.

Solution de α -tocophérol (Sigma): M = 430.7

La solution mère à 230 μ mol/L est obtenue en dissolvant 5 mg d' α -tocophérol dans 50 mL d'éthanol. La concentration précise ($C_{\alpha T} = 219.7 \mu\text{M}$) est calculée en tenant compte du coefficient d'extinction molaire de l' α -tocopherol à 292 nm ($\epsilon = 3.29 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l. cm}^{-1}$).

Solution de δ -tocophérol (δ -T = standard interne - Sigma): M = 402.7

La solution de travail à 151.02 $\mu\text{mol/L}$ est obtenue par dilution de 61 mg de tocophérol acétate dans 1 mL d'éthanol (solution mère) qui est à son tour dilué au 1/1000 dans le éthanol.

La concentration de ces solutions est vérifiée comme précédemment par la DO.

Gamme d'étalonnage utilisée pour la standardisation externe

L'analyse de la gamme d'étalonnage est réalisée par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) pour 100 μL de plasma. On a utilisé un mélange des 4 étalons cités ci-dessus avec des volumes de solution qui varient de 10 à 100 μL pour les solutions de rétinol (10.55 $\mu\text{mol/L}$) et α -tocophérol (219.7 $\mu\text{mol/L}$) et une quantité fixe de 50 μL des standards externes de rétinyl acétate et de δ -tocophérol pour chaque tube. On injecte 50 μL des différentes solutions de la gamme dans le système (CLHP).

Analyses des vitamines A (rétinol) et E (α -tocophérol) par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec:

Cette analyse nécessite un ensemble de modules comprenant:

- 1 colonne Nova-Pak C18 (150 m x 3,9 mm, particules de 4 μm) (Waters Chromatography, Milford, USA).
- 1 détecteur ultraviolet Waters 430 (Waters).

Mesure à 325 nm pour la vitamine A et RA.

Mesure à 295 nm pour le δ -T et l' α -T.

La phase mobile est constituée par un mélange méthanol/H₂O (90:10, v/v) dont le débit est 1.0 mL/min. Les concentrations en vitamines des échantillons analysés sont données directement par le passeur.

S_{RA} (ou S _{δ T}) = Surface du pic de rétinyl acétate ou du δ -tocophérol de l'échantillon à doser;

B = Pente de la droite d'étalonnage du rétinol ou d' α -tocophérol;

Extraction des vitamines A et E

L'extraction des vitamines A et E est faite avec 200 μL de plasma; on ajoute 100 μL de standard interne (SI), 100 μL d'éthanol contenant 0.1 % d'acide ascorbique (antioxydant). Le mélange est agité au vortex pendant 30 s, ensuite on

ajoute 1 mL d'hexane et on agite par 10 min. Le tout est centrifugé à 4000 t/min à 4°C pendant 10 min.

On prélève la phase supérieure (hexane) qui est évaporé à sec sous azote et à 40°C. Le résidu sec est repris par 150 µL de méthanol. On injecte alors 100 µL de cet extrait en CLHP.

6.2.4.5. Autres indicateurs

6.2.4.5.1. Principe du dosage de la transferrine, du fer sérique et de la capacité totale de liaison du fer

Les échantillons de plasma ont été traités avec une solution d'acide nitrique à 10% pendant douze heures et lavés exhaustivement avec de l'eau courante et rincés avec de l'eau déionisée. Le matériel a été mis au bain-marie, maintenu à température constante de 37°C, pendant dix minutes.

Les réactifs utilisés sont: tampon: 250 mmol/L, hydroxylamine: 144mmol/L, pH 4,0, modèle: 500 µg/dL et ferrosine: 28mmol/L.

La lecture a été faite par Spectrophotomètre CELM, modèle E-225 D, à température ambiante.

Principe du calcul de la transferrine:

$$\text{Transferrine (mg/dL)} = \text{CTLF} \times 0,70$$

CTLF – capacité totale de liaison du fer

La transferrine a été définie par la valeur de référence du laboratoire et Yamanishi et al. (2003).

Principe du calcul de l'indice de saturation de la transferrine:

$$\text{IST (\%)} = \frac{\text{Fer sérique}}{\text{CTLF}} \times 100$$

IST – indice de saturation de transferrine

CTLF – capacité totale de liaison du fer

L'indice de saturation de la transferrine a été définie par la valeur de référence du laboratoire et Peter et Wang (1981).

Principe du calcul de la capacité totale de liaison du fer:

$$\text{CTLF } (\mu\text{g/dL}) = \frac{\text{Fer serique}}{\text{CLLF}} \times 100$$

CLLF – capacité latente de liaison du fer

CTLF – capacité totale de liaison du fer

La capacité totale de liaison du fer a été définie par la valeur de référence du laboratoire et Peter et Wang (1981).

6.2.4.5.2. Principe du dosage de la Protéine C-réactive

La lecture des échantillons contenant le plasma a été réalisée par l'équipement Cobas Mira, utilisant la méthodologie «*turbidimetry-látex-high sensitivity*». Le niveau de la protéine C-réactive a été définie comme < 1.45 mg/L pour les garçons et 1.90 mg/L pour les filles en accord avec Biosystems kit (Costa Brava, Barcelona, Espagne).

6.2.4.6. Caractéristiques anthropométriques, socioéconomi-ques, démographiques et sanitaires

Les caractéristiques anthropométriques, socioéconomiques, démographiques et sanitaires des enfants ont été évaluées afin d'apprécier d'éventuelles interactions avec les principaux biomarqueurs de l'anémie et du statut en fer.

7. Valeurs seuils des indicateurs utilisés

D'après l'OMS, pour les enfants de moins de 5 ans, l'anémie correspond à une hémoglobinémie inférieure à 110.0 g/L (WHO, 2001), la carence en fer à une ferritinémie < 12 µg/L et/ou à une teneur plasmatique en sTfR > 8.3 mg/L (WHO, 2001; kits Ramco Laboratories). L'anémie par carence en fer est définie par la co-existence de l'anémie et de la carence en fer (WHO, 2001).

La carence en vitamine A est biochimiquement définie par une teneur plasmatique inférieure à 0.70 µmol/L (Flores *et al.*, 1991; WHO, 1996), tandis que l'on considère généralement que la carence en vitamine E existe pour des teneurs en α-tocophérol plasmatiques inférieures à 11.6 µmol/L (Karr *et al.*, 1997; Allen *et al.*, 2000), soit 5 mg/L.

8. Validation des données

Concernant l'hémoglobémie et la ferritinémie, avant chaque série d'analyses à T_0 et T_3 , des échantillons servant au contrôle de l'appareillage sont utilisés afin de détecter une éventuelle «dérive» de celui-ci. Les contrôles et les échantillons servant à la droite d'étalonnage sont fournis par Horiba ABX Ltda, (São Paulo, Brésil) et Bayer du Brésil (São Paulo, Brésil), respectivement. Pour les dosages de TfR, les contrôles et les échantillons servant à la droite d'étalonnage sont fournis par les kits (Ramco Laboratories, Stafford, Texas, Etats-Unis).

Pour les analyses des vitamines A (rétinol) et E (*RRR- α -tocophérol*), les contrôles sont ceux utilisés l'Hôpital Universitaire de l'Université Fédérale de Pernambuco, fourni par Sigma Chemical (St Louis, Etats-Unis).

9. Traitement et analyse des données

Le traitement des données a été réalisé par deux techniciens (double entrée des données), ayant comme finalité de faire le point sur la consistance et la validité des variables. Le programme Epi-Info, version 6.04 est utilisé pour gérer cette base de données. Ont été calculées les distributions de fréquence relatives et absolues, moyenne et écart type pour les variables continues. Des pourcentages ont été donnés pour les variables ordinales. Lorsque les distributions ne suivaient pas une loi normale (cas de la ferritine), une transformation logarithmique a été utilisée et le variable a été exprimée par leur moyenne géométrique et un intervalle de confiance à 95%. L'analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer les moyennes des variables continues. Si la différence entre les moyennes a été significative, les différences entre les groupes ont été testées par un test de Bonferroni (test de comparaison multiple). Ont été considérés statistiquement significantes, les valeurs de $p < 0.05$. Les analyses ont été réalisées au moyen d'un programme statistique SPSS, version 12.0.

10. Considérations éthiques

Le comité scientifique et le comité d'éthique du Centre de Sciences de la Santé de l'Université Fédérale de Pernambuco (Brésil) a approuvé le protocole de cette étude. Tous les parents ont été informés oralement et par écrit de l'objectif et du déroulement de l'intervention et ont donné par écrit leur consentement éclairé à

la participation de leur enfant à la présente étude. Ils ont été informés que les enfants pouvaient être à tout moment retirés de l'étude. À la fin de l'intervention, les parents d'un enfant anémique ont été informés de l'état de leur enfant, et une proposition de soin a été faite dans l'Hôpital Universitaire de l'Université Fédérale de Pernambuco.

11. Institutions participantes

Ce projet de recherche a fait partie d'une convention établie entre la CAPES et le COFECUB (Projet n°. 296/99-I) et a reçu l'appui technique et scientifique de l'Université Fédérale de Pernambuco, à travers le Programme de 3^{ème} cycle en Physiologie, Nutrition et Pédiatrie de l'Institut de Biologie, Laboratoire de Nutrition Humaine et Athérogénèse, Université Montpellier I - France et l'UR 106 NALIS l'Institut de Recherche pour le Développement – IRD, Montpellier-France.

RÉSULTATS

Résultats – Partie 1

Diagnostic de l'anémie ferriprive chez les enfants évalué à l'aide de différents paramètres, hématologiques et biochimiques (voir article joint).

L'objectif de cette partie du travail était d'établir la prévalence de l'anémie ferriprive dans la population de jeunes enfants de 6 à 30 mois reçus dans 13 crèches de la ville de Récife. Pour ce faire, plusieurs indicateurs ont été utilisés: l'hémoglobine (Hb) pour le diagnostic de l'anémie, la ferritine sérique (FeS) et le récepteur soluble de la transferrine (TfR), pour faire la part des anémies avec ou sans déficience en fer, ainsi que la protéine C réactive (CRP) pour établir la prévalence d'un syndrome inflammatoire.

Les résultats montrent que 92,4 % des enfants présentaient une anémie (Hb < 110 g/L) et 28,9 % une anémie sévère (Hb < 90 g/L). La tranche d'âge présentant l'hémoglobine la plus faible était celle des 7-17 mois. La déficience en fer était observée chez 51,5 % des enfants (FeS < 12 µg/L) et l'anémie accompagnée d'une carence en fer (anémie ferriprive) chez 58,1 % des enfants, tandis que 34,2 % des enfants présentait une anémie sans carence en fer. Il a été vérifié que seule la ferritine était significativement associée à un syndrome inflammatoire.

La prévalence élevée de l'anémie ferriprive observée dans cette population montre toute l'importance qu'il faut accorder à cet état, particulièrement préjudiciable à la croissance et au développement de l'enfant. Des politiques de santé publique devraient être mises en place, portant sur l'amélioration des pratiques alimentaires. Parmi celles-ci, l'allaitement au sein pendant les 6 premiers mois suivi par l'introduction progressive d'aliments bénéficiant de compléments en micronutriments adéquates durant la période de diversification du régime alimentaire des enfants devraient pouvoir être envisagés.

La deuxième partie de ce travail de thèse aura précisément pour but de tenter de mieux définir quels compléments en micronutriments sont susceptibles de présenter la meilleure efficacité pour combattre l'anémie.

Diagnosis of iron deficiency anemia in children through different hematological and biochemical parameters

Antonio Geraldo Cidrão de CARVALHO¹, Pedro Israel Cabral de LIRA², Maria Fátima Alcântara BARROS¹, Maria Luiza Martins ALÉSSIO³, Marília Carvalho LIMA⁴, Marie-Annette CARBONNEAU⁵, Jacques BERGER⁶, Claude Louis LEGER⁵

¹Laboratório de Fisioterapia em Saúde Coletiva - LabFISC do Núcleo de Estudos e Pesquisas Epidemiológicas em Fisioterapia e Saúde - NEPEFIS do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba - Brasil.

²Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil

³Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil

⁴Departamento Materno Infantil do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil

⁵Laboratoire de Nutrition Humaine et Athérogénèse, Faculté de Médecine, Institut de Biologie, Université Montpellier 1, France

⁶Institut de Recherche pour le Développement - IRD / Montpellier / UMR 204 NutriPass

Address correspondence and reprint requests to:

**Pedro Israel Cabral de Lira (Lira PIC)
Departamento de Nutrição/Universidade Federal de Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária
50 670-901 - Recife - Pernambuco - Brasil
e-mail: lirapic@ufpe.br**

Diagnosis of iron deficiency anemia in children through different hematological and biochemical parameters

Antonio Geraldo Cidrão de CARVALHO¹, Pedro Israel Cabral de LIRA², Maria Fátima Alcântara BARROS¹, Maria Luiza Martins ALÉSSIO³, Marília Carvalho LIMA⁴, Marie-Annette CARBONNEAU⁵, Jacques BERGER⁶, Claude Louis LEGER⁵

ABSTRACT

Objective: to combine different biochemical and hematological parameters in the diagnosis of iron deficiency anemia in children attending public daycare centers.

Method: the study was conducted with a sample of 301 children aged 6 to 30 months. The following hematological tests were performed: hemoglobin, mean corpuscular volume, ferritin, C-reactive protein, transferrin saturation and transferrin receptor. **Results:** from the total children 92.4% had anemia assessed through hemoglobin concentration (Hb <110g/L) and 28.9% had severe anemia (Hb <90g/L). Lower levels of hemoglobin were found in children aged 6-17 months. Iron deficiency was found in 51.5% of children, using ferritin (<12 µg/L) as parameter. With the combination of hemoglobin level, ferritin and transferrin receptor, 58,1% had anemia with iron deficiency, 34.2% had anemia without iron deficiency and 2.3% had iron deficiency without anemia. Mean ferritin concentration was significantly higher in children with high C-reactive protein when compared with those with normal levels (22.1 vs 14.8 µg/L). **Conclusion:** the use of several parameters in assessing iron deficiency anemia in risk populations has contributed for a greater understanding of different stages of this deficiency and for a better definition of possible interventions at individual and population levels.

Key words: Anemia. Diagnosis. Iron deficiency anemia. Iron deficiency. Ferritin. Transferrin receptor.

INTRODUCTION

Iron deficiency is assigned as the main determinant of anemia, the nutritional disorder of greatest magnitude worldwide, constituting a relevant public health problem.²⁵ It is estimated that more than two billion people are iron deficient affecting populations of almost all countries in different degrees, corresponding to approximately one third of the population on earth. In Brazil, it has been increasing especially in vulnerable population groups as infants, pre-school children, adolescents and women within the childbearing age, including pregnant women.^{19,20}

In Brazil, the short duration of exclusive breastfeeding, low intake of foods with bioavailable iron, occurrence of diarrhea, the precarious protein energy deficiency, the low maternal education level and lack of basic sanitation are reported as exerting significant impact in reducing hemoglobin concentration.¹⁷ Iron deficiency anemia impairs psychomotor development and growth, reduces physical activity and resistance to infection.^{5,15}

Hemoglobin level is a parameter universally used to assess the presence of anemia in population-based epidemiological studies. However, this parameter does not have good sensitivity and specificity to assess iron deficiency anemia, considering the different stages of that deficiency and the specific peculiarities of each population group. Moreover, hemoglobin concentration varies between individuals with regard to sex, age, race and altitude.^{7,24,26}

Although internationally adopted, the cut-off point to classify anemic infants has been questioned for some time.⁹ Changes in hemoglobin concentration occur gradually, while the parameters recommended for diagnosing anemia are fixed for each age group, not taking into account the higher rate of growth during infancy, making it difficult to distinguish exclusively through this indicator iron deficiency due to infant's physiological variations.²³ In this perspective, the objective of this study was to combine different biochemical and hematological parameters in diagnosing iron deficiency anemia in children.

METHODS

Study area

This study was developed in the period from July to August 2004 in a sample of 335 children aged six to 30 months, attending 13 public daycare centers of the city of Recife, Northeastern Brazil. The 13 daycare centers were selected through a simple random sampling out of a total of 20 centers that attended children who fulfilled the inclusion criteria. The children were recruited for an intervention study aimed to assess the efficacy of iron supplementation for treatment of anemia.

Data collection

Two trained research assistants were in charge of collecting 5 ml of blood through peripheral venous puncture with disposable syringe and needle in fasting children of at least eight hours. The blood was placed in tubes, marked with the child's code, using ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) as anticoagulant to perform the following tests: hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), ferritin, C-reactive protein (CRP), transferrin saturation (TS) and transferrin receptor (sTfR).

Information on family income, children biological characteristics and feeding profile were collected through pre-coded standardized questionnaires applied to mothers by trained interviewers.

Hematological evaluation

Hemoglobin and mean corpuscular volume were electronically determined by ABX Pentra, model ABX 120 VEP 0027 at room temperature.. Ferritin was measured using the Automasted Chemiluminescence System - ACS: 180 Bayer with direct chemiluminescence methodology using Bayer controls. Transferrin saturation was measured through spectrophotometer CELM model E-225 D. Transferrin receptor dosage was performed through enzyme immunoassay (ELISA). The C-reactive protein was measured using Cobas Mira with turbidimetry-latex-high sensitivity methodology at room temperature.

Anemia was defined based on hemoglobin concentration < 110 g/L and anemia with iron deficiency was defined by the combination of the following indicators: hemoglobin < 110 g/L, serum ferritin < 12 µg/L and transferrin receptor > 8.3mg/L in accordance with criteria established by WHO.²⁵ The level of C-reactive protein is defined as normal when < 1.45 mg/L for boys and < 1.90 mg/L for girls according to Biosystems kit (Costa Brava, Barcelona, Spain).

Anthropometry

The anthropometric evaluation was conducted in compliance with recommendations of the World Health Organization by two trained technicians. The weight was obtained through a digital scale (Marte, model DM 160, Brazil), with precision of 50g. The length was measured using anthropometer with amplitude of 100cm and subdivisions of 0.1cm from Raven Equipment (England). Two length measurements were taken and the difference between them could not be more than 0.5cm. If the difference exceeded 0.5cm, a third measure was performed, and the two measures with the smallest difference were recorded. For the analysis of the nutritional status, the mean of the two measures recorded was considered. The nutritional status was assessed through weight-for-age, length-for-age and body mass index (BMI) using the reference curves of WHO (Anthro-2005).

Data processing and analysis

Data were coded, entered in double entry and validated using Epi-Info software version 6.04. For categorical variables, differences were assessed by a chi-square test, adopting Yates' correction for dichotomous variables. For continuous variables, one-way analysis of variance (ANOVA) was employed. Statistical significance was taken as p value ≤ 0.05. Analysis was undertaken with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 12.0.

Ethical considerations

The research was approved by the Ethics Committee of the Health Science Centre, of Federal University of Pernambuco. Written informed consent was obtained from the mothers or guardians and they were informed of the outcomes

of examinations performed. Children diagnosed with anemia were appropriately treated.

RESULTS

The studied children were of low socioeconomic level with a monthly *per caput* family income of less than two minimum wages (1 MW = US 117), 7% were of low birthweight (< 2500 g), the current weight- and length-for-age deficits (< -2 z scores) were 5% and 11%, respectively, and 11% of them were overweight (BMI \geq 2 z scores). Most of them (64%) were in the age group from 12 to 23 months, 7% had never been breastfed and 22% were still receiving breast milk during data collection.

Table 1 shows that on the total of subjects (n = 301), 92.4% had anemia, 58.1% had anemia with iron deficiency (49.8% with low ferritin and 8.3% with high transferrin receptor) and 34.2% had anemia without iron deficiency. Only 2.4% had iron deficiency without anemia.

Table 2 shows that all children in the age range from 6 to 11 months had anemia, while in the other age groups, the frequency of anemia was greater than 88%. Moderate and severe anemia (hemoglobin < 90 g/L) was found in 28.9% of subjects and was higher in the age groups from 6-11 and 12-17 months than in older children. Anemia with iron deficiency was around 60% from 6 to 23 months of age.

Table 3 indicates that about 51% of subjects had an inflammation. On the different indicators measured, only ferritin was significantly associated with CRP. The frequency of high ferritin levels was significantly associated in subjects with high CRP levels. Moreover, mean ferritin concentration was significantly higher in subjects with inflammation when compared with those with normal CRP (22.1 vs 14.8 $\mu\text{g/L}$, $p = 0.01$).

DISCUSSION

In most studies, the prevalence of iron deficiency anemia has been determined only based on the measurement of hemoglobin level, and investigations on the content of body iron reserves in vulnerable groups are few. Paiva et al¹⁸ (2000) stated that biochemical and hematological parameters could be used alone or associated in the diagnosis of iron status in individuals or

populations. However, when used alone, none of them is sufficiently sensitive or specific, especially, in developing countries where infection is often present.⁴

The sample of this study was composed by children attending public daycare centers in Recife, Brazil, five days a week during 8h/day, where they receive five meals a day with a seemingly appropriate menu planned by nutritionists. However, food intake was not assessed and 2/3 of children had *per capita* family income less than two minimum wages. Although 94% of mothers reported to have breastfed their children, the exclusive breastfeeding practice during the six first month of life was considered insignificant, that confirms similar results from other studies conducted in the same region.¹³ Stunting was found in 14% of children and overweight about 11%, and similar to results from another study conducted in Northeast Brazil⁶, while prevalence of weight-for-age deficit was low (3%).

The prevalence of anemia was extremely high (92%), with mean hemoglobin concentration of 95.4g/L (SD=10.3). On the total, 29% had moderate and severe anemia. The prevalence of anemia was higher than reported in other studies conducted in the Northeastern region^{12,17} and in other regions of Brazil⁸, and also in other developing countries.¹, probably due to the lower age of children in our study and because these daycare centers concentrate children from the poorest families. Also, the cut-off of 110 g/L is probably too high for infants that would have overestimated the prevalence of anemia in this age group.

The analysis of anemia and iron deficiency by age group showed that prevalence of severe and moderate anemia was higher in the 6-17 month age group, with a trend to decline as age increased, while no difference was observed between both sexes. Same figure was observed for iron deficiency, with the highest prevalence found in the 6-23 month age group, in which the early introduction of complementary feeding with low iron content predominates together with marked decline on breastfeeding.^{12,13,17} Another important factor would be the use of *in natura* cow milk, which has low iron bioavailability and may interfere with the absorption of iron from other foods due to its direct effect on the intestinal mucosa, which can cause loss of occult blood in feces.¹⁶

The lower prevalence of anemia with iron deficiency in the group of children aged 24-30 months could be explained by the regular consumption of foods

commonly used in the family diet, characterized by greater diversification and especially by the higher consumption of foods of animal origin.¹⁰ In this age group, consumption of wheat and maize flours, that are fortified with iron and folic acid since 2004, might have also contribute to a greater iron intake. Similar situation has been observed in developed and developing countries.²⁵

Whereas 58% of anemic children were iron deficient, 34% anemic children had no biochemical evidence of iron deficiency, suggesting other causes for anemia. A study conducted by Muniz et al¹⁴ (2007) found similar results in children from Northern Brazil.

Implication of vitamin A in anemia has been demonstrated. Vitamin A acts in mobilizing iron from liver, promoting the availability of iron for the synthesis of hemoglobin²¹ and prevalence of vitamin A deficiency is known to be elevated in this region of Brazil². Prevalence of other micronutrient deficiencies that are know to play a role in anemia, such as vitamin B12 or folate deficiency have not been documented in this population.

Beside nutritional causes, infectious and parasitic diseases, common in the first years of life, particularly in children from low socioeconomic populations attending daycare centers²² may be implicated. Infectious, chronic or recurrent diseases can interfere with iron intake, absorption and metabolism. These infections include malaria and diarrheal diseases, the latter in decline in Brazil, although to a lesser extent in the Northeastern region. The occurrence of diarrhea in childhood, even in moderate degrees, has been linked to lower iron absorption rates, with consequent reduction in the hemoglobin concentration.¹¹ With regard to parasitic diseases studies with infants conducted by Batista Filho & Ferreira³ (1996), found no association with iron deficiency anemia in the Northeastern region.

The high prevalence of iron deficiency anemia found in this study deserves attention from public health managers as these children have greater risk for inadequate growth and development. In view of the serious consequences of iron deficiency and anemia, the promotion of basic health care actions should be more effective, notably in relation to feeding practices of infants and young children such as promotion of exclusive breastfeeding in the first six months of life and timely introduction of adequate complementary foods fortified with micronutrient or based

on iron rich foods, supplementation with iron salts and/or fortification of basic foodstuffs, aiming at the adequacy of the iron reserves in vulnerable populations would be complementary strategies to be implemented.

Funding agency: CNPq/MS (Proc. N°. 403195/2004-7) and FACEPE/CNPq (Proc. N°. 006/2003).

This paper is based on a PhD thesis of Antonio Geraldo Cidrão de Carvalho entitled “Importance d'un complément associant le fer et la vitamine E dans le traitement de l'anémie ferriprive chez de jeunes enfants brésiliens” which will be held on 2010 at the Laboratoire de Nutrition Humaine et Athérogénèse - Université Montpellier I, France.

REFERENCES

1. Allen LH, Rosado JL, Casterline JE, López P, Muñoz E, Garcia OP, et al. Lack of hemoglobin response to iron supplementation in anemic Mexican preschoolers with multiple micronutrient deficiencies. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71:1485-94.
2. Barros MFA, Léger CL, Lira PIC, Lima MC, Carbonneau M-A, Descomps B, et al. Cord blood essential fatty acid and alpha-tocopherol in full-term newborns in a Northeast Brazil area. *Int J Vitam Nutr Res.* 2002; 72(3):155-60.
3. Batista Filho M, Ferreira LOC. Prevention and treatment of iron-deficiency anemia: new focuses and perspectives. *Cad Saúde Pública* 1996; 12(3):411-5.
4. Berger J, Dyck JL, Galan P, Aplogan A, Schneider D, Traissac P, Hercberg S. Effect of daily iron supplementation on iron status, cell-mediated immunity, and incidence of infections in 6 - 36 month old Togolese children. *Eur J Clin Nutr.* 2000; 54:29-35.
5. Berger J, Dillon JC. Stratégies de contrôle de la carence en fer dans les pays en développement. *Cah Santé* 2002; 12(1):22-30.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher, 2006. Brasília, DF, 2008. 308p.
7. Brooker S, Jardim-Botelho A, Quinnell RJ, Geiger SM, Caldas IR, Fleming F et al. Age-related changes in hookworm infection, anemia and iron deficiency in an area of high *Necator americanus* hookworm transmission in south-eastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007; 101:146-54.
8. Brunken GS, Guimarães LV, Fisberg M. Anemia in children under 3 years of age in public day care centers. *J Pediatr (Rio J).* 2002; 78(1):50-6.
9. Emond AM, Hawkins N, Pennock C, Golding J. Haemoglobin and ferritin concentration in infants at 8 months of age. *Arch Dis Child.* 1996; 74:36-9.
10. Farias Junior G, Osório MM. Alimentary profile of under-five year old children. *Rev Nutr.* 2005; 18(6):793-802.
11. Levy A, Fraser D, Rosen SD, Dagan R, Deckelbaum RJ, Coles C, et al. Anemia as a risk factor for infectious diseases in infants and toddlers: results from a prospective study. *Eur J Epidemiol.* 2005; 20(3):277-84.
12. Lima ACVMS, Lima MC, Guerra MQF, Romani SAM, Eickmann SH, Lira PIC. Impact of weekly treatment with ferrous sulfate on hemoglobin level, morbidity and nutritional status of anemic infants. *J Pediatr (Rio J).* 2006; 82:452-7.
13. Marques MN, Lira PIC, Lima MC, Silva NL, Batista Filho M, Huttly Sharon RA, et al. Breastfeeding and early weaning practices in Northeast Brazil: a longitudinal study. *Pediatrics.* 2001;108:66 - DOI: 10.1542/peds.108.4.e66.
14. Muniz PT, Castro TG, Araújo TS, Nunes NB, Silva-Nunes M, Hoffmann EHE,

- et al. Child health and nutrition in the Western Brazilian Amazon: population-based surveys in two counties in Acre State. *Cad Saúde Pública* 2007; 23(6):1283-93.
15. Ninh NX, Berger J, Quyen DT, Khan NC, Traissac P, Khoi HH. Efficacité de la supplémentation en fer quotidienne et hebdomadaire pour le contrôle de l'anémie chez le nourrisson en milieu rural au Vietnam. *Cah Santé* 2002; 12:31-7.
 16. Oliveira MAA, Osório MM. Cow's milk consumption and iron deficiency anemia in children. *J Pediatr (Rio J)*. 2005; 81(5):361-7.
 17. Osório MM, Lira PIC, Ashworth A. Factors associated with Hb concentration in children aged 6-59 months in the State of Pernambuco, Brazil. *Br J Nutr*. 2004; 91:307-14.
 18. Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EM. Parameters for the assessment of iron status. *Rev. Saúde Públ.* 2000; 34(4):421-6.
 19. Pereira RC, Ferreira LOC, Diniz AS, Batista Filho M, Figueiroa JN. Efficacy of iron supplementation with or without vitamin A for anemia control. *Cad Saúde Pública* 2007; 23(6):1415-21.
 20. Santos CD, Santos LMP, Figueiroa JN, Marroquim PMG, Oliveira MAA. Anemia in public school first graders in the city of Maceió, Alagoas, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2002; 18(6):1757-63.
 21. Semba RD, Bloem MW. The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. *Eur J Clin Nutr*. 2002; 56:271-81.
 22. Silva LSM, Giugliani ERJ, Aerts DRGC. Prevalence and risk factors for anemia among children in Brazil. *Rev. Saúde Públ.* 2001; 35(1):66-73.
 23. Szarfarc SC. Diagnóstico de deficiência de ferro na infância. *Rev. Saúde Públ.* 1985; 19:278-84.
 24. Wieringa FT, Berger J, Dijkhuizen MA, Hidayat A, Ninh NX, Utomo B et al. Sex differences in prevalence of anaemia and iron deficiency in infancy in a large multi-country trial in South-East Asia. *Br J Nutr*. 2007; 98:1070-6.
 25. World Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. Geneva: *World Health Organization*; 2001.
 26. Wu T, Wang X, Wei C, Cheng H, Wang X, Li Y et al. Hemoglobin levels in Qinghai-Tibet: different effects of gender for Tibetans vs. Han. *J Appl Physiol*. 2005; 98:598-604.

Table 1 - Frequency of anemia and iron deficiency in children from daycare centers

Anemia n = 278 (92.4%)				No anemia n = 23 (7.6%)			
Low Ferritin n = 150 (49.8%)		Normal Ferritin n = 128 (42.5%)		Low Ferritin n = 5 (1.7%)		Normal Ferritin n = 18 (6.0%)	
TfR		TfR		TfR		TfR	
high	normal	high	normal	high	normal	high	normal
n = 65	n = 78	n = 25	n = 103	n = 2	n = 3	n = 2	n = 23
21.6 %	25,9 %	8.3 %	34,2 %	0.7 %	1.0 %	0.7 %	7,6 %

Table 2 - Biochemical and hematological parameters according to age groups of children from daycare centers

Variables	Total		Age(months)			
	n=301		6 - 11	12 - 17	18 - 23	24 - 30
	n	%	n = 56	n = 98	n = 96	n = 51
Hemoglobin (g/L)						
						%
< 90	87	28.9	35.7	36.8	22.9	17.6
90 -109	191	63.5	64.3	56.1	65.6	72.6
≥ 110	23	7.6	0.0	7.1	11.5	9.8
Mean (SD)	95.4	(10.3)	92.9 (8.2)	94.4 (10.8)	96.1 (11.2)	98.8 (8.6)
Anemia						%
With ID ^a	175	58.1	60.7	58.2	60.4	51.0
Without ID ^b	103	34.2	39.3	34.7	28.1	39.2
Total	278	92.3	100.0	92.9	88.5	90.2
No anemia						%
With ID ^c	7	2.3	0.0	3.0	4.2	2.0
Without ID ^d	16	5.3	0.0	4.1	7.3	7.8
Total	23	7.6	0.0	7.1	11.5	9.8

^a (Hb < 110g/L) + (FeS < 12 µg/L) or/and (TfR > 8.3 mg/L)

^b (Hb < 110g/L) + (FeS ≥ 12 µg/L) and (TfR ≤ 8.3 mg/L)

^c (Hb ≥ 110g/L) + (FeS < 12 µg/L) or/and (TfR > 8.3 mg/L)

^d (Hb ≥ 110g/L) + (FeS ≥ 12 µg/L) and (TfR ≤ 8.3 mg/L)

Table 3 - Biochemical and hematological parameters according to inflammation status of children from daycare centers

Variables	Total	High CRP		Normal CRP		p ^a
		n = 154 (51.2%)		n = 147 (48.8%)		
		n	%	n	%	
Hemoglobin	301					
<110 g/L		141	91.6	137	93.2	
≥ 110 g/L		13	8.4	10	6.8	0.75
MCV (fL)*	301					
< 77 fl		146	94.8	136	92.5	
≥ 77 fl		8	5.2	11	7.5	0.56
Ferritin	301					
< 12 µg/L		63	40.9	92	62.6	
≥ 12 µg/L		91	59.1	55	37.4	<0.001
TfR (mg/L)[‡]	301					
≤ 8.3 mg/L		111	71.7	96	65.8	
> 8.3 mg/L		44	28.3	50	34.2	0.33
TS (%)[§]	291					
< 16 %		64	43.0	55	38.7	
≥ 16 %		85	57.0	87	61.3	0.54

*Mean corpuscular volume (MCV), [‡]Transferrin receptor (TfR), [§]Transferrin saturation (TS).

C-reactive Protein (CRP): males <1.45mg/L; females <1.90 mg/L

^aYates chi-square test

Caractéristiques de la cohorte et des 3 groupes d'intervention nutritionnelle à T₀

Comme le montre la Fig. 1, 335 enfants étaient éligibles dans l'étude et 307 ont terminé l'intervention nutritionnelle, ce qui représente un pourcentage de perdus de vue inférieur à 10 %. On observe par ailleurs que le nombre et les raisons des abandons sont comparables dans chaque groupe. Sur ces 335 enfants, 93 (soit 27,8 %) souffraient d'une anémie sévère (Hb < 90 g/L). La plus grande partie des enfants (64,2 %) avait une hémoglobininémie égale ou supérieure à 90 g/L et inférieure à 109,9 g/L (Tableau 1). Seulement 8 % d'entre eux avaient une hémoglobininémie supérieure ou égale à 110 g/L.

La plupart des enfants (Tableau 1) avaient un poids de naissance supérieur à 2,5 Kg (93,1 %). La moitié environ des enfants avait un âge au recrutement qui se situait entre 6 et 17 mois, l'autre moitié ayant un âge entre 18 et 30 mois. Au début de l'intervention, plus des deux tiers des enfants n'étaient plus allaités (cela dépend vraiment de la classe d'âge des enfants, les plus âgés étant certainement les moins allaités au moment de l'étude)

L'âge des mères était, pour 46 % d'entre elles, inférieur ou égal à 24 ans. Près des deux tiers lisaient facilement (Tableau 1) - alors qu'une faible proportion (11 %) était analphabète. Une proportion comparable des enfants appartenait à un foyer dont le revenu minimum (SM) était inférieur à 117 US\$ (Tableau 2) et près de 90 % inférieur ou égal à 2 x SM, ce dernier indicateur caractérisant un statut socio-économique précaire. Plus de 50 % des mères étaient propriétaires de leur habitation. Près de 80 % de l'ensemble des habitations étaient raccordés au réseau public de ravitaillement en eau, un peu plus de 80 % de l'eau consommée étaient traitées au chlore, moins de 50 % des habitations bénéficiaient d'un raccordement au réseau public d'évacuation des eaux usées et près de 90 % bénéficiaient d'une collecte des ordures ménagères.

Le tableau 3 montre que les variables biologiques des enfants perdus de vue ne sont pas significativement différentes des enfants qui ont poursuivi l'intervention nutritionnelle jusqu' à son terme. Il en est de même pour le sexe et le poids de naissance, d'une part, et les caractéristiques socio-économiques, d'autre part (données non présentées).

La Figure 2 récapitule le nombre d'enfants faisant l'objet d'une analyse ou d'une mesure pour chacune des caractéristiques étudiées avant et à la fin de l'intervention nutritionnelle. Les écarts par rapport à l'effectif de chaque groupe s'expliquent uniquement par des volumes d'échantillons de sang insuffisants n'ayant pas permis de réaliser toutes les analyses.

Les tableaux 4 et 5 reprennent les données respectivement des tableaux 1 et 2 relatives à l'hémoglobiniémie et aux caractéristiques générales des enfants à T_0 en fonction des trois groupes de l'étude. Ils montrent que les valeurs ne présentent pas de différences significatives entre ces groupes. Il en est de même des caractéristiques biochimiques (incluant les taux plasmatiques des vitamines A et E), hématologiques (Tableau 6) et anthropométriques (Tableau 7). Ceci montre que les 3 groupes ne sont pas significativement différents à T_0 et que la randomisation individuelle a été correctement effectuée.

Influence des trois types compléments alimentaires après les 3 mois de l'intervention nutritionnelle

Le nombre de doses administrées, 37 en moyenne, n'est pas significativement différent entre les 3 groupes (tableau 8), ce qui participe à la validation du protocole de l'étude longitudinale.

Le tableau 8 montre par ailleurs qu'il n'existe pas de différence inter-groupe pour les variables biologiques suivantes à T_3 : hémoglobiniémie, hématocrite, ferritine, transferrine et saturation de la transferrine, fer, CTLF et PCR. Seuls quatre indicateurs présentent des différences significatives: VCM, sTfR, vitamine A et vitamine E. Le VCM ($p = 0,04$) et la vitamine A ($p = 0,02$) sont significativement plus élevés dans les groupes CMM et VITE comparés au groupe contrôle et non significativement différente entre eux. Les sTfR sont plus élevés dans le groupe VITE que dans le groupe contrôle. Le groupe CMM présente une valeur de sTfR intermédiaire non significativement différente des deux autres groupes. La vitamine E présente une valeur plus élevée dans le groupe CMM comparé aux deux autres groupes, contrôle et VITE.

Comme à T_0 , les données anthropométriques ne présentent pas de différences inter-groupes après les 3 mois de traitement (Tableau 9).

Le tableau 10 met en évidence l'influence des traitements sur l'évolution des 5 variables biologiques (hémoglobine, ferritine, sTfR, vitamine A et vitamine E), qui représentent l'indicateur principal (hémoglobine) et les 4 principaux indicateurs «secondaires» de l'étude. Il montre que l'hémoglobine augmente significativement dans les trois groupes entre T₀ et T₃ mais que cette augmentation est comparable entre les groupes. Il montre également que les sTfR ne sont pas significativement modifiés entre T₀ et T₃. Il montre enfin que seules trois variables présentent des évolutions significativement différentes entre les groupes: la ferritine, la vitamine E et la vitamine A. L'augmentation la plus élevée de la ferritine est obtenue dans le groupe VITE. Pour ce qui concerne les vitamines, l'évolution positive la plus marquée est obtenue dans le groupe VITE pour la vitamine A, et pour le groupe contrôle pour la vitamine E.

Le tableau 11 présente l'effet de l'intervention - en fonction des classes de concentration d'hémoglobine à T₀ - sur l'hémoglobine et les valeurs des 3 variables biologiques précédemment examinés (tableau 10) dont l'évolution était différente entre T₀ et T₃. C'est chez les enfants présentant une hémoglobine < 90 g/L que le traitement «fer + vitamine E» permet d'atteindre la valeur d'hémoglobine la plus élevée et significativement différente du contrôle «fer». A l'inverse, chez ces mêmes enfants, le traitement «fer + CMM» ne présente aucun effet par rapport au traitement contrôle.

Les tableaux 12, 13 et 14 montrent les résultats obtenus lorsque l'on considère les résultats du tableau 11 pour chaque classe de concentration d'hémoglobine à T₀: la classe I < 90 g/L, qui représente les anémies graves (tableau 12), la classe II < 110 g/L, qui représente l'ensemble des anémies (tableau 13) et la classe III ≥ 110 g/L, qui représente les enfants non anémiés (tableau 14).

Il apparaît que l'évolution de l'hémoglobine présente des différences inter-groupes significatives dans la classe I (tableau 12) qui n'apparaissent pas lorsque l'ensemble de la population était considéré (tableau 10). Ces différences ne se retrouvent pas dans les classes II et III. Les différences apparaissant dans la classe I sont dus à l'effet positif du traitement VITE, qui fait progresser l'hémoglobine de 17,9 g/L (de 83,1 g/L à 101,0 g/L), alors que le traitement CMM n'a pas d'effet comparé au contrôle.

Dans les classes I et II, et non dans la classe III (tableau 14), les tableaux 12 et 13 confirment l'évolution positive significativement différente de la ferritine qui avait été mise en évidence dans le tableau 10 entre les traitements lorsque l'ensemble de la population était considéré. Comme pour l'hémoglobiniémie, cette différence entre traitement est due à l'effet positif du traitement VITE, avec une augmentation de la ferritinémie de 12,1 µg/L, soit 170 % dans la classe I, et de 10 µg/L, soit 100 % dans la classe II. A l'inverse, le traitement CMM n'influe pas d'une façon significativement différente de celle du contrôle sur cette variable biologique.

Pour ce qui concerne l'évolution des concentrations plasmatiques en vitamines A et E, les tableaux 12-14 montrent que les évolutions en fonction du temps sont significativement différentes uniquement dans la classe II et pour les deux vitamines. Il apparaît que ces différences sont dues, pour la vitamine A, à des valeurs à T₀ significativement plus élevées dans le groupe CMM par rapport au groupe contrôle, tandis que pour la vitamine E elles sont principalement dues à des valeurs significativement plus faibles à T₀ dans les groupes contrôle et VITE.

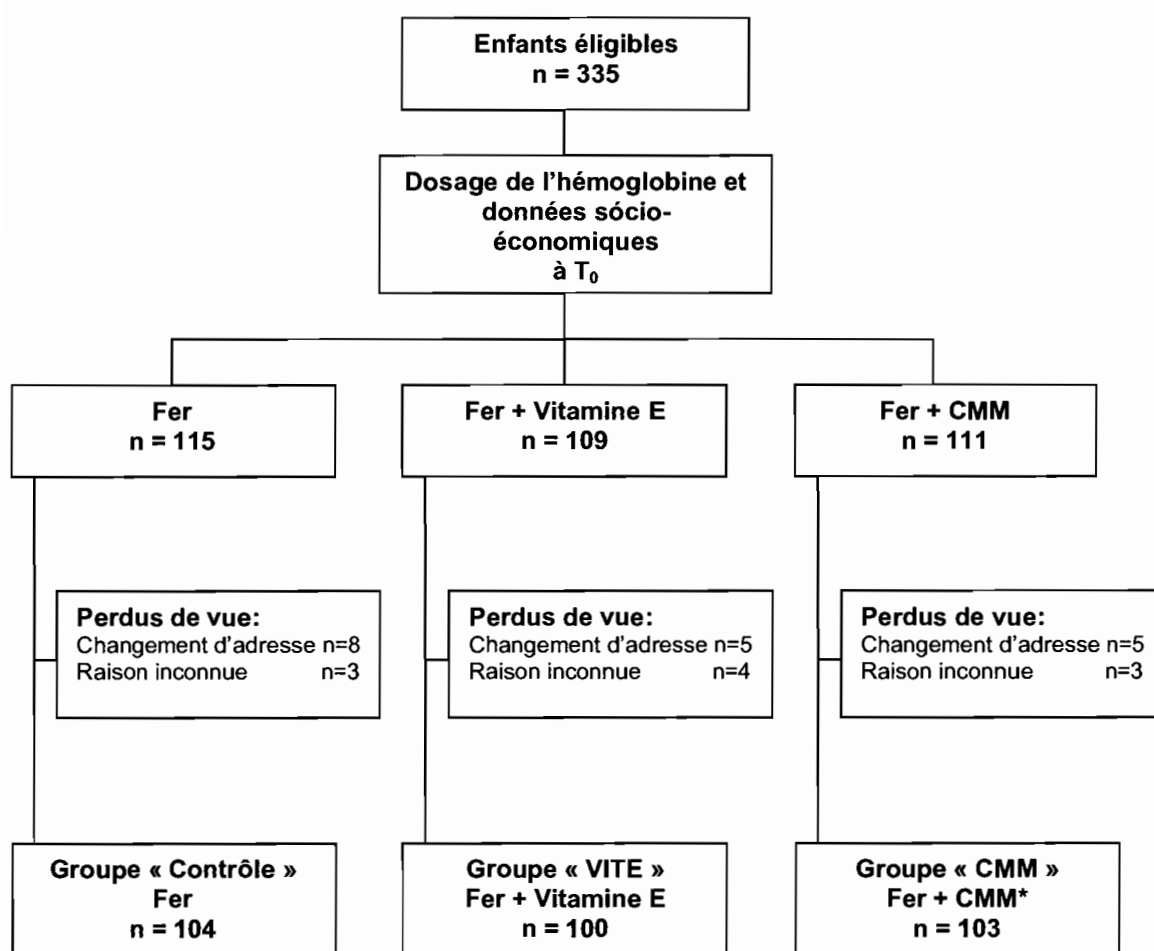
En résumé, et pour s'en tenir aux deux principaux indicateurs modifiés au cours de l'étude, l'influence positive du traitement VITE sur l'hémoglobiniémie et la ferritine est d'autant plus marquée que l'anémie des enfants est plus grave au début de l'intervention.

Le tableau 15 permet d'examiner l'influence des taux de vitamine A à T₀ (indicateurs de carence) sur la valeur des 4 variables biologiques précédentes à T₃. Aucune différence significative n'est mise en évidence, que ce soit dans la classe I (carences graves) ou dans la classe II (ensemble des carences).

Les tableaux 16 et 17 présentent l'influence des traitements sur l'évolution des prévalences de l'anémie et des déficits en vitamine A et E. Les valeurs seuil utilisées sont rappelées. Les 3 traitements aboutissent à une nette diminution de la prévalence de l'anémie et de l'anémie ferriprive (tableau 16), quel que soit l'indicateur considéré. Il n'existe pas de différence attribuable à la nature du traitement. Pour la prévalence des carences en vitamine, celle-ci diminue de façon importante dans le cas des 3 traitements, sans différenciation possible entre les traitements, à l'exception de la carence en vitamine E dont la prévalence augmente avec le traitement CMM. Ceci conduit à observer une différence significative entre traitement, la prévalence de carence en vitamine E diminuant

fortement dans le cas du traitement VITE, plus faiblement dans le cas du traitement contrôle (fer), et augmentant dans le cas du traitement CMM. Il faut remarquer cependant le faible nombre d'enfants carencés.

Figure 1 - Recrutement et repartition des enfants à T₀ dans les trois groupes recevant chacun l'un des trois compléments alimentaire



* Complément multivitaminique et minéral

Tableau 1 - Caractéristiques des enfants et des mères au moment du recrutement

VARIABLES	Total	n	%
Niveaux d'hémoglobine	335		
< 90 g/L		93	27,8
90 - 109 g/L		215	64,2
≥ 110 g/L		27	8,0
Sexe	335		
masculin		187	55,8
féminin		148	44,2
Poids à la naissance	335		
< 2.500 g		23	6,9
≥ 2.500 g		312	93,1
Âge de l'enfant	335		
6 - 11 mois		63	18,8
12 - 17 mois		105	31,4
18 - 23 mois		112	33,4
24 - 30 mois		55	16,4
Allaitement maternel*	324		
enfants allaités à T ₀		72	22,2
allaitement interrompu avant T ₀		231	71,3
enfants jamais allaités		21	6,5
Âge de la mère	335		
< 20 ans		31	9,3
20 - 24 ans		124	37,0
25 - 29 ans		111	33,1
≥ 30 ans		69	20,6
Alphabétisation maternelle	335		
lit facilement		212	63,3
lit avec difficulté		87	26,0
analphabète		36	10,7

* 9 enfants - aucun information sur l'allaitement n'a pas être obtenue

Tableau 2 - Caractéristiques socio-économiques et environnementales de la cohorte à T₀

VARIABLES	Total	n	%
Revenu mensuel du foyer	335		
≤ 1 SM*		208	62,1
1.01 - 2.0 SM		92	27,5
> 2 SM		35	10,4
Régime d'habitation	335		
en propriété		189	56,4
en locatation		80	23,9
en locatation gratuite		66	19,7
Ravitaillement en eau	335		
réseau public		261	77,9
puit ou source		74	22,1
Traitement de l'eau §	335		
oui (au chlore)		277	82,7
non		58	17,3
Toilettes	335		
réseau public		145	43,3
fosse avec chasse d'eau		147	43,9
fosse sans chasse d'eau		43	12,8
Collecte des ordures §	335		
oui		297	88,7
non		38	11,3

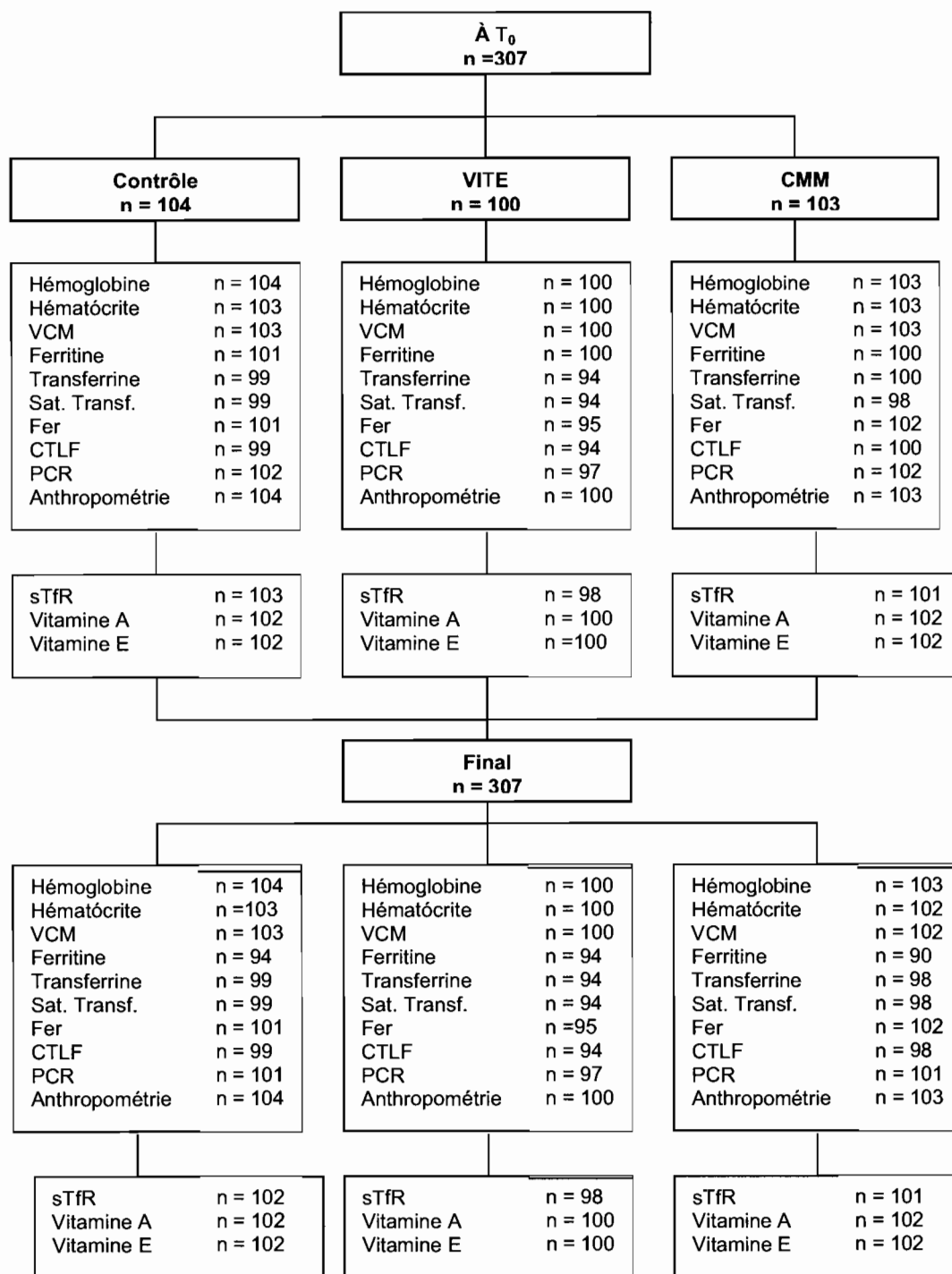
* SM = salaire minimum = US\$ 117,00

§ par les services municipaux

Tableau 3 - Comparaison des caractéristiques biochimiques et hématologiques des enfants au moment du recrutement

	Enfants						p
	Qui ont terminé l'étude			Perdus de vue			
	n	Moyenne	(ETM)	n	Moyenne	(ETM)	
Hémoglobine (g/L)	307	95,5	(1,0)	28	97,6	(1,1)	0,68
Hématocrite (%)	306	29,9	(2,8)	28	30,5	(2,8)	0,25
VCM (fL)	306	66,2	(6,7)	28	66,0	(5,7)	0,86
Ferritine (µg/L)	301	19,2	(24,7)	24	16,0	(23,3)	0,55
Transferrine (mg/dL)	293	287,3	(50,7)	25	294,3	(42,3)	0,51
Fer (mg/mL)	298	70,7	(32,2)	27	70,6	(27,7)	0,99
CTLF (mg%)	293	410,5	(72,4)	25	421,0	(60,5)	0,51
PCR (mg/L)	301	5,0	(9,9)	27	6,0	(15,3)	0,65

Figure 2 - Repartition des enfants dans les trois groupes et analyses effectuées



* Les écarts à n de l'hémoglobine s'expliquent par le fait que les analyses n'ont pu être effectuées par suite d'un volume de sérum insuffisant

Tableau 4 - Caractéristiques des trois groupes des enfants

VARIABLES	Total		Groupes						p
	(n=307)		CONTRÔLE		VITE*		CMM		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Niveau d'hémoglobine									
< 90 g/L	87	28,3	31	29,8	28	28,0	28	27,2	
90 - 109 g/L	195	65,5	66	63,5	61	61,0	69	66,0	
≥ 110 g/L	25	8,2	7	6,7	11	11,0	7	6,8	0,75
Sexe									
masculin	171	55,7	58	55,8	62	62,0	51	49,5	
féminin	136	44,3	46	44,2	38	38,0	52	50,5	0,20
Poids à la naissance									
< 2.500 g	21	6,8	6	5,8	8	8,0	7	6,8	
≥ 2.500 g	286	93,2	98	94,2	92	92,0	96	93,2	0,82
Âge de l'enfant									
6 - 11 mois	57	18,5	22	21,2	20	20,0	15	14,6	
12 - 17 mois	96	31,3	30	28,8	32	32,0	34	33,0	
18 - 23 mois	100	32,6	37	35,1	31	31,0	32	31,1	
24 - 30 mois	54	17,6	15	14,4	17	17,0	22	21,4	0,73
Allaitement maternel									
enfants allaités à T ₀	70	22,8	30	28,8	18	18,0	22	21,4	
allaitement interrompu avant T ₀	221	72,0	69	66,3	79	79,0	73	70,9	
enfants jamais allaités	16	5,2	5	4,8	3	3,0	8	7,8	0,19
Âge de la mère									
< 20 ans	28	9,1	9	8,6	7	7,0	12	11,7	
20 - 24 ans	113	36,8	37	35,6	43	43,0	33	32,0	
25 - 29 ans	102	33,2	37	35,6	26	26,0	39	37,9	
≥ 30 ans	64	20,9	21	20,2	24	24,0	19	18,4	0,41
Maternelle alphabétisation									
lit facilement	193	62,9	66	63,5	58	58,0	69	67,0	
lit avec difficulté	79	25,7	26	25,0	29	29,0	24	23,3	
analphabète	35	11,4	12	11,5	13	13,0	10	9,7	0,77

* vitamine E

Tableau 5 - Caractéristiques socio-économiques et environnementales des trois groupes des enfants au début de l'étude

VARIABLES	Total (n = 307)		Groupes						p
			CONTRÔLE (n=104)		VITE (n=100)		CMM (n=103)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Revenu mensuel du foyer									
≤ 1 SM*	190	61,9	62	59,6	61	61,0	67	65,0	0,41
1.01 - 2.0 SM	84	27,4	29	27,9	32	32,0	23	22,3	
> 2 SM	33	10,7	13	12,5	7	7,0	13	12,6	
Régime d'habitation									
en propriété	177	57,7	63	60,5	49	49,0	65	63,1	0,11
en location	71	23,1	22	21,2	32	32,0	17	16,5	
en location gratuite	59	19,2	19	18,3	19	19,0	21	20,4	
Ravitaillement en eau									
réseau public	240	78,2	80	76,9	76	76,0	84	81,6	0,59
puit ou source	67	21,8	24	23,1	24	24,0	19	18,4	
Traitement de l'eau[§]									
oui (au chlore)	255	83,1	88	84,6	85	85,0	82	79,6	0,52
non	52	16,9	16	15,4	15	15,0	21	20,4	
Toilettes									
réseau public	132	43,0	52	50,0	42	42,0	38	36,9	0,37
fosse avec chasse d'eau	137	44,6	39	37,5	47	47,0	51	49,5	
fosse sans chasse d'eau	38	12,4	13	12,5	11	11,0	14	13,6	
Collecte des ordures[§]									
oui	272	88,6	91	87,5	89	89,0	92	89,3	0,90
non	35	11,4	13	12,5	11	11,0	11	10,7	

* SM = salaire minimum = US\$ 117,00

[§] par les services municipaux

Tableau 6 - Paramètres biochimiques et hématologiques des enfants à T₀ dans les groupes étudiés

VARIABLES	TOTAL			Groupes									p
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	307	95,5	1,0	104	95,4	1,1	100	95,7	1,0	103	95,5	1,0	0,97
Hématocrite (%)	306	29,9	2,8	103	29,8	2,8	100	29,9	2,8	103	29,9	2,8	0,98
VCM (fL)	306	66,2	6,7	103	65,9	6,8	100	66,2	6,7	103	66,6	6,7	0,79
Ferritine (µg/L)*	301	12,1 [11,1-13,7]		101	12,1 [10,1-14,6]		100	11,2 [9,5-14,0]		100	13,0 [11,3-15,9]		0,86
Transferrine (mg/dL)	293	287,3	50,7	99	287,1	55,8	94	287,9	47,1	100	286,8	49,1	0,99
Transferrine Sat. (%)	291	18,5	9,2	99	18,3	8,2	94	19,5	11,5	98	17,6	7,8	0,62
Fer (mg/mL)	298	70,7	32,2	101	71,4	32,8	95	73,5	32,7	102	67,3	31,0	0,62
sTfR (mg/L)	302	7,8	2,1	103	7,2	1,9	98	8,3	2,4	101	7,9	2,1	0,60
CTLF (mg%)	293	410,5	72,4	99	409,8	79,8	94	411,7	67,3	100	410,1	70,1	0,98
PCR (mg/L)	301	5,0	9,9	102	5,3	10,5	97	4,1	8,3	102	5,7	10,8	0,50
Vitamin A (µmol/L)	304	1,1	0,3	102	1,0	0,3	100	1,1	0,3	102	1,2	0,3	0,70
Vitamin E (µmol/L)	304	16,9	5,5	102	14,9	4,9	100	16,3	5,6	102	19,6	5,9	0,51

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

Tableau 7 - Anthropométrie des enfants à T₀

VARIABLES	Total (n = 307)		Groupes						p
			CONTRÔLE (n=104)		VITE (n=100)		CMM (n=103)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Poids/Âge (kg/mois)									
Moyenne (ETM) du Z score	0,09	(1,0)	0,11	(1,0)	0,12	(1,1)	0,03	(1,0)	0,76
(< -2 Z scores)	9	2,9	2	1,9	2	2,0	5	4,9	
(≥ -2 Z scores)	298	97,1	102	98,1	98	98,0	98	95,1	0,37
Taille/Âge (cm/mois)									
Moyenne (ETM) du Z score	-0,77	(1,2)	-0,74	(1,3)	-0,73	(1,4)	-0,84	(1,1)	0,79
(< -2 Z scores)	41	13,4	13	12,5	17	17,0	11	10,7	
(≥ -2 Z scores)	266	86,6	91	87,5	83	83,0	92	89,3	0,40
Poids/Taille (kg/cm)									
Moyenne (ETM) du Z score	0,64	(1,0)	0,65	(1,0)	0,67	(1,1)	0,60	(1,0)	0,84
(< -2 Z scores)	3	1,0	1	1,0	1	1,0	1	1,0	
(-2 à < 2 Z scores)	279	90,8	95	91,3	91	91,0	93	90,3	
(≥ 2 Z scores)	25	8,2	8	7,7	8	8,0	9	8,7	0,99
Indice de Masse Corporele	17,3		17,3		17,4		17,2		
Moyenne (ETM) du Z score	0,78	(1,0)	0,78	(1,0)	0,81	(1,1)	0,75	(1,0)	0,92
(< -2 Z scores)	3	1,0	1	1,0	1	1,0	1	1,0	
(-2 à < 2 Z scores)	271	88,3	91	87,5	87	87,0	93	90,3	
(≥ 2 Z scores)	33	10,7	12	11,5	12	12,0	9	8,7	0,95
Poids (Kg) Moyenne (ETM)	10,9	(1,8)	10,9	(1,9)	11,0	(1,8)	10,9	(1,7)	0,91
Taille (cm) Moyenne (ETM)	79,4	(6,0)	79,2	(6,4)	79,4	(6,1)	79,7	(5,6)	0,83

Tableau 8 - Paramètres biochimiques et hématologiques des enfants après les trois mois de prise de complément

VARIABLES	TOTAL			Groupes									p
	n	Moyenne	ETM	CONTRÔLE			VITE			CMM			
				n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)*	307	102,5	8,8	104	101,4	9,6	100	104,0	7,9	103	102,1	8,8	0,59
Hématocrite (%)	305	30,2	2,3	103	30,0	2,5	100	30,5	2,1	102	30,1	2,3	0,27
VCM (fL)*	305	67,7	5,8	103	66,6 ^a	6,3	100	68,3 ^b	5,4	102	68,3 ^b	5,4	0,04
Ferritine (µg/L)*	278	19,7 [18,2-21,3]		94	19,2 [16,7-22,1]		94	21,3 [18,8-24,2]		90	18,6 [16,3-21,3]		0,34
Transferrine (mg/dL)	291	265,9	34,8	99	268,0	35,7	94	264,3	31,1	98	265,4	37,6	0,73
Transferrine Sat. (%)*	291	16,7	8,4	99	15,6	7,3	94	18,1	9,5	98	16,9	8,4	0,13
Fer (mg/mL)	298	65,3	36,1	101	62,0	33,0	95	70,0	40,3	102	64,0	34,9	0,68
sTfR (mg/L)*	301	5,8	1,7	102	5,4 ^a	1,5	98	6,1 ^b	1,9	101	5,8	1,6	0,01
CTLF (mg%)	291	380,1	50,5	99	382,6	53,1	94	378,0	44,4	98	379,7	53,7	0,81
PCR (mg/L)*	299	4,1	7,3	101	4,2	7,3	97	3,0	5,1	101	5,1	8,9	0,12
Vitamine A (µmol/L)*	304	1,1	0,3	102	1,0 ^a	0,3	100	1,1 ^b	0,2	102	1,1 ^b	0,3	0,02
Vitamine E (µmol/L)*	304	18,5	6,1	102	17,5 ^a	6,1	100	17,3 ^a	4,6	102	20,5 ^b	7,0	<0,0001
Nombre de doses de compléments distribuées													
Moyenne [£] (SEM)	307	37,3	(0,7)	104	36,6	(5,9)	100	37,4	(5,5)	103	37,9	(4,5)	0,21

* Mêmes lettres dans une même ligne indiquent que les groupes ne sont pas statistiquement différents

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

Tableau 9 - Anthropométrie des enfants après les trois mois de prise de complément

VARIABLES	Total (n = 307)		Groupes						p
			CONTRÔLE (n=104)		VITE (n=100)		CMM (n=103)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Poids/Âge (kg/mois)									
Moyenne (ETM) du Z score	0,01	(1,0)	0,04	(1,0)	0,06	(1,0)	-0,07	(0,9)	0,59
(< -2 Z scores)	11	3,6	4	3,8	3	3,0	4	3,6	
(≥ -2 Z scores)	296	96,4	100	96,2	97	97,0	99	96,4	0,93
Taille/Âge (cm/mois)									
Moyenne (ETM) du Z score	-0,86	(1,2)	-0,86	(1,1)	-0,82	(1,4)	-0,89	(1,0)	0,91
(< -2 Z scores)	41	13,4	13	12,5	17	17,0	11	10,7	
(≥ -2 Z scores)	266	86,6	91	87,5	83	83,0	92	89,3	0,40
Poids/Taille (kg/cm)									
Moyenne (ETM) du Z score	0,64	(1,0)	0,63	(1,0)	0,69	(1,0)	0,59	(1,0)	0,76
(< -2 Z scores)	3	1,0	2	1,9	1	1,0	0	0,0	
(-2 à < 2 Z scores)	285	92,8	96	92,3	90	90,0	99	96,1	
(≥ 2 Z scores)	19	6,2	6	5,8	9	9,0	4	3,9	0,36
Moyenne (ETM) du Z score	0,75	(1,0)	0,79	(1,0)	0,81	(1,0)	0,67	(0,9)	0,49
(< -2 Z scores)	3	1,0	2	1,9	1	1,0	0	0,0	
(-2 à < 2 Z scores)	281	91,5	95	91,3	87	87,0	99	96,1	
(≥ 2 Z scores)	23	7,5	7	6,7	12	12,0	4	2,3	0,14

Tableau 10 - Paramètres biochimiques et hématologiques des enfants avant et après les trois mois de prise de complément

VARIABLES	TOTAL			Groupes									p
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	307			104			100			103			
Avant		95,5	1,0		95,4	1,1		95,7	1,0		95,5	1,0	
Après		102,5	8,8		101,4 [§]	9,6		104,0 [§]	7,9		102,1 [§]	8,8	
Différence		6,9	9,2		5,9	9,0		8,3	9,7		6,6	9,0	<i>0,17</i>
Ferritine (µg/L)*	278			94			94			90			
Avant		12,1 [11,1-13,7]			12,1 [10,1-14,6]			11,2 [9,5-14,0]			13,0 [11,3-15,9]		
Après		19,7 [18,2-21,3]		94	19,2 [16,7-22,1]		94	21,3 [18,8-24,2]		90	18,6 [16,3-21,3]		
Différence*		7,6			7,1			10,1			5,6		<i>0,045</i>
sTfR (mg/L)	301			102			98			101			
Avant		7,8	2,1		7,2	1,9		8,3	2,4		7,9	2,1	
Après		5,8	1,7		5,4	1,5		6,1	1,9		5,8	1,6	
Différence		-2,0	2,1		-1,9	1,9		-2,1	2,4		-2,1	2,1	<i>0,63</i>
Vitamine A (µmol/L)	304			102			100			102			
Avant		1,1	0,3		1,0	0,3		1,1	0,3		1,2	0,3	
Après		1,1	0,3		1,0	0,3		1,1	0,2		1,1	0,3	
Différence		-0,02	0,3		-0,01	0,3		0,04^a	0,3		-0,08^b	0,3	<i>0,02</i>
Vitamine E (µmol/L)	304			102			100			102			
Avant		16,9	5,5		14,9	4,9		16,3	5,6		19,6	5,9	
Après		18,5	6,1		17,5	6,1		17,3	4,6		20,5	7,0	
Différence		1,5	5,6		2,7^a	4,8		1,0^b	5,1		0,9^b	6,5	<i>0,03</i>

[§]Diférent de baseline p<0,0001

*Moyenne géométrique + [IC 95%]

* Différence des moyennes géométriques

Tableau 11 - Les teneurs en l'hémoglobine, ferritine, vitamine A et vitamine E sériques, après la prise de complément suivant les teneurs en hémoglobine à T₀

VARIABLES	TOTAL			Hémoglobine à T ₀ < 90 g/L									p
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	83	96,7	8,4	28	93,6 ^a	8,0	28	101,0 ^b	7,2	27	95,4 ^a	8,2	0,002
Ferritine (µg/L)*	82	14,6 [12,5-17,2]		29	12,6 [9,7-16,5] ^a		28	19,1 [14,4-25,2] ^b		25	13,1 [9,7-17,6]		0,011
Vitamine A (µmol/L)	84	1,08	0,2		0,98	0,2		1,07	0,2		1,19	0,3	0,749
Vitamine E (µmol/L)	84	18,55	6,8	29	18,17	7,4	28	17,01	5,4	27	20,55	7,2	0,078
				Hémoglobine à T ₀ < 110 g/L									
Hémoglobine (g/L)	279	101,6	8,5	94	100,4 ^a	8,9	89	103,0 ^b	7,8	96	101,5	8,7	0,059
Ferritine (µg/L)*	257	18,5 [17,1-20,0]		88	17,7 [15,4-20,3]		86	20,3 [17,7-23,3]		83	17,6 [15,3-20,2]		0,009
Vitamine A (µmol/L)	279	1,09	0,3	95	1,04	0,3	89	1,12	0,2	95	1,11	0,3	0,047
Vitamine E (µmol/L)	279	18,54	6,2	95	17,56 ^a	6,0	89	17,29 ^a	4,8	95	20,69 ^b	7,1	<0,014
				Hémoglobine à T ₀ ≥ 110 g/L									
Hémoglobine (g/L)	24	112,3	5,7	7	115,8	7,2	10	111,5	3,7	7	110,0	5,7	0,121
Ferritine (µg/L)*	21	40,9 [32,7-51,2]		6	44,0 [27,9-69,5]		8	41,0 [26,8-62,5]		7	37,8 [24,8-57,8]		0,147
Vitamine A (µmol/L)	24	1,12	0,3	7	0,85	0,3	10	1,29	0,3	7	1,14	0,2	0,551
Vitamine E (µmol/L)	24	17,48	5,2	7	17,15	7,7	10	17,49	2,3	7	17,77	5,6	0,799

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

Tableau 12 - Paramètres biochimiques et hématologiques à T₀ et T₃ pour la classe des valeurs de l'hémoglobinémie à T₀ inférieures à 90 g/L (Classe I). Niveaux de signification des différences prenant en compte l'interaction temps x groupe.

VARIABLES	TOTAL			Hémoglobine < 90 g/L									p*
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	83			28			28			27			0,018
Avant		82,7	6,2		81,8	6,3		83,1	5,9		83,2	6,4	
Après		96,7	8,4		93,6 ^a	8,0		101,0 ^b	7,2		95,4 ^a	8,2	
Ferritine (µg/L)*	82			29			28			25			0,011
Avant		8,2 [6,7-9,9]			9,2 [6,7-12,6]			7,0 [5,0-9,8]			8,5 [5,9-12,1]		
Après		14,6 [12,5-17,2]			12,6 [9,7-16,5] ^a			19,1 [14,4-25,2] ^b			13,1 [9,7-17,6] ^{ab}		
Vitamine A (µmol/L)	84			29			28			27			0,749
Avant		1,12	0,3		1,04	0,2		1,07	0,3		1,24	0,4	
Après		1,08	0,2		0,98	0,2		1,07	0,2		1,19	0,3	
Vitamine E (µmol/L)	84			29			28			27			0,078
Avant		16,58	6,3		14,09	4,9		16,11	5,7		19,75	7,0	
Après		18,55	6,8		18,17	7,4		17,01	5,4		20,55	7,2	

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

* p = interactions temps x groupe

£ Mêmes lettres dans une même ligne indiquent que les groupes ne sont pas statistiquement différents

Tableau 13 - Paramètres biochimiques et hématologiques à T₀ et T₃ pour la classe des valeurs de l'hémoglobine à T₀ inférieures à 110 g/L (Classe II). Niveaux de signification des différences prenant en compte l'interaction temps x groupe.

VARIABLES	TOTAL			Hémoglobine < 110 g/L									p*
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	279			94			89			96			
Avant		94,0	9,2		94,2	9,9		93,6	8,9		94,1	8,8	
Après		101,6	8,5		100,4	8,9		103,0	7,8		101,5	8,7	0,059
Ferritine (µg/L)*	257			88			86			83			
Avant		11,6 [10,4-13,0]			11,9 [9,9-14,5]			10,3 [8,5-12,4]			12,8 [10,5-15,6]		
Après		18,5 [17,1-20,0]			17,7 [15,4-20,3]			20,3 [17,7-23,3]			17,6 [15,3-20,2]		0,009
Vitamine A (µmol/L)	279			95			89			95			
Avant		1,12	0,3		1,07 ^a	0,3		1,09	0,2		1,20 ^b	0,3	
Après		1,09	0,3		1,04	0,3		1,12	0,2		1,11	0,3	0,047
Vitamine E (µmol/L)	279			95			89			95			
Avant		17,06	5,9		14,71 ^a	4,8		16,59 ^a	5,6		19,85 ^b	6,0	
Après		18,54	6,2		17,56 ^a	6,0		17,29 ^a	4,8		20,69 ^b	7,1	<0,014

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

* p = interactions temps x groupe

Tableau 14 - Paramètres biochimiques et hématologiques à T0 et T3 pour la classe des valeurs de l'hémoglobinémie à T0 égale ou supérieure à 110 g/L (Classe III). Niveaux de signification des différences prenant en compte l'interaction temps x groupe.

VARIABLES	TOTAL			Hémoglobine \geq 110 g/L									p*
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	24			7			10			7			
Avant		113,4	3,2		113,6	3,9		112,8	2,3		114,1	3,8	
Après		112,3	5,7		115,8	7,2		111,5	3,7		110,0	5,7	0,121
Ferritine (μg/L)*	21			6			8			7			
Avant		19,1 [13,6-20,1]			13,9 [7,7-25,0]			29,8 [17,3-51,4]			16,2 [9,4-27,9]		
Après		40,7 [31,8-52,5]			44,0 [27,9-69,5]			41,0 [26,8-62,5]			37,8 [24,8-57,8]		0,147
Vitamine A (μmol/L)	24			7			10			7			
Avant		0,99	0,3		0,73	0,1		1,09	0,2		1,12	0,3	
Après		1,12	0,3		0,85	0,3		1,29	0,3		1,14	0,2	0,551
Vitamine E (μmol/L)	24			7			10			7			
Avant		15,44	5,1		15,66	6,7		14,68	4,8		16,31	4,2	
Après		17,48	5,2		17,15	7,7		17,49	2,3		17,77	5,6	0,799

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

* p = interactions temps x groupe

Tableau 15 - Les teneurs en l'hémoglobine, ferritine, vitamine A et vitamine E sériques, après la prise de complément suivant les teneurs en vitamine A à T₀

VARIABLES	TOTAL			Vitamine A < 0,70 µmol/L (Classe I)									p
				CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	n	Moyenne	ETM	
Hémoglobine (g/L)	17	105,6	8,1	8	106,7	9,0	5	106,8	4,4	4	101,7	10,5	0,59
Ferritine (µg/L)*	15	22,4 [17,6-28,4]		7	28,2 [19,8-40,2]		5	16,7 [9,4-29,9]		3	21,2 [14,7-30,4]		0,11
Vitamine A (µmol/L)	17	0,9	0,2	8	0,8	0,2	5	1,0	0,1	4	0,9	0,1	0,12
Vitamine E (µmol/L)	17	17,1	3,9	8	16,7	4,5	5	18,7	3,2	4	16,1	4,1	0,60
				Vitamine A < 1,05 µmol/L (Classe II)									
Hémoglobine (g/L)	134	102,9	9,0	53	102,1	9,8	50	104,9	7,7	31	101,2	9,1	0,13
Ferritine (µg/L)*	122	20,1 [18,1-22,4]		50	20,3 [16,7-24,6]		45	21,0 [17,5-25,2]		27	18,4 [15,5-21,7]		0,65
Vitamine A (µmol/L)	135	1,0	0,3	54	1,0	0,3	50	1,2	0,3	31	0,9	0,2	0,90
Vitamine E (µmol/L)	135	18,0	5,8	54	17,3	6,3	50	17,7	4,6	31	19,5	6,4	0,66

* Moyenne géométrique + [IC 95%]

Tableau 16 - Prévalence de l'anémie, de la carence en fer et de l'anémie par carence en fer chez les enfants avant et après la prise de complément

VARIABLES	Groupes									p [*]
	CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	%	IC, 95%	n	%	IC, 95%	n	%	IC, 95%	
Anémie (Hb < 90 g/L)										
Avant	31	29,8	[20,4-38,6]	28	28,7	[19,5-37,9]	28	27,2	[18,0-35,8]	
Après	12	11,9	[10,3-13,2]	5	5,0	[3,1-6,7]	11	10,7	[9,3-12,9]	
Évolution (%)		- 60,1			- 82,6			- 60,7		0,37
Anémie (Hb < 110 g/L)										
Avant	97	93,3	[87,8-98,4]	89	89,9	[84,5-95,3]	96	93,2	[87,9-98,5]	
Après	79	78,2	[69,7-86,7]	72	72,0	[64,2-81,3]	77	74,8	[66,4-83,2]	
Évolution (%)		- 16,2			- 19,9			- 19,7		0,84
Ferritine < 12 µg/L										
Avant	53	55,2	[45,2-66,4]	45	46,9	[37,4-58,2]	41	42,7	[33,3-54,8]	
Après	22	23,4	[16,3-32,6]	14	14,9	[6,5-22,4]	15	16,7	[7,2-23,7]	
Évolution (%)		- 57,6			- 68,2			- 60,9		0,84
sTfR > 8,3 mg/L										
Avant	24	23,1	[14,0-32,1]	38	38,8	[29,5-48,1]	40	39,6	[30,8-49,2]	
Après	8	7,7	[1,7-13,6]	12	12,1	[6,1-18,4]	12	12,0	[5,9-18,1]	
Évolution (%)		- 66,7			- 68,8			- 69,7		0,15
ID^ε										
Avant	57	59,4	[49,4-69,3]	56	58,3	[48,4-68,3]	53	55,2	[45,2-65,2]	
Après	25	24,0	[15,4-32,5]	24	24,0	[15,4-32,5]	25	24,3	[14,3-31,5]	
Évolution (%)		- 59,6			- 58,8			- 56,0		0,93
IDA[†]										
Avant	61	57,3	[47,3-67,3]	59	56,3	[46,2-66,3]	55	52,1	[42,1-62,3]	
Après	20	19,2	[11,6-27,9]	20	20,0	[11,6-27,9]	23	22,3	[13,7-30,0]	
Évolution (%)		- 66,5			- 64,5			- 57,2		0,61

^ε ID = (FeS < 12 µg/L) ou/et (sTfR > 8,3 mg/L)

[†] IDA = (Hb < 110g/L) + (FeS < 12 µg/L) ou/et (sTfR > 8,3 mg/L)

* p = interactions temps x groupe

Tableau 17 - Prévalence des déficits en vitamine A et E chez les enfants avant et après la prise de complément

VARIABLES	Groupes									p*
	CONTRÔLE			VITE			CMM			
	n	%	IC, 95%	n	%	IC, 95%	n	%	IC, 95%	
Vitamine A (<0,70 µmol/L)										
Avant	8	7,8	[3,4-12,3]	5	5,0	[0,5-9,5]	4	3,9	[-0,6-8,4]	
Après	6	5,9	[2,6-9,2]	1	1,0	[-2,3-4,3]	2	2,0	[-1,3-5,3]	
Évolution (%)		- 24,3			- 80,0			- 48,7		0,83
Vitamine E (<11,6 µmol/L)										
Avant	26	25,5	[18,5-32,5]	23	20	[15,9-30,1]	2	2,0	[-5,1-9,0]	
Après	16	15,7	[9,9-21,5]	6	6,0	[0,2-11,8]	8	7,8	[2,1-13,6]	
Évolution (%)		- 38,4			- 73,9			74,3		<0,0001

* p = interactions temps x groupe

DISCUSSION ET CONCLUSION

Rappel des principaux résultats

Réalisé sur un effectif d'un peu plus de 300 enfants de 6 à 30 mois, ce travail montre que l'anémie ferriprive évaluée à l'aide de trois variables biologiques, l'hémoglobinémie, la ferritinémie et le récepteur soluble de la transferrine, présente une prévalence élevée, proche de 60 % (Résultats - Partie 1: étude transversale), qu'elle représente la cause de 2/3 des cas d'anémie et que l'anémie ferriprive diminue avec les trois compléments à base de sulfate ferreux administrés en 3 fois à la dose de 90 mg/semaine (Résultats - Partie 2: étude longitudinale). Les trois compléments: le sulfate ferreux seul administré au groupe contrôle, le sulfate ferreux + vitamine E administré au groupe VITE, et le sulfate ferreux + complément multivitaminique et minéral (apportant les mêmes quantités de vitamine E que le complément précédant et dépourvu de vitamine C) administré au groupe CMM entraînent une diminution comparable de la prévalence de l'anémie. Mais l'hémoglobinémie et la ferritinémie sont d'autant plus favorablement affectées par le complément VITE - et non par les compléments contrôle ou CMM - que les enfants sont plus gravement anémiés. Ce résultat met donc en évidence un avantage certain au traitement associant la vitamine E et le sulfate ferreux, avantage qu'on ne retrouve pas avec un complément vitaminique et minéral plus complet.

Étude transversale

Cette étude (Carvalho *et al.*, 2010) s'est déroulée avant l'étude longitudinale, Elle a été conduite sur 305 enfants de la ville de Recife qui fréquentaient 13 crèches cinq fois par semaine 8 h/j où ils prenaient le repas de midi. Ces 13 crèches ont été sélectionnées par tirage au sort parmi les 20 crèches de la ville. La prévalence de l'anémie modérée et sévère (Hb < 110 g/L) s'est révélée supérieure à 90 % (92,4 %), et celle de l'anémie sévère (Hb < 90 g/L) proche de 30 %. Ce résultat permet de confirmer que l'anémie est un problème grave de santé publique chez les enfants de la ville de Recife. Il faut en effet rappeler que, selon l'OMS (WHO, 2001), la prévalence de l'anémie est normale ou acceptable au-dessous de 5 % de cas, légère pour une proportion de cas entre 5

% et 19,9 %, modérée entre 20 % et 39,9 % et grave pour une proportion égale ou supérieure à 40 %.

Dans une ville de l'état de Pernambuco, Caruaru, Ferreira *et al.* (2003) ont trouvé une prévalence de l'anémie de 77,5 % chez 293 enfants âgés de 6 à 23 mois. Cependant, dans l'étude de Leal et Osório (2005), réalisée aussi dans l'état de Pernambuco, la prévalence enregistrée (90,1 %) sur 421 enfants âgés de 6 à 23 mois était plus élevée, et identique à celle trouvée dans la présente étude, mais la prévalence de l'anémie ferriprive atteignait 89,1 %, soit une valeur qui dépasse nettement celle que nous avons rapportée (Carvalho *et al.*, 2010).

Récemment, dans le Minas Gerais (région sud-est du Brésil), Beinner *et al.* (2010) ont trouvé que les enfants de l'étude (175 enfants de 6 à 24 mois) présentaient tous une anémie.

Sur la côte est-africaine, dans le district de Bagamoyo (Tansanie), Ekwall *et al.* (2000) ont étudié le statut d'enfants de 5 mois à 3 ans. Ils ont trouvé une prévalence de l'anémie (89 %) comparable à celle de notre étude.

Enfin, plusieurs études ont rapporté la prévalence de l'anémie ferriprive seule dans différentes régions du Brésil. Les valeurs obtenues sont les suivantes: 56,1 % dans l'état de Goiás (région Centre-Ouest) (Hadler *et al.*, 2008), 63,7 % dans l'état de Rio Grande do Sul (région Sud) (Vitolo et Bortolini, 2007), 75,0 % dans l'état de São Paulo (région Su-Est) (Coutinho *et al.*, 2008), et 84 % dans l'état de Rondônia (région Nord) (Orellana *et al.*, 2006). La prévalence de l'anémie ferriprive rapportée dans notre étude (Carvalho *et al.*, 2010) est donc dans la moyenne des valeurs enregistrées au Brésil.

Notre étude a examiné les caractéristiques socio-économiques des familles dans lesquelles vivent les enfants. Pour les 2/3 des enfants, le revenu familial *per capita* est inférieur à deux salaires minimums (U\$117,50). Or il est connu, notamment par les travaux de Borges *et al.* (2009), que les familles ayant un niveau socio-économique faible présentent un risque élevé d'anémie et d'anémie ferriprive. Ceci est généralement attribué au choix contraint d'une consommation alimentaire peu onéreuse adaptée aux revenus que doivent faire les familles, ce qui a pour conséquence l'élimination des aliments d'origine animale riches en fer facilement assimilable de la consommation courante, au profit d'aliments d'origine végétale relativement pauvres en fer faiblement disponible.

Plusieurs études complètent ces données. Elles suggèrent clairement que l'anémie ferriprive est fortement associée aux conditions socio-économiques, elles-mêmes associées aux faibles revenus, au faible niveau scolaire des parents, à l'insalubrité de l'habitat et à l'inexistence de systèmes publics d'assainissement (UNICEF/WHO, 1999; Souza et Batista, 2003). Au Brésil, Batista Filho et Romani (2002) constatent que les familles de faible condition socio-économique ont généralement une alimentation pauvre en fer biodisponible (d'origine animale) et sont plus exposées aux parasitoses.

En raison de la forte prévalence de l'anémie et de ses conséquences graves sur la croissance et le développement, le Ministère de la Santé au Brésil a rendu obligatoire, depuis 2004, la complémentation des farines de maïs et de blé à l'aide de fer et d'acide folique, exploitant le fait qu'un grand nombre d'aliments confectionnés avec ces farines étaient plus volontiers consommés par les couches les plus démunies de la population, ce qui a permis de « cibler » la partie de la population la plus exposée au risque d'anémie. Il faut remarquer cependant que cette mesure ne permet pas de cibler les enfants de 6 à 12 mois, chez lesquels le risque d'anémie est le plus élevé.

Étude longitudinale

Au Brésil, les études d'intervention sur l'anémie et l'anémie ferriprive utilisent, en général, l'administration de sulfate ferreux seul, soit, le plus souvent, en doses hebdomadaires, soit, moins fréquemment, en doses quotidiennes. Quelques études utilisent le complément sulfate ferreux + acide folique (Gera *et al.*, 2008, Jordão *et al.*, 2009). Aucune étude d'intervention n'a été entreprise dans le Nordeste à l'aide de l'association sulfate ferreux + vitamine E, non plus qu'à l'aide de l'association sulfate ferreux + complément multivitaminique et minéral. Ce sont ces deux compléments dont l'efficacité dans la lutte contre l'anémie a été comparée à celle du sulfate ferreux seul.

Pour les vitamines A, D, B1, B2, B6, B12, PP (niacine) et B9 (acide folique), ainsi que pour le zinc et le cuivre les quantités de chaque micronutriment administrées trois fois par semaine étaient équivalentes à la moitié ou au tiers de l'apport nutritionnel conseillé (ANC, en mg/j) retenu en France pour les enfants de

cette classe d'âge (Martin, 2001). En revanche, l'apport de sulfate ferreux, exprimé en fer, était équivalent approximativement à 2 fois l'ANC et celui de la vitamine E à 4 fois. Pour des raisons éthiques, il n'est pas apparu nécessaire et utile d'aller au delà de ces apports, la raison principale étant que les apports n'étaient pas réalisés journalièrement, ce qui entraînait un apport plus massif de chaque micronutriment au moment de l'administration qui peut être évalué à 2 à 3 fois la dose journalière. Pour les mêmes raisons, des considérations théoriques et expérimentales nous ont interdit d'administrer un complément dans lequel aurait été associé le sulfate ferreux et la vitamine C.

Le nombre de doses administrées durant l'intervention nutritionnelle a varié, selon les groupes, de 36,6 à 37,9, ne révélant ainsi aucune différence significative inter-groupe ($p = 0,21$). Ce nombre de doses administrées représente près de 94 % du total théorique qui devait être distribué (39 doses pour 13 semaines). Le protocole de l'intervention est ainsi validé.

Dans la population étudiée, 6,9 % des enfants avaient un faible poids de naissance. Des études effectuées au Brésil dans les régions Nord (Neves *et al.*, 2005) et Sud-Est (Bueno *et al.*, 2006) sur des enfants de crèches publiques ont montré que la prévalence de faible poids de naissance était respectivement de 6,2 % et 12,3 %. Eickmann *et al.* (2008), étudiant des enfants de crèches de la Ville de Recife, ont trouvé une prévalence de 10,6 %. Ces résultats montrent que notre population présente une prévalence de faible poids de naissance plutôt inférieure à celle observée par d'autres à Recife et dans le Sud-est, et comparable à celle observée dans le Nord du Brésil.

Grâce à l'évaluation anthropométrique des enfants, il a été possible de montrer, par l'intermédiaire de l'indicateur taille/âge, que la prévalence du retard de croissance staturale était identique (13,4 %) avant et après l'intervention. De la même façon, la prévalence du retard de croissance pondérale (2,9 % à T_0 et 3,6 % à T_3) et celle du retard de croissance staturo-pondérale (1 %) n'étaient que très peu ou n'étaient pas affectées. Ces résultats cependant confirment que la prévalence du retard de croissance staturale est supérieure à celle de la croissance pondérale, comme l'ont déjà suggéré Silva *et al.* (2000), Fisberg *et al.* (2004), Almeida *et al.* (2004) et Bueno *et al.* (2006) en se fondant sur des études effectuées dans des crèches du Sud-Est du Brésil. Il faut remarquer que la

prévalence du retard de croissance pondérale présentement obtenue est inférieure à celle (5,5 %) enregistrée par Rocha *et al.* (2008) dans le Minas Gerais (région Sud-Est du Brésil).

Il faut enfin noter que, avec un indice de masse corporelle proche de 17, les enfants de l'étude présentent une corpulence normale. La distribution de la population en fonction des valeurs de l'indice (Z scores) n'est pas affectée par les traitements, confirmant ainsi les résultats obtenus en termes de croissance staturo-pondérale.

La présente étude fait apparaître que, après un traitement de 3 mois, les compléments ont été tous les trois capables d'augmenter l'hémoglobinémie et la ferritinémie. Mais, alors que l'augmentation de l'hémoglobinémie était comparable (non significativement différente) avec les trois compléments, à l'inverse l'augmentation de la ferritine était différente et plus forte avec le complément VITE. Il faut également noter que le VCM était plus élevé avec les compléments VITE et CMM qu'avec le complément contrôle et que le sTfR était plus élevé avec le complément VITE.

L'hémoglobinémie représentant l'indicateur principal de cette étude, il était important d'examiner plus complètement l'évolution de cette variable biologique dans la population étudiée. La question était en particulier la suivante: puisque les 3 types de compléments augmentent de la même façon l'hémoglobinémie et que les taux d'hémoglobine à T₃ ne présentent pas de différence inter-groupe, peut-on isoler, dans la population étudiée, une sous-population plus sensible aux traitements administrés? C'est la raison pour laquelle l'influence des traitements a été analysée en examinant séparément trois classes de la population, chacune étant caractérisée soit par une anémie sévère (classe I), soit par une anémie - qu'elle soit modérée ou sévère - (classe II), soit par une absence d'anémie (classe III). Les résultats obtenus montrent que l'hémoglobinémie et la ferritinémie sont d'autant plus favorablement affectées par le complément VITE que les enfants sont plus profondément anémiés. Il est important d'insister sur le fait que les traitements apportant du fer seul, ou du fer associé à un complément vitaminique et minéral plus complet n'apparaissent pas, dans ce travail, avoir les mêmes propriétés que le complément associant le fer et la vitamine E seuls excluant tout autre apport de vitamines et minéraux. Deux interprétations se présentent: ou bien

l'apport de vitamine E seule a un avantage par rapport à l'apport de vitamine E associée à d'autres vitamines - dont les vitamines A, B2, B6, B9, B12 - et d'autres minéraux (Cu, Zn) dont on connaît l'impact sur l'anémie ferriprive, ou bien l'addition de ces vitamines et minéraux possède un effet indésirable. Une troisième interprétation selon laquelle les quantités administrées de vitamines et minéraux (hormis le fer et la vitamine E) seraient insuffisantes pour avoir un effet plus favorable que la vitamine E et le fer seuls ne peut pas être retenue, puisque dans ce cas les traitements VITE et CMM auraient dû avoir les mêmes effets. Seule la première interprétation peut être raisonnablement retenue, même si, dans les conditions actuelles de nos connaissances, elle paraît difficile à expliquer.

En tout état de cause, ces résultats corroborent les considérations sur les effets bénéfiques de la vitamine E, tout particulièrement lors de l'apport de fer ferreux, que nous avons présentées dans la partie Objectifs et Justifications de ce mémoire. Le fait que les effets bénéfiques de la vitamine E soient démontrés dans les cas d'anémie grave ne fait que confirmer nos hypothèses de départ. Rappelons en effet que l'apport de fer ferreux induit, quelle que soit son intensité, un stress oxydant et que la vitamine E est antioxydante à double titre: par ses propriétés redox, et par sa capacité à inhiber la production d'un radical libre - l'anion superoxyde - dont le rôle dans les phénomènes d'oxydation est majeur. En revanche, nous n'avons pas envisagé en effet la possibilité que le complément CMM puisse présenter un effet moins favorable que le complément VITE, puisque ce complément avait été introduit dans le protocole pour examiner si, dans le mélange multivitaminique, l'effet éventuellement bénéfique de ce mélange pouvait être attribué, ou pas, uniquement à la vitamine E.

Nous savons depuis quelques années, et nous l'avons rappelé dans la partie Introduction de ce mémoire, que la vitamine E possède de multiples effets cellulaires. Le seul effet cellulaire connu à ce jour en rapport avec le métabolisme du fer est celui rapporté, il y a plus de 10 ans, par Pighetti *et al.* (1998). Ce travail suggère en effet que la vitamine E est capable d'améliorer (faciliter ?) l'internalisation de TfR dans les lymphocytes, donc du fer, ce qui, d'après les données actuelles, devrait avoir pour conséquence une diminution de l'expression de TfR, donc de la concentration plasmique de sTfR. Or nous montrons dans le présent travail que le traitement VITE augmente sTfR, ce qui n'est pas compatible

avec le résultat de Pighetti *et al.* (1998). Il faudrait donc avancer que la vitamine E a des propriétés régulatrices sur le métabolisme du fer qui restent à découvrir.

Le sTfR propose une situation intéressante, car si la valeur moyenne de cette variable à T₀ est identique pour les trois groupes d'intervention (tableau 6), elle est différente et plus élevée dans le groupe VITE à T₃ (tableau 8). En revanche, elle tend à diminuer dans les 3 groupes au cours du traitement (tableau 10). Il aurait été intéressant de traiter ces résultats par classe populationnelle selon les indications des tableaux 11-14.

Le fait que la prévalence de la déficience en fer et celle de l'anémie ferriprive aient diminué après administration pendant 3 mois de l'un ou l'autre des trois compléments (la baisse est en moyenne de 58 % pour ID, et de 63 % pour IDA) est évidemment une conséquence logique de l'amélioration des variables qui servent aux calculs de ID et IDA (tableau 16). En revanche, le fait qu'il n'est pas été possible de mettre en évidence une baisse différentielle entre les groupes d'intervention peut être attribué aux variabilités importantes de ces deux indices, résultant du cumul des variabilités des variables composant ces indices. Il faut remarquer que la baisse de la prévalence de l'anémie estimée uniquement à l'aide des valeurs seuil de l'hémoglobinémie classiquement utilisées est plus faible: en moyenne 19 % pour la prévalence des anémies, et proche de 70 % pour la prévalence des anémies graves.

Dans une étude d'intervention randomisée contrôlée avec placebo sur 1134 enfants anémiques (Hb < 110 g/L) âgés de 6 à 11 mois réalisée en Indonésie, au Pérou, en Afrique du Sud et au Vietnam, Smuts *et al.* (2005b) ont obtenu un résultat comparable à celui de la présente étude. Après 6 mois d'intervention, les enfants qui ont reçu chaque jour 10 mg de fer et un mélange complet de vitamines et minéraux (A, D, E, K, B1, B2, B6, B9, PP, Zn, Cu et I) à un niveau d'apport correspondant aux ADI (*adequate daily intake*), ont eu une hémoglobinémie qui a augmenté en moyenne de 9,6 g/L contre, dans notre cas, 6,2 g/L pour le groupe contrôle, 9,4 g/L pour le groupe VITE et 7,4 g/L pour le groupe CMM.

Faber *et al.* (2005) ont effectué une étude d'intervention comparable à la précédente (enfants de 6 à 12 mois, en Afrique du Sud, les enfants ont reçu une préparation de farine de maïs enrichie en fer à la dose d'apport de 11 mg/j, pendant 6 mois, et un mélange de vitamines comparable à l'étude précédente

mais contenant également du β -carotène). L'augmentation de l'hémoglobininémie au cours de l'intervention a été de 8 g/L.

Untoro *et al.* (2005), dans une étude comparable réalisée en Indonésie (enfants de 6 à 12 mois, hémoglobininémie < 110 g/L, recevant des tablettes à macher contenant du fer à la dose d'apport de 10 mg/j pendant 23 semaines, et un mélange équivalent à l'étude de Faber *et al.* (2005) mais sans β -carotène), ont montré que l'hémoglobininémie augmentait de 5,6 g/L.

On peut donc en conclure que le simple apport de fer et de vitamine E a eu, dans notre étude, un effet équivalent (dans le cas de l'étude de Smuts *et al.* (2005b), voire supérieur (dans le cas des études de Faber *et al.* (2005) et de Untoro *et al.* (2005), après seulement trois mois de traitement, à celui obtenu par ces auteurs au bout de 6 mois, même si les valeurs d'hémoglobininémie que nous avons comparées sont obtenues pour une administration tri-hebdomadaire dans notre étude et journalière pour les trois études citées

En ce qui concerne l'augmentation des réserves de fer, évaluée à travers l'augmentation de la ferritinémie, nos propres résultats montrent que, chez des enfants anémiques (tableau 13), la ferritinémie augmente de 10 μ g/L dans le groupe VITE, et plus faiblement dans les deux autres groupes, contrôle et CMM. Diverses études d'intervention (Schultink *et al.*, 1995; Alarcon *et al.*, 2004; Nga *et al.*, 2009) avec distribution journalière d'une alimentation enrichie en sulfate ferreux, en certaines vitamines et minéraux à des enfants anémiques d'âges préscolaire et scolaire, ont mis en évidence des augmentations de la ferritinémie plus élevées (Schultink *et al.* 1995; Alarcon *et al.* 2004), entre 18 et 33 μ g/L, ou moins élevées (Nga *et al.*, 2009), proche de 7 μ g/L. Il est vrai que l'apport de fer choisi dans l'étude de Nga *et al.* est plus faible (50 % du RDI, recommended dietary intake), tout comme les apports en Zn, I, vitamines A, E et K, alors qu'un antihelminthique était administré.

On peut conclure de l'ensemble de ces résultats que les performances de notre étude en termes d'augmentation des réserves en fer semblent inférieures à celles des autres études, alors qu'en termes d'augmentation de l'activité érythropoïétique les performances de notre étude sont plus élevées.

Cependant, cette conclusion demande à être nuancée. En effet, Ahmed *et al.* (2005), dans une étude réalisée sur des adolescents anémiques au

Bangladesh, n'ont trouvé aucune augmentation de la ferritinémie et de l'hémoglobininémie après 12 semaines de traitement consistant en l'administration de fer (30 mg), de vitamines et de minéraux 2 fois par semaine à des doses d'apport hebdomadaires qualitativement et quantitativement comparables à celles que nous avons utilisées dans notre étude. Récemment, Fahmida *et al.* (2007) arrivent à la même conclusion chez des enfants de 3 à 6 mois dans une étude comportant trois groupes d'intervention: zinc, zinc + fer (10 mg), zinc + fer + vitamine A, recevant ces apports quotidiennement pendant 6 mois.

En ce qui concerne les teneurs plasmatiques en vitamine E, la teneur la plus élevée à T₃ est obtenue avec le groupe CMM (Tableau 8), mais l'augmentation des teneurs la plus élevée au cours de l'intervention est obtenue avec le groupe contrôle, ceci semblant dû au fait que ce groupe présentait la plus faible teneur en vitamine E à T₀ (tableau 10). Il est important de noter que le groupe VITE, qui reçoit une dose de vitamine E équivalente à 4 fois l'ANC, n'augmente la teneur plasmatique que de 1 µmol/L, soit environ 6 %. En revanche, le tableau 13 permet de préciser que cette augmentation est encore plus faible chez les enfants anémiques, suggérant que les plus faibles augmentations pourraient être attribuables à l'état d'anémie, c'est à dire à un état physiologique où le stress oxydatif est important. En d'autres termes, tout se passe comme si la vitamine E administrée était consommée oxydativement chez les enfants anémiques, alors que chez les enfants ne souffrant pas d'anémie la vitamine E, davantage sauvegardée dans une situation de faible stress oxydatif, augmenterait plus fortement dans le plasma. Même si la comparaison des trois groupes chez les enfants non anémiques (tableau 14) n'est pas statistiquement justifiée, il est possible d'observer que c'est bien avec le groupe VITE que l'augmentation de la vitamine E est la plus élevée, cette augmentation étant plus faible avec les enfant anémiques (tableaux 12 et 13). Enfin, les apports en vitamine E réalisés dans la présente étude, équivalents à 4 fois l'ANC, a permis de diminuer de près de 74 % la prévalence des statuts déficitaires en vitamine E, mais uniquement lorsque la vitamine E était la seule vitamine administrée (groupe VITE) (tableau 17).

Les données de la littérature ne permettent pas, comme nous avons pu le faire, d'examiner les effets des traitements séparément pour chaque classe

populationnelle, la classe des enfants non anémiques, anémiques et gravement anémiques.

Dans le cadre du groupe de recherche IRIS (International Research on infant supplementation), Hop et Berger (2005) ont effectué une étude au Vietnam chez des enfants anémiques recevant du fer et 15 micronutriments, dont la vitamine E, à des doses journalières correspondant à l'ADI (adequate daily intake). L'augmentation de la concentration plasmatique de la vitamine E dans ce cas était de 6,3 $\mu\text{mol/L}$ (de 16,7 à 23,0 $\mu\text{mol/L}$, soit + 38 %).

Dans le cadre du même groupe de recherche que Hop et Berger, Romaña *et al.* (2005) ont entrepris une étude au Pérou présentant un protocole d'intervention identique à l'étude précédente. Ces auteurs n'ont trouvé aucune modification significative de la concentration en vitamine E plasmatique, aussi bien avec des apports quotidiens qu'avec des apports hebdomadaires.

Il est possible de conclure que l'on constate une grande variabilité des résultats en ce qui concerne les modifications des teneurs plasmatiques en vitamine E à travers les études existantes. Nos propres résultats s'opposent à ceux de Hop et Berger et sont conformes à ceux de Romaña *et al.* (2005). Il serait intéressant de connaître les raisons de cette variabilité dont l'existence, en tout état de cause, laisse supposer que les protocoles ne maîtrisent pas tous les déterminants de la vitamine E plasmatique. De ce point de vue, il est légitime de penser que des informations intéressantes pourraient être fournies par le contrôle des niveaux urinaires des produits d'oxydation stables de la vitamine E. Selon notre hypothèse, ceux-ci devraient être plus abondants chez les enfants anémiques.

La vitamine A plasmatique est plus élevée dans les groupes VITE et CMM par rapport au groupe contrôle (tableau 8), ce qui semble être principalement dû aux valeurs élevées obtenues dans la classe III, spécialement avec le groupe VITE (tableau 11). Son augmentation entre T_0 et T_3 est plus marquée dans le groupe VITE (tableau 10), tandis que celle-ci est attribuable, pour l'essentiel, à l'augmentation de la classe III. Cette observation est similaire à celle que nous avons faite précédemment pour la vitamine E. La vitamine A n'étant pas à proprement parler une substance antioxydante, l'explication avancée pour la vitamine E n'est pas valide. Il est possible tout au plus de proposer l'explication

suivante: la vitamine A, comme on le sait, intervient nécessairement dans les processus d'absorption, de transport et mises en réserves du fer, ainsi que dans l'érythropoïèse. Les besoins en vitamine A sont donc susceptibles d'être plus élevés dans l'anémie, ce qui aurait pour conséquence un abaissement des quantités circulantes. Il reste cependant à expliquer la raison pour laquelle, chez les enfants anémiques (tableau 13), la vitamine A plasmatique augmente dans le groupe VITE, et non dans le groupe CMM qui reçoit un complément de vitamine A. Enfin, la prévalence de la carence en vitamine A est abaissée avec les trois traitements, ce qui signifie que l'efficacité de la vitamine E administrée seule est aussi grande que celle du mélange de vitamines contenant de la vitamine A. Il est possible que dans notre étude l'apport de vitamine A ait été insuffisant.

En raison de ses multiples actions sur le métabolisme du fer, nous avons examiné si la carence en vitamine A à T₀ influait sur l'efficacité des traitements. Il n'a pas été possible d'observer de différences significatives entre les groupes contrôle, VITE et CMM (tableau 15), pour aucune des variables étudiées (hémoglobinémie, ferritinémie, vitamines A et E, aussi bien dans la classe I (vitamine A < 0,70 µmol/L) que dans la classe II (vitamine A < 1,05 µmol/L), résultats qui s'avèrent donc comparables à ceux (tableau 8) obtenus en observant l'ensemble de chaque groupe pour Hb et F. Les valeurs de Hb et F ne sont pas non plus différentes de celles obtenues pour l'ensemble des groupes (enfants carencés et non carencés en vitamine A). Pour les vitamines A et E, par contre, en examinant par classe les teneurs plasmatiques (tableau 15), les différences significatives entre traitements mises en évidence sur l'ensemble des enfants de chaque groupe dans le tableau 8 sont perdues.

Ici aussi, les données de la littérature ne permettent pas, comme nous avons pu le faire dans notre étude, d'examiner les effets des traitements séparément pour chaque classe populationnelle (voir ci-dessus).

Varma *et al.* (2007), ont étudié en Inde des enfants de 36 à 66 mois anémiques et non anémiques. Ils ne trouvent pas de modification significative du taux plasmatique de vitamine A après 6 mois de traitement à l'aide d'un mélange comprenant du fer, des vitamines A et B9 à des doses proches de celles de notre étude.

Cependant, Chen *et al.* (2008) ont étudié l'effet de plusieurs compléments contenant soit la vitamine A seule à des doses environ 3 fois plus élevées que celles de notre étude, soit la vitamine A + fer, soit la vitamine A + fer + un mélange vitaminique (B1, B2, B9 et PP) + Zn, administrés pendant 6 mois à raison de 5 fois par semaine à des enfants, anémiques ou non, âgés de 2 à 6 ans du district de Chonging (Chine). Ils observent que l'addition à la vitamine A d'autres micronutriments (ou bien fer seul, ou bien le fer avec le mélange multivitaminique et minéral) améliore significativement les taux circulants de vitamine A, alors que la vitamine A seule ne procure aucune amélioration. D'après nos propres résultats, il serait possible d'avancer que le bénéfice obtenu avec le mélange multivitaminique dans l'étude de Chen et al aurait pu être supérieur si la vitamine E avait été incorporée au mélange. Inversement, dans notre étude, le fait d'avoir administré les vitamines du mélange de Chen et al n'a pas permis d'obtenir, comme ces auteurs, une amélioration des taux plasmatiques de vitamine A. C'est même le contraire qui a été observé (tableaux 10 et 13). Ces résultats contradictoires difficiles à expliquer dans le contexte des connaissances actuel, mériteraient des investigations complémentaires. En ce qui concerne l'évolution de la prévalence du déficit en vitamine A, il a été impossible de départager l'influence des trois traitements, dont la diminution oscille entre 24 % et 80 %.

Pour terminer cette discussion, il est utile de revenir sur l'influence exercée par les traitements sur la prévalence d'anémie ferriprive. Les travaux de l'étude multicentrique IRIS (Hop et Berger, 2005; Romaña *et al.*, 2005; Untoro *et al.*, 2005) développés au Vietnam, au Pérou et en Indonésie avec différents compléments (fer seul tous les jours; fer + micronutriments tous les jours; fer + micronutriments une fois par semaine) montrent que la réduction de la prévalence d'anémie ferriprive (estimée par l'hémoglobinémie seule) la plus importante est obtenue avec le mélange fer + micronutriments administré journallement. Cette réduction est de 75 %. L'étude de Ahmed *et al.* (2005), déjà citée, permet d'obtenir une chute de la prévalence d'anémie proche de 77 %. Pour ce qui nous concerne, nos résultats sont de cette ordre de grandeur pour les anémies ferriprives graves, mais plus faibles pour toutes les anémies. En revanche, nous avons montré (voir plus haut) que l'estimation par l'indice IDA, plus fiable, indiquait

une baisse de la prévalence de l'anémie ferriprive proche de 63 %, celle-ci n'était pas fondamentalement différente de celle des études précédentes.

Conclusion

Notre étude a donc permis de montrer dans un premier temps (étude transversale) que l'anémie ferriprive évaluée à l'aide de trois variables biologiques, l'hémoglobinémie, la ferritinémie et le récepteur soluble de la transferrine, présente une prévalence élevée, proche de 60 % (Partie 1: étude transversale), qu'elle représente la cause de 2/3 des cas d'anémie dans cette population d'enfants de la ville de Recife.

Notre étude dans un deuxième temps (étude longitudinale d'intervention, randomisée, contrôlée et en double insu) montre principalement, et pour la première fois qu'un apport complémentaire de vitamine E administrée en association avec le sulfate ferreux améliore l'hémoglobinémie, la ferritinémie et augmente le volume corpusculaire moyen par rapport à un apport de sulfate ferreux seul. Les effets bénéfiques de ce traitement sur l'hémoglobine et la ferritine, deux composantes importantes de l'anémie ferriprive, sont spécialement attribuables à son effet sur les enfants présentant une anémie grave. Cet effet bénéfique du traitement fer + vitamine E par rapport au fer seul ne se retrouve pas avec le traitement associant le fer à un complément multivitaminique (contenant également la vitamine E, mais non la vitamine C). il est indiscutable que la recommandation de l'utilisation de la vitamine E en association avec le sulfate ferreux s'impose dans une politique de santé publique par son efficacité vis à vis des anémies graves et par la valeur élevée de son rapport bénéfice/coût.

Les résultats obtenus avec le traitement fer + vitamine E sont généralement comparables à ceux de la littérature scientifique actuelle en termes d'efficacité. Il est possible que les performances de l'intervention à l'aide ce complément soient supérieures en termes de soutien à une activité érythropoïétique déficiente, et inférieures en termes d'augmentation de réserves en fer déprimées.

Beaucoup de questions restent posées. Améliorer l'efficacité des apports en fer dans la lutte contre l'anémie ferriprive est un objectif crucial. Parmi ces questions, deux sont à retenir, l'une théorique, l'autre plus pratique:

– Pourquoi la vitamine E seule, remplaçant un complexe vitaminique et minéral, s'avère, en présence d'un apport conjoint de fer, d'une efficacité supérieure pour améliorer l'hémoglobinémie et la ferritine? Des pistes sont envisageables. La plus intéressante consisterait à rechercher si la vitamine E ne est capable d'agir sur le métabolisme du fer et sa régulation. Ses multiples propriétés régulatrices mises en évidence durant la dernière décennie plaide en faveur de de cette voie de recherche.

– Quelle durée d'intervention serait nécessaire pour mettre en évidence une diminution de la prévalence d'anémie ferriprive avec ce complément décisive par rapport aux deux autres compléments? Pour répondre aux grandes préoccupations de santé publique, qui font inéluctablement intervenir la notion de coût thérapeutique, cette question devrait trouver une réponse rapide.

BIBLIOGRAPHIE

Abboud S., Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000; 275:19906-19912.

Abuja PM., Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306:1-17.

Ahluwalia N. Diagnostic utility of serum transferrin receptors measurement in assessing iron status. *Nutr Rev* 1998; 56:133-141.

Ahmed F., Khan MR., Akhtaruzzaman M., Karim R., Marks GC., Banu CP., Nahar B., Williams G. Efficacy of twice-weekly multiple micronutrient supplementation for improving the hemoglobin and micronutrient status of anemic adolescent schoolgirls in Bangladesh. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:829-835.

Aisen P. Current concepts in iron metabolism. *Clin Haematol* 1982; 11:241-256.

Alarcon K., Kolsteren PW., Prada AM., Chian AM., Velarde RE., Pecho IL., Hoeree TF. Effects of separate delivery of zinc or zinc and vitamin A on hemoglobin response, growth, and diarrhea in young Peruvian children receiving iron therapy for anemia. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1276-1282.

Almeida CAN., Ricco RG., Del Ciampo LA., Souza AM., Pinho AP., Oliveira JED. Factors associated with iron deficiency anemia in Brazilian preschool children. *J Pediatr (Rio J)*. 2004; 80:229-234.

Akesson A., Bjellerup P., Breglund M., Bremme K., Vahter M. Serum transferrin receptor: a specific marker of iron deficiency in pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1241-1246.

Alaofè H., Zee J., Dossa R., O'Brien HT. Iron status of adolescent girls from two boarding schools in southern Benin. *Public Health Nutr* 2008; 7:1-10.

Allen LH., Gillespie SR. What works? A review of efficacy and effectiveness of nutrition interventions. ACC/SCN Nutrition Policy Paper, 2001. p. 5-123.

Allen LH., Rosado JL., Casterline JE., López P., Muñoz E., Garcia OP., Martinez H. Lack of hemoglobin response to iron supplementation in anemic Mexican preschoolers with multiple micronutrient deficiencies. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1485-1494.

Almeida APC., Zandonade E., Abrantes MM., Lamouier JA. Iron deficiency and anemia in children from Vitória, ES, Brazil. *Pediatrics (São Paulo)* 2004; 26:140-150.

Amiot MJ., Babot LC., Touniaire F. Plant Pigments as bioactive substances. *In Food colorants: chemical and functional properties*. CRC Press, 2007.

Anderson GJ., Frazer DM., McKie AT., Vulpe CD. The ceruloplasmin homolog

hephestin and the control of intestinal iron absorption. *Blood Cell Mol Dis* 2002; 29:367-375.

Andrews NC. Iron metabolism: iron deficiency and iron overload. *Ann Rev Genomics Hum Genet* 2000; 1:75-98.

Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341:1986-1995.

Antunes H., Gonçalves S., Teixeira-Pinto A., Costa-Pereira A., Tojo-Sierra A., Aguiar A. Iron deficiency anemia in infants. Preliminary development results at five years. *Acta Med Port* 2005; 18:261-266.

Asakura L., Castro TG., Tomita LY. Vitamina A, Retinóides e Carotenóides. In: Cardoso MA. *Nutrição e Metabolism - Nutrição Humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 5, p. 81-103.

Asakura L. Vitamina E. In: Cardoso MA. *Nutrição e Metabolismo - Nutrição humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 7, p. 112-124.

Assis AMO., Barreto ML., Gomes GSS., Prado MS., Santos NS., Santos LMP., Sampaio LR., Ribeiro RC., Oliveira LPM., Oliveira VA. Childhood anemia prevalence and associated factors in Salvador, Bahia, Brazil. *Cad Saude Publica* 2004a; 20:1633-1641.

Assis AMO., Gaudenzi EN., Gomes G., Ribeiro RC., Szarfarc SC., Souza SB. Hemoglobin concentration, breastfeeding and complementary feeding in the first year of life. *Rev Saude Publ* 2004b; 38:543-551.

Assis AMO., Barreto M.L., Santos L.M.P., Magalhães L.P., Prado M. S., *et al.* Condições de vida, saúde e nutrição na infância em Salvador. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Instituto de Saúde Coletiva da Escola de Nutrição/UFBA. Brasília: 2000. 165 p.

Assis AMO., Santos SMC., Freitas MCS., Santos JM., Silva MCM. Distribuição da anemia em pré-escolares do Semi-Árido da Bahia. *Cad Saude Publica* 1997; 13: 237-243.

Asobayire FS., Adou P., Davidsson L., Cook JD., Hurrell RF. Prevalence of iron deficiency with and without concurrent anemia in population groups with high prevalences of malaria and other infections: a study in Côte d'Ivoire. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:776-782.

Auclair S, Feillet-Coudray C, Coudray C, Schneider S, Muckenthaler MU, Mazur A. Mild copper deficiency alters gene expression of proteins involved in iron metabolism. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36(1):15-20.

Aukett MA., Parks YA., Scott PH., Wharton BA. Treatment with iron increases weight gain and psychomotor development. *Arch Dis Child* 1986; 61:849-857.

Azaïs-Braesco V., Grolier P. Vitamines liposolubles. In: Martin A. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3. ed. Paris: Lavoisier TEC et

DOC, 2001. cap. 9, p. 221-48.

Azzi A., Breyer IB., Feher M., Ricciarelli R., Stocker A., Zimmer S., Zingg JM. Nonantioxidant Functions of α -Tocopherol in Smooth Muscle Cells. *J Nutr* 2001; 131(suppl):S378-S381.

Azzi A., Stocker A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog Lipid Res* 2000; 39:231-255.

Azzi A., Ricciarelli R., Zingg JM. Non-antioxidant molecular functions of α -tocopherol (vitamin E). *FEBS* 2002; 519:8-10.

Bagni UV., Baião MR., Santos MMAS., Luiz RR., Veiga GV. Effect of weekly rice fortification with iron on anemia prevalence and hemoglobin concentration among children attending public daycare centers in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saude Publica* 2009; 25:291-302.

Barros M.F.A., Léger C.L., Lira P.I.C., Lima M.C., Carbonneau M.A., Descomps B., Aléssio M.L.M. Cord blood essential fatty acid and alpha-tocopherol in full term newborns in Northeast Brazil area. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2002; 72(3):155-160.

Bartoli GM., Palozza P., Piccioni E. Enhanced sensitivity to oxidative stress in Cu,ZnSOD depleted rat erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1992;1123:291-295.

Batista-Filho M., Rissin A. Nutritional transition in Brazil: geographic and temporal trends. *Cad Saude Publica* 2003; 19(Suppl): S181-S191.

Batista Filho M., Romani SAM. Alimentação, nutrição e saúde no Estado de Pernambuco. Série de Publicações Científicas do Instituto Materno Infantil de Pernambuco 7. Recife: Editora Lyceu. 2002.

Bauernfeind JC., Rubin SH., Surmatis JD., Ofner A. Carotenoides and fat-soluble vitamins: contribution to food, feed and pharmaceuticals. *Int Z Vitaminforsch* 1970; 40:391-416.

Baynes ED., Skikne BS., Cook JD. Circulating transferrin receptor and assessment of iron status. *J Nutr Biochem* 1994; 5:322-330.

Baynes RD. Iron deficiency. *In*: Brock JH., Halliday JW: Pippard MJ; Powell LW. Iron metabolism in health disease. London: WB Saunders, 1994. p.189-225.

Beard JL., Murray-Kolb LE. Iron deficiency and maternal health. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(suppl):S946-S950.

Beard JL. Why iron deficiency is important in infant development. *J Nutr* 2008; 138:2534-2536.

Beard JL., Murray-Kolb LE., Hass JD., Lawrence F. Iron absorption prediction equations lack agreement and underestimate iron absorption; *J Nutr* 2007;

137:1741-1746.

Beard JL. Does iron deficiency cause low birth weight, prematurity, anemia and mortality in early infancy? *In*: Delange FM., West KP Jr (eds.) Micronutrient deficiencies in the first months of life. Nestlé Nutrition Workshop Series Pediatric Program 2003; 52:103-127.

Beard JL., Dawson BSH., Pinero DJ. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev* 1996; 54: 295-317.

Beard JL. Iron deficiency: assessment during pregnancy and its importance in pregnant adolescents. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(suppl):S502-S510.

Beaton GH., Corey PN., Steele C. Conceptual and methodological issues regarding the epidemiology of iron deficiency. *Am J Clin Nutr* 1989; 50:575-588.

Beaufrère B., Briend A., Ghisolfi J., Goulet O., Putet G., Rieu D., Turck D., Vidailhet M., Vermorel M. Nourrissons, enfants et adolescents. *In*: Martin A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 3. ed. Paris: Lavoisier TEC & DOC, 2001. cap. 11, p. 255-91.

Beaumont C. Mécanismes moléculaires de l'homéostasie du fer. *Med Sciences* 2004; 20:68-72.

Beaumont C., Leneuve P., Devaux I., Scoazec JY., Berthier M., Loiseau MN., Grandchamp B., Bonneau D. Mutation in the iron responsive element of the L ferritin mRNA in a family with dominant hyperferritinaemia and cataract. *Nature Genetics* 1995; 11:444-446.

Beinner MA., Velasquez-Meléndez G., Pessoa MC., Greiner T. Iron-fortified rice is as efficacious as supplemental iron drops in infants and young children. *J Nutr* 2010; 140:49-53.

Bell JG., McEvoy J., Tocer DR., Sargent JR. Depletion of alpha-tocopherol and astaxanthin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism. *J Nutr* 2000; 130:1800-1808.

Beresford CH., Neale RJ., Brooke OG. Iron absorption and pyrexia. *Lancet* 1971; 1:568-572.

Berger J., Dyck JL., Galan P., Aplogan A., Schneider D., Traissac P., Hercberg S. Effect of daily iron supplementation on iron status, cell-mediated immunity, and incidence of infections in 6-36 month old Togolese children. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54:29-35.

Bhargava M., Iyes PU., Kumar R., Ramji S., Kapani V., Bhargava SK. Relationship of maternal serum ferritin with foetal serum ferritin, birth weight and gestation. *J Trop Pediatr* 1991; 37:149-151.

- Biesalski HK., Tinz J. Nutritargeting. *Adv Food Nutr Res* 2008; 54:179-217.
- Binder HJ., Solitare GB., Spiro HM. Neuromuscular disease in patients with steatorrhea. *Gut* 1967; 8:605-611.
- Binder HJ., Spiro HM. Tocopherol deficiency in man. *Am J Clin Nutr* 1967; 20: 594-601.
- Black MM. Micronutrient deficiencies and cognitive functioning. *J Nutr* 2003; 133 (suppl):S3927-S3931.
- Blaner WS., Olson JA. Retinol and retinoic acid metabolism. *In*: Sporn MB., Roberts AB., Goodman JS. *The retinoids: biology, chemistry and medicine*. New York: Raven Press, 1994. p. 229-255.
- Bloem MW., Wedel M., van Agtmaal EJ. Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. *Am J Clin Nutr* 1990; 51:76-79.
- Bone RA., Landrum JT., Dixon Z., Chen Y., Llerena CM. Lutein and zeaxanthin in the eyes, serum and diet of human subjects. *Exp Eye Res* 2000; 71:239-245.
- Bone RA., Landrum JT., Friedes LM., Gomez CM., Kilburn MD., Menendez E., Vidal I., Wang W. Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. *Exp Eye Res* 1997; 64:211-218.
- Borel P., Drai J., Faure H., Fayol V., Galaber C., Laromiguière M., Le Moël G. Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes. *Ann Biol Clin* 2005; 63:165-177.
- Borel P. Biodisponibilité des vitamines présentes dans les végétaux supérieurs. *Ann Biol Clin* 2002; 60:451-461.
- Borel P., Grolier P., Armand M., Partier A., Lafont H., Lairon D., Azais-Braesco V. Carotenoids in biological emulsions : solubility, surface-to-core distribution, and release from lipid droplets. *J Lipid Res* 1996; 37:250-261.
- Borges CQ., Silva RCR., Assis AMO., Pinto EJ., Fiaccone RL., Pinheiro SMC. Factors associated with anemia in children and adolescents in public schools in Salvador, Bahia State, Brazil. *Cad Saude Publica* 2009; 25:877-888.
- Braekke K., Bechensteen AG., Halvorsen BL., Blomhoff R., Haaland K., Staff AC. Oxidative stress markers and antioxidant status after oral iron supplementation to very low birth weight infants. *J Pediatr* 2007; 151:23-28.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Operation Manual of the Iron Supplementation National Program. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005. 28p. - (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 85-334-1017-1024.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Programa nacional de suplementação de ferro. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2004.

Brasil. Ministério da Saúde et UNICEF. Micronutrient supplementation throughout the life cycle. Rio de Janeiro: 1999.

Brasil. Ministério da Saúde. Comunidade Solidária. Controle da anemia ferropriva em crianças menores de 02 anos nos municípios do projeto de redução da mortalidade infantil. Brasília: 1998.

Bridle KR., Frazer DM., Wilkins SJ., Dixon JL., Purdie DM., Crawford DH., Subramaniam VN., Powell LW., Anderson GJ., Ramm GA. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003; 361:669-673.

Brigelius-Floré R., Kelly FJ., Salonen JT., Neuzil J., Zingg JM., Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:703-716.

Brigelius-Flohé R., Traber M. Vitamin E: function and metabolism. *Faseb J* 1999; 13:1145-1155.

Brissot P., Pigeon C., Moirand R., Guyader D., Mendler MH., Sapey T., Deugnier Y., Lescoat G., Loréal O. Le métabolisme du fer et son exploration en biologie clinique. *Ann Biol Clin* 1998; 56:5-10.

Brittenham GM., Klein HG., Kushner., Ajioka RS. Preserving the national blood supply. *Am Societ Hematol* 2001; 1:422-433.

Brittenham GM. Disorders of iron metabolism: deficiency and overload. *In: Hoffmann R., Bens E., Shatill S., et al.; Hematology basic principles and Practice. New York: Churchill Livingstone. 1991. p. 327-349.*

Bruner AB., Joffe A., Duggan AK., Casella JF., Brandt J. Randomized study of cognitive effects of iron supplementation in non-anaemic iron-deficient adolescent girls. *Lancet* 1996; 348: 992-996.

Brunken GS., Muniz PT., Silva SM. Weekly iron supplementation reduces anemia prevalence by 1/3 in preschool children. *Rev Bras Epidemiol* 2004; 7:210-219.

Brunken GS., Guimarães LV., Fisberg M. Anemia in children under 3 years of age in public day care centers. *J Pediatr (Rio J)* 2002; 78:50-56.

Bruno R.S., Leonard S.W., Atkinson J.K., Montine T.J., Ramakrishnan R., Bray TM., Traber MG. Faster vitamin E disappearance in smokers is normalized by vitamin C supplementation. *Free Radic Biol Med* 2006; 40:689-697.

Bruno R.S., Ramakrishnan R., Montine TJ., Bray TM., Traber MG. α -Tocopherol

disappearance is faster in cigarette smokers and is inversely related to their ascorbic acid status. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:95-103.

Bueno MB., Selem SSC., Arêas JAG., Fisberg RM. Prevalence and associated factors for anemia among children of public day-care centers in the city São Paulo. *Rev Bras Epidemiol* 2006; 9:462-470.

Buonocore G., Zani S., Perrone S., Caciotti B., Bracci R. Intraerythrocyte nonprotein-bound iron and plasma malondialdehyde in the hypoxic newborn. *Free Radic Biol Med* 1998 ; 25:766-770.

Buettner GR. Activation of oxygen by metal complexes and its relevance to autoxidative processes in living systems. *J Electroanal Chem* 1987; 232:29-36.

Burton GW., Traber MG., Acuff RV *et al.* Human plasma and tissue α -tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:669-684.

Cachia O., Benna JE., Pedruzzi E., Descomps B., Gougerot-Pocidalo MA., Léger CL. α -tocopherol inhibits the respiratory burst in human monocytes. Attenuation of p47(phox) membrane translocation and phosphorylation. *J Biol Chem* 1998; 273: 32801-32805.

Camillo CC., Amancio OMS., Vitale MSS., Braga JAPP., Juliano Y. Anemia ferropriva e estado nutricional de crianças de creches de Guaxupé. *Rev Assoc Med Bras* 2008; 54:154-159.

Cançado RD., Guerra CCC. Aspectos atuais do metabolismo do ferro. *In: Lopes AC. Tratado de clínica médica.* São Paulo: Roca, 2006. cap. 148, p. 1889-1919.

Canonne-Hergaux F., Gruenheid S., Ponka P., Gros P. Cellular and subcellular localization of the Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron. *Blood* 1999; 93: 4406-4417.

Cardoso MA. Ferro. *In: Cardoso MA. Nutrição e metabolismo.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap.16, p. 258-275.

Cardoso MA., Ferreira UM., Camargo LMA., Szarfarc SC. Anaemia, iron deficiency and malaria in a rural community in Brazilian Amazon. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48:326-332.

Carvalho AGC., Lira PIC., Barros MFA., Aléssio MLM., Lima MC., Carbonneau MA., Berger J., Léger CL. Diagnosis of iron deficiency anemia in children through different hematological and biochemical parameters. *Accepté pour publication dans la Rev Saude Publica* 2010.

Center for Disease Control and Prevention (**CDC**). Morbidity and mortality weekly report. Iron deficiency – United States, 1999-2000. 2002; 51:897-901.

Chen H., Zhuo Q., Yauan W., Wang J., Wu T. Vitamin A for preventing acute lower respiratory tract infections in children up to seven years of age. *Cochr Data Sys Rev* 2008; 23: CD006090.

Chen K., Li TY., Chen L., Qu P., Liu YX. Effects of vitamin A, vitamin A plus iron and multiple micronutrient-fortified seasoning powder on preschool children in a suburb of Chongqing, China. *J Nutr Sci Vitaminol* 2008; 54:440-447.

Cheng WY., Fu ML., Wen LJ., Chen C., Pan WH., Huang CJ. Plasma retinal and α -tocopherol status of the Taiwanese elderly population. *Asia Pac J Clin Nutr* 2005; 14:256-262.

Chow CK. Vitamin E and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1991; 61:213-224.

Chwang LC., Soemantri A., Pollitt E. Iron supplementation and physical growth of rural Indonesian children. *Am J Clin Nutr* 1988; 47:496-501.

Ciocoiu M., Badescu M., Paduraru I. Protecting antioxidative effects of vitamins E and C in experimental physical stress. *J Physiol Biochem* 2007; 63:187-194.

Combs GF. Vitaminas. *In*: Mahan LK; Escott-Stump.; Krause. *Alimentos, Nutrição & Dietoterapia*. 10. ed. São Paulo: Rocca, 2002. cap. 4, p. 66-72.

Comporti M., Signorini C., Buonocore G., Ciccoli L. Iron release, oxidative stress and erythrocyte ageing. *Free Radic Biol Med* 2002; 32:568-576.

Cook JD. Diagnosis and management of iron-deficiency anaemia. *Best Practice Res Clin Haematol* 2005; 18:319-32.

Cook JD., Skikne BS., Baynes RD. Iron deficiency: the global perspective. *Adv Exp Med Biol* 1994; 356:219-228.

Cook JD., Baynes RD., Skikne BS. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr Res Rev* 1992; 5:186-202.

Cook JD. Adaptation in iron metabolism. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 301-308.

Cook JD., Lynch SR. The liabilities of iron deficiency. *Blood* 1986; 68:803-809.

Cook JD. Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol* 1982; 19:6-18.

Cook JD., Finch CA. Assessing iron status of a population. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:2115-2119.

Cooper MJ., Zlotkin SH. Day-to-day variation of transferrin receptor and ferritin in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1996; 64:738-742.

Coudray C., Hercberg C. Fer. *In*: Martin A. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3. ed. Paris: Lavoisier TEC et DOC, 2001. p. 150-155.

Coutinho GGPL., Goloni-Bertollo EM., Pavarino-Bertelli EC. Effectiveness of two programs of intermittent ferrous supplementation for treating iron-deficiency anemia in infants: randomized clinical trial. *Sao Paulo Med J* 2008; 126:314-318.

Coutsoudis A., Broughton M., Coovadia HM. Vitamin A supplementation reduces measles morbidity in young African children: a randomized, placebo-controlled, doubleblind trial. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:890-895.

Cross AJ., Gunter MJ., Wood RJ., Pietinen P., Taylor PR., Virtamo J., Albanes D., Sinha R. Iron and colorectal cancer risk in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study. *Int J Cancer* 2006; 118:3147-3152.

Cummings MJ., Mattill HA. The auto-oxidation of fats with reference to their destructive effect on vitamin E. *J Nutr* 1931; 3:421-432.

Cusick SE., Looker AC., Cogswell ME., Pfeiffer CM., Grummer-Strawn L. Iron-Status indicators. *Pediatrics* 2008; 121:651-652.

Darshan D., Anderson GJ. Liver-gut axis in the regulation of iron homeostasis. *World J Gastroenterol* 2007; 21:4737-4745.

Davidsson L. Approaches to improve iron bioavailability from complementary foods. *J Nutr* 2003; 133(suppl):S1560-S1563.

De Leenheer A., De Bevere V., Ruyher M., Claeys A. Simultaneous determination of retinol and α -tocopherol in human serum by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1979; 162: 408-413.

De Pee S., Bloem MW. The bioavailability of (pro) vitamin A carotenoids and maximizing the contribution of homestead food production to combating vitamin A deficiency. *Int J Vitam Res* 2007; 77:182-192.

De Pee S., West C., Permasih D., Martuti S., Muhilal., Hautvast JG. Orange fruit is more effective than dark-green, leafy vegetables in increasing serum concentrations of retinol and beta-carotene in schoolchildren in Indonesia. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1058-1067.

Dekaney CM., Wu G., Yin YL., Jaeger LA. Regulation of ornithine aminotransferase gene expression and activity by all-transretinoic acid in Caco-2 intestinal epithelial cells. *J Nutr Biochem* 2008; 13:1-6.

Delange FM., West KP Jr (eds.) Micronutrient deficiencies in the first months of life. Nestlé Nutrition Workshop Series Pediatric Program 2003, vol. 52.

Desai N., Choudhry VP. Nutritional anemia in protein energy malnutrition. *Indian Pediatr* 1993; 30:1471-1483.

Desrumaux C., Deckertr V., Athias A., Masson D., Lizard G., Palleau., Gambert P.,

Lagrost L. Plasma phospholipid transfer protein prevents vascular endothelium dysfunction by delivering α -tocopherol to endothelial cells. *FASEB J* 1999; 13:883-892.

Devalia V., Carter K., Walker AP., perkins SJ., Worwood M., May A., Dooley JS. Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload associated with a 3-base pair deletion in the ferroportin 1 gene (SLC11A3). *Blood* 2002; 100:695-697.

Devincenzi MU., Ribeiro LC., Sigulem DM. Anemia ferropriva na primeira infância. *Rev Diagnot Tratat* 1999; 4:49-52.

Donovan A., Andrews NC. The molecular regulation of iron metabolism. *Hematol J* 2004; 5:373-380.

Donovan A., Brownlie A., Zhou Y., Shepard J., Pratt SJ., Moynihan J., Paw BH., Drejer A., Barut B., Zapata A., Law TC., Brugnara C., Lux SE., Pinkus GS., Pinkus JL., Kingsley PD., Palis J., Fleming MD., Andrews NC., Zon LI. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403:776-781.

Du S., Zhai F., Wang Y., Popkin BM. Current methods for estimating dietary iron bioavailability do not work in China. *J Nutr* 2000; 130:193-198.

Duffy TP. Anemias microcíticas e hipocrômicas. *In: Goldman L., Ausiello D. Cecil tratado de medicina interna. 22 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. cap. 167, p. 1161-8.*

Duport N., Preziosi P., Boutron-Ruault MC., Bertrais S., Galan P., Favier A., Lafond JL., Hercberg S. Consequences of iron depletion on health in menstruating women. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57:1169-1175.

During A., Hussain MM., Morel DW., Harrison EH. Carotenoid uptake and secretion by CaCo-2 cells: beta-carotene isomer selectivity and carotenoid interactions. *J Lipid Res* 2002; 43:1086-1095.

Eickmann SH., Brito CMM., Lira PIC., Lima MC. Effectiveness of weekly iron supplementation on hemoglobin concentration, nutritional status and development of infants of public daycare centers in Recife, Pernambuco State, Brazil. *Cad. Saude Publica* 2008; 2(suppl):S303-S311.

Eisenstein RS. Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism. *Ann Rev Nutr* 2000; 20:627-662.

Ekvall H., Z. Premji Z., Björkman A.. Micronutrient and iron supplementation and effective antimalarial treatment synergistically improve childhood anaemia. *Trop Medicine Inter Health* 2000; 5:696-705.

Engstrom EM., Castro IRR., Portela M., Cardoso LO., Monteiro CA. Effectiveness of daily and weekly iron supplementation in the prevention of anemia in infants.

Rev Saude Publica 2008; 42:1-9.

Evans JR., Henshaw K. Antioxidant vitamin and mineral supplements for preventing age-related macular degeneration. *Cochr Data Syst Rev* 2008; 23:CD000253.

Faber M. Dietary intake and anthropometric status differ for anaemic and non-anaemic rural south African aged 6-12 months. *J Health Popul Nutr* 2007; 25:285-293.

Faber M., Kvalsvig JD., Lombard CJ., Benadé AJS. Effect of a fortified maize-meal porridge on anemia, micronutrient status, and motor development of infants. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:1032-1039.

Fahmida U., Rumawas JSP., Utomo B., Patmonodewo S., Schultink W. Zinc-iron, but not zinc-alone supplementation, increased linear growth of stunted infants with low haemoglobin. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007;16:301-309.

Farkas CS., Riche WF. Effect of tea and coffee consumption on nonheme iron absorption: some questions about milk. *Hum Nutr Clin Nutr* 1987; 41:161-163.

Farrel, PM., Gutcher, GR., Palta, M., De Mets D. Essential fatty acid deficiency in premature infants. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 220-229.

Fayed SB., Aref MI., Fathy HM., Abd El Dayem SM., Emara NA., Maklof A., Shafik A. Prevalence of celiac disease, *Helicobacter pylori* and gastroesophageal reflux in patients with refractory iron deficiency anemia. *J Trop Pediatr* 2008; 54:43-53.

Feder JN., Gnirke A., Thomas W., Tsuchihashi Z., Ruddy DA., Basava A., Dormishian F., Domingo Jr. R., Ellis MC., Fullan A., Hinton LM., Jones NL., Kimmel BE., Kronmal GS., Lauer P., Lee VK., Loeb DB., Mapa FA., McClelland E., Meyer NC., Mintier GA., Moeller N., Moore T., Morikang E., Prass CE., Quintana L., Starnes SM., Schatzman RC., Brunke KJ., Drayna DT., Risch NJ., Bacon BR., Wolff RK. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genetics* 1996; 13:399-408.

Feki M., Souissi M., Mebazaa A. Vitamina E deficiency. Etiopathogenesis, clinical, histopathologic, and electrical features, and main etiologies. *Ann Med Intern* 2001; 152:392-397.

Ferreira MLM., Ferreira LOC., Silva AA., Batista-Filho M. Effectiveness of weekly iron sulfate in the family health Program in Caruaru, Pernambuco State, Brazil. *Cad Saude Publica* 2003; 19:375-381.

Fernández-Bañares F., Monzón H., Forné M. A short review of malabsorption and anemia. *World J Gastroenterol* 2009; 15:4644-4652.

Ferrate M., Geubel AP., Fevery J., Marogy G., Horsmans Y., Nevens F. Hereditary hyperferritinaemia-cataract syndrome: a challenging diagnosis for the

hepatogastroenterologist. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17:1247-1253.

Fierce Y., de Moraes VM., Piantedosi R., Wyss A., Blaner WS., Paik J. In vitro and in vivo characterization of retinoid synthesis from beta-carotene. *Arch Biochem Biophys* 2008; 472:126-138.

Finch C. Regulators of iron balance in humans. *J Am Soc Hemat* 1994; 84:1697-1702.

Fisberg RM., Marchioni DML., Cardoso MRA. Nutritional status and factors associated with stunting in children attending public daycare centers in the Municipality of São Paulo, Brazil. *Cad Saude Publica* 2004; 20:812-817.

Fishman SM., Christian P., West KP Jr. The role of vitamins in the prevention and control of anaemia. *Public Health Nutr* 2000; 3:125-150.

Fleming MD., Trenor CC., Su MA, Foerzler D., Beier DR., Dietrich WF., Andrews NC. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; 16:383-386.

Flores H., Azevedo MNA., Florisbela ACSC., Barreto-Lins MC., Cavalcanti AA., Salzano AC., Varela RM., Underwood BA. Serum vitamin A distribution curve for children aged 2-6 years known to have adequate vitamin A status: a reference population. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:707-711.

Flowers CH., Skinkne BS., Covell AM., Cook JD. The clinical measurement of serum transferrin receptor. *J Lab Clin Med* 1989; 114:368-377.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (**FAO**). World Health Organization (**WHO**). Human vitamin and mineral requirements. Report of joint FAO/WHO expert consultation Bangkok: Thailand, 2001; p. 121-131.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (**FAO**). World Health Organization (**WHO**). Food standards programme. Report of the eighteenth session of the joint FAO/WHO codex Alimentarius Commission, Geneva, 1989; 3-12.

Frénot M., Vierling E. *Biochimie des aliments – Diététique du sujet bien portant*. 3. ed. Bordeaux: Doin Éditeurs, 2001. cap. 8, p. 157-190.

Galan P., Noisette N., Estaquio C., Czernichow S., Mennen L., Renversez JC., Briançon S., Favier A., Hercberg S. Serum ferritin, cardiovascular risk factors and ischaemic heart diseases: a prospective analysis in the SU.VI.MAX (SUPPLEMENTATION EN VITAMINES ET MINÉRAUX ANTIOXYDANTS) cohort. *Pub Health Nutr* 2006; 9:70-74.

Galinier A., Periquet B., Lambert W., Garcia J., Assouline C., Rolland M., Thouvenot JP. Reference range for micronutrients and nutritional marker proteins in cord blood of neonates appropriated for gestational ages. *Early Hum Dev* 2005; 81:583-593.

Garret S., Worwood M. Zinc protoporphyrin and iron-deficient erythropoiesis. *Acta Haematol* 1994; 91:21-25.

Georgieff MK. Nutrition and the development brain: nutrient priorities and measurement. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(suppl):S614-S620.

Gera T., Sachdev HPS., Nestel P. Effect of combining multiple micronutrients with iron supplementation on Hb response in children: systematic review of randomized controlled trials. *Public Health Nutr* 2008; 12:756-773.

Gey KF. Ten-year retrospective on the antioxidant hypothesis of arteriosclerosis: threshold plasma levels of antioxidant micronutrients related to minimum cardiovascular risk. *J Nutr Biochem* 1995; 6:206-236.

Gey KF., Moser UK., Jordan P., Stahelin HB., Eichholzer M., Ludin E. Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr* 1993; 53(suppl): S787-S797.

Gillespie, S. Major Issues in the Control of Iron Deficiency. Micronutrient Initiative/UNICEF Ottawa, Canada, 1998.

Glasziou PP., Mackerras DEM. Vitamina A. *Anais Nestlé* 1996; 53:1-11.

Grantham-McGregor S., Ani C. A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *J Nutr* 2001; 131(suppl): S649-S668.

Guéant JL., Gastin I., Vidailhet M. Méthodes biologiques de diagnostic positive et étiologique des carences vitaminiques. *Nutr Clin Metabol* 1995; 9: 29-42.

Guerra CCC., Guerra JCC. Anemia ferropriva. *Rev Bras Med* 1993; 53:78-112.

Guerra CCC., Gomes CET., Carvalho IG., Szauter IG., Portugal ARR., Kanayama RH., Rosenfeld IGM., Falci M. Tratamento da anemia carencial (ferropriva) de crianças albergadas. *Bol Soc Bras Hematol Hemoterapia* 1985; 7:181-188.

Gunshin H., Mackenzie B., Berger UV., Gunshin Y., Romero MF., Boron WF., Nussberger S., Gollan JL., Hediger MA. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388:482-488.

Gutteridge JM., Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899:136-147.

Hadler MPCM., Sigulem DM., Alves MFC., Torres VM. Treatment and prevention of anemia with ferrous sulfate plus folic acid in children attending daycare centers in Goiânia, Goiás State, Brazil: a randomized controlled trial. *Cad. Saude Publica* 2008; 24(suppl):S259-S271.

Hadler M.C.C.M., Juliano Y., Sigulem DM. Anemia in infancy: etiology and prevalence. *Pediatr (Rio J)* 2002; 78:321-326.

Hallberg L. Perspectives on nutritional iron deficiency. *Annu Rev Nutr* 2001; 21:1-21.

Hallberg L., Hulthén L., Garby L. Iron stores and haemoglobin iron deficits in menstruating women. Calculations based on variations in iron requirements and bioavailability of dietary iron. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54:650-657.

Hallberg L., Bengtsson C., Lapidus L., Lindstedt G., Lundberg PA., Hultén L. Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. *Brit J Haemat* 1993; 85:787-798.

Halliday JW., Ramm GA., Powell LW., Worwood M. Cellular iron processing and storage: the role of ferritin. In: Brock JH; Halliday JW; Pippard MJ; Powell LW. *Iron metabolism in health and disease*. London: WB Saunders, 1994. p. 98-121.

Handelman GJ. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* 2001; 17:818-822.

Harding AE., Matthews S., Jones S., Ellis C.J., Booth I.W., Muller DP. Spinocerebellar degeneration associated with a selective defect of vitamin E absorption. *N Engl J Med* 1985; 313:32-35.

Harris ZL., Durley AP., Man TK., Gitlin JD. Targeted gene disruption reveals an essential role for ceruloplasmin in cellular iron efflux. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:10812-10887.

Harris ZL., Klomp LWJ., Gitlin JD. Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Am J Clin Nutr* 1998; 67(suppl):972S.

Harrison EH. Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A. *Annu Rev Nutr* 2005; 25:87-103.

Harrison EH., Hussain MM. Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A. *J Nutr* 2001;131:1405-1408.

Harrison PM., Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Bioch Biophys Acta* 1996; 1275:161-203.

Harrison PM., Ford GC., Rice DW., Smith JM., Treffry A., White JL. Structural and functional studies on ferritins. *Biochem Soc Trans* 1987;15:744-748.

Hastka J., Lassere JJ., Schwarzbeck A., Strauch M., Hehlmann R. Central role of zinc protoporphyrin in staging iron deficiency. *Clin Chem* 1994; 40:768-773.

Hastka J., Lassere JJ., Schwarzbeck A., Strauch M., Hehlmann R. Washing erythrocytes to remove interferents in measurements of zinc protoporphyrin by front-face hematofluorometry. *Clin Chem* 1992; 38:2184-2189.

Hensley K., Benaksas EJ., Bolli R., Comp P., Grammas P., Hamdheydari L., Mou S., Pye QN., Stoddard MF., Wallis G., Williamson KS., West M., Wechter WJ., Floyd RA. New perspectives on vitamin E: γ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free Rad Biol Med* 2004; 36:1-15.

Hentze MW., Muckenthaler MU., Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004; 117:285-297.

Hentze MW., Kunh LC. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:8175-8182.

Hercberg S., Preziosi P., Galan P. Iron deficiency in Europe. *Public Health Nutr* 2001; 4:537-545.

Hop T., Berger J. Multiple micronutrient supplementation improves anemia, micronutrient nutrient status, and growth of vietnamese infants: Double-Blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Nutr* 2005; 135 (suppl):S660-S665.

Huerbes HA., Finch CA. The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol Rev* 1987; 67:520-522.

Hunter HN., Fultons DF., Ganz T., Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; 277:37597-37603.

Ibrahim W., Lee US, Yeh CC, Szabo J., Bruckner G., Chow, CK. Oxidative stress antioxidant status in mouse liver: effects of dietary lipid, vitamin E and iron. *J Nutr* 1997; 127:1401-1406.

Ingenbleek Y. Épidémiologie des principales carences vitaminiques dans les pays en voie de développement. *Ann Biol Clin* 2002; 60:443-450.

Ingraham M., Steenbock H. The relation of micro-organisms to carotenoids and vitamin A. *Biochem* 1935; 2553-2562.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE – 2010. Cette page est rendue à l'adress suivante: <http://www.ibge.gov.br>, 12 février 2010.

International Nutritional Anemia Consultive Group (**INACG**). Measurement of iron status [report]. Washington (DC); 1985.

Jaja SI., Aigbe PE., Gbeneditse S., Temiye EO. Changes in erythrocytes following supplementation with alpha-tocopherol in children suffering from sickle cell anemia. *Niger Postgrad Med J* 2005; 12:110-114.

- Jiang JX., Lin LM., Lian GL., Greiner T. Vitamin A deficiency and child feeding in Beijing and Guizhou, China. *World J Pediatr* 2008; 4:20-25.
- Jordão RE., Bernardi JLD., Barros Filho AA. Prevalence of iron-deficiency anemia in Brazil: a systematic review. *Rev Paul Pediatr* 2009; 27:90-98.
- Kaplan LA., Lau JM., Stein EA. Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem* 1990; 8:1-10.
- Karr M., Mira M., Causer J., Earl J., Alperstein G., Wood F., Fett MJ., Coakley J. Age-specific reference intervals for plasma vitamins A, E and beta-carotene and for serum zinc, retinol-binding protein and prealbumin for Sydney children aged 9-62 months. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67:432-436.
- Karr M., Mira M., Causer J., Earl J., Alperstein G., Wood F., Fett MJ., Coakley J. Plasma and serum micronutrient concentrations in preschool children. *Acta Paediatr* 1997a; 86:677-682.
- Kawabata H., Yang R., Hiramata T., Vuong PT., Kawano S., Gombart AF., Koeffler HP. Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem* 1999; 274:20826-20832.
- Kawaguchi R., Yu J., Wiita P., Honda J., Sun H. An essential ligand binding domain in the membrane receptor for retinol binding protein revealed by large-scale mutagenesis and a human polymorphism. *J Biol Chem* 2008; 3:1-18.
- Kayden H., Traber MG. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentration of vitamin E in humans. *J Lipid Res* 1993; 34:343-358.
- Khachik F., Chang AN., Gana A., Mazzola F. Partial synthesis of (3R,6'R)-alpha-cryptoxanthin and (3R)-beta-cryptoxanthin from (3R, 3'R,6'R)-lutein. *J Nat Prod* 2007; 70:220-226.
- Khan NC., West CE., de Pee S., *et al.* The contribution of plant foods to the vitamin A supply of lactating women in Vietnam: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1112-1120.
- Kirkwood, BR. *Essentials of medical statistics*. Londres: Blackwell Scientific; 1988. cap. 26, p. 191-200.
- Klausner RD., Ronault TA., Harford JB. Regulating the fate of mRNA: the control of cellular iron metabolism. *Cell* 1993; 72:19-28.
- Kmetiuk SF. Prevalency of iron deficiency anemia in children registered two municipal day-care centers of Guarapuava – PR. Ribeirão Preto; 2005, 84 p. (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação da Universidade de São Paulo. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, 2005.

Knutson M., Oukka M., Koss LM., Aydemir F., Wessling-Resnick M. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:1324-1328.

Knutson M., Wessling-Resnick M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Biol* 2003; 38:61-88.

Kohgo Y., Niitsu Y., Kondo H., Kato J., Tsushima N., Sasaki K., Hirayama M., Numata T., Nishisato T., Urushizaki I. Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis. *Blood* 1987; 70:1955-1958.

Kohgo Y., Nishisato T., Kondo H., Tsushima N., Niitsu Y., Urushizaki I. Circulating transferrin receptor in human serum. *Br J Haematol* 1986; 64:277-281.

Krinsky NI., Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* 2005; 26:459-516.

Kuiper-Kramer EPA., Baerts W, Bakker R., Van Eyck J., Van Raan J., Van Eijk HG. Evaluation of the iron status of the newborn by soluble transferrin receptors in serum. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36:17-21.

Lacerda E., Cunha AJ. Anemia ferropriva e alimentação no segundo ano de vida no Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Panam Salud Publica* 2001; 9:294-301.

Lachili B., Hininger I., Faure H., Arnaud J., Richard MJ., Favier A., Roussel AM. Increased lipid peroxidation in pregnant women after iron and vitamin C supplementation. *Biol Trace Elem Res* 2001; 83:103-110.

Lafond JL., Arnaud J. Métabolisme du fer. *Rev Prata* 2000; 50:945-949.

Leal LP., Osório MM. Validity and reproductibility of the clinical signs for the diagnosis of anemia in children. *Cad. Saude Publica* 2005; 21:565-572.

Léger CL. La vitamine E et la prévention cardiovasculaire. *Ann Biol Clin* 2000a; 58: 527-540.

Léger CL. Les vitamines liposolubles. *OCL* 2000b; 7:257-265.

Léger CL., Dumontier C., Fouret G., Boulot P., Descomps B. A short term supplementation of pregnant women before delivery does not improve significantly the vitamin E status of neonates – low efficiency of the vitamin E placental transfer. *Inter J Vitam Nutr Res* 1998; 68:293-299.

Léger CL. Vitamine E, tocophérols, composés apparentés et structure membranaire. In: Léger CL. Vitamine E, tocophérols et composés apparentés: propriétés anti-oxygène et rôle biologique, sources alimentaires. Paris: Polytechnica, 1992. cap. 3, p. 33-44.

- Leo MA., Ahmed S., Aleynik SI., Siegel JH., Kasmin F., Lieber CS. Carotenoids and tocopherols in various hepatobiliary conditions. *J Hepatol* 1995; 23:550-556.
- Lessa AC., Devincenzi MU., Sigulem DM. Comparison of nutritional status of low-income children in the second year of life before and after primary health care intervention. *Cad. Saude Publica* 2003; 19:505-514.
- Leuenberger MG., Engeloch-Jarret C., Woggon WD. The reaction mechanism of the enzyme-catalyzed central cleavage of beta-carotene to retinal. *Angew Chem Int Ed Engl* 2001; 40: 2613-2617.
- Levy A., Fraser D., Dagan R., Deckelbaum RJ., Coles C., Naggan L. Anemia as risk factor for infections diseases in infants and toddlers: results from a prospective study. *Eur J Epidemiol* 2005; 20:277-284.
- Li Z., Lai Z., Ya K., Fang D., Ho YW., Lei Y., Ming QZ. Correlation between the expression of divalent metal transporter 1 and the content of hypoxia-inducible factor-1 in hypoxic hepG2 cells. *J Cell Mol Med* 2008; 12:569-579.
- Li R., Chen X., Yan H., Deurenberg P., Garby L., Hautvast JG. Functional consequences of iron supplementation in iron-deficient female cotton mill workers in Beijing, China. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:908-913.
- Lim Y., Vasu VT., Valacchi G., Leonard S., Aung HH., Schock BC., Kenyon NJ., Li CS., Traber MG., Cross CE. Severe vitamin E deficiency modulates airway allergic inflammatory responses in the murine asthma model. *Free Radic Res* 2008; 42:387-396.
- Lima ACVMS., Lira PIC., Romani SAM., Eickmann SH., Picoya MD., Lima MC. Fatores determinantes dos níveis de hemoglobina em crianças aos 12 meses de vida na Zona da Mata Meridional de Pernambuco. *Rev Bras Saude Materno-Infantil* 2004; 4:35-43.
- Lin XM., Zhang J., Zou ZY., Long Z., Tian W. Evaluation of serum transferrin receptor for iron deficiency in women of child-bearing age. *Br J Nutr* 2008; 100:1104-1105.
- Lira PIC., Ferreira LOC. Epidemiologia da anemia ferropriva. *In: Kac G., Sichieri R., Gigante DP. Epidemiologia nutricional. Rio de Janeiro: Atheneu/FIOCRUZ, 2007. cap. 17, p. 297-323.*
- Lira PIC., Romani SMA., Amigo H., Batista-Filho M. Estado nutricional de crianças menores de 6 anos, segundo posse da terra, em áreas rurais do estado de Pernambuco NE-Brasil. *Arch Latinoamericanos Nutricion* 1985; 35:247-257.
- Loffeld RJ. Hyperferritinaemia not always a sign of iron overload. *Acta Gastroenterol Belg* 2007; 70:360-362.

- Lonn E., Bosch J., Yusuf S., Sheridan P., Pogue J., Arnold JM., Ross C., Arnold A., Sleight P., Probstfield J., Dagenais GR., HOPE and HOPE-TOO. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer. *JAMA* 2005; 293: 1338-1347.
- Lönnerdal B., Kelleher SL. Iron metabolism in infants and children. *Food Nutr Bull* 2007; 28(suppl):S491-S499.
- López AVM., Molinos FL., Carmona ML., Morales AC., Muñoz Vico FJ., Muñoz JL., Muñoz Hoyos A. Serum transferrin receptor in children: usefulness for determining the nature of anemia in infection. *J Pediatr Hematol Oncol* 2006; 28:809-815.
- Lozoff B. Iron deficiency and child development. *Food Nutr Bull* 2007; 28(suppl):S560-S571.
- Lozoff B., Black M. Impact of micronutrient deficiencies on behavior and development *In*: Pettifor JM, Zlotkin S (eds): *Micronutrient Deficiencies during the weaning period and the first years of life*. Nestlé Nutrition Workshop Series Pediatric Program 2004; 54:119–135.
- Lunedo S., Pontarolo R., Rocha MEM. Sensibility and Specificity evaluation of microparticle enzyme immunoassay method for ferritin measurement. *RBAC* 2004; 36:177-180.
- Lutter CK. Iron deficiency in young children in low-income countries and new approaches for its prevention. *J Nutr* 2008; 138:2523-2528.
- Lynch SR., Skikne BS., Cook JD. Food iron absorption in idiopathic iron absorption. *Gastroenterol* 1989; 57:117-125.
- Maes M., Bosmans E., Scharpé S., Hendriks D., Cooremans W., Neels H., De Meyer F., D'Hondt P., Peeters D. Components of biological variation in serum soluble transferrin receptor: relationships to serum iron, transferrin and ferritin concentrations, and immune and haematological variables. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57:31-41.
- MacKenzie EL., Ray PD., Tsuji Y. Role and regulation of ferritin H in rotenone mediated mitochondrial oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2008; 44:1762-1771.
- Magnusson B., Björn-Rasmussen E., Hallberg L., Rossander L. Iron absorption in relation to iron status. Model proposed to express results to food iron absorption measurements. *Scand J Haematol* 1981; 27:201-208.
- Makrides M., Leeson R., Gibson RA., Simmer K. A randomized controlled clinical trial of increased dietary iron in breast-fed infants. *J Pediatr* 1998; 133:556-562.
- Marković M., Majkić-Singh N., Ignjatović., Singh S. Reticulocyte haemoglobin content vs soluble transferrin receptor and ferritin index in iron deficiency

anaemia accompanied with inflammation. *Int J Lab hem* 2007; 29:341-346.

Martinez FE., Gonçalves AL., Jorge SM., Desai ID. Brief clinical and laboratory observations: vitamin E in placental blood and its interrelationship to maternal and newborn levels of vitamin E. *J Pediatr* 1981; 99:298-300.

Mason KE. The first two decades of vitamin E. *Fed Proc* 1977; 36:1906-1910.

Mathur ML. Role of vitamin A supplementation in the treatment of tuberculose. *Natl Med J India* 2007, 20:16-21.

Matta IEA., Veiga GV., Baião MR., Santos MMAS., Luiz RR. Anemia in children under five years old attended at public day care centers from Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Saude Materno Infantil* 2005; 5:349-357.

May WS., Cuatrecasas P. Transferrin receptor: its biological significance. *J Membrane Biol* 1985; 88:205-215.

Mccann JC., Ames BN. An overview of evidence for a causal relation between iron deficiency during development and deficits in cognitive or behavioral function. *Am J clin Nutr* 2007; 85:931-945.

McKie AT., Latunde-Dada GO., Miret S., McGregor JA., Anderson GJ., Vulpe CD., Wrigglesworth JM., Simpson RJ. Molecular evidence for the role of a ferric reductase in iron transport. *Biochem Soc Trans* 2002; 30:722-724.

McKie AT., Barrow D., Latunde-Dada GO., Rolfs A., Sager G., Mudaly E., Mudaly M., Richardson C., Barlow D., Bomford A., Peters TJ., Raja KB., Shirali S., Hediger MA., Farzaneh F., Simpson RJ. An Iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001; 291:1755-1759.

McKie AT., Marciani P., Rolfs A., Brennan K., Wehr K., Barrow D., Miret S., Bomford A., Peters TJ., Farzaneh F., Hediger MA., Hentze MW., Simpson RJ. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; 5:299-309.

Means AL., Gudas LJ. The roles of retinoids in vertebrate development. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 210-233.

Mejia LA., Chew F. Hematological effect of supplementing anaemic children with vitamin A alone and in combination with iron. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:595-600.

Milczarek R., Klimek J., Zelewski L. The effects of ascorbate and α -tocopherol on the NADPH-dependent lipid peroxidation in human placental mitochondria. *Mol Cell Biochem* 2000; 210:65-73.

Miller RE., Pastor-Barriuso R., Dalal D., Riemersma RA., Appel LJ., Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005; 142:37-46.

Miranda AS., Frances SCC., Priore SE., Euclides MP., Araújo RMA., Ribeiro SMR., Netto MP., Fonseca MM., Rocha DS., Silva DG., Lima NMM., Maffia UCC. Iron deficiency anemia and nutritional status of children aged 12 to 60 months in the city of Viçosa, MG, Brazil. *Rev Nutr* 2003; 16:163-169.

Monteiro CA., Conde WL. Secular trends in malnutrition and obesity among children in S Paulo city, Brazil (1974-1996). *Rev Saude Publica* 2000a; 34(suppl):S52-S61.

Monteiro CA; Szarfarc SC; Mondini L. Secular trends in child anemia in S. Paulo city, Brazil (1984-1996). *Rev. Saude Publica* 2000; 34(suppl): S62-S72.

Monteiro CA., Benício MHD. Melhoria em indicadores de saúde associados à pobreza no Brasil dos anos 90: descrição, causas e impacto sobre desigualdades regionais. São Paulo: NUPENS/USP, 1997.

Monteiro CA., Szarfarc SC. Estudo das condições de saúde das crianças no município de São Paulo. *Rev. Saude Publica* 1987; 21:255-260.

Montosi G., Donovan A., Totaro A., Garuti C., Pignatti E., Cassanelli S., Trenor CC., Gasparini P., Andrews NC., Pietrangelo A. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001; 108:619-623.

Morais MB., Alves GMS., Fagundes-Neto U. Nutritional status of Terena indian children from Mato Grosso do Sul, Brazil: follow up of weight and height and current prevalence of anemia. *J Pediatr (Rio J)* 2005; 81:383-389.

Muñoz C., Rios E., Olivos J., Brunser O., Olivares M. Iron, copper and immunocompetence. *Br J Nutr* 2007; 98(suppl):S24-S28.

Muslimatun S., Schmidt MK., Schultink W., Hautvast JG., Karyadi D. Weekly supplementation with iron and vitamin A during pregnancy increases hemoglobin concentration but decreases serum ferritin concentration in Indonesian pregnant women. *J Nutr* 2001; 131:85-90.

Mwanri L., Worsley A., Ryan P., Masika J. Supplemental vitamin A improves anemia and growth in anemic school children in Tanzania. *J Nutr* 2000; 130:2691-2696.

Nagoo A. Oxidative Conversion of Carotenoids to Retinoids and Other Products. *J Nutr* 2004; 134(suppl):S237-S240.

Nelson N. Metal ion transporters and homeostasis. *EMBO J* 1999; 18:4361-4371.

Nemeth E., Valore EV., Territo M., Schiller G., Lichtenstein A., Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*

2003; 101:2461-2463.

Neuman NA., Tanaka OY., Szarfacs SC., Guimarães PRV., Victora CG. Prevalence and risk factors for iron deficiency in Southern Brazil. *Rev Saúde Pública* 2000; 34:56-63.

Neves MB., Silva EMK., Morais MBM. Prevalence and factors associated with iron deficiency in infants treated at a primary care center in Belém, Pará, Brazil. *Cad. Saude Publica* 2005; 21:1911-1918.

Nga TT., Winichagoon P., Dijkhuizen MA., Khan NC., Wasantwisut E., Furr H., Wieringa FT. Multi-micronutrient-fortified biscuits decreased prevalence of anemia and improved micronutrient status and effectiveness of deworming in rural vietnamese school children. *J Nutr* 2009; 139:1013-1021.

Nicolas G., Viatte L., Lou DQ., Bennoun M., Beaumont C., Kahn A., Andrews NC., Vaulont S. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 34:97-101.

Nicolas G., Bennoun M., Porteu A., Mativet S., Beaumont C., Grandchamp B., Sirito M., Sawadogo M., Kahn A., Vaulont S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002a; 99:4596-4601.

Nicolas G., Chauvet C., Viatte L., Danan JL., Bigard X., Devaux I., Beaumont C., Kahn A., Vaulont S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002b; 110:1037-1044.

Nicolas G., Myriam B., Devaux I., Beaumont C., Grandchamp B., Kahn A., Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (*USF2*) knockout mice. *PNAS* 2001; 98:8780-8785.

Ninh NX., Berger J., Quyen DT., Khan NC., Traissac P., Khoi HH. Efficacité de la supplémentation en fer quotidienne et hebdomadaire pour le contrôle de l'anémie chez le nourrisson en milieu rural au Vietnam. *Cahiers Santé* 2002; 12:31-37.

Nogueira-Almeida CA., Ricco RG., Del Ciampo LA., Souza AM., Dutra-Oliveira JE. Growth and hematological studies on Brazilian children of low socioeconomic level. *Arch Latinoam Nutr* 2001; 51:230-235.

Oliveira MAA., Osório MM., Raposo MCF. Socioeconomic and dietary risk factors for anemia in children aged 6 to 59 months. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83:39-46.

Oliveira MAA., Osório MM., Raposo MCF. Hemoglobin level and anemia in children in the State of Pernambuco, Brazil: association with socioeconomic and food consumption factors. *Cad Saude Publica* 2006; 22:2169-2178.

Oliveira RS., Diniz AS., Benigna MJC., Miranda-Silva SM., Lola MM., Gonçalves MC., Ascitti-Moura L., Rivera MA., Santos LMP. Magnitude, geographic

distribution and trends of anemia in preschoolers, Brazil. *Rev Saude Publica* 2002; 36:26-32.

Olivares M., Araya M., Pizarro F., Letelier A. Erythrocyte CuZn superoxide dismutase activity is decreased in iron-deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 2006; 112:213-220.

Omar S., Feki M., Kaabachi N. Le métabolisme du fer: revue générale et récents développements. *Ann Biol Clin* 2006; 64:523-534.

Ong DE. Retinoid metabolism during intestinal absorption. *J Nutr* 1993; 123:351-355.

Olson J. Vitamin A. *In: Machlin C, ed. Handbook of vitamins*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Inc, 1991: 1-57.

Oppenheimer S. Comments on background papers related to iron, folic acid, malaria and other infections. *Food Nutr Bull* 2007; 28(suppl):S550-S559.

Orellana JDY., Coimbra-Jr CEA., Lourenço AEP., Santos RV. Nutritional status and anemia in Suruí Indian, Brazilian Amazon. *J Pediat (Rio J)* 2006; 82:383-388.

Organização Mundial de Saúde (**OMS**). Medición del efecto de programas de suplementación alimentaria a grupos vulnerables. Ginebra, 1980. p. 87-88.

Osler M., Milman N., Heitmann BL. Dietary and non-dietary factors associated with iron status in a cohort of Danish adults followed for six years. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52:459-463.

Osório MM., Lira PIC., Ashworth A. Factors associated with Hb concentration in children aged 6-59 months in the State of Pernambuco, Brazil. *Brit J Nutr* 2004; 91:307-314.

Osório MM., Lira PI., Batista-Filho M., Ashworth A. Prevalence of anemia in children 6-59 months old in the state of Pernambuco, Brazil. *Rev Panamericana Salud Publica* 2001; 10:101-107.

Ouahchi K., Arita M., Kayden H., hentati F., Ben Hamida M., Sokol R., Arai H., Inoue K., Mandel JL., Koenig M. Ataxia with isolated vitamin E deficiency is caused by mutations in the α -tocopherol transfer protein. *Nat Gen* 1995; 9:141-145.

Packer JE., Slater TF., Willson RL. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* 1979; 278:737-738.

Paiva AA., Rondó PHC., Guerra-Shinohara EM. Parameters for the assessment of iron status. *Rev. Saude Publica* 2000; 34:421-426.

Pantopoulos K. Iron metabolism and the IRE/IRP regulatory system: an update.

Ann NY Acad Sci 2004; 1012:1-13.

Papanikolaou G., Chandrinou H., Bouzas E., Contopoulos-Ioannidis D., Kalotychnou V., Prentzas K., Lilakos K., Asproudis I., Palaiologou D., Premetis E., Papassotiriou I., Sakellaropoulos N. Hereditary hyperferritinemia cataract syndrome in three unrelated families of western Greek origin caused by the C39 > G mutation of L-ferritin IRE. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36:33-40.

Parker RS. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB J* 1996; 10:542-551.

Peirano PD., Algarin CR., Chamorro R., Reyes S., Garrido MI., Duran S., Lozoff B. Sleep and neurofunctions throughout child development: lasting effects of early iron deficiency. *J Pediatric Gastroent Nutr* 2009; 48(suppl):S8-S15.

Pereira RC., Ferreira LOC., Diniz AS., Batista Filho M., Figueirôa JN. Efficacy of iron supplementation with or without vitamin A for anemia control. *Cad Saude Publica* 2007; 23:1415-1421.

Peter F., Wang S. Serum Iron and Total Iron-Binding Capacity Compared with Serum Ferritin in Assessment of Iron Deficiency. *Clin Chem* 1981; 27:276-279.

Phelps, DL. Current perspectives on vitamin-E in infant nutrition. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:187-191.

Pietrangelo A. Iron chelation beyond transfusion iron overload. *Am J Hematol* 2007; 82(suppl):S1142-S1146.

Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350:2383-2397.

Pighetti GM., Eskew ML., Reddy CC., Sordillo LM. Selenium and vitamin E deficiency impair transferrin receptor internalization but not IL-2, IL-2 receptor or transferrin receptor expression. *J Leukoc Biol* 1998; 63:131-137.

Pollitt E. The developmental and probabilistic nature of the functional consequences of iron-deficiency anemia in children. *J Nutr* 2001; 131(suppl):S669-S675.

Pollitt E. Functional significance of the covariance between protein energy malnutrition and iron deficiency anemia. *J Nutr* 1995; 125(suppl):S2272-S2277.

Ponka P. Cellular iron metabolism. *Kindney Int Suppl* 1999; 69(suppl):S2-S11.

Ponka P., Beaumont C., Richardson DR. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Semin Hematol* 1998; 35:35-54.

Powell LW. HFE genotype in patients with hemochromatosis and other liver diseases. *Ann Intern Med* 2000; 132:245-246.

Preziosi P., Prual A., Galan P., Daruda H., Boureima H., Hercberg S. Effect of iron supplementation on the iron status of pregnant women: Consequences for newborns. *Am J Clin Nutr* 1997; 66:1178-1182.

Programa das Nações Unidas para o desenvolvimento – PNUD. Ranking do IDH.2009. Cette page est rendue à l'adress suivante:

http://www.pnud.org.br/pobreza_desigualdade/rcportagens/index.php?id01=3324&lay=pde, 12 février 2010.

Punnonen K., Irjala K., Rajamäki A. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 1997; 89:1052-1057.

Raghuveer TS., Buettner GR. Iron supplements and oxidative stress in very low birth weight infants. *J Pediatr* 2008; 152:890-891.

Ramakrishnan U., Yip R. Experiences and challenges in industrialized countries: control of iron deficiency in industrialized countries. *J Nutr* 2002; 132(suppl): S820-S824.

Ramalingam TS., West Jr AP., Lebrón JA., Nangiana JS., Hogan TH., Enns CA., Bjorkman PJ. Binding to the transferrin receptor is required for endocytosis of HFE and regulation of iron homeostasis. *Nat Cell Biol* 2000; 2:953-957.

Reboul E., Klein A., Bietrix F., Gleize B., Malezet-Desmoulins C., Schneider M., Margotat A., Lagrost L., Collet X., Borel P. Scavenger receptor class B type I (SR-BI) is involved in vitamin E transport across the enterocyte. *J Biol Chem* 2006; 281:4739-4535.

Reboul E., Abou L., Mikail C., Ghiringhelli O., André M., Portugal H., Jourdhail-rahmani D., Amiot MJ., Lairon D., Borel. Lutein transport by Caco-2 TC-7 cells occurs partly by a facilitated process involving the scavenger receptor class B type I (SR-BI). *Biochem J* 2005; 387:455-461.

Reboul E., Abou L., Mikail C., Ghiringhelli O., André M., Gleize B., Kaloustian J., Portugal H., Amiot M., Borel P. Lutein is apparently absorbed by a carrier-mediated transport process in Caco-2 cells. *Clin Nutr* 2003; 22(suppl):S103.

Reeves JD., Yip R., Kiley VA., Dallman PR. Iron deficiency in infants: the influence of mild antecedent infection. *J Pediatr* 1984; 105:874-879.

Ricciarelli R., Argellati F., Pronzato MA., Domenicotti C. Vitamin E and neurodegenerative diseases. *Mol Aspects Med* 2007; 28:591-606.

Rich GT., Fillery -Travis A., Parker ML. Low pH enhances the transfer of carotene from carrot juice to olive oil. *Lipids* 1998; 33:985-992.

Rigotti A. Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. *Mol Aspects Med*

2007; 28:423-436.

Rino Y., Suzuki Y., Kuroiwa Y., Yukawa N., Saeki H., Kanari M., Wada H., Ino H., Takanashi Y., Imada T. Vitamin E malabsorption and neurological consequences after gastrectomy for gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2007; 54:1858-1861.

Rocha DS., Lamounier JA., Capanema FD., Franceschini SCC., Norton RC., Costa ABP., Rodrigues MTG., Carvalho MR., Chaves TS. Nutritional status and anemia prevalence in children enrolled at day care centers in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev Paul Pediatr* 2008; 26:6-13.

Roche M., Layrisse M. The nature and causes of hookworm. *Am J Trop Med* 1966; 15:1031-1100.

Rodrigues CR., Motta SS., Cordeiro AA., Lacerda EM., Reichenheim ME. Prevalence of iron deficiency anemia and risk indicators in children from 12 to 18 months attended at the outpatient clinic of Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira. *J Pediatr (Rio J)* 1997; 73:189-194.

Rodríguez-Morales AJ., Sánchez E., Arria M., Vargas M., Piccolo C., Colina R., Franco-Paredes C. Haemoglobin and haematocrit: the threefold conversion is also non valid for assessing anaemia in *Plasmodium vivax* malaria-endemic settings. *Malar J* 2007; 17:166-170.

Roetto A., Papanikolaou G., Politou M., Alberti F., Girelli D., Christakis J., Loukopoulos D., Camaschella C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 33:21-22.

Romaña GL., Cusirramos S., Romaña DL., Gross R. Efficacy of multiple micronutrient supplementation for improving anemia, micronutrient status, growth, and morbidity of peruvian infants. *J Nutr* 2005; 135(suppl):S646-S652.

Romani SMA., Lira PIC. Fatores determinantes do crescimento infantil. *Rev Brasil Saúde Mater Infant* 2004; 4:15-23.

Rose CS., György P. Specificity of hemolytic reaction in vitamin E-deficient erythrocytes. *Am J Physiol* 1952; 168:414-420.

Rouault TA. The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease. *Nature Chem Biol* 2006; 2:406-414.

Santos CD., Santos LMP., Figueiroa JN., Marroquim PMG., Oliveira MAA. Anemia in public school first graders in the city of Maceió, Alagoas, Brazil. *Cad Saude Publica* 2002; 18:1757-1763.

Santos I., César JA., Minten G., Valle N., Neumann NA., Cercato E. Prevalence of anemia and associated factors among children under six years of age in Pelotas, South Brazil. *Rev Bras Epidemiol* 2004; 7:403-415.

Sato Y., Hagiwara K., Arai H., Inoue K. Purification and characterization of the a-tocopherol transfer protein from rat liver. *FEBS* 1991; 288:41-45.

Scholl TO., Hediger ML. Anemia and iron-deficiency anemia: compilation of data on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(suppl): S492-S501.

Scholl TO., Hediger ML., Fischer RL., Shearer JW. Anemia vs iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:985-988.

Sejas E., Kolsteren P., Hoeree T., Roberfroid D. Iron supplementation in previously anemic bolivian children normalized hematologic parameters, but not immunologic parameters. *J Trop Pediatr* 2008; 54:164-168.

Semba RD., Muhilal., Scott AL., Natadisastra G., Wirasasmita S., Mele L., Ridwan E., West KP Jr., Sommer A. Depressed immune response to tetanus in children with vitamin A deficiency. *J Nutr* 1992; 122:101-107.

Schultink W., Gross R., Gliwitzki M., Karyadi D., Matulessi P. Effect of daily vs twice weekly iron supplementation in Indonesian preschool children with low iron status. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:111-115.

Shayeghi M., Latunde-Dada GO., Oakhill JS., Laftah AH., Takeuchi K., Halliday N., Khan Y., Warley A., McCann FE., Hider RC., Frazer DM., Anderson GJ., Vulpe CD., Simpson RJ., McKie AT. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005; 122:789-801.

Sheridan PA., Beck MA. The immune response to herpes simplex virus encephalitis in mice is modulated by dietary vitamin E. *J Nutr* 2008; 138:130-137.

Sheth S., Brittenham MG. Genetic disorders affecting proteins of iron metabolism : clinical implications. *Ann Rev Med* 2000; 51:443-464.

Shibukawa AF., Silva EMK., Ichiki WA., Strufaldi MWL., Puccini RF. Prophylaxis for iron deficiency anemia using ferrous sulfate among infants followed up at a primary healthcare unit in the municipality of Embu-SP. *São Paulo Med J* 2008; 126:96-101.

Sichieri R., Szarfarc SC., Monteiro CA. Relação entre dieta e ocorrência de anemia ferropriva em crianças. *J Pediatr (Rio J)* 1988; 64:169-174.

Siegel RM., LaGrone DH. The use of zinc protoporphyrin in screening yang children for iron deficiency. *Clin Pediatr* 1994; 33:473-478.

Sies H., Stahl W., Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins (vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids). *Ann NY Acad Sci* 1992; 669:7-20.

Sigulem DM., Tudisco ES., Paiva ER., Querra CCC. Anemia nutricional e parasitose intestinal em menores de 5 anos. *Rev Paul Med* 1985; 103:308-312.

Signorini C., Perrone S., Sgherri C., Ciccoli L., Buonocore G., Leoncini S., Rossi V., Vecchio D., Comporti M. Plasma esterified F2-isoprostanes and oxidative stress in newborns : role of nonprotein-bound iron. *Pediatr Res* 2008; 63:287-291.

Silva DG., Priore SE., Franceschini SCC. Risk factors for anemia in infants assisted by public health services: the importance of feeding practices and iron supplementation. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83:149-156.

Silva LSM., Giugliani ERJ., Aerts DRGC. Prevalence and risk factors for anemia among children in Brazil. *Rev. Saude Publica* 2001; 35:66-73.

Silva MV., Ometto AMH., Furtuoso MCO., Pipitone MAP., Sturion GL. Access to day-care centers and the nutritional status of brazilian children: regional differences by age group and income class. *Rev Nutr (Campinas)* 2000; 13:193-199.

Simões MCC., Moura EC., Sgarbieri VC., Figueiredo DB. Evaluating the impact of a hematinic iron-rich nutritional supplement. *Cad Saude Pública* 1999; 15:871-881.

Smuts CM., Lombard CJ., Benadé AJS., Dhansay MA., Berger J., Hop LT., Romañá GL., Untoro J., Karyadi E., Erhardt J., Rainer Gross R. Efficacy of a foodlet-based multiple micronutrient supplement for preventing growth faltering, anemia, and micronutrient deficiency of infants: the four country IRIS trial pooled data analysis. *J Nutr* 2005; 135(suppl):S631-S638.

Skikne BS., Flowers CH., Cook JD. Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990; 75:1870-1876.

Soares NT., Guimarães ARP., Sampaio HAC., Almeida PC., Coelho RR. Nutritional status of infants in slum áreas of Fortaleza, Brazil. *Rev Nutr (Campinas)* 2000; 13:99-106.

Soekarjo DD., Pee S., Kusin JA., Schreurs WHP., Schultink W., Muhilal., Bloem MW. Effectiveness of weekly vitamin A (10,000 IU) and iron (60 mg) supplementation for adolescent boys and girls through schools in rural and urban East Java, Indonesia. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58:927-937.

Sola A., Rogido M. Iron, oxidant injury, and practice choices in preterm infants. *J Pediatr* 2008; 152:295-296.

Sommer A. Uses and misuses of vitamin A. *Curr Issues Public Health* 1996; 2:161-164.

Sommer A., Tarwotjo I., Djunaedi E. Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality. *Lancet* 1986; 1:1169-1173.

Sonn GA., Aronson W., Litwin MS. Impact of diet on prostate cancer: a review. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2005; 8:304-310.

Souza AI, Batista Filho M. Diagnóstico e tratamento das anemias carenciais na

gestação: consensos e controvérsias. *Rev Bras Saúde Matern Infant* 2003; 3:473-479.

Spinelli MGN., Marchioni DML., Souza JMP., Souza SB., Szarfarc SC. Fatores de risco para anemia em crianças de 6 a 12 meses no Brasil. *Rev Panam Salud Publica* 2005; 17:84-91.

Stahl W., Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes* 1997; 46(suppl): S14-S18.

Swanson JE., Ben RN., Burton GW., Parker RS. Urinary excretion of 2,7,8-trimethyl-2-(beta-carboxyethyl)-6-hydroxychroman is a major route of elimination of γ -tocopherol in humans. *J Lipid Res* 1999; 40:665-671.

Suominen P., Punnonen K., Rajamäki A., Irjala K. Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood* 1998; 92:2934-2939.

Tamura T., Goldenberg RL., Hou J., Johnston KE., Cliver SP., Ramey SL., Nelson KG. Cord serum ferritin concentrations and mental and psychomotor development of children at five years of age. *J Pediatr* 2002; 140:165-170.

Tang XH., Suh MJ., Li R., Gudas LJ. Cell proliferation inhibition and alterations in retinol esterification induced by phytanic acid and docosahexaenoic acid. *J Lipid Res* 2007; 48:165-176.

Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J Nutr* 2004; 134(suppl):S290-S293.

Tappel AL., Brown WD., Zalkin H., Maier VP. Unsaturated lipid peroxidation catalyzed by hemein compounds and its inhibition by vitamin E. *J Am Oil Chem Soc* 1961; 38:5-9.

Torres MAA., Braga JAP., Taddei JAAC., Nóbrega FJ. Anemia in low-income exclusively breastfed infants. *J Pediatr (Rio J)* 2006; 82:284-288.

Torres MAA., Lobo NF., Sato K., Queiroz SS. Fortification of fluid milk for the prevention and treatment of iron deficiency anemia in children under 4 years of age. *Rev Saude Publica* 1996; 30:350-357.

Torres MAA., Sato K., Queiroz SS. Anemia em crianças menores de dois anos atendidas nas Unidades Básicas de Saúde no Estado de São Paulo. *Rev Saude Publica* 1994; 28:290-294.

Thomas C., Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chemistry* 2002; 48:1066-1076.

Thomas SR., Neuzil J., Mohr D., Stocker R. Coantioxidants make α -tocopherol an efficient antioxidant for low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1995; 62(suppl):

S1357-S1364.

Thorstensen K., Romslo I. The role of transferrin in the mechanism of cellular iron uptake. *Biochem J* 1990; 271:1-10.

Thurnham DI., Davies JA., Crump BJ., Situnayake RD., Davis M. The use of different lipids to express serum tocopherol: lipid ratios for the measurement of vitamin E status. *Ann Clin Biochem* 1986; 23:514-520.

Traber MG. Vitamin E Regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr* 2007a; 27:347-362.

Traber MG., Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007; 43:4-15.

Traber MG., Jialal I. Measurement of lipid-soluble vitamins—further adjustment needed? *Lancet* 2000; 355:2013-2014.

Traber MG., Rader D., Acuff RV., Ramakrishnan R., Brewer HB., Kayden HJ. Vitamin E dose-response studies in humans with use of deuterated *RRR*- α -tocopherol. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:847-853.

Traber MG., Burton GW., Ingold KU., Kayden HJ. *RRR*- and *SRR*- α -tocopherols are secreted without discrimination in human chylomicrons, but *RRR*- α -tocopherol is preferentially secreted in very low density lipoproteins. *J Lipid Res* 1990a; 31:675-685.

Traber MG., Sokol RJ., Burton GW., Ingold KU., Papas AM., Huffaker JE., Kayden HJ. Impaired ability of patients with familial isolated vitamin E deficiency to incorporate α -tocopherol into lipoproteins secreted by the liver. *J Clin Invest* 1990b; 85:397-407.

Traber MG., Olivecrona T., Kayden HJ. Bovine milk lipoprotein lipase transfers tocopherol to human fibroblasts during triglyceride hydrolysis in vitro. *J Clin Invest* 1985; 75:1729-1734.

Trowbridge IS., Newman RA., Domingo DL., Sauvage C. Transferrin receptors: structure and function. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 925-932.

Turgut M., Basaran O., Cekmen M., Karatas F., Kurt A., Aygun AD. Oxidant and antioxidant levels in preterm newborns with idiopathic hyperbilirubinaemia. *J Paediatr Child Health* 2004; 40:633-637.

Tyssandier V., Reboul E., Dumas JF., Bouteloup-Demange C., Armand M., Marcand J., Sallas M., Borel. Processing of vegetable-borne carotenoids in the human stomach and duodenum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284:913-923.

Tyssandier V., Choubert G., Grolier P., Borel P. Carotenoids, mostly the xanthophylls, exchange between plasma lipoproteins. *Int J Vitam Nutr Res* 2002;

72: 300-308.

Uchimura TT., Szarfarc SC., Latorre MRDO., Uchimura NS., Souza SB. Anemia e peso ao nascer. *Rev Saude Publica* 2003; 37:397-403.

UNICEF/WHO. Prevention and control of iron deficiency anaemia in women and children. Geneva:UNICEF/WHO; 1999.

Untoro J., Karyadi E., Wibowo L., Erhardt MW., Gross R. Multiple micronutrient supplements improve micronutrient status and anemia but not growth and morbidity of Indonesian Infants: a randomized, double-Blind, placebo-controlled trial. *J Nutr* 2005; 135(suppl):S639S-S645.

Valko M., Rhodes CJ., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160:1-40.
van den Broek NR., Letsky EA., White AS., Shenkin A. Iron status in pregnant women: which measurement are valid? *Br J Haematol* 1998; 103:817-824.

van het Hof KH., Brouwer IA., West CE., Haddeman E., Steegers-Theunissen RP., van Dusseldorp M., Weststrate JA., Eskes TK., Hautvast JG. Bioavailability of lutein from vegetables is 5 times higher than that of beta-carotene. *Am J Clin Nutr* 1999; 70:261-268.

Vanderjagt DJ., Glew RH., Bizzozero OA., Saha AK., Omene JA. Altered fatty acid composition of serum phospholipids in protein-malnourished Nigerian children. *Nutr Res* 1996; 16:1307-1312.

Varma JV., Das S., Sankar R., Mannar MG., Levinson FL., Hamer DH. Community-level micronutrient fortification of a food supplement in India: a controlled trial in preschool children aged 36-66 mo. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1127-1133.

Vendt N., Talvik T., Leedo S., Tomberg K., Kool P., Tillmann V., Grünberg H. The reference limits and cut-off value for serum soluble transferrin receptors for diagnosing iron deficiency in infants. *Int J Lab Hematol* 2009; 31:440-446.

Vendt N., Talvik T., Kool P., Leedo S., Tomberg K., Tillmann V., Grünberg H. Reference and cut-off values for serum ferritin, mean cell volume, and hemoglobin to diagnose iron deficiency in infants aged 9 to 12 months. *Medicin* 2007; 43:698-702.

Vermlyen C. What is new in iron overload? *Eur J Pediatr* 2008; 167:377-381.

Vernet M. Le récepteur de la transferrine: rôle dans le métabolisme du fer et intérêt en biologie clinique. *Ann Biol Clin* 1999; 57:9-18.

Vieira ACF., Diniz AS., Cabral PC., Oliveira RS., Lola MM., Silva SMM., Kolsteren P. Nutritional assessment of status and anemia in children under 5 years old at public daycare centers. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83:370-376.

- Villamor E., Mbise R., Spiegelman D., Hertzmark E., Fataki M., Peterson KE., Ndossi G., Fawzi WW. Vitamin A supplements ameliorate the adverse effect of HIV-1, malaria, and diarrhea infections on child growth. *Pediatrics* 2002; 109:E6.
- Vitolo MR., Bortolini GA. Iron bioavailability as a protective factor against anemia among children aged 12 to 16 months. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83:33-38.
- Vogelsang A., Shute E.V. Effect of Vitamin E in coronary heart disease. *Nature* 1946; 157:772.
- Von Lintig J., Hessel S., Isken A., Kiefer C., Lampert JM., Voolstra O., Vogt K. Towards a better understanding of carotenoid metabolism in animals. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1740:122-131.
- Vulpe CD., Kuo YM., Murphy TL., Cowley L., Askwith C., Libina N., Gitschier J., Anderson GJ. Hephhaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* 1999; 21:195-199.
- Walker SP., Wachs TD., Gardner JM., Lozoff B., Wasserman GA., Pollitt E., Carter JA., International Child Development Steering Group. Child development: risk factors for adverse outcomes in developing countries. *Lancet* 2007; 369:145-157.
- Walter T., Olivares M., Pizarro F., Munoz C. Iron, anemia, and infection. *Nutr Rev* 1997; 55:111-124.
- Walter T., De Andraca I., Chadud P., Perales CG. Iron deficiency anemia: adverse effects on infant psychomotor development. *Pediatrics* 1989; 84:7-817.
- Waterlow JC., Schürch B. Causes and mechanisms of linear growth retardation. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48 (suppl.): S216.
- Weinstein SJ., Wright ME., Lawson KA., Snyder K., Männistö S., Taylor PR., Virtamo J., Albanes D. Serum and dietary vitamin E in relation to prostate cancer risk. *Canc Epidem Biom Prev* 2007; 16:1253-1259.
- West CE., Ellander A., Lieshout Mv. Consequences of revised estimates of carotenoid bioefficacy for dietary control of vitamin A deficiency in developing countries. *J Nutr* 2002; 132(suppl):S2920-S2926.
- Wieringa FT., Berger J., Dijkhuizen MA., Hidayat A., Ninh NX., Utomo B., Wasantwisut E., Winichagoon P. Sex differences in prevalence of anaemia and iron deficiency in infancy in a large multi-country trial in South-East Asia. *Br J Nutr* 2007; 98:1070-1076.
- Wijaya-Erhardt M., Erhardt JG., Untoro J., Karyadi E., Wibowo L., Gross R. Effect of daily or weekly multiple-micronutrient and iron foodlike tablets on body iron stores of Indonesian infants aged 6-12 mo: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 86:1680-1686.

Wintrobe MM., Lukens JN., Lee GR. The approach to the patient with anemia. *In: Lee GR et al. Wintrobe's Clinical Hematology*. 9. ed. London: Lea et Febinger, 1993. p. 715-744.

Wolf G. The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill. *J Nutr* 2005; 135:363-366.

World Health Organization (**WHO**) Anthro-2005 software module "Nutritional survey" enables analysis of existing data sets. 2006 (OMS; <http://www.who.int/childgrowth/software/en/>, e a análise estatística com o SPSS, versão 12 (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos).

World Health Organization /Center for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the Assessment of status at the Population Level- (WHO/CDC). Geneva, WHO, 2004.

World Health Organization (**WHO**). Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Genebra. WHO 1996.

World Health Organization (**WHO**). Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention and control. A guide for program managers. Genebra: WHO, 2001.

Wyss A. Carotene Oxygenases: A New Family of Double Bond Cleavage Enzymes. *J Nutr* 2004; 134(suppl):S246-S250.

Wyss R. Chromatographic and electrophoretic analysis of biomedical important retinoids. *J Chromatogr B Biomed App* 1995; 671:381-425.

Yamanishi H., Iyama S., Yamaguchi Y., Kanakura Y., Iwatani Y. Total Iron-binding Capacity Calculated from Serum Transferrin Concentration or Serum Iron Concentration and Unsaturated Iron-binding Capacity. *Clin Chem* 2003; 49:175-178.

Yeum KJ., Russell RM. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Ann Rev Nutr* 2002; 22:483-504.

Yoshida Y., Saito Y., Jones LS., Shigeri Y. Chemical reactivities and physiological significance and prospects as antioxidants. *J Biosci Bioeng* 2007; 104:439-445.

Zhai H., Behnam S., Villarama CD., Arens-Corell M., Choi MJ., Maibach HI. Evaluation of the antioxidant capacity and preventive effects of a topical emulsion and its vehicle control on the skin response to UV exposure. *Skin Pharmacol Physiol* 2005; 18:288-293.

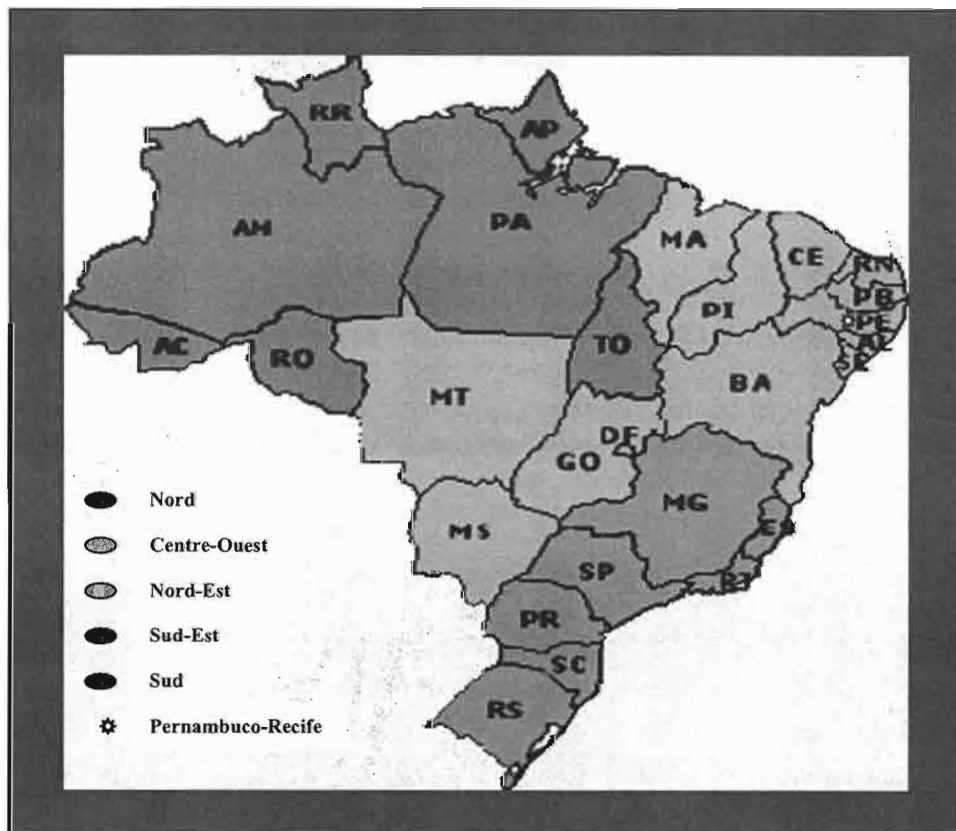
Zimmermann MB., Hurrell RF. Nutritional iron deficiency. *Lancet* 2007; 370:511-520.

Zingg JM. Vitamin E: An overview of major research directions. *Mol Asp Med* 2007; 28:400-422.

Zipursky A. Vitamin E deficiency anemia in newborn infants. *Clin Perinatol.* 1984; 11: 393-402.

ANNEXES

Carte du Brésil



PROJET SANTÉ ET NUTRITION INFANTILE
CARACTÉRISTIQUES DES ENFANTS/RECRUTAMENT

SECTION I : IDENTIFICATION	
01	N° de l'enfant: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
02	Nom de la mère: _____ _____
03	Semaine N° <input type="text"/> <input type="text"/>
04	Résidence : _____ _____
05	Date : Jour Mois Année <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
SECTION II – DONNÉES DES ENFANTS/RECRUTAMENT	
1. Vous habitez à Recife a) Oui b) Non (99) Ne sait pas	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
2. Vous prétendez habiter dans cette ville dans les 6 prochains mois? a) Oui b) Non (99) Ne sait pas	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
CARACTÉRISTIQUE DE L'ENFANT	
3. Sexe a) Masculin b) Féminin	<input type="checkbox"/>
4. Date de naissance	Jour Mois Année <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
5. Poids à la naissance	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
6. Type d'accouchement a) Vaginal b) Césarienne	<input type="checkbox"/>

Signature de l'enquêteur : _____

Date: / /

PROJET SANTÉ ET NUTRITION INFANTILE

QUESTIONNAIRE DE LA SITUATION SOCIO-ÉCONOMIQUE et DEMOGRAPHIQUE

01		N° de l'enfant: □□□□□
02	Nom de la mère: _____ _____	
SECTION I – DONNÉES DÉMOGRAPHIQUES		
03	Depuis combien de temps vivez-vous à Recife ? (1) Moins d'un an (3) 6-10 ans (2) 1-5 ans (4) Plus de 10 ans (8) Vous avez toujours habité à Recife (9) Ne sait pas	<input type="checkbox"/>
SECTION II – DONNÉES SOCIO-ÉCONOMIQUES		
A. QUESTIONS SUR L'ÉDUCATION		
04	Pouvez-vous lire une lettre ou revue? (1) Facilement (2) Difficilement (3) Non	<input type="checkbox"/>
05	Quelle a été la dernière classe que vous avez suivie à l'école? (1) Primaire 1 2 3 4 (2) Collège 1 2 3 4 (3) Lycée 1 2 3 (4) Université 1 2 3 4 5 6 (88) N'est jamais allé à l'école (99) Ne sait pas	□□
06	Le père de votre enfant peut lire une lettre ou une revue? (1) Facilement (2) Difficilement (3) Non	<input type="checkbox"/>
07	Quelle a été la dernière classe que il a suivie à l'école? (1) Primaire 1 2 3 4 (2) Collège 1 2 3 4 (3) Lycée 1 2 3 (4) Université 1 2 3 4 5 6 (88) N'est jamais allé à l'école (99) Ne sait pas	□□

B. QUESTIONS SUR LES MEMBRES ET SUR LE REVENU DE LA FAMILLE		
08	Êtes-vous en train de vivre avec le père de cet enfant? (1) Oui (2) Non	<input type="checkbox"/>
09	Combien de personnes habitent avec vous ? Total: (y compris vous-même mais sans compter le nouveau-né) Nombre d'enfant de mois de 5 ans (sans compter le nouveau-né)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="checkbox"/>
10	Le mois dernier, combien a gagné chaque personne qui habite chez vous et travaille ou est retraité/ou a une pension? 1 ^{ère} personne: R \$ -----/mois 2 ^{ème} personne: R \$ -----/mois 3 ^{ème} personne: R \$ -----/mois Total R \$ -----/mois (00000) Sans revenu (99999) Ne sait pas	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

C. QUESTIONS SUR L'HABITATION ET L'ASSAINISSEMENT		
11	Régime d'occupation de la résidence: (1) Propriétaire (4) Envahie (2) Louée (5) Autre: _____ (3) Cédée	<input type="checkbox"/>
12	Combien de pièces avez-vous dans votre maison? Nombre de pièces: (inclus la cuisine et la salle de bains)	<input type="text"/> <input type="text"/>
13	Avec quel matériau, les murs de votre maison ont-ils été fabriqués? (1) Brique (3) Bois, cartons, laiton (2) Torhis (4) Autre: _____	<input type="checkbox"/>
14	Avec quel matériau le sol de votre a-t-il été réalisé? (1) Céramique (4) Bois (2) Ciment/granit (5) Autre: _____ (3) Terre (argile)	<input type="checkbox"/>
15	Avec quel matériau le toit de votre maison a-t-il été fabriqué? (1) Dalle en béton (3) Tuile en fibrociment (2) Tuile en argile (4) Autre: _____	<input type="checkbox"/>

16	D'où vient l'eau que vous utilisez à la maison? Avec une canalisation interne Sans une canalisation interne (1) Réseau général (5) Réseau général (2) Puit ou source (6) Puit ou source (3) Poste public (7) Poste public (4) Autre _____ (8) Autre: _____	<input type="checkbox"/>
17	Comment sont les toilettes de votre maison? (1) Avec chasse-d'eau (2) Sans chasse-d'eau (3) Il n'y en pas	<input type="checkbox"/>
18	La destination des ordures (1) Collete directe (4) Brulés (2) Collete indirecte (5) Dépoés dans des terrains vagues (3) Enterrés (6) Autre	<input type="checkbox"/>
19	Votre maison a l'électricité? (1) Oui (2) Non	<input type="checkbox"/>
20	Vous avez quelque uns de ces appareils à la maison? Réfrigérateur (1) Oui (2) Non Radio (1) Oui (2) Non Magnétophone (1) Oui (2) Non Télévision (1) Oui (2) Non Cuisinière à gaz (1) Oui (2) Non	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
21	Responsable de l'interview: _____	
22	Observations: _____ _____ -	

Signature de l'enquêteur: _____

Date: / /

**PROJET SANTÉ ET ANEMIA
DONNÉES D'ALLAITEMENT MATERNELLE**

SECTION I : IDENTIFICATION	
01	N° de l'enfant: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
02	Nom de la mère: _____ _____
03	Semaine N° <input type="text"/><input type="text"/>
04	Résidence : _____ _____
05	Date : Jour Mois Année <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

SECTION II – DONNÉES D'ALLAITEMENT MATERNELLE	
1. L'enfant est allaité encore a) Oui b) Non (99) Ne sait pas	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
2. Si oui: l'enfant boit de l'eau, thé ou jus a) L'eau b) Thé c) Jus d) Autre Aliment e) Nourri au sein, exclusivement (99) Ne sait pas	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3. Se non: combien de temps l'enfant nourri au sein. a) Mois (99) Ne sait pas	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Signature de l'enquêteur: _____

**PROJET SANTÉ ET NUTRITION INFANTILE
QUESTIONNAIRE: CONTRÔLE DE LAS MANIFESTATIONS SECONDAIRES**

NOM ET PRENOM DE ENFANT: _____

NOM ET PRENOM DE LA MERE: _____

Âge: mois

DATE AU OUVERTURE:

DATE DE FIN:

	1 ^{er} . SEMAINE					2 ^e . SEMAINE					3 ^e . SEMAINE					4 ^e . SEMAINE				
	M	M	J	V	S	M	M	J	V	S	M	M	J	V	S	M	M	J	V	S
01. Diarrhée																				
02. Constipation																				
03. Douleur Épigastrique																				
04. Nausées																				
05. Vomissements																				
06. Anorexie																				
07. Toux																				
08. Fatigue																				
09. Fièvre																				
10. Taches foncées aux dents																				
11. Fèces foncées																				
12. Hospitalisation																				
13. Adm. supplément																				
14. Assist. de recherche																				

15. D'autres maladies: _____

16. Observation: _____

17. Recherche: _____

Atend. Médical (15):

- Critères: - Diarrhée + vomissement au moins les dernières 24 heures
- Diarrhée + fièvre au moins les dernières 24 heures
 - Diarrhée + sang au moins les dernières 24 heures
 - Deux fréq. respiratoires égal ou supérieur à 60/min (semaines 1 – 8)
 - Deux fréq. respiratoires égal ou supérieur à 50/min (semaines 9 – 52)
 - Toux + fièvre (pour plus de 3 jours)

**PROJET SANTÉ ET NUTRITION INFANTILE
DONNÉES ANTHROPOMÉTRIQUES**

SECTION I : IDENTIFICATION	
01	N° de l'enfant: □□□□□
02	Nom de la mère: _____ _____
03	Semaine N° □□
04	Résidence : _____ _____
05	Date : Jour Mois Année □□ □□ □□

SECTION II – DONNÉES ANTHROPOMÉTRIQUES	
1. Poids (kg)	□□.□□□
2. Taille (cm)	□□, □
3. Circonférence de la tête (cm)	□□, □
4. Circonférence du thorax (cm)	□□, □

Signature de l'enquêteur: _____

Importance d'un complément associant le fer et la vitamine E dans le traitement de l'anémie ferriprive chez de jeunes enfants brésiliens

Réalisé sur un effectif d'un peu plus de 300 enfants brésiliens de 6 à 30 mois de Recife, ce travail montre que l'anémie ferriprive évaluée à l'aide de trois variables biologiques, l'hémoglobulinémie, la ferritinémie et le récepteur soluble de la transferrine, présente une prévalence élevée, proche de 60 % (Partie 1: étude transversale), qu'elle représente la cause de 2/3 des cas d'anémie et que la prévalence de l'anémie ferriprive diminue avec les trois compléments à base de sulfate ferreux administrés en 3 fois à la dose de 90 mg/semaine (Partie 2: étude longitudinale, randomisée, contrôlée, en double insu) sur une durée de 3 mois. Plus particulièrement, la Partie 2 a consisté dans la comparaison des effets sur l'anémie d'un complément « sulfate ferreux + vitamine E » (groupe VITE) à un complément « sulfate ferreux seul » (groupe contrôle) et un complément « sulfate ferreux + complément multivitaminique et minéral » avec les mêmes quantités de vitamine E que le complément précédant et dépourvu de vitamine C (groupe CMM). Il a été possible pour la première fois de montrer que l'hémoglobulinémie et la ferritinémie sont favorablement affectées par le complément VITE et ceci d'autant plus que les enfants sont plus gravement anémiés. Ce résultat met donc en évidence un avantage certain au traitement associant la vitamine E et le sulfate ferreux, comparé aux deux autres traitements. L'option fer+vitamine E, par son rapport coût/efficacité meilleur que l'option fer+CMM, pourrait être d'une grande importance dans les futurs programmes de lutte contre l'anémie ferriprive.

Mots clés: anémie ferriprive, vitamine E, enfants, Brésil, hémoglobulinémie, ferritinémie
