

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

**ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE
L'ENVIRONNEMENT (SEV)**

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année 2014

N° d'ordre : 101



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Nutrition et Alimentation Humaine

Présentée par

Madame Nafissatou BA LO

**STATUT EN ZINC DES ENFANTS SENEGALAIS ET EVALUATION
DE L'UTILISATION DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE EN
ZINC POUR TESTER L'IMPACT DES PROGRAMMES DE
FORTIFICATION**

Soutenue le 27 juin 2014 devant le jury composé de

Président : Pr Mouhamadou Guélaye SALL, FMPOS, UCAD

Directrice de thèse : Pr Salimata WADE, FST, UCAD

Examineurs : Pr Amadou Tidiane GUIRO, FST, UCAD

Dr Nicole IDOHOU-DOSSOU, FST, UCAD

Dr Elodie Becquey, IFPRI, Dakar

REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de Nutrition et Alimentation du département de Biologie Animale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar sous la direction du **Professeur Salimata Wade**, Responsable de la formation doctorale en Nutrition et Alimentation humaine et Professeur Titulaire de Physiologie et de Nutrition et Alimentation humaine (FST-UCAD). Il a bénéficié du soutien financier et matériel de « Global Alliance for Improved Nutrition » (GAIN), de l'Initiative pour les Micronutriments (MI), d'Helen Keller International (HKI) et de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. J'exprime mes remerciements à ces structures.*

Mes remerciements :

*Au **Professeur Salimata Wade** pour la rigueur scientifique avec laquelle elle a dirigé ce travail et pour avoir pensé à moi pour cette recherche. Recevez le témoignage de ma gratitude.*

*Aux **Professeur Kenneth H. Brown** et **Dr Sonja Y. Hess** de l'Université de Davis Californie, pour nous avoir inspiré ce thème de recherche et pour la qualité de l'encadrement. Recevez le témoignage de ma gratitude.*

*Au **Docteur Elodie Becquey**, Chercheur à IFPRI, pour avoir accepté de siéger dans ce jury. Recevez le témoignage de ma gratitude.*

*Au **Docteur Nicole Idohou Dossou**, Maître de conférences à la FST-UCAD, pour son soutien moral et son implication dans ce travail. La foi, la patience et la gentillesse qui la caractérisent m'ont guidé tout au long de cette recherche.*

*Au **Professeur Mouhamadou Guélaye Sall** de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Au **Professeur Amadou Tidiane Guiro**, Recteur de l'université du Sine Saloum de Kaolack, pour avoir contribué à ma formation et pour nous honorer de sa présence dans le jury.*

*Aux **Dr Grant J. Aaron**, **Dr Adama Diouf**, à **Maguette Béye**, **Ampa Dogui Diatta**, **Suzanne Diatta**, **Ndjido A. Bar**, **Baba Fall**, **Shelby** pour leur contribution à ce travail. J'aimerais aussi témoigner toute ma reconnaissance au **Pr Pape M Sembène**, au **Dr Moustapha Diagne** et au staff technique du Laboratoire de Nutrition et de physiologie animale particulièrement **Amadou Bouye Seydi**, **Adama Sané**, **Maguette**, **Mr et Mme Mbengue**, **Elhadj Fall**, **Issa Fall**, **Youssou**, **Bouna**, **Fatou** et **Tonton Abdoulaye**.*

*Au staff du dispensaire Saint-Martin (**Sœur Madeleine Ndour**, **Tata Rose**, **Tata Viviane** et **Bernadette**), aux enquêteurs (**Diallo**, **Sall**, **Papis**, **Baba**, **Mamy**, **Gnagna** et **Anta Laye**) et aux couples mères/accompagnantes d'enfants qui ont participé à cette étude.*

*Au **Dr Anta Agne** et aux étudiants des promotions 2009-2011 et 2012-2014 du master de nutrition particulièrement mes enfants adoptifs **Suzanne**, **Lyna**, **Abdou** et **Mariama Sarr**.*

Aux membres du GERNANUT et au staff de HKI et USAID/IntraHealth pour leur soutien moral et leurs conseils avisés.

*A ma famille surtout mes sœurs (**Rama**, **Soda**, **Ami**, **Fatou**, **Bineta** et **Yacine**) et frères (**Abdou Guèye**, **Rawane**, **Waly**, **Habibe Amah**, **Cheikh** et **Thierno**), mes belles sœurs et beaux frère (**Aïssatou**, **Daba**, **Fa Mbodj**, **Bineta**, **Mr Sarr** et **Elhadj Ndao**), mes cousins **Ouzin**, **Baba** et leurs familles, mes neveux et nièces (**Iyane Lo**, **Rama**, **Cheikhou**, **Kojac**, **Satou**, **Maman Sarr** et **Aïssatou Ndiaye**), mes amis (**Malicoumba**, **Khady Talla**, **Moctar Mbaye**, **Abass**, **Pape Demba Ngom**, **Aïta**, **Gnagna Kane**, **Marie**, **Ndèye Guèye**, **Yacine Dieng** et tous les membres du tour de Saint-Louis).*

Je dédie ce travail



A mes regrettés parents Oumar Ba Ndiarlo et Aminata Diagne Kalla

Que Dieu les accueille dans son paradis.

A mon Oncle, Ami et Mari, Oumar Lo

Ce travail est le fruit de tes 22 ans de patience, de tes sacrifices, de ton appui inconditionnel et de ton encadrement hors pair. Puisse le bon Dieu t'accorder longue vie et santé de fer. Tu es et resteras à tout jamais dans mon cœur. Reçois à travers ce travail tout mon amour et toute ma profonde gratitude.

A mes enfants Amadou Moctar, Ndèye Khady, Mame Mor et Abdoul Aziz

Ce travail est le fruit de votre patience, votre tolérance et de vos prières. Recevez à travers ce travail tout mon amour et affection.

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

AGP	Alpha -1-acid Glycoprotein, <i>Alpha-1 Acide Glycoprotéine</i>
AGVSAN	Analyse Globale de la Vulnérabilité, de la Sécurité Alimentaire
AI	Adequate Intakes, <i>Apport Adéquat</i>
AIEA	Agence Internationale de l'Energie Atomique
ATZ	Absorption Totale du Zinc
CO-AID	Corporation of African Integration Development
COSFAM	Comité Sénégalais de Fortification des Aliments en Micronutriments
CRP	C-Reactive Protein, Protéine C-Réactive
DOL	Degree Of Liking, <i>Degré d'appréciation global</i>
DR	Districts de Recensement
EAR	Estimated Average Requirement, <i>Besoins Moyens Estimés</i>
EDS	Enquête Démographique et de Santé
ET	Ecart Type
FAO	Food and Agriculture Organization, <i>Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture</i>
FDA	US Food and Drug Administration
FFL	Faisability Fortification Level
FNB	Food and Nutrition Board
FPM	Faible Poids Moléculaire
FZA	Fraction de Zinc Absorbée
GLM	General Linear Model
GRAS	Generally Recognized As Safe
Hb	Hémoglobine
HDL	High density lipoprotein, <i>Lipoprotéine de haute densité</i>
IC	Intervalle de Confiance

ICP-AES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry, <i>Spectrométrie d'Emission Atomique Source Plasma à Couplage Inductif</i>
IDR	Immunodiffusion Radiale
IOM	Institute of Medecine
IRB	Institutional Review Board
IZiNCG	International Zinc Nutrition Consultative Group
MI	Micronutrient Initiative, <i>Initiative pour les Micronutriments</i>
MT	métallothionéines
NML	Niveau Minimum Légal
P(T)	Poids-pour-Taille
PAM	Prélèvement Après-Midi
PM	Prélèvement Matin
RDA	Recommended Dietary Allowances, <i>Apports Nutritionnels Recommandés</i>
RR	Risque Relatif
SRO	Sels de Réhydratation Orale
T(A)	Taille-pour-Âge
TUL	Tolerable Upper Levels, <i>Apports Maximum Tolérables</i>
UC	Université de Californie
UCAD	Université Cheikh Anta Diop de Dakar
UL	Upper Levels, <i>Apports Maximum</i>
UNICEF	United Nations for Infants fund, <i>Fond des Nations Unies pour l'Enfance</i>
WHO	World Health Organization, <i>Organisation Mondiale de la Santé</i>
Zn	Zinc
ZP	Zinc Plasmatique

PRESENTATION DE LA THESE

Notre travail comprend cinq parties :

- La première est une revue générale de la littérature scientifique sur la digestion et absorption du zinc, les facteurs influençant la biodisponibilité du zinc, l'excrétion du zinc, les besoins et apports en zinc et sur la biologie et fonction du zinc ;
- La seconde est consacrée aux indicateurs du statut en zinc et stratégies de lutte et de prévention de la carence en zinc ;
- La troisième porte sur l'évaluation du statut de base en zinc chez les enfants sénégalais âgés de 12 à 59 mois
- La quatrième porte sur les tests sensoriels et d'acceptabilité des aliments de complément préparés à partir de farines de céréales fortifiées en zinc chez les enfants sénégalais
- La cinquième est consacrée à l'étude de la réponse plasmatique du zinc chez les enfants âgés de 9 à 17 mois recevant de la bouillie fortifiée en zinc au Sénégal

Les travaux de cette étude ont fait l'objet de **deux publications et ont été présentés à deux congrès internationaux de Nutrition.**

Aaron GJ, **Ba Lo N**, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. **J Food Science 2011;76:S56-62.** (Impact Factor 2009: 1.6)

Ba Lo N, Aaron GJ, Hess SY, Idohou Dossou N, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Plasma zinc concentration responds to short-term zinc supplementation, but not zinc fortification, in young children in Senegal. **Am J Clin Nutr 2011;93:1348-55.** (Impact Factor 2011 : 6.7)

Un troisième article sur le même thème mais concernant les adultes, travaux auxquels j'ai participé **a été publié.**

Aaron GJ, **Ba Lo N**, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Plasma Zinc Concentration Increases within 2 Weeks in Healthy Senegalese Men Given Liquid Supplemental Zinc, but Not Zinc-Fortified Wheat Bread. **J Nutr 2011;141:1369-74.** (Impact Factor 2012 : 3.9)

SOMMAIRE

CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE

	Pages
I. RAPPEL SUR LA BIOLOGIE ET FONCTION DU ZINC	24
II. RAPPEL HISTORIQUE SUR LE ZINC	24
III. DIGESTION ET ABSORPTION DU ZINC	25
1. SOURCES ALIMENTAIRES	25
2. DIGESTION ET ABSORPTION INTESTINALE	26
2.1. Passage du zinc de la lumière intestinale dans le cytoplasme	27
2.2. Le zinc dans l'entérocyte	28
3. TRANSPORT, STOCKAGE ET REDISTRIBUTION DU ZINC DANS LE SANG ET LES AUTRES ORGANES	31
3.1. Circulation lymphatique et sanguine	31
3.2. Teneur en zinc dans l'organisme	32
IV. FACTEURS INFLUENÇANT LA BIODISPONIBILITE DU ZINC	33
1. ACTIVATEURS DE L'ABSORPTION DU ZINC	33
1.1. Les protéines	33
1.2. Quantité de zinc alimentaire	34
1.3. Formes de zinc	35
2. INHIBITEURS DE L'ABSORPTION DU ZINC	36
2.1. Les phytates	36
2.2. Les minéraux	37
V. EXCRETION DU ZINC	37
VI. BESOINS ET APPORT EN ZINC	38
1. ESTIMATION DES BESOINS PHYSIOLOGIQUES EN ZINC ABSORBE	39
2. APPORTS RECOMMANDES EN ZINC ALIMENTAIRE	42
2.1. Besoins Moyens Estimés (EAR)	42
2.2. Apports Nutritionnels Recommandés (RDA)	42
2.3. Apports Adéquats (AI)	42
2.4. Apports Maximum Tolérables (UL)	42

CHAPITRE II : INDICATEURS DU STATUT EN ZINC ET STRATEGIES DE LUTTE ET DE PREVENTION DE LA CARENCE EN ZINC

	Pages
I. INDICATEURS DU STATUT EN ZINC	46
1. CONCENTRATION DE ZINC DANS LE PLASMA OU LE SERUM (INDICATEUR BIOCHIMIQUE)	46
2. APPORT ALIMENTAIRE EN ZINC (INDICATEUR ALIMENTAIRE)	48
3. PREVALENCE DES RETARDS DE CROISSANCE (INDICATEUR FONCTIONNEL)	49
4. LIMITES DES TROIS METHODES D’EVALUATION DU STATUT EN ZINC	49
II. STRATEGIES DE LUTTE ET DE PREVENTION DE LA CARENCE EN ZINC	50
1. PREVALENCE DE LA CARENCE EN ZINC	50
2. PREVALENCE DE LA CARENCE EN ZINC AU SENEGAL	53
3. STRATEGIES D’INTERVENTION POUR LUTTER CONTRE LA CARENCE EN ZINC	53
3.1. Supplémentation en zinc	54
3.2. Fortification des aliments en zinc	56
3.2.1. Identification de la population cible	57
3.2.2. Evaluation de l’apport en zinc et du statut en zinc de la population cible	58
3.2.3. Sélection des aliments vecteurs appropriés	59
3.2.4. Sélection du fortifiant en zinc	60
3.2.5. Détermination du taux du fortifiant en zinc	61
3.2.6. Acceptabilité par le consommateur des aliments fortifiés en zinc	64
3.2.7. Détermination du taux d’absorption du zinc à partir des aliments fortifiés	65
3.2.8. Etablissement des paramètres réglementaires	65
3.2.9. Estimation du coût	66
3.3. Diversification/modification alimentaire	67

3.4. Bio-fortification	68
III. QUESTION DE RECHERCHE, HYPOTHESE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE	70
1. QUESTION DE RECHERCHE	71
2. HYPOTHESE DE RECHERCHE	71
3. OBJECTIF GENERAL	71
4. OBJECTIFS SPECIFIQUES	71

**CHAPITRE III : EVALUATION DU STATUT DE BASE EN ZINC CHEZ
LES ENFANTS SENEGALAIS AGES DE 12 A 59 MOIS**

	Pages
I. RAPPEL DES OBJECTIFS	73
1. QUESTION DE RECHERCHE	73
2. OBJECTIF GENERAL	73
3. OBJECTIFS SPECIFIQUES	73
II. SUJETS ET CADRE DE L'ETUDE	73
1. SUJETS	73
2. CALCUL DE LA TAILLE DE L'ECHANTILLON, CADRE DE L'ETUDE ET TIRAGE DE L'ECHANTILLON	74
2.1. Calcul de la taille de l'échantillon	74
2.2. Cadre de l'étude	74
2.3. Tirage de l'échantillon	75
III. METHODES	75
1. QUESTIONNAIRE	76
2. ETHIQUE	77
3. MESURES	77
3.1. Durée de la collecte et ses différentes phases	77
3.2. Prélèvement sanguin et dosages biologiques	77
3.2.1. Prélèvement et conservation des échantillons	77
3.2.2. Dosages biologiques	77
3.2.2.1. Dosage du zinc plasmatique	77
3.2.2.2. Dosages de la Protéine C-Réactive et de l'alpha-1 Acide Glycoprotéine	80
3.2.2.2.1. Dosage de la Protéine C-Réactive (CRP)	81
3.2.2.2.2. Dosage de l'alpha-1 Acide Glycoprotéine	83
3.2.2.2.3. Définition de l'infection et/ou l'inflammation	85
4. SAISIE, TRAITEMENT ET ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	85

IV. RESULTATS	86
1. CARACTERISTIQUES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES DES ENFANTS	86
1.1. Répartition des enfants selon le sexe	86
1.2. Répartition des enfants selon l'âge	87
1.3. Garde des enfants	87
2. SANTE DES ENFANTS	87
3. ALIMENTATION DES ENFANTS	91
3.1. Allaitement maternel	91
3.2. Alimentation complémentaire des enfants	91
4. STATUT EN ZINC DES ENFANTS	92
4.1. Distribution des valeurs moyennes de zinc plasmatique (ZP) mesuré	92
4.2. Statut en zinc des enfants	92
4.3. Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc selon le sexe	93
4.4. Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc selon la tranche d'âge	96
5. STATUT INFECTIEUX ET/OU INFLAMMATOIRE DES ENFANTS	100
6. FACTEURS ASSOCIES A LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE ZINC DES ENFANTS	101
6.1. Relation entre le zinc plasmatique et les marqueurs de l'inflammation	101
6.2. Relation entre la concentration de zinc plasmatique (ZP) et les facteurs liés aux conditions de prélèvement	101
7. STATUT EN ZINC CORRIGE PAR RAPPORT A L'INFECTION	102
7.1. Distribution des valeurs moyennes de zinc plasmatique corrigées	102
7.2. Statut en zinc corrigé chez les enfants	103
8. STATUT EN ZINC CORRIGE PAR RAPPORT AUX AUTRES FACTEURS DE CONFUSION	106
9. STATUT EN ZINC EN FONCTION DU LIEU DE RESIDENCE	107

**CHAPITRE IV : TESTS SENSORIELS ET D'ACCEPTABILITE DES
ALIMENTS DE COMPLEMENT PREPARES A PARTIR DE FARINES DE
CEREALES FORTIFIEES EN ZINC CHEZ LES ENFANTS SENEGALAIS**

	Pages
I. RAPPEL DES OBJECTIFS	116
1. QUESTION DE RECHERCHE	116
2. OBJECTIF GENERAL	116
3. OBJECTIFS SPECIFIQUES	116
II. MATERIEL ET METHODES	116
1. SUJETS	116
2. ETHIQUE	117
3. ESTIMATION DE LA TAILLE DE L'ECHANTILLON	117
4. QUESTIONNAIRES	117
5. COMPOSITION DES ALIMENTS DE COMPLEMENT	118
6. PREPARATION DES ALIMENTS TEST ET TEMOIN	119
7. PROTOCOLE DU TEST	120
7.1. Evaluation du degré d'appréciation des aliments par les enfants	121
7.2. Test de différence et évaluation du degré d'appréciation par les mères/gardiennes	122
8. DETAILS DES PROCEDURES DE TERRAIN	122
8.1. Recrutement et consentement à participer à l'étude sensorielle	122
8.2. Installation, préparation et consommation des bouillies par les enfants et les mères/gardiennes	123
9. ANALYSE STATISTIQUE	127
III. RESULTATS	128
IV. DISCUSSION	132

**CHAPITRE V : REPOSE PLASMATIQUE DU ZINC CHEZ LES ENFANTS AGES
DE 9 A 17 MOIS RECEVANT DE LA BOUILLIE FORTIFIEE EN ZINC**

	Pages
I. RAPPEL DES OBJECTIFS	137
1. HYPOTHESE DE RECHERCHE	137
2. OBJECTIF GENERAL	137
3. OBJECTIF SPECIFIQUE	137
II. MATERIEL ET METHODES	137
1. CADRE DE L'ETUDE	137
2. RECRUTEMENT DES COUPLES MERE/GARDIENNES D'ENFANTS	138
3. SENSIBILISATION	138
4. ETHIQUE	139
5. TYPE D'ETUDE	139
6. ESTIMATION DE LA TAILLE DE L'ECHANTILLON	141
7. CRITERES D'ELIGIBILITE	141
8. QUESTIONNAIRES	142
9. METHODES	142
9.1. Fabrication et composition des aliments	143
9.1.1. Bouillie	143
9.1.2. Liquide vitaminique	144
9.1.3. Collecte des données	144
9.2. Mesures anthropométriques des enfants	145
9.2.1. Mesure du poids	145
9.2.2. Mesure de la taille	146
9.2.3. Calcul des indices anthropométriques	146
9.3. Mesure de la concentration de l'hémoglobine	146
9.4. Dosages biologiques	147
9.4.1. Prélèvement sanguin	147
9.4.2. Mesure du zinc plasmatique	148
9.4.3. Mesure de la CRP	150
9.4.4. Mesure de l'AGP	152
10. SAISIE ET ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	153
III. RESULTATS	154

1. PROFIL DE L'ETUDE	154
2. CARACTERISTIQUES DE BASE	156
3. CONSOMMATION DES SUPPLEMENTS	157
4. FACTEURS ASSOCIES A LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE ZINC INITIALE	157
5. CONCENTRATION PLASMATIQUE DE ZINC POST INTERVENTION	157
IV. DISCUSSION	161

	Pages
CONCLUSION GENERALE	167
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	171
ANNEXES	
CURRICULUM VITAE	
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE	

LISTE DES TABLEAUX

		Pages
Tableau I-1	Teneur en zinc, en phytates et rapport phytates:zinc de certains aliments	26
Tableau I-2	Besoins physiologiques en zinc absorbé pendant l'enfance par groupe d'âge et de sexe, la grossesse et l'allaitement définis par les comités d'experts de l'OMS, le FNB/IOM et revue par l'IZINCG	41
Tableau I-3	Apports recommandés en zinc alimentaire selon le groupe d'âge et l'état physiologique par l'IOM	43
Tableau I-4	Apports recommandés en zinc alimentaire selon le groupe d'âge et l'état physiologique par l'OMS/FAO	44
Tableau II-1	Seuils inférieurs proposés pour la concentration de zinc dans le sérum ($\mu\text{g/dL}$) selon le groupe d'âge, le sexe, l'heure de la journée et le temps écoulé depuis le dernier repas	47
Tableau II-2	Prévalences de la carence en zinc chez les enfants des pays d'Asie-Pacifique, d'Amérique latine et d'Afrique	52
Tableau II-3	Composés de zinc qui peuvent être utilisés pour la fortification des aliments (GRAS)	61
Tableau II-4	Quantité de zinc nécessaire pour la fortification de la farine de blé (mg de zinc/kg de farine) pour assurer 3,84 mg de zinc absorbé par jour, en tenant compte des différents apports habituels en zinc et phytates de sources autres que la farine de blé et les quantités indiquées de la consommation de farine (80% d'extraction de la farine)	64
Tableau III-1	Répartition des enfants selon le sexe	86
Tableau III-2	Répartition des enfants par tranche d'âge	87
Tableau III-3	Santé des enfants	89
Tableau III-4	Proportion d'enfants allaités au moment de l'enquête	91
Tableau III-5	Statut en zinc des enfants	93
Tableau III-6	Statut en zinc des garçons	95
Tableau III-7	Statut en zinc des filles	95
Tableau III-8	Statut en zinc des enfants âgés de 12 - 23 mois	98
Tableau III-9	Statut en zinc des enfants âgés de 24 - 35 mois	98
Tableau III-10	Statut en zinc des enfants âgés de 36 - 47 mois	99
Tableau III-11	Statut en zinc des enfants âgés de 48 - 59 mois	99

Tableau III-12	Statut infectieux et/ou inflammatoire chez les enfants et selon le sexe	100
Tableau III-13	Prévalences de l'infection chez les enfants selon la tranche d'âge	101
Tableau III-14	Corrélation de Pearson des paramètres associés à la concentration de zinc plasmatique	102
Tableau III-15	Statut en zinc corrigé chez les enfants	104
Tableau III-16	Valeurs moyennes de zinc plasmatique (ZP) et prévalence de la carence en zinc mesurée et corrigée par rapport à l'infection chez l'ensemble des enfants et dans les différentes tranches d'âge	105
Tableau III-17	Valeurs moyennes de zinc plasmatique (ZP) et prévalence de la carence en zinc mesurée et corrigé par rapport à l'infection selon le sexe	105
Tableau III-18	Concentration plasmatique de zinc mesurée et corrigée par rapport à l'infection et aux autres facteurs confondants selon le sexe et la tranche d'âge	106
Tableau III-19	Proportions de carence en zinc mesurée et corrigée en fonction des zones de résidence	107
Tableau IV-1	Composition en nutriments des aliments par portion de 25 g	119
Tableau IV-2	Consommation de bouillie par les enfants, durée d'alimentation et vitesse de la prise alimentaire par type d'aliment	129
Tableau IV-3	Estimation du degré d'appréciation des accompagnantes sur l'échelle des 7-points hédoniques pour l'apparence, le goût, la texture et le degré d'appréciation globale (DOL) par type d'aliment	131
Tableau V-1	Groupes d'intervention de l'étude	140
Tableau V-2	Quantité de fer et de zinc utilisée pour la fortification de 20 kg de la farine Provital	142
Tableau V-3	Caractéristiques de base des participants par groupe d'étude	156
Tableau V-4	Moyennes initiale et finale de la concentration de zinc plasmatique ($\mu\text{g/dL}$) et variation par rapport à la base par groupe de traitement	160

LISTE DES FIGURES

		Pages
Figure I-1	Modèle d'absorption intestinale du zinc	28
Figure I-2	Changements dans l'expression des gènes transporteurs du zinc en réponse à la teneur en zinc alimentaire	31
Figure I-3	Modèle de réponse de saturation du zinc total absorbé par jour en fonction du zinc total ingéré	35
Figure I-4	Flux corporels de zinc	38
Figure III-1	Cadre de l'étude	75
Figure III-2	Exemple de courbe de calibration pour le dosage du zinc	80
Figure III-3	Exemple de courbe de contrôle de qualité pour le dosage de la CRP	82
Figure III-4	Exemple de courbe de contrôle de qualité pour le dosage de l'AGP	84
Figure III-5	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants	92
Figure III-6	Statut en zinc des enfants	93
Figure III-7	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique (ZPm) mesurées chez les garçons	95
Figure III-8	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique (ZPm) mesurées chez les filles	95
Figure III-9	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 12 - 23 mois	98
Figure III-10	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 24 - 35 mois	98
Figure III-11	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 36 - 47 mois	99
Figure III-12	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 48 - 59 mois	99
Figure III-13	Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique corrigées chez les enfants	103
Figure III-14	Statut en zinc corrigé des enfants	104
Figure V-1	Profil de l'étude	155

Figure V-2 Variation de la concentration plasmatique en zinc du début au jour 15, réajusté à la concentration de zinc plasmatique de base **159**

RESUME DE LA THESE DE DOCTORAT DE NAFISSATOU BA LO

TITRE : Statut en zinc des enfants sénégalais et évaluation de l'utilisation de la concentration plasmatique en zinc pour tester l'impact des programmes de fortification

Nature de la thèse : Doctorat en Nutrition et Alimentation Humaine

Jury d'examen

Président :	Pr Mouhamadou Guélaye SALL, FMPOS, UCAD
Directrice de thèse :	Pr Salimata WADE, FST, UCAD
Examineurs :	Pr Amadou Tidiane GUIRO, FST, UCAD Dr Nicole IDOHOU-DOSSOU, FST, UCAD Dr Elodie Becquey, IFPRI, Dakar

Soutenue le 27 juin 2014 à l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

Introduction : La carence en zinc est reconnue comme un des principaux risques de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans. La connaissance du statut en zinc des enfants et l'identification d'indicateur simple et fiable pour évaluer l'impact des programmes de fortification de masse en zinc sont nécessaires d'où l'objectif de ce travail.

Objectif : Evaluer le statut en zinc des enfants âgés de 12 à 59 mois au Sénégal, effectuer des tests d'acceptabilité sur un aliment de complément à base de farines de céréales locales fortifiées en zinc et mesurer la réponse plasmatique du zinc chez les enfants sénégalais recevant de la bouillie fortifiée en zinc.

Méthodologie : Nous avons effectué trois études : une représentative au niveau nationale et portant sur 1151 enfants âgés de 12 à 59 mois dont 583 filles et 568 garçons répartis en quatre tranches d'âge, une sur les couples mères/accompagnantes d'enfants âgés de 12 à 17 mois et une étude clinique randomisée placebo-contrôle en double aveugle auprès de 137 enfants âgés de 9 à 17 mois répartis en trois groupes (contrôle, supplémenté en zinc et fortifié en zinc) selon la prise ou non de 6 mg de zinc par jour à partir de solution aqueuse ou de bouillie. Les mesures du poids, de la taille et du taux d'hémoglobine (par HemoCue) sont effectuées pour déterminer les critères d'inclusion. L'acceptabilité des aliments fortifiés est déterminée à l'aide de l'échelle hédonique de 7-point et du test triangle. La concentration plasmatique en zinc, indicateur du statut en zinc, est mesurée par Spectrométrie d'Absorption Atomique à flamme (SAA). Les concentrations plasmatiques de la Protéine C-Réactive et de l'alpha-1 Acide Glycoprotéine ont été mesurées par immuno-turbidimétrie pour contrôler l'effet de l'infection sur le zinc. L'analyse de covariance (GLM) a permis d'ajuster la zincémie pour la comparaison en fonction du sexe et de l'âge.

Résultats : La moyenne de la zincémie est faible chez l'ensemble des enfants ($63,7 \pm 14,4$ $\mu\text{g/dL}$) et la moitié d'entre eux (50,1%) est carencée en zinc. Cette carence touche 50,9% des garçons et 49,2% des filles. Aucune différence de prévalence entre les deux sexes et selon les tranches d'âge n'est trouvée aussi bien pour les valeurs de zinc mesurées que celles de zinc corrigées par rapport aux facteurs confondants. Les propriétés sensorielles des aliments de complément à base de céréales fortifiées en zinc aux niveaux de fortification utilisés dans cette étude, sont acceptables et les aliments bien appréciés par les enfants et les mères/accompagnantes. Pour l'étude clinique, la moyenne finale de la concentration de zinc plasmatique est significativement plus élevée dans le groupe supplémenté en zinc que dans les groupes contrôle et fortifié en zinc ($P=0,002$) après une intervention de 15 jours. La variation de la zincémie moyenne ($\mu\text{g/dL}$) dans le groupe supplémenté en zinc ($4,7 \pm 1,6$; $P=0,004$) est significativement plus importante ($P=0,009$) que celle du groupe contrôle ($-1,0 \pm 1,6$; $P=0,51$) et du groupe fortifié ($-1,8 \pm 0,7$; $P=0,29$). La zincémie moyenne des groupes contrôle et fortifié en zinc ne diffère pas significativement.

Conclusion : La carence en zinc constitue un problème de santé publique sévère chez les enfants sénégalais âgés de 12 à 59 mois, tous sexes et âges confondus. Les aliments fortifiés en zinc sont bien acceptés et appréciés par les enfants. La concentration plasmatique de zinc est un bon indicateur de la supplémentation en zinc, cependant son utilité pour les programmes de fortification n'a pas pu être confirmée dans cette étude. Ces résultats suggèrent qu'il est urgent de mettre en place un programme de lutte contre la carence zinc dans la cadre de la stratégie intégrée de lutte contre les carences en micronutriments et que des études supplémentaires à plus long terme sont nécessaires pour évaluer l'impact des programmes de fortification en zinc basé sur des indicateurs fonctionnels tels que la croissance et la morbidité.

Mots clés : Statut en zinc, concentration plasmatique en zinc, Zinc, CRP, AGP, enfants 12 à 59 mois, farine de céréales, test sensoriel, fortification, Sénégal.

ABSTRACT

TITLE: Zinc status of Senegalese children and evaluation of the use of plasma zinc concentration to test the impact of zinc fortification programs

Introduction: Zinc deficiency is recognized as one of the main risk of morbidity and mortality among children less than 5 years. Knowledge of zinc status of children and the identification of simple and reliable indicator to assess the impact of zinc mass fortification programs are necessary hence the objective of this work.

Objectives: Assess the zinc status of Senegalese children aged 12-59 months, test the acceptability of complementary food prepared from zinc fortified local cereals flours, and measure the plasma zinc concentration responses among Senegalese children receiving zinc fortified porridge.

Methods: We conducted three studies: a representative one at national level on 1151 children aged 12-59 months, including 583 girls and 568 boys divided into four age groups, one on couples mothers/caregivers of children aged 12 to 17 months, and a double-blind randomized placebo - control clinical study on 137 children aged 9 to 17 months divided into three groups (control, zinc supplementation and zinc fortification) by taking or not 6 mg of zinc per day from aqueous solution or porridge. The weight, height and hemoglobin (by HemoCue) were measured to determine the inclusion criteria. The acceptability of food fortified was determined using the 7-point hedonic scale and the triangle taste test. Plasma zinc concentration, an indicator of zinc status, was measured by Atomic Absorption Spectrometry Flame (SAA). Plasma concentration of C-reactive protein and alpha -1 acid glycoprotein was measured by immunoturbidimetry to control the effect of infection on the zinc status. Analysis of covariance (GLM) was used to adjust the zinc concentration mean for the comparison by sex and age.

Results: The mean zinc concentration mean was low among all children ($63.7 \pm 14.4 \mu\text{g/dL}$) and half of them (50.1%) were deficient in zinc. This deficiency affects 50.9% of boys and 49.2% of girls. No difference in prevalence between the sexes and age groups was found as well for the measured zinc values that those of zinc corrected for the confounding factors. Sensory properties of complementary food prepared from zinc fortified cereals at fortification levels used in this study was acceptable and food well appreciated by children and mothers/caregivers. For the clinical study, the final plasma zinc concentration mean was significantly higher in the zinc supplementation group than in the control and zinc fortification groups ($P = 0.002$) after 15 days intervention. The change of the zinc concentration mean ($\mu\text{g/dL}$) in the zinc supplementation group (4.7 ± 1.6 ; $P = 0.004$) was significantly higher ($P = 0.009$) than the control group (-1.0 ± 1.6 ; $P = 0.51$) and the fortification group (-1.8 ± 0.7 ; $P = 0.29$). The zinc concentration mean of control and zinc fortification groups did not differ significantly.

Conclusion: Zinc deficiency is a severe public health problem among Senegalese children aged 12 to 59 months, for all sexes and ages. Zinc fortified foods are well accepted and appreciated by children. Plasma zinc concentration is a good indicator of zinc supplementation; however its usefulness for fortification programs could not be confirmed in this study. These results suggest that it is urgent to implement a program to fight against zinc deficiency in the context of the integrated strategy to combat micronutrients deficiencies and additional longer-term studies are needed to assess the impact of zinc fortification programs based on functional indicators such as growth and morbidity.

Keywords: Zinc status, plasma zinc concentration, zinc, CRP, AGP, children 12 to 59 months, cereal flour, sensory testing, fortification, Senegal.

CHAPITRE I
INTRODUCTION GENERALE

I. RAPPEL SUR LA BIOLOGIE ET FONCTION DU ZINC

Le zinc est un élément de transition dans le tableau périodique des éléments, avec un numéro atomique 30 et un poids atomique 65,37, en raison de son mélange de cinq isotopes stables : ^{64}Zn , ^{66}Zn , ^{67}Zn , ^{68}Zn et ^{70}Zn . Il dispose de plusieurs radio-isotopes actifs dont deux ont été les plus utilisés dans la recherche humaine et animale, ^{65}Zn et ^{69}Zn . Le zinc est stable dans son état cationique bivalent (Zn^{++}) et n'est ni un réducteur ni un agent oxydant (ne présente pas de chimie redox dans les organismes vivants). Il forme des sels inorganiques et des complexes organiques avec des acides et autres composés chargés négativement. La stabilité unique de sa valence, sa chimie de coordination polyvalente et son rayon ionique ont été crédités par Chesters (Chesters, 1989) pour ses rôles dans le monde biologique (Solomons, 2001). Les propriétés chimiques du zinc, lui confèrent un rôle important dans une grande variété de processus biologiques. Il a une forte affinité pour les électrons et généralement se lie aux acides aminés, peptides et nucléotides, permettant à la fois sa fonction catalytique et structurale (Shrimpton, 2001).

Le zinc est un composant essentiel d'un grand nombre d'enzymes (> 300) participant à la synthèse et la dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques ainsi que dans le métabolisme des autres micronutriments (Butrimovitz et al., 1978 ; Vallee & Falchuk, 1993 ; Black, 1998 ; McCall et al., 2000). De ce fait le zinc est impliqué dans l'expression des gènes, la croissance et la division cellulaire, les fonctions immunologiques et de reproduction (Vallee et Auld, 1990 ; Graham et al., 1991 ; Walsh et al., 1994 ; Mocchegiani et al., 1995 ; Berg et Shi, 1996 ; Shankar et Prasad, 1998 ; WHO, 2004 ; IZiNCG, 2004 ; Prasad, 2009).

II. RAPPEL HISTORIQUE SUR LE ZINC

Le zinc est un oligo-élément essentiel et l'un des micronutriments qui a récemment suscité une attention croissante en raison de son importance dans le maintien de la santé et de l'état nutritionnel des populations. L'histoire de la reconnaissance de l'importance biologique du zinc est ancienne. Durant la première moitié du XXe siècle, les chercheurs ont découvert que le zinc était essentiel pour la croissance normale et la survie des plantes, de la volaille, des rongeurs et des porcs (Prasad, 1991). Dès 1869, Raulin (Raulin, 1869) avait montré pour la première fois l'importance biologique du zinc par des études de croissance effectuées sur des champignons (*Aspergillus niger*). Cette découverte a été confirmée par les travaux de Todd (1934), Tucker (1955) et O'Dell (1958) qui mettaient simultanément en évidence le caractère

indispensable du zinc pour le rat, le porc et le poulet. En dépit de toutes ces observations, beaucoup de chercheurs doutaient que la carence en zinc pourrait survenir chez les humains du fait de l'omniprésence du zinc dans l'environnement et de l'absence de signes cliniques évidents (apparents) de sa carence dans les populations humaines vraisemblablement à haut risque. Cependant, les preuves de la carence en zinc chez les humains ont commencé à émerger au cours des années 1960, lorsque des cas de nanisme et d'immaturité sexuelle associés à une alimentation carencée en zinc ont été observés à partir de travaux menés en Iran et en Egypte (Prasad et al., 1961 ; Prasad et al., 1963). Depuis cette date de nombreux travaux ont été publiés concernant le rôle essentiel du zinc dans la croissance physique des êtres humains et le fonctionnement normal du système immunitaire (Dardenne et al., 1988).

III. DIGESTION ET ABSORPTION DU ZINC

1. SOURCES ALIMENTAIRES

Le zinc est présent dans une grande variété de sources alimentaires. Cependant sa teneur dans les aliments est très variable. En effet les concentrations les plus fortes de zinc se retrouvent dans les aliments d'origine animale en particulier les viandes, les volailles, les poissons, les fruits de mer (surtout les huîtres) et à de moindres quantités dans les œufs et les produits laitiers. La teneur en zinc est relativement élevée dans les noix, les graines, les légumineuses et les céréales complètes et est plus faible dans les tubercules, les céréales raffinées, les fruits et les légumes (Brown et al., 2001 ; IZiNCG, 2004).

Les teneurs moyennes en zinc (mg/100 g de poids frais) et la densité de zinc (mg/100 kcal) pour une certaine variété d'aliments sont présentées dans le **Tableau I-1**.

La teneur en zinc total du régime et la biodisponibilité du zinc à partir de ces composants alimentaires influencent l'efficacité de l'absorption du zinc. L'absorption du zinc est déterminée en grande partie par sa solubilité dans la lumière intestinale, qui à son tour est affectée par la forme chimique du zinc et la présence d'inhibiteurs et d'activateurs spécifiques de l'absorption.

Tableau I-1 : Teneur en zinc, en phytates et rapport phytates:zinc de certains aliments

Sources	Teneur en zinc		Teneur en phytates	
	mg/100g	mg/100kcal	mg/100g	Rapport phytates:zinc
Foie, rein (poulet, bœuf)	4,2-6,1	2,7-3,8	0	0
Viande (bœuf, porc)	2,9-4,7	1,1-2,8	0	0
Volaille (poule, canard, etc.)	1,8-3,0	0,6-1,4	0	0
Fruits de mer (poisson, etc.)	0,5-5,2	0,3-1,7	0	0
Œuf	1,1-1,4	0,7-0,8	0	0
Lait et produits laitiers	0,4-3,1	0,3-1		
Grain et noix (sésame, citrouille, amande, etc.)	2,9-7,8	0,5-1,4	1760-4710	22-88
Haricot, lentille (soja, haricot, pois, etc.)	1,0-2,0	0,9-1,2	110-617	19-56
Graines de céréales entières (blé, maïs, riz brisé, ect.)	0,5-3,2	0,4-0,9	211-618	22-53
Graines de céréales raffinées (farine blanche, riz blanc, etc.)	0,4-0,8	0,2-0,4	30-439	16-54
Pain	0,9	0,3	30	3
Manioc fermenté	0,7	0,2	70	10
Tubercules	0,3-0,5	0,2-0,5	93-131	26-31
Légumes	0,1-0,8	0,3-3,5	0-116	0-42
Fruits	0-0,2	0-0,6	0-63	0-31

Source : International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG), Hotz C, Brown KH. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food Nutr Bull 2004;25(suppl 2):S99-203.

2. DIGESTION ET ABSORPTION INTESTINALE

Dans l'estomac, en présence d'acide chlorhydrique, le zinc est libéré des aliments sous forme d'ions libres (Zn^{2+}) durant la digestion. Ces ions peuvent se présenter sous forme libre ou liés à des ligands endogènes de faible poids moléculaire dans la lumière intestinale avant leur absorption transcellulaire dans le duodénum distal et le jéjunum proximal (Cousins, 1996 ; King et al., 2000). Les sécrétions pancréatiques qui aident à digérer les aliments fournissent une quantité de zinc dans le duodénum équivalent à celle contenus dans la plupart des repas. L'intestin doit donc récupérer des quantités appropriées de zinc provenant de

sources alimentaires et endogènes pour maintenir un équilibre favorable de zinc. L'absorption intestinale du zinc constitue une étape clé de son métabolisme car elle assure en grande partie la régulation de sa teneur dans le corps humain. De nombreux facteurs alimentaires et physiologiques modulent l'absorption et le transfert du zinc vers le compartiment sérique.

Le zinc administré sous forme de solution aqueuse à des sujets à jeun est absorbé efficacement (60-70%), cependant l'absorption à partir des aliments solides est moins efficace et varie suivant la quantité de zinc et la composition de l'aliment (Sandström, 1997 ; Brown et al., 2004 ; Hess et al., 2009).

2.1. Passage du zinc de la lumière intestinale dans le cytoplasme

L'intestin grêle est le principal site d'absorption du zinc, plus précisément au niveau du duodénum distal et du jéjunum proximal. Dans l'absorption de la lumière intestinale vers l'entérocyte, le zinc libéré durant la digestion se présente sous forme libre (Zn) ou lié à un ligand de Faible Poids Moléculaire (Zn-FPM) (**Figure I-1**). L'absorption du zinc s'effectue selon deux procédés qui impliquent un mécanisme de diffusion simple ou facilitée par un transporteur. Tous les deux sont saturables (Swinkels, 1994 ; Krebs, 2000 ; Cousins et al., 2006 ; Miller et al., 2007 ; Hambidge et al., 2010). Les voies d'absorption sont définies ci-dessus :

- ✓ voie paracellulaire : une faible proportion de zinc est absorbée passivement à travers le «Tight junction » et diffuse par convection dans le pôle séreux.
- ✓ voie transcellulaire : le mécanisme transcellulaire du zinc se fait activement ou par l'intermédiaire d'un médiateur qui est une diffusion facilitée selon un mécanisme saturable

Les mécanismes impliqués dans le transport et l'absorption du zinc sont résumés dans la **Figure I-1**(Swinkels, 1994).

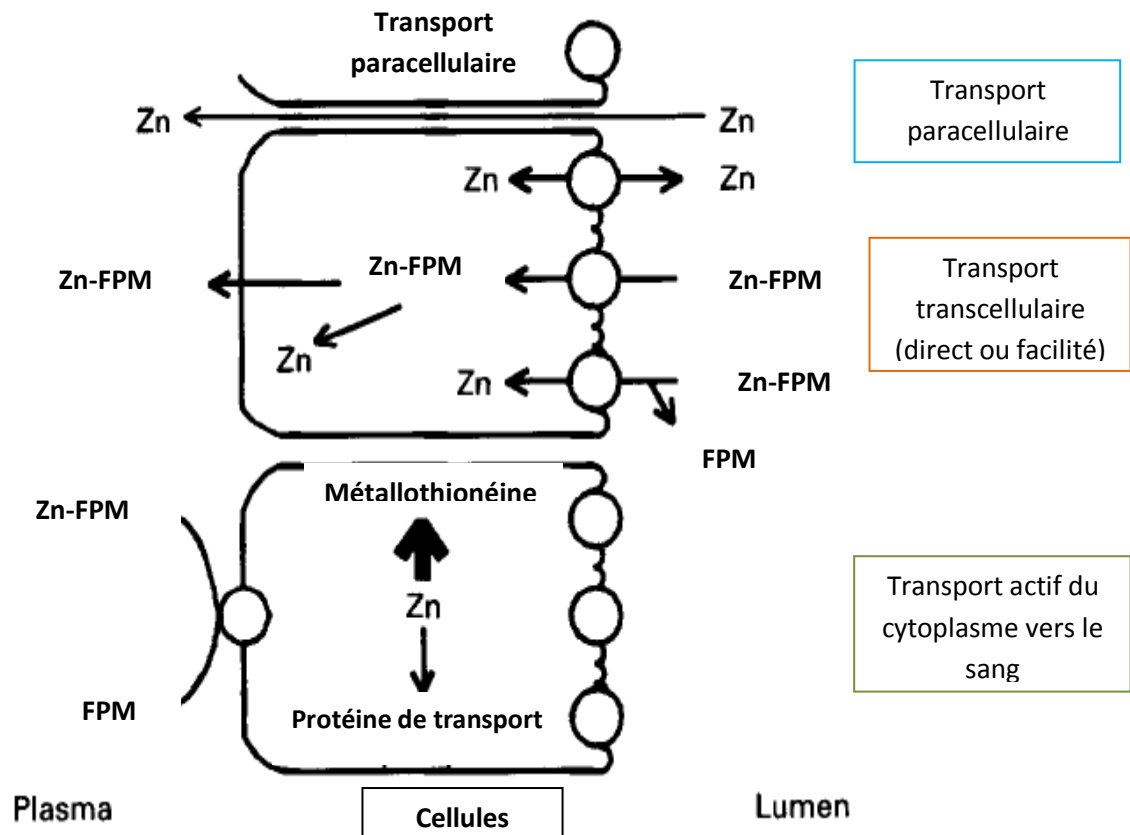


Figure I-1 : Modèle d'absorption intestinale du zinc

FPM = Molécule de Faible Poids Moléculaire

Source : Swinkels JWGM, Korengay ET, Verstegen MWA. Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. Nutrition Research Reviews 1994;7:129-49.

2.2. Le zinc dans l'entérocyte

L'absorption active du zinc s'effectue en plusieurs étapes : le zinc présent dans le milieu intraluminal entre dans l'entérocyte à travers la membrane apicale, migre à travers le cytoplasme, jusqu'à la membrane basale d'où il est transporté dans le système de circulation sanguine. Dans l'entérocyte, une partie du zinc est fixée aux métallothionéines (MT), protéines qui favorisent la captation du zinc intracellulaire et limitent son transfert vers le milieu intérieur (**Figure I-1** ; Swinkels, 1994).

Au niveau cellulaire, les processus biochimiques nécessitent un contrôle strict de la concentration et de la localisation du zinc. Cette homéostasie résulte d'une régulation coordonnée de protéines impliquées dans la captation, la sortie et la compartimentation intracellulaire du zinc. Ce sont des transporteurs membranaires des familles ZiP, ZnT et les métallothionéines (MT).

Le mouvement transcellulaire du zinc est modulé par la métallothionéine (MT) et l'apport alimentaire en zinc est directement lié au gène MT dans l'intestin. Les métallothionéines (MT) sont des protéines d'une soixantaine d'acides aminés, très riches en cystéine, dont la synthèse est induite par les glucocorticoïdes, les endotoxines et l'interleukine 1. Après pénétration à l'intérieur des entérocytes, le zinc se fixe aux MT et est ensuite transféré vers le sang par un mécanisme d'excrétion active. La synthèse des MT augmente en réponse à un apport accru de zinc alimentaire. La métallothionéine agit comme un pool de zinc extensible au sein des entérocytes qui peuvent entraver le mouvement du zinc dans ces cellules en agissant comme un tampon intracellulaire transitoire de zinc. De ce fait l'absorption du zinc diminue lorsque la quantité de zinc dans l'aliment est élevée (Dibley, 2001 ; Cousins et al., 2006).

Deux familles de protéines sont impliquées dans le transport du zinc. Il s'agit des ZiP et des ZnT protéines :

- ❖ Les membres de la famille des ZiP (Zrt-like protéines et Irt-like protéines «SLC39 » ; ZiP 1 à 14) transportent le zinc de l'espace extracellulaire et des organites intracellulaires dans le cytoplasme (Eide, 2006). Ainsi, l'effet net de ces transporteurs (ou « importateurs protéiques de zinc ») est d'augmenter le zinc cytoplasmique. Il a été démontré que le ZiP-4 est un importateur clé de zinc dans la cellule intestinale. Ce transporteur a été découvert lorsque des mutations dans le gène ZiP-4 ont été liées à la maladie génétique humaine acrodermatitis enteropathica. Cette maladie est due à une mutation autosomique récessive du gène qui code pour le ZiP-4, causant ainsi une perturbation de sa fonction de transport et une réduction de l'absorption du zinc. En conséquence les patients atteints de l'Acrodermatite entéropathique ont besoin de suppléments quotidiens de zinc durant toute la vie. Puisque les suppléments de zinc peuvent palier au problème de ces patients, il est évident qu'il existe d'autres mécanismes de transport, mais moins efficaces, dans l'entérocyte (Wang et al., 2002 ; Cousins et al., 2006 ; Hess et al., 2009) ;

- ❖ La famille des ZnT (« SLC30 ») comprend neuf membres dans le génome humain (ZnT 1 à 9). Ces transporteurs de zinc sont principalement impliqués dans l'efflux cellulaire de zinc et de l'absorption du zinc par des organites intracellulaires. Ainsi, l'effet net de ces transporteurs est de diminuer la concentration cytoplasmique de zinc. L'expression ZnT-1 dans l'intestin est régulée par le zinc alimentaire et a été impliquée dans la régulation de l'homéostasie du zinc dans l'ensemble du corps en contrôlant l'efflux de zinc à partir de l'entérocyte. La ZnT-1 peut faciliter le passage du zinc à travers la membrane basolatérale de l'entérocyte vers la circulation portale (McMahon et Cousins, 1998 ; IZiNCG, 2004; Liuzzi et Cousins, 2004 ; Hess et al., 2009).

Ces transporteurs de zinc répondent aux conditions d'exposition faible ou excessive de zinc et les changements du statut en zinc, probablement dans le but de moduler leurs effets sur les tissus et les fonctions biologiques. Par exemple, au cours de la carence en zinc, la quantité de protéines ZnT-1 dans l'intestin grêle est réduite, diminuant ainsi les pertes endogènes de zinc. De même les ZiP-4 migrent et se localisent dans l'ensemble des villosités pour maximiser l'absorption du zinc. Dans le foie, la quantité des protéines ZnT-1 est augmentée au cours de la carence en zinc, très probablement dans le but d'augmenter le zinc dans la circulation générale. D'autres tissus comme le pancréas, les muscles et les glandes mammaires répondent également aux altérations du statut en zinc (Swinkels et al., 1994 ; Cragg et al., 2005 ; Cousins et al., 2006 ; Hess et al., 2009).

Dans la **Figure I-2** extrait de l'article de Cousins en 2006, sont présentés les changements dans l'expression des gènes transporteurs du zinc en réponse à la teneur en zinc alimentaire. En effet les entérocytes augmentent l'expression de ZiP-4 lorsque l'apport alimentaire est faible, avec des ZiP-4 plus localisés dans la membrane apicale. Probablement, cela augmente l'acquisition de zinc de l'alimentation. Avec un apport adéquat en zinc, l'expression de MT est plus grande au niveau des entérocytes, et la ZiP-5 est localisée dans la membrane basolatérale. Un apport en zinc alimentaire faible diminue l'expression des ZnT-1 et ZnT-2 dans les cellules acineuses du pancréas et entraîne l'internalisation des ZiP-5 et une réduction des MT. L'apport en zinc alimentaire faible diminue aussi l'expression des ZnT-1 dans le placenta (vitellus viscérale) et les cellules mononuclées du sang périphérique. Ces événements reflètent les tentatives de restauration de l'homéostasie du zinc au cours de la restriction alimentaire en zinc par absorption intestinale accrue, avec une réduction

concomitante des pertes de zinc provenant de la sécrétion pancréatique et intestinale, couplée avec une conservation de zinc par les cellules ayant une rotation (turnover) rapide telles que celles du système immunitaire.

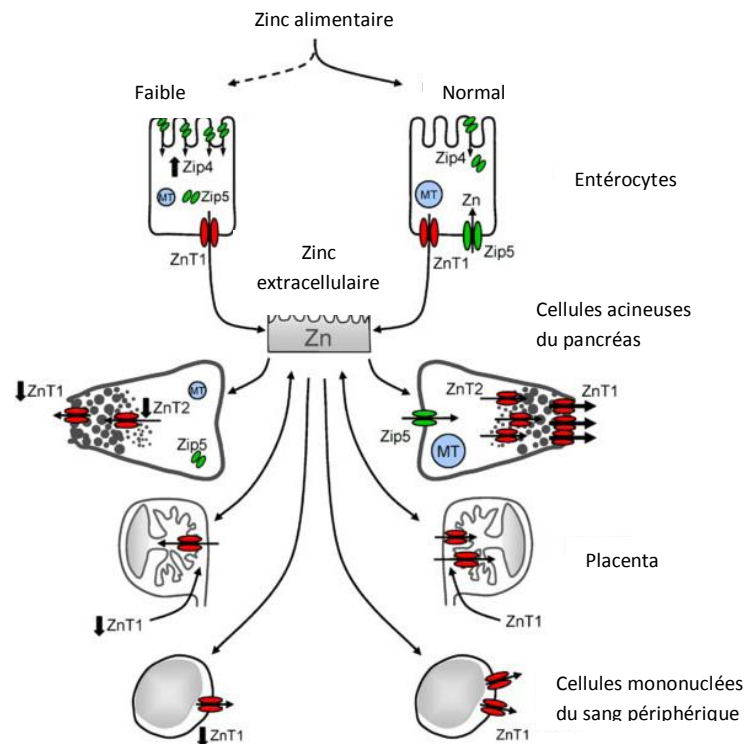


Figure I-2 : Modification de l'expression des gènes transporteurs du zinc en réponse à la teneur en zinc alimentaire

Source : Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals. *J Biol Chem* 2006;281:24085-89.

3. TRANSPORT, STOCKAGE ET REDISTRIBUTION DU ZINC DANS LE SANG ET LES AUTRES ORGANES

3.1. Circulation lymphatique et sanguine

Après son transfert de l'intestin à la circulation portale, le zinc absorbé est rapidement transporté au foie, où il est directement absorbé et libéré dans la circulation générale pour être redistribué aux tissus extra hépatiques (Cousins, 1979 ; Dibley, 2001; IZiNCG, 2004).

Une fois transporté dans la circulation générale, le zinc se lie à l'albumine (60-70%), à l' α_2 -macroglobuline (20-40%) et à d'autres protéines (5%), telles que la transferrine et la

céruleoplasmine. L'albumine étant majoritaire, toutes les conditions qui modifient sa concentration auront un effet secondaire sur le zinc sérique (Dibley, 2001; Shrimpton, 2001 ; Tor et al., 2004 ; IZiNCG, 2004). La concentration de zinc sérique diminue de concert avec l'albumine sérique durant la grossesse, due à l'expansion du volume plasmatique (hémodilution). Elle diminue aussi avec l'hypoalbuminémie qui survient durant le vieillissement et la malnutrition (IZiNCG, 2004).

Le zinc plasmatique, lié à l'albumine, représente la source principale pour alimenter les tissus en zinc. Ces tissus sont en premier le foie, puis les autres organes producteurs d'enzymes et de protéines dépendantes du zinc et les tissus de stockage. Le foie est considéré à la fois comme organe de distribution du zinc, de stockage et de détoxification (par la sécrétion via la bile).

3.2. Teneur en zinc dans l'organisme

Les Apports en zinc proviennent des aliments et des sécrétions digestives endogènes. Des quantités considérables de zinc sont sécrétées dans la lumière intestinale durant la phase postprandiale provenant des sécrétions pancréatiques et intestinales. Après un repas, plus de 50% du zinc contenu dans la lumière intestinale provient des sécrétions endogènes (Dibley, 2001). L'intestin doit donc récupérer des quantités appropriées de zinc provenant de sources à la fois alimentaires et endogènes pour maintenir un équilibre favorable de zinc (Cousins et al., 1996). La quantité totale de zinc endogène sécrétée peut dépasser la quantité consommée dans l'alimentation. Cependant, une grande partie du zinc qui est sécrétée dans l'intestin est réabsorbée par la suite. Ces processus de sécrétion et de réabsorption sont tous les deux régulés et ont un rôle important dans l'hémostasie du zinc. L'apport de zinc exogène est contrebalancé par des pertes, notamment fécales et urinaires (Brow et al., 2001 ; Krebs et al., 2003 ; Hambidge et al., 2010).

La teneur en zinc dans l'organisme adulte varie de 1,5 à 2,5 g (23-38 mmol), avec des quantités moyennes plus élevées chez les hommes que chez les femmes. Le zinc est présent dans tous les organes, tissus, liquides et sécrétions du corps. Cependant, la plupart du zinc est localisée dans la masse maigre, avec environ 30 mg de zinc/kg de tissu. La majorité du zinc est intracellulaire (> 95 %). Il est estimé que 83% du zinc total du corps se situe dans les muscles squelettiques et les os, 3% dans le foie, 2% dans la peau et 1% dans le sang total (Iyengar, 1998). La concentration en zinc des liquides extracellulaires est basse. Dans

l'appareil circulatoire, 75% du zinc présent dans le sang total se trouve dans les érythrocytes (fixé à l'anhydrase carbonique) et 10 à 20 % dans le plasma (principalement lié à l'albumine) (Dibley, 2001). Lorsque la teneur en zinc totale du corps est réduite, les pertes de zinc au niveau des tissus ne sont pas uniformes. Les quantités dans le muscle squelettique, la peau et le cœur sont maintenues, alors que les teneurs en zinc baissent au niveau des os, du foie, des testicules et du plasma (Hotz et Brown, 2004).

IV. FACTEURS INFLUENÇANT LA BIODISPONIBILITE DU ZINC

Plusieurs facteurs physiologiques notamment la quantité de zinc alimentaire et le statut en zinc, déterminent la quantité de zinc absorbée et l'efficacité de l'absorption (Shrimpton, 2001 ; WHO, 2004 ; Hambidge et al., 2010). L'absorption dépend aussi de l'intégrité de la paroi intestinale interne, de la qualité du repas (absorption plus importante en présence de protéines animales) et de la présence de certaines substances organiques. La fraction de zinc absorbée (FZA) qui est le rapport entre la quantité de zinc absorbée de l'aliment et le zinc alimentaire total, varie entre 15% et 35% chez l'adulte et est influencée principalement par la quantité de zinc et la teneur en phytates (inhibe l'absorption du zinc) de l'aliment (Shrimpton, 2001 ; Miller et al., 2007 ; Hess et al., 2009).

1. ACTIVATEURS DE L'ABSORPTION DU ZINC

1.1. Les protéines

La quantité et le type de protéines dans l'aliment peuvent affecter l'absorption du zinc. La quantité de protéines dans un repas est positivement corrélée à l'absorption du zinc. Plusieurs études portant sur la quantité de zinc absorbée et les sources variables de protéines, ont trouvé que la fraction absorbable du zinc augmente de façon linéaire avec l'augmentation de la teneur en protéines (Sandström et al., 1989 ; Sandström & Sandberg, 1992). Le type de protéines dans un repas peut aussi affecter la biodisponibilité du zinc. En général, l'absorption du zinc est plus élevée dans les aliments riches en protéines animales que dans ceux riches en protéines végétales (IOM, 2006). Il a été démontré que les protéines animales peuvent contrecarrer l'effet inhibiteur des phytates sur l'absorption du zinc, mais cela peut être dû aux acides aminés libérés de la protéine qui chélatent le zinc et augmentent sa solubilité, plutôt qu'à un effet unique des protéines animales (Lönnerdal, 2000). La biodisponibilité du zinc nettement plus élevée dans le lait humain que celui du lait de vache est un exemple de la

façon dont la digestibilité des protéines (beaucoup plus faible dans le lait de vache riche en caséine que dans le lait humain), influence l'absorption du zinc (IOM, 2006). Il a été montré que la caséine dans le lait avait un effet négatif sur l'absorption du zinc (Lönnerdal, 2000).

1.2. Quantité de zinc alimentaire

La quantité de zinc contenue dans un aliment aura une incidence sur l'absorption du zinc. Des études portant sur l'absorption du zinc indiquent une relation inverse entre le pourcentage d'absorption et la quantité de zinc ingérée (Krebs, 2000). Ainsi avec des quantités élevées de zinc alimentaire, la fraction de zinc absorbée sera réduite (Lönnerdal, 2000). L'efficacité de l'absorption du zinc diminue rapidement avec une augmentation progressive du zinc ingéré. (Hambidge et al., 2005, 2010 ; Hess et al., 2009). Il est probable que la réduction de la fraction de zinc absorbable à des doses plus élevées, est due à la saturation des mécanismes de transport du zinc. Si l'homéostasie du zinc était efficace à 100%, la quantité de zinc absorbée coïnciderait avec la ligne de l'égalité pour le zinc absorbé par rapport au zinc ingéré (**Figure I-3**) jusqu'à ce que les besoins physiologiques soient couverts, point à partir duquel la ligne serait horizontale. La modélisation de la réponse de saturation indique que la quantité de zinc absorbée se rapproche de cette ligne de l'égalité seulement à de très faibles quantités de zinc ingérées, suivie par un déclin progressif dans l'efficacité de l'absorption du zinc quand la quantité de zinc ingérée par jour augmente (Hambidge et al., 2010).

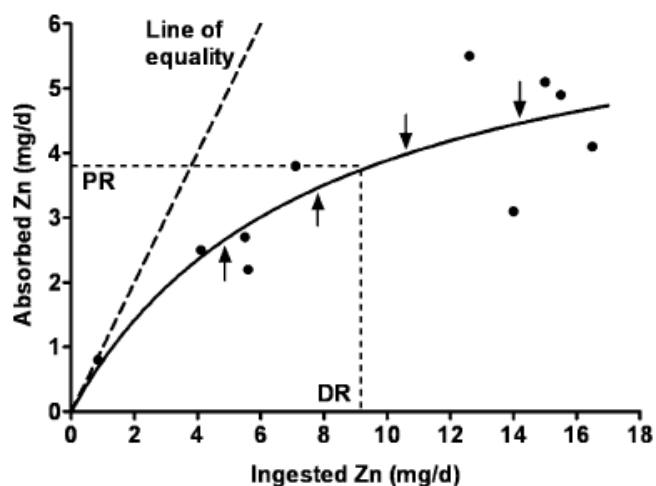


Figure I-3 : Modèle de réponse de saturation du zinc total absorbé par jour en fonction du zinc total ingéré

Les données modélisées sont les moyennes de 10 séries de jeunes adultes en bonne santé, utilisées dans l'estimation des apports nutritionnels de référence pour le zinc par l'Institute of Medicine. La ligne d'égalité (line of equality) pour le zinc absorbé par rapport au zinc ingérée est également représentée. Les flèches représentent la régulation (augmentation et diminution) théorique des transporteurs de zinc dans les entérocytes. PR = besoins physiologiques pour les hommes estimés par l'Institute of Medicine ; DR = besoins moyens de zinc alimentaire estimée à partir de ce modèle, une estimation qui est essentiellement identique aux Besoins Moyens Estimés (EAR).

Source : Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Sheng X, Krebs NF. Zinc bioavailability and homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2010;91:S1478-83.

1.3. Formes de zinc

Le zinc intraluminal est présent sous différentes formes après un repas à la suite des processus digestifs qui libèrent le zinc provenant des aliments ingérés et des sécrétions endogènes. Le zinc libre forme des complexes avec des ligands tels que les acides aminés, les phosphates et autres acides organiques. Divers sels de zinc sont utilisés pour la supplémentation et/ou la fortification des aliments (krebs, 2000).

Il existe cinq composés de zinc répertoriés comme GRAS (Generally Recognized As Safe) par le US Food and Drug Administration (FDA) et qui peuvent être utilisés dans la fortification des aliments. Il s'agit du sulfate de zinc, chlorure de zinc, gluconate de zinc,

oxyde de zinc et du stéarate de zinc. Deux facteurs que sont la solubilité/dissolution et le pH intragastrique, influencent l'absorption intestinale de ces composés de zinc (Salgueiro et al., 2002 ; Gibson et al., 1998).

Les sels de zinc varient selon leur solubilité dans l'eau et vont du très soluble (acétate de zinc, chlorure de zinc, gluconate de zinc et sulfate de zinc), de légèrement soluble (citrate de zinc et lactate de zinc) à insoluble dans l'eau (carbonate de zinc, stéarate de zinc et oxyde de zinc). Les composés solubles dans l'eau sont généralement mieux absorbés que les composés moins solubles ou insolubles (IZiNCG, 2004). Cependant plusieurs études de fortification utilisant des radio-isotopes stables n'ont trouvé aucune différence dans l'absorption du zinc à partir des produits du blé enrichis en oxyde de zinc ou en sulfate de zinc chez des écoliers indonésiens (Herman et al., 2002), des adultes américains (López de Romaña et al., 2003) et des femmes mexicaines (Hotz et al., 2005).

2. INHIBITEURS DE L'ABSORPTION DU ZINC

2.1. Les phytates

Les phytates présents en quantités variables dans les produits végétaux, les céréales et les légumineuses avec des niveaux particulièrement élevés, sont considérés comme étant des inhibiteurs de l'absorption du zinc. En effet les phytates (myo-inositol hexaphosphate) avec leurs groupes phosphates de haute densité chargés négativement, se lient au zinc dans le tractus gastrointestinal et forment des complexes peu solubles qui donnent lieu à une absorption réduite du zinc. La fraction de zinc absorbée est négativement associée à la teneur en phytates (Krebs, 2000). L'effet inhibiteur des phytates sur l'absorption du zinc semble suivre une réponse dose-dépendante (Fredlund et al., 2006). Les teneurs élevées en phytates dans l'aliment diminuent l'absorption du zinc contenu dans cet aliment (Lönnerdal, 2000 ; López de Romaña et al., 2003 ; IZiNCG, 2004 ; Miller et al., 2007 ; Brown et al., 2007, 2010 ; Gibbs et al., 2011).

Le rapport molaire phytates:zinc dans l'aliment a été utilisé pour estimer la proportion de zinc absorbable. Ce rapport est calculé comme suit : $(\text{mg phytate}/660) / (\text{mg zinc}/65.4)$ où 660 et 65.4 représentent les poids moléculaires de phytate et de zinc, respectivement. Trois niveaux d'absorption des repas ont été définis par l'OMS à partir de ce rapport molaire. L'absorption du zinc est considérée élevée, modérée ou faible lorsque le rapport molaire phytates:zinc est respectivement < 5 , se situe entre 5 et 15 ou > 15 (WHO, 2004 ; Allen et al.,

2006 ; Gibson et Anderson, 2009). Dans l'échelle globale, les aliments à base de plantes avec un rapport molaire phytates:zinc élevé sont considérés comme étant des facteurs majeurs qui contribuent à la carence en zinc (Gibson, 1994).

2.2. Les minéraux

Des interactions compétitives peuvent se produire entre le zinc et les autres minéraux qui ont des propriétés physiques et chimiques similaires, tels que le fer et le cuivre. Lorsqu'ils sont présents en grandes quantités (sous forme de suppléments) ou en solution aqueuse, ces minéraux réduisent l'absorption du zinc. Cependant aux niveaux présents dans les aliments habituels et ceux fortifiés, l'absorption du zinc ne semble pas être affectée par le fer ou le cuivre. L'effet inhibiteur du fer sur l'absorption du zinc n'est pas observé lorsque les deux sont consommés ensemble dans un aliment (Fairweather-Tait et al., 1995 ; Lönnerdal, 2000 ; Lind et al., 2003 ; WHO, 2004 ; Allen et al., 2006 ; IOM, 2006 ; Wasantwisut et al., 2006). De même une consommation modérée de cuivre n'interfère pas avec l'absorption du zinc lorsque l'apport de ce dernier est satisfaisant (Lönnerdal, 2000). Par contre, des niveaux élevés de calcium alimentaire (> 1g/jour), consommés par certains individus, peuvent inhiber l'absorption du zinc, surtout en présence de phytates (Lönnerdal, 2000 ; IOM, 2006).

V. EXCRETION DU ZINC

Le zinc peut apparemment être absorbé à tous les niveaux de l'intestin grêle. La quantité de zinc endogène fécale joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie du zinc et est déterminée par la quantité de zinc récemment absorbée et le statut en zinc (Krebs & Hambidge, 2001, Krebs et al., 2003). L'excrétion fécale de zinc endogène est positivement corrélée avec l'absorption du zinc alimentaire exogène. Lorsque ce dernier est faible, les pertes endogènes dans les fèces sont faibles (Krebs et al., 1995). Le zinc est excrété du corps principalement dans les fèces. Les pertes normales de zinc varient de moins de 1mg/jour à 5mg/jour lorsque l'alimentation est respectivement pauvre ou riche en zinc. Les pertes par voie urinaire représentent seulement une fraction (moins de 10%) des pertes normales de zinc, bien qu'elles puissent augmenter dans certaines conditions telles que la faim ou le traumatisme. Les autres voies d'excrétion comprennent la desquamation des cellules épithéliales, la sueur, le sperme, les cheveux et la menstruation, qui ensemble représentent

environ 17% des pertes totales de zinc (King et al., 2000 ; IZiNCG, 2004 ; IOM, 2006 ; Schlegel, 2010) (**Figure I-4**).

Les mécanismes d'excrétion contribuent à l'homéostasie du zinc. Toutefois, la régulation de l'absorption du zinc par les transporteurs du zinc, en association avec le processus de cinétique de saturation au niveau de l'entérocyte, constitue le principal moyen par lequel l'homéostasie du zinc est maintenue.

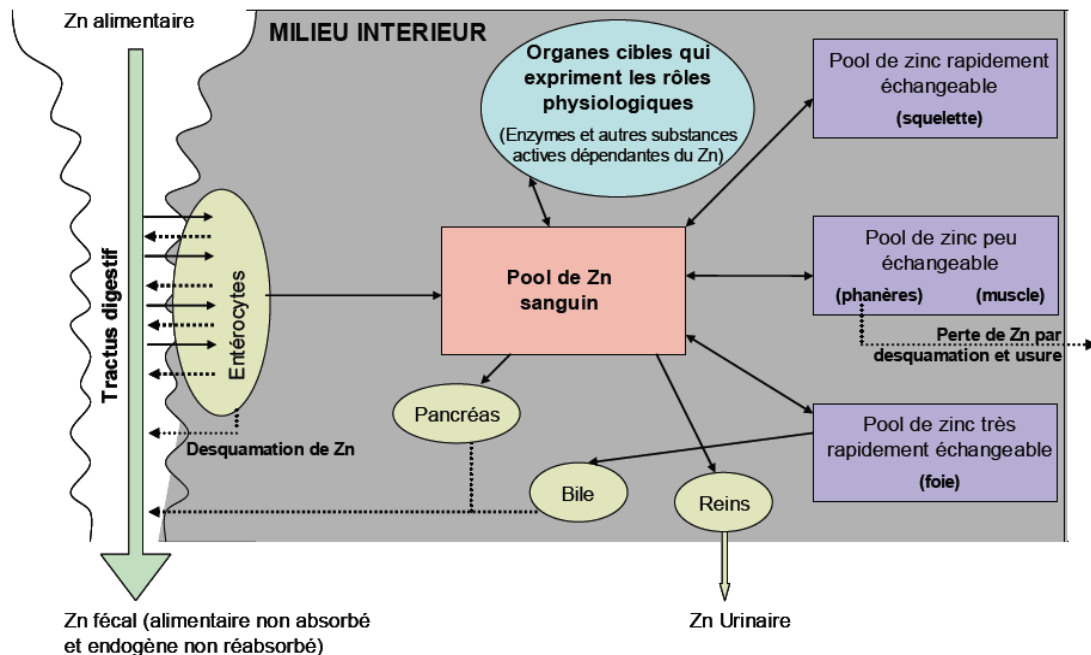


Figure I-4 : Flux corporels de zinc

Source : SCHLEGEL P. Facteurs de variation de la biodisponibilité du zinc, ajouté sous forme organique ou inorganique, chez deux espèces monogastriques en croissance (poulet et porcelet). Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech) de Paris, Thèse de Doctorat en Nutrition Animale, 2010 ; 177P.

Accessible au : http://pastel.archives-ouvertes.fr/docs/00/53/64/07/PDF/These_Schlegel.pdf

VI. BESOINS ET APPORT EN ZINC

Les besoins en zinc physiologique et pour la plupart des groupes d'âge, sont estimés à partir de la technique factorielle, qui consiste à additionner les besoins en zinc pour la croissance des tissus, l'entretien, le métabolisme et les pertes endogènes (WHO/FAO, 2004 ; Hotz et McClafferty, 2007). Le besoin physiologique moyen en zinc est la quantité de zinc qui doit être absorbée pour compenser la quantité de zinc endogène perdue de tous les sites

intestinaux et non intestinaux. Les sources de perte de zinc non intestinal incluent l'urine, les « pertes de surface » (peau desquamée, cheveux, ongles, sueur), et chez les adolescents et les adultes, le sperme ou le flux menstruel. D'autres besoins supplémentaires comprennent la quantité de zinc accumulée dans les tissus chez les enfants en croissance et les femmes enceintes et le zinc transféré dans le lait maternel chez les femmes allaitantes (IZiNCG, 2004 ; Hotz et McClafferty, 2007).

1. ESTIMATION DES BESOINS PHYSIOLOGIQUES EN ZINC ABSORBE

Comme indiqué précédemment les besoins physiologiques en zinc peuvent être définis comme la quantité de zinc qui doit être absorbée pour contrebalancer les pertes totales en zinc endogène à travers toutes les voies d'excrétion, plus la quantité de zinc retenue dans les tissus nouvellement synthétisés. Ainsi, il est nécessaire de déterminer les pertes physiologiques en zinc pour l'estimation des besoins. L'OMS/FAO/AIEA et le FNB/IOM ont réuni des comités d'experts pour établir des estimations des besoins en zinc et proposer les apports alimentaires correspondants qui sont nécessaires pour satisfaire ces besoins (WHO/FAO, 2004). En 2004, IZiNCG a présenté une revue critique des données et modèles spécifiques utilisés par ces comités pour déduire des estimations (IZiNCG, 2004 ; Hotz et McClafferty, 2007). Les estimations des besoins physiologiques en zinc absorbé chez les enfants sont décrites ci-dessus.

➤ Chez les enfants

Peu d'informations sont disponibles sur les besoins physiologiques en zinc absorbé chez les nourrissons âgés de moins de 6 mois. Le comité FNB/IOM n'a pas estimé les besoins physiologiques en zinc pour ce groupe, mais a plutôt décrit des apports adéquats (2 mg/j) basés sur la quantité moyenne de zinc provenant du lait maternel. En revanche, les comités de l'OMS ont développé des estimations des besoins en zinc physiologiques des jeunes enfants en extrapolant les données pour les adultes concernant le taux métabolique, puis en ajoutant la quantité de zinc incorporé dans les tissus nouvellement synthétisés. En utilisant cette approche, les comités de l'OMS ont suggéré que les besoins de zinc absorbé chez les enfants d'âge 0-5 mois varie de 0,7 à 1,3 mg /jour, selon l'âge et le sexe. En considérant ces informations, l'IZiNCG estime que le lait maternel est une source suffisante de zinc jusqu'à 6 mois pour les enfants exclusivement allaités, nés à terme avec un poids de naissance adéquat. Cependant les enfants non exclusivement allaités au sein ont besoin d'absorber

approximativement 1,3 mg/j et 0,7 mg/j durant respectivement les trois premiers mois et les 3 à 5 mois de leur vie.

Chez les enfants âgés de 6 mois à 18 ans, les besoins physiologiques en zinc absorbé sont évalués par une approche factorielle basée sur les pertes intestinales et non intestinales de zinc endogène mais aussi sur la quantité de zinc pour les besoins de croissance. Les données sont extrapolées à partir des adultes et les estimations sont basées sur les éléments suivants : pertes urinaires, 0,0075 mg/kg/j ; pertes de surface, 0,0065 mg/kg/j ; pertes intestinales, 0,05 mg/kg/j pour les nourrissons de 6 à 12 mois et 0,02 mg/kg/j pour les enfants de 1 an et plus (**Tableau I-2**).

Tableau I-2 : Besoins physiologiques en zinc absorbé pendant l'enfance par groupe d'âge et de sexe, la grossesse et l'allaitement définis par les comités d'experts de l'OMS, le FNB/IOM et revue par l'IZINCG

OMS			FNB/IOM			Révision suggérée par IZINCG		
Age, sexe	Poids de référence (kg)	Besoins physiologiques (mg/jour)	Age, sexe	Poids de référence (kg)	Besoins physiologiques (mg/j)	Age, sexe	Poids de référence (kg)	Besoins physiologiques (mg/jour)
6-12 mois	9	0,84	7-12 mois	9	0,84	6-11 mois	9	0,84
1-3 ans	12	0,83	1-3 ans	13	0,74	1-3 ans	12	0,53
3-6 ans	17	0,97	4-8 ans	22	1,20	4-8 ans	21	0,83
6-10 ans	25	1,12						
10-12 ans, M	35	1,40	9-13 ans	40	2,12	9-13 ans	38	1,53
10-12 ans, F	37	1,26						
12-15 ans, M	48	1,82						
12-15 ans, F	48	1,55						
15-18 ans, M	64	1,97	14-18 ans, M	64	3,37	14-18 ans, M	64	2,52
15-18 ans, F	55	1,54	14-18 ans, F	57	3,02	14-18 ans, F	56	1,98
Grossesse	-	2,27	Grossesse (1, 2 et 3 ^{ième} trimestre)	-	4,12, 4,42, 5,02	Grossesse	-	2,68
Allaitement	-	2,89	Femme allaitante (0-3, 3-6, 6-12 mois)	-	4,92, 3,82, 4,52	Allaitement	-	2,98

Source : International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG), Hotz C, Brown KH. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food Nutr Bull 2004;25(suppl 2):S99-203.

2. APPORTS RECOMMANDÉS EN ZINC ALIMENTAIRE

Le Food and Nutrition Board de l'Institute of Medicine (FNB/IOM) a publié des apports nutritionnels de référence sur le zinc basés sur quatre valeurs nutritionnelles de référence pour diverses applications que sont : les Besoins Moyens Estimés « Estimated Average Requirement » (EAR), les Apports Nutritionnels Recommandés « Recommended Dietary Allowances » (RDA), les Apports Adéquats « Adequate Intakes » (AI) et les Niveaux d'Apports Maximum Tolérables « Tolerable Upper Levels » (TUL) (IOM, 2006) (**Tableau I-3**).

2.1. Besoins Moyens Estimés (BME)

Les Besoins Moyens Estimés sont les niveaux d'apports en éléments nutritifs qui répondent aux besoins de 50 % des individus sains dans un groupe d'âge et de sexe. L'EAR peut être utilisé pour examiner la probabilité que l'apport habituel est inadéquat pour les individus.

2.2. Apports Nutritionnels Recommandés (ANR)

Les Apports Nutritionnels Recommandés, sont les niveaux quotidiens moyens d'apport alimentaire qui sont suffisants pour répondre à la quasi-totalité des besoins nutritionnels (97 à 98%) des individus en bonne santé dans un groupe de population (groupe d'âge/ état physiologique). Pour le zinc, l'ANR est égal au BME + 2 écart type lorsque la distribution est normale et peut être utilisé comme guide pour l'apport quotidien par personne.

2.3. Apports Adéquats (AA)

Pour les nourrissons âgés de 0 à 6 mois, un Apport Adéquat plutôt qu'un Besoin Moyen Estimé a été mis en place. L'apport adéquat est basé sur l'apport de zinc maternel pour un enfant exclusivement allaité au sein.

2.4. Apports Maximum Tolérables (AMT)

L'Apport Maximum Tolérable est le niveau moyen le plus élevé de l'apport quotidien en zinc qui ne présente aucun risque d'effets nocifs sur la santé de presque toutes les personnes dans la population générale. En effet les individus peuvent être exposés à de fortes doses de zinc soit par la supplémentation en zinc ou par le contact avec le zinc environnemental. Il est admis que le zinc a une faible toxicité, cependant, des symptômes

d'intoxication aiguë (nausée, troubles digestifs, diarrhée, fièvre, léthargie et fatigue) peuvent être observés lorsque des doses élevées de zinc (environ 1 g) sont consommées. Par ailleurs, lorsque la quantité de zinc consommée dépasse faiblement les besoins physiologiques, l'homéostasie peut être maintenue par une élimination du zinc endogène par voie fécale et urinaire. Cependant la supplémentation à long terme avec des doses élevées de zinc (300 mg/j) peut réduire l'absorption du cuivre, les fonctions du système immunitaire et le niveau des lipoprotéines à haute densité (HDL) (Fosmire, 1990 ; Brown et al., 2001 ; IZiNCG, 2004).

Tableau I-3 : Apports recommandés en zinc alimentaire selon le groupe d'âge et l'état physiologique par l'IOM

Groupe âge	Apports alimentaires de référence (mg/jour)				AA/AI ³	AMT/TULs ⁴
	BME/EAR ¹		ANR/RDA ²			
	Garçon	Fille	Garçon	Fille		
0 - 6 mois					2	4
7 - 12 mois	2,5	2,5	3	3		5
1 - 3 ans	2,5	2,5	3	3		7
4 - 8 ans	4,0	4,0	5	5		12
9 - 13 ans	7,0	7,0	8	8		23
14 - 18 ans	8,5	7,3	11	9		34
19 - 50 ans	9,4	6,8	11	8		40
≥ 51 ans	9,4	6,8	11	8		40

Source : Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary reference intakes. The essential guide to nutrient requirements. Washington, DC: National Academy Press, 2006.

¹Besoins Moyens Estimés (BME/EAR)

²Apports Nutritionnels Recommandés (ANR/RDA)

³Apport Adéquat (AA/AI)

⁴L'Apports Maximum Tolérables (AMT/TULs)

La nature de l'alimentation (à savoir son contenu en activateurs et en inhibiteurs de l'absorption du zinc) détermine la fraction de zinc alimentaire qui est potentiellement absorbable. L'OMS/FAO, en tenant compte de la relation entre l'efficacité de l'absorption du zinc et la teneur en zinc différant d'un régime à l'autre suivant le niveau de biodisponibilité du zinc, ont défini des apports nutritionnels de référence basés sur les mêmes applications que l'IOM à l'exception des Apports Adéquats (**Tableau I-4**).

Tableau I-4 : Apports recommandés en zinc alimentaire selon le groupe d'âge et l'état physiologique par l'OMS/FAO

Apports alimentaires de référence (mg/jour) ¹								
Biodisponibilité								
Age, sexe	RDA	EAR	RDA	EAR	RDA	EAR	Age	TUL _s
1-3 ans	2,4	2,0	4,1	3,4	8,3	6,9	1-3 ans	7
4-6 ans	2,9	2,4	4,8	4,0	9,6	8,0	4-8 ans	12
19-50 ans, F	3,0	2,5	4,9	4,1	9,8	8,2	9-13 ans	23
Femme enceinte (2 ^{nde} trimestre)	4,2	3,5	7,0	5,8	14,0	11,7	-	
Femme allaitante (0-3 mois)	5,8	4,8	9,5	7,9	19,0	15,8	-	
19-50 ans, M	4,2	3,5	7,0	5,8	14,0	11,7	19-70 ans	45

Source : Allen L, Benoist B, Dary O, Hurrell R. Guidelines on Food Fortification with Micronutrients. World Health Organization, Food and Agricultural Organization at the United nations, 2006. (Dernier accès Mars 2012).

Internet: <http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241594012/en/>.

¹L'apport alimentaire de référence dépend de la composition du régime alimentaire. La biodisponibilité du zinc est élevée dans les régimes riches en protéines animales, modérée dans les régimes riches en légumineuses et légumes secs ou ceux qui contiennent des céréales fermentées et faible dans les régimes pauvres en protéines animales ou en aliments végétaux riches en zinc.

CHAPITRE II

**INDICATEURS DU STATUT EN ZINC ET STRATEGIES
DE LUTTE ET DE PREVENTION DE LA CARENCE EN
ZINC**

I. INDICATEURS DU STATUT EN ZINC

L'estimation de la prévalence globale de carence en zinc, nécessite de disposer d'indicateurs précis et facilement mesurables du statut en zinc ou du risque de carence en zinc d'une population donnée. Conjointement, l'OMS, l'UNICEF, l'AIEA et l'IZiNCG recommandent l'utilisation d'indicateurs biochimiques (Concentration de zinc dans le plasma ou le sérum), alimentaires (Apport alimentaire en zinc) et fonctionnels (Prévalence du retard de croissance) pour évaluer le statut en zinc d'une population ou le risque d'une consommation insuffisante en zinc (Benoist et al., 2007 ; IZiNCG, 2007). Idéalement ces trois indicateurs doivent être utilisés ensemble pour obtenir une meilleure estimation du risque de carence en zinc dans une population et pour identifier les sous-groupes à risque élevé. Ces indicateurs recommandés devraient aussi être appliqués pour l'évaluation nationale du statut en zinc et pour estimer la nécessité d'interventions pour lutter contre la carence en zinc (Benoit et al., 2007).

1. CONCENTRATION DE ZINC DANS LE PLASMA OU LE SERUM (INDICATEUR BIOCHIMIQUE)

La concentration de zinc dans le plasma ou le sérum est l'indicateur le plus utilisé pour évaluer le statut en zinc d'un individu ou d'une population. Plusieurs études ont montré que la concentration de zinc plasmatique ou sérique est un bio-indicateur de l'apport alimentaire en zinc (Hess et al., 2007 ; Brown et al., 2009 ; Lowe et al., 2009), qui répond de manière dose-dépendante à la supplémentation en zinc (Lowe et al., 2009 ; Wuehler et al., 2008). De même des études portant sur la restriction et l'augmentation du zinc alimentaire ont trouvé une forte corrélation entre la variation de la quantité totale de zinc dans le corps et la variation de la concentration de zinc plasmatique (Lowe, 2004). En effet la concentration de zinc dans le plasma ou le sérum est considérée comme le meilleur marqueur biologique disponible du risque de carence en zinc des populations. Et conjointement, l'OMS, l'UNICEF, l'AIEA et l'IZiNCG recommandent la mesure de la concentration de zinc dans le sérum ou le plasma pour l'évaluation du statut en zinc d'une population (OMS, UNICEF, AIEA et IZiNCG, 2007).

L'utilisation de la concentration de zinc plasmatique pour évaluer le statut en zinc, nécessite la prise en considération de plusieurs facteurs indépendamment du statut en zinc, qui peuvent l'influencer et affecter son interprétation (Brown et al., 2004 ; Hotz et al., 2003). Il s'agit entre autre de la présence d'infections et d'inflammations (Falchuk, 1977 ; Wade et al.,

1988 ; Brown, 1998 ; Wieringa et al., 2002 ; Duggan et al., 2005), l'état de jeûne, les rythmes circadiens, l'âge, le sexe, l'état physiologique et l'utilisation des contraceptifs hormonaux (English et al., 1988 ; King et al., 1994 ; Hotz et al., 2003 ; Brown et al., 2004 ; IZINCG, 2007 ; Arsenault et al., 2010). Ainsi la concentration de zinc plasmatique doit être combinée à la mesure des protéines aiguës de la phase inflammatoire dont l'alpha-1 Acide Glycoprotéine (AGP) et la Protéine C-Réactive (CRP) (Falchuk, 1977 ; Brown, 1998 ; Wieringa et al., 2002 ; Duggan et al., 2005). De même plusieurs questions techniques importantes doivent être prises en compte pour une utilisation correcte de la concentration de zinc sérique comme indicateur du statut en zinc. Il s'agit de la collecte des échantillons, l'analyse en laboratoire et l'interprétation des données (Hotz et Brown, 2004, IZiNCG, 2007). Les données de référence appropriées pour l'âge, le sexe, l'heure de la journée, l'état de jeûne et l'état physiologique sont disponibles et sont présentées dans le **Tableau II-1**.

Tableau II-1 : Seuils inférieurs proposés pour la concentration de zinc dans le sérum ($\mu\text{g/dL}$) selon le groupe d'âge, le sexe, l'heure de la journée et le temps écoulé depuis le dernier repas

Heure de la journée et état de jeûne	Concentration de zinc dans le sérum (ou plasma), $\mu\text{g/dL}^1$ ($\mu\text{mol/L}$)			
	< 10 ans	≥ 10 ans		
	Garçons et filles	Femmes		Hommes
		Femmes non enceintes	Femmes enceintes	
Matin, à jeun ²	Non disponible	70 (10,7)	1 ^{ère} trimestre :	74 (11,3)
Matin, non à jeun	65 (9,9)	66 (10,1)	56 (8,6) 2 nd /3 ^{ième} trimestre :	70 (10,7)
Après-midi, non à jeun	57 (8,7)	59 (9,0)	50 (7,6)	61(9,3)

Source : International Zinc Nutrition Consultative Group. Assessing population zinc status with serum zinc concentration. Davis, CA: IZiNCG, 2007. (IZiNCG Technical Brief no. 2.)

¹Pour convertir en $\mu\text{mol/L}$, diviser par 6,54.

²L'état de jeûne est défini quand aucun aliment solide ou boisson n'est consommé depuis au moins 8 heures.

Si plus de 20 % de la population (ou d'un sous-ensemble de la population) présentent une concentration en zinc dans le sérum en dessous du seuil fixé, l'IZiNCG recommande de

considérer l'ensemble de cette population (ou du sous- ensemble) comme présentant un risque de carence en zinc (IZiNCG, 2004, 2007).

2. APPORT ALIMENTAIRE EN ZINC (INDICATEUR ALIMENTAIRE)

Etant donné que l'apport alimentaire insuffisant en zinc est la cause la plus probable de la carence en zinc, l'évaluation des apports alimentaires va constituer un élément important dans l'estimation du risque de carence en zinc. Les résultats obtenus avec cette méthode doivent être interprétés conjointement avec ceux tirés des autres indicateurs pour faciliter l'interprétation du risque de carence en zinc dans la population (IZiNCG, 2004).

L'évaluation de la consommation alimentaire en zinc requiert :

- une mesure quantitative de l'apport alimentaire d'un échantillon représentatif de la population,
- la connaissance de la teneur en zinc des aliments,
- et l'estimation de l'absorption du zinc alimentaire.

L'apport alimentaire peut être mesuré soit par un registre de pesées alimentaires au niveau du ménage ou par des rappels de 24h. La méthode des pesées nécessite la mesure de la quantité de chaque aliment consommé pendant une période d'un jour. Par contre le rappel de 24h est une méthode alternative et elle nécessite un rappel de la taille exacte des portions d'aliments consommées. Le registre des pesées alimentaires est généralement la méthode la plus précise pour mesurer l'apport alimentaire. Dans les pays à faibles revenus, le registre des pesées alimentaires est souvent la méthode de choix pour des populations illettrées.

Une fois que l'apport alimentaire quotidien est connu, l'apport de zinc total peut être estimé en multipliant les quantités de chacun des aliments qui sont consommés par leur teneur en zinc, comme enregistré dans les tables de composition des aliments locaux ou dans les bases de données disponibles à l'échelle internationale. En plus de l'apport total en zinc, le rapport molaire phytate:zinc ou les équations disponibles pour prédire l'absorption du zinc peuvent être utilisés pour estimer le pourcentage de zinc biodisponible et par conséquent la quantité de zinc absorbable pour chaque individu (Brown et al., 2001 ; IZiNCG, 2004, 2007 ; Miller, 2007 ; Gibson et Ferguson, 2008).

On considère que le risque d'une carence en zinc est élevé et représente un problème de santé publique quand la prévalence d'apports inadéquats en zinc (inférieurs au Besoins Moyens Estimés) est > 25% (IZiNCG, 2004, 2007).

3. PREVALENCE DU RETARD DE CROISSANCE (INDICATEUR FONCTIONNEL)

Il est établi que la carence en zinc est un facteur limitant de la croissance des enfants. Les résultats d'une méta-analyse regroupant plus d'une trentaine d'études et portant sur l'effet de la supplémentation en zinc sur la croissance des enfants ont montré un impact significatif des interventions sur la taille des enfants. Dans ces études, les réponses à la supplémentation en zinc sont significativement plus élevées lorsque les enfants sont atteints de retard de croissance défini comme un $T(A) < -2$ z-scores (Brown et al., 2002 ; IZiNCG, 2004). Par contre aucun effet significatif de la supplémentation n'a été observé dans les études dont la majorité des participants n'ont pas de retard de croissance. Ces résultats indiquent que les enfants avec de faibles indices taille-pour-âge sont susceptibles d'avoir une carence en zinc, et de plus, ils suggèrent que la prévalence nationale de retard de croissance chez les enfants âgés de moins de 5 ans peut être utilisée comme indicateur indirect du risque de carence en zinc d'une population (IZiNCG, 2004 ; Benoit et al., 2007).

Ainsi en absence de données basées sur la concentration de zinc, le risque de carence en zinc peut être estimé pour chaque pays à partir des résultats connus de la prévalence nationale du retard de croissance chez les enfants d'âge préscolaire. L'OMS considère qu'une prévalence de retard de croissance dépassant 20% dans une population donnée indique un problème de santé publique. Etant donné que la carence en zinc n'est pas l'unique facteur affectant la croissance des enfants, l'évaluation des apports alimentaires en zinc et des niveaux de zinc dans le sérum ou le plasma peut être utilisée pour confirmer la présence d'une carence en zinc pour les pays à haut risque.

4. LIMITES DES TROIS METHODES D'EVALUATION DU STATUT EN ZINC

Ces trois méthodes recommandées par l'OMS, l'UNICEF, l'AIEA et l'IZiNCG pour évaluer le statut en zinc d'une population ou le risque d'une consommation insuffisante de zinc présentent toutes quelques limites.

L'efficacité de la concentration plasmatique de zinc dans le sérum ou le plasma comme indicateur biochimique a été démontrée beaucoup plus dans des études de supplémentation. Peu d'études portant sur la fortification ont été menées. En effet des études récentes ont indiqué que la concentration sérique de zinc (ou plasmatique) est un bon

biomarqueur pour évaluer l'apport en zinc (Hess et al., 2007 ; Brown et al., 2009 ; Lowe et al., 2009), qui répond de manière dose dépendante suite à une supplémentation en zinc (Lowe et al., 2009 ; Wuehler et al., 2008). Cependant, l'utilité de la concentration plasmatique en zinc pour évaluer l'effet des programmes de fortification en zinc reste incertaine. Des études antérieures ont montré que la concentration sérique en zinc des enfants n'a pas changé suite à la consommation d'aliments fortifiés en zinc. La fortification des produits céréaliers peut avoir un impact positif sur la concentration en zinc du sérum chez les enfants d'âge préscolaire mais non chez les jeunes enfants (Hess et Brown, 2009). Ainsi, il est important de mener d'autres études pour déterminer si la concentration de zinc dans le sérum ou le plasma répond de manière efficace à la consommation par les jeunes enfants d'aliments céréaliers fortifiés en zinc.

L'évaluation des apports alimentaires constitue un élément important dans l'estimation du risque de carence en zinc. Cependant elle présente des contraintes liées à son application au niveau des populations. En effet dans l'estimation des apports, il est nécessaire de mesurer la taille exacte des portions d'aliments consommées pour chaque individu. Ce qui n'est pas facilement applicable dans les pays en voie de développement où les repas sont généralement partagés avec la famille. Aussi l'évaluation au sein d'un groupe demande beaucoup de temps vu la nécessité de mesurer pendant toute une journée la quantité de chaque aliment consommé.

Plusieurs études ont montré que la supplémentation en zinc a un impact positif sur la croissance des enfants présentant un retard de croissance. De ce fait la carence en zinc est considérée comme un facteur limitant de la croissance. Cependant la présence de retard de croissance chez un enfant peut ne pas refléter réellement une carence en zinc étant donné que le zinc n'est pas le seul facteur qui affecte la croissance des enfants.

II. STRATEGIES DE LUTTE ET DE PREVENTION DE LA CARENCE EN ZINC

1. PREVALENCE DE LA CARENCE EN ZINC

L'impact positif de la supplémentation en zinc sur le développement chez des enfants présentant un retard de croissance, et sur la prévalence de certaines maladies infantiles comme la diarrhée, laisse à penser que la carence en zinc pourrait constituer un important problème de santé publique, notamment dans les pays en développement (Allen, 2006).

La carence en zinc est aujourd'hui largement reconnue comme un des principaux facteurs de risques de morbidité et de mortalité (Black, 2008). Elle représente 2,9% de la charge de morbidité et affecte environ un tiers de la population mondiale (IZiNCG, 2004). Tous les groupes d'âge sont exposés au risque de carence en zinc, mais les nourrissons et les enfants en bas âge ainsi que les femmes enceintes et allaitantes représentent les groupes les plus vulnérables (Allen, 2006 ; Osendarp, 2003). La série du Lancet sur la dénutrition maternelle et infantile a conclu que la carence en zinc est responsable d'environ 4% de la mortalité infantile (Black, 2008). Elle est responsable de plus de 800 000 décès chaque année chez les enfants âgés de moins de 5 ans (Shankar et Prasad, 1998 ; Caulfield et Black, 2004). Selon l'Initiative pour les Micronutriments (MI), la carence en zinc contribue pour 19% des décès chez les enfants âgés de 12 à 47 mois (MI, 2009).

Les principaux facteurs responsables de la carence en zinc dans les pays en développement sont une insuffisance de l'apport alimentaire en zinc ou des régimes alimentaires principalement à base de plantes, de pratiques non optimales d'allaitement maternel, d'états pathologiques qui induisent soit une augmentation des pertes endogènes de zinc ou une insuffisance de l'utilisation du zinc, d'états physiologiques qui augmentent les besoins en zinc comme les périodes de croissance rapide au cours de l'enfance et la grossesse (Gibson et al., 2000 ; Hotz et Brown, 2004 ; Allen, 2006 ; Gibson, 2006). Chez les enfants, les déterminants de cette carence sont surtout l'apport insuffisant d'aliments riches en zinc et facilement absorbables comme la viande, la volaille et le poisson (Gibson et Ferguson, 1998 ; Hotz et Brown, 2004) mais aussi les phytates qui ont un effet négatif sur l'absorption du zinc et qu'on retrouve à des teneurs importantes dans les aliments de base comme les céréales, les racines et les tubercules (Lönnerdal, 2000 ; Solomons, 2001 ; Miller et al., 2007 ; Hambidge, 2010).

Les symptômes et signes cliniques de carence en zinc présentent un spectre allant de la carence légère à sévère, voire fatale si elle est méconnue et non corrigée. Les manifestations cliniques de la carence en zinc sont très variées. En effet la carence en zinc peut entraîner un certain nombre d'anomalies fonctionnelles qui incluent : un dysfonctionnement du système immunitaire avec une sensibilité accrue aux infections et une augmentation de la mortalité, un retard de croissance, un affaiblissement de la performance reproductive, des anomalies du développement neurologique, une léthargie mentale, des troubles des phanères avec alopecie et une réduction de l'appétit (Shankar et Prasad, 1998 ; Brown et al., 2001 ; Dibley, 2001 ;

IZiNGC, 2004). Chez les enfants, la carence en zinc se manifeste essentiellement par un retard de croissance et une augmentation de l'incidence de diverses maladies infectieuses et parasitaires telles que la diarrhée et les infections respiratoires aiguës. Les effets indésirables associés à la carence en zinc chez les femmes sont entre autre le retard de croissance intra-utérin, un faible développement neurologique du fœtus, un faible poids de naissance, une augmentation de la morbidité néonatale, des malformations congénitales, des naissances prématurées et un risque élevé d'hémorragie intra-partum (Swanson et King, 1987 ; Tamura et Goldenberg, 1996 ; King, 2002 ; IZiNGC, 2004).

Il est estimé qu'approximativement 20% de la population mondiale seraient à risque de carence en zinc (IZiNGC, 2004). Toutes les catégories d'âge et de sexe sont concernées par ce risque de carence en zinc. Malheureusement la prévalence de la carence est encore mal connue à travers le monde mais elle serait similaire à celle de la carence en fer (UNICEF, 1993). Des études menées chez des enfants d'âge compris entre 6 mois et 13 ans dans des régions d'Amérique Latine et d'Asie Pacifique ont montré des prévalences de carence en zinc allant de 20% à 87% (Maggini et al., 2010). Dans les pays en voie de développement, les enfants sont particulièrement susceptibles à des carences en zinc. Au Burkina Faso et en Inde des prévalences respectives de 72% et 43% ont été trouvées chez des enfants âgés de 6 à 60 mois (**Tableau II-2**). l'étude de Müller (Müller et al., 2003) est représentative de la zone rurale du Burkina Faso. Les autres sont faites sur des échantillons aléatoires.

Tableau II-2 : Prévalences de la carence en zinc chez les enfants des pays d'Asie-Pacifique, d'Amérique latine et d'Afrique

Pays	Age	Indicateur	Prévalence (%)	Références
Vietnam (n=150)	6 – 24 mo	Zinc sérique	36	<i>Thu et al., 1999</i>
Burkina Faso (n=709)	6 – 31 mo	Zinc sérique	72	<i>Müller et al., 2003</i>
Chine (n=43)	19 – 25 mo	Zinc plasmatique	48	<i>Sheng et al., 2006</i>
Mexique (n=4955)	< 2 ans	Zinc sérique	13-28	<i>Duque et al., 2007</i>
Vietnam (n=240)	1 – 6 ans	Zinc sérique	87	<i>Van Nhien et al., 2008</i>
Inde (n=1655)	6 – 60 mo	Zinc sérique	43	<i>Kapil et al., 2011</i>

2. PREVALENCE DE LA CARENCE EN ZINC AU SENEGAL

Au Sénégal, il n'existe pas de données nationales portant sur la prévalence de la carence en zinc. Néanmoins une étude menée par l'équipe de nutrition de Dakar en 2006 chez les femmes en milieu rural sénégalais montre que la carence en zinc est très répandue dans ces populations (69,3% des femmes étaient carencées en zinc) (Guèye, 2006). L'étude des différents indicateurs de la carence en zinc a établi qu'en absence de données basées sur la concentration plasmatique de zinc, des estimations du risque de carence en zinc peuvent être faites à partir d'indices tels que la prévalence du retard de croissance $>20\%$ ($T(A) < -2$ z-scores) chez les enfants de moins de 5 ans et le niveau de couverture des besoins en zinc (Hotz et Brown, 2004). Au Sénégal environ 20% des enfants souffrent d'un retard de croissance. Cette prévalence est deux fois plus élevée en milieu rural qu'en milieu urbain (EDS, 2006 ; AGVSAN, 2010). A Kédougou par exemple, 35,6% des enfants souffrent d'un retard de croissance. Les régions de Kolda, Sédhiou et Matam sont aussi fortement touchées (AGVSAN, 2010). Selon les données du Groupe Consultatif International sur le Zinc (IZiNCG), un quart de la population sénégalaise serait à risque d'apport inadéquat en zinc (Hotz et Brown, 2004). Sur la base de cette estimation et du retard de croissance chez les jeunes enfants, le risque de carence en zinc serait élevé chez les enfants sénégalais.

Ainsi la connaissance du statut en zinc est très importante pour évaluer l'ampleur et la gravité de la carence et pour orienter les programmes d'intervention. D'après les estimations de l'IZiNCG, la carence en zinc constituerait un problème de santé publique au Sénégal (IZiNCG, 2004). Si cet état de carence est confirmé, des stratégies d'interventions devront être mises en place pour permettre à la population d'avoir un statut en zinc adéquat. Généralement il existe trois stratégies axées sur la nutrition pour lutter contre la carence en zinc et parmi elles, la fortification alimentaire est considérée comme ayant le meilleur rapport coût-efficacité. Par ailleurs la mesure de l'impact des programmes de fortification de masse nécessite de disposer d'un indicateur simple et fiable.

3. STRATEGIES D'INTERVENTION POUR LUTTER CONTRE LA CARENCE EN ZINC

Il y a trois stratégies d'intervention axées sur la nutrition, qui peuvent être utilisées pour prévenir la carence en zinc dans une population. Il s'agit de la supplémentation, la fortification, la diversification/modification alimentaire et la biofortification qui ne sont pas

exclusives les unes des autres. Le choix des stratégies dépend de l'étendue et la sévérité de la carence en zinc dans les différents sous-groupes de la population, ainsi que des ressources financières et technologiques qui sont disponibles pour développer et maintenir les programmes d'intervention (Brown et al., 2004; Hess et al., 2009 ; Berti et al., 2014).

La supplémentation en zinc est recommandée par l'OMS/UNICEF pour le traitement de la diarrhée aiguë et par IZiNCG comme mesure préventive pour le retard de croissance, la diarrhée et la pneumonie chez les enfants à haut risque et pour prévenir les naissances prématurées chez des femmes enceintes à risque élevé (Brown et Hess, 2009). Pour les ménages la fortification nationale ou ciblée des céréales de base pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant peut être utilisée.

La Diversification/modification et la biofortification sont plus accessibles aux pauvres des zones rurales qui consomment des aliments de base produits localement ou par eux-mêmes. De plus, ces stratégies ont le potentiel d'améliorer le statut en zinc de l'ensemble du ménage et à travers les générations. La Diversification/modification alimentaire peut être conçue pour augmenter à la fois la consommation des aliments riches en zinc et des activateurs de l'absorption du zinc, tout en réduisant simultanément les phytates, puissant inhibiteur de l'absorption du zinc. La Biofortification est possible en ajoutant des engrais sur des sols pauvres afin d'améliorer la teneur en zinc des céréales de base, en utilisant : la sélection végétale classique pour augmenter les concentrations en zinc du blé ou du riz, ou, alternativement, la modification génétique pour augmenter la concentration en zinc dans le maïs.

Afin de maximiser l'efficacité de ces interventions, il convient de surveiller leur mise en place, l'utilisation et l'impact et de les intégrer aux stratégies de santé publique et de changement de comportement (Brown et Hess, 2009).

3.1. Supplémentation en zinc

La supplémentation préventive en zinc pourrait réduire la mortalité et la morbidité chez les enfants. Des études récentes ont montré que le zinc administré sous forme de supplément augmente le gain de poids, améliore la croissance staturale des enfants et diminue la fréquence des diarrhées et de la pneumonie (Zinc Investigators, 1999 ; Brown et al., 2002 ; Brown et al., 2009), deux des causes les plus fréquentes de mortalité infantile.

Chez les femmes, une méta-analyse des essais de supplémentation indique un impact positif faible mais significatif de la supplémentation en zinc sur la durée de la grossesse et une

réduction de 14% de naissances prématurées (Hess and King, 2009). La supplémentation en zinc pendant la grossesse peut jouer un rôle dans l'amélioration de la santé maternelle et infantile (Caulfield et al., 1998). Dans les pays industrialisés, des études ont été menées pour déterminer si la supplémentation en zinc permettra d'améliorer le poids de naissance et les résultats ont été mitigés, mais la plupart des études ont été menées sur des populations bien nourries. Des études menées en Inde, Chine et en Amérique auprès de femmes à faible revenu dont la présence de carence en zinc était fortement probable, ont montré que les nouveaux nés dont les mères ont été supplémentées en zinc durant la grossesse avaient des poids de naissance significativement plus élevés que ceux de leurs homologues dont les mères étaient sous placebo (Garg et al., 1993 ; Goldenberg et al., 1995 ; Xie et al., 2001).

Plusieurs études ont montré que la supplémentation en zinc pouvait augmenter significativement la croissance staturale et le gain de poids chez des enfants présentant un retard de croissance (Dirren, 1994 ; Castillo-Duran, 1995 ; Ninh et al., 1996 ; Umeta et al., 2000 ; Sayeg, 2000 ; Brown et al., 2002 ; Yang et al., 2002 ; Sur et al., 2003). Une amélioration de la croissance pondérale et staturale a aussi été noté dans des études de supplémentation en zinc menées chez des enfants et des adolescents africains et asiatiques (Walravens, 1989, 1992 ; Castillo-Duran et al., 1994, 1995 ; Ninh et al., 1996 ; Osendarp et al., 2002 ; Müller et al., 2003 ; Lind et al., 2004 ; Berger et al., 2006).

Les résultats de plusieurs études d'intervention indiquent que la supplémentation en zinc diminue l'incidence de la diarrhée et de la pneumonie chez des jeunes enfants (Ruel et al., 1997 ; Sazawal et al., 1997, 1998 ; Rosado, 1997 ; Bhutta et al., 1999 ; Umeta et al., 2000 ; Bhandari et al., 2002 ; Yang et al., 2002 ; Sur et al., 2003 ; Gupta et al., 2003, 2007 ; Alarcon et al., 2004 ; Penny et al., 2004 ; Bobat, 2005 ; Brooks et al., 2005 ; Long, 2006 ; Wuehler, 2008) et qu'une supplémentation durant la diarrhée réduit la sévérité et la durée de la diarrhée (Bhutta et al., 2000 ; Aggarwal et al., 2007).

Brown et al., (Brown et al., 2009) ont réalisé une série de méta-analyse pour étudier l'impact de la supplémentation préventive en zinc sur la morbidité, la mortalité, la croissance staturale, les indicateurs biochimiques du statut en zinc et sur les indicateurs du développement comportemental chez les enfants. Les résultats de la supplémentation préventive en zinc observés de ces méta-analyses sont décrits ci-dessous :

- Une réduction d'environ 20% de l'incidence de la diarrhée, mais l'impact a été limité aux études qui ont inclus des enfants d'âge moyen initial supérieur à 12 mois [(RR =

0,80 (0,61 ; 0,87), $p=0,0004$)]. Parmi ces derniers, les résultats ont montré une baisse de 27% du risque relatif.

- Une diminution de l'incidence des infections respiratoires aiguës de 15% [(RR = 0,85 (0,75 ; 0,97) $p=0,017$)].
- Un impact marginal de 6% sur la mortalité globale des enfants [(RR = 0,94 (0,86 ; 1,01) $p=0,11$)]. Cependant une réduction de 18% des taux de décès a été notée chez les enfants âgés de plus de 12 mois.
- Une augmentation faible mais très significative de la croissance staturale [(IC = 0,08 ; 0,26), $p=0,001$] et du gain de poids [(IC = 0,05 ; 0,19), $p=0,002$]. Cette amélioration de la croissance a été plus observée, chez les enfants de faibles poids de naissance ou présentant un retard de croissance.
- Une assez large augmentation des concentrations moyennes de zinc sérique. Et aucun effet négatif important n'a été observé sur les indicateurs du statut en fer et en cuivre.

La supplémentation, ou l'apport de zinc sous forme chimique, peut être particulièrement utile pour les groupes vulnérables (par exemple les enfants et les femmes enceintes), dont le statut en zinc doit être amélioré sur une période relativement courte. Cependant dans les pays où les populations sont à haut risque de carence en zinc, des programmes de supplémentation de masse peuvent être mis en place. En effet avant de mettre en œuvre de tel programme, il est nécessaire de tenir en compte la forme chimique et physique du supplément, la dose adéquate, la fréquence d'administration, la présence éventuelle d'autres éléments nutritifs dans le supplément qui peuvent interférer avec l'absorption du zinc et définir si le supplément sera administré pendant ou entre les repas.

3.2. Fortification des aliments en zinc

La garantie à la population d'un régime alimentaire équilibré et adéquat qui répond aux besoins de l'organisme constitue la meilleure manière de lutter contre les carences en micronutriments. Cependant c'est loin d'être réalisable vu les difficultés d'accès à la nourriture et les habitudes alimentaires des populations. De ce fait la fortification alimentaire

est considérée comme un moyen efficace pour pouvoir fournir des micronutriments incluant le zinc sans changer leurs habitudes de consommation alimentaire (OMS, 2006).

La fortification des aliments ou l'addition de nutriments aux aliments, boissons ou condiments couramment consommés, à des niveaux supérieurs à ceux que l'on trouve dans l'aliment, est généralement considérée comme ayant le meilleur rapport coût-efficacité pour lutter contre la carence en zinc (López de Romaña et al., 2003; Hotz et Brown, 2004 ; Allen, 2006 ; Horton, 2006).

Avant d'établir un programme de fortification alimentaire, certaines considérations techniques doivent être prises en compte. Il s'agit notamment de :

- l'identification de la population cible ;
- l'évaluation de l'apport en zinc et du statut en zinc de la population cible ;
- la sélection des aliments vecteurs appropriés ;
- la sélection du fortifiant en zinc ;
- la détermination du taux du fortifiant en zinc ;
- l'acceptabilité par le consommateur des aliments fortifiés en zinc ;
- la détermination du taux d'absorption du zinc à partir des aliments fortifiés ;
- l'établissement des paramètres réglementaires ;
- l'estimation du coût.

3.2.1. Identification de la population cible

Les groupes de population les plus vulnérables à une carence en zinc sont les nourrissons, les jeunes enfants et les femmes enceintes et celles qui allaitent en raison de leurs besoins élevés en zinc (IZiNCG, 2004). Tous ces groupes ont probablement besoin d'une attention particulière et les produits de fortification alimentaire devraient être spécifiquement choisis pour cibler ces groupes de populations et leurs besoins spécifiques selon leur âge (Dewey et Brown, 2003).

Dans le cas des enfants en bas âge, les études ont montré que la fortification en zinc peut augmenter les apports alimentaires et l'absorption totale du zinc. Cependant, les études n'ont pas encore démontré que les aliments de complément fortifiés en zinc peuvent affecter positivement les indicateurs du statut en zinc des jeunes enfants, la croissance ou d'autres résultats fonctionnels potentiellement relatifs au zinc. Si les produits de la fortification au

niveau des ménages peuvent exercer un impact positif sur les résultats liés au zinc chez les jeunes enfants, il reste à prouver l'impact lié à la consommation des aliments de compléments fortifié. Ainsi des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer l'efficacité et l'efficience de la fortification en zinc dans différentes populations en utilisant différentes doses de zinc. Lorsque de tels programmes de fortification sont mis en œuvre, leurs impacts sur l'apport nutritionnel en zinc et la santé de l'enfant doivent être rigoureusement évalués (Hess et Brown, 2009).

Bien qu'il y ait très peu d'informations pertinentes, la fortification de masse a l'avantage de bénéficier à d'autres segments de la population tels que les enfants d'âge scolaire (Winichagoon et al., 2006), les adolescents, les femmes en âge de procréer, et peut-être les personnes âgées.

3.2.2. Evaluation de l'apport en zinc et du statut en zinc de la population cible

L'OMS recommande la collecte de données sur les carences en micronutriments dans un échantillon représentatif de la population cible pour justifier les besoins de la mise en place d'un programme de fortification (Allen, 2006). L'OMS, l'UNICEF, l'AIEA et l'IZINCG recommandent conjointement trois indicateurs pour évaluer le risque de carence en zinc de la population (de Benoist et al., 2007). La concentration de zinc dans le sérum ou le plasma sanguin est le meilleur biomarqueur disponible du statut en zinc de la population. L'apport alimentaire inadéquat chronique en zinc est la cause la plus probable d'une carence en zinc. Par conséquent, il est utile pour évaluer le risque de carence en zinc chez les populations d'estimer l'adéquation de l'apport de zinc à travers des enquêtes quantitatives sur les apports alimentaires. En outre, les informations sur l'apport alimentaire sont nécessaires pour déterminer les aliments vecteurs appropriés et le niveau de fortification. Un troisième indicateur possible du statut en zinc de la population est l'indice Taille-pour-Âge (T(A)), une mesure du retard de croissance nutritionnel qui est appliquée chez les enfants de moins de 5 ans. Le retard de croissance est l'indicateur le plus connu et le plus facile pour mesurer les effets des résultats indésirables associés à une carence en zinc et les données pertinentes sont souvent disponibles à partir des précédentes enquêtes nationales de santé ou de l'état nutritionnel (WHO, 2006). La prévalence du retard de croissance est exprimée en pourcentage d'enfants de moins de 5 ans avec un indice taille-pour-âge en dessous de la fourchette attendue dans une population de référence (c'est-à-dire, < -2 z-score par rapport à la médiane

de référence), telles que récemment établies par les normes de croissances de l'OMS (WHO, 2006 ; Hess et Brown, 2009).

Le risque de carence en zinc est considéré comme élevé et comme un problème de santé publique lorsque : la prévalence des faibles concentrations de zinc sérique est supérieure à 20%, la prévalence d'un apport insuffisant en zinc est supérieure à 25%, la prévalence de retard de croissance $T(A) < -2$ z-score est supérieure à 20%.

3.2.3. Sélection des aliments vecteurs appropriés

La sélection des aliments vecteurs pour les programmes de fortification dépend des groupes de populations cibles, de leur régime alimentaire, et des capacités de production alimentaire localement disponible. L'évaluation des données sur les apports alimentaires peut non seulement être utilisée pour évaluer le risque de carence en zinc mais il est également nécessaire pour prendre une décision éclairée au sujet des aliments qui seraient le moyen le plus approprié pour la fortification (Allen, 2006). Dans le cas des jeunes enfants, les produits les plus appropriés pourraient être les aliments de complément ou les produits de fortification à domicile, tels que les poudres, comprimés à écraser et suppléments nutritionnels à base de lipides. Si un programme de fortification vise les écoliers, d'autres produits, tels que les condiments, les collations ou les boissons, peuvent être plus appropriés, en fonction des habitudes alimentaires locales. Pour la fortification de masse, le véhicule alimentaire choisi doit être régulièrement consommé par une grande partie de la population générale dans des proportions relativement constantes durant toute l'année. Les produits typiquement choisis pour la fortification de masse sont les céréales, les huiles végétales, les graisses, le lait et les condiments (Allen, 2006 ; Hess et Brown, 2009).

L'avantage principal de la fortification de masse par rapport à la supplémentation ou à la fortification ciblée, est qu'elle nécessite très peu d'investissement car elle utilise des produits et des mécanismes de distribution déjà existants. Pour maintenir le programme de fortification efficace et efficient, la technologie de fortification doit être soutenue par des industries formelles et centralisées. En général, le faible coût de la fortification de masse peut seulement être réalisé en milieu industrialisé, où seules quelques usines techniquement avancées produisent les aliments. Le défi dans les pays en développement est de trouver un véhicule approprié qui est produit industriellement et largement consommé en quantité raisonnable par la population cible et, idéalement, avec une gamme faible de variations inter et intra-individuelles de la consommation (Dary, 2008).

3.2.4. Sélection du fortifiant en zinc

Plusieurs composés du zinc répertoriés par le US Food and Drug Administration (US FDA) sont généralement considérés comme sûrs (GRAS : Generally Recognized As Safe) pour la consommation humaine et peuvent être donc utilisés pour la fortification des aliments (**Tableau II-3**). Il s'agit du sulfate de zinc, chlorure de zinc, gluconate de zinc, oxyde de zinc et du stéarate de zinc. Deux facteurs que sont la solubilité/dissolution et le pH intragastrique, influencent l'absorption intestinale de ces composés de zinc (Salgueiro et al., 2002 ; Gibson et al., 1998). Ces cinq composés de zinc GRAS varient selon leur solubilité dans l'eau et vont du très soluble (chlorure de zinc, gluconate de zinc et sulfate de zinc) à insoluble dans l'eau (stéarate de zinc et d'oxyde de zinc). Les composés solubles dans l'eau sont généralement mieux absorbés que les composés moins solubles ou insolubles (IZiNCG, 2004). Les composés de zinc avec une solubilité élevée coûtent beaucoup plus chers (10,4 à 32,5 US \$/kg) que les composés insolubles (4,5 à 4,9 US \$/kg). L'oxyde de zinc est le composé qui renferme plus de zinc (80%) suivi du chlorure de zinc et du sulfate de zinc. L'oxyde de zinc et le sulfate de zinc sont les sels GRAS qui sont les moins coûteux (contenu en zinc et coût en US \$) et les plus couramment utilisés par l'industrie alimentaire. Des préoccupations ont été soulevées sur la biodisponibilité de l'oxyde de zinc parce qu'il est insoluble à pH neutre. Cependant, trois études distinctes utilisant des isotopes stables n'ont observé aucune différence dans l'absorption du zinc lorsque l'oxyde de zinc a été comparé avec le sulfate de zinc, quel que soit la quantité de phytates présente dans les repas tests (Herman et al., 2002 ; López de Romaña et al., 2003 ; Hotz et al., 2005). Il semble donc approprié d'utiliser préférentiellement l'oxyde de zinc dans les programmes de fortification de masse en raison des considérations de coût (Hess et Brown, 2009 ; Brown et al., 2010).

Tableau II-3 : Composés de zinc qui peuvent être utilisés pour la fortification des aliments (GRAS)

Composé	Solubilité dans l'eau	% Zinc	Coût 2001 (US \$/kg)
Chlorure de Zn	Elevée	48	32,5
Gluconate de Zn	Elevée	14	20,9
Sulfate de Zn	Elevée	40	10,4
Oxyde Zn	Insoluble	80	4,5
Stéarate de Zn	Insoluble	10	4,9

Source : International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG), Hotz C, Brown KH. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food Nutr Bull 2004;25(suppl 2):S99-203.

3.2.5. Détermination du taux du fortifiant en zinc

Le but alimentaire de la fortification est formellement défini par l'OMS comme la dotation d'un apport adéquat en micronutriments spécifiques à 97,5% des individus d'un groupe à haut risque de carence, sans provoquer un risque d'apports excessifs chez eux ou chez les autres groupes de la population. Les directives de l'OMS sur la fortification des aliments décrivent une procédure détaillée pour estimer le niveau de micronutriments approprié pour les programmes de fortification de masse, en utilisant la méthode de valeur du Besoin Moyen Estimé (BME/EAR)) et le concept du Niveau de Fortification Faisable (FFL) (Allen, 2006).

La quantité d'un micronutriment particulier qui peut être ajoutée aux aliments est limitée par diverses contraintes de sécurité, technologique et économique, qui sont tous pris en compte dans le FFL. En d'autres termes, le FFL est la teneur maximale en micronutriments qui peut être ajoutée et demeure compatible avec la matrice alimentaire, tandis que l'augmentation des prix des denrées alimentaires reste dans une plage acceptable. Le FFL donne le plus grand nombre de personnes à risque avec un apport adéquat sans provoquer un risque inacceptable d'apport excessif dans la population en général. En conséquence, la teneur maximale en micronutriments dans les programmes de fortification de masse est déterminée par ces individus qui mangent les aliments véhicules dans les plus grandes quantités (à savoir la limite supérieure de 5% à 10%) (Dary, 2007).

Un facteur limitant plus critique peut être les contraintes de sécurité en matière de fortification en zinc. La plupart des personnes qui reçoivent des produits alimentaires devraient maintenir l'apport totale (de la teneur naturelle des aliments, les aliments fortifiés et

les suppléments) de certains nutriments inférieurs aux niveaux qui sont reconnus comme sûrs (les Apports Maximum Tolérables, AMT/UL_s) (IZiNCG, 2004 ; IOM, 2001). Dans la fortification de masse les hommes qui ont tendance à avoir les plus hauts niveaux de consommation des aliments de base ont le plus grand risque d'apports excessifs en micronutriments. Pour éviter les apports excessifs dans ce groupe de populations, le niveau de fortification peut être maintenu si bas que les groupes de population les plus vulnérables, comme les jeunes enfants, ne peuvent bénéficier suffisamment d'un programme de fortification de masse. Dans ce cas, la fortification de plusieurs véhicules alimentaires, la fortification ciblée ou la supplémentation en zinc devraient être envisagées pour compléter le gap alimentaire ou nutritionnel de ces individus (Hess et Brown, 2009).

Les recommandations pour la fortification en zinc de farine de céréales ont été révisées sur la base des apports habituels en farine de la population, le degré de mouture (niveau d'extraction) et les apports en zinc et en phytates des autres sources alimentaires (Brown et al., 2010). Pour estimer la quantité totale de zinc qui pourrait être absorbée sous différents modèles de la fortification en zinc de la farine de blé, une hypothèse selon laquelle les adultes consomment 5 mg de zinc/jour à partir de sources alimentaires autres que la farine de blé et consomment différentes quantités supposées de farine de blé, soit avec 80% ou 95% de taux d'extraction pendant le broyage a été développée par les auteurs. La raison d'utilisation des taux d'extraction indiqués était la disponibilité d'informations sur le zinc et le contenu en phytates de la farine avec ces degrés de mouture.

Brown et al., ont supposé que 100 g de farine de blé avec un taux d'extraction de 80% contient 1,4 mg de zinc et 350 mg de phytates, et que 100 g de farine de blé avec 95% d'extraction contient 2,4 mg de zinc et 900 mg de phytates. Ensuite, ils ont estimé l'absorption totale du zinc (ATZ) qui résulterait de différents apports quotidiens de consommation de la farine et les différents niveaux de fortification de zinc, pour chacun des degrés respectifs d'extraction de la farine. Ces simulations indiquent qu'avec un apport de zinc de 5 mg et aucun apport de phytates provenant d'autres sources alimentaires, la consommation par jour de 200 g de farine de blé extrait à 95%, fortifié avec 50 mg zinc/kg de farine, serait suffisante pour fournir l'estimation actuelle de besoins physiologiques moyens pour les femmes (soit 3,3 mg de zinc absorbé par jour). Au même niveau de fortification, les femmes pourraient couvrir leurs besoins physiologiques moyens avec moins de 75 g/jour de farine à un taux d'extraction de 80%. En revanche, les hommes seraient en deçà de leurs besoins physiologiques moyens (soit 3,84 mg de zinc absorbé/jour), même s'ils ont consommé

500 g de farine de blé extrait à 95%, fortifié avec 50 mg zinc/kg de farine. Cependant, 200 g de farine à 80% d'extraction, fortifiée à ce niveau serait suffisant.

Comme indiqué, les quantités de zinc et phytates présentes dans l'alimentation à partir de sources autres que la farine de blé affectent également le niveau souhaitable de fortification en zinc. Le **Tableau II-4** montre comment les différences dans les apports alimentaires de zinc et les phytates provenant d'autres sources auraient une incidence sur le niveau recommandé de la fortification en zinc de la farine de blé à 80% d'extraction. Le tableau est basé sur les quantités de la fortification en zinc qui seraient nécessaires dans les différentes conditions alimentaires pour permettre l'absorption de 3,84 mg de zinc par jour, ce qui est la quantité de zinc absorbé requis par un homme adulte.

Les différences observées dans les apports et les quantités recommandées soulignent ainsi l'importance de recueillir des données alimentaires de la population pour pouvoir ajuster de façon optimale les niveaux de fortification. Les cellules dans le tableau ont été ombragées lorsque les niveaux estimés de fortification dépassent 100 mg de zinc/kg de farine de blé. Des niveaux de fortification en zinc supérieurs à cette quantité peuvent avoir des effets négatifs sur les propriétés sensorielles de la farine. Ainsi dans ces cas, la fortification ne doit pas dépasser 100 mg zinc/kg de farine sans que des essais sensoriels soient conduits pour déterminer l'acceptabilité.

Tableau II-4 : Quantité de zinc nécessaire pour la fortification de la farine de blé (mg de zinc/kg de farine) pour assurer 3,84 mg de zinc absorbé par jour, en tenant compte des différents apports habituels en zinc et phytates de sources autres que la farine de blé et les quantités indiquées de la consommation de farine (80% d'extraction de la farine)¹

Apport en farine (g/jour)	Phytates alimentaires (mg/jour)								
	Zinc alimentaire provenant de sources autres que le blé : 3 mg/jour			Zinc alimentaire provenant de sources autres que le blé : 5 mg/jour			Zinc alimentaire provenant de sources autres que le blé : 7 mg/jour		
	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000
50	134	229	325	94	189	285	54	149	245
75	96	160	223	69	133	197	42	106	170
100	77	124	172	57	104	152	37	84	132
200	48	72	96	38	62	86	28	52	76
300	38	54	70	32	48	64	25	41	57
400	34	46	58	29	41	53	24	36	48
500	31	40	50	27	36	46	23	32	42
600	29	37	45	26	34	42	22	30	38
700	28	34	41	25	32	38	22	29	36
800	27	33	39	24	30	36	22	28	34

Source : Brown KH, Hambidge KM, Ranum P. Zinc fortification of cereal flours: current recommendations and research needs. Food Nutr Bull 2010;31:S62-74.

¹ Les valeurs ombragées indiquent les niveaux de fortification > 100 mg de zinc/kg de farine, qui est la limite supérieure de la fortification en zinc dont l'acceptabilité sensorielle a été confirmée.

3.2.6. Acceptabilité des aliments fortifiés en zinc par le consommateur

Des études sensorielles sont nécessaires pour déterminer si le composé de zinc choisi et le niveau de fortification altèrent les qualités organoleptiques du produit fortifié et évaluer l'acceptation par les consommateurs. Une étude sensorielle chez des adultes (Saldamli et al., 1996) a trouvé que l'ajout de 880 mg de zinc (sous forme d'acétate de zinc) par kilogramme de farine de blé n'a aucun effet sur les qualités de cuisson ou les propriétés sensorielles de la pâte à pain. Les essais sensoriels permettent également de comparer les qualités organoleptiques et l'acceptation par les consommateurs des produits fortifiés avec différentes formes de zinc et à différents niveaux de fortification en zinc. L'acceptabilité sensorielle des produits de blé fabriqués à partir de la farine de blé fortifiée par kg de farine avec 30 mg de fer sous forme de sulfate ferreux seul, ou à la fois du fer et 60 ou 100 mg de zinc sous forme

de sulfate de zinc ou d'oxyde de zinc a été évaluée dans une étude chez des participants aux États-Unis. Les auteurs ont conclu que les nouilles et pains fortifiés en zinc ont été bien acceptés, quelle que soit la forme chimique du zinc, même à 100 mg de zinc/kg de farine, bien que les nouilles fortifiées avec du fer et d'oxyde de zinc ont été légèrement moins acceptables que celles fortifiées avec du fer et du sulfate de zinc, en particulier aux niveaux élevés de fortification en zinc (López de Romaña et al., 2002 ; Hotz et Brown, 2004). Cependant, il n'y a pas d'études sensorielles de zinc publiées chez les jeunes enfants ou chez les populations des pays à faibles revenus à des niveaux de fortification > 100 mg de zinc par kilogramme de farine.

3.2.7. Détermination du taux d'absorption du zinc à partir des aliments fortifiés

Certains vecteurs potentiels pour la fortification en zinc peuvent avoir des quantités élevées d'inhibiteurs de l'absorption du zinc, tels que les phytates, qui peuvent affecter l'absorption des fortifiants de zinc ajoutés aux aliments. Ainsi il convient de mener des études d'absorption, en utilisant soit des radio-isotopes ou des isotopes stables de zinc, pour quantifier l'absorption des différents fortifiants utilisés dans les vecteurs avant que la sélection finale des fortifiants et des véhicules soit effectuée (Hotz et Brown, 2004). La biodisponibilité du zinc dépend de la composition alimentaire, en particulier de la proportion d'aliments riches en phytates dans l'alimentation (certaines céréales et légumineuses). Le rapport molaire phytates:zinc dans l'aliment est utilisé pour estimer la proportion de zinc absorbable. La quantité de zinc disponible pour l'absorption est estimée à 45%-55%, 30%-35% et 10%-15% si le rapport molaire phytates:zinc dans l'aliment est respectivement inférieur à 5, se situe entre 5-15 et supérieur à 15 (Brown et al., 2001 ; WHO, 2004 ; Allen et al., 2006 ; Gibson, 2009).

3.2.8. Etablissement des paramètres réglementaires

Peu importe si l'intervention de fortification est volontaire ou obligatoire, des normes appropriées doivent être établies pour permettre le contrôle approprié de la qualité par les producteurs, les inspections et l'application par le secteur public. Les niveaux spécifiques des micronutriments ajoutés doivent être précisés et les autorités gouvernementales doivent vérifier la conformité en fonction de ces niveaux (Dary, 2008). Deux paramètres réglementaires sont essentiels : le Niveau Minimum Légal (NML/LML) pour tous les

nutriments et le Niveau Maximum Tolérable (NMT/MTL) pour les nutriments dont la consommation en excès constitue un risque (y compris le zinc).

Si par exemple, dans les circonstances d'un programme particulier la farine de blé à faible extraction a une teneur en zinc intrinsèque de 10 mg/kg et qu'un niveau de fortification en zinc de 30 mg/kg est proposé, la teneur moyenne finale en zinc de la farine est calculée en faisant la somme de ces deux valeurs, d'où une teneur de 40 mg/kg (Dary, 2007). Une plage acceptable de la teneur finale en zinc est déterminée en soustrayant et en ajoutant deux fois les coefficients de variation prévus pour la mise en œuvre d'un processus de fortification satisfaisant (environ 12%). Dans ce cas, le paramètre de production minimale et maximale pour le zinc se traduit par une fourchette de 30 à 50 mg de zinc par kilogramme de farine. Comme la perte de zinc au cours du stockage et de la distribution devrait être minime, le NML est égal au facteur de production minimale (30 mg/kg) et le NMT est égal au facteur de production maximale (50 mg/kg) (Dary, 2007 ; Hess et Brown, 2009).

3.2.9. Estimation du coût

L'estimation des coûts est une étape importante dans la planification d'un programme de fortification des aliments. Les estimations doivent inclure à la fois les coûts pour l'industrie (par exemple, l'investissement en capital et les coûts récurrents, tels que l'achat de fortifiant) ainsi que les coûts du secteur public (par exemple, l'exécution, le suivi et l'évaluation). Dans le cas des programmes de fortification de masse, qui ont tendance à s'appuyer sur les aliments de base et les condiments comme aliments vecteurs, le coût est souvent le facteur limitant le plus important. Les denrées de base et les condiments sont consommés fréquemment et en grandes quantités, non seulement directement par la population, mais aussi par l'industrie alimentaire (matière première). Même de petites variations de prix peuvent donc avoir des conséquences profondes et l'expérience a montré que la fortification de masse dans une économie de marché ouverte est plus à même de réussir lorsque l'augmentation du prix du produit fortifié par rapport à celui non fortifié, ne dépasse pas 1% à 2% (Allen, 2006).

Toutefois, l'ajout de zinc augmente très peu le coût de la fortification et donc, pour ce nutriment, le coût n'est pas un facteur restrictif. Dans une étude sur les coûts pour fournir l'EAR de nutriments aux femmes en âge de procréer à travers la fortification des aliments, il a été conclu que le zinc (sous forme d'oxyde de zinc) est l'un des nutriments les moins chers (Dary, 2007). En prenant en compte le stockage prévu et la préparation des aliments, il est

estimé qu'une femme peut couvrir ses besoins en zinc durant toute l'année à travers la fortification des aliments à un coût annuel de 0,006 \$ US à 0,013 \$ US (3 à 6,5 frs CFA).

3.3. Diversification/modification alimentaire

La capacité de maintenir un statut adéquat en zinc dépend de la quantité et de la biodisponibilité du zinc dans le régime alimentaire. La diversification et la modification du régime alimentaire peuvent augmenter la disponibilité et l'utilisation d'aliments à haute teneur en zinc absorbable pendant toute l'année. Il existe plusieurs stratégies pour soit augmenter la teneur totale du zinc alimentaire, soit modifier le taux d'absorption du zinc à partir du régime alimentaire des ménages, afin d'améliorer la biodisponibilité du zinc (IZiNCG, 2007 ; Gibson et Anderson, 2009). Les stratégies de diversification et de modification d'un régime alimentaire ont pour but de changer les comportements de sélection d'aliments ainsi que les méthodes traditionnelles de préparation des aliments. Il existe quatre principales stratégies applicables au niveau des ménages pour augmenter à la fois la teneur et la biodisponibilité du zinc dans des régimes à base surtout végétale. Le choix de la stratégie dépend du groupe de population, du contexte et des ressources disponibles. Ces stratégies incluent les éléments suivants :

- *Accroître la production et la consommation d'aliments à haute teneur et biodisponibilité en zinc, tels que les aliments de source animale. Les protéines animales peuvent également favoriser l'absorption de zinc ;*

Les concentrations les plus fortes en zinc se retrouvent dans les viandes, les volailles, les poissons, les fruits de mer (surtout les huîtres) et avec de moindres quantités dans les œufs et les produits laitiers. La teneur en zinc est relativement élevée dans les noix, les graines, les légumineuses et les céréales complètes (Brown et al., 2001 ; IZiNCG, 2004) cependant ces dernières sont limitées par leur teneur en phytates qui peuvent diminuer la biodisponibilité en zinc.

- *Réduire le contenu en phytates des aliments de base de type céréales ou légumineuses de manière à augmenter l'absorption du zinc ;*

Un moyen d'améliorer la biodisponibilité en zinc est de réduire le rapport molaire Phytates:zinc en réduisant les teneurs en phytates, ce que certains traitements biologiques comme la fermentation ou la germination par exemple permettent de faire en dégradant

jusqu'à 80% des phytates. L'application de ces traitements reste cependant limitée en raison du travail supplémentaire qu'ils nécessitent ou des propriétés organoleptiques particulières qu'ils induisent. Le trempage, en revanche, qui peut être utilisé comme étape préliminaire à ces procédés, ne présente pas ces inconvénients et permet de démarrer le processus de réduction des teneurs en phytates (Lestienne et al., 2003).

- *Accroître la consommation d'aliments connus pour leur capacité à favoriser l'absorption du zinc ;*
- *Promouvoir l'allaitement maternel exclusif de la naissance jusqu'à l'âge de 6 mois et l'introduction à partir de cet âge d'une alimentation de complément qui soit sûre et appropriée et comprenant des aliments de source animale.*

3.4. La bio-fortification

La bio-fortification est une stratégie agricole qui vise à augmenter la teneur en certains micronutriments, y compris le zinc, dans les cultures vivrières comme le riz, le blé, le maïs, le mil et d'autres. Lorsqu'ils sont consommés dans les populations carencées en zinc, les aliments de base bio-fortifiés en zinc doivent améliorer l'adéquation de l'apport en zinc et donc réduire le risque de carence. Plusieurs facteurs déterminants contribuent au potentiel de cette stratégie pour atteindre son objectif. Parmi eux, il y a la quantité additionnelle de zinc qui peut être élevée dans les cultures vivrières, la quantité de zinc qui reste dans les aliments de base suite aux méthodes de traitement habituel et la biodisponibilité du zinc à partir de ces aliments dans le cadre du régime alimentaire habituel. La réduction de la teneur en phytates des céréales avec l'utilisation de techniques agricoles est une stratégie complémentaire potentielle pour améliorer la biodisponibilité du zinc. La faisabilité de la bio-fortification pour aboutir à une augmentation significative des apports adéquats en zinc de la population et réduire les conséquences des carences en zinc, doit encore être déterminée par des études d'efficacité. Au niveau du programme, la possibilité de diffuser largement les variétés de culture bio-fortifiées et la volonté des agriculteurs à les adopter affecte également l'ampleur de l'impact de cette stratégie (Hotz, 2009).

Plusieurs questions sont encore en suspens concernant la bio-fortification en zinc des cultures vivrières de base. Ces questions sont :

Le niveau réalisable d'augmentation de la teneur en zinc peut-il contribuer à satisfaire les besoins en zinc, en tenant compte de la biodisponibilité dans une grande proportion de la population vulnérable ?

Pour évaluer la faisabilité de la bio-fortification afin d'aboutir à une augmentation significative de l'adéquation des apports en zinc de la population, trois principales questions doivent être prises en compte : Quels sont les niveaux d'apport en zinc additionnel absorbé à atteindre pour contribuer efficacement aux besoins en zinc des populations ? Ces niveaux peuvent-ils être atteints grâce aux processus de bio-fortification ? Si les niveaux minimum ciblés pour les teneurs en zinc des aliments de base sont atteints, vont-ils toucher la population cible à risque ?

Les réalisations en sélection conventionnelle pour les cultures vivrières de base riches en zinc suggèrent qu'il y ait un potentiel de reproduction adéquate pour plusieurs cultures telles que le riz, le maïs, le blé et le mil. Si les hypothèses sont remplies pour l'apport journalier de l'aliment de base, la biodisponibilité du zinc dans l'alimentation et la quantité de zinc perdue au cours du traitement et de la cuisson, la quantité additionnelle de zinc obtenue par bio-fortification dans ces cultures contribuerait approximativement à 40% des besoins en zinc absorbé pour les femmes non enceintes et les enfants âgés de 4 à 6 ans (IZiNCG, 2004 ; Hotz et McClafferty, 2007 ; Hotz, 2009). Les taux d'adoption ou de « couverture » des cultures bio-fortifiées en zinc et leur consommation par différents groupes d'âge doivent être évalués dans les essais de mise en œuvre à grande échelle.

Quels sont les principaux facteurs potentiels qui peuvent modifier l'impact des cultures vivrières de base bio-fortifiées en zinc ?

Les effets du degré de mouture sur l'utilité potentielle de la bio-fortification en zinc dans les grains nécessitent d'être pris en compte. La quantification des teneurs en zinc et phytates des produits céréaliers bio-fortifiés entiers et raffinés et l'absorption du zinc de ces derniers doivent être mesurées dans des études menées chez des humains. Il est possible que la perte de zinc avec le broyage puisse être compensée par la perte parallèle de phytates avec comme résultat une augmentation de la biodisponibilité du zinc. Néanmoins, le maximum d'avantages de la bio-fortification ne peut être observé que si plus de zinc additionnel est déposé dans l'albumen des graines. Une autre stratégie possible pour affecter positivement l'impact de la bio-fortification en zinc est une diminution concomitante de la teneur en phytates. Certaines expériences avec les cultures de céréales mutantes à faible teneur en phytates suggèrent qu'il

est possible de diminuer considérablement la teneur en phytates des grains (Bregitzer, 2006 ; Hotz, 2009). L'impact potentiel de l'hôte ou des facteurs environnementaux affectant l'intestin, l'absorption du zinc ou les pertes intestinales de zinc endogène devrait être quantifié (Hotz, 2009).

Quels sont les risques de consommer des aliments bio-fortifiés en zinc ?

Aux niveaux physiologiques modestes d'augmentation de la teneur en zinc actuellement réalisable par la bio-fortification, il est peu probable qu'il y ait un risque important d'apports toxiques de zinc à la suite de la bio-fortification. Il est également peu probable qu'une augmentation du contenu en zinc dans les aliments de base entraîne un changement dans leurs qualités organoleptiques qui pourraient conduire à un rejet des variétés bio-fortifiées introduites (Hotz, 2009).

III. QUESTION DE RECHERCHE, HYPOTHESE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

Au Sénégal, le COSFAM (Comité Sénégalais de Fortification des Aliments en Micronutriments) œuvre pour la lutte contre les carences en micronutriments à travers la stratégie de fortification de masse des aliments de base (farine et huile). Les micronutriments visés sont ceux dont les niveaux de carence sont connus et nécessitent la mise en place de programmes d'intervention. Il s'agit présentement de la vitamine A pour l'huile végétale et du fer/acide folique pour la farine et pour le futur, une fortification en zinc est programmée. Ainsi il est nécessaire de mener une étude de prévalence de la carence en zinc pour connaître la situation du Sénégal et pour permettre si nécessaire son intégration dans ces programmes d'intervention.

La connaissance du statut en zinc des enfants et en seconde lieu l'identification d'indicateur simple et fiable pour évaluer l'impact des programmes de fortification de masse en zinc sont nécessaires d'où l'objectif de notre étude.

1. QUESTION DE RECHERCHE

Quel est le statut de en zinc des enfants âgés de 12 à 59 mois au Sénégal ?

2. HYPOTHESE DE RECHERCHE

La consommation quotidienne de zinc sous forme de supplément ou de farine de céréales fortifiée en zinc augmente la concentration plasmatique de zinc chez les enfants âgés de 9 à 17 mois.

3. OBJECTIF GENERAL

L'objectif général de cette thèse est d'évaluer le statut en zinc des enfants âgés de 12 à 59 mois et de déterminer si la concentration en zinc du plasma change en réponse à la supplémentation et à la consommation additionnelle de zinc fournie sous forme d'aliments à base de céréales fortifiées en zinc.

4. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Mesurer la concentration plasmatique de zinc et celle des protéines de la réaction inflammatoire (AGP, CRP) des enfants âgés de 12 à 59 mois dans le cadre d'une étude représentative au niveau national
- Fortifier en zinc un aliment de complément (bouillie) préparé à partir de farines de céréales locales et effectuer des tests sensoriels et d'acceptabilité de ces aliments.
- Mesurer la réponse plasmatique de zinc chez des enfants sénégalais âgés de 9 à 17 mois

CHAPITRE III

EVALUATION DU STATUT DE BASE EN ZINC CHEZ LES ENFANTS SENEGALAIS AGES DE 12 A 59 MOIS

I. RAPPEL DES OBJECTIFS

1. QUESTION DE RECHERCHE

Quel est le statut en zinc des enfants âgés de 12 à 59 mois au Sénégal ?

2. OBJECTIF GENERAL

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le statut de base en zinc des enfants âgés de 12 à 59 mois au Sénégal.

3. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Faire un échantillonnage représentatif des enfants sénégalais âgés de 12 à 59 mois,
- Mesurer la concentration plasmatique de zinc des enfants ;
- Mesurer la concentration plasmatique des protéines de l'inflammation (Protéine C-Réactive, alpha 1 Acide Glycoprotéine).

II. SUJETS ET CADRE DE L'ETUDE

1. SUJETS

La population cible de l'étude est représentée par les enfants âgés de 12 à 59 mois (garçons et filles). Tous les enfants sont éligibles à la seule condition de fournir un consentement libre et éclairé des parents, sur la base du volontariat.

L'étude a été approuvée par le Comité National d'Ethique du Ministère de la santé. Des lettres d'informations ont été adressées aux différents gouverneurs des régions.

2. CALCUL DE LA TAILLE DE L'ECHANTILLON, CADRE DE L'ETUDE ET TIRAGE DE L'ECHANTILLON

2.1. Calcul de la taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon est déterminée par la formule suivante :

$$n = \frac{2^2 * p * (1 - p)}{e} * d$$

n=taille de l'échantillon
p=prévalence attendue
d=effet de grappe

L'effet de grappe (d) a été fixé à 2,9 à cause de la complexité de la procédure d'échantillonnage retenue (Agence Nationale de la Démographie et de la Statistique sénégalaise), le niveau de confiance à 95% et une marge d'erreur de 5%. Avec une prévalence estimée de 57%, la taille minimale de l'échantillon des enfants de 12-59 mois pour définir le statut en zinc est de 1138.

2.2. Cadre de l'étude

A partir d'une cartographie de l'ensemble du territoire national, un fichier informatique contenant environ 11746 districts de recensement (DR) a été élaboré. Cet ensemble de DR, constituant la base de sondage, est utilisé pour la sélection des unités. Dans ce fichier, chaque DR apparaît avec tous ses identifiants (région, département, commune/arrondissement et code d'identification), sa taille en ménages et son type de milieu de résidence (urbain ou rural).

Dans le cadre de l'étude, le territoire national a été découpé en quatre grandes zones (**Figure III-1**) sur la base de modes de consommation alimentaire différents selon l'enquête FRAT (FRAT, 2006) :

- Dakar urbain : qui regroupe l'ensemble du milieu urbain de la région de Dakar,
- Autres villes : les autres villes ou communes
- Zone Rurale 1 : constituée par les zones rurales des régions de Tambacounda, Kédougou, Kolda, Sédhiou et Ziguinchor,

- Zone Rurale 2 : constituée par les zones rurales de Matam, Saint-Louis, Louga, Thiès, Diourbel, Fatick, Kaolack, Kaffrine ainsi que les zones rurales de Dakar.

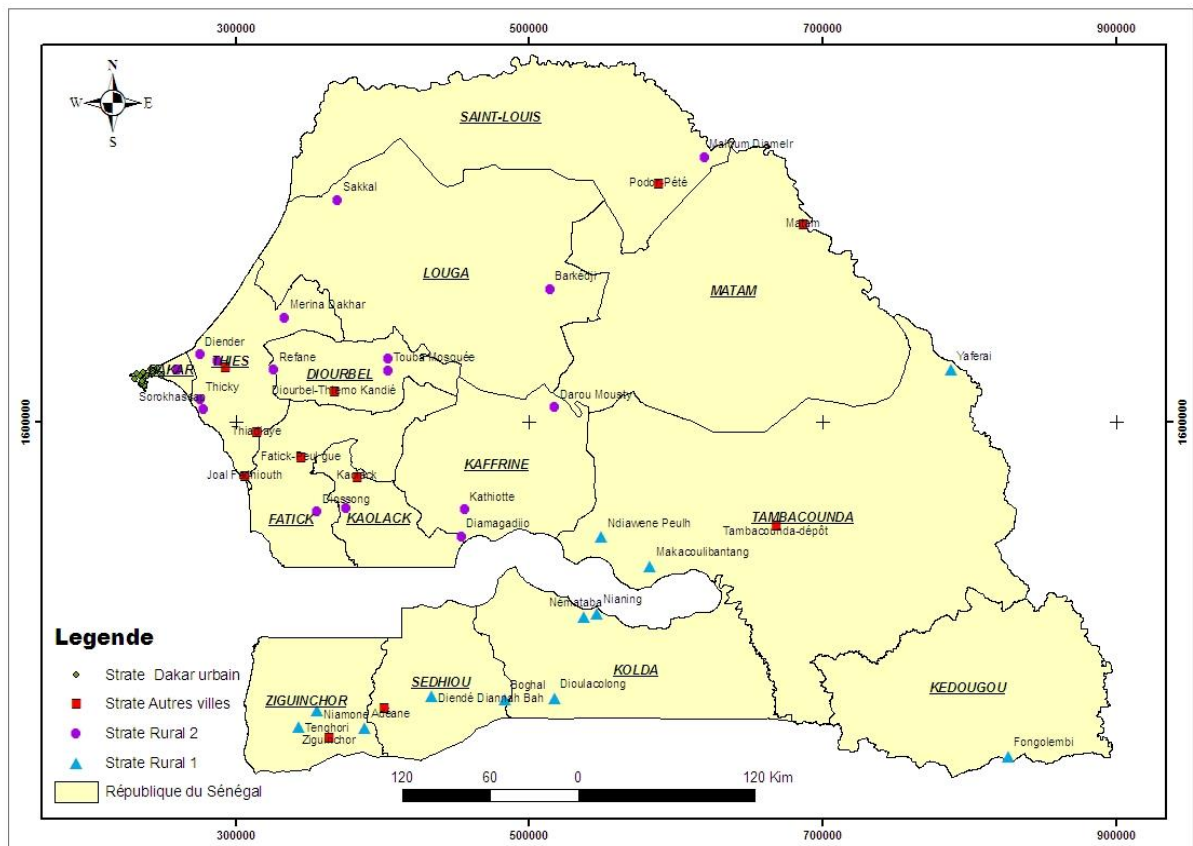


Figure III-1 : Cadre de l'étude

2.3. Tirage de l'échantillon

La procédure d'échantillonnage est un sondage aréolaire stratifié à deux degrés. L'unité primaire est le District de Recensement (DR), l'unité secondaire étant le ménage.

Au total 1810 ménages et 1887 enfants âgés de 12 à 59 mois ont été enquêtés (y compris les non-réponses) pour obtenir des données de base représentatives du statut en zinc des enfants.

III. METHODES

L'étude comporte un questionnaire individuel, un questionnaire collectif, un examen clinique et un prélèvement sanguin.

1. QUESTIONNAIRE

Les informations relatives à la santé de l'enfant, à son alimentation, au niveau socioéconomique du ménage auquel il appartient, ont été recueillies à partir de deux questionnaires. Il s'agit :

D'un questionnaire MENAGE administré au chef de ménage et comportant les parties suivantes :

- Identification du ménage
- Composition du ménage
- Avoirs du ménage
- Situation économique du ménage
- Consommation de bouillons et d'huile enrichis

Et d'un questionnaire ENFANT administré à ses parents ou à la personne ayant sa charge. Il comporte les sections suivantes :

- Identification de l'enfant
- Enquête alimentaire
 - ✓ Fréquence de consommation alimentaire
 - ✓ Allaitement
 - ✓ Aliments de complément
- Santé
 - ✓ Interrogatoire
 - ✓ Examen physique (poids de naissance, état général de l'enfant, présence de signes cliniques de carence en vitamine A et d'anémie, présence d'œdèmes bilatéraux).
- une fiche de prélèvement sanguin, a été administrée pour la collecte des données des enfants.

Ce questionnaire enfant est conçu pour faciliter le remplissage, la plupart des questions faisant appel à des réponses pré-codées (**voir Annexes**).

Les données de consommation alimentaire ne sont pas présentées dans cette thèse.

2. ETHIQUE

Les mères ont été informées de leur totale liberté de participer ou non à l'étude et leur consentement a été recueilli par signature du document de consentement. L'étude a été approuvée par le Comité National d'Ethique du Ministère de la santé. Des lettres d'information ont été adressées aux différents gouverneurs des régions.

3. MESURES

3.1. Durée de la collecte et ses différentes phases

Sur le terrain, l'équipe est divisée en deux groupes : un groupe d'enquêteurs et un groupe de biologistes. L'enquête et les prélèvements se sont déroulés du 27 mars au 30 mai 2010. La saisie et le contrôle des données ont été effectués du 26 juillet au 11 décembre 2010.

3.2. Prélèvement sanguin et dosages biologiques

3.2.1. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de sang sont obtenus par ponction veineuse à l'aide d'un dispositif constitué d'un tube de prélèvement sous vide en polyéthylène à usage unique contenant un anticoagulant (héparine de lithium), indemne de contamination métallique (**Sarstedt AG et Co, Numbredt, Germany**). Un échantillon de 5 ml est prélevé à l'abri de la poussière. Auparavant, l'âge, le sexe, l'heure du dernier repas, l'heure du prélèvement et de la centrifugation ont été notés. Les tubes de sang sont ensuite transportés dans une glacière à -4°C jusqu'à la « voiture laboratoire » où le sang est centrifugé à 767 g (3200 tours/min) pendant 12 min (**centrifugeuse EBA 20, model 2002 ; Andreas Hettich GmbH AG Co. KG, Tutt linger, Germany**). Le plasma recueilli est aliquoté dans des cryotubes de 2 ml (**Nalgene, Nunc International, Rochester, NY, USA**), conservé à -20°C dans un mini congélateur **WAECO (Waeco international GmbH, Emsdetten, Germany)** installé dans la voiture, puis à -80°C au laboratoire jusqu'aux dosages.

3.2.2. Dosages biologiques

3.2.2.1. Dosage du zinc plasmatique

a- Appareillage, principe

Le zinc plasmatique est mesuré avec un spectrophotomètre de flamme/four graphite (**AA800 Model, Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, USA**), piloté par le logiciel WinLab

3.2 (**Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, USA**) qui permet de programmer les différentes méthodes de dosage et de traiter les résultats.

Le principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique de flamme est fondé sur la capacité des électrons des atomes à absorber des radiations monochromatiques spécifiques émises à partir d'une source (cathode) en phase vapeur. Cette cathode émet de l'énergie sous forme de photons de fréquence spécifique de l'élément à doser qui en absorbe une partie. Le courant de la lampe à cathode creuse a été fixé à 15 mA et la raie spectrale a été fixée à 213,9 nm. La flamme air-acétylène a été choisie comme source d'atomisation. Ces paramètres instrumentaux ont été optimisés en utilisant une solution de zinc à 1 mg/L, concentration caractéristique de cet élément ($Abs=0,2$) dans la matrice préconisée par Perkin-Elmer. La mesure de cette absorption (rapport des intensités incidentes et transmises), est proportionnelle à la quantité d'atomes de l'élément à doser et permet donc de déterminer la concentration de l'élément dans la solution par rapport à une gamme de calibration préparée à partir d'une solution mère de zinc de 1g/L. L'expression de l'absorbance (A) ou densité optique (DO) est donnée par la loi de Beer-Lambert.

Ensuite, le logiciel WinLab 3.2 calcule sur cette base les concentrations en zinc des échantillons de plasma en tenant compte du facteur de dilution.

b. Mode opératoire

- Préparation des solutions de travail

1. Solution de dilution

La solution de dilution est de l'acide chlorhydrique (HCl) 0,1 M (**Scharlab, Sentmenat, SPAIN**).

2. Solutions filles

- Une solution fille n°1 de zinc à 150 $\mu\text{mol/L}$ est préparée en complétant 50 μL de la solution mère de zinc (**Reagecon, Clare, Ireland**) à 1 g/L à 5000 μL de HCl 0,1 M.
- Une solution fille n°2 de zinc à 50 $\mu\text{mol/L}$ est préparée par dilution de 3 mL de la solution fille n°1 avec 6 mL de HCl 0,1 M.

- Préparation des calibrants

Les calibrants à 5, 10, 20 et 40 µmol/L sont obtenus par dilution de la solution fille n°2 dans du HCl 0,1M tel qu'indiqué dans le tableau suivant :

Concentration (µmol/L)	0	5	10	20	40
Solution fille n°2 (mL)	0	0,5	1	2	4
HCl 0,1 M (mL)	0	4,5	4	3	1

Pour préparer les standards, les calibrants sont dilués au 1/10 (2 ml de calibrant + 18 ml de HCl 0,1 M) et les concentrations des solutions à nébuliser seront donc de 0, 0,5, 1, 2 et 4 µmol/L.

	Blanc	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4
Concentration (µmol/L)	0	0,5	1	2	4
Concentration (mg/L)	0	0,033	0,065	0,13	0,26

- Préparation des échantillons et du sérum de contrôle

Les échantillons de plasma des sujets et les sérums de contrôle sont dilués au 1/10 dans du HCl 0,1 M comme suit :

Plasma du sujet ou sérum de contrôle	250 µL
HCl 0,1 M	2250 µL

c. Contrôle de qualité

L'exactitude et la précision des mesures sont contrôlées à l'aide d'un sérum de contrôle humain (niveau 2) de Randox (**Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom**) et d'un plasma de contrôle interne. Ce contrôle interne préparé au Laboratoire de Nutrition à partir d'un pool de plasma est conservé en plusieurs aliquotes et utilisé dans toutes les séries de dosages. De même, les mesures sont faites en double et toute détermination associée à un coefficient de variation supérieur à 5% est reprise.

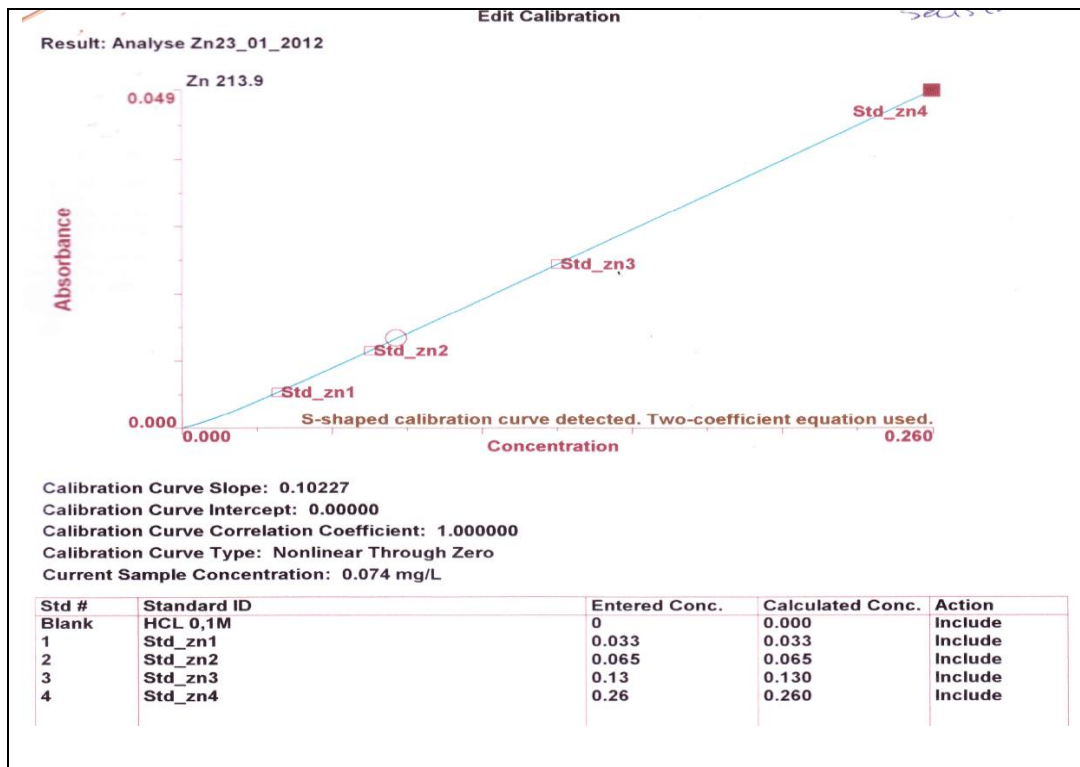


Figure III-2 : Exemple de courbe de calibration pour le dosage du zinc

d. Définition de la carence en zinc

La définition de la carence en zinc est faite selon les seuils définis par l'International Zinc Nutrition Consultative Group (**IZiNCG**) (Hotz et Brown, 2004). Ces seuils correspondent à une **zincémie inférieure** à :

- **65 µg/dL** lorsque le prélèvement est effectué le matin (PM) et que le sujet n'est pas à jeun
- **57 µg/dL** pour un prélèvement fait dans l'après-midi (PAM) et sujet non à jeun

3.2.2.2. Dosages de la Protéine C-Réactive et de l'alpha-1 Acide Glycoprotéine

L'alpha-1 Acide Glycoprotéine (AGP) et la Protéine C-Réactive (CRP) sont des marqueurs de l'infection et/ou de l'inflammation. Leurs concentrations dans le sang augmentent au cours de ces épisodes. Des niveaux élevés de CRP traduisent une infection

et/ou une inflammation aiguë et ceux d'AGP expriment une infection et/ou une inflammation chronique. Ces protéines sont dosées par immuno-turbidimétrie.

3.2.2.2.1. Dosage de la Protéine C-Réactive (CRP)

a- Principe

La Protéine C-Réactive (CRP) plasmatique contenue dans l'échantillon provoque une agglutination des particules de latex couvertes avec les anticorps anti-protéines C-réactive humains. L'agglutination des particules de latex est proportionnelle à la concentration en CRP et peut être quantifiée par immuno-turbidimétrie.

b- Appareillage et réactifs

L'appareillage est un analyseur automatique Biosystems A15 (BioSystems S.A, Costa Brava 30, Barcelona, Spain) piloté par ordinateur. La protéine C-réactive est dosée par un kit (Réf 13921, Biosystems) contenant les réactifs A (un tampon de glycine à 0,1mol/L, pH 8,6 ; 2x16mL) et B (suspension de particules de latex sensibilisées avec les anticorps anti CRP humaine ; 2x4mL) et un standard (1x1mL) reconstitué avec de l'eau distillée.

c- Mode opératoire

Les mesures sont effectuées automatiquement par l'analyseur A15 selon la programmation préenregistrée par le fabricant. Un volume de 100 µL d'échantillon (ou des sérums contrôles, ou du standard, ou du pool interne de plasma) est introduit dans une cupule disposée sur le plateau échantillons de l'appareil. Le mélange des réactifs A (16 mL) et B (4 mL) est disposé sur le plateau réservé aux réactifs et le contrôle de qualité des mesures est effectué avant le dosage des échantillons.

Au cours de la réaction, 3 µL de plasma sont prélevés par l'analyseur qui effectue automatiquement le mélange avec 440 µL de réactif. La CRP de l'échantillon réagit avec les anticorps anti-CRP et conduit à la formation de complexes antigène-anticorps, entraînant une agglutination qui est mesurée par turbidimétrie.

d- Contrôle qualité

La qualité du dosage est vérifiée grâce aux sérums Contrôle Rhumatoïde niveaux I (3x1 mL, Réf. 31213, BioSystems) et II (3x1 mL, Réf. 31214, BioSystems). Le contrôle de la qualité interne des mesures est effectué à l'aide d'un pool de plasma interne. Les mesures sont validées lorsque les valeurs des différents contrôles sont dans les limites admises (± 2 écarts type).

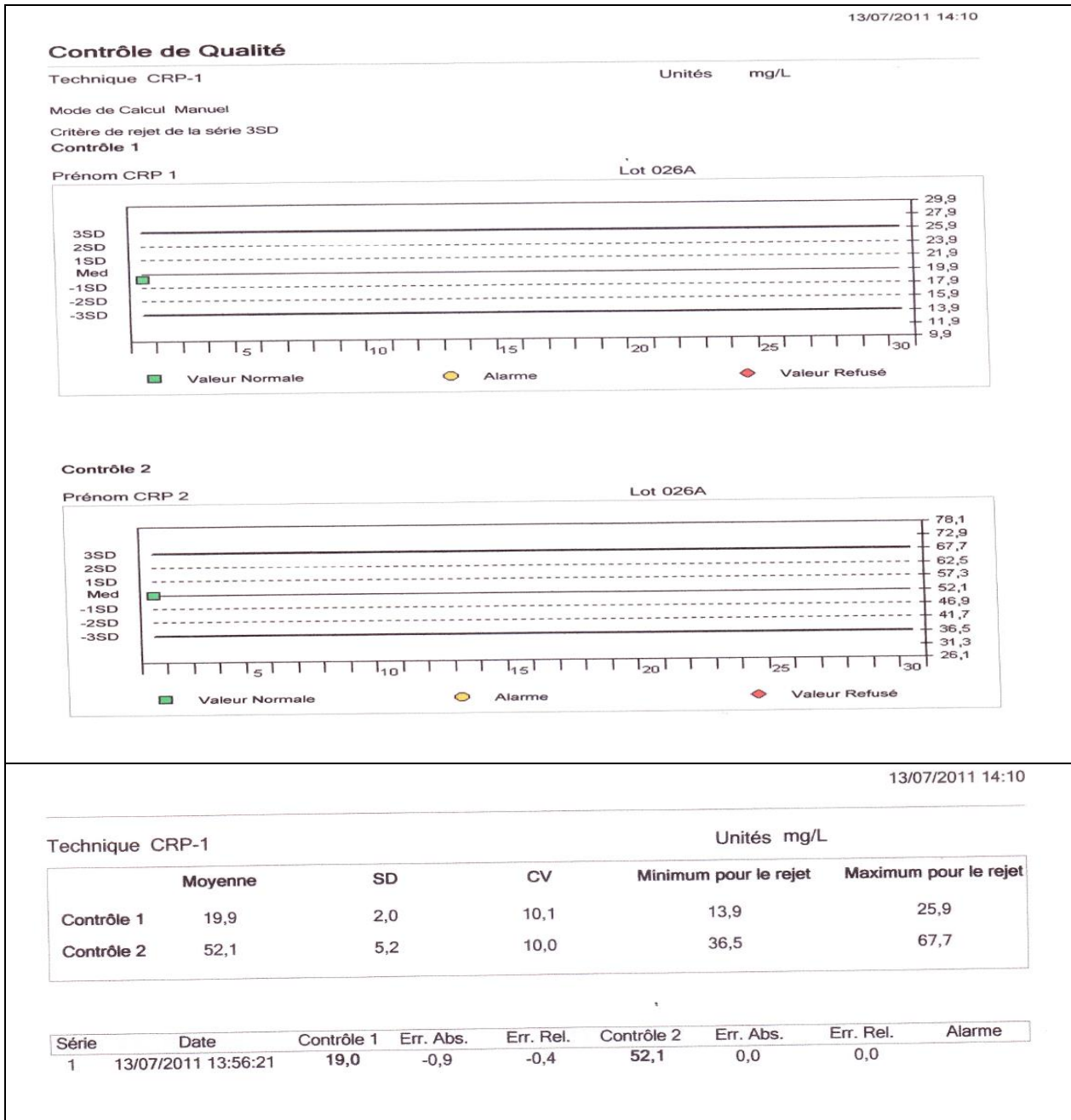


Figure III-3 : Exemple de courbe de contrôle de qualité pour le dosage de la CRP

3.2.2.2.2. Dosage de l'alpha-1 Acide Glycoprotéine

a- Principe

L'alpha-1 Acide Glycoprotéine, aussi appelée orosomucoïde, présente dans l'échantillon à doser, précipite en présence d'anticorps anti alpha-1 Acide Glycoprotéine humain. La dispersion de la lumière générée par les complexes antigène-anticorps est proportionnelle à la concentration en alpha-1 Acide Glycoprotéine de l'échantillon et peut être quantifiée par turbidimétrie.

b- Appareillage et réactifs

L'AGP est dosé avec un Tampon Tris (50 mmol/L, pH 8,5) (Réf 31928, BioSystems S.A, Barcelona, Spain) contenant des anticorps de chèvre anti-AGP humains avec le même automate Biosystems A15. Un standard (1x1mL ; Réf 31195, BioSystems S.A, Barcelona, Spain) est utilisé pour la courbe de calibration.

c- Mode opératoire

Comme pour la CRP, 100 µL d'échantillon (ou de sérum contrôle, ou du pool interne de plasma) sont introduits dans une cupule disposée sur le plateau d'échantillons de l'appareil. Le réactif est disposé sur le plateau qui lui est destiné et le contrôle de la qualité des mesures est effectué. Trois (3) µL de plasma sont aspirés par l'analyseur qui effectue automatiquement le mélange avec 300 µL de réactif. Il y a ainsi formation d'immuno-complexes qui sont mesurés par turbidimétrie. L'absorbance des complexes est proportionnelle à la concentration en AGP dans l'échantillon qui est calculée, par interpolation, avec la courbe de calibration effectuée en 5 points selon les indications données par le fabricant.

d- Contrôle qualité

La précision et la validité des mesures sont contrôlées avec des sérums de contrôle de protéines niveaux I (3x1 mL, Réf.31211 BioSystems S.A, Barcelona, Spain) et II (3x1 mL Réf.31212 BioSystems S.A, Barcelona, Spain).

Le contrôle de la qualité interne des mesures a été effectué à l'aide d'un pool de plasma. Les mesures sont faites en double pour l'AGP. Elles sont valides si le coefficient de variation entre deux mesures est inférieur à 5%.

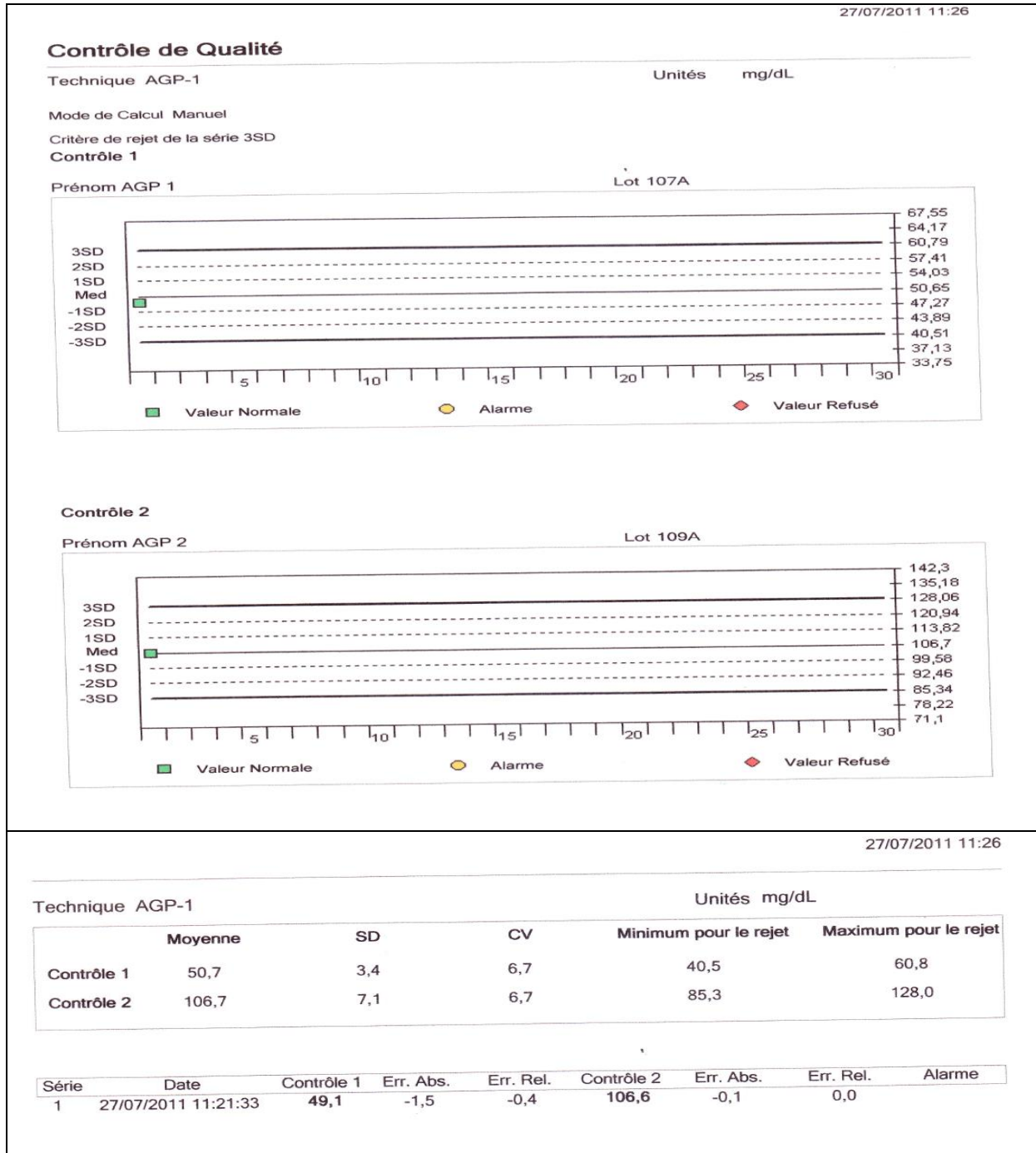


Figure III-4 : Exemple de courbe de contrôle de qualité pour le dosage de l'AGP

3.2.2.2.3. Définition de l'infection et/ou l'inflammation

Les différents statuts infectieux ont été définis comme suit :

- Infection aiguë : concentrations plasmatiques de CRP ≥ 5 mg/L et d'AGP < 1 g/L
- Infection chronique : concentrations plasmatiques d'AGP ≥ 1 g/L et de CRP < 5 mg/L
- Infection aiguë et chronique (ou forme mixte) : concentrations plasmatiques de CRP ≥ 5 mg/L et d'AGP ≥ 1 g/L

4. SAISIE, TRAITEMENT ET ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

La saisie, le traitement et l'analyse statistique des données sont effectués grâce aux logiciels Epi-info 3.5.1 (**Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA**), Excel 2003 (**Microsoft Corporation, Redmond, USA**) et STATA/SE 11.0 (**STATA Corporation, Texas, USA**). Pour avoir une représentativité nationale, les pourcentages sont pondérés ainsi que les comparaisons de moyennes.

Une description statistique est utilisée pour examiner la distribution des variables, les résultats sont exprimés en moyennes \pm écart-types, en pourcentage, en maximum-minimum et 25^{ème}-75^{ème} percentiles. La variable CRP dont la distribution n'est pas gaussienne a subi une transformation logarithmique avant d'être exprimée en moyenne géométrique \pm écart type. Le test de χ^2 de Pearson est utilisé pour comparer les pourcentages en fonction du sexe et des tranches d'âge. Des modèles de régression linéaire simple ont été générés pour déterminer l'effet des facteurs de confusion (l'heure du prélèvement, l'intervalle entre l'heure du prélèvement et l'heure de la centrifugation, l'intervalle entre l'heure du prélèvement et l'heure du dernier repas, AGP et la CRP) sur la concentration de zinc plasmatique. Le test ANOVA est utilisé pour comparer la moyenne de zinc plasmatique non corrigée en fonction du sexe et des tranches d'âge. Une analyse de covariance (Général Linéaire Modèle Univarié) est faite pour comparer les moyennes de zinc, après ajustement par rapport aux facteurs de confusion cités précédemment.

Pour toutes ces analyses statistiques, un seuil de signification de 5% est retenu.

IV. RESULTATS

Sur les quatre strates de l'étude 1810 ménages ont été visités et 1887 enfants enquêtés. Les prélèvements sanguins ont été effectués sur 1496 enfants ce qui fait un taux de réponse de 79,3%. Les dosages de zinc, CRP et AGP ont été effectués sur 1151 échantillons.

1. CARACTERISTIQUES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES DES ENFANTS

Une comparaison des caractéristiques socio-démographiques et de santé est faite entre les enfants prélevés et non prélevés et entre les enfants mesurés et non mesurés en zinc. Aucune différence n'est trouvée entre les enfants prélevés et ceux non prélevés. Les enfants non mesurés en zinc sont plus présents chez ceux ayant un état général passable ($p = 0,006$) et une pâleur palmaire légère ($p = 0,007$) lors du prélèvement sanguin. Les dosages du zinc ne sont pas effectués chez ces enfants à cause de l'insuffisance des échantillons de sang.

1.1. Répartition des enfants selon le sexe

Au total, 1887 enfants ont été enquêtés dont 941 sont des filles et 928 des garçons. Leur âge moyen ($M \pm ET$) est de $34,2 \pm 12,9$ mois ($n = 1869$). Leur répartition selon le sexe est indiquée dans le **Tableau III-1**.

Tableau III-1 : Répartition des enfants selon le sexe

Garçons		Filles	
%	<i>n</i>	%	<i>n</i>
49,8	928	50,2	941

La répartition par sexe fait ressortir une légère prédominance de filles (50,2%). L'âge moyen des filles est de $34,7 \pm 13,1$ mois ($n = 941$) et celui des garçons de $33,8 \pm 12,8$ ($n=928$).

1.2. Répartition des enfants selon l'âge

L'âge moyen des enfants ($M \pm ET$) est de $34,2 \pm 12,9$ mois ($n = 1869$). Leur répartition selon la tranche d'âge est indiquée dans le **Tableau III-2**.

Les tranches d'âge les plus représentatives sont les 36 - 47 mois et 24 - 35 mois avec des proportions respectives de 26,2% et 25,8%. Les autres tranches d'âge sont représentées dans l'échantillon avec à peu près les mêmes proportions.

Tableau III-2 : Répartition des enfants par tranche d'âge

	Tranche d'âge (mois)							
	12 – 23		24 - 35		36 - 47		48 - 59	
	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>
Total	24,2	462	25,8	485	26,2	480	23,8	442

1.3. Garde des enfants

Quarante pourcent (40,3%) des mères des enfants ont été également enquêtées et plus de huit enfants sur 10 (84,6%) étaient sous la responsabilité directe de leur mère.

2. SANTE DES ENFANTS

Les caractéristiques relatives à la santé des enfants sont présentées dans le **Tableau III-3**.

Plus de la moitié des enfants (59,1%) présentaient un bon état général c'est-à-dire sans figures apparents de maladies ou fièvre détectable par l'examen médical par un médecin au moment de l'enquête. En revanche, ceux qui présentent un mauvais état général n'étaient que de 3%.

Au cours des 15 derniers jours précédant l'enquête, 44,7% des enfants étaient malades. Les principaux symptômes rencontrés sont la fièvre (74,2%), la toux et/ou des difficultés respiratoires (45,3%) et la diarrhée (28,1%).

L'interrogatoire révèle la présence de parasites intestinaux chez 8,2% des enfants au cours des 15 derniers jours précédant l'enquête. Aussi, la présence d'œdèmes bilatéraux, traduisant une malnutrition aiguë sévère, a été observée chez 0,5% des enfants. Ces derniers ont été référés au poste de santé le plus proche pour une prise en charge médicale.

Par ailleurs, les données sur la vaccination contre la rougeole, obtenues à partir des carnets de santé ou des déclarations des répondants, montrent que 87% des enfants ont été

vaccinés contre la rougeole. Parmi eux, la proportion d'enfants dont la vaccination était vérifiée à partir du carnet de santé est de 14,5%. Pratiquement huit enfants sur dix (77,8%) ont bénéficié d'un déparasitage avant l'étude dont 91,7% au cours des 6 derniers mois.

L'interrogatoire des mères montre que 0,8% des enfants avaient des problèmes de vision nocturne. En outre, sur les 1560 enfants, chez qui on a recherché des lésions de la xérophtalmie, 19 (1,4%) présentaient une xérose conjonctivale, 04 (0,3%) une tache de Bitot (X1B) et 01 (0,1%) une xérose cornéenne (X2). Aucun ne présentait d'ulcération cornéenne (X3) ou de cicatrice cornéenne.

Le taux de couverture de la supplémentation en vitamine A, au cours des 6 derniers mois ayant précédé l'enquête, s'élève à 78,5% (n = 1559). En outre, durant l'enquête, seuls 1,7% des enfants prenaient des suppléments de vitamine A sous forme de sirop ou de comprimés.

L'anémie clinique, évaluée selon le degré de pâleur palmaire montre 35,1% d'anémie légère à modérée et 2,4% d'anémie grave. Les proportions de garçons et de filles présentant une pâleur palmaire sévère sont respectivement de 1,1% et 1,4%. Au cours des 15 derniers jours ayant précédé l'enquête 6,5% des enfants avaient eu des saignements causés exclusivement par les blessures, les épistaxis, les plaies etc.

Le taux de couverture de la supplémentation en fer au moment de l'enquête est très faible. En effet, sur les 1507 enfants enquêtés, seuls 0,4% ont reçu des suppléments de fer sous forme de comprimés ou sirop durant la période de l'enquête.

Tableau III-3 : Santé des enfants

	Tous		Garçons		Filles	
	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>
Etat général des enfants¹						
• Excellent	23,3	295	11,9	152	11,5	143
• Bon	59,1	967	28,9	469	30,2	498
• Passable	14,6	194	7,5	96	7,1	98
• Mauvais	3,0	46	1,3	21	1,7	25
Signes de morbidité						
• Fièvre	74,2	392	36,2	189	37,9	203
• Diarrhée	28,1	117	13,3	53	14,8	64
• Toux/difficultés respiratoires	45,3	197	22,2	98	23,1	99
• Maux de ventre sans diarrhée	11,5	48	6,2	27	5,4	21
• Autres (vomissement, éruptions cutanées, céphalées etc.)	44,4	174	21,5	84	22,9	90

¹Le niveau d'état général des enfants est déterminé par le personnel médical des équipes de terrain sur la base d'examen clinique.

Tableau III-3, suite

Signes clinique de la carence en vitamine A							
• Problème de vision nocturne	0,77	11	0,41	5	0,35	6	
• Xérosis conjonctival X1A	1,38	19	0,9	12	0,5	7	
• Tache de Bitot X1B	0,32	4	0,1	2	0,2	2	
• Xérosis cornéen X2	0,13	1	0	0	0,1	1	
Signes cliniques de l'anémie							
• Pâleur palmaire							
✓ Sévère	2,4	35	1,1	17	1,4	18	
✓ Légère	35,1	544	17,3	264	17,7	280	
✓ Absente	62,5	968	31,1	478	31,4	290	
• Saignements							
✓ Présence de saignement	6,5	80					
✓ Pas de saignement	92,8	1440					
✓ Ne sait pas	0,7	10					
• Localisation des saignements							
✓ Urines	1,8	2					
✓ Selles	17,3	12					
✓ Autres (blessures, épistaxis, plaie)	80,9	59					

3. ALIMENTATION DES ENFANTS

3.1. Allaitement maternel

La quasi-totalité (98,9%) des mères pratique l'allaitement maternel. La durée médiane de l'allaitement maternel est de 19 mois. L'âge moyen du sevrage est de $21,6 \pm 11,5$ mois ($n = 1539$). Parmi les enfants allaités, plus d'un tiers (43,1%) a été mis au sein dans l'heure suivant la naissance et 47,8% ont été allaités le jour qui a suivi leur naissance. En outre, seuls 34,8% des enfants ont reçu le colostrum à la naissance. Par contre, plus de la moitié des enfants (61,9%) a consommé un aliment (miel, lait de chèvre etc.) autre que le colostrum.

Les proportions d'enfants, âgés de 12 à 23 mois et 24 à 35 mois, allaités au moment de l'enquête sont indiquées dans le **Tableau III-4**.

Tableau III-4 : Proportion d'enfants allaités au moment de l'enquête

	Allaités		Non allaités	
	%	n	%	n
Tranche d'âge (mois)				
• 12-23	65,4	314	34,6	147
• 24-35	3,8	20	96,2	462

3.2. Alimentation complémentaire des enfants

La bouillie est introduite dans l'alimentation des enfants sénégalais à $6,6 \pm 3,8$ mois ($n = 1397$) et le plat familial à $11,8 \pm 5$ mois ($n = 1771$). Les proportions d'enfants qui consomment de la bouillie et le plat familial sont respectivement de 67,5% et 97%. L'huile de palme n'est rajoutée aux bouillies que chez 7,3% des enfants. Une faible proportion d'enfants consomme des farines infantiles commercialisées (5,5%). Cependant, aucun n'a consommé de farine infantile fortifiée en micronutriments. Par ailleurs, 36,1% et 38,4% des enfants reçoivent respectivement 3 et 4 repas par jour.

4. STATUT EN ZINC DES ENFANTS

4.1. Distribution des valeurs moyennes de zinc plasmatique (ZP) mesurées

Sur les 1496 enfants prélevés, la concentration plasmatique de zinc de 1151 enfants a été mesurée. La courbe de distribution des valeurs moyennes de zinc plasmatique chez l'ensemble des enfants est normale et est indiquée sur la **Figure III-5**. Les valeurs de la zincémie mesurée sont comprises entre 25 et 126 $\mu\text{g/dL}$ et la concentration moyenne est de $63,74 \pm 14,37 \mu\text{g/dL}$. Les valeurs des 25^{ème} et 75^{ème} percentiles sont de 54 et 73 $\mu\text{g/dL}$ et celles des 5^{ème} et 95^{ème} percentiles sont de 41 et 87 $\mu\text{g/dL}$.

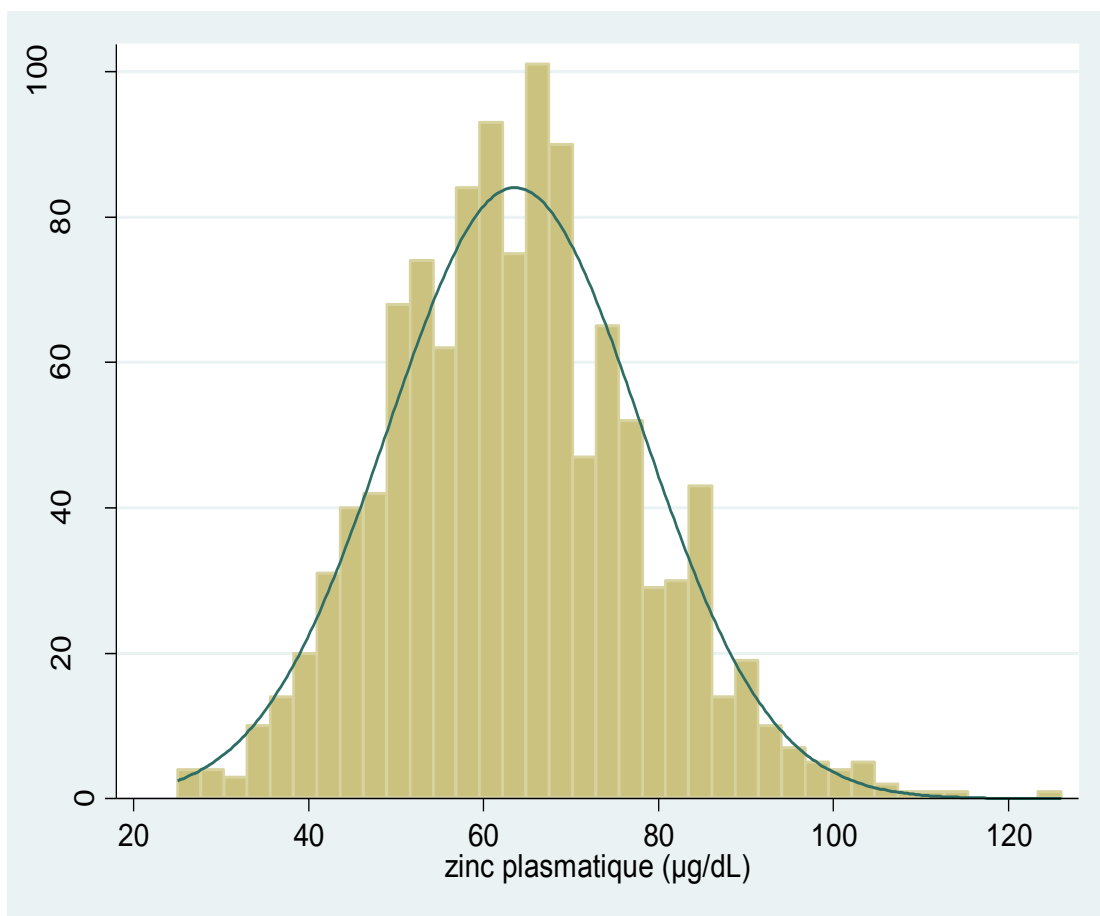


Figure III-5 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants

4.2. Statut en zinc des enfants

Le **Tableau III-8** et la **Figure III-6** présentent le statut en zinc des enfants. La carence en zinc est définie par une concentration plasmatique de zinc $< 65 \mu\text{g/dL}$ d'un prélèvement

sanguin effectué le matin (PM) et $<57 \mu\text{g/dL}$ d'un prélèvement sanguin fait l'après-midi (PAM). La moitié des enfants est carencée en zinc (50,1%).

Tableau III-5 : Statut en zinc des enfants

	%	n
¹ Carencés	50,1	588
² Non carencés	49,9	563
Total	-	1151

¹ZP $< 65 \mu\text{g/dL}$ prélèvement matin(PM) ; ZP $< 57 \mu\text{g/dL}$ prélèvement après-midi (PAM), ²ZP $\geq 65 \mu\text{g/dL}$ PM ; ZP $\geq 57 \mu\text{g/dL}$ PAM

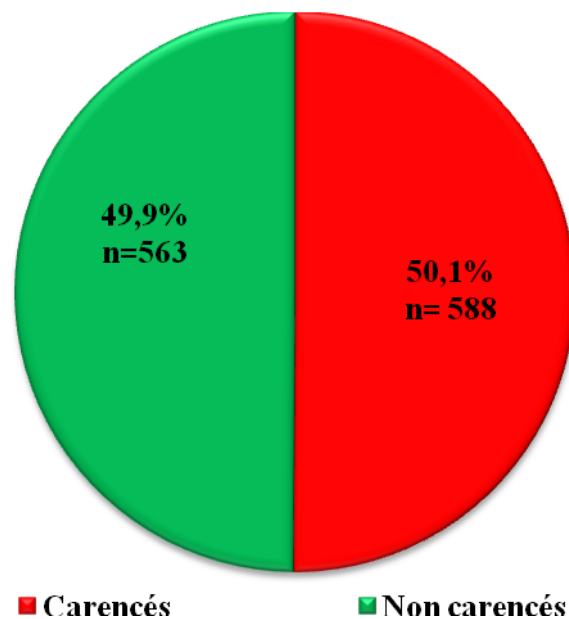


Figure III-6 : Statut en zinc des enfants

4.3. Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc selon le sexe

Les distributions des valeurs de zinc plasmatique chez les garçons et les filles sont présentées par les **Figures III-7** et **III-8**.

Les distributions des valeurs de zinc plasmatique des garçons et des filles sont normales et ont la même tendance comparée à la distribution de l'ensemble des enfants.

Aucune différence n'a été observée entre la zincémie des filles et celle des garçons. La valeur moyenne de zinc plasmatique des garçons est de $63,54 \pm 14,46$ avec des valeurs minimale et maximale respectives de 25 et 126 $\mu\text{g/dL}$ (25^{ème}-75^{ème} percentiles : 54-72 $\mu\text{g/dL}$). Chez les filles les valeurs minimale et maximale sont respectivement de 25 et 115 $\mu\text{g/dL}$ (25^{ème}-75^{ème} percentiles : 54-73 $\mu\text{g/dL}$) avec une moyenne de $63,94 \pm 14,29$ $\mu\text{g/dL}$.

Parmi les enfants carencés en zinc, 55,05% sont des garçons et 45,63% sont des filles (**Tableaux III-9** et **III-10**). Il n'existe pas de différence significative entre les proportions d'enfants carencés en zinc selon le sexe.

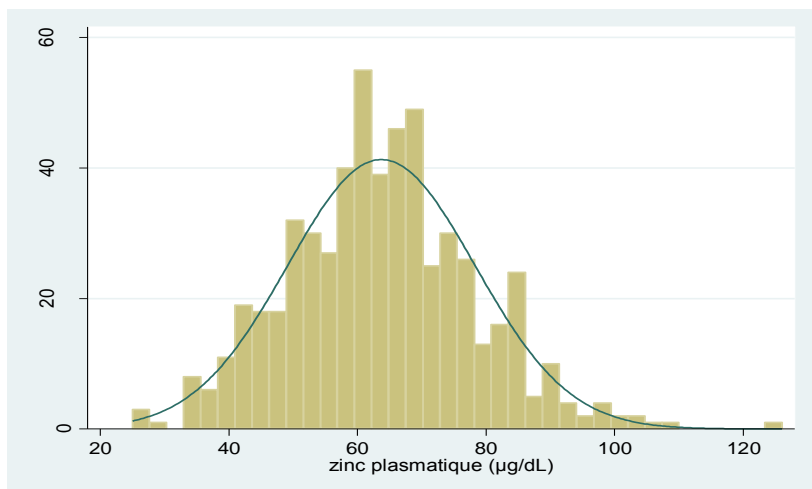


Figure III-7 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique (ZPm) mesurées chez les garçons

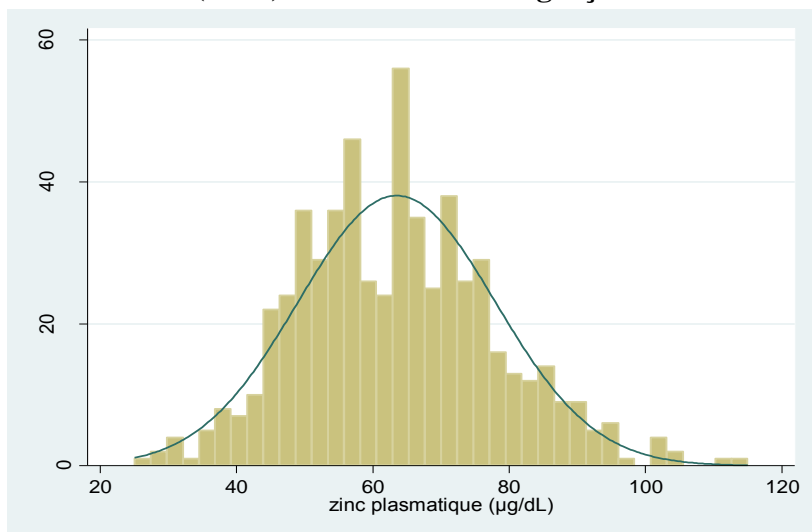


Figure III-8 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique (ZPm) mesurées chez les filles

Tableau III-6 : Statut en zinc des garçons

	%	<i>n</i>
¹ Carencés	50,93	289
² Non carencés	49,07	279
Effectifs	-	568

¹ZP < 65 µg/dL PM et ZP < 57 µg/dL PAM, ²ZP ≥ 65 µg/dL PM et ZP ≥ 57 µg/dL PAM

Tableau III-7 : Statut en zinc des filles

	%	<i>n</i>
¹ Carencés	49,20	299
² Non carencés	50,80	284
Effectifs	-	583

¹ZP < 65 µg/dL PM et ZP < 57 µg/dL PAM, ²ZP ≥ 65 µg/dL PM et ZP ≥ 57 µg/dL PAM

4.4. Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc selon la tranche d'âge

Les courbes de distribution des valeurs de la concentration plasmatique de zinc chez les enfants selon les tranches d'âge sont présentées sur les **Figures III-9 à III-12**. La distribution est normale pour l'ensemble et les moyennes de zinc plasmatique des enfants âgés de 12-23 mois, 24-35 mois, 36-47 mois et 48-59 mois sont respectivement de $62,09 \pm 13,12 \mu\text{g/dL}$, $63,13 \pm 14,73 \mu\text{g/dL}$, $63,99 \pm 14,85 \mu\text{g/dL}$ et de $65,31 \pm 14,26 \mu\text{g/dL}$. Aucune différence significative n'a été observée entre les moyennes de la zincémie des enfants des différentes tranches d'âge, ni en ce qui concerne la prévalence de la carence en zinc chez les enfants.

➤ **Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc chez les enfants âgés de 12-23 mois**

La courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique chez les enfants âgés de 12-23 mois est présentée sur la **Figure III-9**. La distribution des valeurs de zinc est normale et à peu près identique à celle de l'ensemble des enfants, avec des valeurs comprises entre 25 et 98 $\mu\text{g/dL}$. Leur moyenne de zincémie est de $62,09 \pm 13,12 \mu\text{g/dL}$ ($n = 241$). Aux 25^{ème} et 75^{ème} percentiles, les valeurs de la concentration plasmatique de zinc sont respectivement de 53 et 70 $\mu\text{g/dL}$. Plus de la moitié des enfants âgés de 12 à 23 mois (51,73%) sont carencés en zinc (**Tableau III-11**).

➤ **Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc chez les enfants âgés de 24-35 mois**

La courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique chez les enfants âgés de 24-35 mois est normale (**Figures III-10**) et à peu près identique à celle de l'ensemble des enfants, avec des valeurs comprises entre 26 et 112 $\mu\text{g/dL}$. La concentration moyenne de zinc plasmatique des enfants de cette tranche d'âge est de $63,13 \pm 14,73 \mu\text{g/dL}$ (25^{ème} - 75^{ème} percentiles : 52 – 72 $\mu\text{g/dL}$, $n = 292$). Cette moyenne est de $51,63 \pm 8,77 \mu\text{g/dL}$ chez les enfants carencés avec une prévalence de carence en zinc de 49,91% (**Tableau III-12**).

➤ **Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc chez les enfants âgés de 36-47 mois**

La distribution des valeurs de zinc plasmatique chez les enfants âgés de 36 à 47 mois est également normale (**Figure III-11**) et à peu près identique à celle de l'ensemble des enfants avec une valeur moyenne de zincémie de $63,99 \pm 14,85$ µg/dL (n = 309). Les valeurs minimales et maximales sont respectivement de 28 et 126 µg/dL. Les valeurs aux 25^{ème} et 75^{ème} percentiles sont de 54 et 73 µg/dL respectivement. Parmi ces enfants, la moitié (50,41%) est carencée en zinc et a une concentration plasmatique de zinc de $52,62 \pm 8,01$ µg/dL (**Tableau III-13**).

➤ **Distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées et statut en zinc chez les enfants âgés de 48-59 mois**

La courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique chez les enfants âgés de 48 à 59 mois est indiquée sur la **Figure III-12**.

La distribution des valeurs de la concentration plasmatique de zinc est également normale. Les enfants de cette tranche d'âge présentent un statut normal en zinc avec une zincémie moyenne de $65,31 \pm 14,26$ µg/dL (Min-Max : 25-115 µg/dL ; 25^{ème} et 75^{ème} percentiles : 55 – 74 µg/dL, n = 308). Les enfants qui présentent une carence en zinc représentent 48,52% avec une concentration moyenne de zinc plasmatique de $54,16 \pm 7,96$ µg/dL (**Tableau III-14**).

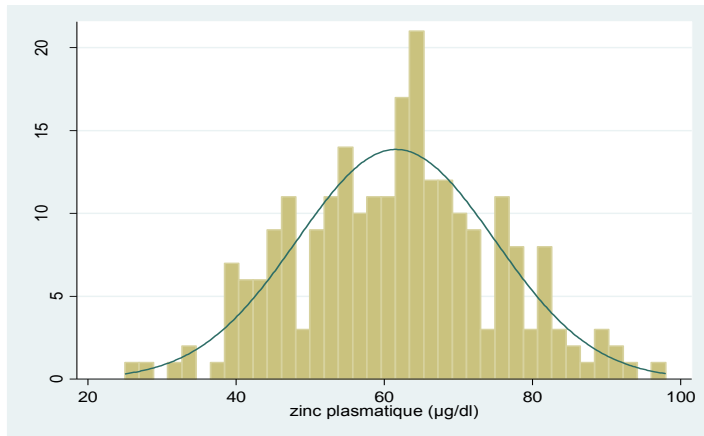


Figure III-9 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 12 - 23 mois

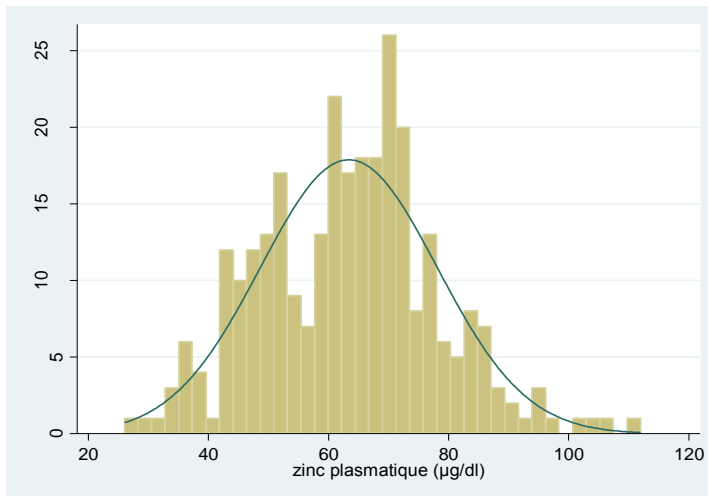


Figure III-10 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 24 - 35 mois

Tableau III-8 : Statut en zinc des enfants âgés de 12 - 23 mois

	ZP _m (µg/dL)	%	<i>n</i>
¹ Carencés	52,14 ± 8,37	51,73	132
² Non carencés	72,76 ± 7,85	48,27	109
Effectif total			241

¹ZP_m < 65 µg/dL (PM) et ¹ZP_m < 57 µg/dL PAM

²ZP_m ≥ 65 µg/dL PM et ²ZP_m ≥ 57 µg/dL PAM

Tableau III-9 : Statut en zinc des enfants âgés de 24 - 35 mois

	ZP _m (µg/dL)	%	<i>n</i>
¹ Carencés	51,63 ± 8,77	49,91	143
² Non carencés	74,58 ± 9,68	50,09	149
Effectif total			292

¹ZP_m < 65 µg/dL (PM) et ¹ZP_m < 57 µg/dL PAM

²ZP_m ≥ 65 µg/dL (PM) et ²ZP_m ≥ 57 µg/dL PAM

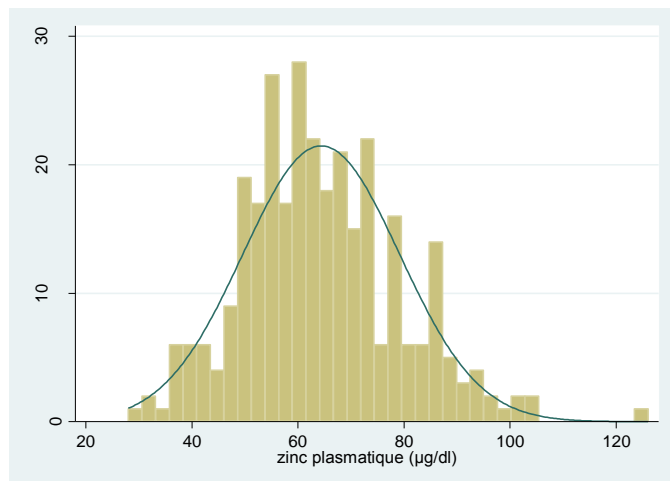


Figure III-11 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 36 - 47 mois

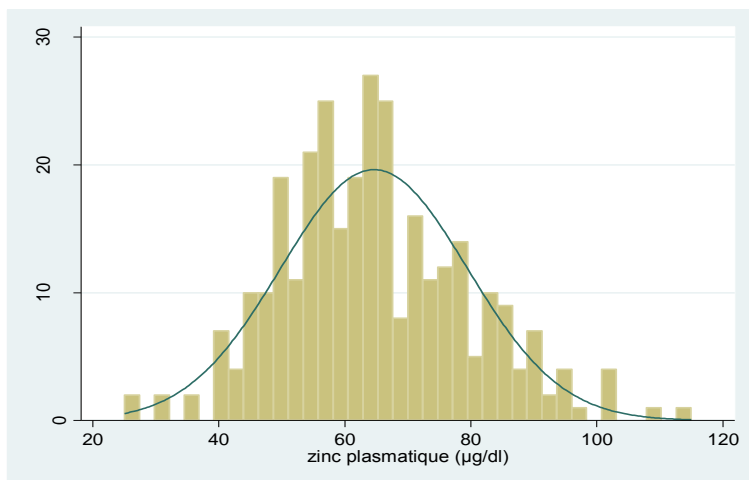


Figure III-12 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique mesurées chez les enfants âgés de 48 - 59 mois

Tableau III-10 : Statut en zinc des enfants âgés de 36 - 47 mois

	ZP _m (µg/dL)	%	<i>n</i>
¹ Carencés	52,62 ± 8,01	50,41	154
² Non carencés	75,55 ± 10,71	49,59	155
Effectif total			309

¹ZP_m < 65 µg/dL (PM) et ¹ZP_m < 57 µg/dL PAM

²ZP_m ≥ 65 µg/dL PM et ²ZP_m ≥ 57 µg/dL PAM

Tableau III-11 : Statut en zinc des enfants âgés de 48 - 59 mois

	ZP _m (µg/dL)	%	<i>n</i>
¹ Carencés	54,16 ± 7,96	48,52	158
² Non carencés	75,82 ± 10,39	51,48	150
Effectif total			308

¹ZP_m < 65 µg/dL (PM) et ¹ZP_m < 57 µg/dL PAM

²ZP_m ≥ 65 µg/dL PM et ²ZP_m ≥ 57 µg/dL PAM

5. STATUT INFECTIEUX ET/OU INFLAMMATOIRE DES ENFANTS

Les différents statuts infectieux ont été définis comme suit :

- Infection aiguë : CRP \geq 5mg/L et AGP $<$ 1g/L
- Infection chronique : AGP \geq 1g/L et CRP $<$ 5mg/L
- Infection aiguë et chronique : AGP \geq 1g/L et CRP \geq 5mg/L

Le **Tableau III-13** indique le statut infectieux chez l'ensemble des enfants et selon le sexe. Plus de la moitié des enfants (50,2%) présente une infection. Les prévalences de l'infection aiguë, de l'infection chronique et de l'infection aiguë et chronique sont respectivement de 6,3%, 30,9% et 13,0%.

La proportion de garçons présentant une infection chronique est significativement plus élevée que celle des filles ($p < 0,001$). Les différences entre les tranches d'âge sont indiquées dans le **Tableau III-14**. La prévalence de l'infection diffère également significativement selon la tranche d'âge. En effet, la proportion d'enfants d'âge compris entre 12 et 23 mois, souffrant d'infection aiguë associée à une infection chronique, est significativement plus élevée que celles observées chez les enfants des autres groupes d'âge (24-35 ($p < 0,05$) ; 36-46 ($p < 0,05$) et 48-59 mois ($p < 0,0001$)). De même, cette tranche d'âge est plus touchée par l'infection chronique comparée aux autres groupes ($p < 0,001$). Par ailleurs, les enfants âgés de 36 à 47 mois ont une prévalence d'infection chronique significativement plus élevée que celle des enfants de 48 à 59 mois ($p < 0,001$).

Tableau III-13 : Statut infectieux et/ou inflammatoire chez les enfants et selon le sexe

	Tous		Garçons		Filles	
	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>
¹ Non infectés	49,8	734	23,9	344	25,9	390
² Infection aiguë	6,3	79	3,5	44	2,7	35
³ Infection aiguë et chronique	13,0	173	5,9	79	7,1	94
⁴ Infection chronique	30,9	448	16,9 ^a	245	14,0 ^b	203
Effectif total	-	1434	-	712	-	722

¹CRP $<$ 5mg/L et AGP $<$ 1g/L ; ²CRP \geq 5mg/L et AGP $<$ 1g/L ; ³CRP \geq 5mg/L et AGP \geq 1g/L ; ⁴AGP \geq 1g/L et CRP $<$ 5mg/L ; **a/b** ($p < 0,05$)

Tableau III-14 : Prévalences de l'infection chez les enfants selon la tranche d'âge

	¹ Infection aiguë		² Infection Aiguë et Chronique		³ Infection Chronique	
	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>
Tranche d'âge (mois)						
• 12 – 23	6,7	19	20,6 ^a	64	38,2 ^e	126
• 24 – 35	6,6	20	11,8 ^b	38	36,8 ^f	137
• 36 – 47	7,9	27	12,9 ^c	46	25,2 ^g	91
• 48-59	3,9	13	7,8 ^d	25	24,7 ^h	94

¹CRP < 5mg/L et AGP < 1g/L ; ²CRP ≥ 5mg/L et AGP < 1g/L ; ³CRP ≥ 5mg/L et AGP ≥ 1g/L ; ⁴AGP ≥ 1g/L et CRP < 5mg/L ; **a/b** (*p* < 0,05) ; **a/c** (*p* < 0,05) ; **a/d** (*p* < 0,00001) ; **b/c** (*ns*) ; **b/d** (*p* < 0,0) ; **c/d** (*ns*) ; **e/g** (*p* < 0,001) ; **e/h** (*p* < 0,001) ; **f/h** (*p* < 0,001) ; **g/h** (*p* < 0,001) ; **f/g** (*ns*) ; **ef** (*ns*)

6. FACTEURS ASSOCIES A LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE ZINC DES ENFANTS

6.1. Relation entre le zinc plasmatique et les marqueurs de l'inflammation

La relation entre le zinc plasmatique et les marqueurs de l'inflammation a été étudiée grâce au test de corrélation de Pearson. La protéine C-réactive (CRP), marqueur de l'infection aiguë est associée à une diminution de la concentration plasmatique de zinc mais la relation est non significative (*r* = -0,04 ; *p* = 0,20). Par contre, il existe une relation négative significative entre l'alpha-1 acide glycoprotéine (AGP) et la concentration plasmatique de zinc (AGP : *r* = -0,12 ; *p* < 0,0001).

6.2. Relation entre la concentration de zinc plasmatique (ZP) et les facteurs liés aux conditions de prélèvement

Le **Tableau III-12** montre la relation entre le zinc plasmatique et les facteurs relatifs aux prélèvements à savoir l'heure du prélèvement, l'intervalle entre heure de prélèvement et heure de centrifugation et l'intervalle entre heure de prélèvement et heure du dernier repas. On observe une corrélation significative inverse entre l'heure du prélèvement et la concentration de zinc plasmatique (*r* = -0,16 ; *p* < 0,0001). Par contre, la concentration de ZP est positivement et significativement corrélée à l'intervalle entre l'heure du prélèvement et l'heure de la centrifugation. Aucune corrélation n'a été observée entre la concentration de zinc plasmatique et l'intervalle entre l'heure du prélèvement et l'heure du dernier repas.

Tableau III-12 : Corrélation de Pearson des paramètres associés à la concentration de zinc plasmatique

	Zinc plasmatique (µg/dL)	
	<i>r</i>	<i>p</i>
Heure de prélèvement	-0,16	<0,001
Intervalle entre heure prélèvement et heure centrifugation	0,076	<0,05
Intervalle entre heure prélèvement et heure dernier repas	-0,005	ns

7. STATUT EN ZINC CORRIGE PAR RAPPORT A L'INFECTION

Pour une estimation plus précise de la prévalence de la carence en zinc, les concentrations plasmatiques de zinc des enfants ont été corrigées en tenant compte des protéines de la phase aiguë de l'inflammation (protéine C-réactive (CRP) et alpha-1 acide glycoprotéine (AGP)) (Thurnham et al., 2005). Pour ce faire, des facteurs de correction ont été apportés aux concentrations plasmatiques de zinc des enfants suivant leur statut infectieux. Ces facteurs sont pour :

- L'infection aiguë : 1,08
- L'infection chronique : 1,06
- L'infection aiguë et chronique : 1,17

7.1. Distribution des valeurs moyennes de zinc plasmatique corrigées

La **Figure III-13** montre la distribution de zinc plasmatique après correction de l'infection. Cette distribution est normale avec une moyenne de $66,40 \pm 15,01$ µg/dL (Min-Max : 25-127,53 µg/dL ; 25^{ème}-75^{ème} percentiles : 57-76 µg/dL ; 5^{ème}-95^{ème} percentiles : 42-92 µg/dL). Les valeurs moyennes de zinc des filles est de $66,56 \pm 14,75$ µg/dL et ceux des garçons $66,24 \pm 15,29$ µg/dL.

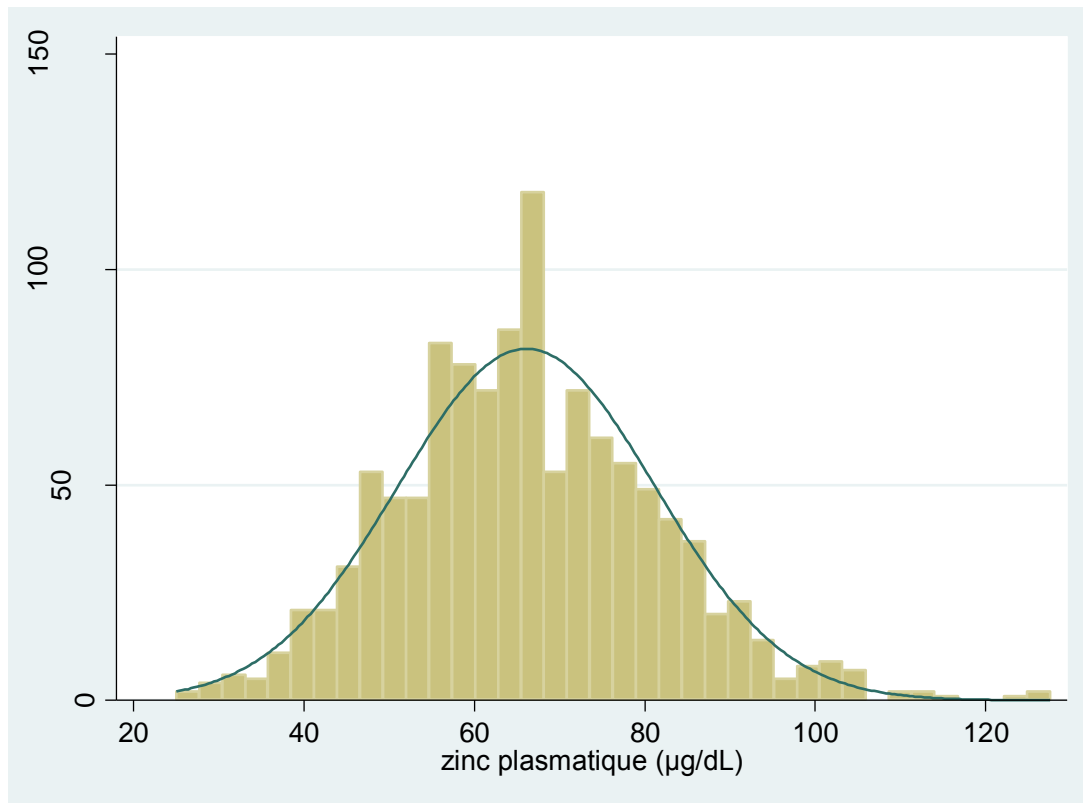


Figure III-13 : Courbe de distribution des valeurs de zinc plasmatique corrigées chez les enfants

7.2. Statut en zinc corrigé chez les enfants

La prévalence de la carence en zinc obtenue après la correction par rapport à l'infection est de 42,76% (**Tableau III-15** et **Figure III-11**) et diffère significativement de celle non corrigée ($p < 0,001$). Cette prévalence passe de 50,1% à 42,76%, soit une différence significative de 7,34 points de pourcentage. Une diminution significative des proportions de filles et de garçons carencés en zinc ($p < 0,001$) est également notée après correction de la concentration plasmatique de zinc ($p < 0,0001$) (**Tableau III-17**). Cette analyse est effectuée chez 1148 enfants car les échantillons de sang au moment du dosage sont finis chez trois enfants.

Le statut en zinc des enfants selon la tranche d'âge est présenté dans les **Tableau III-16**.

Après correction, la prévalence de la carence en zinc baisse significativement dans toutes les tranches d'âge et les valeurs moyennes de zinc plasmatique augmentent significativement dans chaque tranche d'âge. Les prévalences sont respectivement de 42,68%, 44,50%, 43,01% et 40,82% chez les enfants âgés de 12-23 mois, 24-35 mois, 36-47 mois et 48-59 mois. Cette

analyse n'est pas faite chez 3 enfants dont les plasmas sont finis, ce qui donne un effectif total de 1148 enfants.

Tableau III-15 : Statut en zinc corrigé chez les enfants

	%	n
¹ Carencés	42,76	508
² Non carencés	57,24	640
Effectifs	-	1148

¹ZP < 65 µg/dL PM et ZP < 57 µg/dL PAM, ²ZP ≥ 65 µg/dL PM et ZP ≥ 57 µg/dL PAM

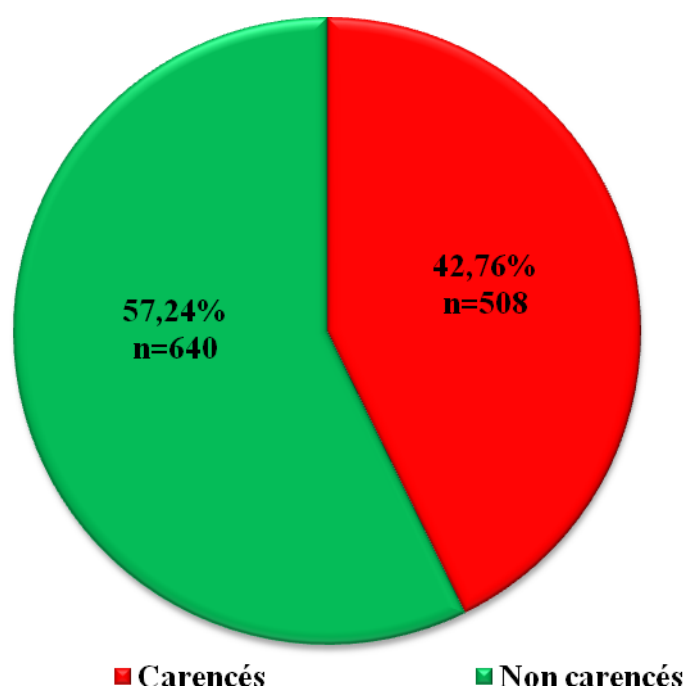


Figure III-14 : Statut en zinc corrigé des enfants

Tableau III-16 : Valeurs moyennes de zinc plasmatique (ZP) et prévalence de la carence en zinc mesurée et corrigée par rapport à l'infection chez l'ensemble des enfants et dans les différentes tranches d'âge

	Valeur mesurée	Valeur corrigée par rapport à l'infection	³ Différence	P
• ¹ ZP (µg/dL)				
✓ Tous	63,75 ± 14,37	66,41 ± 15,01	-	<0,0001
✓ Tranche d'âge (mois)				
➤ 12-23	62,09 ± 13,12	65,65 ± 13,97	-	<0,0001
➤ 24-35	63,13 ± 14,73	65,90 ± 15,45	-	<0,0001
➤ 36-47	63,99 ± 14,85	66,54 ± 15,50	-	<0,0001
➤ 48-59	65,31 ± 14,26	67,30 ± 14,84	-	<0,0001
• Prévalence de la carence en zinc (%)				
✓ Tous	50,1	42,76	7,34	<0,001
✓ Tranche d'âge (mois)				
➤ 12-23	51,73	42,68	9,09	<0,0001
➤ 24-35	49,91	44,50	5,41	<0,01
➤ 36-47	50,41	43,01	7,4	<0,001
➤ 48-59	48,52	40,82	7,7	<0,001

¹M ± ET ; ³Différence entre les prévalences de la carence en zinc mesurées et corrigées

Tableau III-17 : Valeurs moyennes de zinc plasmatique (ZP) et prévalence de la carence en zinc mesurée et corrigée par rapport à l'infection selon le sexe

	Valeur mesurée	Valeur corrigée par rapport à l'infection	³ Différence	p
• ¹ ZP (µg/dL)				
Garçons	63,54 ± 14,46	66,24 ± 15,29	2,7	< 0,001
Filles	63,94 ± 14,26	66, 56 ± 14,75	2,6	< 0,001
• Prévalence de la carence en zinc (%)				
Garçons	50,93	44,60	6,33	< 0,001
Filles	49,20	40,89	8,31	< 0,001

¹M ± ET ; ³Différence entre les prévalences de la carence en zinc mesurées et corrigées

8. STATUT EN ZINC CORRIGE PAR RAPPORT AUX AUTRES FACTEURS DE CONFUSION

La comparaison des concentrations plasmatiques de zinc entre sexe et âge est effectuée par l'analyse de variance à un facteur (ANOVA) pour le zinc mesuré et par l'analyse de covariance (ANCOVA) pour le zinc corrigé par rapport aux facteurs de confusion.

Le **Tableau III-18** indique la moyenne de zinc plasmatique entre les différentes tranches d'âge et le sexe après correction de l'effet des facteurs confondants dont les infections (AGP, CRP), l'heure du prélèvement, l'intervalle entre heure de prélèvement et l'heure de centrifugation et intervalle entre heure de prélèvement et heure du dernier repas. L'analyse des données par covariance (GLM) montre une différence significative entre la moyenne de zincémie mesurée et celle corrigée par rapport à tous ces facteurs de confusion pour chaque groupe d'âge. Cependant, les valeurs de zinc plasmatique reste comparables entre les différentes tranches d'âge. Selon le sexe, l'analyse par covariance (GLM) montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la moyenne de ZP des filles et celle des garçons. Par contre, il y a une différence significative entre la moyenne de zinc plasmatique mesurée et corrigée par rapport aux facteurs de confusion aussi bien chez les filles ($p < 0,0001$) que chez les garçons ($p < 0,0001$).

Tableau III-18 : Concentration plasmatique de zinc mesurée et corrigée par rapport à l'infection et aux autres facteurs confondants selon le sexe et la tranche d'âge

	Mesuré ($\mu\text{g/dL}$)	Corrigé par rapport aux facteurs confondants ($\mu\text{g/dL}$)	<i>P</i>
Sexe			
Garçons	63,54 \pm 14,46	65,49 \pm 3,31	<0,001
Filles	63,94 \pm 14,29	66,80 \pm 3,24	<0,001
Tranche d'âge (mois)			
➤ 12-23	62,09 \pm 13,12	64,77 \pm 4,77	<0,0001
➤ 24-35	63,13 \pm 14,73	66,30 \pm 4,20	<0,0001
➤ 36-47	63,99 \pm 14,85	66,34 \pm 3,80	<0,0001
➤ 48-59	65,31 \pm 14,26	66,73 \pm 3,84	<0,0001

M \pm ET

9. STATUT EN ZINC EN FONCTION DU LIEU DE RESIDENCE

Bien que l'étude soit représentative au niveau national, nous avons regroupé les valeurs de la zincémie des enfants de la strate de Dakar et des Autres villes (zone Urbaine) et ceux des strates Rurale I et II (zone Rurale). Cette méthode nous a permis d'avoir une indication de la proportion d'enfants carencés dans les zones Rurale et Urbaine. Les résultats sont présentés dans le **Tableau III-19**. La proportion d'enfants carencés en zinc en zone Rurale est de 55,32% contre 39,87% en zone Urbaine. Il existe une différence significative de la proportion d'enfants carencés en zinc (mesuré) entre la zone Urbaine et Rurale.

Après ajustement par rapport à l'infection, on observe une diminution significative de la carence en zinc en zone Rurale. Cependant la différence est toujours significative entre les proportions d'enfants carencés en zone Rurale (47,30%) et en zone Urbaine (33,90%).

Tableau III-19 : Proportions de carence en zinc mesurée et corrigée en fonction des zones de résidence

	¹ Mesurée		² Corrigée	
	%	n	%	n
³ Urbaine	39,87 ^a	408	33,90 ^b	406
⁴ Rurale	55,32 ^c	743	47,30 ^d	742

¹zinc plasmatique mesuré ; ² zinc plasmatique corrigé par rapport à l'infection, *a/c*, $p < 0,001$; *b/d*, $p < 0,001$; *a/b* (ns) ; *c/d*, $p < 0,01$; ³Urbaine (Dakar et Autres villes) ; ⁴Rurale (Rurale I et Rurale II)

V. DISCUSSION

Le but de cette étude est de définir le statut en zinc chez les enfants sénégalais âgés de 12 à 59 mois. La détermination du statut en zinc a porté sur un échantillon de 1151 enfants parmi les 1887 enfants âgés de 12-59 mois qui ont été enquêtés. L'âge moyen des enfants est de $34,2 \pm 12,9$ mois et la répartition des enfants selon le sexe montre des proportions de filles et de garçons respectives de 50,2% et 49,8%. Les tranches d'âge les plus représentées sont 36-47 mois et 24-35 mois avec des proportions respectives de 26,2% et 25,8%. Pratiquement huit enfants sur dix (77,8%) ont bénéficié d'un déparasitage avant l'étude. Les infections respiratoires, la fièvre et la diarrhée sont récurrentes. En effet, la proportion d'enfants présentant respectivement ces maladies est de 45,3%, 74,2% et 28,1%. Ces résultats indiquent

une plus grande prévalence d'infection chez les enfants comparés à l'année 2005 (EDS IV, 2006). La malnutrition aiguë sévère déterminée à partir du périmètre brachial, touche seulement 0,5% des enfants contre 0,8% en 2005 (EDS-IV, 2006) et 2,2% en 2010 (EDS-MICS, 2010). Les mesures anthropométriques n'ont pas été effectuées dans cette étude. La quasi-totalité des mères déclarent pratiquer l'allaitement maternel ce qui confirme les résultats de l'EDS-IV où 96% des mères ont déclaré allaiter leurs enfants. Ces résultats sont conformes aux recommandations de l'OMS/UNICEF sur la pratique de l'allaitement maternel jusqu'à l'âge de 2 ans. La proportion d'enfants ayant reçu leur première tétée dans l'heure suivant la naissance est de 43,1% et celle-ci semble avoir augmenté comparée aux données de l'EDS-IV (2005).

Le statut en zinc des enfants a été évalué en utilisant la concentration plasmatique de zinc tel que recommandé par le comité "International Zinc Nutrition Consultative Group" (IZiNCG) en prenant toutes les précautions d'usage pour garantir la validité de nos mesures (Hotz et al., 2003, IZiNCG, 2007). La distribution des valeurs de zinc mesurées sur l'ensemble des enfants est normale mais les résultats indiquent que la zincémie moyenne est relativement faible. En effet, la concentration moyenne de zinc plasmatique chez les enfants est de $63,7 \pm 14,4 \mu\text{g/dL}$ et est en dessous du seuil défini ($< 65 \mu\text{g/dL}$) pour la carence en zinc (IZiNCG, 2007) et à la l'exception d'une valeur, la distribution est conforma aux valeurs de NHARES.

Le facteur le plus déterminant de la zincémie reste les infections associées. En effet, la présence de l'infection diminue significativement la concentration de zinc plasmatique et fausse les résultats de la prévalence de la carence en zinc en l'augmentant artificiellement (Falchuk, 1977 ; Brown, 1998 ; Wieringa et al 2002 ; Hotz et Brown, 2004 ; Duggan et al., 2005, Thurnham et al., 2005). L'analyse du statut infectieux des enfants révèle des taux d'infections élevés principalement l'infection chronique qui affecte plus de 30% de l'ensemble des enfants. Dès lors, il est nécessaire de contrôler l'effet confondant des infections afin d'obtenir des données qui reflètent la situation réelle. Cette correction est difficile dans le cadre d'études transversales. Cependant en se basant sur des études multinationales, Thurnham et al. (Thurnham et al., 2005) ont proposé des facteurs de correction de la zincémie par rapport à l'infection.

Chez les jeunes enfants, en particulier le système immunitaire est encore en développement et il y a une fréquence plus élevée d'infections que chez les adultes. La réponse inflammatoire influe rapidement sur la concentration dans le sang de plusieurs micronutriments importants comme la vitamine A, le Fer et le Zinc, même dans les premières 24 h, tandis que les carences alimentaires peuvent être envisagées comme ayant un effet plus progressif sur les bio-marqueurs de l'état nutritionnel. Dans de nombreux pays en développement les enfants présentent souvent de fortes prévalences de maladies. Ainsi un enfant apparemment sain peut bien être au stade d'incubation ou en convalescence lorsque le sang est prélevé pour l'évaluation nutritionnelle et ainsi la concentration de certains bio-marqueurs en micronutriments ne donnera pas une véritable indication de statut. La première tentative pour corriger les données nutritionnelles de l'influence de l'inflammation sous-clinique est l'utilisation des protéines de la phase aiguë afin d'évaluer les impacts distincts d'une carence alimentaire et de l'inflammation sur les concentrations plasmatiques de zinc. Généralement deux protéines de la phase aiguë sont utilisées pour mesurer l'inflammation sous-clinique dans plusieurs études sur la nutrition. Il s'agit de la protéine C-réactive (CRP) et de l' α -1-acide glycoprotéine. La CRP plasmatique augmente rapidement dans les 5h d'infection. Elle est maximale entre 24h et 48 h et chute rapidement avec la disparition des symptômes. Par contre la concentration plasmatique de l'AGP augmente plus lentement et il est rare de détecter une élévation avant 48h. Elle n'atteint pas les concentrations maximales jusqu'à 4 à 5 jours après l'infection. Sur la base de ces éléments, Thurnam et al., (2003) ont effectué une méta-analyse basée sur 15 études menées chez des enfants et des adultes dans plusieurs pays (sept en Afrique, trois en Asie, quatre en Amérique du Sud et une en Europe) afin d'identifier un moyen pour corriger les effets de l'inflammation sur la concentration plasmatique de rétinol. Trois stades de l'infection ont été identifiées et chacune correspondant à la présence ou pas de protéines de la phase aiguë. Il s'agit du stade d'incubation (infection aiguë : élévation de la CRP uniquement), début de convalescence (Infection chronique : augmentation de l'AGP uniquement) et fin de convalescence (infection aiguë et chronique combinées). Ainsi trois facteurs de correction ont été définis selon le stade d'infection en faisant le rapport entre le rétinol médian dans le groupe apparemment sain et celui du groupe présentant soit une infection aiguë, une infection chronique ou les deux à la fois. Les sujets chez lesquels il n'existe aucune protéine de phase aiguë élevée, constituent la référence ou le groupe « sain » où il est supposé que l'alimentation est le principal facteur responsable de la

concentration du bio-marqueur. Dans les groupes infectés, les seuils qui ont été définis pour la CRP et l'AGP sont respectivement de $> 5\text{mg/L}$ et $> 1\text{g/L}$.

Thurman et al., (2005) ont proposé des facteurs de correction de la concentration de zinc plasmatique sur la base de cette méthode de calcul. Ainsi une étude menée chez des adultes vivant avec le VIH 1 au Kenya a permis de définir des facteurs de correction de 1,08, 1,17 et 1,06 pour corriger les effets des protéines de l'inflammation respectivement, pour la CRP, l'AGP et la CRP et l'AGP combinées.

Indépendamment de l'infection, la concentration de zinc plasmatique est aussi affectée par d'autres facteurs liés aux conditions de prélèvement et qui sont : l'heure du prélèvement, l'intervalle entre heure de prélèvement et heure de centrifugation et l'intervalle entre heure de prélèvement et heure du dernier repas. En effet les facteurs de correction proposés ne tiennent pas compte de ces variables et par conséquent les prévalences trouvées peuvent toujours être surestimées par rapport à la prévalence réelle dans la population. Il devient ainsi nécessaire de mener d'autres études de méta-analyse axées uniquement sur le zinc pour définir des facteurs de correction de la concentration de zinc plasmatique.

La prévalence de la carence en zinc estimée sans tenir compte des infections chez les enfants est de 50,1%. Ces résultats montrent qu'au Sénégal plus d'un enfant sur deux présente une carence en zinc lorsque les valeurs brutes de la zincémie (c'est à dire non corrigée par rapport aux facteurs de confusion) sont utilisées. Cette carence affecte aussi bien les filles que les garçons avec des proportions respectives de 49,2% et 50,9% et touche de la même manière toutes les tranches d'âge.

Après ajustement, la valeur moyenne de zinc plasmatique a augmenté de $2,7 \mu\text{g/dL}$ chez l'ensemble des enfants, ce qui corrobore la corrélation négative significative observée dans cette étude entre la concentration plasmatique de zinc et l'AGP. En conséquence, la prévalence de la carence en zinc a diminué significativement de 7,3% chez l'ensemble des enfants. Malgré cette baisse, la prévalence demeure encore élevée et reste comparable chez les filles (40,89%) et les garçons (44,60%) et dans toutes les tranches d'âge indiquant que la carence en zinc touche de façon uniforme l'ensemble des enfants de 12 à 59 mois.

Ces niveaux de carence suggèrent que même les enfants allaités sont à risque de carence en zinc, ce qui pose le problème du statut en zinc des femmes sénégalaises allaitantes. Dans une étude réalisée à Sédhiou, Guèye (Guèye, 2006) avait montré, sur un échantillon

restreint de 60 femmes allaitantes, que 66,7% d'entre elles présentaient une carence en zinc. En comparant ces résultats aux données de la littérature, on constate que la prévalence de la carence en zinc chez les enfants sénégalais dans leur ensemble est plus élevée que celles rapportées au Vietnam (36%), en Chine (48%), au Mexique (13-28%), au Nigeria (44%) et en Inde (41,7%) (Thu et al., 1999 ; Sheng et al., 2006 ; Duque et al., 2007 ; Onyemaobi et Onimawo, 2011 ; Kapil et Jain, 2011). Par contre elle est plus faible que celle trouvée au Burkina Faso (72%) dans une étude menée par Müller (Müller et al., 2003) chez 709 enfants âgés de 6 à 31 mois. Cependant cette étude a utilisé un seuil de carence ($< 85 \mu\text{g/dL}$) supérieur à celui de cette présente étude ($< 65 \mu\text{g/dL}$). Parmi toutes ces études, celle de Müller (Müller et al., 2003) est le seul à être représentative de la zone rurale du Burkina Faso. Les autres sont faites sur des échantillons aléatoires.

Nos données sur la mesure du statut biologique en zinc des enfants sénégalais corroborent la conclusion de l'IZiNCG en 2004, qui avait estimé à partir d'indices composites, que plus de 25% de la population sénégalaise serait à risque de carence en zinc (Hotz et Brown, 2004). L'un des indicateurs de la carence en zinc étant le retard de croissance (Hotz et Brown, 2004), la prévalence élevée de la carence en zinc pourrait justifier les fortes prévalences du retard de croissance trouvées par l'EDS-IV (l'EDS-IV, 2005) et l'Analyse Globale de la Vulnérabilité et de la Sécurité Alimentaire (AGVSAN, 2010).

Parmi les facteurs explicatifs de cette prévalence élevée de la carence en zinc chez les enfants, on peut citer les pathologies telles que les épisodes diarrhéiques, la toux et/ou les difficultés respiratoires qui sont corrélées à une carence en zinc (Caulfield et Black, 2004). Dans une méta-analyse, Brown et al. (Brown et al., 2009) ont montré que la supplémentation préventive en zinc diminue respectivement de 27% et 15% l'incidence de la diarrhée et des infections aiguës des voies respiratoires chez les enfants âgés de plus de 12 mois. De plus l'OMS recommande la supplémentation thérapeutique en zinc associée au traitement de la diarrhée par le Sel de Réhydratation Oral (SRO/Zinc) (OMS, 2004). Dans notre étude la diarrhée et les infections aiguës des voies respiratoires sont présentes avec des prévalences respectives de 28,1% et 45,3%. Ces forts taux d'infections chez les enfants pourraient aussi expliquer la prévalence élevée de la carence en zinc observée.

La concentration de zinc plasmatique est aussi affectée par d'autres facteurs liés aux conditions de prélèvement (English et Hambidge, 1988 ; King et al., 1994 ; Brown, 1998 ; Arsenault et al., 2010). Ainsi, nous avons corrigé les valeurs de zinc par rapport à l'infection et par rapport à ces différents facteurs que sont l'heure du prélèvement, l'intervalle entre heure de prélèvement et heure de centrifugation et l'intervalle entre heure de prélèvement et heure du dernier repas. Cet ajustement a été fait par une analyse de covariance (General Linear Model) pour comparer les moyennes de zinc plasmatique en fonction du sexe et aussi de la tranche d'âge. Ces ajustements ont eu des répercussions sur la zincémie car les moyennes de zinc plasmatique observées chez les filles ($66,80 \pm 3,24 \mu\text{g/dL}$) et chez les garçons ($65,49 \pm 3,31 \mu\text{g/dL}$) sont légèrement plus élevées que la zincémie mesurée sans aucune différence significative entre les garçons et les filles. La même tendance est observée dans les tranches d'âge où les résultats de l'analyse indiquent une différence significative entre la zincémie mesurée et celle corrigée pour chaque tranche d'âge mais sans différence significative en fonction de l'âge montrant ainsi que la concentration de zinc plasmatique est affectée indépendamment des infections.

L'apport inadéquat en zinc alimentaire pourrait expliquer la forte prévalence de la carence en zinc. En effet, l'alimentation des enfants sénégalais est basée principalement sur les céréales (EDS IV, 2005 et MICS, 2010), riches en phytates, qui sont des inhibiteurs de l'absorption du zinc dont l'effet est amplifié par la présence de fibres ou de calcium dans l'alimentation (Hotz et Brown, 2004 ; IZiNCG, 2007 ; Arsenault et al., 2010 ; Lönnerdal, 2000 ; IOM, 2006). De plus, l'analyse de la fréquence de consommation alimentaire chez les enfants âgés de 12-59 mois a montré que les aliments riches en zinc tels que les viandes, les huîtres et les crevettes sont très peu consommés par les enfants (Rapport préliminaire étude de base Equipe Nutrition - MI, 2011).

Selon l'IZiNCG, la carence en zinc est un problème de santé publique lorsque la prévalence est supérieure à 20%. Sur cette base, la carence en zinc constitue un problème de santé publique sévère chez les enfants sénégalais âgés de 12-59 mois.

Bien que l'étude soit représentative au niveau national, nous avons évalué la situation de la carence selon le milieu de résidence pour avoir une indication de la proportion d'enfants

carencés dans les zones rurale et urbaine. Ainsi nous avons regroupé les valeurs de la zincémie des enfants de la strate de Dakar et des Autres villes (zone urbaine) et ceux des strates Rurales 1 et 2 (zone rurale). Les résultats montrent que la proportion d'enfants carencés en zone urbaine est presque trois fois plus faible que ceux carencés en zone rurale, même après un ajustement des valeurs de la concentration plasmatique de zinc par rapport à l'infection. Cette situation pourrait être expliquée soit par un environnement plus insalubre, soit par une alimentation plus précaire et moins diversifiée des enfants de la zone rurale et donc par la pauvreté. En effet, 34,1% des enfants de la zone rurale présentent une infection contre 16,1% résidant en zone urbaine. Ces écarts de prévalence de la carence en zinc aussi bien mesurée que corrigée entre le milieu urbain (39,87% et 33,90%) et le milieu rural (55,32% et 47,30%) suggèrent qu'une intervention sur le statut en zinc devrait en priorité visée la zone rurale sénégalaise.

En conclusion, la carence en zinc est très répandue au Sénégal. Presque un enfant sur deux (42,7%) est carencé en zinc. Cette carence constitue un problème de santé publique sévère au Sénégal chez les filles comme chez les garçons âgés de 12 à 59 mois car ce taux dépasse le seuil de 20% défini par l'IZiNCG. La présence d'infections et/ou d'inflammation augmentent artificiellement cette prévalence de 7,3% et ces résultats suggèrent la nécessité de renforcer le contrôle des infections qui peuvent compromettre l'impact des programmes d'intervention.

Les enfants vivant en zone rurale sont plus touchés par la carence en zinc que ceux vivant en zone urbaine. Par conséquent si Les stratégies d'intervention nationale de lutte contre la carence en zinc posent un problème de coût/efficacité, nous recommandons que la zone rurale puisse être la cible prioritaire dans le cadre de la supplémentation en zinc.

Au vu de ces résultats, des stratégies d'intervention devront être mise en place pour permettre à la population d'avoir un statut en zinc adéquat. Généralement, il existe trois stratégies axées sur la nutrition pour lutter contre la carence en zinc. Parmi elles nous avons la supplémentation et la fortification des aliments en zinc. La fortification alimentaire est considérée comme ayant le meilleur rapport coût-efficacité. Ainsi la fortification à domicile des aliments en micronutriments (zinc, fer et vitamine A) à l'exemple des micronutriments en poudre (sprinkles), recommandée par l'OMS ou la fortification de masse pourrait également être envisagée pour compléter la stratégie adoptée par le Sénégal. Par ailleurs la mesure de l'impact des programmes de fortification de masse nécessite de disposer d'un indicateur simple et fiable.

CHAPITRE IV

TESTS SENSORIELS ET D'ACCEPTABILITE DES ALIMENTS DE COMPLEMENT PREPARES A PARTIR DE FARINES DE CEREALES FORTIFIEES EN ZINC CHEZ LES ENFANTS SENEGALAIS

I. RAPPEL DES OBJECTIFS

1. QUESTION DE RECHERCHE

Les aliments de complément à base de céréales locales fortifiées en zinc à un certain niveau de fortification sont-ils acceptables et aimés par les enfants âgés de 12 à 17 mois et les mères/accompagnantes ?

2. OBJECTIF GENERAL

L'objectif principal de cette étude est d'effectuer des tests sensoriels et d'acceptabilité sur un aliment de complément (bouillie) préparé à partir de farines de céréales locales fortifiées en zinc.

3. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Fortifier en zinc un aliment de complément (bouillie) commercialisé faite à partir de farine de céréales locales.
- Faire des tests sensoriels et d'acceptabilité des bouillies fortifiées sur les enfants et sur leurs mères/accompagnantes

II. MATERIEL ET METHODES

1. SUJETS

La population cible de l'étude est représentée par des enfants âgés de 12 à 17 mois apparemment en bonne santé avec des indices poids-pour-longueur ≥ -2 z-scores et leurs accompagnantes. Aussi bien les enfants allaités que ceux qui ne le sont pas, sont éligibles pour participer à l'étude. Cependant, ils sont sélectionnés de sorte à ce que seuls ceux qui étaient habitués à manger des aliments de complément à l'aide d'une cuillère soient inclus.

Les couples mères/gardiennes d'enfants sont recrutés à Reubeuss un quartier urbain défavorisé à la périphérie de Dakar Sénégal. Des séances de sensibilisation durant lesquelles le dépistage de la malnutrition des enfants et l'explication détaillée du protocole d'étude en

langue locale aux accompagnantes sont effectuées. Les enfants sont éligibles à la condition de fournir un consentement libre et éclairé des parents, sur la base du volontariat.

2. ETHIQUE

Les mères sont informées de leur totale liberté de participer ou de se retirer de l'étude si éventuellement elles le souhaitent et leur consentement est recueilli par signature du document de consentement. L'étude est approuvée par le comité d'éthique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) et « l'Institutional Review Board » de l'Université de Californie, Davis.

3. ESTIMATION DE LA TAILLE DE L'ECHANTILLON

Pour le test d'acceptabilité de l'aliment de complément à base de céréales, une taille d'échantillon minimale de 20 enfants est requise pour détecter les différences de 0,8 sur le degré d'appréciation (Degree Of Liking : DOL) de l'échelle hédonique de 7-points avec une probabilité d'erreur de type I $< 0,05$ et une puissance $\geq 0,80$. Un échantillon total de 89 participants est requis pour faire valoir une signification statistique du test Triangle avec un $\alpha = 0,05$ et une puissance $\geq 0,80$.

4. QUESTIONNAIRES

Plusieurs questionnaires sont développés pour les tests d'acceptabilité. Il s'agit des questionnaires de recueil d'information lors des visites à domicile pour le recrutement des enfants et ceux administrés durant les jours de sensibilisation et tests sensoriels (se conférer aux annexes) :

- Dépistage
- Morbidité journalière
- Consommation de céréales fortifiées en micronutriments
- Alimentation – Préférence des enfants
- Test d'acceptabilité des mères

- Test triangle des mères

5. COMPOSITION DES ALIMENTS DE COMPLEMENT

Un aliment de complément à base de farine de céréales extrudées non fortifié disponible dans le commerce est acheté auprès d'un producteur local au Sénégal (CO-AID ; Sédhiou, Sénégal). Le produit est composé de farines de maïs, de mil et de niébé extrudées, de lait en poudre entier, d'arachides grillés, de sucre, et de vanilline. C'est un aliment prêt à l'emploi qu'il faut mélanger avec de l'eau chaude pour avoir une bouillie.

Deux échantillons sont préparés en utilisant un procédé de mélange mixte discontinu.

- L'échantillon A est fortifié avec 60 mg de fer sous forme de fumarate ferreux par kilogramme de poids sec de l'aliment de complément (aliment de complément non fortifié en zinc : **CF-nonZn**). C'est l'aliment **Témoin**.
- L'échantillon B est fortifié avec la même quantité de fumarate ferreux plus 240 mg de zinc sous forme d'oxyde de zinc par kilogramme de poids sec de l'aliment de complément (aliment de complément fortifié en zinc : **CF-Zn**). C'est l'aliment **Test**.

Un excédent de 5% est ajouté afin de remplacer les pertes minérales subies pendant le processus de fortification, tel que déterminé lors des études pilotes.

Tous les fortifiants de l'étude sont fournis par DSM Nutritional Products (Isando, Gauteng, Afrique du Sud). Les niveaux de fortification ont permis d'apporter 1,5 mg de fer additionnel et soit 0 mg ou 6 mg de zinc additionnel par portion de 25 g de poids sec d'aliment de complément. La teneur en phytates est de 117 mg par portion de 25 g, ce qui correspondait à des rapports phytate:zinc de 28,8 et de 1,8 respectivement dans les aliments de complément CF-nonZn et CF-Zn (**Tableau IV-1**).

Les teneurs en minéraux des échantillons sont vérifiées au laboratoire d'analyse des ressources agricoles et naturelles de l'Université de Californie, Davis (UCD-ANR). Le contenu en acide phytique est mesuré au Département de Nutrition de l'Université d'Otago et à l'Institut de Technologie Fédéral Suisse à Zurich. Les contenus en énergie et en protéines sont estimés en utilisant une table de composition des aliments sénégalais (WorldFood Dietary Assessment System).

Tableau IV-1 : Composition en nutriments des aliments par portion de 25 g

	CF-Zn	CF-nonZn
	Test	Témoin
¹ Portion (g)	25 ²	25
Energie (kcal)	96,7	96,7
Protéines (g)	2,7	2,7
³ Acide folique additionnel (µg)	-	-
⁴ Fer additionnel (mg)	1,5	1,5
⁵ Zinc additionnel (mg)	6,0	0,0
⁶ Phytate (mg)	117	117
⁷ Rapport phytate:zinc	1,8	28,8

CF-nonZn: aliment de complément non fortifié en zinc; CF-Zn: aliment de complément fortifié en zinc.

¹ Gramme de poids sec d'aliment de complément.

² Une portion de 30 g a été servie aux enfants pour tenir compte des pertes subies lors des sessions d'alimentation (à savoir les renversements, les régurgitations et les restes d'aliment dans le bol).

³ Teneur naturelle en acide folique : 16,7 µg.

⁴ Teneur naturelle en fer : 0,8 mg.

⁵ Teneur naturelle en zinc : 0,4 mg.

⁶ La teneur en phytate est exprimée comme la somme des hexa-inositol phosphate (IP6) et penta-inositol phosphate (IP5).

⁷ Rapport acide phytique:zinc : $\frac{\text{mg de phytate par jour} / 660}{\text{mg zinc par jour} / 65,4}$

6. PREPARATION DES ALIMENTS TEST ET TEMOIN

Les aliments de complément (CF-nonZn et CF-Zn) sont visuellement les mêmes et ne sont identifiables que par des codes. Les produits sont divisés en portions de 30g de poids sec chacun. En effet les portions sont ramenées à 30 g afin de s'assurer que les 25 g sont potentiellement consommés par l'enfant. Ainsi les 5 g additionnels sont prévus pour combler les pertes qui surviennent au cours des séances d'alimentation et qui peuvent être provoquées par des renversements, régurgitations et des restes de bouillie dans le bol après consommation. Pour simuler les conditions de stockage pour l'étude clinique sur la réponse plasmatique de zinc suite à la consommation d'un aliment fortifié, tous les échantillons sont mis dans des sachets pré-codés, hermétiquement scellés et stockés à 4°C. Le matin de chaque session, le contenu en céréales sèches des sachets est placé dans des bols en plastique tarés,

déjà codés, puis mélangé avec 70 mL d'eau embouteillé (Kirène; Dakar, Sénégal) chauffé à 85°C. Le tout est mélangé jusqu'à ce qu'une consistance uniforme soit obtenue.

7. PROTOCOLE DU TEST

La salle d'étude est divisée en quatre stations :

- Salle d'administration des questionnaires et d'attente
- Cabine technique : préparation des aliments
- Station alimentation des enfants
- Station test d'acceptabilité des mères/accompagnantes

Les différentes étapes durant les jours d'étude sont les suivantes :

- Accueil et installation des mères/accompagnantes dès leur arrivée
- Allaitement de l'enfant (si nécessaire) pendant 10 minutes
- Attente d'une heure de temps par le couple mère/enfant avant d'administrer l'aliment : c'est le moment choisi pour administrer les questionnaires. Durant cette heure la maman n'allait plus et ne donne aucun autre aliment à l'enfant pendant ce temps.
- Préparation de la bouillie 5 minutes avant l'heure d'alimenter l'enfant
- Installation du couple dans la station alimentation ; instructions aux mères/accompagnantes par rapport à la conduite à tenir
- Administration de l'aliment à l'enfant par la mère/accompagnante
- Démarrage du test d'acceptabilité de l'aliment par les mères

7.1. Evaluation du degré d'appréciation des aliments par les enfants

Les sessions d'étude sont menées sur une période de trois jours chacune, dont une consacrée à la séance d'essai avec la cible.

Une session pratique est tenue une journée avant le début de l'essai. Durant cette journée, les enfants reçoivent un repas test au hasard composé d'une des 2 bouillies de céréales précodées CF-nonZn ou CF-Zn. Le but de la séance d'essai est de familiariser l'accompagnante et l'enfant avec le protocole et l'environnement de l'étude et aussi de confirmer que l'enfant est habitué à manger des aliments de complément. Au cours des deux journées suivantes, un des deux aliments de l'étude est offert au hasard pour éviter un effet de séquence lors de l'évaluation de l'appréciation des aliments respectifs (Bovell-Benjamin et Guinard, 2003).

Les enfants sont servis par leur accompagnante dans une chambre semi-privée au cours de la matinée, 60 min après la dernière tétée (ou 60 min après l'arrivée au centre s'ils n'étaient pas allaités). Nous avons demandé aux accompagnantes de continuer à nourrir les enfants jusqu'à ce qu'ils aient mangé toute la bouillie de céréales offerte ou qu'ils aient refusé d'en prendre d'avantage.

Le temps nécessaire pour finir le repas est enregistré et la quantité totale consommée est déterminée en pesant le bol alimentaire à l'aide d'une balance alimentaire (iBalance 2500, MyWeigh Scale compagny, Ariz, USA) avant et après le repas et en soustrayant toutes les quantités renversées ou régurgitées sur un bavoir préalablement pesé et mis au cou de l'enfant. Après le repas, les accompagnantes sont invitées à donner une appréciation du degré d'acceptabilité global du goût par leur enfant (Degree Of Liking : DOL), en interprétant les indices non verbaux (par exemple, tourner la tête en signe de refus, cracher la nourriture, pousser la cuillère ou la fuir, accepter les cuillerées avec une bouche ouverte, etc.). Cette appréciation est mesurée en utilisant une échelle hédonique modifiée de 7 points allant de 1 « n'aime pas » à 4 « ni aime ni n'aime pas » et à 7 « aime beaucoup » (Bovell-Benjamin et Guinard, 2003).

Pour chaque journée d'étude, l'état émotionnel de l'enfant est évalué avant que le repas test ne soit servi en appliquant les critères émotionnels de l'étude Milestone Motor de l'OMS (Wijnhoven et al., 2004) qui classe l'état affectif des enfants par rapport à 2 domaines que sont : (1) somnolent ou éveillé et alerte, et (2) calme, tatillon ou pleurant. Si un enfant est

somnolent ou se met à pleurer et ne revient pas à un état d'éveil et/ou d'arrêt des pleurs pendant que le repas est servi, l'alimentation est retardé de 30 mn. Si l'enfant n'arrive pas à avoir un état émotionnel adéquat dans ce laps de temps, le repas test est reporté jusqu'au lendemain.

7.2. Test de différence et évaluation du degré d'appréciation par les mères/gardiennes

Au cours des 3 journées d'étude, après que les enfants aient consommé les repas, un test triangle comparant les échantillons CF-nonZn et CF-Zn est mené avec les accompagnantes. Les bouillies servies aux mères sont constituées de 10g de farine et 25g d'eau.

Le but de ce test triangle est de déterminer si les mères et/ou gardiennes sont en mesure de détecter des différences entre les 2 échantillons d'aliments. Chacune d'elle a reçu de façon aléatoire 3 bouillies de céréales (10 g de poids sec de la farine) dont l'une est différente et les deux autres identiques. Elles sont invitées à identifier l'échantillon différent des deux autres et indiquer si la différence est grande, modérée ou incertaine.

De plus, au cours des deux dernières journées d'étude, les accompagnantes sont invitées à évaluer leur degré d'appréciation des 3 produits pour la saveur, la texture et le degré d'appréciation globale en utilisant l'échelle hédonique de 7-points (Bovell-Benjamin et Guinard 2003).

Pendant les essais, les accompagnantes boivent de l'eau entre les échantillons pour éviter le mélange des goûts.

8. DETAILS DES PROCEDURES DE TERRAIN

8.1. Recrutement et consentement à participer à l'étude sensorielle

Matériel

- Dossiers de codage unique pour chaque sujet
- Balance
- Toise
- Matériel de calibration (niveau et poids étalon)
- Stylos
- Calendrier

1. Un code d'identification unique est attribué à chaque couple mère/enfant durant toute la période à l'étude. Des dossiers contenant les formulaires et les questionnaires nécessaires de chaque couple mère/enfant tout au long de l'étude sont préparés par les chercheurs.
2. Les procédures de l'étude sont expliquées à travers le formulaire « consentement à participer à une étude de recherche » aux mères. Si ces dernières acceptent de participer avec leurs enfants, 2 exemplaires du formulaire sont signés. Une des copies est remise à la mère et l'autre est gardée dans le dossier permanent du participant.
3. Administration du questionnaire de dépistage pour l'éligibilité. Le questionnaire est divisé en 3 sections selon les types de questions : consommation de zinc ; morbidité et évaluation de la santé ; mesures anthropométriques (poids et taille).
4. Une double vérification des questionnaires est faite sur place. Les enquêteurs vérifient après chaque interview si le questionnaire est bien rempli et qu'il n'y a pas d'erreurs. Le questionnaire est remis ensuite aux chercheurs pour une vérification finale.
5. Si le couple mère/enfant n'est pas admissible à participer, on explique à la mère pourquoi ils ne sont pas éligibles et la remercie de sa volonté à participer à l'étude. Il est possible que la mère et l'enfant soient éligibles dans le futur. Si tel est le cas, on suit de nouveau toutes les étapes de la programmation.
6. Un calendrier d'exécution de l'étude qui prend en compte les événements nationaux qui pourront affecter la qualité des mesures biologiques ou la disponibilité des sujets est établi. Ce calendrier est révisé avec les mères afin de trouver un moment approprié pour démarrer l'étude. Il est nécessaire que les mères et leurs enfants soient disponibles pour venir au centre pendant 3 jours consécutifs. Les mères sont priées d'arriver 20 minutes à l'avance pour s'assurer qu'il n'y aura pas de retard.

8.2. Installation, préparation et consommation des bouillies par les enfants et les mères/gardiennes

Matériel

- Dossiers de codage unique pour chaque sujet
- Sachets de céréales de codage unique pour chaque sujet

- Bouteille d'eau pour la mère
- Tasses en plastique (de 65 ml)
- Cuillères en plastique
- Gants
- Chronomètre
- Gaz, pot, eau
- Bavoires pour les enfants
- Serviettes en papier pour nettoyer

❖ INSTALLATION

1. Chaque farine de céréale est préalablement codée et emballée dans des sachets à usage unique. Les chercheurs mettent les quantités de farine de céréales nécessaires (pour les enfants et les mères) dans les dossiers individuels. Les sachets sont marqués par jour.
2. Deux endroits sont aménagés pour l'alimentation. Dans chaque lieu une table propre et des chaises pour l'alimentation des enfants et l'interview des mères sont installées.
3. Une bouteille d'eau est placée sur la table pour les besoins du test d'acceptabilité de la mère.

❖ PREPARATION DES BOUILLIES POUR LES ENFANTS

1. Préparation de l'eau chaude
2. Prise du poids de la tasse contenant la bouillie.
3. Le contenu du sachet UNIQUE marqué correspondant à la journée d'étude (c'est-à-dire journée d'étude 1, journée d'étude 2, journée d'étude 3) est mis dans le gobelet en plastique.
4. La quantité adéquate d'eau (70 ml d'eau dans cette présente étude) est ajoutée dans le contenu de la tasse en plastique. Le mélange est remué jusqu'à homogénéisation.
5. Prise à nouveau du poids du gobelet en plastique contenant la farine et l'eau rajoutée. Le poids est reporté dans le questionnaire du test sensoriel.

❖ PREPARATION DES BOUILLIES POUR LES MERES

1. Préparation de l'eau chaude
2. Préparation de 3 tasses alimentaires en plastique pré-marquées. Le contenu de chaque sachet marqué est mis dans la tasse en plastique correspondante (même identification).
3. La quantité adéquate d'eau (pour chaque tasse alimentaire) est rajoutée dans le contenu de la tasse en plastique. Le mélange est bien remué. Le chercheur veille à ce que les cuillères utilisées soient différentes pour chaque produit.

❖ CONSOMMATION DE BOUILLIE PAR LES ENFANTS

1. Quand les mères arrivent, on reporte l'heure d'arrivée dans le questionnaire du test sensoriel.
2. Les mères et leurs enfants sont installés dans les endroits aménagés pour l'alimentation. Elles sont informées du temps pour allaiter leurs enfants (10mn). Les heures de début et fin de l'allaitement sont reportées.
3. Après que les mères aient fini d'allaiter leurs enfants, nous leur demandons d'attendre 60 mn avant de commencer l'étude d'alimentation. Durant ces 60 mn d'attente, il est important que la mère n'allait pas son enfant et ne lui donne aucun autre aliment. Le questionnaire de l'étude sensoriel est administré aux mères et le temps mis (heure de début et finale), reporté.
4. Les mères et les enfants peuvent rester dans la salle durant la période d'attente. Nous les prions de rester dans la zone désignée et de ne pas quitter le centre de sorte que les superviseurs peuvent veiller à ce qu'elles n'allaitent pas ou donnent d'autres aliments/boissons à leurs enfants durant les 60 mn d'attente. Si toutefois une mère doit s'absenter momentanément de la zone désignée (en cas d'urgence), nous lui rappelons qu'elle ne doit pas nourrir l'enfant (ni aliments / boissons, ni lait maternel).
5. Si une mère affirme qu'elle a déjà allaité son enfant avant de venir au centre, nous n'insistons pas pour qu'elle donne à téter à son enfant de nouveau. Nous donnons les instructions durant l'attente (60 mn sans donner de lait maternel, de la nourriture ou des boissons à son enfant) avant le début de l'alimentation.

6. Pendant la période d'attente, les instructions suivantes sont expliquées aux mères :
 - Elles auront 30 minutes pour donner la bouillie à leurs enfants,
 - Elles doivent nourrir leurs enfants avec des cuillères,
 - Elles ne doivent pas manger les bouillies distribuées à leurs enfants,
 - Elles doivent continuer à donner la bouillie à leurs enfants jusqu'à ce qu'ils refusent d'en prendre d'avantage,
 - Elles doivent éviter de répandre la nourriture. Un bavoir sera placé autour du cou de l'enfant pour récupérer les aliments déversés,
 - Elles doivent utiliser les bavoirs si elles veulent nettoyer la bouillie versée sur le visage des enfants,
 - Nous leur expliquons que les enfants ne sont pas tenus de manger toute la bouillie. Toutefois, s'ils arrivent à finir leurs plats, ils ne seront pas servis de nouveau. Une seule distribution est faite durant la journée.
7. Peu de temps avant le début de l'alimentation, le bavoir pré-pesé est mis autour du cou de l'enfant et nous expliquons à la mère que le bavoir sera pesé à nouveau après que l'enfant ait fini de manger.
8. La bouillie est donnée à la mère et nous lui demandons de commencer à nourrir son enfant. La minuterie est activée dès que l'alimentation commence.
9. Nous observons la mère pour s'assurer qu'elle ne goûte pas à la bouillie de son enfant. Si nous voyons que la mère mange la bouillie de l'enfant, nous l'interrompons et lui demandons gentiment de ne pas manger la nourriture de son enfant. Sinon, nous n'intervenons pas quand la mère donne la bouillie à son enfant.
10. Après les 30 minutes d'alimentation (cas rare), nous arrêtons la minuterie et demandons à la mère d'arrêter de donner la bouillie à son enfant.
11. Le bavoir de l'enfant est retiré et pesé immédiatement. Le poids est enregistré dans le questionnaire du test sensoriel. S'il y a de la bouillie déversée, nous les recueillons (le maximum) avec le bavoir avant de le peser.
12. Le gobelet en plastique contenant le reste de la bouillie est pesé à nouveau. Le poids est reporté dans le questionnaire du test sensoriel.

13. Le questionnaire sur l'alimentation de l'enfant et les préférences de goût est administré à la mère/accompagnante.
14. Une vérification de la complétude du questionnaire et de l'existence d'éventuelles erreurs de reportage est faite.
15. Une double vérification du questionnaire est ensuite effectuée.

❖ CONSOMMATION DE BOUILLIES PAR LES MÈRES

1. Après que la mère ait fini de répondre aux questions relatifs à l'enfant, nous servons la première bouillie (comme indiqué sur les tasses en plastique) pour le test d'acceptabilité de la mère.
2. Nous lui demandons de manger au moins une bouchée de la bouillie servie. Le questionnaire sur les préférences de goût des mères est appliqué.
3. Après l'administration du questionnaire, nous demandons à la mère de prendre une gorgée d'eau avec la bouteille sur la table.
4. Cette procédure est répétée pour les deuxième et troisième bouillies (comme indiqué sur les tasses en plastique)
5. Une vérification de la complétude du questionnaire et de l'existence d'éventuelles erreurs de reportage est faite.
6. Une double vérification du questionnaire est ensuite effectuée.

9. ANALYSE STATISTIQUE

Les données de la première journée d'essai des participants sont exclues de l'analyse finale. Pour les données de consommation (quantité consommée, vitesse de consommation) et d'évaluations hédoniques, les t-tests indépendants sont utilisés pour déterminer les différences entre les aliments par jour. Pour évaluer les données regroupées des jours 1 et 2, la procédure Modèle Linéaire Général (GLM) Univarié est utilisée en considérant l'aliment de complément et le jour d'étude comme effets principaux (main effect) et les participants individuels comme un effet aléatoire (random effect). L'interaction entre le jour d'étude et l'aliment est testée et incluse dans le modèle final lorsqu'une interaction marginale significative est présente. Les résultats sont présentés pour tous les couples accompagnantes/enfants qui ont terminé l'étude.

Cependant, une analyse secondaire a également été menée en excluant les enfants présentant des signes de maladie (toux, diarrhée, fièvre) pour un jour d'étude donné.

Pour le test triangle avec les aliments de complément, le modèle devinette (Lawless et Heymann, 1998 ; Gallagher, 2004) qui consiste à la détermination du produit différent des trois produits servis par intuition, a été utilisé. Pour faire valoir une signification statistique, un nombre de 89 participants devrait être enrôlé. Toutefois, étant donné que le test triangle n'était pas le résultat principal de l'étude, la taille de l'échantillon de l'étude n'a pas été augmentée. Les tests triangle répétés du jour de l'essai et des jours 1 et 2 ont été utilisés, ce qui donne un échantillon de 63 dont 27 réponses correctes sont nécessaires pour obtenir la signification statistique (Kunert et Meyners, 1999).

Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel SPSS (version 18, SPSS Chicago, Illinois, U.S.A). L'étude était en double aveugle. Les chercheurs et les participants ignoraient la nature des aliments de complément pendant les tests et les codes des aliments n'ont été démasqués qu'après la finalisation de toutes les analyses statistiques. Les résultats sont présentés en moyenne \pm écart-type (ET) ou en (%). Un seuil de signification de 5% ($p < 0,05$) est retenu pour toutes ces analyses statistiques.

III. RESULTATS

Un total de 24 jeunes enfants et leurs accompagnantes a été éligible pour participer au test. Trois couples accompagnantes/enfants ont quitté l'étude après la journée d'adaptation. Ainsi 21 couples ont complété le test d'acceptabilité. La moyenne \pm écart-type des valeurs de la consommation alimentaire, la durée d'alimentation et la vélocité de la prise alimentaire sont présentées par type d'aliment de complément dans le **Tableau IV-2**.

Il n'y a pas d'interactions constatées entre le type d'aliment et le jour d'étude dans tous les modèles testés et les résultats sont indépendants du type d'aliment reçu le jour test d'adaptation (données non présentées). Les enfants ont consommé 21 g (IC à 95% = -47,9, 5,0 g) de moins de l'aliment test (CF-Zn) que de l'aliment témoin (CF-nonZn) le premier jour de l'étude mais cette différence n'est pas significative ($P = 0,106$). Le deuxième jour de l'étude, les enfants ont consommé 1 g (IC = -29,1, 31,8 g) de plus de l'aliment CF-Zn que de l'aliment CF-nonZn mais comme le premier jour, la différence n'est pas significative ($P = 0,659$). Lorsque les résultats des deux jours d'observation sont regroupés, la consommation

moyenne de l'aliment CF-Zn est de 7 g significativement moindre (IC à 95% = -13,2, -1,5) que celle de l'aliment CF-nonZn (P = 0,016). Toutefois, lorsque les participants présentant des signes de maladie à un jour donné sont exclus (n = 5), la différence n'est plus significative (P = 0,147).

Aucune différence significative n'a été observée sur la durée d'alimentation pour chaque jour d'observation. Cependant lorsque les résultats des deux jours sont combinés, la durée de l'alimentation est significativement plus petite pour l'aliment test CF-Zn (p = 0,037) que pour l'aliment témoin quand tous les enfants sont inclus dans l'analyse, mais cette différence est non significative quand on exclut de l'analyse les enfants présentant des signes de maladie (p = 0,134). Il n'y a pas de différence significative dans la vitesse de la prise alimentaire (g/min) pour le jour 1 (P = 0,481), le jour 2 (P = 0,485) ou pour les deux journées regroupées (P = 0,448), indépendamment du fait que les enfants malades soient inclus dans l'analyse.

Tableau IV-2 : Consommation de bouillie par les enfants, durée d'alimentation et vitesse de la prise alimentaire par type d'aliment

	CF-Zn Test (n = 21)	CF-nonZn Témoin (n = 21)	P
Consommation alimentaire			
Jour 1 (g) ¹	51,1 ± 27,1	72,5 ± 27,2 ²	0,106
Jour 2 (g)	72,6 ± 32,4	65,9 ± 31,8	0,659
Jours combinés(g)	65,5 ± 31,8	70,3 ± 28,2	0,016*
Durée d'alimentation			
Jour 1 (min)	4,3 ± 1,6	5,5 ± 1,4	0,099
Jour 2 (min)	4,6 ± 1,6	4,6 ± 1,6	0,924
Jours combinés (min)	5,2 ± 1,5	4,5 ± 1,6	0,037*
Vitesse de la prise alimentaire			
Jour 1 (g/min)	12,2 ± 8,3	14,9 ± 7,7	0,481
Jour 2 (g/min)	18,2 ± 12,7	14,4 ± 8,6	0,485
Jours combinés (g/min)	16,2 ± 11,6	14,7 ± 7,8	0,448

CF-nonZn : aliment de complément non fortifié en zinc ; CF-Zn: aliment de complément fortifié en zinc. T-test indépendant pour les jours différents et procédure GLM Univarié pour les résultats des deux jours combinés avec l'aliment et le jour d'étude utilisés comme effets principaux (main effect) et les participants comme effet aléatoire (random effect). Le niveau de signification pour tous les tests est P < 0,05.

¹ La consommation alimentaire est mesurée en gramme de poids sec

² Moyenne ± ET

*Non significatif quand les enfants malades sont exclus de l'analyse

L'appréciation par les accompagnantes du degré d'acceptabilité global de l'aliment de complément par les enfants est favorable pour les deux aliments test et témoin de l'étude avec des valeurs moyennes $\geq 5,3$ dans tous les cas (indiquant une appréciation très positive des caractéristiques de l'aliment de complément). Il n'y a pas de différence significative du degré d'acceptabilité (DOL) par aliment pour le jour 1 ($P = 0,106$) ou le jour 2 ($P = 0,744$). Aucune interaction n'est trouvée par type d'aliment et le jour d'étude ($P = 0,998$). La moyenne globale du DOL est de $5,7 \pm 2,4$ pour l'aliment test CF-Zn comparée à $6,3 \pm 1,6$ pour l'aliment témoin CF-nonZn ($P = 0,191$).

Le degré d'appréciation des accompagnantes est élevé pour les deux aliments de complément. Aucune interaction n'est observée entre jour d'étude et type d'aliment (données non présentées). Et il n'y a pas de différence significative pour le jour 1, le jour 2 ou les deux jours combinés en ce qui concerne l'apparence, la texture, ou le DOL global (**Tableau IV-3**). Les accompagnantes ont donné un degré d'appréciation (DOL) de la saveur pour l'aliment test CF-Zn significativement plus élevé pour le jour 1 ($P = 0,044$). Cependant, il n'y a pas de différence significative pour le DOL de la saveur au jour 2 ($P = 0,25$) ou lorsque les résultats de ces deux jours sont regroupés ($P = 0,425$). La moyenne combinée globale du DOL pour les accompagnantes est de $6,5 \pm 0,9$ pour l'aliment test CF-Zn et de $6,4 \pm 0,8$ pour l'aliment témoin CF-nonZn ($P = 0,548$).

Tableau IV-3 : Estimation du degré d'appréciation des accompagnantes sur l'échelle des 7-points hédoniques pour l'apparence, le goût, la texture et le degré global d'appréciation (DOL) par type d'aliment

	CF-Zn Test (n = 21)	CF-nonZn Témoin (n = 21)	P
Degré appréciation de l'apparence			
Jour 1	6,9 ± 0,3	6,8 ± 0,5 ¹	0,521
Jour 2	6,5 ± 0,6	6,8 ± 0,4	0,189
Jours combinés	6,8 ± 0,4	6,8 ± 0,4	0,595
Degré appréciation du gout			
Jour 1	6,7 ± 0,6	5,8 ± 1,3	0,044
Jour 2	6,0 ± 1,4	6,5 ± 0,6	0,250
Jours combinés	6,5 ± 0,8	6,4 ± 0,8	0,425
Degré appréciation de la texture			
Jour 1	6,9 ± 0,3	6,8 ± 0,5	0,521
Jour 2	6,5 ± 0,6	6,7 ± 0,5	0,457
Jours combinés	6,8 ± 0,4	6,7 ± 0,5	0,851
Degré global d'appréciation			
Jour 1	6,6 ± 0,7	5,8 ± 1,3	0,083
Jour 2	6,0 ± 1,4	6,5 ± 0,6	0,250
Jours combinés	6,5 ± 0,9	6,4 ± 0,8	0,548

CF-nonZn: aliment de complément non fortifié en zinc ; CF-Zn: aliment de complément fortifié en zinc. T-test indépendant pour les jours différents et procédure GLM Univarié pour les résultats des deux jours combinés avec l'aliment et le jour d'étude utilisés comme effets principaux (main effect) et les participants comme effet aléatoire (random effect). Le niveau de signification pour tous les tests est $P < 0,05$.

¹ Moyenne ± ET

Pour le test triangle avec les accompagnantes, un total de 63 tests est administré à 21 participants. Les accompagnantes ont correctement identifié les échantillons différents dans seulement 16 tests (25,4%) ce qui est inférieur à la probabilité d'identifier correctement l'échantillon différent des deux autres simplement par hasard.

IV. DISCUSSION

Les résultats de la présente étude indiquent que l'ajout de zinc à un aliment de complément fortifié est bien accepté par les enfants qui ont participé à l'étude. Les points forts de l'étude sont l'application des évaluations sensorielles systématiques, la prise en compte des différents types de produits fortifiés et l'inclusion des enfants dans les différentes composantes de l'essai. Cependant l'échelle hédonique, une mesure de l'appréciation aimer/ne pas aimer, est considérée comme la norme pour mesurer l'acceptabilité (Peryam et Pilgrim, 1957), les évaluations à court terme ne peuvent pas prédire l'apport alimentaire à long terme chez les consommateurs (Meiselman, 1992; Cardello et Schutz, 1996). Les résultats montrent que les aliments de complément fortifiés seulement en fer (sous forme de fumarate ferreux) ou en fer et en zinc (sous forme d'oxyde de zinc) sont indiscernables par les accompagnantes dans les tests Triangle. De même les accompagnantes ont hautement apprécié les deux produits lors des tests sur l'apparence, le goût, la texture et le degré global d'appréciation. Les différences dans les durées d'alimentation et les quantités d'aliment consommées ne sont pas significatives lorsqu'on tient compte de la présence de maladies chez les enfants. Les évaluations du degré d'appréciation par les accompagnantes sont très positives pour les deux aliments test et témoin. Ainsi, les résultats du test d'acceptabilité des enfants indiquent que les aliments de fortification ciblés avec des compositions similaires à celle de l'aliment de l'étude en cours devraient être acceptables par les consommateurs à des niveaux allant jusqu'à 240 mg de zinc par kilogramme de farine. Néanmoins, dans la littérature il n'y a pas eu d'autres études d'acceptabilité sur la fortification en zinc chez les jeunes enfants. Ainsi, d'autres tests sensoriels seraient souhaitables, en particulier pour différents types d'aliments de complément et pour des niveaux de fortification plus élevés.

Moins de 20 pays à travers le monde fortifient en zinc les céréales de base (Brown et al, 2010). Présentement, tous les programmes de fortification ajoutent le zinc (sous forme d'oxyde de zinc) à des niveaux allant de 14 à 33 mg de zinc par kilogramme de farine. Les nouvelles recommandations de l'Initiative de Fortification de la Farine (FFI) (Brown et al, 2010) qui ont été adoptées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), ne fournissent pas les niveaux de fortification pour les programmes de fortification en zinc. Ainsi d'autres recherches plus poussées seraient encore nécessaires pour évaluer les effets des farines de céréales fortifiées en zinc sur le zinc total absorbé chez les jeunes enfants. Pour les programmes de fortification de masse, la farine de blé raffinée devrait être fortifiée à des

niveaux allant de 25 à 95 mg de zinc par kilogramme de farine, en fonction de : (1) la quantité de farine consommée et (2) la quantité de zinc et phytates consommée dans le reste de l'alimentation. Les résultats de notre étude indiquent que les niveaux de fortification nouvellement proposés pour les programmes de masse devraient être bien acceptés par les consommateurs. Des niveaux plus élevés de la fortification en zinc sont proposés pour les programmes de fortification de masse lorsque la farine de blé entier est consommée, mais des essais sensoriels sont encore nécessaires pour confirmer l'acceptabilité de ces produits.

A l'image de la bouillie fortifiée en zinc, les propriétés sensorielles de pains fortifiés en zinc sont aussi acceptables lorsqu'ils sont comparés à leurs équivalents non fortifiés en zinc et sont bien appréciés par les adultes sénégalais.

Une étude similaire à laquelle nous avons participé, a été effectuée chez des adultes sénégalais pour évaluer l'acceptabilité de pains à base de blé fortifiés en zinc (Aaron et al., 2011).

Trois types de pains sont préparés en utilisant un procédé de mélange mixte. L'échantillon A, est fortifié avec 15 mg de fer sous forme de fumarate ferreux et 1,5 mg d'acide folique par kg de farine (pain non fortifié). Les échantillons B et C sont fortifiés avec les mêmes quantités d'acide folique et de fumarate ferreux, et avec soit 63 mg de zinc (pain modérément fortifié en zinc) ou 126 mg de zinc (pain hautement fortifié en zinc) sous forme d'oxyde de zinc par kilogramme de farine. Le zinc est ajouté pour atteindre une concentration finale de 0 mg, 7,5 mg, ou 15 mg, pour une portion de 200 g de pain pour respectivement les échantillons A, B et C. Les produits de boulangerie sont préparés selon une recette du Sénégal pour les baguettes, en utilisant de la farine de blé enrichie (595 g/kg de pâte), de l'eau (381g/kg de pâte), du sel (12 g/kg de pâte), de la levure (9 g/kg de pâte) et une enzyme additive de cuisson (3 g/kg). Les teneurs en éléments minéraux des échantillons sont vérifiées au laboratoire d'analyse des ressources agricoles et naturelles de l'Université de Californie, Davis (UCD-ANR). Les teneurs en énergie, en protéines et en phytates des pains sont estimées à l'aide d'une table de composition des aliments sénégalais (WorldFood Dietary Assessment System).

Pour la consommation des pains, les participants sont placés sur des tables dans une chambre semi-privée isolées par des cloisons. Le premier jour de l'étude, les participants reçoivent chacun des 3 pains de l'étude, servis sec, dans un ordre aléatoire pour éviter un effet de séquence. Le jour 2, la même procédure est répétée, sauf que le pain est servi avec du

beurre. La raison pour laquelle les pains sont servis secs puis avec du beurre revêt 2 aspects : (1) si les participants sont susceptibles de détecter le zinc dans les pains fortifiés, ils ont plus de chance de le faire si les pains sont servis secs et (2) il y a peu de chance que les pains soient consommés secs au Sénégal, et nous avons ainsi voulu tester l'acceptabilité des consommateurs dans un format plus convivial. Les participants sont invités à consommer au moins une bouchée de chaque produit et ensuite à évaluer leur appréciation des pains pour la saveur, la texture et le degré d'appréciation globale, en utilisant l'échelle hédonique de 7-points (Bovell-Benjamin et Guinard, 2003). Pendant tous les essais, les participants reçoivent de l'eau entre la consommation des pains.

Au total 32 participants adultes ont complété le test d'acceptabilité. Le degré d'appréciation des participants est élevé pour tous les pains avec des différences non significatives pour le jour 1, le jour 2 ou les deux jours combinés, pour l'apparence, la saveur, la texture ou le degré d'appréciation globale. Aucune interaction n'est observée entre jour d'étude et consommation de pain. Au jour 2 où les pains sont servis avec du beurre, les degrés d'appréciation sont significativement plus élevés pour la saveur ($p < 0,001$), la texture ($p < 0,001$) et le degré d'appréciation global ($p < 0,001$) mais non pour l'apparence ($p = 0,061$) dans l'ensemble des pains. Il n'y a pas de différence significative ($p = 0,333$) entre les moyennes combinées des degrés d'appréciation globale pour le pain non fortifié en zinc ($5,1 \pm 1,4$), le pain modérément fortifié en zinc ($5,3 \pm 1,4$) ou le pain hautement fortifié en zinc ($5,3 \pm 1,4$).

En conclusion, l'analyse sensorielle est une étape importante pour assurer l'acceptabilité et aussi la durabilité des programmes de fortification en zinc. Notre étude montre que les propriétés sensorielles des aliments de complément à base de céréales fortifiées en zinc sont acceptables aux niveaux de fortification en zinc utilisés comparées aux équivalents non fortifiés en zinc. Les aliments de complément test et témoin sont bien appréciés par les enfants et les accompagnantes. Les résultats de cette étude contribuent d'une part à la compréhension croissante des effets de la fortification en zinc sur l'acceptabilité des produits à base de céréales et d'autre part à la disponibilité d'informations spécifiques pour les enfants en Afrique de l'Ouest.

L'étude sur les tests d'acceptabilité chez les enfants et les adultes a fait l'objet d'une **publication dans le *Journal of Food Science***.

Aaron GJ, **Ba Lo N**, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. **J Food Science 2011;76:S56-62**. (Impact Factor 2011: 1.6)

CHAPITRE V

**REPONSE PLASMATIQUE DU ZINC CHEZ LES ENFANTS AGES
DE 9 A 17 MOIS RECEVANT DE LA BOUILLIE FORTIFIEE EN
ZINC**

I. RAPPEL DES OBJECTIFS

1. HYPOTHESE DE RECHERCHE

La consommation quotidienne de zinc sous forme de supplément ou de farine de céréales fortifiée en zinc augmente la concentration plasmatique de zinc chez les enfants sénégalais âgés de 9 à 17 mois.

2. OBJECTIF GENERAL

L'objectif principal de cette étude est de déterminer si la concentration en zinc du plasma change en réponse à la supplémentation et à la consommation additionnelle de zinc fourni sous forme d'aliments à base de céréales fortifiées en zinc.

3. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Administrer aux enfants un aliment fortifié en zinc ;
- Administrer aux enfants un supplément de zinc ;
- Mesurer la concentration plasmatique de zinc ;
- Mesurer la concentration plasmatique des protéines de la réaction inflammatoire (AGP, CRP).

II. MATERIEL ET METHODES

1. CADRE DE L'ETUDE

L'étude est réalisée entre Juillet 2008 et Septembre 2009 dans le dispensaire Saint Martin, situé à Reubeuss, un quartier périphérique de Dakar, Sénégal. Les parents d'enfants âgés de 9-17 mois sont identifiés lors des séances de vaccination de routine du Programme Elargie de Vaccination au dispensaire et à travers des recrutements à domicile organisés par l'équipe de recherche dans ce même quartier.

2. RECRUTEMENT DES COUPLES MERE/GARDIENNES D'ENFANTS

Dès le mois de juillet 2008, des recrutements réguliers d'enfants âgés de 3 à 9 mois sont effectués lors des séances de vaccination au niveau du dispensaire Saint-Martin. Un court questionnaire leur est appliqué pour recueillir certaines informations telles que l'âge, le nom de l'enfant, le nom de la mère, le contact téléphonique et l'adresse. Juste avant l'étude les mamans sont appelées pour prendre un rendez-vous. Des visites sont effectuées chez elles pour leur expliquer de façon sommaire l'étude et les convoquer pour une séance de sensibilisation. Certaines informations supplémentaires sont recueillies lors de ces visites. Elles portent sur :

- ✓ L'état sanitaire de l'enfant (par observation)
- ✓ Le type d'alimentation de l'enfant : nous demandons si l'enfant est allaité et/ou mange d'autres aliments
- ✓ Comment la mère donne à manger à l'enfant. Pour les besoins de l'étude, nous utilisons une tasse et une cuillère pour l'alimentation des enfants, donc il était nécessaire de savoir si les enfants sont familiers à ces instruments afin de ne pas biaiser l'étude
- ✓ La disponibilité de la mère pour venir tous les jours au dispensaire pendant la durée de l'étude
- ✓ La présence d'autres enfants âgés de 3 à 9 mois dans le ménage.

Un total de 101 enfants a été recruté avant le démarrage de l'étude. Certains parmi eux ont participé à l'étude sensorielle et les autres à l'étude clinique sur la réponse plasmatique du zinc. Le processus de recrutement est poursuivi durant toute l'étude en ciblant les couples mères/gardiennes d'enfants âgés de 9 à 17 mois habitant dans les environs du dispensaire Saint Martin. A la différence du premier processus, les visites à domicile ne sont effectuées que pour les mères/gardiennes sans contacts téléphoniques. Les autres sont convoquées pour participer aux séances de sensibilisation par appel téléphonique.

3. SENSIBILISATION

Une journée de sensibilisation en masse regroupant au moins 15 couples mères/enfants est organisée chaque jeudi de la semaine. Lors des contacts à domicile ou téléphoniques, nous

expliquons aux mères l'objectif de l'étude et donnons quelques éléments du protocole. Les activités menées durant les séances de sensibilisation sont :

- ✓ Une explication plus détaillée du protocole d'étude
- ✓ Une application du consentement et des déclarations de droit des enfants et des questionnaires pour les volontaires
- ✓ La signature de deux copies du consentement par les volontaires et les chercheurs
- ✓ La mesure du poids, de la taille et du taux d'hémoglobine des enfants pour les critères d'éligibilité
- ✓ L'examen clinique des enfants
- ✓ Le déparasitage des enfants par de l'Albendazole 200 mg

Tous les documents afférents sont présentés dans les **Annexes**.

Lors du dépistage les enfants présentant un P(T) et/ou un T(A) < -2 z-score et un taux d'hémoglobine < 8,0 g/dL, sont référés chez le médecin pour une prise en charge. L'étude paye le ticket de consultation et une partie de la prise en charge des médicaments.

4. ETHIQUE

Les mères sont informées de leur totale liberté de participer ou de se retirer de l'étude si éventuellement elles le souhaitent et leur consentement est recueilli par signature du document de consentement éclairé et des déclarations de droit des enfants. L'étude est approuvée par le comité d'éthique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) et l'Institutional Review Board de l'Université de Californie, Davis. Elle est aussi inscrite comme un essai clinique sur le « National Institute of Health » (www.ClinicalTrials.gov; NCT00944398).

5. TYPE D'ETUDE

Il s'agit d'une étude clinique randomisée placebo-contrôle en double aveugle pour déterminer si la concentration en zinc du plasma change en réponse à la supplémentation et à la consommation additionnelle de zinc fournie à partir d'aliments à base de céréales fortifiées en zinc.

Les enfants éligibles sont assignés au hasard à un des 3 groupes de traitement pour une période de 15 jours. La répartition est faite en utilisant un système de randomisation électronique avec un bloc varié de longueur de 3, 6, ou 9 (www.randomization.com). Les trois groupes ainsi générés sont le groupe contrôle, le groupe de supplémentation en zinc (ZnSuppl) et le groupe fortifié en zinc (ZnFort). Chaque jour, une portion de bouillie à base de maïs et de mil comme celle utilisée dans l'étude précédente d'acceptabilité, et un supplément multivitaminé liquide sont servis aux enfants sous supervision directe de l'équipe de recherche. Du zinc additionnel est ajouté à la bouillie ou au supplément en fonction du groupe (**Tableau V-1**). La durée de l'intervention est fixée à 15 jours car une étude antérieure menée chez des adultes avait montré que le zinc plasmatique augmente dans les 2 à 5 jours après le début de la supplémentation (Wessells et al., 2010). Ainsi nous avons supposé que cette période d'intervention serait suffisante pour détecter un effet de l'intervention. La limite de 15 jours a été fixée pour également minimiser le fardeau des participants et le coût de l'essai clinique.

Tableau V-1 : Groupes d'intervention de l'étude¹

	Groupe d'étude		
	ZnSuppl	ZnFort	Contrôle
Aliment de complément ²	Bouillie + fortifiant en fer ³	Bouillie +fortifiants en Fer ³ et zinc ⁴ (oxyde de zinc)	Bouillie + fortifiant en fer ³
Supplément vitaminique ⁵	Vitamines B + vitamine C + 6 mg zinc (sulfate de zinc)	Vitamines B + vitamine C	Vitamines B + vitamine C

¹ZnSuppl, zinc supplémentation; ZnFort, zinc fortification.

²Composition : Maïs, mil, niébé, arachide, lait en poudre, sucre, vanilline. Teneur en minéraux naturels par 100 g de poids sec : fer $4,2 \pm 0,3$ mg ; zinc $1,7 \pm 0,0$ mg ; calcium $24 \pm 0,6$ mg. Teneur en acide phytique : 302 mg/100 g de poids sec (Gibbs et al., 2011).

³60 mg de fer sous forme de fumarate ferreux par kilogramme de poids sec de l'aliment de complément.

⁴240 mg de zinc sous forme d'oxyde de zinc par kilogramme de poids sec de l'aliment de complément pour apporter ~ 6 mg de zinc additionnel/portion de 25 g.

⁵Quantité/5mL : thiamine, 0,2mg; riboflavine, 0,2mg; niacine, 2mg; vitamine B₆, 0,2mg; vitamine B₁₂, 0,3µg; acide pantothénique, 0,7mg; biotine, 2,6mg, vitamine C, 5mg.

6. ESTIMATION DE LA TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

Le résultat attendu de l'étude est la variation de la concentration de zinc plasmatique de base. En tenant compte de l'effet taille (effect size) d'environ 0,8, qui est celui observé dans des études précédentes de supplémentation chez les enfants (Hess et al., 2007), un total de 30 enfants dans chaque groupe et retenu pour permettre la détection d'une différence entre les groupes (intergroupe). La taille de l'échantillon est augmentée de 50% pour tenir compte des perdus de vue ou de l'impossibilité d'obtenir les échantillons de sang.

7. CRITERES D'ELIGIBILITE

Chez les enfants dont les mères/gardiennes ont donné leur consentement un examen clinique est effectué par un pédiatre. Le poids, la taille et la concentration de l'hémoglobine par capillaire sanguin sont mesurés par l'équipe de recherche pour déterminer l'éligibilité des enfants à participer à l'étude. Les critères d'éligibilité sont les suivants :

- Des indices Poids-pour-Taille (P(T)) et Taille-pour-Age (T(A)) $> - 2,0$ z-score selon les normes de croissance OMS (WHO Anthro version 2.0.2, www.who.int/childgrowth)
- Une concentration en hémoglobine $> 8,0$ g/dL (pour les enfants modérément et sévèrement anémiés)
- Aucune consommation d'aliments ou de suppléments enrichis en zinc. Une liste et un album de photos des aliments disponibles localement et fortifiés en zinc sont élaborés pour permettre aux accompagnantes de bien les identifier et de donner des réponses précises sur cette question
- L'absence d'infection symptomatique au cours des 15 derniers jours ayant précédés l'enquête

Un total de 234 enfants a été examiné et 158 d'entre eux sont éligibles pour participer à l'étude. Tous les participants sont déparasités en recevant 200 mg d'Albendazole en une seule dose par voie orale lors de l'examen clinique afin de s'assurer que la présence des helminthiases n'aurait pas d'incidence sur l'interprétation des résultats de l'étude.

8. QUESTIONNAIRES

Plusieurs questionnaires sont utilisés dans le cadre de cette étude (**voir annexes**).

- Information personnelle
- Dépistage
- Alimentation journalière
- Morbidité de base
- Prélèvement sanguin

9. METHODES

❖ Etapas de fortification de la farine de céréales

Les deux types de farine sont fortifiés suivant le protocole ci-dessus. Dix (10) kg de farine provital sont fortifiés pour chaque groupe. Le premix est préparé au niveau du laboratoire et le reste de la fortification s'est effectuée au Grand Moulin de Dakar. Les étapes de la fortification sont les suivantes :

Premix :

- Peser 250g de farine Provital ;
- Peser la quantité adéquate du minéral correspondant ;
- Mixer le mélange pendant 2 mn à l'aide d'un mixeur ;
- Mettre le tout dans un sachet en plastique et bien fermer hermétiquement.

Mélange dans la bétonnière :

- Mettre de la farine Provital non fortifiée dans la bétonnière (Fork Mixer 15120; VMI, France) pendant 1 mn pour nettoyer ; Vider la bétonnière ;
- Mettre 9,750 kg de la farine Provital dans la bétonnière. Bien fermer le mélangeur ;
- Ajouter le premix et mixer pendant 12 minutes ;
- Garder les 10 kg de farine fortifiée ou non en zinc dans des sachets en plastique.

Remarque : Le produit sans zinc est toujours fortifié en premier dans la bétonnière.

Tableau V-2 : Quantité de fer et de zinc utilisée pour la fortification de 20 kg de la farine Provital

Type de farine	Fumarate ferreux mg	Oxyde de zinc mg
Farine avec zinc	1909,1	3150
Farine sans zinc	1909,1	0

Après fortification les farines sont mises dans des sachets de 30g et gardées dans un réfrigérateur.

9.1. Préparation et composition des aliments

9.1.1. Bouillie

La bouillie servie aux enfants dans tous les groupes est préparée à partir d'un aliment de complément disponible localement (Provital ; CO-AID, Sédhiou, Sénégal) contenant de la farine de maïs et de mil extrudée, du niébé, de l'arachide grillé, du lait en poudre entier, du sucre et de l'arôme vanilline. L'aliment est fortifié avec 60 mg de fer sous forme de fumarate ferreux par kilogramme de poids sec, pour apporter 1,5 mg de Fe par portion de 25 g de poids sec d'aliment de complément (**Tableau V-1**). Le mélange offert aux enfants dans le groupe ZnFort est également fortifié en zinc (oxyde de zinc), pour apporter une quantité additionnelle de 6 mg de Zn par portion de 25 g de poids sec d'aliment de complément. Les différents aliments de l'étude sont préparés en utilisant un procédé de mélange mixte discontinu. Pour tenir compte des pertes minérales au cours du processus de fortification, un excédent de 5% est ajouté. Les teneurs intrinsèques en zinc et en fer des mélanges alimentaires sont respectivement de $1,7 \pm 0,02$ et $4,2 \pm 0,3$ mg par 100 g de poids sec. Celle en acide phytique est de 302 mg/100 g de poids sec, résultant ainsi à un rapport molaire acide phytique:zinc de 17,6 pour la bouillie non fortifiée en zinc et 1,4 pour la bouillie fortifiée en zinc (Gibbs et al., 2011).

Les aliments de complément respectifs sont divisés en portions de 30 g (poids sec), conformément aux résultats d'une étude précédente (Brown et al., 2007). L'acceptabilité des aliments de complément était précédemment confirmée dans une étude d'évaluation sensorielle réalisée chez les enfants sénégalais (Aaron et al., 2011). Les portions journalières sont emballées dans des sachets pré-codés, hermétiquement scellés et stockés à 4°C jusqu'à la

préparation. Le contenu en farines de céréales des sachets est mélangé avec 70 ml d'eau minérale embouteillée (Kirène; Dakar, Sénégal) chauffé à 85°C pour obtenir une portion finale de 100 g (poids humide).

9.1.2. Liquide vitaminique

Les suppléments de vitamines liquides, préparés avec ou sans zinc additionnel sous forme de sulfate de zinc, contiennent les quantités suivantes de vitamines dans chaque dose de 5 mL servie : thiamine, 0,2 mg ; riboflavine, 0,2 mg ; niacine, 2 mg ; vitamine B₆, 0,2 mg ; vitamine B₁₂, 0,3 µg ; acide pantothénique, 0,7 mg ; biotine, 2,6 mg ; vitamine C, 5 mg. Les composés de zinc et le mélange sec de multivitamines ont été fournis par DSM Nutritional Products (Isando, Gauteng, Afrique du Sud). Les contenus en zinc des suppléments et aliments de complément ont été confirmés par le laboratoire d'analyse des ressources agricoles et naturelles de l'Université de Californie, Davis (UCD-ANR).

9.1.3. Collecte des données

Pendant les 15 jours de l'étude, la bouillie est préparée par l'équipe de recherche et est servie aux participants dans une salle aménagée dans le dispensaire Saint-Martin de Reubeuss. La bouillie servie aux enfants est mise dans un bol pré-pesé. Les enfants sont alimentés avec une cuillère par leurs accompagnantes. Un bavoir est placé autour du cou des enfants pour recueillir la bouillie renversée et/ou provenant des écoulements.

La consommation de la bouillie par les enfants est supervisée par le personnel de l'étude. La quantité totale de bouillie consommée est déterminée en soustrayant le poids des restes de la quantité servie et en corrigeant avec les pertes recueillies des écoulements. Les enfants doivent consommer une quantité de bouillie ≥ 84 g (poids humide) par jour pour recevoir les 6 mg de Zinc additionnel. Si un enfant n'a pas consommé la quantité requise de la première portion servie, nous demandons à l'accompagnante d'offrir le reste à l'enfant 30 min plus tard, toujours sous surveillance du personnel de l'étude. Si l'enfant n'a pas consommé tout ce qui a été servi au cours de cette seconde alimentation, la quantité appropriée de l'aliment de complément de l'étude est donné à l'accompagnante pour une alimentation à domicile plus tard dans la journée. Le lendemain, nous vérifions la consommation à domicile en demandant à l'accompagnante de nous signaler si l'enfant a mangé la bouillie et d'estimer la quantité consommée comme "petite", "moyenne" ou "grande".

Le supplément de liquide vitaminique (avec ou sans zinc additionnel) est administré chaque jour au minimum 90 minutes après la consommation sous surveillance des aliments de complément. Pendant le temps d'attente de 90 min, les accompagnantes et leurs enfants restent dans la zone d'étude et les superviseurs vérifient que les enfants n'ont pas été allaités ou consommé d'autres aliments ou boissons. Pour rendre agréable le temps d'attente de 90 min pour la prise du supplément vitaminique, nous avons acheté et placés dans la salle d'étude des journaux de femmes, des jouets, une télévision, une vidéo et des CD de dessins animés.

Durant l'étude, l'équipe de recherche a conseillé aux mères/accompagnantes de nourrir exclusivement les enfants de lait maternel, de plats familiaux et de bouillie non fortifiée en zinc au cours des repas à domicile. Elles sont aussi priées d'éviter tous laits ou produits alimentaires pour nourrissons enrichis en zinc et les suppléments de vitamines et de minéraux.

Nous avons recueilli les données des enfants concernant la longueur, le poids, la concentration d'hémoglobine, la morbidité et la consommation habituelle d'aliments à domicile au moment du recrutement et 15 jours après, à la fin de l'étude. Les membres de l'équipe de recherche ont également recueilli chaque jour, auprès des accompagnantes des informations sur les symptômes de maladie des enfants. Ces informations comprennent le nombre de selles et leur consistance, la présence de toux, d'écoulement nasal, de fièvre et d'autres symptômes signalés. La diarrhée est définie comme l'excrétion d'au moins de 3 selles molles ou liquides par jour et l'infection des voies respiratoires supérieures est définie comme la présence de toux et d'écoulement nasal.

9.2. Mesures anthropométriques des enfants

9.2.1. Mesure du poids

Les enfants sont pesés nu à l'aide d'un pèse bébé électronique (OHAUS DP15 ; SNR 2182829 ; OHAUS Corp, Pine Brook, NJ) de portée maximale 25 kg et de précision 5g. La balance est posée sur une surface dure et plane dont l'horizontalité est vérifiée avec un niveau. Chaque matin avant la prise des mesures, le pèse bébé est calibré avec un poids étalon de 1 kg. Pour faciliter la prise des mesures surtout chez les enfants de bas âge, nous avons utilisé une bassine préalablement posée sur le pèse bébé. Ce dernier a été taré pour enlever le poids de la bassine avant toute prise de mesures. Le poids, exprimé en kg est pris à 0,01 kg près.

9.2.2. Mesure de la taille

La longueur des enfants est mesurée en double avec une toise horizontale de fabrication locale. Elle est posée sur une table dure et plane. L'horizontalité du support est vérifiée avec un niveau. Les enfants sont allongés sur le dos au milieu de la toise, la tête contre la partie fixe de la toise, le regard tourné vers le haut, les épaules, les fesses et les jambes touchent la planche de la toise, la colonne vertébrale non arquée, les deux bras positionnés le long du corps, la plante des pieds contre la planche et les orteils tournés vers le haut. La taille est mesurée à 0,1 cm près.

9.2.3. Calcul des indices anthropométriques

Les indices Poids-pour-taille ((P(T)) et Taille-pour-Age (T(A)) sont calculés avec un logiciel développé pour l'application globale des standards de l'OMS (WHO Anthro version 2.0.2, www.who.int/childgrowth).

9.3. Mesure de la concentration de l'hémoglobine

Le taux d'hémoglobine est déterminé avec le système **HemoCue**® (HemoCue Hb 201+; HemoCue AB, Ängelholm, Sweden) fonctionnant selon le principe de la photométrie. Ce système comporte une microcuvette contenant un réactif sec (désoxycholate de sodium, nitrite de sodium, azide de sodium et fluorescéine) qui au contact de la goutte de sang entraîne l'hémolyse des érythrocytes, ce qui libère l'hémoglobine. Le nitrite de sodium transforme l'hémoglobine en méthémoglobine qui réagit avec l'azide de sodium pour former l'azide de méthémoglobine. Après l'introduction de la microcuvette dans le photomètre HemoCue, la lecture du taux d'hémoglobine se fait en 15-45 secondes. Les mesures sont effectuées en double et le seuil de non anémie défini est de > 8,0 g/dL.

Le contrôle de qualité des mesures est réalisé avec des solutions de contrôle à 2 niveaux : bas et normal (Eurotrol B.V, Keplerlaan 20, The Netherlands). Par ailleurs, l'appareil HemoCue comporte un système de qualité interne ou autocontrôle et il vérifie automatiquement son système optique dès la mise sous tension.

9.4. Dosages biologiques

9.4.1. Prélèvement sanguin

Des échantillons de sang veineux (5 mL) sont prélevés 1 jour avant le début de l'intervention et à la fin de la période d'alimentation pour la mesure des concentrations de zinc plasmatique, de la protéine C-réactive (CRP) et de l' α -1- glycoprotéine acide (AGP). Lorsque les enfants sont gravement malades, avec une présence de fièvre ou de diarrhée le jour du prélèvement sanguin, la collecte de l'échantillon sanguin est reportée jusqu'à ce que les symptômes disparaissent. Et dans le cas du prélèvement final, l'alimentation des enfants par les aliments de complément de l'étude est poursuivie jusqu'à la veille de la collecte de l'échantillon de sang.

Les échantillons de sang sont prélevés entre 7 h et 10h du matin. Les accompagnantes sont invitées à amener les enfants à la clinique sans prise alimentaire autre que le lait maternel, le jour du prélèvement sanguin. L'heure du prélèvement sanguin et celle du dernier repas ou de l'allaitement sont reportées sur la fiche de prélèvement afin d'être utilisées comme facteurs d'ajustement lors de l'analyse statistique des données.

Le sang est prélevé dans des tubes en polyéthylène à usage unique contenant un anticoagulant (héparine de lithium) sans contamination métallique (no. 01.1604.400; Sarstedt AG et Co, Numbrecht, Germany) et est immédiatement placé dans une glacière contenant des blocs réfrigérants. Peu de temps après, le sang est centrifugé à 3200 tr/min (EBA 20 centrifuge model 2002; Andreas Hettich GmbH et Co KG, Tuttlingen, Germany) pendant 12 min. Les échantillons de plasma sont ensuite répartis en part égale en aliquotes dans des tubes en polyéthylène sans contamination métallique avec une capsule en plastique (référence 2840; Perfector Scientific, Atascadero, CA). Les aliquotes toujours au frais dans la glacière, sont transportés au laboratoire et stockés au réfrigérateur à -20 °C. Un aliquote est réservé pour l'analyse des protéines de la phase inflammatoire aiguë et le reste expédié au Etats-Unis pour le dosage du zinc. Toutes les procédures de traitement et de prélèvement sanguin sont conformes aux recommandations de l'International Zinc Nutrition Collaborative Group (Brown et al., 2004).

9.4.2. Mesure du zinc plasmatique

a- Principe et appareillage

Les concentrations plasmatiques de zinc sont mesurées au centre ouest de recherche en Nutrition Humaine du Ministère de l'Agriculture des Etats-Unis (Davis, CA) à l'aide de la Spectrométrie d'Emission Atomique Source Plasma à Couplage Inductif (Vista AX CCD Simultaneous ICP-AES avec un SPS5 auto-sampler; Varian Inc, Walnut Creek, CA).

Cette technique permet de déterminer des concentrations des éléments à l'état de traces dans des échantillons. C'est une méthode multi-élémentaire. L'émission atomique utilise la propriété des atomes de passer d'un niveau d'énergie supérieur à un niveau inférieur en émettant des raies spectrales de longueurs d'ondes caractéristiques d'un élément. Elle repose sur la mesure de cette énergie émise sous forme d'un rayon lumineux à une longueur d'onde spécifique, par un atome qui passe d'un état excité à un état moindre. L'excitation de l'élément est due à son atomisation, c'est-à-dire à sa dissociation en atome ou en ion libre. On considère que l'intensité lumineuse mesurée est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser.

L'appareil comprend un :

- système d'introduction d'échantillon qui permet d'amener celui-ci dans le plasma
- générateur haute fréquence qui apporte de l'énergie au plasma
- système optique qui analyse le spectre émis par le plasma
- système de traitement de signal

❖ **Le système d'introduction**

L'échantillon est amené au nébuliseur à l'aide d'une pompe péristaltique. Ce nébuliseur permet à l'échantillon de passer de l'état liquide en aérosol. Une injection d'argon à ce niveau permet à l'aérosol d'atteindre la chambre de nébulisation. Les grosses gouttelettes y sont éliminées par gravité. Seules les gouttelettes d'une taille inférieure à 10µm sont véhiculées vers la torche, grâce à ce gaz vecteur.

❖ **Le plasma et la torche**

Le plasma est un gaz ionisé. Un générateur haute fréquence a pour fonction de fournir l'énergie nécessaire à l'ionisation du gaz et à l'obtention du plasma. Le gaz arrive dans la torche où il est confiné dans un tube de quartz. L'aérosol excité par le plasma émet des raies spectrales ou faisceaux lumineux. L'intensité de ce faisceau détecté est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser.

❖ **Le système optique**

Le système d'éclairage est composé de deux lentilles qui forment l'image optique du plasma sur la fente d'entrée du monochromateur. Sa fonction est d'amener la lumière émise par le plasma vers l'entrée du monochromateur. Ce dernier envoie la lumière en fonction de la longueur d'onde au réseau, par le biais de fentes, d'un miroir et d'un réseau. Le Réseau a pour rôle de réfracter la lumière comme un prisme, il décompose la lumière blanche en un ensemble de raie de longueurs d'ondes différentes.

❖ **Le traitement du signal**

Une fois la lumière diffractée, elle est convertie en courant par un photomultiplicateur. Il fonctionne sur le principe de détection de photons.

b- Mode opératoire

Les échantillons de plasma sont dilués 13,5 fois avec de l'acide nitrique 1N (Trace Metal Grade; Fisher Scientific, Pittsburg, PA) et placés à 4°C pendant toute une nuit. Les échantillons à 4°C sont ensuite centrifugés à 3200 tr/min pendant 15 minutes et le liquide surnageant est prélevé pour effectuer l'analyse. Chaque lot d'échantillons mesuré sur l'ICP-AES, est analysé avec les matériaux de référence suivants qui sont préparés de la même manière que les échantillons cliniques : Seronorm oligo-éléments sériques L-1 (lots NO0371y and JL4409; Cat-SR-201405, Accurate Chemical and Scientific Corp, Westbury, NY) et un contrôle de pool de plasma interne. Un étalon de foie de bœuf (BLS; SRM 1577b; National Institute of Standards and Technology, Boulder, CO) est également mesuré pour chaque lot d'échantillons. Tous les échantillons sont analysés en double et ceux provenant d'un même enfant sont analysés dans la même série analytique.

9.4.3. Mesure de la CRP

a- Appareillage, principe

La concentration plasmatique de CRP est analysée au laboratoire de Nutrition de l'UCAD à l'aide de kits d'immunodiffusion radiale (Human C-reactive protein 'EL' Nanorid™ Radial immunodiffusion kit, GT044.3, The Binding Site Limited, Birmingham, United Kingdom).

Le principe repose sur la diffusion radiale d'un antigène à partir d'un puits cylindrique creusé dans un gel d'agarose contenant un anticorps monospécifique. La formation de complexes antigène-anticorps donnera lieu à un cercle de diffusion autour du puits. La taille du cercle augmentera jusqu'à la zone d'équilibre. Au point final de diffusion, il existe une relation linéaire entre le carré du diamètre de l'anneau de diffusion et la concentration en antigène.

La mesure des anneaux de diffusion se fait au point final de diffusion et la concentration est lue sur la Table de Référence fournie avec les réactifs.

b- Mode opératoire

❖ Préparation des réactifs

Le dosage est effectué avec les réactifs suivants contenu dans le coffret.

Plaques IDR (Référence : GA044.E)

Elles contiennent un anticorps monospécifique anti CRP inclus dans le gel d'agarose. Les plaques contenues dans des pochettes en aluminium sont sorties du réfrigérateur et débarrassées de leur couvercle. Elles sont placées sans leur couvercle dans un environnement exempt de poussière pour ne pas contaminer les géloses et sont laissées à la température ambiante pendant 15 minutes pour que l'eau de condensation s'évapore. Les échantillons ne sont déposés que lorsque toute la condensation présente dans les puits et à la surface du gel s'évapore. Un total de 14 échantillons (calibrateur et contrôle inclus) peut être mesuré sur chaque plaque.

Calibrant (Réf : GP044.E):

Il est fourni sous forme lyophilisée (calibrant EL CRP humaine lyophilisé). Le calibrant est reconstitué avec 0,695 ml d'eau distillée (fourni dans le coffret). Le mélange est ensuite

homogénéisé et un temps d'attente d'environ 30 minutes est observé pour permettre la dissolution complète du calibrant. Le calibrant reconstitué est déposé pur sur chaque plaque pour vérifier la validité de la manipulation. Le diamètre de son anneau doit être de 9,0mm+/- 0,3mm au point final de diffusion pour valider les mesures

Solution de sérum albumine bovine (BSA) à 7% (Réf : SR073)

Elle est fournie sous forme liquide stable et est utilisée pour la dilution des échantillons et du calibrant.

Contrôle (Réf : KCO21)

Il est fourni sous forme lyophilisée (EL Nanorid CRP humaine lyophilisée). Le sérum de contrôle lyophilisé est reconstitué avec le volume d'eau distillée de 0,500 ml. Il est ensuite mélangé doucement par inversion jusqu'à ce que le contenu soit complètement dissous. Une fois reconstitué, le contrôle est traité de la même façon que les échantillons et est déposé pur sur la plaque.

Eau distillée (Réf : SR071). Pour la reconstitution du contrôle et du calibrant lyophilisés.

❖ Préparation des échantillons

Les échantillons de plasma sont utilisés sans dilution. Cependant, les sérums inflammatoires contenant des concentrations très élevées en CRP sont dilués avant dépôt. Dans de tels cas, un volume minimum de 25µL d'échantillon est ajouté au volume de 225µL du diluant BSA à 7%. Les sérums normaux ont en général des concentrations en CRP dans les limites de détection des plaques. Pour chaque échantillon, un double dépôt est effectué dans deux puits opposés.

❖ Dépôt du calibrateur, du contrôle et des échantillons sur les puits

Le calibrant, le contrôle et les échantillons sont homogénéisés juste avant leur utilisation. A l'aide d'une micropipette, un seul dépôt de 5µL du calibrant pur et du contrôle est effectué en premier sur la plaque (puits 1 et 2). Les échantillons sont ensuite déposés en double avec cette même quantité. Le dépôt est effectué rapidement pour éviter le dessèchement excessif du gel provoqué par l'exposition de la plaque à l'air libre pendant trop longtemps.

❖ Incubation

Après les dépôts, la plaque est hermétiquement fermée et maintenue à plat à température ambiante (20-24°C). Pour diminuer les phénomènes d'évaporation, la plaque est recouverte de son emballage en aluminium et placée dans une boîte en plastique jusqu'à la lecture. Le temps minimum d'incubation pour la diffusion complète est de 72 heures.

❖ Mesure de la concentration : Point final de diffusion, table de Référence

Après le temps d'incubation, les diamètres de diffusion sont mesurés à 0,1 mm près à l'aide d'une loupe et d'un papier millimétré. La lecture à l'aide de la loupe s'est faite sur un fond noir, en utilisant un éclairage latéral. Les bords des anneaux sont repérés macroscopiquement sur le fond de la plaque avec une aiguille.

Les concentrations d'échantillons correspondant à chaque diamètre sont lues directement sur la table de référence fournie dans le kit. Les diamètres des anneaux seront mesurés au point final de diffusion.

❖ Contrôle de qualité

Un contrôle de qualité des mesures est effectué avec le contrôle EL Nanorid CRP humaine lyophilisé contenu dans le kit.

9.4.4. Mesure de l'AGP

a- Appareillage, principe

La concentration plasmatique d'AGP est mesurée au laboratoire de Nutrition de l'UCAD à l'aide de kits d'immunodiffusion radiale (Kent Laboratories Inc, Bellingham, WA).

Le principe est basé sur la diffusion de l'antigène à partir d'un puits circulaire radiale dans un gel homogène contenant un antisérum spécifique pour chaque antigène particulier. Un cercle d'antigène et d'anticorps précipités se forme et continue de croître jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. Les diamètres des anneaux sont fonction de la concentration de l'antigène. Après une nuit d'incubation, les diamètres des zones de sérums de référence sont représentés graphiquement en fonction du logarithme (base 10) de la concentration de l'antigène. Si l'équilibre est atteint, les diamètres des zones de sérums de référence sont au carré et en fonction de leur concentration (linéaire).

❖ Réactifs

Plaques d'immunodiffusion radiale (Réf : 1234A59)

Les plaques contiennent un antisérum spécifique en gel d'agarose, un tampon phosphate 0,1 M, pH 7,0, 0,1 % d'azide de sodium comme agent bactériostatique, 1 µg/ml amphotéricine B comme agent antifongique. Elles contiennent également de l'acide éthylènediaminetétraacétique 0,002 M. Chaque plaque contient 24 puits.

Sérums de référence humaine (Réf : 1876K)

Le sérum de référence est constitué d'un pool de sérum humain à trois niveaux : faible, moyen et élevé. Il contient de l'azide de sodium (0,1 %) comme agent bactériostatique. Les diamètres des anneaux des contrôles sont mesurés au point final de diffusion (16 à 20 heures) et reporté sur du papier millimétré avec comme axe des X, les concentrations et axe des Y, les diamètres au carré. L'obtention d'une ligne linéaire démontre la validité des mesures.

b- Mode opératoire

La même procédure que celle de la mesure de la CRP est utilisée à deux exceptions près :

- Le temps d'incubation pour l'AGP est de 16 à 20h
- Une courbe de calibration linéaire est établie avec les trois niveaux de contrôle pour estimer la qualité des mesures.

10. SAISIE ET ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

La saisie, le traitement et les analyses statistiques des données sont réalisés à l'aide de logiciels statistiques standard : PASW statistics 18 (SPSS Inc, Chicago, IL) et Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, Redmond, WA).

Les statistiques descriptives sont utilisées pour étudier la répartition de toutes les variables. L'analyse de variance à un facteur et le test χ^2 de Pearson ont permis d'étudier les différences entre groupe à l'initial. Nous avons effectué également des modèles de régression linéaire distinctes (pour les variables continues) et d'analyse de variance (pour variables nominales) afin d'évaluer les facteurs associés à la concentration de zinc plasmatique de base. Les variables évaluées en fonction de la concentration de zinc plasmatique de base sont les suivants : âge, sexe, indices anthropométriques (T(A) et P(T)) en z-score, intervalle entre l'heure du dernier repas et l'heure du prélèvement sanguin, intervalle entre l'heure du

prélèvement et l'heure de la centrifugation, intervalle de temps entre la centrifugation et la séparation du plasma, présence d'hémolyse visible dans l'échantillon de plasma, présence de CRP élevée (≥ 5 mg/L) et d'AGP élevé (≥ 1 g/L). Une analyse de covariance (Général Linéaire Modèle Univarié) est faite pour comparer les variations de la concentration de zinc plasmatique chez les groupes d'étude, après ajustement par rapport à la concentration de zinc plasmatique de base, les concentrations de CRP et AGP et l'intervalle entre l'heure du dernier repas et l'heure du prélèvement sanguin, pour les prélèvements de base et final.

Toutes les interactions avec l'effet principal (main effect) sont testées pour la signification et les variables non significatives sont supprimées du modèle en utilisant la procédure pas à pas. Les identités des groupes d'étude sont restées masquées jusqu'à ce que toutes les analyses biochimiques et statistiques soient achevées. Les valeurs de $P < 0,05$ sont considérées comme statistiquement significatives. Les résultats sont présentés en moyenne \pm écart-types sauf indication contraire.

III. RESULTATS

1. PROFIL DE L'ETUDE

Au total 234 enfants ont été identifiés pour participer à l'étude. Parmi eux, 158 (64,1%) ont répondu à tous les critères d'éligibilité. La raison majeure de non inclusion à l'étude est la malnutrition (P(T) et/ou T(A) inférieur à -2 z-score) et/ou la présence d'anémie modérée ou sévère (hémoglobine < 80 g/L). Les enfants présentant un P(T) et/ou une T(A) < -3 z-score ou une anémie, ont été référés au pédiatre du dispensaire pour un traitement. Les parents de 21 enfants éligibles ont décidé de retirer leur consentement avant que les enfants ne soient enrôlés dans l'étude. Par conséquent 137 ont été assignés aux groupes de traitement. Comme indiqué dans le profil d'étude des participants (**Figure V-1**), 50, 40 et 47 enfants sont respectivement assignés au hasard dans les groupes ZnSuppl, ZnFort et Contrôle. Parmi eux, 34 (68%), 32 (80%) et 32 (68%) ont complété l'étude.

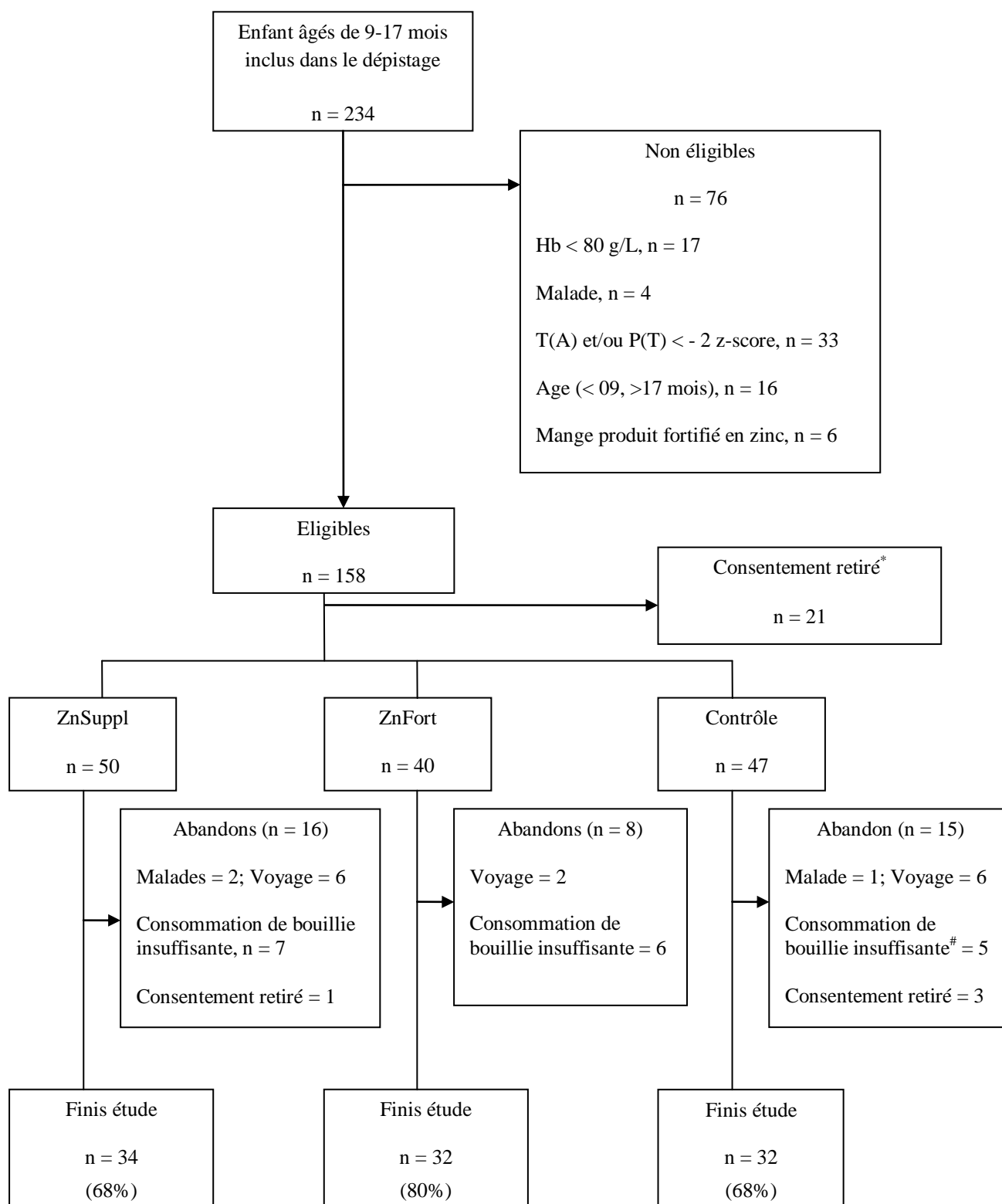


Figure V-1 : Profil de l'étude

T(A), longueur-pour-âge en z-score; *P(T)*, poids-pour-longueur en z-score; *Hb*, concentration de l'hémoglobine; **ZnSuppl**, groupe zinc supplémentation; **ZnFort**, groupe zinc fortification.*Consentement retiré avant randomisation. #Ces enfants ne mangent pas la quantité suffisante de bouillie (84g pour recevoir 6 mg de zinc) au centre durant trois jours consécutifs.

2. CARACTERISTIQUES DE BASE

Aucune différence significative n'est trouvée par groupe de traitement pour les caractéristiques initiales des participants à l'étude et leurs familles (**Tableau V-3**). Dans l'ensemble, 53% des enfants sont des filles et leur âge moyen \pm ET à l'enrôlement est de $13,3 \pm 2,6$ mois. Les concentrations de zinc plasmatique des enfants varient entre 22,8 et 88,8 $\mu\text{g/dL}$ et 56,9% des enfants présentent des concentrations $< 65 \mu\text{g/dL}$, qui est le seuil suggéré d'après les données de référence disponibles (Brown et al., 2004). La concentration moyenne d'hémoglobine de base est de $97,5 \pm 10,7 \text{ g/L}$ et 85,4% des enfants ont une anémie légère (hémoglobine $< 110 \text{ g/L}$). Environ 9% et 54% des enfants ont respectivement des concentrations plasmatiques initiales élevées en CRP ($\geq 5 \text{ mg/L}$) et en AGP ($\geq 1,0 \text{ g/L}$).

Tableau V-3 : Caractéristiques de base des participants par groupe d'étude¹

Variable	Groupe d'étude			<i>P</i> ²
	ZnSuppl (<i>n</i> = 50)	ZnFort (<i>n</i> = 40)	Contrôle (<i>n</i> = 47)	
Sexe male [<i>n</i> (%)]	25 (50,0)	19 (47,5)	21 (44,7)	0,87
Âge de l'enfant à l'enrôlement (mois)	$13,0 \pm 2,4^3$	$13,3 \pm 2,9$	$13,4 \pm 2,4$	0,71
Enfants actuellement allaités [<i>n</i> (%)]	46 (92,0)	36 (90,0)	46 (97,9)	0,30
Poids (kg)	$9,1 \pm 1,1$	$8,9 \pm 0,9$	$9,1 \pm 1,1$	0,62
Longueur (cm)	$74,7 \pm 3,5$	$74,8 \pm 3,6$	$75,3 \pm 3,3$	0,64
Poids-pour-âge <i>z</i> -score	$-0,36 \pm 0,8$	$-0,57 \pm 0,7$	$-0,43 \pm 0,9$	0,53
Longueur-pour-âge <i>z</i> -score	$-0,47 \pm 0,8$	$-0,51 \pm 0,9$	$-0,41 \pm 0,9$	0,83
Poids-pour-longueur <i>z</i> -score	$-0,19 \pm 0,9$	$-0,43 \pm 0,7$	$-0,33 \pm 0,9$	0,41
Statut biochimique des enfants				
Hémoglobine (g/L)	98 ± 11	97 ± 11	96 ± 10	0,49
Protéine C-réactive élevée, $\geq 5 \text{ mg/L}$ [<i>n</i> (%)]	5 (10,9)	2 (5,1)	5 (11,6)	-
α -1- glycoprotéine, $\geq 1,0 \text{ g/L}$ [<i>n</i> (%)]	26 (56,5)	21 (55,3)	21 (48,8)	0,74

¹ ZnSuppl, zinc supplementation; ZnFort, zinc fortification.

² Moyennes des groupes comparées par ANOVA ou test χ^2 de Pearson pour les proportions.

³ Moyenne \pm ET (Toutes ces valeurs).

3. CONSOMMATION DES SUPPLEMENTS

Un total de 100 g (poids humide) de bouillie est servi chaque jour, ce qui est équivalent à 30 g d'aliment de complément sec. Chaque enfant doit consommer ≥ 84 g de bouillie (pour recevoir 6 mg de zinc). La moyenne globale de bouillie consommée est de $91,2 \pm 5,2$ g. Les enfants des groupes ZnSuppl, ZnFort et contrôle ont consommé respectivement une moyenne de $92,1 \pm 2,6$; $91,2 \pm 4,8$ et $90,4 \pm 7,3$ g, ($P = 0,42$). Vingt-neuf pour cent des enfants ont reçu une portion additionnelle des aliments de l'étude pour la consommation à domicile au moins un jour durant la période d'étude. Pour Quatre-vingt-huit pour cent des enfants ayant consommé une portion de bouillie à la maison, les mères ont rapporté que la totalité était consommée. Chaque jour les enfants ont reçu 5 ml de supplément vitaminique liquide administré par le personnel de l'étude.

4. FACTEURS ASSOCIES A LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE ZINC INITIALE

Nous avons analysé les facteurs possibles associés à la concentration plasmatique en zinc de base des enfants. L'intervalle entre l'heure du dernier repas et l'heure du prélèvement sanguin (moyenne globale = $107,4 \pm 17,9$ min) est positivement associé à la concentration plasmatique de zinc ($P = 0,002$) mais il n'y a pas de différence par rapport à l'intervalle de temps par groupe ($P = 0,69$). Les concentrations de zinc plasmatique sont plus faibles dans les échantillons avec des concentrations d'AGP élevées (≥ 1 g/L) que dans les échantillons avec des concentrations d'AGP faibles ($60,3 \pm 11,1$ vs. $65,9 \pm 8,6$ $\mu\text{g/dL}$, $P = 0,008$). La moyenne de la concentration de zinc plasmatique ne diffère pas significativement entre les enfants avec ou sans CRP élevée ≥ 5 mg/L ($P = 0,18$). Ces trois variables sont incluses comme covariables dans les analyses statistiques.

5. CONCENTRATION PLASMATIQUE DE ZINC POST INTERVENTION

La variation de la concentration plasmatique en zinc après ajustement des concentrations élevées de CRP et AGP et l'intervalle de temps entre le dernier repas et le prélèvement sanguin est négativement corrélée à la valeur initiale de zinc dans tous les groupes ($P = 0,005$, $P = 0,025$ et $P = 0,035$ respectivement pour les groupes contrôle, ZnFort et ZnSuppl ; **Figure V-2**), probablement en raison de la régression vers la moyenne.

Après la période d'intervention de 15 jours, la moyenne finale de la concentration de zinc plasmatique est significativement plus élevée dans le groupe de ZnSuppl que dans les groupes ZnFort et contrôle ($P = 0,002$; **Tableau V-4**). La moyenne de la variation de la concentration de zinc plasmatique est significativement plus élevée dans le groupe de ZnSuppl que dans les autres groupes ($P = 0,009$). La moyenne finale des concentrations de zinc plasmatique dans les groupes ZnFort et contrôle ne diffèrent pas significativement de leurs valeurs respectives de base. Aucune différence significative des concentrations plasmatiques de zinc n'est notée entre les groupes ZnFort et contrôle.

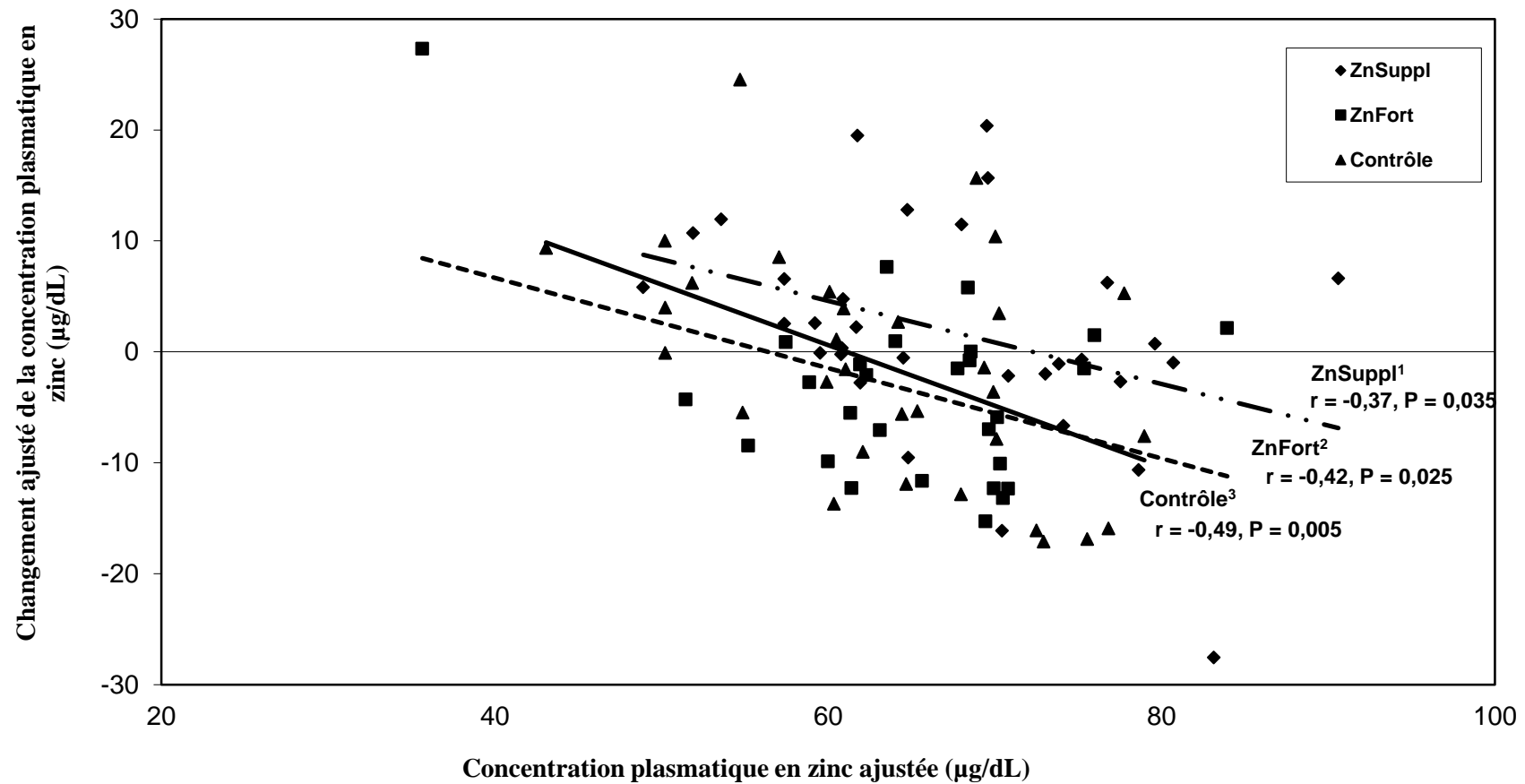


Figure V-2 : Variation de la concentration plasmatique de zinc du début au jour 15, réajusté à la concentration de zinc plasmatique de base

Le niveau de variation de la concentration de zinc plasmatique est indiqué après ajustement par la protéine C-réactive, l' α -1- acide glycoprotéine élevés et le temps écoulé depuis le dernier repas. Les modèles de régression sont significatifs dans les groupes contrôle ($n = 32, P = 0,005$), zinc fortification (ZnFort, $n = 29, P = 0,025$) et zinc supplémentation (ZnSuppl, $n = 33, P = 0,035$).

Tableau V-4 : Moyennes initiale et finale de la concentration de zinc plasmatique ($\mu\text{g/dL}$) et variation par rapport à la base par groupe de traitement¹.

Concentration de zinc plasmatique ($\mu\text{g/dL}$)	Non-corrigée ²				Corrigée ³			
	ZnSuppl (n = 34)	ZnFort (n = 32)	Contrôle (n = 32)	<i>P</i> ⁴	ZnSuppl (n = 33)	ZnFort (n = 29)	Contrôle (n = 32)	<i>P</i> ⁴
Initiale	65,3 \pm 10,5	61,1 \pm 11,3	61,2 \pm 9,5	0,18	67,5 \pm 2,0	64,7 \pm 2,3	63,8 \pm 2,1	0,28
Finale	68,5 \pm 11,4	60,4 \pm 9,9	61,7 \pm 10,0	0,004	70,1 \pm 1,8	62,2 \pm 2,2	63,3 \pm 1,9	0,002
Variation	3,2 \pm 10,6	-0,7 \pm 8,9	0,5 \pm 10,9	0,28	4,7 \pm 1,6	-1,8 \pm 1,7	-1,0 \pm 1,6	0,009
<i>P-value</i> ⁵	0,068	0,68	0,76		0,004	0,29	0,51	

¹ ZnSuppl, zinc supplementation ; ZnFort, zinc fortification.

² Valeurs en moyennes \pm ET. Moyennes des groupes comparées par ANOVA.

³ Valeurs en moyennes \pm SE. Moyennes des groupes comparées par ANCOVA (Général Linéaire Modèle Univarié) avec un ajustement par la concentration de zinc plasmatique initiale, protéine C-réactive, α -1-glycoprotéine élevés et temps écoulé depuis le dernier repas.

⁴ Pour les différences intergroupes.

⁵ Pour les différences intragroupes.

IV. DISCUSSION

Les résultats de cette étude indiquent que la concentration de zinc plasmatique augmente de manière significative chez les enfants qui reçoivent 6 mg de Zn additionnel sous la forme d'un supplément de zinc liquide pour seulement 2 semaines, mais non chez ceux qui reçoivent environ la même quantité de zinc supplémentaire à partir d'un aliment de complément fortifié en zinc. Ces résultats sont similaires à ceux reportés dans une étude précédente dans laquelle les enfants avaient reçu 3 mg de zinc supplémentaire par jour pendant 6 mois (Brown et al., 2007). Même si les enfants de la présente étude ont reçu deux fois la quantité de zinc supplémentaire, mais pour une courte durée, le résultat final est similaire. L'étude est réalisée dans un dispensaire situé dans un quartier à faible revenu, Reubeuss (quartier périphérique de Dakar, Sénégal), où les risques d'une carence en zinc et d'infections sont élevés. En effet Cinquante-sept pour cent (57%) des enfants ont des concentrations de zinc plasmatiques basses c'est-à-dire inférieur à $< 65 \mu\text{g/dL}$, qui est le seuil suggéré par le International Zinc Nutrition Consultatif Group (IZiNCG) (Brown et al., 2004), de même la prévalence de l'inflammation/infection aiguë est élevée. Il est établi que l'infection et l'inflammation influencent négativement les valeurs de zinc plasmatique et affectent l'ampleur de la variation en fonction de la gravité et le stade de l'infection (Wade et al., 1988 ; Duggan et al., 2005). Par conséquent, nous avons reporté la collecte des échantillons de sang lorsque les enfants avaient des symptômes de fièvre ou de diarrhée pour réduire au minimum ces effets. Aussi un traitement antihelminthique a été fourni à tous les enfants à l'enrôlement. En outre, nous avons corrigé statistiquement les effets de l'inflammation/infection en incluant dans les analyses, les protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Nous avons également appliqué les procédures recommandées par IZiNCG (Brown et al., 2004, IZiNCG, 2007) pour éviter la contamination des échantillons sanguins durant la collecte et l'analyse des échantillons.

Nous nous sommes assurés de l'adhésion au protocole de l'étude en servant l'aliment de complément et le supplément liquide sous observation pendant les 15 jours d'étude. Seulement quand un enfant n'a pas consommé toute la nourriture qui était prévue lors des deux sessions journalières d'alimentation sous surveillance, nous remettons à l'accompagnante une portion supplémentaire à donner à l'enfant à la maison plus tard dans la journée. Ce fut le cas sur seulement 4,3% des journées d'études et a concerné qu'une petite proportion du total d'aliments à consommer ces jours-là. Chacune de ces mesures prises pour

assurer la conformité et éviter les facteurs de confusion, ainsi que la conception de l'essai clinique randomisée en double aveugle, renforce les conclusions de la présente étude.

Le résultat observé sur l'augmentation de la concentration de zinc plasmatique après la supplémentation en zinc est conforme aux résultats de nombreuses études d'intervention précédentes menées chez les enfants, même si la présente étude était d'une durée plus courte que la plupart d'entre elles (Hess et al., 2007 ; Wuehler et al., 2008 ; Brown et al., 2009 ; Lowe et al., 2009). Les résultats actuels sont également compatibles avec les résultats d'une publication sur l'effet de la supplémentation en zinc à court terme chez les hommes américains. En effet cette dernière a révélé une augmentation significative et rapide de la moyenne des concentrations de zinc plasmatique dans les 5 premiers jours de supplémentation (Wessells, 2010). *L'effect size* de 0,69 unités ET dans la présente étude est comparable à l'effet taille globale de 0,60 unités ET (IC à 95% : 0,44 - 0,77 unités ET) trouvé dans une méta-analyse de 22 études de supplémentation en zinc menées chez les enfants (Brown et al., 2009). Ces études avaient fourni des équivalents de doses quotidiennes de zinc variant de 2,9 à 21,4 mg de Zn/jour pendant des périodes de supplémentation allant de 2 semaines à 14 mois.

La concentration de zinc plasmatique n'a pas répondu à la consommation de la bouillie fortifiée en zinc. La plupart des essais précédents portant sur les aliments de complément fortifiés en zinc et de points de fortification (Point-of-Use fortification) réalisée chez les jeunes enfants n'ont également pas réussi à détecter un effet significatif sur la concentration de zinc sérique (Hess et Brown, 2009 ; Dewey et Adu-Afarwuah, 2008). Seules deux études (Kilic et al., 1998, Hambidge et al., 1979) ont rapporté un effet positif chez des enfants plus âgés de 2 à 11 ans. La raison de ces résultats contradictoires est incertaine, mais pourrait être liée aux différences d'âges des enfants, au choix des véhicules alimentaires (pain et céréales de petit déjeuner prêt à l'emploi), au statut en zinc sous-jacente des populations de l'étude ou à d'autres aspects particuliers de la conception de l'étude.

La différence observée dans la réponse du zinc plasmatique après une supplémentation en zinc et après une fortification en zinc peut être due à la faible efficacité de l'absorption du zinc qui se produit lorsque le zinc est fourni à partir d'un aliment. Elle peut résulter également du niveau de fortification qui a été utilisé, de la durée de l'intervention, de la forme chimique des

fortifiants de zinc ou de l'interférence de l'absorption du zinc avec d'autres micronutriments. Chacune de ces possibilités est revue dans les paragraphes suivants.

Les principaux facteurs qui affectent l'absorption du zinc sont les quantités de zinc et de myo-inositol phosphate (phytates) qui sont consommées dans un repas (Lönnerdal, 2000 ; López de Romaña et al., 2003). Dans la présente étude, la quantité de zinc supplémentaire fournie était presque la même pour les groupes ZnSuppl et ZnFort et le rapport molaire phytate:zinc était assez faible (environ 1,4) dans la bouillie fortifiée. Par conséquent, ces facteurs ne devraient pas avoir une grande influence sur l'absorption du zinc (Gibbs et al., 2011). Il est également possible que les phytates présentes dans les aliments consommés à la maison affectent l'absorption ou la rétention du zinc, car le régime sénégalais est essentiellement à base de céréales (Ndiaye, 2006). Cependant, les quantités d'aliments additionnels consommés étaient susceptibles d'être assez petites et les accompagnantes ont été priées d'attendre au moins 30 min avant d'offrir à l'enfant des aliments à domicile. Il semble donc peu probable que cela ait eu beaucoup d'effet sur l'absorption du zinc provenant des aliments de l'étude.

Comme suggéré plus haut, une autre explication possible pour la différence des réponses à une supplémentation et une fortification en zinc pourrait être les effets des composants alimentaires spécifiques sur le métabolisme post absorptif du zinc absorbé avec des aliments fortifiés. Il est possible, par exemple, que le zinc de l'aliment fortifié soit repris préférentiellement par des pools de zinc actif non métaboliques.

La présente étude a été conçue pour fournir autant de zinc pour la supplémentation que pour la fortification sans dépasser la dose tolérable (UL) de 7 mg de Zn/jour proposé par l'US Institute of Medicine pour ce groupe d'âge (IOM, 2006). Toutefois, il est possible que l'UL ait été fixé trop bas pour le zinc alimentaire, étant donné qu'aucun effet sur la concentration de zinc plasmatique n'a été observé et la concentration de 6 mg utilisée dans notre étude, reste inférieure aux valeurs de référence. Ainsi, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si des quantités encore plus élevées de zinc peuvent être fournies en toute sécurité dans les aliments de complément fortifiés et si les bio-marqueurs de l'apport en zinc (tel que la concentration plasmatique) chez les jeunes enfants répondront de manière efficace à la consommation de ces produits.

Le zinc pour la supplémentation a été fourni sous forme de sulfate de zinc et la fortification sous forme d'oxyde de zinc dans l'aliment de complément. Les deux composés sont généralement reconnus comme sûrs (GRAS : Generally Recognized As Safe; FDA, 2006). Le sulfate de zinc est plus couramment utilisé dans les suppléments liquides car il est soluble dans l'eau à pH neutre. L'oxyde de zinc est utilisé le plus souvent pour la fortification en zinc parce que c'est le composé GRAS le moins cher, bien que des préoccupations ont été soulevées sur sa biodisponibilité, car elle est insoluble à pH neutre (Brown et al., 2010). Malgré cette préoccupation théorique sur la solubilité du zinc, des études antérieures n'ont trouvé aucune différence dans l'absorption du zinc à partir de produits de blé fortifiés avec de l'oxyde de zinc ou de sulfate de zinc chez des écoliers indonésiens (Herman et al., 2002), chez des américains adultes (López de Romaña et al., 2003) et chez des femmes mexicaines (Hotz et al., 2005). Il semble donc que la forme chimique du fortifiant en zinc ne puisse expliquer la différence de réponse observée.

La co-fortification avec d'autres micronutriments pourrait aussi affecter l'absorption du zinc à partir de l'aliment fortifié en zinc. Dans la présente étude, la bouillie pour tous les groupes de traitement est fortifiée avec du fer sous forme de fumarate ferreux pour contenir 60 mg Fe/kg de matière sèche de la bouillie. Ainsi, il est donc possible que le fer contenu dans le produit puisse interférer avec la réponse de zinc plasmatique aux aliments fortifiés en zinc. Cependant, une étude menée par Fairweather-Tait et al. (Fairweather-Tait et al., 1995) pour évaluer l'absorption du zinc chez les enfants âgés de 9 à 11 mois nourris avec des aliments de complément fortifiés en fer, n'a trouvé aucun effet du fer sur l'absorption du zinc. De plus, certaines études portant sur des formules infantiles cofortifiées avec du fer et du zinc ont trouvé un effet positif sur la concentration de zinc sérique (Hess et Brown, 2009) suggérant ainsi que la présence de fer dans les aliments de complément n'est pas un facteur limitant de la réponse de zinc plasmatique dans cette présente étude.

Enfin, il n'est pas certain que l'absence de réponse de zinc plasmatique trouvée dans le groupe ZnFort est due à la période d'observation relativement courte de 15 jours, car d'autres études à plus long terme (entre 2 et 10 mois) portant sur des aliments de complément fortifiés en zinc n'ont trouvé aucun effet significatif sur la concentration plasmatique de zinc (López de Romaña et al., 2005 ; Lartey et al., 1999 ; Oelofse et al., 2003 ; Lutter et al., 2008). Cependant contrairement à cette présente étude, ces dernières ont été menées sans

l'observation directe de la consommation alimentaire. En effet les produits de ces études ont été donnés aux enfants à l'absence de l'équipe de recherche. Ainsi, des études à long terme avec une observation directe de la consommation quotidienne d'aliments fortifié en zinc sont nécessaires pour fournir des informations plus pertinentes sur la durée.

Une étude similaire à laquelle nous avons participé, a été effectuée chez des adultes sénégalais pour déterminer si la concentration plasmatique de zinc varie en réponse à la consommation d'aliments fortifiés en zinc ou de suppléments de zinc liquide chez les adultes (Aaron et al., 2011).

Nous avons mené une étude randomisée à double aveugle pendant quatre semaines chez 132 hommes sénégalais en bonne santé âgés d'au moins 18 ans. Les groupes de participants reçoivent par jour et entre les repas, un des quatre régimes suivants :

- a) 200g de pain de blé fortifié en fer et en acide folique et un supplément multivitaminé liquide sans zinc (groupe contrôle) ;
- b) le même pain fortifié et le même supplément liquide contenant 15 mg de zinc additionnel sous forme de zinc sulfate (groupe supplémenté en zinc) ;
- c) le même pain cofortifié avec 7,5 mg de zinc sous forme d'oxyde de zinc et le supplément multivitaminé liquide sans zinc (groupe fortification modérée) ;
- d) le même pain cofortifié avec 15 mg de zinc sous forme d'oxyde de zinc et le supplément multivitaminé liquide sans zinc (groupe fortification élevée).

Des échantillons de sang prélevés à jeun sont collectés à deux reprises au début, au 15^{ième} et au 29^{ième} jour de l'intervention. Il n'y a pas d'interaction significative entre le groupe et le jour d'étude ($P = 0,11$). Cependant, au 15e jour, la variation moyenne de la concentration plasmatique de zinc dans le groupe supplémenté en zinc est plus grande par rapport aux groupes placebo et de fortification ($0,72 \mu\text{mol/L}$ contre $-0,09$ et $0,03 \mu\text{mol/L}$, $p = 0,05$). Au 29^{ième} jour, il n'y a aucune différence significative entre les groupes. A tous les niveaux, le groupe supplémenté en zinc est le seul groupe où la concentration plasmatique de zinc a augmenté par rapport à celle du groupe témoin ($P = 0,006$). Ces résultats suggèrent que la concentration plasmatique de zinc ne peut pas être un indicateur suffisamment sensible pour évaluer des réponses à la fortification en zinc de courte durée (Aaron et al., 2011).

En conclusion, la moyenne de la concentration de zinc plasmatique a augmenté de façon significative chez les enfants ayant reçu du zinc sous la forme d'un supplément aqueux, mais non chez ceux qui ont reçu la même quantité de zinc supplémentaire dans un aliment de complément fortifié en zinc. Ainsi, nous n'avons pas pu confirmer l'utilité de la concentration de zinc plasmatique comme indicateur de la réponse à l'exposition à court terme à des aliments fortifiés en zinc chez les jeunes enfants. Il est possible que le statut en zinc des enfants ayant consommé les aliments de complément fortifiés en zinc, soit en fait amélioré, mais leur concentration de zinc plasmatique n'a pas pu refléter cette amélioration en raison de différences dans le métabolisme du zinc absorbé à partir des aliments fortifiés et des suppléments de zinc. Des études supplémentaires, à plus long terme sont nécessaires pour évaluer l'effet des aliments fortifiés en zinc sur le statut en zinc des jeunes enfants, basé sur des indicateurs fonctionnels liés au zinc (tels que la croissance et la morbidité). De même, il est opportun de mener des recherches pour déterminer les indicateurs biochimiques plus sensibles du statut en zinc et de la réponse aux interventions de zinc.

Ces deux études portant sur la réponse plasmatique du zinc chez les enfants âgés de 9 à 17 mois recevant de la bouillie fortifiée en zinc et chez les adultes recevant du pain fortifié en zinc ont fait l'objet de **deux publications** respectivement dans l'*American Journal of Clinical Nutrition* et dans le *Journal of Nutrition*.

Nafissatou Ba Lo, Grant J. Aaron, Sonja Y. Hess, Nicole Idohou Dossou, Amadou Tidiane Guiro, Salimata Wade, Kenneth H. Brown. Plasma zinc concentration responds to short-term zinc supplementation, but not zinc fortification, in young children in Senegal. **Am J Clin Nutr** 2011;93:1348-55. (Impact Factor 2011: 6.7)

Grant J. Aaron, **Nafissatou Ba Lo**, Sonja Y. Hess, Amadou T. Guiro, Salimata Wade, and Kenneth H. Brown. Plasma Zinc Concentration Increases within 2 Weeks in Healthy Senegalese Men Given Liquid Supplemental Zinc, but Not Zinc-Fortified Wheat Bread. **J. Nutr** 2011;141:1369-74. (Impact Factor 2012: 3.9)

CONCLUSION GENERALE

Le but de cette étude était d'évaluer le statut de base en zinc des enfants âgés de 12 à 59 mois au Sénégal, d'effectuer des tests sensoriels et d'acceptabilité sur un aliment de complément (bouillie) préparé à partir de farines de céréales locales fortifiées en zinc et de mesurer la réponse plasmatique du zinc chez les enfants sénégalais âgés de 9 à 17 mois recevant de la bouillie à base de céréales locales fortifiées en zinc.

Le statut en zinc des enfants a été évalué en utilisant la concentration plasmatique de zinc tel que recommandé par le Comité « International Zinc Nutrition Consultative Group » en prenant toutes les précautions d'usage pour garantir la validité de nos mesures. La détermination du statut en zinc a porté sur un échantillon de 1151 enfants d'âge moyen de $34,2 \pm 12,9$ mois avec des proportions de filles et de garçons respectives de 50,2% et 49,8%. Cette évaluation de la prévalence a montré qu'au Sénégal plus d'un enfant sur deux présente une carence en zinc lorsque les valeurs brutes de la zincémie (c'est à dire non corrigée par rapport aux facteurs de confusion) sont utilisées. L'analyse du statut infectieux révèle des taux d'infections élevés chez un tiers des enfants. Etant donné que le facteur le plus déterminant de la zincémie reste les infections associées qui diminuent significativement la concentration plasmatique de zinc, un ajustement de la zincémie a été apporté par la mesure de la concentration plasmatique des protéines de l'inflammation (Protéine C-Réactive, alpha 1 Acide Glycoprotéine) et l'application des facteurs d'ajustement proposés par Thurnam. Malgré cet ajustement par rapport aux infections, la prévalence de la carence en zinc demeure encore élevée (42,7%) et reste comparable chez les filles et les garçons et dans toutes les tranches d'âge indiquant ainsi que la carence en zinc touche de façon uniforme tous les enfants et constitue un problème de santé publique sévère chez les enfants âgés de 12-59 mois au Sénégal. La Carence en zinc semble affecter plus les enfants ruraux qu'urbain.

Au vu de ces résultats des stratégies d'intervention devront être mises en place pour permettre aux enfants sénégalais d'avoir un statut en zinc adéquat. Parmi les trois stratégies d'intervention, la fortification alimentaire est considérée comme ayant le meilleur rapport coût-efficacité parce que c'est une approche peu coûteuse qui peut fournir du zinc à une population sans changer leurs habitudes de consommation alimentaire. Au Sénégal, il existe déjà un dispositif de fortification de masse des aliments de base (farine et huile) à travers le COSFAM (Comité Sénégalais de Fortification des Aliments en Micronutriments) pour lutter contre les carences en fer et en vitamine A. L'intégration du zinc dans ces programmes d'intervention nécessite un préalable qui consiste à faire des tests sensoriels pour évaluer

l'acceptabilité de l'aliment fortifié par les consommateurs mais aussi à trouver un indicateur simple et fiable pour mesurer l'impact de l'intervention.

Ces deux considérations nous ont conduit à réaliser la deuxième partie de cette étude pour déterminer si la concentration en zinc du plasma change en réponse à la consommation additionnelle de zinc fourni sous forme d'aliments à base de céréales fortifiées en zinc destinés aux enfants sénégalais âgés de 9 à 17 mois. L'analyse sensorielle constitue une étape importante pour assurer l'acceptabilité et aussi la durabilité des programmes de fortification en zinc. Ainsi nous avons fortifié en zinc un aliment de complément (bouillie) fait à partir de farine de céréales locales et effectué des tests sensoriels de cet aliment chez 20 couples mères/accompagnantes d'enfants âgés de 12 à 17 mois habitant dans les zones environnantes de Reubeuss (quartier périphérique de Dakar). Deux bouillies différentes ont été testées : une avec du zinc (test) et l'autre sans zinc (témoin). La bouillie sans zinc a été fortifiée avec 60 mg de fer sous forme de fumarate ferreux par kilogramme de poids sec de l'aliment de complément (pour fournir 1,5 mg de fer par portion de 25 g de farine sèche) et celle avec le zinc a été fortifiée avec la même quantité de fumarate ferreux plus 240 mg de zinc sous forme d'oxyde de zinc par kilogramme de poids sec de l'aliment de complément (pour procurer aux enfants 6 mg de zinc par portion de 25 g de farine sèche). L'acceptabilité des bouillies fortifiées par les mères et les enfants a été déterminée en utilisant respectivement l'échelle hédonique de 7-points et le test triangle. L'évaluation de l'acceptabilité a montré que les propriétés sensorielles des aliments de complément à base de céréales fortifiées en zinc sont acceptables par les enfants et les mères/accompagnantes aux niveaux de fortification en zinc utilisés dans cette étude. De même les mères/accompagnantes ont hautement apprécié la bouillie lors des tests sur l'apparence, l'arôme, la texture et le degré global d'appréciation. Ces tests d'acceptabilité chez ces enfants indiquent que les aliments de fortification ciblés avec des compositions similaires à celle de l'aliment de notre étude devraient être acceptables par les consommateurs à des niveaux allant jusqu'à 240 mg de zinc par kilogramme de farine.

Nous avons utilisé le même aliment fortifié en zinc et bien accepté par les enfants et leurs mères/accompagnantes pour déterminer la réponse plasmatique du zinc suite à la supplémentation et à la consommation additionnelle de zinc fourni sous forme d'aliments à base de céréales fortifiés en zinc. La concentration plasmatique de zinc est un bon indicateur de la supplémentation en zinc, cependant son utilité pour les programmes de fortification reste incertaine. Ainsi, une étude clinique randomisée placebo-contrôle en double aveugle a été menée chez 137 enfants âgés de 9 à 17 mois habitant dans les environs du dispensaire Saint-

Martin de Reubeuss. Les enfants ont reçu pendant deux semaines l'un des trois régimes suivants : a) la bouillie de céréales fortifiée en zinc et une préparation liquide de vitamines entre les repas (groupe fortifié en zinc) ; b) la bouillie de céréales non fortifiée en zinc et la même préparation liquide de vitamines entre les repas (groupe contrôle) ; et c) la bouillie de céréales non fortifiée en zinc et la même préparation liquide de vitamines contenant 6 mg de zinc (groupe supplémenté en zinc). Après une période d'intervention de 15 jours, la moyenne de la concentration de zinc plasmatique a augmenté de façon significative chez les enfants ayant reçu du zinc sous la forme d'un supplément aqueux, mais non chez ceux qui ont reçu la même quantité de zinc supplémentaire dans un aliment de complément fortifié en zinc. Ainsi, nous n'avons pas pu confirmer l'utilité de la concentration de zinc plasmatique comme indicateur de la réponse à l'exposition à court terme, à des aliments fortifiés en zinc, chez les jeunes enfants. L'augmentation de la concentration de zinc plasmatique après la supplémentation en zinc est conforme aux résultats de nombreuses études d'intervention précédentes menées chez les enfants. Aussi la plupart des essais précédents portant sur les aliments de complément fortifiés en zinc réalisée chez les jeunes enfants n'ont également pas réussi à détecter un effet significatif sur la concentration de zinc sérique. Il est possible que le statut en zinc des enfants ayant consommé les aliments de complément fortifiés en zinc, se soit en fait amélioré, mais leur concentration de zinc plasmatique n'a pas pu refléter cette amélioration en raison de différences dans le métabolisme du zinc absorbé à partir des aliments fortifiés et des suppléments de zinc. Des études supplémentaires à plus long terme sont nécessaires pour évaluer l'impact des programmes de fortification en zinc basé sur des indicateurs fonctionnels tels que la croissance et la morbidité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aaron GJ, Ba Lo N, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. *J Food Science* 2011;76:S56-62S.

Aggarwal R, Sentz J, Miller MA. Role of zinc administration in prevention of childhood diarrhea and respiratory illnesses: A Meta-analysis. *Pediatrics* 2007;119:1120-30.

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;80:1276–82.

Allen L, Benoist B, Dary O, Hurrell R. Guidelines on Food Fortification with Micronutrients. World Health Organization, Food and Agricultural Organization at the United Nations, 2006.

Internet:<http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241594012/en/>.

(dernier accès Mars 2012).

Arsenault JE, Wuehler SE, Romana DL, Penny ME, Sempertegui F, Brown KH. The time of day and the interval since previous meal are associated with plasma zinc concentrations and affect estimated risk of zinc deficiency in young children in Peru and Ecuador. *Eur J Clin Nutr* 2010;1-7.

Arsenault JE, Yakes EA, Hossain MB, et al. The current high prevalence of dietary zinc inadequacy among children and children and women in rural Bangladesh could be substantially ameliorated by zinc biofortification of rice. *J Nutr* 2010;140:1683-90.

Berg JM, Shi Y. The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles of zinc. *Science* 1996;271:1081–1085.

Berger J, Ninh NX, Khan NC, Nhien NV, Lien DK, Trung NQ, Khoi HH. Efficacy of combined iron and zinc supplementation on micronutrient status and growth in Vietnamese infants. *Eur J Clin Nutr* 2006;60:443-54.

Berti C, Faber M, Smuts MC. Prevention and control of micronutrient deficiencies in developing countries: current perspectives. *Nutrition and Dietary Supplements* 2014;6:41-57.

Bhandari N, Bahl R, Taneja S, Strand T, Molbak K, Ulvik RJ, Sommerfelt H, Bhan MK. Effect of routine zinc supplementation on pneumonia in children aged 6 months to 3 years: Randomised controlled trial in an urban slum. *BMJ* 2002;324:1358.

Bhandari N, Bahl R, Taneja S, Strand T, Molbak K, Ulvik RJ, Sommerfelt H, Bhan MK. Substantial reduction in severe diarrheal morbidity by daily zinc supplementation in young north Indian children. *Pediatrics* 2002;109:86-92.

Bhutta ZA, Bird SM, Black RE et al. Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1516-22.

Bhutta ZA, Black RE, Brown KH et al. Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* 1999;135:689-97.

Black MM. Zinc Deficiency and Child Development. *Am J Clin Nutr* 1998;68:464S-69.

Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, et al. Maternal and Child Undernutrition Study Group. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 2008;371:243-60.

Bobat R, Coovadia H, Stephen C, Naidoo KL, McKerrow N, Black RE, Moss WJ. Safety and efficacy of zinc supplementation for children with HIV-1 infection in South Africa: A randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1862-7.

Bovell-Benjamin AC, Guinard JX. Novel Approaches and Application of Contemporary Sensory Evaluation Practices in Iron Fortification Programs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2003;43:379-400.

Bregitzer P, Raboy V. Effects of four independent low phytate mutations on barley agronomic performance. *Crop Sci* 2006;46:1318-22.

Brooks WA, Santosham M, Naheed A, Goswami D, Wahed MA, Diener-West M, Faruque AS, Black RE. Effect of weekly zinc supplements on incidence of pneumonia and diarrhoea in children younger than 2 years in an urban, low-income population in Bangladesh: Randomised controlled trial. *Lancet* 2005;366:999–1004.

Brown KH, Baker SK and the IZiNCG Steering Committee. Galvanizing action: Conclusions and next steps for mainstreaming zinc interventions in public health programs *Food Nutr Bull* 2009;30:179S-84S.

Brown KH, Hambidge KM, Ranum P, Tyler V, and the Zinc Fortification Working Group. Zinc fortification of cereal flours: current recommendations and research needs. *Food Nutr Bull* 2010;31:62S-74S.

Brown KH, López de Romaña D, Arsenault JE, Peerson JM, Penny ME. Comparison of the effects of zinc delivered in a fortified food or a liquid supplement on the growth, morbidity,

and plasma zinc concentrations of young Peruvian children. *Am J Clin Nutr* 2007;85:538-47.

Brown KH, Peerson JM, Allen LH. Effect of zinc supplementation on children's growth: a meta-analysis of intervention trials. *Bibl Nutr Dieta* 1998;54:76-83.

Brown KH, Peerson JM, Baker S, Hess SY. Preventive zinc supplementation among infants, pre-schoolers, and older pre-pubertal children. *Food Nutr Bull* 2009;30:12S-40S.

Brown KH, Peerson JM, Rivera J, Allen LH. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2002;75:1062-71.

Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, et al. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document No. 1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 2004;25:99S-203S.

Brown KH, Wuehler SE, Peerson JM. The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food Nutr Bull* 2001;22:S113-25.

Brown KH. Effect of infections on plasma zinc concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. *Am J Clin Nutr* 1998;68:425S– 9S.

Butrimovitz G P, Purdy WC. Zinc nutrition and growth in childhood population. *Am J Clin Nutr* 1978;31:1409-12.

Cardello AV, Schutz HG. Food appropriateness measures as an adjunct to consumer preference/acceptability evaluation. *Food Quality and Preference* 1996;7:239-49.

Castillo-Duran C, Garcia H, Venegas P, Torrealba I, Panteon E, Concha N, Perez P. Zinc supplementation increases growth velocity of male children and adolescents with short stature. *Acta Paediatr* 1994;83:833-7.

Castillo-Duran C, Rodriguez A, Venegas G, Alvarez P, Icaza G. Zinc supplementation and growth of infants born small for gestational age. *J Pediatr* 1995;127:206–11.

Caulfield LE, Black RE. Zinc deficiency. In: Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Murray CJL, eds. *Comparative quantification of health risks: Global and regional burden of disease attributable to select major risk factors*. Geneva: World Health Organization, 2004.

Caulfield LE, Zavaletta N, Shankar AH, Merialdi M. Potential contribution of maternal zinc supplementation during pregnancy to maternal and child survival. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(suppl):499S-508S.

Chesters JK. Biochemistry of zinc in cell division and tissue growth. In: Mills CR, ed. *Zinc in human biology*. New York: Springer-Verlag, 1989:109–18.

Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals. *J*

Biol Chem 2006;281:24085-89.

Cousins RJ. Regulation of zinc absorption: Role of intracellular ligands. *Am J Clin Nutr* 1979;32:339-345.

Cousins RJ. Zinc. In: Filer JL, Ziegler E, eds. *Present Knowledge in Nutrition*, 7th ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute Press, 1996:293-306.

Cragg RA, Phillips SR, Piper JM, Varma JS, Campbell FC, Mathers JC, Ford D. Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. *Gut* 2005;54:469-78.

Dardenne M, Wade S, Savino W, Nabarra B, Prasad AS, Bach JF. Thymulin and zinc deficiency. In: *Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease*. Alan R. Liss Ed, New York, 1988:329-36.

Dary O. Establishing safe and potentially efficacious fortification contents for folic acid and vitamin B12. *Food Nutr Bull* 2008;29:214S-24S.

Dary O. The importance and limitations of food fortification for the management of nutritional anemias. In: Kraemer K, Zimmermann MB, ed. *Nutritional anemia*. Basel, Switzerland: Sight and Life Press, 2007:315-36.

de Benoist B, Darnton-Hill I, Davidsson L, Fontaine O and Hotz C. Conclusions of the joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG interagency meeting on zinc status indicators. *Food Nutr Bull* 2007;28:480S-4S.

Dewey KG, Adu-Afarwuah S. Systematic review of the efficacy and effectiveness of complementary feeding interventions in developing countries. *Matern Child Nutr* 2008;1:24-85.

Dewey KG, Brown KH. Update on technical issues concerning complementary feeding of young children in developing countries and implications for intervention programs. *Food Nutr Bull* 2003;24:5-28.

Dibley MJ. Zinc. In: Bowman BA, Russell RM, eds. *Present Knowledge in Nutrition*, 8th ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute Press, 2001:329-43.

Dirren H, Barclay D, Ramos JG, Lozano R, Montalvo MM, Davila N, Mora JO. Zinc supplementation and child growth in Ecuador. *Adv Exp Med Biol* 1994;352:215-22.

Duggan C, MacLeod WB, Krebs N F et al. Plasma Zinc Concentrations Are Depressed during the Acute Phase Response in Children with *Falciparum* Malaria. *J Nutr* 2005;135:802-7.

Duque X, Flores-Hernández S, Flores-Huerta S, et al. Prevalence of anemia and deficiency

of iron, folic acid, and zinc in children younger than 2 years of age who use the health service provided by the Mexican Social Security Institute. *BMC Public Health* 2007;7:345.

EDS-IV. Enquête Démographique et de Santé au Sénégal, 2005. Calverton, Maryland, USA: Centre de Recherche pour le Développement Humain [Sénégal] et ORC Macro, 2006, 467p.

Eide DJ. Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochim Biophys Acta* 2006;1763:711-22.

English JL, Hambidge KM. Plasma and serum zinc concentrations effect of time between collection and separation. *Clin Chim Acta* 1988;175:211-16.

Executive Summary. Recommendations for Indicators of population zinc status. Report of WHO/UNICEF/IAEA/IZINCG Interagency Meeting on Zinc Status Indicators. *Food Nutr Bull* 2007;28:399S-400S.

Fairweather-Tait SJ, Wharf SG, Fox TE. Zinc absorption in infants fed iron-fortified weaning food. *Am J Clin Nutr* 1995;62:785-89.

Falchuk KH. Effects of acute disease and ACTH on serum zinc proteins. *N Engl J Med* 1977;296:1129-34.

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary reference intakes. The essential guide to nutrient requirements. Washington, DC: National Academy Press, 2006.

Fosmire GJ. Zinc Toxicity. *Am J Clin Nutr* 1990;51:225-89.

FRAT (Fortification Rapid Assessment Tool). Etude d'identification des aliments vecteurs susceptibles d'être enrichis a grande échelle en micronutriments au Sénégal. Initiative pour les Micronutriments, 2006, 63p.

Fredlund M, Isaksson M, Rossander-Hulthen L, Almgren A, Sandberga AS. Absorption of zinc and retention of calcium: Dose-dependent inhibition by phytate. *J Trace Elem Med Biol* 2006;20:49-57.

Gallagher DL. Statistical comparison of the triangle test and the two-of-five test for taste and odor evaluation. *Water Sci Technol* 2004;49:107-14.

Garg HK, Singhal KC, Arshad Z. A study of the effect of oral zinc supplementation during pregnancy on pregnancy outcome. *Indian J Physiol Pharmacol* 1993;37:276–84.

Gibbs M, Bailey KB, Lander RD, et al. The adequacy of micronutrient concentrations of manufactured complementary foods from low-income countries. *J Food Compos Anal* 2011;24:418-26.

Gibson R.S, Anderson V.P. A review of interventions based on dietary diversification or modification strategies with the potential to enhance intakes of total and absorbable zinc.

Food Nutr Bull 2009;30:108S–143S.

Gibson RS, Ferguson EL. An interactive 24-hour recall for assessing the adequacy of iron and zinc intakes in developing countries. International Life Sciences Institute, Washington DC 2008, 160P.

Gibson RS, Ferguson EL. Assessment of dietary zinc in a population. Am J Clin Nutr 1998;68:430S–4S.

Gibson RS, Hotz C, Temple L, Yeudall F, Mtitimuni B, Ferguson E. Dietary strategies to combat deficiencies of iron, zinc, and vitamin A in developing countries: Development, implementation, monitoring, and evaluation. Food Nutr Bull 2000;21:219-31.

Gibson RS, Yeudall F, Drost N. Dietary interventions to prevent zinc deficiency. Am J Clin Nutr 1998;68:484-7.

Gibson RS. Zinc nutrition in developing countries. Nutr Res Rev 1994;7:151-73.

Gibson RS. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. Proc Nutr Soc 2006;65:51–60.

Goldenberg RL, Tamura T, Neggers Y, Copper RL, Johnston KE, DuBard MB, Hauth JC. The effect of zinc supplementation on pregnancy outcome. JAMA 1995;274:463–8.

Graham NMH, Sorensen D, Odaka N, Brookmeyer R, Chan D, Willett WC, et al. Relationship of serum copper and zinc levels to HIV-1 seropositivity and progression to AIDS. J Acquir Immune Defic Syndr 1991;4:976–980.

Groupe Consultatif international sur le Zinc (IZiNCG). L'évaluation du risque de carence en zinc: les indicateurs recommandés. Résumé technique, 2007.

Groupe Consultatif international sur le Zinc (IZiNCG). L'évaluation du statut en zinc des populations à l'aide des concentrations de zinc dans le sérum. Résumé technique, 2007.

Groupe Consultatif international sur le Zinc (IZiNCG). La détermination du risque de carences en zinc : évaluation des apports alimentaires en zinc. Résumé technique, 2007

Guèye AL. Carences en fer, zinc et vitamine A chez les femmes rurales du département de Sédhiou, région de Kolda. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Thèse de Doctorat de 3^{ème} cycle en Nutrition et Alimentation 2006;007, 87P.

Gupta DN, Mondal SK, Ghosh S, Rajendran K, Sur D, Manna B. Impact of zinc supplementation on diarrhoeal morbidity in rural children of West Bengal, India. Acta Paediatr 2003;92:531–6.

Gupta DN, Rajendran K, Mondal SK, Ghosh S, Bhattacharya SK. Operational feasibility of implementing community-based zinc supplementation: Impact on childhood diarrheal

morbidity. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:306–10.

Hambidge KM, Chavez MN, Brown RM, Walravens PA. Zinc nutritional status of young middle-income children and effects of consuming zinc-fortified breakfast cereals. *Am J Clin Nutr* 1979;32:2532-9.

Hambidge KM, Goodall MJ, Stall C, Pritts J. Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1989;3:55–7.

Hambidge KM, Miller LV, Tran CD, Krebs NF. Measurements of zinc absorption: application and interpretation in research designed to improve human zinc nutrition. *Int J Vitam Nutr Res* 2005;75:385-93.

Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Sheng X, Krebs NF. Zinc bioavailability and homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2010;91:1478S-83S.

Herman S, Griffin IJ, Suwanti S, Ernawati F, Permaesih D, Pambudi D, Abrams SA. Cofortification of iron-fortified flour with zinc sulfate, but not zinc oxide, decreases iron absorption in Indonesian children. *Am J Clin Nutr* 2002;76:813-7.

Hess SY, Brown KH. Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food Nutr Bull* 2009;30:79S-107S.

Hess SY, King JC. Effects of maternal zinc supplementation on pregnancy and lactation outcomes. *Food Nutr Bull* 2009;30:60S-78S.

Hess SY, Lönnerdal B, Hotz C, Rivera JA, Brown KH. Recent advances in knowledge of zinc nutrition and human health. *Food Nutr Bull* 2009;30:5S-11S.

Hess SY, Peerson JM, King JC, Brown KH. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. *Food Nutr Bull* 2007;28:403S-29S.

Horton S. The Economics of Food Fortification. *J. Nutr* 2006;136:1068–71.

Hotz C, Brown KH. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 2004;25(suppl 2):99S-203.

Hotz C, DeHaene J, Woodhouse LR, Villalpando S, Rivera JA, King JC. Zinc absorption from zinc oxide, zinc sulfate, zinc oxide + EDTA, or sodium-zinc EDTA does not differ when added as fortificants to maize tortillas. *J Nutr* 2005;135:1102-5.

Hotz C, McClafferty B. From harvest to health: Challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status. *Food Nutr Bull* 2007;28:S271–9.

Hotz C, Peerson JM, Brown KH. Suggested lower cutoffs of serum zinc concentrations for assessing zinc status: reanalysis of the second National Health and Nutrition Examination Survey data (1976-1980). *Am J Clin Nutr* 2003;78:756-64.

Hotz C. The potential to improve zinc status through biofortification of staple food crops with zinc. *Food Nutr Bull* 2009;30:173S-78S.

International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG), Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, Gibson RS, King JC, Lönnerdal B et al. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document No.1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 2004;25:99S-203S.

Iyengar GV. Reevaluation of the trace element content in reference man. *Radiat Phys Chem* 1998;51:545-60.

Kapil U, Jain K. Magnitude of Zinc Deficiency amongst Under Five Children in India. *Clin Geriatr Med* 2010;26:89-8

Kilic I, Ozalp I, Coskun T, et al. The effect of zinc-supplemented bread consumption on school children with asymptomatic zinc deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:167-71.

King JC, Hambidge KM, Westcott JL, Kern DL, Marshall G. Daily variation in plasma zinc concentrations in women fed meals at six-hour intervals. *J Nutr* 1994;124:508-16.

King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* 2000;130:1360S-6S.

King JC. Determinants of maternal zinc status during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000;71:S1334-43.

Krebs NF, Hambidge KM, Westcott JE, et al. Exchangeable zinc pool size in infants is related to key variables of zinc homeostasis. *J Nutr* 2003;133:1498S-501S.

Krebs NF, Hambidge KM. Zinc metabolism and homeostasis: the application of tracer techniques to human zinc physiology. *Biometals* 2001;14:397-412.

Krebs NF, Miller LV, Naake VL, et al. The use of stable isotope techniques to assess zinc metabolism. *J Nutr Biochem* 1995;6:292-307.

Krebs NF. Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tract. *J Nutr* 2000;130:1374S-77S.

Kunert J, Meyners M. On the triangle test with replications. *Food Qual and Prefer* 1999;10(6):477-82.

Laboratoire de Nutrition, Comité Sénégalais pour la Fortification des Aliments en Micronutriments (COSFAM), Micronutrient initiative (MI). Version provisoire du Rapport de la situation de base du statut en vitamine A et en fer chez les enfants de 12 - 59 mois et chez les femmes en âge de procréer (15-49 ans) dans le cadre du programme de fortification

des aliments en micronutriments au Sénégal. 2011, 153p.

Lartey A, Manu A, Brown KH, Peerson JM, Dewey KG. A randomized, community-based trial of the effects of improved, centrally processed complementary foods on growth and micronutrient status of Ghanaian infants from 6 to 12 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1999;70:391-404.

Lawless HT, Heymann H. Sensory evaluation of food. Chapman and Hall, New York. 1998.

Lestienne I, Icard-Vernière C, Picq C, Trèche S. Effets du trempage de graines et de farines de céréales et de légumineuses sur leur teneur en phytates et leurs rapports molaires Phy/Fe et Phy/Zn. 2^{ème} Atelier international Voies alimentaires d'amélioration des situations nutritionnelles Ouagadougou, 23-28 / 11 / 2003.

Lind T, Lönnerdal B, Stenlund H, Gamayanti IL, Ismail D, Seswandhana R, Persson LA. A community-based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infants: Effects on growth and development. *Am J Clin Nutr* 2004;80:729-36.

Liuzzi JP, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters. *An Rev Nutr* 2004;24:151-72.

Long KZ, Montoya Y, Hertzmark E, Santos JI, Rosado JL. A double-blind, randomized, clinical trial of the effect of vitamin A and zinc supplementation on diarrheal disease and respiratory tract infections in children in Mexico City, Mexico. *Am J Clin Nutr* 2006;83:693-700.

Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr* 2000;130:1378S-83S.

Lopez de Romaña D, Brown KH, Guinard J-X. Sensory trial to assess the acceptability of zinc fortificants added to iron-fortified wheat products. *J Food Sci* 2002;67:461-65.

López de Romaña D, Lönnerdal B, Brown KH. Absorption of zinc from wheat products fortified with iron and either zinc sulfate or zinc oxide. *Am J Clin Nutr* 2003;78:279-83.

López de Romaña D, Salazar M, Hambidge KM, Penny ME, Peerson JM, Krebs N, Brown KH. Longitudinal measurements of zinc absorption by Peruvian children consuming wheat products fortified with iron only or iron and one of two levels of zinc. *Am J Clin Nutr* 2005;81:637-47.

Lowe NM, Fekete K, Decsi T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1S-12S.

Lowe NM, Woodhouse LR, Sutherland B, et al. Kinetic parameters and plasma zinc concentration correlate well with net loss and gain of zinc from men. *J Nutr* 2004;134:2178-81.

Lutter CK, Rodriguez A, Fuenmayor G, Avila L, Sempertegui F, Escobar J. Growth and

micronutrient status in children receiving a fortified complementary food. *J Nutr* 2008;138:379-88.

Maggini S, Wenzlaff S, Hornig D. Essential role of vitamin C and zinc in child immunity and health. *The Journal of International Medical Research* 2010;38:386-414.

McCall KA, Huang CC, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J. Nutr* 2000;130:1437S-46S.

McMahon RJ, Cousins RJ. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:4841-46.

Meiselman HL. Methodology and theory in human eating research. *Appetite* 1992;19(1):49-55.

Micronutrient Initiative (MI), Conséquences des carences en micronutriments en Afrique – Pourquoi nous devons agir, 2009.

Miller LV, Nancy F, Krebs, Hambidge KM. A mathematical model of zinc absorption in humans as a function of dietary zinc and phytate. *J Nutr* 2007;137:135-41.

Mocchegiani E, Veccia S, Ancarani F, Scalise G, Fabris N. Benefit of oral zinc supplementation as an adjunct to zidovudine (AZT) therapy against opportunistic infections in AIDS. *Intl J Immunopharm* 1995;17:719–727.

Müller O, Garenne M, Reitmaier P, Zweeden ABV, Kouyate B, Becher H. Effect of zinc supplementation on growth in West African children: a randomized double-blind placebo-controlled trial in rural Burkina Faso. *Int J Epidemiol* 2003;32:1098-02.

Ndiaye S, Ayad M. Enquête démographique et de santé au Sénégal (Health and demographic survey in Senegal) 2005. Calverton, Maryland, USA. Centre de Recherche pour le Développement Humain (Research Center for Human Development) [Senegal] and ORC Macro Inc, 2006:188-91.

Ninh NX, Thissen JP, Collette L, Gerard G, Khoi HH, Ketelslegers JM. Zinc supplementation increases growth and circulating insulin-like growth factor I (IGF-I) in growth-retarded Vietnamese children. *Am J Clin Nutr* 1996;63:514–9.

O'Dell BL, Newberne PM, Savage JE. Significance of dietary zinc for the growing chicken. *J Nutr* 1958;65:503-18.

Oelofse A, Van Raaij JM, Benade AJ, Dhansay MA, Tolboom JJ, Hautvast JG. The effect of a micronutrient fortified complementary food on micronutrient status, growth and development of 6- to 12-month-old disadvantaged urban South African infants. *Int J Food Sci Nutr* 2003;54:399-407.

- Onyemaobi GA, Onimawo IA.** Zinc Status of Under-Five Children in Rural and Urban Imo State, Nigeria. *J Basic Appl Sci Res* 2011;1:451-55
- Osendarp SJ, Santosham M, Black RE, Wahed MA, van Raaij JM, Fuchs GJ.** Effect of zinc supplementation between 1 and 6 mo of life on growth and morbidity of Bangladeshi infants in urban slums. *Am J Clin Nutr* 2002;76:1401–8.
- Osendarp SJ, West CE, Black RE.** The need for maternal zinc supplementation in developing countries: an unresolved issue. *J Nutr* 2003;133:817S–27S.
- Penny ME, Marin RM, Duran A, Peerson JM, Lanata CF, Lönnnerdal B, Black RE, Brown KH.** Randomized controlled trial of the effect of daily supplementation with zinc or multiple micronutrients on the morbidity, growth, and micronutrient status of young Peruvian children. *Am J Clin Nutr* 2004;79:457–65.
- Peryam DR, Pilgrim FJ.** Hedonic scale of measuring food preferences. *Food Technology* 1957;11(9):9-14.
- Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M.** Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism, and geophagia. *Am J Med* 1961;31:532-46.
- Prasad AS, Miale A, Farid Z, Schulert A, Sandstead HH.** Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hypogonadism, and dwarfism. *J Lab Clin Med* 1963;61:537-49.
- Prasad AS.** Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am J Clin Nutr* 1991;53:403-12.
- Prasad AS.** Impact of the Discovery of Human Zinc Deficiency on Health. *Journal of the American College of Nutrition* 2009;28(3):257–65.
- Programme Alimentaire Mondiale (PAM).** Analyse Globale de la Vulnérabilité, de la Sécurité Alimentaire et de la Nutrition (AGVSAN) au Sénégal. 2010.
- Raulin J.** Chemical studies on vegetation. *Ann Sci Nat* 1869; XI: 93-99.
- Rosado JL, Lopez P, Munoz E, Martinez H, Allen LH.** Zinc supplementation reduced morbidity, but neither zinc nor iron supplementation affected growth or body composition of Mexican preschoolers. *Am J Clin Nutr* 1997;65:13–9.
- Ruel MT, Rivera JA, Santizo MC, Lonnerdal B, Brown KH.** Impact of zinc supplementation on morbidity from diarrhea and respiratory infections among rural Guatemalan children. *Pediatrics* 1997;99:808–13.
- Salgueiro MJ, Zubillaga M, Lysionek A, Caro R, Weill R, Boccio J.** Fortification strategies to combat zinc and iron deficiency. *Nutr Rev* 2002;60:52-8.

- Sandström B**, Almgren A, Kivistö B, Cederblad A. Effect of protein level and protein source on zinc absorption in humans. *J Nutr* 1989;119:48-53.
- Sandström B**, Sandberg AS. Inhibitory effects of isolated inositol phosphates on zinc absorption in humans. *J Trace Elem Elec Health Dis* 1992;6:99-103.
- Sandström B**. Bioavailability of zinc. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:17S-19S.
- Sayeg Porto MA**, Oliveira HP, Cunha AJ, Miranda G, Guimaraes MM, Oliveira WA, dos Santos DM. Linear growth and zinc supplementation in children with short stature. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13:1121-8.
- Sazawal S**, Black RE, Bhan MK, Jalla S, Sinha A, Bhandari N. Efficacy of zinc supplementation in reducing the incidence and prevalence of acute diarrhea—a community-based, double-blind, controlled trial. *Am J Clin Nutr* 1997;66:413-8.
- Sazawal S**, Black RE, Jalla S, Mazumdar S, Sinha A, Bhan MK. Zinc supplementation reduces the incidence of acute lower respiratory infections in infants and preschool children: A double-blind, controlled trial. *Pediatrics* 1998;102:1-5.
- SCHLEGEL P**. Facteurs de variation de la biodisponibilité du zinc, ajouté sous forme organique ou inorganique, chez deux espèces monogastriques en croissance (poulet et porcelet). Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech) de Paris, Thèse de Doctorat en Nutrition Animale, 2010 ; 177P.
- Accessible au** : http://pastel.archives-ouvertes.fr/docs/00/53/64/07/PDF/These_Schlegel.pdf
- Shankar AH**, and Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am J Clin Nutr* 1998;68:447S-63.
- Sheng XY**, Hambidge KM, West CE, et al. Major variables of zinc homeostasis in Chinese toddlers. *Am J Clin Nutr* 2006;84:389-394.
- Shrimpton R**. Zinc deficiency. In: Semba RD, Bloem MW, eds. *Nutrition and health in developing countries*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc, 2001:307-26.
- Solomons NW**. Dietary sources of zinc and factors affecting its bioavailability. *Food Nutr Bull* 2001;22:138-54.
- Sur D**, Gupta DN, Mondal SK, Ghosh S, Manna B, Rajendran K, Bhattacharya SK. Impact of zinc supplementation on diarrheal morbidity and growth pattern of low birth weight infants in Kolkata, India: A randomized, double-blind, placebo controlled, communitybased study. *Pediatrics* 2003;112:1327-32.
- Swanson CA**, King JC. Zinc and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1987;46:763-71.

Swinkels JWGM, Korengay ET, Verstegen MWA. Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. *Nutrition Research Reviews* 1994;7:129-49.

Tamura T, Goldenberg RL. Zinc nutriture and pregnancy outcome. *Nutr Res* 1996;16:139–81.

The Zinc Investigators Collaborative Group, Bhutta ZA, Black RE, et al. Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* 1999;135:689-97.

Thu BD, Schultink W, Dillon D, Gross R, Leswara ND, Khoi HH. Effect of daily and weekly micronutrient supplementation on micronutrient deficiencies and growth in young Vietnamese children. *Am J Clin Nutr* 1999;69:80–6.

Thurnham D I, McCabe GP, Northrop-Clewes CA, Nestel P. Effects of subclinical infection on plasma retinol concentrations and assessment of prevalence of vitamin A deficiency: meta-analysis. *Lancet* 2003;362:2052–58.

Thurnham DI, Mburu ASW, Mwaniki DL and Wagt A. Micronutrients in childhood and the influence of subclinical inflammation. *Proc Nutr Soc* 2005;64:502-09.

Todd WR, Elvehjem CA, Hart EB. Zinc in the nutrition of the rat. *Am J Physiol* 1934;107:146-56.

Tor A Strand, Ramesh K Adhikari, Ram K Chandyo, Pushpa R Sharma, Halvor Sommerfelt. Predictors of plasma zinc concentrations in children with acute diarrhea. *Am J Clin Nutr* 2004;79:451– 6.

Tucker HF, Salmon WD. Parakeratosis or zinc deficiency disease in pigs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955;88:613-6.

Umeta M, West CE, Haidar J, Deurenberg P, Hautvast JG. Zinc supplementation and stunted infants in Ethiopia: A randomised controlled trial. *Lancet* 2000;355:2021–6.

United Nations International Children’s Emergency Fund (UNICEF). Consensus statement on zinc nutrition and public health in developing countries. Report of a meeting held in Brisbane, Australia. New York: UNICEF, 1993.

US Food and Drug Administration (2010) Database of select committee on GRAS substances (SCOGS) reviews. Silver Spring, MD, USA: US Food and Drug Administration. Internet: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?rpt=scogsListing> (accessed 3 August 2010).

US Institute of Medicine (IOM). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc, Washington, DC: National Academy Press, 2001.

Vallee BL, Auld DS. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other

proteins. *Biochemistry* 1990;29:5647–5659.

Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev* 1993;73:79–118.

Van Nhien N, Khan NC, Ninh NX, et al. Micronutrient deficiencies and anemia among preschool children in rural Vietnam. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17:48-55.

Wade S, Parent G, Bleiberg-Daniel F, et al. Thymulin (Zn-FTS) activity in protein-energy malnutrition: new evidence for interaction between malnutrition and infection on thymic function. *Am J Clin Nutr* 1988;47:305-11.

Walravens PA, Chakar A, Mokni R, Denise J, Lemonnier D. Zinc supplements in breastfed infants. *Lancet* 1992;340:683–5.

Walravens PA, Hambidge KM, Koepfer DM. Zinc supplementation in infants with a nutritional pattern of failure to thrive: A double-blind, controlled study. *Pediatrics* 1989;83:532–8.

Walsh CT, Sandstead HH, Prasad AS, Newberne PM, Fraker PJ. Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. *Environ Health Perspect* 1994;102(2):5–46.

Wang K, Zhou B, Kuo YM, Zemansky J, Gitschier J. A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *Am J Hum Genet* 2002;71:66-73.

Wessells KR, Jorgensen J, Hess SY, Woodhouse L, Peerson JM, Brown KH. The effects of initiation and discontinuation of short term zinc supplementation on the magnitude and velocity of change in plasma zinc concentrations. *J Nutr*, 2010 doi: 10.3945/jn.110.122812.

Wieringa FT, Dijkhuizen MA, West CE, Northrop-Clewes CA and Muhilal. Estimation of the Effect of the Acute Phase Response on Indicators of Micronutrient Status in Indonesian Infants. *J.Nutr* 2002;132:3061–66.

Wijnhoven TM, de Onis M, Onyango AW, et al. Assessment of gross motor development in the WHO Multicentre Growth Reference Study. *Food Nutr Bull* 2004;25(1):37S-45S.

Winichagoon P, McKenzie JE, Chavasit V, et al. A multimicronutrient-fortified seasoning powder enhances the hemoglobin, zinc, and iodine status of primary school children in North East Thailand: A randomized controlled trial of efficacy. *J Nutr* 2006;136:1617–23.

World Health Organization (WHO). The treatment of diarrhea: a manual for physicians and other senior health workers. Geneva. 2004.

WorldFood Dietary Assessment System. Food and Agriculture Organization. Available from: http://www.fao.org/infoods/software_worldfood_en.stm [Accessed 2010 Apr 26]

Wuehler SE, Sempértegui F, Brown KH. Dose-response trial of prophylactic zinc supplements, with or without copper, in young Ecuadorian children at risk of zinc deficiency. *Am J Clin Nutr* 2008;87:723-33.

Xie LM, Chen X, Pan J. The effects of zinc supplementation to Chinese rural pregnant women and their pregnancy outcome. *Journal of Shanghai Second Medical University* 2001;13:199-24.

Yang YX, Han JH, Shao XP, He M, Bian LH, Wang Z, Wang GD, Men JH. Effect of micronutrient supplementation on the growth of preschool children in China. *Biomed Environ Sci* 2002;15:196-202.

ANNEXES

REPUBLIQUE DU SENEGAL
Un Peuple – Un But – Une Foi

LABORATOIRE DE NUTRITION DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR	COSFAM COMITE SENEGALAIS POUR LA FORTIFICATION DES ALIMENTS EN MICRONUTRIMENTS	MI MICRONUTRIENT INITIATIVE
--	---	--

ETUDE DE LA SITUATION DE BASE DU STATUT EN VITAMINE A ET EN FER CHEZ LES ENFANTS DE 12 - 59 MOIS ET CHEZ LES FEMMES EN ÂGE DE PROCRÉER (15 – 49 ANS) DANS LE CADRE DU PROGRAMME DE FORTIFICATION DES ALIMENTS EN MICRONUTRIMENTS AU SENEGAL

ENFANT

A : IDENTIFICATION	
A1: STRATE..... _ _ A2: N° DR..... _ _ A3 : N° MENAGE..... _ _ A4 : IDENTIFIANT MENAGE..... _ _ _ _ _ <div style="text-align: center; font-size: small;"> STRATE DR MENAGE </div> A5 : N° DE L'ENFANT..... _ _ A6 : IDENTIFIANT ENFANT _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ <div style="text-align: center; font-size: small;"> STRATE DR MENAGE ENFANT </div>	REGION : DEPARTEMENT : ARRONDISSEMENT : COMMUNE/CR : QUARTIER/VILLAGE : PRENOMS ET NOM DU CHEF DE MENAGE : PRENOMS ET NOM DE LA MERE..... PRENOMS ET NOM DE L'ENFANT.....
ENQUETEUR :DATE..... _ _ _ _ _ /2010	
RESULTAT DU REMPLISSAGE(*) _ _	
CONTROLEUR :DATE..... _ _ _ _ _ /2010	
OPERATEUR SAISIE :DATE..... _ _ _ _ _ /2010	

(*) **Codes Remplissage** : 1=COMPLET 2=REFUS 3=ABSENT/INDISPONIBLE 4=INCOMPLET.

OBSERVATIONS:.....

.....

.....

.....

Les informations contenues dans ce questionnaire sont strictement confidentielles et ne servent qu'à des fins statistiques



Université Cheikh Anta Diop de Dakar - Sénégal
Faculté des Sciences et Techniques
Département de Biologie Animale
Equipe de nutrition

REALISATION DE L'ETUDE DE LA SITUATION DE BASE DU STATUT EN FER ET EN VITAMINE A CHEZ LES ENFANTS DE 12 A 59 MOIS ET CHEZ LES FEMMES EN AGE DE PROCREER DANS LE CADRE DU PROGRAMME DE FORTIFICATION DES ALIMENTS EN MICRONUTRIMENT AU SENEGAL - PROJET COSFAM -

LETTRE DE CONSENTEMENT LIBRE ET ECLAIRE - FEMME

Madame,

Vous avez été sélectionnée pour participer a une enquête nationale d'évaluation du statut en fer et en vitamine A chez les enfants âges de 12-59 mois et chez les femmes en âge de procréer a travers le Sénégal.

Veillez lire (ou vous faire lire) attentivement la fiche de renseignements qui vous a été remise afin de prendre connaissance des modalités de l'enquête.

Il est important que vous preniez connaissance du déroulement de l'enquête, des questions qui vous seront posées, des mesures qui seront effectuées et des modalités de prise de sang qui seront faites. La fiche de renseignement est obligatoire pour votre information et nécessaire pour vous permettre de prendre votre décision de participer a cette étude de façon libre et éclairée.

Notre équipe reste à votre disposition pour vous donner tout complément d'information que vous jugeriez nécessaire.

Pour les enfants mineurs, signature obligatoire des parents ou du tuteur légal.

Je soussignée,

- Madame, Mademoiselle, Monsieur,.....
- Qualité (père, mère, tuteur légal).....
- Certifie avoir pris connaissance de la fiche d'information de l'enquête
- Qui sera réalisée le :.....
- Par l'équipe de nutrition de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et avoir reçu des réponses satisfaisantes à mes questions concernant cette étude.
- Ma décision de participer à l'étude matérialisée par ma signature ci-dessous est volontaire et gratuite.

Le.....

Signature précédée de la mention « lu et approuvé »

Je soussignée,

- Pr Salimata Wade,.....
- Responsable de l'Equipe de nutrition de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et chef de la mission d'étude de la situation de base du statut en fer et en vitamine A chez les enfants de 12 a 59 mois et chez les femmes en âge de procréer dans le cadre du programme de fortification des aliments en micronutriment au Sénégal - Projet ITA/Cosfam
- M'engage au respect des termes du consentement éclairé par la lettre d'information.

Le.....

Signature précédée de la mention « lu et approuvé »

ENFANT**- 1^{ERE} PARTIE - ENQUETE ALIMENTAIRE**

B. INFORMATIONS		
QUESTIONS		REPONSES (METTRE DANS LA CASE LE CODE CORRESPONDANT)
QUEL EST LE SEXE DE L'ENFANT ? 1= MASCULIN 2= FEMININ	B1	_
QUELLE EST LA DATE DE NAISSANCE DE L'ENFANT ?	B2	_ / _ / _ jj / mm / aaaa
QUEL EST SON AGE (mois) ?	B3	_ _ MOIS
LA DATE DE NAISSANCE EST 1= VERIFIEE SUR UN DOCUMENT OFFICIEL 2=CERTIFIEE PAR PLUSIEURS MEMBRE DU MENAGE	B4	_
LA MERE EST-ELLE ENQUETEE ? 1= OUI 2=NON	B5	_
SI OUI, DONNEZ L'IDENTIFIANT DE LA MERE ?	B6	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _
QUI EST LE REpondant ? 1=MERE 2=GRAND MERE 3=SŒUR/FRERE 4=GARDIENNE	B7	_

C. ALLAITEMENT		
QUESTIONS		REPONSES (METTRE DANS LA CASE LE CODE CORRESPONDANT)
L'ENFANT EST-IL TOUJOURS ALLAITE? 1=OUI 2=NON	C1	_
SI L'ENFANT N'EST PLUS ALLAITE, A -T-IL ETE ALLAITE ? 1=OUI 2=NON SI NON,OU NE SAIT PAS PASSEZ A section D 9= NE SAIT PAS	C2	_
SI OUI, DANS CE CAS, COMBIEN DE MOIS A-T-IL ETE ALLAITE ? Inscrire 99 si NE SAIT PAS	C3	_ _ _ MOIS
SI L'ENFANT EST SEVRE, A QUEL AGE (MOIS) A-T-IL ETE SEVRE? Inscrire 99 si NE SAIT PAS	C4	_ _ _ MOIS
A LA NAISSANCE, L'ENFANT A T-IL PRIS AUTRE CHOSE AVANT LE 1ER ALLAITEMENT (COMME DU MIEL, DU LAIT DE CHEVRE, UNE INFUSION...)? 1=OUI 2=NON 9=NE SAIT PAS	C5	_
COMBIEN DE TEMPS APRES LA NAISSANCE L'ENFANT A-T-IL ETE MIS AU SEIN POUR LA PREMIERE FOIS ? 1=MOINS DE 1 HEURE 2= ENTRE 1 ET 24 HEURES 3=UN JUR ET PLUS 9= NE SAIT PAS	C6	_

L'ENFANT A-T-IL ETE NOURRI AVEC LE COLOSTRUM A LA NAISSANCE ? 1=OUI 2=NON 9= NE SAIT PAS	C7	<input type="checkbox"/>
SI NON , POURQUOI ? 1=MAUVAIS LAIT 2=LAIT AMERE 3=DONNE DES MALADIES 4=NE FAVORISE PAS LA CROISSANCE DU BEBE 5=AUTRE (PRECISER.....) 9=NE SAIT PAS	C8	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

D. ALIMENTATION		
QUESTIONS		REponses (METTRE DANS LA CASE, LE CODE CORRESPONDANT)
L'ENFANT A-T-IL COMMENCE A MANGER DE LA BOUILLIE ? 1=OUI 2=NON SI NON, PASSEZ A D3	D1	<input type="checkbox"/>
SI OUI, A QUEL AGE EN MOIS A-T-IL COMMENCE A EN MANGER ? Inscrire "99" si NE SAIT PAS	D2	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> MOIS
L'ENFANT A-T-IL DEJA COMMENCE A MANGER LE PLAT FAMILIAL ? 1=OUI 2=NON SI NON, PASSEZ A D5	D3	<input type="checkbox"/>
SI OUI, A QUEL AGE EN MOIS A-T-IL COMMENCE A EN CONSOMMER ? (INSCRIRE "99" SI NE SAITPAS)	D4	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> MOIS
HIER COMBIEN DE FOIS LUI A-T-ON DONNE A MANGER ? (LE LAIT MATERNEL NE DOIT PAS ETRE PRIS EN CONSIDERATION)	D5	<input type="checkbox"/>
DONNEZ-VOUS A L'ENFANT DES FARINES INFANTILES COMMERCIALES ? 1=OUI 2 =NON SI NON, PASSEZ A LA SECTION E	D6	<input type="checkbox"/>
SI OUI, OU VOUS PROCUREZ VOUS LA FARINE INFANTILE QUE VOUS UTILISEZ ? 1=PHARMACIE 2=STRUCTURE DE SANTE OU COMMUNAUTAIRE 3=BOUTIQUE 4=SUPERETTE/SUPERMACHE 5=MARCHE 6=AUTRE (PRECISER.....) 9=NE SAIT PAS	D7	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
LA FARINE INFANTILE QUE VOUS LUI DONNEZ EST-ELLE ENRICHIE EN VITAMINES ET MINERAUX ? (VERIFIER SI BIEN INSCRIT « ENRICHI » SUR L'EMBALLAGE OU AU NIVEAU DES INGREDIENTS OU MATIERES PREMIERES DE L'EMBALLAGE D'ORIGINE) 1=OUI 2=NON SI NON OU NE SAIT PAS, PASSEZ A D10 9=NE SAIT PAS	D8	<input type="checkbox"/>
SI OUI, EN QUOI LA FARINE EST-ELLE ENRICHIE ? 1 A 3 REponses SONT POSSIBLES (VERIFIER SUR L'EMBALLAGE OU AU NIVEAU DES INGREDIENTS OU MATIERES PREMIERES DE L'EMBALLAGE D'ORIGINE) 1=FER 2=VITAMINE A 3=ZINC 4=NE SAIT PAS	D9	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
RAJOUTEZ-VOUS DE L'HUILE DE PALME AUX BOUILLIES QUE VOUS PREPAREZ A VOTRE ENFANT ? 1=OUI 2=NON	D10	<input type="checkbox"/>

E. FREQUENCE DE CONSOMMATION ALIMENTAIRE

A CETTE PERIODE DE L'ANNEE
A QUELLE FREQUENCE L'ENFANT A-T-IL CONSOMME « NOM DE L'ALIMENT »
(ALIMENTS TELS QUELS OU SE TROUVANT DANS LES REPAS, METS, SANDWICHS QUE VOUS CONSOMMEZ)

1=AU MOINS 1 FOIS PAR JOUR

2=1 A 3 FOIS PAR SEMAINE

3=1 FOIS PAR MOIS

4= MOINS DE 1 FOIS PAR MOIS

5=JAMAIS

(METTRE DANS LA CASE, LE CODE CORRESPONDANT)

CEREALES			AUTRES LEGUMES		
• MIL	E1	<input type="checkbox"/>	• GOMBO	E36	<input type="checkbox"/>
• SORGHO	E2	<input type="checkbox"/>	• NAVETS	E37	<input type="checkbox"/>
• FONIO	E3	<input type="checkbox"/>	• DIAXATOU	E38	<input type="checkbox"/>
• MAÏS BLANC	E4	<input type="checkbox"/>	• AUBERGINE	E39	<input type="checkbox"/>
• MAÏS JAUNE	E5	<input type="checkbox"/>	• CHOUX	E40	<input type="checkbox"/>
• BLE	E6	<input type="checkbox"/>	• OIGNONS	E41	<input type="checkbox"/>
• RIZ	E7	<input type="checkbox"/>	• POMME DE TERRE	E42	<input type="checkbox"/>
LEGUMINEUSES			• MANIOC	E43	<input type="checkbox"/>
• NIEBE	E8	<input type="checkbox"/>	• IGNAME	E44	<input type="checkbox"/>
• LENTILLES	E9	<input type="checkbox"/>	• DIABÉRé (TARO)	E45	<input type="checkbox"/>
• HARICOT BLANC	E10	<input type="checkbox"/>	FRUITS JAUNES ET ROUGES		
• POIS	E11	<input type="checkbox"/>	• MANGUE	E46	<input type="checkbox"/>
OLEAGINEUX ET NOIX			• PAPAYE	E47	<input type="checkbox"/>
• ARACHIDES	E12	<input type="checkbox"/>	• GOYAVE	E48	<input type="checkbox"/>
• SESAME	E13	<input type="checkbox"/>	• PASTEQUE	E49	<input type="checkbox"/>
• SOJA	E14	<input type="checkbox"/>	• MELON	E50	<input type="checkbox"/>
• NOIX DE CAJOU	E15	<input type="checkbox"/>	• NÉRÉ (OULE)	E51	<input type="checkbox"/>
LEGUMES RICHES EN VIT A			• JUJUBE (SIDEM)	E52	<input type="checkbox"/>
• CAROTTE	E16	<input type="checkbox"/>	• COCO RONE (FRUIT DU RONIER)	E53	<input type="checkbox"/>
• CITROUILLE	E17	<input type="checkbox"/>	• FRAISES	E54	<input type="checkbox"/>
• PATATE DOUCE CHAIR ORANGE	E18	<input type="checkbox"/>	FRUITS RICHES EN VITAMINE C		
• BETTERAVE	E19	<input type="checkbox"/>	• ORANGE	E55	<input type="checkbox"/>
• TOMATES FRAICHES	E20	<input type="checkbox"/>	• MANDARINE	E56	<input type="checkbox"/>
• HARICOTS VERTS	E21	<input type="checkbox"/>	• CLEMENTINE	E57	<input type="checkbox"/>
• POIVRONS	E22	<input type="checkbox"/>	• PAMPLEMOUSSE	E58	<input type="checkbox"/>
LEGUMES FEUILLES VERTES			• CITRON	E59	<input type="checkbox"/>
• MBUUM NEBEDAY	E23	<input type="checkbox"/>	• DITAX	E60	<input type="checkbox"/>
• MBUUM TIAKHAT	E24	<input type="checkbox"/>	• MADD	E61	<input type="checkbox"/>
• MBUUM NDOUR	E25	<input type="checkbox"/>	• TOL	E62	<input type="checkbox"/>
• FEUILLES DE NIEBE	E26	<input type="checkbox"/>	• TAMARIN	E63	<input type="checkbox"/>
• FEUILLES DE BAOBAB	E27	<input type="checkbox"/>	AUTRES FRUITS		
• FEUILLES DE BISSAP	E28	<input type="checkbox"/>	• BANANE	E64	<input type="checkbox"/>
• FEUILLES DE PATATE DOUCE	E29	<input type="checkbox"/>	• BUY	E65	<input type="checkbox"/>
• FEUILLES DE MANIOC	E30	<input type="checkbox"/>	• SAPOTILLE	E66	<input type="checkbox"/>
• FEUILLES D'IGNAME	E31	<input type="checkbox"/>	• DIMB	E67	<input type="checkbox"/>
• FEUILLES DE DIABERE (TARO)	E32	<input type="checkbox"/>	• AUTRES	E68	<input type="checkbox"/>
• PERSIL	E33	<input type="checkbox"/>	JUS OU CONCENTRES DE FRUITS	E69	<input type="checkbox"/>
• POIREAUX	E34	<input type="checkbox"/>	LAIT, PRODUITS LAITIERS	E70	<input type="checkbox"/>
• SALADE VERTE	E35	<input type="checkbox"/>	ŒUFS	E71	<input type="checkbox"/>
CONTINUER PAGE SUIVANTE					

VIANDES			HUILES/MATIERES GRASSES		
• BŒUF	E72	<input type="checkbox"/>	• HUILE D'ARACHIDE	E86	<input type="checkbox"/>
• MOUTON	E73	<input type="checkbox"/>	• HUILE VEGETALE	E87	<input type="checkbox"/>
• CHEVRE	E74	<input type="checkbox"/>	• HUILE SESAME	E88	<input type="checkbox"/>
• VOLAILLE	E75	<input type="checkbox"/>	• HUILE DE PALME	E89	<input type="checkbox"/>
• PORC	E76	<input type="checkbox"/>	• HUILE DE PALMISTE	E90	<input type="checkbox"/>
• VIANDE DE CHASSE	E77	<input type="checkbox"/>	• BEURRE DE KARITE	E91	<input type="checkbox"/>
FOIE/ROGNONS	E78	<input type="checkbox"/>	• BEURRE	E92	<input type="checkbox"/>
AUTRES ABATS	E79	<input type="checkbox"/>	• MARGARINE	E93	<input type="checkbox"/>
POISSONS/PRODUITS HALIEUTIQUES			• DIW NIOR	E94	<input type="checkbox"/>
• POISSON	E80	<input type="checkbox"/>	• DAX	E95	<input type="checkbox"/>
• GUEDJ	E81	<input type="checkbox"/>	• HUILE DE POISSON	E96	<input type="checkbox"/>
• KETIAKH	E82	<input type="checkbox"/>	THE	E97	<input type="checkbox"/>
• YET	E83	<input type="checkbox"/>	CONDIMENTS		
• HUITRES	E84	<input type="checkbox"/>	• PIMENT	E98	<input type="checkbox"/>
• CREVETTES ET CRUSTACES	E85	<input type="checkbox"/>	• KETCHUP	E99	<input type="checkbox"/>
			• CONCENTRE DE TOMATES	E100	<input type="checkbox"/>
			• NETETOU	E101	<input type="checkbox"/>
			• BOUILLON	E102	<input type="checkbox"/>
			AUTRES (Préciser.....)	E103	<input type="checkbox"/>

A LA FIN DE L'INTERVIEW :

- **REMERCIER LA FEMME**
- **LUI DIRE QU'ELLE DOIT VENIR LE LENDEMAIN AVEC L'ENFANT POUR LES PRELEVEMENTS**
- **LUI DEMANDER DE VENIR AVEC LE CARNET DE SANTE DE L'ENFANT LE LENDEMAIN**
- **METTRE LE BRACELET A L'ENFANT POUR LES PRELEVEMENTS APRES Y AVOIR MIS L'IDENTIFIANT DE L'ENFANT**

ENFANT**- 2^{EME} PARTIE - SANTE**

PRENOMS ET NOM DE L'ENFANT :

IDENTIFIANT DE L'ENFANT..... : |__| |__| |__| |__| |__| |__|
STRATE DR MENAGE ENFANT

MEDECIN/OPHTALMO :DATE.....|__| |__| |__| |__|/2010

RESULTAT DU REMPLISSAGE(*)|__|

CONTROLEUR :DATE.....|__| |__| |__| |__|/2010

OPERATEUR SAISIE :DATE.....|__| |__| |__| |__|/2010

(*) Codes Remplissage : 1=COMPLET

2=REFUS

3=ABSENT/INDISPONIBLE

4=INCOMPLET.

F. INTERROGATOIRE		
QUESTIONS		REponses (METTRE DANS LA CASE LE CODE CORRESPONDANT)
CET ENFANT A-T-IL ETE MALADE AU COURS DES DEUX DERNIERES SEMAINES PRECEDANT L'ENQUETE ? 1=OUI 2=NON SI NON OU NE SAIT PAS PASSEZ A F3 9=NE SAIT PAS	F1	_
SI OUI, DE QUOI A-T-IL SOUFFERT ? 1=OUI 2=NON	F2	
<ul style="list-style-type: none"> • FIEVRE 	F21	_
<ul style="list-style-type: none"> • DIARRHEE 	F22	_
<ul style="list-style-type: none"> • TOUX/DIFFICULTES RESPIRATOIRES 	F23	_
<ul style="list-style-type: none"> • MAUX DE VENTRE (SANS DIARRHEE) 	F24	_
<ul style="list-style-type: none"> • AUTRE (PRECISER.....) 	F25	_
EN GENERAL, QUAND L'ENFANT EST MALADE OU A LA DIARRHEE, LUI DONNEZ-VOUS MOINS, AUTANT OU PLUS QUE D'HABITUDE LA TETEE ? 1=ARRET DE L'ALLAITEMENT 2=MOINS QUE D'HABITUDE 3=AUTANT QUE D'HABITUDE 4=PLUS QUE D'HABITUDE 5=L'ENFANT N'EST PLUS ALLAITE	F3	_
L'ENFANT EST-IL VACCINE CONTRE LA ROUGEOLE ? (VERIFIER SUR LE CARNET DE SANTE) 1= (VERIFIE=OUI) 2=DECLARATION POSITIVE 3=NON 9=NE SAIT PAS	F4	_
L'ENFANT A-T-IL EU DES SAIGNEMENTS AU COURS DES QUINZE DERNIERS JOURS? 1=OUI 2=NON 9=NE SAIT PAS	F5	_
SI OUI, PRESENCE DE SANG DANS : 1=URINES 2=SELLES 3=AUTRE (PRECISER.....)	F6	_
AVEZ-VOUS REMARQUE DES VERS DANS LES SELLES DE L'ENFANT AU COURS DES QUINZE DERNIERS JOURS ? 1=OUI 2=NON	F7	_
L'ENFANT A-T-IL ETE UNE FOIS DEPARASITE ? 1= OUI 2=NON SI NON PASSEZ A F10 9=NE SAIT PAS	F8	_

<p>SI OUI, QUAND L'ENFANT A-T-IL ETE DEPARASITE POUR LA DERNIERE FOIS ? 1= MOINS DE 6 MOIS 2= ENTRE 6 MOIS ET UN AN 3= UN AN OU PLUS 4= NE SE SOUVIENT PAS</p>	F9	_
<p>L'ENFANT A-T-IL DES PROBLEMES DE VISION DANS LA JOURNEE ? 1=OUI 2=NON 3=NE SAIT PAS</p>	F10	_
<p>L'ENFANT A-T-IL DES PROBLEMES DE VISION LA NUIT (CREPUSCULE)? 1=OUI 2=NON 9=NE SAIT PAS</p>	F11	_
<p>L'ENFANT PREND-IL EN CE MOMENT DES SUPPLEMENTS DE FER (COMPRIMES OU SIROP) ? VERIFIER LA REPONSE EN DEMANDANT A VOIR CE QU'IL PREND 1=OUI 2=NON SI NON, PASSEZ A F14</p>	F12	_
<p>SI OUI, DEPUIS QUAND ? DONNER LA REPONSE EN JOURS, SI DEPUIS MOINS D'UN MOIS DONNEZ LA REPONSE EN MOIS, SI UN MOIS OU PLUS)</p>	F13	_ _ JOURS _ MOIS
<p>L'ENFANT A-T-IL REÇU UNE CAPSULE DE VITAMINE A AU COURS DES 6 DERNIERS MOIS PRECEDANT L'ENQUETE ? (MONTRER UNE CAPSULE) 1=OUI 2=NON 9=NE SAIT PAS</p>	F14	_
<p>L'ENFANT PREND-T-IL EN CE MOMENT DES SUPPLEMENTS DE VITAMINE A (COMPRIMES OU SIROP) ? VERIFIER LA REPONSE EN DEMANDANT A VOIR CE QU'IL PREND 1=OUI 2=NON</p>	F15	_

G. EXAMEN CLINIQUE		
QUESTIONS		REPONSES (METTRE DANS LA CASE LE CODE CORRESPONDANT)
POIDS DE NAISSANCE (GRAMMES) (SEULEMENT S'IL EST VERIFIE SUR LE CARNET DE SANTE SINON INSCRIRE 9999)	G1	_ _ _ g
ETAT GENERAL 1=EXCELLENT 2= BON 3= PASSABLE 4= MAUVAIS	G2	_
RECHERCHER SIGNES CLINIQUES DE CARENCE EN VITAMINE A 1=XEROSIS CONJONCTIVALE (X1A) 2=TACHE DE BITOT (X1B) 3=XEROSIS CORNEEN (X2) 4=ULCERATION CORNEENE (X3) 5= CICATRICE CORNEENNE 6= NON	G3	_
RECHERCHER LA PALEUR PALMAIRE 1=PAS DE PALEUR 2=PALEUR LEGERE 3=PALEUR SEVERE	G4	_
RECHERCHER LA PRESENCE D'OEDEMES BILATERAUX 1=PRESENT 2=ABSENT	G5	_
SI OEDEMES PRESENTS, QUEL EST LE DEGRE D'OEDEMES ? 1=LEGER : LES 2 PIEDS/CHEVILLES 2=MODERE : LES DEUX PIEDS, PLUS LA PARTIE INFERIEURE DES JAMBES, LES MAINS OU LA PARTIE INFERIEURE DES BRAS 3=SEVERE : OEDEMES GENERALISES INCLUANT LES DEUX PIEDS, LES MAINS, LES BRAS ET LE VISAGE	G6	_

H. Mesure du tour de bras		
TOUR DE BRAS	H ₁	_ _ , _ cm

CONCLUSION EXAMEN CLINIQUE
.....
.....
.....
.....

QUAND VOUS AVEZ TERMINE :

- REMERCIER L'ENFANT ET LA MERE OU L'ACCOMPAGNANT
- ENLEVER LE BRACELET DE L'ENFANT
- REMETTRE UNE FICHE DE RESULTAT DU TOUR DE BRAS ET DU DOSAGE L'HEMOGLOBINE
- **SI L'ENFANT A UNE MALNUTRITION AIGUE SEVERE OU UNE ANEMIE SEVERE, LE REFERER A LA STRUCTURE DE SANTE**

FICHE DE PRELEVEMENT SANGUIN

ENFANT

PRENOMS ET NOM DE L'ENFANT :

IDENTIFIANT..... : |__| |__| |__| |__|

STRATE
DR
N°MENAGE
N° ENFANT

Date |__|/|__|/|__| |__| |__| |__| |__| Infirmière : _____

JOUR
MOIS
ANNEE

Noter l'heure du dernier repas	__ : __ <small>HEURE MINUTE</small>
Vérifier que le tube est codé. Est-ce le code de la personne ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
Noter l'heure du prélèvement sanguin	__ : __ <small>HEURE MINUTE</small>
Entourer le tube avec du papier aluminium	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
Mettre le tube entouré dans la glacière	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
Est-ce que le prélèvement a été facile	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
Nombre de tubes prélevés	__
Verser un peu de sang dans un tube eppendorf pour l'hémoglobine	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
Poser les eppendorf dans le portoir et garder au frais	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON

• ENLEVER LE BRACHELET DE L'ENFANT

NOTES :

SIGNATURE DU CONTROLEUR :

FICHE DE CENTRIFUGATION ET ALIQUOTAGE

ENFANT

PRENOMS ET NOM DE L'ENFANT :

IDENTIFIANT..... : |__| |__| |__| |__| |__| |__|
STRATE DR N°MENAGE N° ENFANT

Date |__| |__| / |__| |__| / |__| |__| |__| |__|
JOUR MOIS ANNEE

Infirmière : _____

	Noter l'heure de la centrifugation	__ __ : __ __ HEURE MINUTE
	Noter l'heure du début aliquotage	__ __ : __ __ HEURE MINUTE
	Noter le nombre de tubes aliquotés	__ __
	Présence d'hémolyse?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
	Mettre les tubes dans le cryobox	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
	Ranger le cryobox dans la glacière	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
	Nom de la personne qui aliquote	_____

TAUX D'HEMOGLOBINE 1	i_1	__ __ , __ g/dl
TAUX D'HEMOGLOBINE 1	i_2	__ __ , __ g/dl

NOTES :

SIGNATURE DU CONTROLEUR :

ETUDE SENSORIELLE ENFANT

Questionnaire Alimentation – Préférence des enfants

Date Complete : |__|_|_| / |__|_|_| / |__|_|_|_|_|
 jour mois an

Heure d'arrivée au centre : |__|_|_| : |__|_|_|
 heure minute

Heure de Départ du centre : |__|_|_| : |__|_|_|
 heure minute

A. CONSOMMATION ALIMENTAIRE DES ENFANTS

Avant la visite du Centre :

A.1 Date et heure du dernier allaitement : |__|_|_| / |__|_|_| / |__|_|_|_|_|
 jour mois an

SENSENF- |__|_|_|_|
Jour d'Etude: |__|_|

No Chronomètre : __ _

A.2 Date et Heure du dernier repas : |__|_|_| / |__|_|_| / |__|_|_|_|_|
 jour mois an

|__|_|_| : |__|_|_|
heure minute

Durant les visites au centre (10 minutes d'allaitement)

A.3 Temps d'allaitement

Début |__|_|_| : |__|_|_|
 heure minute

Fin |__|_|_| : |__|_|_|
 heure minute

Ne tète pas |__|_| (S'il ne tète pas cocher la case)

Heure d'alimentation __ _ _ : __ _ _ heure minute
--

ETUDE SENSORIELLE ENFANT

Questionnaire Alimentation – Préférence des enfants

SENSENF- |__|__|__|
 Jour d'Etude: |__|

B. ETAT EMOTIONNEL DE L'ENFANT :

Évaluer l'état émotionnel de l'enfant : (Ecrire le numéro correspondant dans la case)	B.1 1 = somnolent 2 = complètement réveillé	B.2 1 = calme 2 = agité 3 = pleure
	__	__

C. CONSOMMATION DE BOUILLIE:

C.1 Code du produit céréalier : |__|__|__|

C.2 Poids (g) de la bouillie**

Avant consommation : |__|__| , |__| (g)

Après consommation : |__|__| , |__| (g)

C.3 Poids (g) du bavoir :

Avant consommation : |__|__| , |__| (g)

Après consommation : |__|__| , |__| (g)

C.4 Temps de consommation de la bouillie

Début |__|__| : |__|__|
heure minute

Fin |__|__| : |__|__|
heure minute

**Poids de la bouillie = poids de la farine + eau (N'oubliez pas en premier de tarer la balance avec la tasse en plastique)

ETUDE SENSORIELLE ENFANT

Questionnaire Alimentation – Préférence des enfants

SENSENF- |__|__|__|
 Jour d'Etude: |__|

D. PREFERENCES DES ENFANTS

D.1 Que pensez-vous du degré d'appréciation de votre enfant pour cette céréale ? (Encercler la réponse)

Globalement mon enfant n'apprécie pas			Moyen			Globalement mon enfant apprécie beaucoup
1	2	3	4	5	6	7

D.2 Sur la base de la réaction de votre enfant pour cette céréale, est-ce que voudriez- vous donner cette céréale à votre enfant ?

OUI NON

D.3 Sur la base de la réaction de votre enfant pour cette céréale, est-ce que voudriez- vous l'acheter pour lui ?

OUI NON

Enquêteur : _____

PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :

(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)

Questionnaire vérifier par : _____ Date _____

Commentaire : _____

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Questionnaire de la bouillie

SENSENF- | | | |

Jour d'Etude : | |

A.1. Avez-vous donné à votre enfant de la bouillie la semaine précédente :

A.1.a	Jogal Dox	O	N
A.1.b	Forza	O	N
A.1.c	Blédine	O	N
A.1.d	Gallia	O	N
A.1.e	Nutrimental – Nutrilac	O	N
A.1.f	Nutrimental – Farinha Láctea	O	N
A.1.g	Provital	O	N
A.1.h	Farinor	O	N
A.1.i	Nutrilon – Nutrifibras	O	N
A.1.k	Autre : _____	O	N

Enquêteur : _____

PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :

**(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES
REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)**

Questionnaire vérifié par : _____ Date _____

Commentaire : _____

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Test d'acceptabilité des Mères

SENSENF- |__|__|__|
 Jour d'Etude: |__|

Date Complete : |__|__| / |__|__| / |__|__|__|__|
jour mois an

A. CONSOMMATION DES BOUILLIES PAR LES MERES :

A.1 Code de la bouillie : |__|__|__|

B. PREFERENCES DES MERES

B.1 Globalement, que vous pensez de cette céréale ? (Encercler la réponse)

Globalement, je n'apprécie pas			Moyen			Globalement, j'apprécie beaucoup
1	2	3	4	5	6	7

B.2 Comment trouvez-vous l'apparence de cette céréale ? (Encercler la réponse)

Je n'aime pas son apparence			Moyen			J'aime beaucoup son apparence
1	2	3	4	5	6	7

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Test d'acceptabilité des Mères

SENSENF- |__|__|__|
 Jour d'Etude: |__|

B.3 Sélectionnez l'un (les) des attributs suivants que vous aimez ou n'aimez pas de l'apparence de la céréale (**Cochez la (les) case correspondante**)

		J'aime	Je n'aime pas	Pas de reponse
B.3a	Couleur	__	__	__
B.3b	Odeur	__	__	__
B.3c	Texture	__	__	__
B.3d	Autres (préciser) _____	__	__	__

B.4 Comment avez-vous trouvé la texture de cette céréale ? (**Encercler la réponse**)

Je n'aime pas sa texture			Moyen			J'aime beaucoup sa texture
1	2	3	4	5	6	7

B.5 Comment avez-vous trouvé la saveur de cette céréale ? (**Encercler la réponse**)

Je n'aime pas sa saveur			Moyen			J'aime beaucoup sa saveur
1	2	3	4	5	6	7

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Test d'acceptabilité des Mères

SENSENF- |__|__|__|

Jour d'Etude: |__|

B.6 Sur la base de votre appréciation pour cette céréale, voudriez-vous nourrir votre enfant avec ce produit céréalier ?

OUI NON

B.7 Sur la base de votre appréciation pour cette céréale, voudriez-vous acheter ce produit céréalier pour votre enfant?

OUI NON

Enquêteur : _____

PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :

(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)

Questionnaire vérifier par : _____ Date _____

Commentaire : _____

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Questionnaire de dépistage

No Sujet : |__|__|__|

Jour d'Etude : |__|

Interviewer _____

Interviewer Initials _____

Date Complete : |__|__| / |__|__| / |__|__|__|__|
jour mois an

A. CONSOMMATION DE ZINC :

A.1 Avez-vous donné à votre enfant du lait et/ou de la bouillie fortifié en zinc au cours de la semaine dernière (ou nourrissez-vous actuellement votre enfant avec du lait et/ou de la bouillie fortifié en zinc).

OUI NON

A.2 Avez-vous donné à votre enfant des suppléments en vitamines/minéraux au cours de la dernière semaine (où donnez-vous actuellement à votre enfant des suppléments en vitamines/minéraux).

OUI NON

B. MORBIDITE ET EVALUATION DE LA SANTE :

Votre enfant a-t-il souffert la semaine dernière, ou souffre-t-il présentement de l'un des symptômes ou maladies cités ci-dessous ?

		Symptôme /Maladie	Date d'apparition des Symptômes/ Maladies	Date de d'apparition des Symptômes/ Maladies	Durée	Sous surveillance d'un Docteur
B.1	Secrétion nasale	O N				O N
B.2	Toux	O N				O N
B.3	Grippe	O N				O N
B.4	Difficulté respiratoire	O N				O N
B.5	Diarrhée	O N			Durée :	O N
					#stools/24 h:	
B.6	Fièvre	O N				O N
B.7	Vomissement/ Nausée	O N				O N
B.8	Paludisme	O N				O N
B.9	Otite	O N				O N
B.10	Autres à préciser :	O N				O N

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Questionnaire de dépistage

No Sujet : |_|_|_|_|

Jour d'Etude : |_|

Interviewer _____

Interviewer Initials _____

B.11 Avez-vous donné à votre enfant des médicaments au cours de la dernière semaine (ou actuellement donnez-vous à votre enfant des médicaments) ?

	Nom du médicament	Indication	Dose (mg)	Fréquence	Début de la prise	Fin de la prise
B.11a						
B.11b						
B.11c						
B.11d						
B.11e						

C. ANTHROPOMETRIE :

Taille decimal 0.1 cm

C.1a	Mesure 1	_ _ _ : _ _
C.1b	Mesure 2	_ _ _ : _ _
C.1c	Mesure 3	_ _ _ : _ _

Poids (légèrement habillé) decimal 0.1 kg

C.2a	Mesure 1	_ _ _ : _ _
C.2b	Mesure 2	_ _ _ : _ _
C.2c	Mesure 3	_ _ _ : _ _

PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :

(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)

Questionnaire rempli par : _____ Date _____

Commentaire : _____

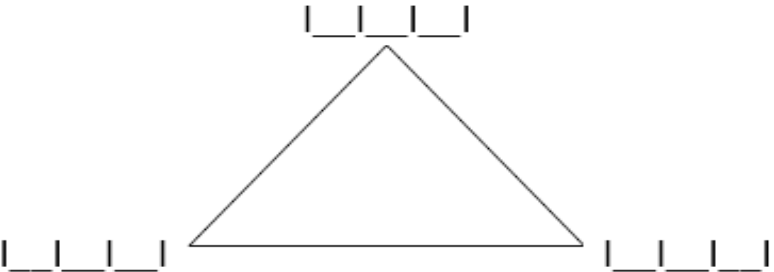
ETUDE SENSORIEL ENFANT

Test triangle des Mères

Date Complète : / /
jour mois an

SENSENF-

Jour d'Etude:

Q1A.	Identifier la bouillie différente des deux autres (Encercler la réponse).		
Q1B.	La différence est... (Cochez la case correspondante)	<input type="checkbox"/>	Grande différence et facile a détecter.
		<input type="checkbox"/>	Différence moyen et un peu difficile à détecter.
		<input type="checkbox"/>	Différence petite et difficile à détecter.
		<input type="checkbox"/>	Choisi par hasard.

Enquêteur : _____

PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :

(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)

Questionnaire vérifier par : _____ Date _____

Commentaire : _____

ETUDE SENSORIEL ENFANT

Questionnaire de morbidité

SENSENF- |__|__|__|

Date Complète: |__|__|__| / |__|__|__| / |__|__|__|__|__|
jour mois an

Jour d'Etude : |__|

A. MORBIDITE ET EVALUATION DE LA SANTE :

Votre enfant a-t-il souffert la semaine dernière, ou souffre-t-il présentement de l'un des symptômes ou maladies cités ci-dessous (**Cocher la bonne réponse**) ?

		Symptôme/ Maladie	Date d'apparition des Symptômes/ Maladies	Date de disparition des Symptômes/ Maladies	Durée	Sous surveillance d'un Docteur
A.1	Secrétion nasale / rhume	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.2	Toux	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.3	Grippe	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.4	Difficulté respiratoire	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.5	Diarrhée	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N			Durée :	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
					Fréquence /jour	
A.6	Fièvre	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.7	Vomissement/ Nausée	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.8	Paludisme	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.9	Otite	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N
A.10	Autres à préciser :	<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N				<input type="radio"/> O <input type="radio"/> N

A.11 Avez-vous donné à votre enfant des médicaments au cours de la dernière semaine (ou actuellement donnez-vous à votre enfant des médicaments) ? **OUI NON**

Si oui, énumérer les

	Nom du médicament	Indication	Dose (mg)	Fréquence	Début de la prise	Fin de la prise
A.11a						
A.11b						
A.11c						
A.11d						

Enquêteur : _____

PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :

(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)

Questionnaire vérifier par : _____

Date _____

SECTION 1 : ARRIVEE DE L'ENFANT		
Date _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ JOUR MOIS ANNEE		
QA01	Heure d'arrivée au centre	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ02	Allaitement au centre	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> SEVRE (aller à FQ07)
FQ03	Heure du début de l'allaitement	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ04	Heure de la fin de l'allaitement	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ05	Date et heure du dernier allaitement	_ _ / _ _ / _ _ _ _ _ JOUR MOIS ANNEE
		_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ06	Date et Heure du dernier repas	_ _ / _ _ / _ _ _ _ _ JOUR MOIS ANNEE
		_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ07	Est ce que votre enfant a pris des suppléments vitaminique ou minéral hier ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Si Oui, demander à la maman d'amener le(s) suppléments demain à St- Martin
Votre enfant a t-il consommé l'un (les) des produits suivants dans les 24 h passées ?		
FQ08	Nido (4.5 mg Zn/100g)	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
FQ09	Farinor (3 mg Zn/100g)	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
FQ10	Nutrilon- Nutrifibras (7.4mg Zn/100g)	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
FQ11	Autres (spécifier): _____	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Si la mère répond OUI à l'une des questions allant de FQ09 à FQ11, demander la d'arrêter de donner le produit cité à l'enfant et de revenir au centre dans 2 semaines si elle souhaite participer à l'étude.		
NOTES:		

SECTION 2: ALIMENTATION DE L'ENFANT CHILD FEEDING		
FQ12	CODE DU CEREAL	_ _ _
ETAT EMOTIONEL DE L'ENFANT (Observer l'enfant avant l'alimentation et noter le chiffre correspondant)		
FQ13	1= calme 2=agité 3= pleure	_
FQ14	1 = Eveillé 2 = Somnolent	_
PREMIERE CONSOMMATION DE LA BOUILLIE		
FQ15	Poids (g) initial de la céréale	_ _ _ . _ g
FQ16	Poids (g) de la céréale après alimentation	_ _ _ . _ g
FQ17	Poids (g) initial du bavoir	_ _ _ . _ g
FQ18	Poids (g) du bavoir après alimentation	_ _ _ . _ g
FQ19	Heure de début de consommation	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ20	Heure de la fin de consommation	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ21	L'enfant a-t-il fini sa bouillie ?	<input type="checkbox"/> OUI (Aller à FQ29) <input type="checkbox"/> NON (Préparer la seconde alimentation)
SECONDE CONSOMMATION DE LA BOUILLIE		
FQ23	Poids (g) initial de la céréale	_ _ _ . _ g
FQ24	Poids (g) de la céréale après alimentation	_ _ _ . _ g
FQ25	Poids (g) initial du bavoir	_ _ _ . _ g
FQ26	Poids (g) du bavoir après alimentation	_ _ _ . _ g
FQ27	Heure de début de consommation	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ28	Heure de la fin de consommation	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
SECTION 3 : SUPPLEMENT VITAMINIQUE		
FQ29	Heure de prise du supplément vitaminique	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
FQ30	Heure de Départ du centre	_ _ : _ _ HEURE MINUTE
Signature du superviseur :		

SECTION 1. MORBIDITE					
Date _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ JOUR MOIS ANNEE					
Est ce votre enfant a rendu visite à un médecin la semaine dernière?			<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	Lister le(s) raison(s) :	
Votre enfant a t-il souffert la semaine dernière (ou présentement) de l'un des symptômes ou maladies cités ci-dessous ?			Nombre de jour (1 – 7 jour)	Avez-vous donné des médicaments	Lister le (s) médicaments
BM01	Sécrétion nasale/Rhume	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM02	Toux	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM03	Grippe	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM04	Difficulté respiratoire	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM05	Fièvre	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM06	Vomissement/Nausée	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM07	Paludisme	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM08	Otite	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
BM09	Autres à préciser :	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	_ _	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON	
EVALUATION DU NOMBRE DE SELLE					
BM11	Durant la semaine dernière, combien de fois votre enfant est allé à selle par jour ?		_ _ (nombre de selle par jour)		
BM12	Est ce que c'est normal?		<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON		
BM10	Normalement combien de fois par jour votre enfant part à la selle?		_ _ (nombre de selle par jour)		
BM12	Votre enfant avait-il eu des selles liquides durant la semaine dernière ?		<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON		
BM13	Votre enfant avait-il du sang dans les selles durant la semaine dernière ?		<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON		
RESULTAT DE L'EXAMEN CLINIQUE CLINICAL EXAM RESULTS					
BM14	Température	_ _ . _ _ °C			

SECTION 2. OBSERVATIONS DE LA MERE ET DE L'ENQUETEUR		
<i>Poser à la mère les questions suivantes.</i>		
BM15	Est ce qu'aujourd'hui c'est un jour normal pour votre enfant?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
BM16	Que pensez-vous de l'état de santé de votre enfant aujourd'hui?	<input type="checkbox"/> Bon <input type="checkbox"/> Acceptable <input type="checkbox"/> Mauvais
BM17	Que pensez-vous de l'état émotionnel de votre enfant aujourd'hui?	<input type="checkbox"/> Bon <input type="checkbox"/> Acceptable <input type="checkbox"/> Mauvais
BM18	Pensez-vous que votre enfant mangera la bouillie aujourd'hui ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
<i>Observer l'état général de l'enfant et noter vos observations.</i>		
BM19	L'enfant est-il somnolent ou léthargique?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
BM20	L'enfant est-il agité ou irritable?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
NOTES:		
Signature du superviseur :		

SECTION 1 : PRELEVEMENT SANGUIN		
Date _ _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ <small>JOUR MOIS ANNEE</small>		
PS01	Date et heure du dernier allaitement	_ _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ <small>JOUR MOIS ANNEE</small> <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> _ _ _ : _ _ <small>HEURE MINUTE</small>
BC02	Date et Heure du dernier repas	_ _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ <small>JOUR MOIS ANNEE</small> <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> _ _ _ : _ _ <small>HEURE MINUTE</small>
BC01	Heure du prélèvement sanguin	_ _ _ : _ _ <small>HEURE MINUTE</small>
BC02	Heure de la centrifugation	_ _ _ : _ _ <small>HEURE MINUTE</small>
NOTES:		
Signature du superviseur :		

SECTION 1 : ELIGIBILITE				
SENSIBILISATION ET CONSENTEMENT				
MC01	Protocole de l'étude expliqué	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
MC02	Information Personnelle complète	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
MC03	Consentement signé	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
MC04	Consentement donné à la mère	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
DEPISTAGE ET EVALUATION SANITAIRE				
MC05	Anthropométrie complète	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
MC06	Questionnaire de dépistage complète	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
MC07	Questionnaire de morbidité complète	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
MC08	Hémoglobine complete	<input type="checkbox"/> OUI		
		<input type="checkbox"/> NON		
SECTION 2: ALIMENTATION				
JOUR 1	JOUR 2	JOUR 3	JOUR 4	JOUR 5
DATE:	DATE:	DATE:	DATE:	DATE:
_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _
<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE
<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE
<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT
JOUR 6	JOUR 7	JOUR 8	JOUR 9	JOUR 10
DATE:	DATE:	DATE:	DATE:	DATE:
_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _
<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE
<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE
<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT
JOUR 11	JOUR 12	JOUR 13	JOUR 14	JOUR 15
DATE:	DATE:	DATE:	DATE:	DATE:
_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _
<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE
<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE
<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT
JOUR 16	JOUR 17	JOUR 18	JOUR 19	JOUR 20
DATE:	DATE:	DATE:	DATE:	DATE:
_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _
<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE	<input type="checkbox"/> MORBIDITE
<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE	<input type="checkbox"/> BOUILLIE
<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT T	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT	<input type="checkbox"/> SUPPLEMENT

DOIT ETRE REMPLI PAR L'ENQUETEUR						
IP01	Nom de l'Enfant	<table border="0"> <tr> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Nom</td> <td>Prénom</td> </tr> </table>	_____	_____	Nom	Prénom
_____	_____					
Nom	Prénom					
IP02	Nom de la mère	<table border="0"> <tr> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Nom</td> <td>Prénom</td> </tr> </table>	_____	_____	Nom	Prénom
_____	_____					
Nom	Prénom					
IP03	Nom du père	<table border="0"> <tr> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Nom</td> <td>Prénom</td> </tr> </table>	_____	_____	Nom	Prénom
_____	_____					
Nom	Prénom					
IP04	Adresse	<table border="0"> <tr> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>_____</td> </tr> </table>	_____	_____		

IP05	Téléphone Mère	_____				
IP06	Téléphone Père	_____				
(VERIFIER LE QUESTIONNAIRE ET S'ASSURER QUE TOUTES LES REPONSES SONT CODEES ET BIEN REMPLIES)						
PARTIE RESERVEE AU SUPERVISEUR :						
Questionnaire vérifié par : _____		Date _____				
Commentaire : _____						

SECTION 1: EXAMEN		
Date __ __ _ / __ __ _ / __ __ __ __		
JOUR MOIS ANNEE		
SEXE & AGE		
QD01	Sexe	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
QD02	Date de naissance	__ __ _ / __ __ _ / __ __ __ __
JOUR MOIS ANNEE		
QD03	Date de naissance vérifiée avec le certificat de naissance / Carnet de santé	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
PRISE ALIMENTAIRE		
<i>Montrer à la mère l'exemplaire de la bouillie pour les questions SC04 et SC05.</i>		
Durant toute l'étude, votre enfant doit manger cette quantité de bouillie chaque jour.		
QD04	Est ce que votre enfant peut finir toute cette bouillie en une seule prise ?	<input type="checkbox"/> OUI [Aller à QD06] <input type="checkbox"/> NON
QD05	Est ce que votre enfant peut finir toute cette bouillie en deux prises ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON [ARRETER L'INTERVIEW]
CONSOMMATION DE PRODUITS ENRICHIS EN ZINC		
QD06	Présentement est ce que votre enfant prend des suppléments vitaminique ou minérale ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON [Aller à QD08]
QD07	Si oui, accepteriez-vous d'arrêter de lui donner ces suppléments vitaminique ou minérale durant l'étude ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON [ARRETER L'INTERVIEW]
QD08	Votre enfant a t-il consommé du Nido la semaine dernière?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
QD09	Votre enfant a t-il consommé du Nutrilon-Nutrifibras la semaine dernière?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
QD10	Votre enfant a t-il consommé du Farinor la semaine dernière?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON [Aller à QD12]
QD11	S'il y a une réponse positive (OUI) de la question SC08 à SC10, accepteriez-vous d'arrêter le(s) produit (s) Nido, Nutrilon-Nutrifibras, Farinor	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON [ARRETER L'INTERVIEW]
SECTION 2: ANTHROPOMETRIE & HEMOGLOBINE		
Poids enfant (en Kg, 1 décimal prés)		
QD12	Poids 1	__ __ _ . __ kg
QD13	Poids 2	__ __ _ . __ kg
QD14	Poids 3	__ __ _ . __ kg
Taille enfant (en cm, 1 décimal prés)		
QD15	Taille 1	__ __ __ _ . __ cm

CURRICULUM VITAE

Nafissatou Ba LO

villa n° 7448, Mermoz, Dakar, Sénégal

Gsm : (+221) 77 542 78 19

E-mail : nafibalo@yahoo.fr

Adresse Postale : BP 16905 Dakar Fann – Sénégal

Date de naissance : 27 mars 1977 à Thiès, Sénégal

Situation Matrimoniale : Mariée, 04 enfants

**NUTRITIONNISTE****EXPÉRIENCES PROFESSIONNELLES**

Janv.2011 **Formatrice** : *Master 2 en Nutrition et Alimentation Humaine / UCAD. Dakar, Sénégal*

- ❖ Formation en Méthodologie de la recherche en nutrition humaine : utilisation du logiciel de traitement et d'analyse statistique des données quantitatives **STATA**.

Juil.2010-Fév.2011 **Coordonnatrice Saisie et Traitement de données. COSFAM / Laboratoire de Nutrition UCAD. Dakar, Sénégal**

- ❖ Enquête nationale portant sur : « Etude de la situation de base du statut en vitamine A en fer et en zinc chez les enfants de 12-59 mois et chez les femmes en âge de procréer (15-49 ans) dans le cadre du Programme de Fortification des Aliments en Micronutriments au Sénégal ».

Avril .2010 **Formatrice** : *Master 1 en Nutrition et Alimentation Humaine / UCAD. Dakar, Sénégal*

- ❖ Formation en Physiologie et Physiopathologie de la Nutrition : Principes dosages avec le Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA) et Principe et méthodologie de dosage du zinc plasmatique avec l'appareil SAA.

Sept.2007-Juil. 2008 **Consultante, Chercheur** : *Catholic Relief Services (CRS). Dakar, Sénégal*

Description des tâches :

- ✓ Piloter en partenariat avec les partenaires de CRS (Caritas, Hellen Keller International, Sida service et Centre de Traitement Ambulatoire de CHU Fann) le projet de recherche « Food Vouchers » ou « Coupons Aliments ».
- ✓ Tester un Programme d'intervention nutritionnelle chez les Personnes Vivant avec le VIH/SIDA recevant des services de santé au Centre de Traitement Ambulatoire de CHU Fann (CTA) et Sida Service.
- ✓ Encadrement et supervision des Points focaux de Sida Service et CTA
- ✓ Collecte et analyse des données nutritionnelle et alimentaire

Nov.2007-Av.2008 **Formatrice** : *Division Sida/Fond Mondial. Kolda, Fatick, Dakar.*

- ❖ Formation sous régionale de Médecins et Assistants sociaux sur le Paquet Intégré des Services Essentiels en Nutrition (PISEN) en faveur des Personnes vivant avec le VIH. Kolda, Fatick et Dakar- Sénégal.

Mars-Sept. 2007 **Nutritionniste vacataire** : *Projet Associatif ESTHER/SIDA SERVICE.*
Dakar, Sénégal.

Description des tâches :

- ✓ Accompagner les groupements associatifs de Personnes vivant avec le VIH (PVVIH) dans la mise en œuvre des activités de soutien nutritionnel (séance d'éducation nutritionnelle/distribution de kits alimentaires)
- ✓ Animer des causeries sur l'alimentation de PVVIH et sur la prise en charge nutritionnelle des problèmes liés au VIH et au traitement Antirétroviral (ARV)
- ✓ Evaluer et assurer le suivi de l'état nutritionnel
- ✓ Coordonner et superviser les interventions de soutien nutritionnel
- ✓ Former les Médecins et Assistants sociaux membre du Consortium sur les stratégies d'intervention nutritionnelle en faveur des PVVIH

2006 - 2007 **Enseignante vacataire** : Institut Supérieur des Sciences de la Santé
(*SUP DE SANTE*) – Dakar, Sénégal.

- ❖ Formation en nutrition des étudiants en Techniciens Supérieurs de la Santé.

Déc. 2006 **Consultante** : *ONG AQUADEV* (Louga, Sénégal)

- ❖ Formation des Animateurs du projet SEN Ferlo VII de Potou (Zone pilote des Objectifs Millenium de Développement) sur le PAIN et la PCIME Communautaire.

Nov. 2006 **Stage MARP** (Méthode Active de Recherche et de Planification Participative)

- ❖ Participation à l'étude de la problématique du Développement Communautaire dans le village de Thièye – Thièye (Thiès, Sénégal)

Janv. 2006 **Chargée d'étude** : *ONG Africare* (Tambacounda, Sénégal)

- ❖ Enquête sur les Connaissances, Pratiques et Couverture (CPC) : évaluation du Projet d'Appui et de Renforcement des Interventions en Nutrition et Santé (PARINS) d'Africare à Tambacounda.

Informations techniques

- ✓ Formation des superviseurs et des enquêteurs
- ✓ Organisation de la collecte des données sur le terrain
- ✓ Saisie et analyse statistique des données
- ✓ Elaboration de rapport et Restitution communautaire

Déc. 2005 **Chargée d'étude** : *ONG World Vision* (Vélingara, Sénégal)

- ❖ Enquête sur les Connaissances, Pratiques et Couverture (CPC) : évaluation du projet de renforcement de la nutrition exécuté par World Vision.

2005 (Stage 6 mois) **Assistante Nutritionnelle** : *Bureau Exécutif Régional (BER) de la Cellule de Lutte contre la Malnutrition* de Kolda, Sénégal

Description des tâches :

- ✓ Apporter une assistance technique au Responsable du BER dans l'exécution de son plan d'action annuel
- ✓ Effectuer des missions d'appui aux projets (Africare Tambacounda et Kédougou, CCF Kolda et Ziguinchor, World Vision Vélingara et KAFOO Sédhiou)
- ✓ Analyser les données de suivi des activités des projets
- ✓ Documenter les stratégies d'interventions mises en œuvre par les Agences d'Exécution Communautaires du programme

Fév. - Mars 2005 **Consultante** : *Institut de Technologie Alimentaire (ITA)* Dakar, Sénégal

- ❖ Participation à l'étude sur la fortification en fer des aliments dans le département de Vélingara au Sénégal : enquêtes alimentaires / FRAT et transformation des céréales au niveau des ménages.

2004 (Stage 9 mois) Assistante de recherche : Bureau Exécutif National de la Cellule de Lutte contre la Malnutrition au Sénégal

- ❖ Etude de la prévalence et des facteurs associés à la malnutrition chez les enfants sénégalais : Enquêtes de base des zones d'interventions du Programme de Renforcement de la Nutrition

DOMAINES DE COMPÉTENCE

NUTRITION

- Nutrition et population (Intervention Communautaire)
- Evaluation de l'état nutritionnel et de la consommation alimentaire
- Fortification des céréales en minéraux
- Récupération nutritionnelle et prévention
- Organisation et animation de formations en santé/nutrition
- Enquêtes sanitaires et nutritionnelles
- Analyses statistiques (univariée et multivariée) de données quantitatives et qualitatives

MANAGEMENT DE PROJETS

- Méthode de Recherche Participative – Analyse Genre et Développement
- Elaboration de projets, suivi et évaluation
- Gestion financière et budgétaire de projets

FORMATION UNIVERSITAIRE

- **2008 - 2012** – Préparation d'une Thèse unique en Nutrition et Alimentation Humaine. Ecole Doctorale Sciences de la Vie, de la Santé et de l'Environnement. Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD).
Sujet de recherche : Evaluation de l'utilisation de la concentration plasmatique en zinc pour tester l'impact des programmes de fortification pour des groupes cibles ou pour une fortification de masse. Equipe de Nutrition/HKI/IZINCG.
- **2008** - D.U (Diplôme Universitaire) Méthodes et Pratique en Epidémiologie
Université Victor Segalen – Bordeaux II/France
- **2004** - Diplôme d'Etudes Approfondies en Nutrition et Alimentation - *Mention Bien* – UCAD
- **2003** - Attestation d'Etudes Approfondies en Nutrition et Alimentation - *Mention Assez Bien* – UCAD
- **2002** - Maîtrise Sciences naturelles - *Mention Assez Bien* – UCAD
- **1998** - Baccalauréat S2 - Lycée Malick Sy de Thiès

FORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

- **2011**

- Participation au : Training workshop on « **Food Fortification and Entrepreneurship** ». West African Association of Food Sciences and Technology (WAAFoST)/Institut de Technologie Alimentaire (ITA) - Dakar, Sénégal.

- Participation au : **Forum international Dakar Agricole**. Ministère de l'Agriculture - Dakar, Sénégal

- Participation à la Journée d'Animation Scientifique de l'Institut de Population, Développement et Santé de la Reproduction (IPDSR). Thème : La recherche opérationnelle et les programmes de développement. Présentation des résultats de recherche sur : alimentation complémentaire, couverture vaccinale, prise en charge de la MAS, allaitement maternel exclusif, consommation de sel iodé et planification familiale. Dakar, Sénégal

- **2010**

- Participation au Premier Forum Africain « *Valorisation des Innovations scientifiques et technologiques, dans le domaine Agro-alimentaire et des Agro- ressources. Promotion de partenariats publics/privés entre l'Afrique, l'Europe et autres Continents* ». Institut de Technologie Alimentaire (ITA) - Dakar, Sénégal.

- Participation au : First Congress of the West African Association of Food Sciences and Technology (WAAFoST). "**Building network for excellence in food science and nutrition in West Africa** - Abuja, Nigeria.

- **2009**

- Participation à la formation des Formateurs sur *la fortification de la farine de céréales en minéraux et en vitamines* en Afrique de l'Ouest – HKI / Food Fortification Initiative - Dakar, Sénégal.

- Cours résidentiel de Nutrition Humaine : « *Traitement de la Malnutrition Aiguë Sévère (MAS) de l'enfant* ». Laboratoire de Nutrition UCAD - Dakar, Sénégal.

- Formation sur les *outils et techniques de la Biologie Moléculaire*. UCAD / IRD - Dakar, Sénégal.

- **2008** - Participation à la 2^{ième} Edition du **Programme de Leadership Africain en Nutrition** – Rabat, Maroc.
- **2007** - Formation en **Nutrition/VIH** : Paquet Intégré de Services Essentiels de Nutrition pour la prise en charge nutritionnelle des PVVIH (PISEN) – Division IST/SIDA/DANSE/MSPM.
- **2006** - Master 2 en **Management des Projets** de Développement – Institut Supérieur de Développement Local (ISDL) - Dakar, Sénégal.
- **2004** - Formation en « **techniques de leadership** » dans le cadre du projet "Initiative sur le leadership des femmes pour le développement et la démocratie". Dakar, Sénégal.
- **2003** - Ateliers : Nutrition communautaire et plaidoyer en nutrition (PCIME Communautaire, Positive Déviance, Paquet d'Activités Intégrées de Nutrition)

OUTILS DE COMMUNICATION

- **Informatique bureautique** : Word, Excel, Power Point, Internet
- **Informatique de gestion** : Epi Info, SPSS, STATA, MS Project, Logiciel Nutrisurvey, ENA de la méthodologie SMART.
- **Langue** : Français, Anglais, Wolof

INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

Activités associatives

- Secrétaire Francophone du Young Organization of Food and Nutrition (YOREFON) in West African
- Secrétaire générale du Groupement de Promotion Féminine « Lèggo Liquey » de Mermoz - Sénégal
- Membre de l'Association Sénégalaise des Amis de la Nature (A.S.A.N.). Cellule UCAD
- Membre du Comité d'Initiative de Salubrité et de Sécurité de Mermoz (C.I.S.S.M) – Sénégal

Permis de conduite (B) en 2004

Rapports :

N.B – LO – Analyse statistique de la situation nutritionnelle de référence des zones d'intervention et de contrôle du programme USAID/YAAJEENDE - Counterpart International Sénégal. Décembre 2011

N.B – LO – Formation des enquêteurs et superviseurs de l'enquête de base Ménage des zones d'intervention (Tambacounda-Matam-Kédougou-Kolda) du Programme de Développement Agricole et Nutritionnel pour la Sécurité Alimentaire (USAID/YAAJEENDE) Sénégal. Août 2011.

N.B – LO – Evaluation du Projet de Recherche « Coupons Aliments » – Intervention Nutritionnelle chez les Personnes Vivant avec le VIH/SIDA – Catholic Relief Services (CRS) Sénégal. Avril 2008, 50 pages.

N.B – LO – Formation des Alphabétiseurs du projet SEN VII – Ferlo de l'ONG AQUADEV sur le PAIN et la PCIME Communautaire. Décembre 2006, 15 pages.

N.B – LO – Enquête sur les Connaissances, Pratiques et Couverture (CPC) – zones d'interventions du projet PARINS Tambacounda d'Africare Sénégal. Décembre 2005, 49 pages.

N.B – LO – Enquête sur les Connaissances, Pratiques et Couverture (CPC) – zones d'interventions du projet PRN Vélingara de World Vision Sénégal. Novembre 2005, 52 pages.

N.B – LO – Etude sur la fortification en fer des aliments dans le département de Vélingara au Sénégal : enquêtes alimentaires / FRAT et transformation des céréales au niveau des ménages. Mars 2005, 27 pages.

Publications Scientifiques :

Aaron GJ, **Ba Lo N**, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. *J Food Science* 2011;76:S56-62.

Nafissatou Ba Lo, Grant J. Aaron, Sonja Y. Hess, Nicole Idohou Dossou, Amadou Tidiane Guiro, Salimata Wade, Kenneth H. Brown. Plasma zinc concentration responds to short-term zinc supplementation, but not zinc fortification, in young children in Senegal. *Am J Clin Nutr* 2011;93:1348-55.

Grant J. Aaron, **Nafissatou Ba Lo**, Sonja Y. Hess, Amadou T. Guiro, Salimata Wade, and Kenneth H. Brown. Plasma Zinc Concentration Increases within 2 Weeks in Healthy Senegalese Men Given Liquid Supplemental Zinc, but Not Zinc-Fortified Wheat Bread. 2011 May 11. doi: 10.3945/jn.110.136952.

Communication

N. Ba Lo, G.J. Aaron, S.Y. Hess, A.T. Guiro, S. Wade, N.F. Ndiaye, J-X. Guinard, K.H. Brown. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. **1st WAAFoST Congress**. Abuja, Nigeria, August 11-13th, 2010

**PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE ET
COPUBLICATION DANS LE DOMAINE**



Plasma zinc concentration responds to short-term zinc supplementation, but not zinc fortification, in young children in Senegal¹⁻³

Nafissatou Ba Lo, Grant J Aaron, Sonja Y Hess, Nicole Idohou Dossou, Amadou Tidiane Guiro, Salimata Wade, and Kenneth H Brown

ABSTRACT

Background: Simple, low-cost methods are needed to evaluate the effect of zinc-fortification programs. Plasma zinc concentration is a useful biomarker of zinc intake from supplementation, but responses to zinc fortification are inconsistent.

Objective: The objective was to compare the change in plasma zinc concentrations in young children who received zinc from either a liquid supplement or a zinc-fortified complementary food.

Design: A double-blind intervention trial was conducted in 137 young Senegalese children aged 9–17 mo who were randomly assigned to receive one of the following treatments for 15 d: 1) 30 g dry weight of an iron-fortified cereal porridge and a liquid multivitamin supplement without zinc (control group), 2) the same porridge and multivitamin supplement with 6 mg Zn added to the supplement dose (ZnSuppl group), or 3) the same porridge with added zinc to provide 6 mg Zn per 25 g dry weight of porridge and multivitamin without zinc (ZnFort group).

Results: Mean (\pm SD) plasma zinc concentration ($\mu\text{g/dL}$) increased by 4.7 ± 1.6 ($P = 0.004$) in the ZnSuppl group, which was significantly greater ($P = 0.009$) than the mean change in the control group (-1.0 ± 1.6 ; $P = 0.51$) and in the ZnFort group (-1.8 ± 1.7 ; $P = 0.29$). The latter 2 groups did not differ from each other ($P = 0.99$).

Conclusions: Plasma zinc concentration increased in children who received daily zinc supplementation for 15 d but not in those who received a zinc-fortified complementary food containing a similar amount of zinc. Additional longer-term studies are needed to assess the effect of zinc-fortification programs on zinc-related functional outcomes and the usefulness of plasma zinc as a biomarker of program effect. This trial was registered at www.clinicaltrials.gov as study NCT0094398. *Am J Clin Nutr* 2011;93:1348–55.

INTRODUCTION

Zinc is an essential micronutrient that is required for normal growth and resistance to infections (1). Recent studies have found that providing zinc supplements to young children in populations at risk of zinc deficiency increases their weight gain and linear growth and decreases their incidence of diarrhea and pneumonia (2)—2 of the most common causes of preventable deaths. The importance of adequate zinc nutrition for child health and normal pregnancy outcome is becoming more widely recognized (3)—and recent reviews have concluded that interventions to ensure adequate zinc status could avert a sizeable number of child deaths

worldwide and contribute to achieving several Millennium Development Goals (4).

Food fortification is considered to be an effective, low-cost approach for delivering micronutrients, including zinc (5). Studies have shown that the total amount of absorbed zinc can be increased by zinc fortification of foods provided to young children (6) or adults (7). Simple, low-cost methods are needed to evaluate the effect of zinc-fortification programs, both for specialized products targeted to young children and for mass-fortification programs. Recent reviews have indicated that serum (or plasma) zinc concentration is a useful biomarker of zinc intake (2, 8, 9), which responds in a dose-dependent manner after zinc supplementation (9, 10). However, the usefulness of plasma zinc concentration for evaluating the effect of zinc-fortification programs remains uncertain. Previous studies have found that children's serum zinc concentration did not change consistently after exposure to zinc-fortified foods (11), possibly because the amount of zinc included in the fortified foods was insufficient. We therefore conducted the current study to assess the short-term change in plasma zinc concentration in young children who received a greater amount of zinc in a fortified porridge than in previous studies, and we compared their responses to the same amount of additional zinc provided in a liquid zinc supplement given between meals. We hypothesized that the plasma zinc concentration would increase after the introduction of daily doses of additional zinc, regardless of whether the additional zinc was provided as a liquid supplement or as a zinc-fortified food.

¹ From the Laboratoire de Nutrition, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Senegal (NBL, NID, ATG, and SW); the Program in International and Community Nutrition and Department of Nutrition, University of California, Davis, CA (GJA, SYH, and KHB); and Helen Keller International, Dakar, Senegal (GJA and KHB).

² Supported by the Global Alliance for Improved Nutrition (Geneva, Switzerland). The zinc fortificants and dry vitamin supplement were provided by DSM Nutritional, Isando, South Africa. Les Grands Moulins de Dakar (Dakar, Senegal) kindly provided the infrastructure for the fortification of the study products.

³ Address correspondence to KH Brown, Program in International and Community Nutrition, University of California, One Shields Avenue, Davis, CA. E-mail: khbrown@ucdavis.edu.

Received January 17, 2011. Accepted for publication March 22, 2011.
First published online April 13, 2011; doi: 10.3945/ajcn.111.012278.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

The study was carried out between July 2008 and September 2009 in a community clinic located in a lower-income neighborhood of Dakar, Senegal (Dispensaire Saint Martin, Rebeuss, Dakar). Parents of children aged 9–17 mo were identified during routine immunization sessions at the clinic, and they were invited to participate in meetings convened to describe the study. During these meetings, the research team explained the study procedures and obtained written parental consent for the children to participate. The research protocol was approved by the Ethical Committee of the Cheikh Anta Diop University of Dakar (UCAD) and the Institutional Review Board of the University of California, Davis. The study was registered with the National Institutes of Health as a clinical trial (www.clinicaltrials.gov; NCT00944398).

A pediatrician performed a physical examination, and the research staff assessed the children's weight, length, and hemoglobin concentration in capillary blood to determine their eligibility to participate in the trial. Eligibility criteria were as follows: length-for-age *z* score (LAZ) and weight-for-length *z* score (WLZ) > -2.0 with respect to the World Health Organization growth standard (WHO Anthro version 2.0.2; www.who.int/childgrowth), hemoglobin concentration >80 g/L, no consumption of zinc-fortified foods or zinc-containing vitamin-mineral supplements, and no symptomatic infections within the preceding 2 wk. A total of 234 children were examined, and 158 of them were eligible to participate. All participants received 200 mg albendazole as a single oral dose at enrollment to ensure that the presence of any helminthic infections would not affect the interpretation of the study results.

Study protocol

The study was designed as a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Eligible children were randomly assigned to 1 of 3 treatment groups for a 15-d period by using a computer-generated block randomization scheme, with a varied block length of 3, 6, or 9 (www.randomization.com). The 3 treatment groups were the control group, the zinc-supplementation group (ZnSuppl), and the zinc-fortification group (ZnFort). Each child

received, under direct supervision, a daily portion of a maize- and millet-based porridge and a liquid multivitamin supplement. Depending on the group assignment, the porridge or supplement also may have contained added zinc (Table 1). The rationale for the 15-d duration of the intervention was to minimize the subject burden and the cost of the trial, and because a previous study in adults found that plasma zinc increases within 2–5 d of the initiation of zinc supplementation (12). Thus, we assumed that this period of intervention would be sufficient to detect an intervention effect.

Diet composition

The porridge served to children in all groups was prepared from a locally available complementary food product (Provitall; Co-AID, Sedhiou, Senegal) containing extruded maize and millet flour, cowpea, peanut, milk powder, sugar, and vanillin flavoring. The food mixture was fortified with iron, as ferrous fumarate, to contain 60 mg Fe/kg dry weight of porridge, which provided 1.5 mg Fe per 25-g (dry weight) serving of porridge (Table 1). The mixture offered to children in the ZnFort group was also fortified with zinc, as zinc oxide, to provide an additional 6 mg Zn/25 g/dry weight of porridge. The study formulations were prepared by using a batch mixing process. To account for mineral losses incurred during the fortification process, a 5% overage was added. Intrinsic zinc and iron contents of the food mixtures were 1.7 ± 0.02 and 4.2 ± 0.3 mg/100 g dry weight, respectively, and the phytic acid content was 302 mg/100 g dry weight, resulting in a phytic acid:zinc molar ratio of 17.6 in the non-zinc-fortified porridge and 1.4 in the zinc-fortified one (13). The respective complementary foods were divided into 30-g servings (dry weight), because previous studies found that similarly aged children who received this amount of porridge actually consumed ≈ 25 g (14). Daily servings were packaged in precoded, hermetically sealed sachets and stored at 4°C until prepared with 70 mL boiled water to yield a final serving size of 100 g (wet weight). The acceptability of the complementary foods was previously confirmed in a sensory evaluation study completed among Senegalese children (15).

The liquid vitamin supplements, prepared either with or without added zinc as zinc sulfate, contained the following amounts of vitamins in each 5-mL dose: thiamine, 0.2 mg;

TABLE 1
Diet groups for study of plasma zinc response in children¹

	Study group		
	ZnSuppl	ZnFort	Control
Complementary food ²	Porridge + iron ³ fortificant	Porridge + iron ³ + zinc ⁴ (as zinc oxide) fortificants	Porridge + iron ³ fortificant
Vitamin supplement ⁵	B vitamins + vitamin C + 6 mg zinc (as zinc sulfate)	B vitamins + vitamin C	B vitamins + vitamin C

¹ ZnSuppl, zinc supplementation; ZnFort, zinc fortification.

² Composition: maize, millet, cowpea, peanut, milk, sugar, and vanillin. Native mineral content per 100 g dry weight: iron, 4.2 ± 0.3 mg; zinc, 1.7 ± 0.0 mg; calcium, 24 ± 0.6 mg. Phytic acid content: 302 mg/100 g dry weight (13).

³ 60 mg Fe as ferrous fumarate per kg dry weight of the complementary food.

⁴ 240 mg Zn as zinc oxide per kg dry weight of the complementary food to provide ≈ 6 mg additional zinc/25 g portion.

⁵ Amount/5 mL: thiamine, 0.2 mg; riboflavin, 0.2 mg; niacin, 2 mg; vitamin B-6, 0.2 mg; vitamin B-12, 0.3 μ g; pantothenic acid, 0.7 mg; biotin, 2.6 mg; vitamin C, 5 mg.



riboflavin, 0.2 mg; niacin, 2 mg; vitamin B-6, 0.2 mg; vitamin B-12, 0.3 μ g; pantothenic acid, 0.7 mg; biotin, 2.6 mg; and vitamin C, 5 mg. The zinc compounds and the dry mixture of multivitamins were provided by DSM Nutritional Products (Isando, South Africa). The zinc contents of the complementary foods and supplements were confirmed by the Agriculture and Natural Resources Analytic Laboratory, University of California, Davis.

Data collection

During the 15 d of the feeding study, the porridge was prepared by the research team and served to the participants at a research ward established in the health center complex. The children were spoon fed by their caregiver from a preweighed bowl, and a bib was placed around the children's neck to catch any spilled food. The feeding was supervised by the study staff, and the total amount of food consumed was determined by subtracting the weight of leftovers from the amount served and correcting for any spillage. The children had to consume ≥ 84 g porridge (wet weight) per day to provide 6 mg Zn. If a child did not consume the required amount in the first serving, the caregiver was asked to offer the remainder during a second feeding 30 min later, again under supervision by the study staff. If the child did not consume all that was provided during the second feeding, the appropriate amount of study product was given to the caregiver to be fed at home later during the day. The following day, we asked the caregiver to report whether the child ate the porridge and to estimate the amount consumed as "small," "medium," or "large."

The liquid vitamin supplement (with or without added zinc) was administered each day ≥ 90 min after the supervised feeding of the complementary food. During the 90-min waiting time, the caregivers and their children stayed in the study area and did not breastfeed or consume other foods or beverages. Over the course of the study, the caregivers were requested to feed only breast milk, family foods, and the non-zinc-fortified porridge provided by the study team during home meals, and to avoid any zinc-fortified milk or infant food products and vitamin-mineral supplements.

We collected data on the children's length, weight, hemoglobin concentration, morbidity, and usual home food consumption at the time of recruitment and at the end of the 15-d study. Body weight was measured by using a frequently standardized electronic infant balance with 5 g precision (OHAUS DP15; SNR 2182829; OHAUS Corp, Pine Brook, NJ), and recumbent length was measured to 0.1 cm in duplicate by using a locally constructed measuring board. Staff members also collected information on the children's illness symptoms from the caregivers each day, including stool number and consistency and the presence of cough, nasal discharge, fever, and any other reported symptoms. Diarrhea was defined as excretion of ≥ 3 loose or liquid stools/d, and upper respiratory infection was defined as the presence of cough and nasal discharge.

Laboratory methods

Venous blood samples (5 mL) were obtained 1 day before the start of the intervention and again at the end of the feeding period for measurement of plasma zinc, C-reactive protein (CRP), and α_1 -glycoprotein (AGP) concentrations. When the children were acutely ill with diarrhea or fever on the day of a scheduled blood

drawing, the sample collection was postponed until the symptoms resolved; and, in the case of the final blood sample, feeding of the study products was continued until the day before the final sample was obtained.

The blood samples were collected between 0700 and 1000. Caregivers were advised to bring the children to the clinic without feeding them anything other than breast milk on the mornings of blood collection. The time of the sample collection and of the most recent food or milk intake were noted, so the information could be used to adjust for this interval in the analysis of data. The reason for this statistical adjustment for the time interval between the last meal and the blood drawing was to minimize the variability due to the known meal-related effects on plasma zinc concentration (16, 17). The blood was collected into trace element-free polyethylene tubes containing zinc-free lithium heparin anticoagulant (item no. 01.1604.400; Sarstedt AG & Co, Numbrecht, Germany) and was immediately placed in a cold box over ice. Shortly thereafter, the blood was centrifuged at 3200 rpm (EBA 20 centrifuge model 2002; Andreas Hettich GmbH & Co KG, Tuttlingen, Germany) for 12 min. Plasma samples were then portioned into aliquots into trace element-free plastic-capped polyethylene tubes (reference 2840; Perceptor Scientific, Atascadero, CA), transported to the UCAD laboratory over ice for analysis of acute phase proteins, and stored frozen at -20°C until shipped to the United States on dry ice for zinc analysis. All blood collection and processing procedures conformed with recommendations of the International Zinc Nutrition Collaborative Group (3).

Plasma zinc concentrations were measured at the US Department of Agriculture Western Human Nutrition Research Center (Davis, CA) by using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (Vista AX CCD Simultaneous ICP-AES with an SPS5 auto-sampler; Varian Inc, Walnut Creek, CA). Plasma samples were diluted 13.5-fold in 1 N nitric acid (Trace Metal Grade; Fisher Scientific, Pittsburg, PA) and allowed to sit overnight at 4°C . Samples were then centrifuged at 4°C for 15 min at 3200 rpm, and the supernatant fluid was separated for analysis. Each batch of samples run on the inductively coupled plasma atomic emission spectrometry was analyzed with the following reference materials, which were prepared in the same way as were the clinical samples: Seronorm Trace Elements Serum L-1 (lots NO0371y and JL4409; Cat-SR-201405, Accurate Chemical and Scientific Corp, Westbury, NY) and an internal pooled plasma control. A bovine liver standard (BLS; SRM 1577b; National Institute of Standards and Technology, Boulder, CO) was also run with each batch of samples. Samples were analyzed in duplicate, and all samples from a particular child were analyzed within the same analytic run. Plasma CRP and AGP concentrations were analyzed at the UCAD Nutrition Laboratory by using radial immunodiffusion kits (The Binding Site Limited, Birmingham, United Kingdom, and Kent Laboratories Inc, Bellingham, WA, respectively). Hemoglobin concentration in capillary blood was measured by using a HemoCue photometer (HemoCue Hb 201+; HemoCue AB, Angelholm, Sweden).

Sample size estimation and statistical analyses

The major outcome of the study was the change in plasma zinc concentration from baseline. We estimated that a total of 30 children needed to be enrolled in each of the 3 study groups to permit



detection of intergroup differences, with an effect size of ≈ 0.8 , which is in the magnitude of effect observed in previous supplementation trials in children (8). This sample size was inflated by 50% to allow for attrition or inability to obtain blood samples.

Descriptive statistics were used to examine the distribution of all variables. One-factor analysis of variance and Pearson's chi-square test were used to examine group-wise differences at baseline. We also performed separate linear regression models (for continuous variables) and analysis of variance (for categorical variables) to assess factors associated with baseline plasma zinc concentration. The variables assessed in relation to baseline plasma zinc concentration were as follows: age, sex, anthropometric *z* score (LAZ and WLZ), elapsed time from last meal to blood draw, elapsed time from blood draw to centrifugation, elapsed time from centrifugation to separation of plasma, presence of visible hemolysis in the plasma sample, and presence of elevated CRP (≥ 5 mg/L) and elevated AGP (≥ 1.0 g/L). Analysis of covariance (univariate General Linear Model procedure) was used to compare changes in plasma zinc concentration among study groups, after adjustment for baseline plasma zinc concentration, CRP and AGP concentrations, and elapsed time between the previous food intake and the time of the blood sampling for the baseline and final blood draw. All interactions with the main effect were tested for significance, and nonsignificant variables were removed by using a stepwise procedure. Group assignments remained masked until all biochemical and statistical analyses were completed. Statistical analysis was carried out by using standard statistical software: PASW statistics 18 (SPSS Inc, Chicago, IL) and Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, Redmond, WA). *P* values < 0.05 were considered significant. The results are presented as means \pm SDs unless otherwise indicated.

RESULTS

Study profile

Of the 234 infants included in screening, 158 (64.1%) were eligible to participate in the study. The major reasons for exclusion were an initial LAZ and/or WLZ < -2 and/or the presence of moderate or severe anemia (hemoglobin < 80 g/L). Children with LAZ and/or WLZ < -3 or anemia were referred to the clinic physician for treatment. The parents of 21 of the eligible infants decided to withdraw consent before the infants were enrolled in the study; therefore, 137 were assigned to treatment groups. As shown in the profile of study subjects (Figure 1), 50, 40, and 47 infants were randomly assigned to the ZnSuppl, ZnFort, and control groups, respectively. Of these, 34 (68%), 32 (80%), and 32 (68%) completed the study.

Baseline characteristics

No significant differences in the initial characteristics of the study participants and their families were found by treatment group (Table 2). Overall, 53% of the children were female, and their mean \pm SD age at enrollment was 13.3 ± 2.6 mo. The children's plasma zinc concentrations ranged from 22.8 to 88.8 $\mu\text{g/dL}$, and 56.9% of the infants had concentrations < 65 $\mu\text{g/dL}$, which is the suggested cutoff based on available reference data (3). The mean baseline hemoglobin concentration was 97.5 ± 10.7 g/L,

and 85.4% of the infants had mild anemia (hemoglobin concentration < 110 g/L). Approximately 9% of the infants had elevated plasma CRP concentrations (≥ 5 mg/L), and 54% had elevated plasma AGP concentrations (≥ 1.0 g/L) initially.

The 39 children who left the study early had a lower initial mean WAZ (-0.75 compared with -0.33 for those who completed the study; $P = 0.01$) and LAZ (-0.73 compared with -0.36 ; $P = 0.035$) and marginally lower WLZ (-0.54 compared with -0.22 ; $P = 0.058$).

No significant group-wise differences in the prevalence of diarrhea or fever during the intervention period were observed. The overall mean prevalence of diarrhea (2.6 ± 8.5) and fever (2.4 ± 4.6) was quite low. In contrast, the overall mean prevalence was high for upper respiratory infection (33.9 ± 28.7), but did not differ by study group.

Consumption of supplements

A total of 100 g (wet weight) of porridge was served each day, which was equivalent to 30 g of the dry ingredients. Each child was expected to consume ≥ 84 g porridge/d (to provide 6 mg Zn). The overall mean porridge consumption was 91.2 ± 5.2 g. Children in the ZnSuppl, ZnFort, and control groups ate an average of 92.1 ± 2.6 , 91.2 ± 4.8 , and 90.4 ± 7.3 g, respectively ($P = 0.42$). Twenty-nine percent of children received an additional portion of the study foods to be fed at home on at least one study day. Eighty-eight percent of the times that children consumed a portion of porridge at home, their mothers reported that all of the porridge was consumed. Each day the children received 5 mL of the liquid vitamin supplement administered by the study staff.

Factors associated with initial plasma zinc concentration

We examined possible factors associated with the children's plasma zinc concentrations at baseline. The elapsed time from last meal to blood draw (overall mean = 107.4 ± 17.9 min) was positively related to the plasma zinc concentration ($P = 0.002$), but there were no differences in these time intervals by study group ($P = 0.69$). Plasma zinc concentrations were lower in the samples with elevated AGP concentrations (≥ 1.0 g/L) than in the samples with lower AGP concentrations (60.3 ± 11.1 compared with 65.9 ± 8.6 $\mu\text{g/dL}$, respectively; $P = 0.008$). The mean plasma zinc concentration did not differ significantly between children with or without elevated CRP ≥ 5 mg/L ($P = 0.18$). These 3 variables were included as covariates in subsequent analyses.

Postintervention plasma zinc concentration

The magnitude of change in plasma zinc concentrations after adjustment for elevated CRP and AGP concentrations and elapsed time since the last meal was negatively associated with the initial value in all groups ($P = 0.005$, $P = 0.025$, and $P = 0.035$ for the control, ZnFort, and ZnSuppl groups, respectively; Figure 2), probably because of regression to the mean. After the 15-d intervention period, the final mean plasma zinc concentration was significantly greater in the ZnSuppl group than in the ZnFort and control groups ($P = 0.002$; Table 3). The mean change in plasma zinc concentration was significantly greater in the ZnSuppl group than in the other groups ($P = 0.009$). The

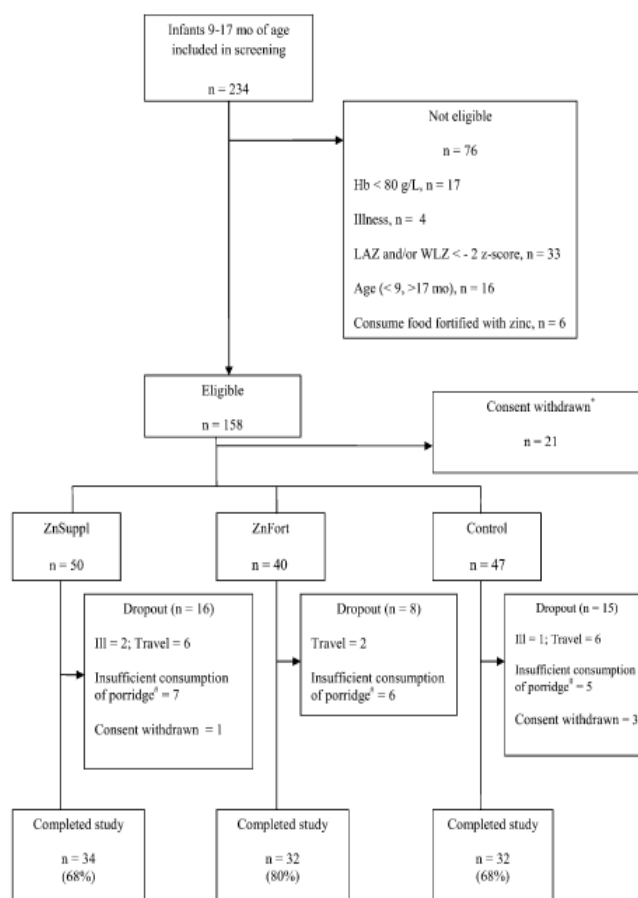


FIGURE 1. Study profile. LAZ, length-for-age z score; WLZ, weight-for-length z score; Hb, hemoglobin concentration; ZnSuppl, zinc-supplemented group; ZnFort, zinc-fortified group. *Consent withdrawn before random assignment. ^aThese children did not eat a sufficient quantity of porridge (84 g to procure 6 mg Zn) at the center during 3 consecutive days.



final mean plasma zinc concentrations in the ZnFort and control groups did not differ significantly from their respective baseline values or from each other.

DISCUSSION

The results of this study indicate that the plasma zinc concentration increases significantly in children who receive ≈ 6 mg additional Zn in the form of a liquid zinc supplement for just 2 wk, but not in those who receive approximately the same amount of additional zinc in a zinc-fortified complementary food. These results are similar to those reported from an earlier study in which children received 3 mg additional zinc per day for 6 mo (14), whereas the children in the current study received twice the amount of additional zinc, albeit for a shorter period of time.

The present study was carried out in a community clinic located in a lower-income neighborhood of Dakar, Senegal, where the risks of zinc deficiency and infection were expected to be high. Fifty-seven percent of the infants had low plasma zinc concentrations [$< 65 \mu\text{g/dL}$, the cutoff suggested by the International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG); 3], and the prevalence of elevated acute phase proteins was high. Because infection and

inflammation can decrease serum zinc values, with the magnitude of change depending on the severity and stage of infection (18–20), we postponed blood sample collections when the children had symptoms of fever or diarrhea to minimize such effects and provided antihelminthic treatment to all children at enrollment. Moreover, we adjusted statistically for the effects of elevated acute phase proteins. We also applied the procedures recommended by IZiNCG (3, 21) to avoid contamination of the blood samples during sample collection and analysis.

We ensured adherence to the study protocol by serving the complementary food and the liquid supplement under observation during the 15-d feeding trial. Only when a child did not consume all of the food that was planned during 2 observed feeding sessions each day did we provide an additional portion to be fed at home later during the day. This was the case on just 4.3% of the study days and involved a small proportion of the total food consumed on those days. Each of these foregoing measures to ensure compliance and avoid confounding factors, along with the double-blind, randomized clinical trial design, lend strength to the findings of the current study.

Our finding of an increased plasma zinc concentration after zinc supplementation is consistent with the results of many

TABLE 2
Initial characteristics of participants, by study group¹

Variable	Study group			P value ²
	ZnSuppl (n = 50)	ZnFort (n = 40)	Control (n = 47)	
Male sex [n (%)]	25 (50.0)	19 (47.5)	21 (44.7)	0.87
Infant age at enrollment (mo)	13.0 ± 2.4 ³	13.3 ± 2.9	13.4 ± 2.4	0.71
Currently breastfeeding [n (%)]	46 (92.0)	36 (90.0)	46 (97.9)	0.30
Body weight (kg)	9.1 ± 1.1	8.9 ± 0.9	9.1 ± 1.1	0.62
Length (cm)	74.7 ± 3.5	74.8 ± 3.6	75.3 ± 3.3	0.64
Weight-for-age z score	-0.36 ± 0.8	-0.57 ± 0.7	-0.43 ± 0.9	0.53
Length-for-age z score	-0.47 ± 0.8	-0.51 ± 0.9	-0.41 ± 0.9	0.83
Weight-for-length z score	-0.19 ± 0.9	-0.43 ± 0.7	-0.33 ± 0.9	0.41
Infant biochemical status				
Hemoglobin (g/L)	98 ± 11	97 ± 11	96 ± 10	0.49
Elevated C-reactive protein, ≥5 mg/L [n (%)]	5 (10.9)	2 (5.1)	5 (11.6)	0.57
Elevated α ₁ -glycoprotein, ≥1.0 g/L [n (%)]	26 (56.5)	21 (55.3)	21 (48.8)	0.74

¹ ZnSuppl, zinc supplementation; ZnFort, zinc fortification.

² Group means were compared by ANOVA or Pearson's chi-square test for proportions.

³ Mean ± SD (all such values).

former intervention trials in children, even though the current study was of shorter duration than most previous studies. The current results are also consistent with the findings of a recent report on the effect of short-term zinc supplementation in American men, which found a significant and rapid increase in mean plasma zinc concentrations within the first 5 d of supplementation (12). The effect size of 0.69 SD units in the current study was comparable with the overall effect size of 0.60 SD units (95% CI: 0.44, 0.77 SD units) found in a recent meta-analysis of 22 zinc supplementation studies in children, which provided daily zinc dose equivalents ranging from 2.9 to 21.4 mg Zn/d during supplementation periods lasting from 2 wk to 14 mo (2).

The plasma zinc concentration did not respond to zinc-fortified complementary food in the present study. Most previous trials of zinc-fortified complementary foods and point-of-use fortification carried out among young children also failed to detect a significant effect on serum zinc concentration (11, 22). In contrast,

a positive effect of zinc-fortified foods on plasma zinc concentrations was described in 2 studies conducted in older children 2–11 y of age (23, 24). The reason for the inconsistent results of these different sets of studies is uncertain, but may be related to the different ages of the children or the choice of food vehicles, the underlying zinc status of the study populations, or other particular aspects of the study designs.

The reasons for the observed differences in plasma zinc response after zinc supplementation and zinc fortification are unclear, but may be due to the lower efficiency of zinc absorption that occurs when zinc is delivered with food, the level of fortification that was used or the duration of the intervention, the chemical form of the zinc fortificants, or interference with zinc absorption by other micronutrients. Each of these possibilities will be examined briefly, as follows.

The major factors affecting zinc absorption are the amounts of zinc and *myo*-inositol phosphate (phytate) that are consumed with

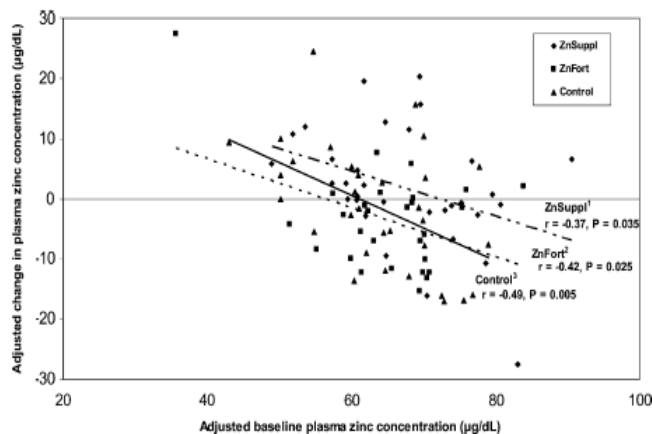


FIGURE 2. Change in plasma zinc concentrations from baseline to day 15 by adjusted baseline plasma zinc concentration. The magnitude of change in plasma zinc concentration is shown after adjustment for elevated C-reactive protein and α₁-glycoprotein and elapsed time since the last meal. Regression models were significant in the control (n = 32, P = 0.005), zinc-fortified (ZnFort; n = 29, P = 0.025), and zinc-supplemented (ZnSuppl; n = 33, P = 0.035) groups.

TABLE 3
Mean initial and final plasma zinc concentrations and change from baseline, by treatment group¹

Plasma zinc concentration	Uncorrected ²			<i>P</i> value ⁴	Corrected ³			<i>P</i> value ⁴
	ZnSuppl (n = 34)	ZnFort (n = 32)	Control (n = 32)		ZnSuppl (n = 33)	ZnFort (n = 29)	Control (n = 32)	
	μg/dL	μg/dL	μg/dL		μg/dL	μg/dL	μg/dL	
Initial	65.3 ± 10.5	61.1 ± 11.3	61.2 ± 9.5	0.18	65.4 ± 2.0	64.0 ± 2.3	64.3 ± 2.1	0.28
Final	68.5 ± 11.4	60.4 ± 9.9	61.7 ± 10.0	0.004	70.1 ± 1.8	62.2 ± 2.2	63.3 ± 1.9	0.002
Change	3.2 ± 10.6	-0.7 ± 8.9	0.5 ± 10.9	0.28	4.7 ± 1.6	-1.8 ± 1.7	-1.0 ± 1.6	0.009
<i>P</i> value ⁵	0.068	0.68	0.76		0.004	0.29	0.51	

¹ ZnSuppl, zinc supplementation group; ZnFort, zinc fortification group.

² Values are means ± SDs. Group means were compared by ANOVA.

³ Values are means ± SEs. Group means were compared by ANCOVA (univariate general linear model) with control for the initial plasma zinc concentration, elevated C-reactive protein, α₁-glycoprotein (adjusted to nonelevated), and elapsed time since last meal (adjusted to study population mean).

⁴ For group-wise differences.

⁵ For within-group differences.

a meal (25–28). In the current study, the amount of additional zinc provided was nearly the same for the ZnSuppl and ZnFort groups, and the phytate-zinc molar ratio was quite low (≈ 1.4) in the fortified porridge; therefore, these factors should not have had a major influence on zinc absorption (13). It is also possible that the phytates present in the food consumed at home affected the absorption or retention of zinc, because the Senegalese diet is mostly cereal-based (29). However, the amounts of additional food consumed were likely to be quite small, and the caregivers were advised to wait ≥ 30 min before offering any food at home. Thus, it seems unlikely that this would have much of an effect on the absorption of zinc from the study products. As suggested above, another possible explanation for the different responses to zinc supplements and zinc-fortified foods may have been the effects of specific food components on the postabsorptive metabolism of zinc absorbed from the fortified food. It is possible, for example, that zinc from the fortified food was taken up preferentially by non-metabolically active zinc pools.

The current study was designed to provide as much additional zinc as possible in the fortified food without exceeding the safe upper level (UL) of 7 mg Zn/d proposed by the US Institute of Medicine for this age group (30). However, it is possible that the UL has been set too low for food-based zinc, given that no effect on plasma zinc concentration was observed, and this concentration which remained lower than reference values. Thus, further research is needed to determine whether even higher amounts of zinc can be safely provided in fortified complementary foods and whether these products would have a positive effect on biomarkers of young children's zinc intake.

In the current study, we provided zinc as zinc sulfate in the liquid supplement and as zinc oxide in the complementary food. Both compounds are generally recognized as safe (GRAS; 31). Zinc sulfate is used more commonly in liquid supplements because it is water soluble at neutral pH. Zinc oxide is used most commonly for zinc fortification because it is the cheapest GRAS compound, although concerns have been raised about its bioavailability because it is insoluble at neutral pH (32). Despite this theoretical concern about zinc solubility, tracer studies have found no difference in zinc absorption from wheat products fortified with either zinc oxide or zinc sulfate among Indonesian schoolchildren (33), US adults (28), and Mexican woman (34), so the chemical form of the zinc fortification compound does not

seem to explain the differing responses to zinc supplementation and zinc fortification in the current study.

Cofortification with other micronutrients could possibly affect zinc absorption from zinc-fortified foods. In the current study, the porridge for all treatment groups was fortified with iron as ferrous fumarate to contain 60 mg Fe/kg dry weight of porridge, so it is possible that the iron in the product interfered with the plasma zinc response to the zinc-fortified food. However, a study conducted by Fairweather-Tait et al (35) to assess zinc absorption in infants aged 9–11 mo fed an iron-fortified complementary food found no effect of iron on zinc absorption. Moreover, some studies of infant formulas that were cofortified with both iron and zinc did find a positive effect on serum zinc concentration (11). These sets of results suggest that the presence of iron in the complementary food should not have limited the plasma zinc response in the present study.

Finally, it is uncertain whether the lack of plasma zinc response found in the ZnFort group was due to the relatively short, 15-d observation period. However, other longer-term studies of zinc-fortified complementary foods that lasted 2–10 mo also found no significant effect on plasma zinc concentration (6, 36–38), although those studies were conducted without direct observation of the food consumption. Longer-term studies with observation of daily consumption of zinc fortified foods may be required to provide relevant information.

In conclusion, the mean plasma zinc concentration increased significantly in children who received zinc in the form of an aqueous supplement, but not in those who received the same amount of additional zinc in a zinc-fortified complementary food. Thus, we were unable to confirm the usefulness of plasma zinc concentration as an indicator of response to short-term exposure to zinc-fortified foods in young children. It is possible that the zinc status of the children who consumed the zinc-fortified complementary foods was in fact improved, but their plasma zinc concentration failed to reflect this improvement because of differences in the metabolism of zinc absorbed from zinc-fortified foods and zinc supplements. Additional, longer-term studies are needed to assess the effect of zinc-fortified food on the zinc status of young children and zinc-related functional outcomes, such as growth and morbidity. At the same time, research is needed to identify more sensitive biochemical indicators of zinc status and response to zinc interventions.



We thank the mothers and children who took part in the study. We appreciate the support of the field workers, Sœur Madeleine Ndour, and the staff of the Saint Martin Health Center and thank them for their help during the study. We further appreciate the assistance of Shelby E Wilson (University of California, Davis) during the field work and of Janet M Peerson (University of California, Davis) and Ndjido Ardo Bar (Institut Pasteur, Dakar, Senegal) for statistical consultation, the valuable comments of Rosalind S Gibson (University of Otago, Dunedin, New Zealand) on the study design, and the assistance of Leslie Woodhouse (USDA Western Human Nutrition Research Center, Davis, CA) during the laboratory analyses of plasma zinc concentrations.

The authors' responsibilities were as follows—KHB and SYH: designed the study; NBL, GJA, and SYH: implemented the protocol and completed the clinical data collection and biochemical analyses; ATG, NID, SW, SYH, and KHB: provided training and supervised data collection; and NBL: analyzed the data and drafted the manuscript, which was reviewed by all authors. The funding agency had no role in the design, implementation, analysis, or interpretation of the data. None of the authors had any personal or financial conflicts of interest.

REFERENCES

- Dardenne M, Wade S, Savino W, Nabarra B, Prasad AS, Bach JF. Thymulin and zinc deficiency. In: Prasad A, ed. *Essential and toxic trace elements in human health and disease*. New York, NY: Alan R Liss, 1988:329–36.
- Brown KH, Peerson JM, Baker S, Hess SY. Preventive zinc supplementation among infants, pre-schoolers, and older pre-pubertal children. *Food Nutr Bull* 2009;30:S12–40.
- Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, et al; International Zinc Nutrition Consultative Group. (IZiNCG) technical document No. 1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 2004;25:S99–203.
- Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, et al. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 2008;371:243–60.
- Allen L, Benoist B, Dary O, Hurrell R. *Guidelines on food fortification with micronutrients*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, Food and Agricultural Organization at the United Nations, 2006.
- López de Romaña D, Salazar M, Hambidge KM, et al. Longitudinal measurements of zinc absorption by Peruvian children consuming wheat products fortified with iron only or iron and one of two levels of zinc. *Am J Clin Nutr* 2005;81:637–47.
- Brown KH, Wessells KR, Hess SY. Zinc bioavailability from zinc-fortified foods. *Int J Vitam Nutr Res* 2007;77:174–81.
- Hess SY, Peerson JM, King JC, Brown KH. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. *Food Nutr Bull* 2007;28:S403–29.
- Lowe NM, Fekete K, Decsi T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009;89:S040S–51S.
- Wuehler SE, Sempértegui F, Brown KH. Dose-response trial of prophylactic zinc supplements, with or without copper, in young Ecuadorian children at risk of zinc deficiency. *Am J Clin Nutr* 2008;87:723–33.
- Hess SY, Brown KH. Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food Nutr Bull* 2009;30:S79–107.
- Wessells KR, Jorgensen J, Hess SY, Woodhouse L, Peerson JM, Brown KH. Plasma zinc concentration responds rapidly to the initiation and discontinuation of short-term zinc supplementation in healthy men. *J Nutr* 2010;140:2128–33.
- Gibbs M, Bailey KB, Lander RD, et al. The adequacy of micronutrient concentrations of manufactured complementary foods from low-income countries. *J Food Comp Anal* (in press).
- Brown KH, López de Romaña D, Arsenaute JE, Peerson JM, Penny ME. Comparison of the effects of zinc delivered in a fortified food or a liquid supplement on the growth, morbidity, and plasma zinc concentrations of young Peruvian children. *Am J Clin Nutr* 2007;85:538–47.
- Aaron GJ, Ba Lo N, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. *J Food Sci* 2011;76:S56–62.
- Hambidge KM, Goodall MJ, Stall C, Pritts J. Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1989;3:55–7.
- Arsenaute JE, Wuehler SE, López de Romaña D, Penny ME, Sempértegui F, Brown KH. The time of day and the interval since previous meal are both associated with young children's plasma zinc concentrations in Peru and Ecuador, and therefore affect estimates of the populations' risk of zinc deficiency. *Eur J Clin Nutr* 2011;65:184–90.
- Wade S, Parent G, Bleiberg-Daniel F, et al. Thymulin (Zn-FTS) activity in protein-energy malnutrition: new evidence for interaction between malnutrition and infection on thymic function. *Am J Clin Nutr* 1988;47:305–11.
- Brown KH. Effect of infections on plasma zinc concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. *Am J Clin Nutr* 1998;68(suppl):425S–9S.
- Duggan C, MacLeod WB, Krebs NF, et al. Plasma zinc concentrations are depressed during the acute phase response in children with falciparum malaria. *J Nutr* 2005;135:802–7.
- International Zinc Nutrition Consultative Group. *Assessing population zinc status with serum zinc concentration*. Davis, CA: IZiNCG, 2007. (IZiNCG Technical Brief no. 2.)
- Dewey KG, Adu-Afarwah S. Systematic review of the efficacy and effectiveness of complementary feeding interventions in developing countries. *Matern Child Nutr* 2008;1:24–85.
- Kilic I, Ozalp I, Coskun T, et al. The effect of zinc-supplemented bread consumption on school children with asymptomatic zinc deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:167–71.
- Hambidge KM, Chavez MN, Brown RM, Walravens PA. Zinc nutritional status of young middle-income children and effects of consuming zinc-fortified breakfast cereals. *Am J Clin Nutr* 1979;32:2532–9.
- Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr* 2000;130:1378S–83S.
- Miller LV, Nancy F, Krebs, Hambidge KM. A mathematical model of zinc absorption in humans as a function of dietary zinc and phytate. *J Nutr* 2007;137:135–41.
- Fredlund K, Isaksson M, Rossander-Hulthen L, Almgren A, Sandberga AS. Absorption of zinc and retention of calcium: dose-dependent inhibition by phytate. *J Trace Elem Med Biol* 2006;20:49–57.
- López de Romaña D, Lönnerdal B, Brown KH. Absorption of zinc from wheat products fortified with iron and either zinc sulfate or zinc oxide. *Am J Clin Nutr* 2003;78:279–83.
- Ndiaye S, Ayad M. Enquête démographique et de santé au Sénégal. (Health and demographic survey in Senegal.) Calverton, MD: Centre de Recherche pour le Développement Humain (Research Center for Human Development) [Senegal] and ORC Macro Inc, 2006:188–91.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary reference intakes. The essential guide to nutrient requirements*. Washington, DC: National Academy Press, 2006.
- US Food and Drug Administration. 2010. Database of select committee on GRAS substances (SCOGS) reviews. Silver Spring, MD: US Food and Drug Administration. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cfn/fcnNavigation.cfm?pt=scogsListing> (cited 3 August 2010).
- Brown KH, Hambidge KM, Ranum P, Tyler V; Zinc Fortification Working Group. Zinc fortification of cereal flours: current recommendations and research needs. *Food Nutr Bull* 2010;31:S62–74.
- Herman S, Griffin IJ, Suwari S, et al. Cofortification of iron-fortified flour with zinc sulfate, but not zinc oxide, decreases iron absorption in Indonesian children. *Am J Clin Nutr* 2002;76:813–7.
- Hotz C, DeHaene J, Woodhouse LR, Villalpando S, Rivera JA, King JC. Zinc absorption from zinc oxide, zinc sulfate, zinc oxide + EDTA, or sodium-zinc EDTA does not differ when added as fortificants to maize tortillas. *J Nutr* 2005;135:1102–5.
- Fairweather-Tait SJ, Wharf SG, Fox TE. Zinc absorption in infants fed iron-fortified weaning food. *Am J Clin Nutr* 1995;62:785–9.
- Lartey A, Manu A, Brown KH, Peerson JM, Dewey KG. A randomized, community-based trial of the effects of improved, centrally processed complementary foods on growth and micronutrient status of Ghanaian infants from 6 to 12 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1999;70:391–404.
- Oelofse A, Van Raaij JM, Benade AJ, Dhansay MA, Tolboom JJ, Hautvast JG. The effect of a micronutrient fortified complementary food on micronutrient status, growth and development of 6- to 12-month-old disadvantaged urban South African infants. *Int J Food Sci Nutr* 2003;54:399–407.
- Lutter CK, Rodriguez A, Fuenmayor G, Avila L, Sempértegui F, Escobar J. Growth and micronutrient status in children receiving a fortified complementary food. *J Nutr* 2008;138:379–88.





Plasma Zinc Concentration Increases within 2 Weeks in Healthy Senegalese Men Given Liquid Supplemental Zinc, but Not Zinc-Fortified Wheat Bread^{1–4}

Grant J. Aaron,^{5,6} Nafissatou Ba Lo,⁷ Sonja Y. Hess,⁵ Amadou T. Guiro,⁷ Salimata Wade,⁷ and Kenneth H. Brown^{5,6*}

⁵Program in International and Community Nutrition, and Department of Nutrition, University of California, Davis, CA 95616; ⁶Helen Keller International, Africa Regional Office, BP 29 898, Dakar-Yoff, Senegal; and ⁷Laboratoire de Nutrition, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005 Dakar-Fann, Dakar, Senegal

Abstract

The responsiveness of plasma zinc concentration to zinc fortification is uncertain. Our objective in this study was to determine whether plasma zinc concentration changes in response to consuming zinc-fortified foods or liquid zinc supplements. We conducted a 4-wk double-blind, randomized trial among 132 healthy Senegalese men ≥ 18 y. Participants received 1 of 4 interventions: 1) (control) 200 g/d of wheat bread fortified with iron and folic acid, but not zinc, and a liquid multivitamin supplement without zinc between meals; 2) (zinc supplement) the same bread and the same multivitamin supplement with 15 mg zinc as ZnSO₄ added; 3) (moderate zinc fortification) the same bread cofortified with 7.5 mg zinc as ZnO and the same multivitamin supplement without zinc; or 4) (high zinc fortification) the same bread cofortified with 15 mg zinc as ZnO and the same multivitamin supplement without zinc. Fasting blood samples were collected twice at baseline and at d 15 and 29 of the intervention. There was no significant interaction between group and study day ($P = 0.11$). However, at d 15, the mean change in plasma zinc concentration in the zinc-supplemented group was greater than in the placebo and fortification groups ($\approx 0.72 \mu\text{mol/L}$ vs. -0.09 to $0.03 \mu\text{mol/L}$; $P = 0.05$). At d 29 there were no significant group-wise differences. Across all time points, the zinc-supplemented group was the only group where plasma zinc concentration increased from baseline ($P = 0.006$). These results suggest that plasma zinc concentration may not be a sufficiently sensitive indicator to evaluate short-term responses to zinc fortification. J. Nutr. 141: 1369–1374, 2011.

Introduction

Zinc is an essential micronutrient, which is required for normal growth, immune function, neuro-behavioral development, and pregnancy outcomes (1,2). Despite the biological importance of zinc, sensitive and specific biochemical indicators of individual zinc status are lacking. For population-based assessments, several international agencies and expert groups have proposed that the concentration of zinc in blood plasma (or serum) is the best available biomarker to assess a population's risk of zinc deficiency

(1–3). Likewise, 2 recent reviews concluded that plasma zinc concentration is a useful biomarker of a population's response to zinc supplementation (4) and plasma zinc concentration responds to both zinc depletion and repletion in adult volunteers (3). Moreover, a recently completed study in U.S. men found that plasma zinc concentration responded within just a few days to both the initiation and discontinuation of zinc supplementation (5).

Less information is available with regard to the response of plasma zinc concentration following zinc fortification interventions, but several studies found no impact on plasma zinc concentration (6,7). Because of the limited number of available studies, it is not possible to determine whether the observed differences between responses to supplementation and fortification in previous studies were related to age, the presence of infection, the presence of other micronutrient deficiencies, the types of zinc-fortified products that were provided, the level of zinc fortification, or other factors. In addition, technical factors surrounding the collection and analysis of blood samples may have been responsible for some of the inconsistent responses that were observed. Thus, additional information is needed to de-

¹ Supported by the Global Alliance for Improved Nutrition (Geneva, Switzerland) and the Michael and Susan Dell Foundation (Austin, TX). DSM Nutritionals donated the fortificants and Les Grands Moulins de Dakar provided the flour and prepared the breads for the study.

² Author disclosures: G. J. Aaron, N. Ba Lo, S. Y. Hess, A. T. Guiro, S. Wade, and K. H. Brown, no conflicts of interest.

³ Supplemental Figure 1 is available from the "Online Supporting Material" link in the online posting of the article and from the same link in the online table of contents at jn.nutrition.org.

⁴ This trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT00944723.

* To whom correspondence should be addressed. E-mail: khbrown@ucdavis.edu.

termine whether plasma zinc concentration is a useful biomarker to assess population responses to zinc fortification programs. The objective of the present study was to determine whether plasma zinc concentration of adult males changed in response to additional zinc consumption when provided as either zinc-fortified wheat bread products or liquid zinc supplements.

Participants and Methods

Experimental design and study site. The study was designed as a double-blind, randomized, clinical trial. The clinical phase of the project was carried out from August 2009 to December 2009 in a community clinic based in a low-income urban neighborhood in Dakar, Senegal. Eligible participants were randomly assigned to 1 of 4 dietary treatment groups using a computer-generated block randomization scheme with a block length of 4 (8). Study participants reported to a feeding center 6 d/wk for 4 consecutive wk. Fasting venous blood samples were drawn on 2 occasions within 1 wk prior to the start of the 4-wk intervention and 15 and 29 d after initiating the assigned dietary treatment. The rationale for collecting 2 blood samples prior to the intervention was to account for normal day-to-day variation in plasma zinc concentrations (9). The mean of the preintervention blood draws (controlling for potential confounding factors) served as the baseline plasma zinc concentration for subsequent analyses.

Participants. Apparently healthy males ≥ 18 y were invited to participate in the study. Participants were recruited by word of mouth from the catchment neighborhoods surrounding the clinic. The rationale for choosing adult males was to assess the impact of zinc fortification among individuals who could consume relatively large amounts of zinc-fortified bread and to avoid possible female hormone-related fluctuations in plasma zinc concentrations throughout the month (1,10,11). Individuals who satisfied the following inclusion criteria were identified during the preliminary screening sessions: hemoglobin concentrations > 100 g/L, no history of chronic illnesses, no acute illnesses or medication use for 2 wk preceding the intervention, no use of vitamin or mineral supplements, and no consumption of commercially available zinc-fortified foods. All men attending the screening sessions received a single 400-mg dose of the anthelmintic drug albendazole. All participants provided their written informed consent to participate in the study. The Institutional Review Boards at the University of California, Davis and the University Cheikh Anta Diop, Dakar, Senegal and the human participants review committee of the Senegalese Ministry of Health approved the study protocol.

Interventions. The 4 treatment groups and the specific interventions were as follows: 1) negative control group (control) received 200 g/d of wheat bread fortified with iron and folic acid, but not zinc, and a liquid multivitamin supplement without zinc between meals; 2) zinc supplementation group (SZn15)⁸ received the same bread product and the same liquid multivitamin supplement between meals with 15 mg zinc as zinc sulfate added to the liquid supplement; 3) moderate zinc fortification group (FZn7.5) received the same bread product cofortified with 7.5 mg zinc as zinc oxide per 200-g serving and the same liquid multivitamin supplement without zinc between meals; or 4) high zinc fortification group (FZn15) received the same bread product cofortified with 15 mg zinc as zinc oxide per 200-g serving and the same liquid multivitamin supplement without zinc between meals. The bread products were prepared following a Senegalese recipe for baguettes using 55% extraction wheat flour (595 g/kg dough), water (381 g/kg dough), salt (12 g/kg dough), yeast (9 g/kg dough), and a baking enzyme additive (3 g/kg dough). In accordance with current national recommendations in Senegal (12), the wheat flour used in all breads was fortified with 15

mg iron as ferrous fumarate and 1.5 mg folic acid per kg of flour, corresponding to 1.8 mg iron and 178.5 μ g folic acid/200-g serving of bread. The intrinsic zinc and phytate contents per 200-g serving of this bread product were ~ 1.1 mg and ~ 60 mg, respectively, which corresponded with an estimated phytate:zinc molar ratio of 5.5. For the FZn7.5 and FZn15 breads, wheat flour was fortified with the same amounts of ferrous fumarate and folic acid and with either 63 or 126 mg zinc as zinc oxide/kg of flour, corresponding to either 7.5 or 15 mg zinc/200-g serving of bread. The estimated phytate:zinc molar ratios for the FZn7.5 and FZn15 breads were 0.7 and 0.3, respectively. A 5% overage was added to account for mineral losses incurred during the fortification process. The acceptability of the bread products was confirmed in a sensory evaluation study among adult Senegalese panelists (13). Samples were analyzed periodically to ensure that fortification levels were appropriate.

The liquid multivitamin supplements were masked for taste and were prepared from a strawberry-flavored syrup concentrate that was diluted with purified water. The liquid vitamin supplements (with or without zinc) provided the following amounts of vitamins/10 mL dose: vitamin B-6, 0.4 mg; vitamin B-12, 0.8 mg; biotin, 9.9 μ g; vitamin C, 29.7 mg; niacin, 5.3 mg; riboflavin, 0.4 mg; pantothenic acid, 1.7 mg; and thiamin, 0.4 mg. The supplement with added zinc provided 15 mg zinc as zinc sulfate monohydrate/10 mL dose. The mineral contents of the supplements were verified by an independent laboratory.

Participants consumed under supervision the respective bread products during a morning meal. Breads were served with fruit jam or butter, depending on individual preference, and a non-zinc-containing juice prepared from purified water and fruit juice concentrate. Research staff gave the liquid vitamin (or vitamin + zinc) supplement to participants after a 90-min fast following the meal. Participants were allowed to leave the feeding center after consuming the supplements; however, they were requested to fast for an additional 30 min to permit maximum absorption of the supplement. During the course of the study, participants were instructed to continue eating as they normally would during home meals but to avoid any zinc-fortified food products and any vitamin-mineral supplements. Adherence to study protocols was assessed by research staff through interviews with participants during each clinic visit. Non-compliant participants, as well as participants who were absent for > 2 consecutive days, were dropped from the study.

Data collection procedures. The main outcome of the study was the change in plasma zinc concentration following the start of the intervention. Data were also collected on the plasma concentrations of the acute phase proteins α_1 -acid-glycoprotein (AGP) and C-reactive protein (CRP), self-reported morbidity, as well as cigarette smoking, because these have been demonstrated to affect the plasma zinc concentration (1). Weight, height, and hemoglobin concentrations were measured during the preliminary screening sessions. Weight was measured to 50-g precision on a frequently calibrated scale (Ohaus Model DP150; Ohaus) and height was measured to 0.1-cm precision (Seca Model 225; Seca). Hemoglobin concentration in capillary blood was measured with a HemoCue photometer (Hemocue model 201+; Hemocue). During each clinic visit, a detailed history of morbidity during the intervening period was collected, which included any signs or symptoms of illness, such as fever, diarrhea (stool number and consistency), cough, nasal secretions, and respiratory distress. Participant-reported consultations with an external medical doctor were recorded, along with symptoms, diagnosis, and treatment. If a participant reported illness symptoms, temperature was measured and the individual was referred to a primary care physician based at the clinic.

Venous blood specimens were collected from participants after an overnight fast following the International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG)-recommended procedures (1). For participants with symptoms of illness on the day of a scheduled preintervention blood drawing, the blood draw was postponed until after recovery from the illness. If the illness occurred after the intervention started, feeding was continued and the blood test was postponed until 2 d after recovery from the illness, resulting in a prolongation of the total duration of the study for these participants. The times of the blood draws and prior food intake were recorded. A tourniquet was placed for a standardized

⁸ Abbreviations used: AGP, α_1 -acid glycoprotein; FZn7.5, moderate zinc fortification group; FZn15, high zinc fortification group; CHORI, Children's Hospital of Oakland Research Institute; CRP, C-reactive protein; ICP-AES, inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry; IZiNCG, International Zinc Nutrition Consultative Group; SZn15, zinc supplementation group.

amount of time (<1 min) prior to the blood draw while participants remained in a seated position. At each blood draw, 7 mL of blood was drawn from the antecubital vein using stainless steel needles (Ref-367281; BD) and collected into a single trace element-free polyethylene tube containing zinc-free heparin (Ref-01.1604.400; Sarstedt). The tubes were placed into an insulated cooler over ice immediately following the blood draw and plasma was separated from heparinized blood within 1 h of blood collection by centrifuging at $985 \times g$ (EBA 20 centrifuge model 2002; Andreas Hettich) for 12 min. Plasma samples were aliquoted into plastic-capped polyethylene tubes (Ref-2840; Perfector Scientific) on site, transported to the local university laboratory over ice, and stored at -80°C . Plasma samples were transported with dry ice to the Children's Hospital Oakland Research Institute (CHORI) for analysis.

Biochemical analyses. Plasma zinc concentrations were determined by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) (14) following overnight digestion in 70% nitric acid (OmniTrace; VWR International). Samples were diluted in trace element-free water to 5.5% nitric acid concentration, vortexed for 20 s, and then clarified by centrifugation at $3220 \times g$ for 10 min at room temperature (5810R centrifuge with swing bucket rotor A-4-81; Eppendorf). Prepared samples were then introduced into the ICP-AES (Vista Pro with SPSS autosampler; Varian) for determination of zinc along with the reference materials Seronorm Trace Elements Serum L-1 and L-2 (Accurate Chemical and Scientific) and an internal pooled plasma control. Elemental values were calibrated using National Institute of Standards and Technology traceable standards. All samples were run in duplicate and all samples from the same participant were analyzed in the same ICP-AES run. All reagents and materials used during the analyses were either certified trace metal-free or were frequently tested for contamination.

AGP and CRP were analyzed in blood plasma using radial immunodiffusion (Kent Labs for AGP and The Binding Site for CRP).

Hematologic and biochemical reference values. Anemia was defined as a hemoglobin concentration < 110 g/L (15). Men with plasma AGP concentrations > 1.2 g/L or plasma CRP concentrations > 10 mg/L were defined as having subclinical infection. Low plasma zinc concentrations were defined as < 10.7 $\mu\text{mol/L}$ (< 70 $\mu\text{g/dL}$), which is the reference value suggested by IZiNCG for fasting adult males at mid-morning (1).

Sample size and statistical analyses. We estimated that a total of 30 participants enrolled in each of the 4 groups would be sufficient to permit detection of inter-group differences with an effect size of ~ 0.9 based upon a 5% significance level and 80% power. This effect size was selected based on results from a zinc supplementation study our group recently completed using similar doses of zinc provided as supplements to healthy American adult males (5).

Descriptive statistics were used to examine all variables. Baseline characteristics were compared by group by using ANOVA for continuous variables and Pearson's chi-square test for proportions. To assess intra-individual differences in plasma zinc concentration at baseline, paired *t* tests were used, and Pearson correlation coefficients were computed. Linear mixed model repeated-measures ANCOVA (MIXED procedure) was used to compare changes in plasma zinc among groups from the mean of both baseline blood draws to the end of the study, with adjustment for baseline plasma zinc concentration and other relevant variables. The following classes of variables were evaluated: baseline characteristics (BMI and age), smoking behavior, methodological factors (time of blood draw, elapsed time between last food intake and blood draw, and elapsed time between separation of plasma from whole blood), and presence of elevated acute phase proteins (CRP and AGP). All interactions with group, study day, and group \times study day were tested for significance and nonsignificant terms were removed following a stepwise procedure. Biochemical data from all participants who commenced the intervention were included in the data analyses. The Bonferroni post hoc multiple comparisons test was used if significant differences between group means were present. The level of significance for all tests was set at $P < 0.05$. Statistical analyses were performed using SPSS software (version 18; SPSS Institute). Group assignments remained masked until all biochemical and statistical analyses were completed.

Values in the text are mean \pm SD for unadjusted means and SE for adjusted means unless otherwise noted.

Results

Accuracy and precision of laboratory tests. Reference materials were analyzed with each ICP-AES run and were within acceptable ranges according to the manufacturer's specifications. The CV for inter-assay precision of zinc concentration for Seronorm Trace Elements Serum L-1 and L-2 were 3.2 and 7.9%, respectively, over 11 analytical runs, and the CV for inter-assay precision for zinc concentration in the pooled plasma samples was 7.9%. The CV of intra-assay precision for zinc concentration was 7.9% ($n = 10$ in 1 run).

Study profile. Of the 160 adults originally screened, 144 participants were enrolled and 129 (90% of those enrolled) completed the study (Supplemental Fig. 1). We defined dropouts as those 15 men who were assigned to study groups (control: 6; SZn15: 2; FZn7.5: 3; FZn15: 4) but failed to complete all study protocols. Three of the 15 dropouts completed the d-15 blood draw (FZn7.5: 2; FZn15: 1). Data from these participants were included in subsequent analyses. There were no significant group-wise differences at baseline for age, BMI, or initial plasma zinc concentration among those who did or did not complete the study.

Baseline characteristics. All men assigned to study groups were included in the analysis of baseline characteristics (Table 1). There were no significant group-wise differences for age, anthropometric indices, or level of education; however, there was a smaller proportion of smokers in the SZn15 group compared with the other intervention groups ($P = 0.007$).

Plasma samples for preintervention zinc concentrations were collected on 2 occasions 1–2 d apart. Both measures were normally distributed, significantly correlated ($r = 0.61$; $P < 0.001$) (Fig. 1), and not significantly different from one another (paired *t* test, $P = 0.99$). The within-subject percent difference in baseline plasma zinc concentration was (mean \pm SD) $9.5 \pm 8.0\%$ ($n = 144$). The within- and between-subject SD for the baseline plasma zinc measurements were 0.9 and 1.5 $\mu\text{mol/L}$, respectively. There were no significant group-wise differences among the mean baseline plasma zinc concentrations (Table 1), which ranged from ~ 9.7 to 10.3 $\mu\text{mol/L}$ among treatment groups (overall baseline mean 9.9 $\mu\text{mol/L}$). Overall, $\sim 72\%$ of participants had plasma zinc concentrations that were below the cutoff of 10.7 $\mu\text{mol/L}$ (70 $\mu\text{g/dL}$) suggested by IZiNCG (1).

Factors associated with plasma zinc concentration. The baseline plasma zinc concentrations were not related to age ($P = 0.18$), BMI ($P = 0.75$), or smoking status ($P = 0.21$). Blood samples were drawn at 0830 ± 43 min, which was $11:34$ h ± 58 min since the last meal. Whole blood was centrifuged within 18 ± 17 min from the time of blood draw and plasma was separated from heparinized blood within 18 ± 5 min from the time of centrifuge. A sample from 1 blood draw was removed from consideration, because the participant was not in a fasted state at the time of the blood draw. Of these methodological variables, only the elapsed time since the last meal was correlated with the plasma zinc concentration ($r = 0.096$; $P = 0.025$) and was used as a covariate in subsequent analyses. Specifically, the plasma zinc concentration increased by ~ 0.15 $\mu\text{mol/L}$ with each additional hour of fasting between 8 and 19 h.

TABLE 1 Characteristics at baseline in healthy Senegalese men in the control, liquid supplemental zinc, and 2 zinc-fortified wheat bread groups¹

	Treatment group				P	All participants
	Control	SZn15	FZn7.5	FZn15		
n	39	34	36	35		144
Age, y	25.2 ± 6.6	24.7 ± 8.3	25.0 ± 6.7	24.3 ± 5.5	0.94	24.8 ± 6.8
Weight, kg	67.5 ± 11.0	65.3 ± 8.4	66.8 ± 8.4	66.2 ± 9.1	0.79	66.5 ± 9.3
Height, m	1.78 ± 0.06	1.80 ± 0.08	1.78 ± 0.07	1.78 ± 0.07	0.71	1.78 ± 0.07
BMI, kg/m ²	21.2 ± 3	20.2 ± 2.2	21.2 ± 2.4	20.9 ± 2.9	0.35	20.9 ± 2.7
Literate, %	84.6	85.3	86.5	85.7	0.99	85.5
Education, %					0.81	
None	2.6	0.0	2.7	5.7		2.8
Religious	5.1	5.9	0.0	0.0		2.8
Primary	28.2	26.5	29.7	22.9		26.9
Secondary	33.3	44.1	43.2	45.7		41.4
University	30.8	23.5	24.3	25.7		26.2
Smoking, %					0.007	
None	71.8	97.1	78.4	68.6		78.6
≤5 cigarettes/d	15.4	0.0	0.0	14.3		7.6
>5 cigarettes/d	12.8	2.9	21.6	17.1		13.8
Hemoglobin, g/L	143 ± 17	137 ± 16	137 ± 17	140 ± 19	0.45	139 ± 17
<110 g/L, %	0.0	5.9	5.4	5.7	0.51	4.1
Plasma zinc, ^{2,3} μmol/L	10.2 ± 1.1	9.9 ± 1.15	9.6 ± 1.3	10.2 ± 1.6	0.18	10.0 ± 1.3
<10.7 μmol/L, %	64.1	76.5	80.6	65.7	0.32	71.5
Elevated CRP, >10 mg/L, %	6.4	5.9	6.9	4.3	0.92	5.9
Elevated AGP, >1.2 mg/L, %	15.4	20.6	16.7	10.0	0.39	15.6

¹ All values are mean ± SD or percent as indicated; to compare differences: ANOVA for continuous variables, Pearson's chi-square test for proportions. *P* < 0.05 significantly different.

² Mean of 2 preintervention values calculated prior to calculating group-wise mean.

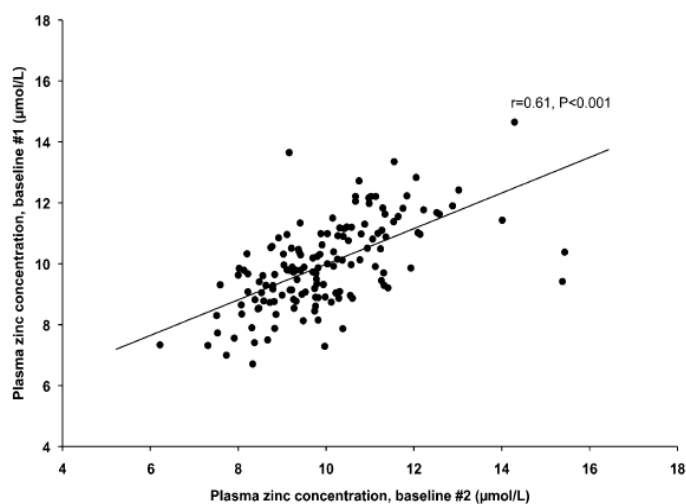
³ To convert plasma zinc to μg/dL, divide by 0.153.

There were no effects of self-reported morbidity or medication usage on plasma zinc concentrations (data not shown). However, baseline samples with elevated CRP concentrations (*n* = 17) had plasma zinc concentrations that were ~0.6 μmol/L lower compared with samples with normal CRP concentrations (9.3 ± 1.3 vs. 10.0 ± 1.3 μmol/L; *P* = 0.06). The baseline plasma zinc concentrations did not differ for samples with normal or elevated AGP concentrations (*n* = 45); however, we decided a priori that AGP would be included as a covariate in subsequent

analyses. When controlling for both CRP and AGP concentrations, elevated CRP remained significant in the final ANCOVA model (data not shown).

Effects of the intervention. Compliance for the 129 participants who completed the study was 100%. Controlling for baseline plasma zinc concentration and relevant covariates, as described in "Methods," there was no significant interaction between study group and study day when expressed as a categorical variable

FIGURE 1 Relation between plasma zinc concentrations in fasting, healthy Senegalese men at baseline in samples collected 1–2 d apart. Means did not differ, *n* = 144 (*P* = 0.99).



($P = 0.11$) (Table 2). However, across all time points, the zinc-supplemented group was the only group that increased in plasma zinc concentration from baseline ($P = 0.006$). Moreover, when comparing changes across groups by blood draw, at d 15, the adjusted mean change in plasma zinc concentration was $\sim 0.7 \mu\text{mol/L}$ greater in the SZn15 group than in the other groups ($P = 0.05$). However, at d 29, plasma zinc concentrations decreased by $\sim 0.3 \mu\text{mol/L}$ in the SZn15 group and increased by $\sim 0.3 \mu\text{mol/L}$ in the fortification group and $0.5 \mu\text{mol/L}$ in the control group; these group-wise differences were not significant at d 29 ($P = 0.53$).

Discussion

The results from this study show that the plasma zinc concentration responded to short-term zinc supplementation but not to short-term zinc fortification. We found a significant increase at d 15, but not d 29, in the plasma zinc concentration in the group that received additional zinc from a liquid zinc supplement, but not in the groups that received additional zinc from zinc-fortified bread products.

The strengths of the present study include its double-blind, randomized design and direct monitoring of the bread and supplement consumption. The study assessed the effects of consuming zinc-fortified bread products at moderate and high levels of zinc fortification and included both positive and negative control groups. In addition, the groups were not significantly different at baseline, except for smoking behavior, which was not associated with plasma zinc concentration, and the baseline characteristics of participants who completed (90%) or exited early from the study did not differ. Thus, the significant changes within the group that received additional zinc from a liquid zinc supplement are likely due to the intervention itself. One weakness of the study was that the sample size was powered to detect an effect size of ~ 0.9 , based on an earlier study of zinc supplementation of adult male volunteers (5), but the observed effect sizes following zinc supplementation only ranged from 0.4 to 0.6 in the current study (depending upon whether d 15 or 29 values were used for the calculation). Therefore, it is likely that the study was underpowered to detect the smaller differences that occurred in response to the intervention. However, because there was no evidence of a response to the intervention within the groups that received additional zinc from zinc-fortified breads, it seems unlikely that the overall conclusions would change with a larger sample size.

The magnitude and pattern of response in the group that received additional zinc from the liquid zinc supplement were somewhat surprising. The peak in plasma zinc concentration in the zinc-supplemented group at d 15 and subsequent decline at d 29 were consistent with the pattern of response in 2 earlier zinc supplementation studies by Sullivan et al. (16,17). In these studies, plasma zinc concentration peaked at d 6 and subsequently declined at d 15 in the group that received 50 mg/d supplemental zinc (as zinc gluconate). However, in a more recently completed zinc supplementation study that used similar doses of supplemental zinc to the present study (10 mg/d or 20 mg/d as zinc sulfate), the plasma zinc concentration responded in as few as 5 d in the zinc-supplemented groups and remained elevated throughout the 21-d supplementation period (5). The findings from the present study raise the possibility that the decline in the plasma zinc concentration in the supplementation group may be due to a homeostatic downregulation of zinc transporters over time (18–20). However, it is also possible that methodological factors, such as consuming the supplements 90 min after the test meal, may have affected zinc absorption or postabsorptive metabolism (5). Further research is needed to address these inconsistencies among different trials.

The participants who received zinc-fortified breads in the present study had increases in plasma zinc concentrations of $\sim 0.3 \mu\text{mol/L}$ from baseline to d 29, although this did not differ from baseline values (FZn7.5: $P = 0.89$; FZn15: $P = 0.37$) and was within the range of expected day-to-day variation, as determined from the baseline samples. Moreover, the men in the control group had a similar increase in plasma zinc concentration from baseline to d 29. This lack of response in the groups that received additional zinc from zinc-fortified breads is consistent with 2 recently completed studies that used the plasma zinc concentration to assess the impact of zinc fortification interventions in young children. In 1 of these studies in which zinc-fortified cereal porridges were provided to young Peruvian children for 6 mo, those who received 3 mg zinc/d as a supplement had a significant increase in plasma zinc concentration, whereas those who received the same amount of zinc in a fortified porridge had no significant change in plasma zinc levels (21). In another recently completed 2-wk study among young Senegalese children, those who received 6 mg zinc/d as a liquid zinc supplement had a significant increase in plasma zinc concentration, whereas those who received the same amount of zinc from zinc-fortified cereal porridge did not respond (22).

In this study, the chemical form of additional zinc differed for the zinc supplement (zinc sulfate) and the zinc-fortified food

TABLE 2 Changes in the plasma zinc concentration in healthy Senegalese men in the control, liquid supplemental zinc, and 2 zinc-fortified wheat bread groups^{1,2}

	Treatment group				P^4
	Control	SZn15	FZn7.5	FZn15	
n	33	32	35	32	
Change in plasma zinc, ³ $\mu\text{mol/L}$					
Baseline to d 15	0.03 ± 0.23^a	0.72 ± 0.24^b	-0.09 ± 0.23^a	-0.03 ± 0.23^a	0.05
Baseline to d 29	0.47 ± 0.23	0.44 ± 0.23	0.30 ± 0.23	0.32 ± 0.24	0.53
P^5	0.10	0.006	0.89	0.37	

¹ Values are mean \pm SE. Means in a row with superscripts without a common letter differ, $P < 0.05$

² Data were analyzed by a mixed model ANCOVA with control for baseline plasma zinc concentration, CRP ($>10 \text{ mg/L}$), AGP ($>1.2 \text{ mg/L}$), and time since last meal.

³ To convert plasma zinc to $\mu\text{g/dL}$, divide by 0.153.

⁴ Between group.

⁵ Within group.

(zinc oxide). It is arguable that the response of plasma zinc to fortification may depend on the chemical form of zinc or the use of potential enhancers of zinc absorption, such as exogenous phytase. However, based on the available evidence, zinc is equally well absorbed when foods are fortified with either zinc oxide or zinc sulfate (23) and exogenous phytase would be expected to enhance zinc absorption only when the phytate content of the diet is high (24). The phytate:zinc molar ratios of the 2 zinc-fortified breads were just 0.3 and 0.7, which would be expected to exert very little influence on total zinc absorption.

Results from the present study add to the existing knowledge on the usefulness of plasma zinc concentration for evaluating the impact of zinc fortification programs. Based on the information available, plasma zinc concentration may not be a suitable biomarker to assess the impact of short-term exposure to zinc fortification. However, results from a recently completed 3-y evaluation of a mass fortification program in China raise the possibility that plasma zinc concentration may respond to longer term fortification interventions. In the China evaluation, there was a small but significant increase in mean serum zinc concentrations among women of childbearing age after 24 and 36 mo of exposure to zinc fortification, but not after 12 mo (25). These findings raise several research questions. First, the duration of exposure to fortification interventions needs to undergo further investigation. Moreover, studies are needed to assess the metabolism of zinc absorbed from zinc-fortified foods and to determine whether functional benefits may be derived from zinc fortification even when there is no change in the serum zinc concentration.

In summary, findings from the present study indicate that the plasma zinc concentration may not be a sufficiently sensitive indicator to evaluate short-term responses to zinc fortification programs, even though the available evidence indicates that zinc fortification can increase dietary zinc intake and total daily zinc absorption (2). Because of these potential benefits of zinc fortification programs and the low cost of adding zinc to micronutrient premixes used in already planned or existing interventions, it is still advisable to include zinc in fortification programs implemented in populations with an elevated risk of zinc deficiency.

Acknowledgments

We appreciate the assistance of Rosalind S. Gibson and Karl B. Bailey (University of Otago, Dunedin, New Zealand) with study design and planning of laboratory analyses; K. Ryan Wessells (University of California, Davis), Sara E. Wuehler (Helen Keller International), and Nicole Dossou (Université Cheikh Anta Diop de Dakar) for assistance during the fieldwork; Janet C. King (CHORI) and David W. Killilea (CHORI) for assistance with biochemical analyses; Janet M. Peerson (University of California, Davis) for statistical consultation; and Shawn Baker (Helen Keller International) for the initial reviews and feedback on the manuscript. G.J.A., N.B.L., S.Y.H., K.H.B., S.W., and A.T.G. were responsible for the design of the study; G.J.A., N.B.L., and S.Y.H. implemented the research and supervised data collection; G.J.A. and N.B.L. completed the biochemical analyses; and G.J.A. completed the statistical analyses and drafted the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Literature Cited

1. Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, Gibson RS, King JC, Lonnerdal B, Ruel MT, Sandrom B, Wasantwisut E, et al. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZINCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull.* 2004;25:S99–203.
2. Hess SY, Lonnerdal B, Hotz C, Rivera JA, Brown KH. Recent advances in knowledge of zinc nutrition and human health. *Food Nutr Bull.* 2009;30:S5–11.
3. Lowe NM, Fekete K, Decsi T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2009;89:S2040–51.
4. Hess SY, Peerson JM, King JC, Brown KH. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. *Food Nutr Bull.* 2007;28:S403–29.
5. Wessells KR, Jorgensen JM, Hess SY, Woodhouse LR, Peerson JM, Brown KH. Plasma zinc concentration responds rapidly to the initiation and discontinuation of short-term zinc supplementation in healthy men. *J Nutr.* 2010;140:2128–33.
6. Brown KH, Wessells KR, Hess SY. Zinc bioavailability from zinc-fortified foods. *Int J Vitam Nutr Res.* 2007;77:174–81.
7. Hess SY, Brown KH. Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food Nutr Bull.* 2009;30:S79–107.
8. Dallal GE. Randomization plans [cited 2011 Apr 7]. Available from: www.randomization.com.
9. Hambidge KM, Goodall MJ, Stall C, Pritts J. Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1989;3:55–7.
10. Arnaud J, Touvier M, Galan P, Andriollo-Sanchez M, Ruffieux D, Roussel AM, Hercberg S, Favier A. Determinants of serum zinc concentrations in a population of French middle-age subjects (SU.VI. MAX cohort). *Eur J Clin Nutr.* 2010;64:1057–64.
11. Michos C, Kalfakakou V, Karkabounas S, Kiortsis D, Evangelou A. Changes in copper and zinc plasma concentrations during the normal menstrual cycle in women. *Gynecol Endocrinol.* 2010;26:250–5.
12. Helen Keller International (HKI) & Comité Sénégalais pour la Fortification des Aliments en Micronutriments (COSFAM). Formulation des taux de fortification de l'huile comestible en vitamine A et de la farine de ble tendre en fer/acide folique au Sénégal. Dakar-Yoff, Senegal: HKI; 2007.
13. Aaron GJ, Ba Lo N, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Acceptability of complementary foods and breads prepared from zinc-fortified cereal flours among young children and adults in Senegal. *J Food Sci.* 2011;76:S56–62.
14. Killilea DW, Ames BN. Magnesium deficiency accelerates cellular senescence in cultured human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:5768–73.
15. WHO/UNICEF/UNU. Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva: WHO; 2001.
16. Sullivan VK, Burnett FR, Cousins RJ. Metallothionein expression is increased in monocytes and erythrocytes of young men during zinc supplementation. *J Nutr.* 1998;128:707–13.
17. Sullivan VK, Cousins RJ. Competitive reverse transcriptase-polymerase chain reaction shows that dietary zinc supplementation in humans increases monocyte metallothionein mRNA levels. *J Nutr.* 1997;127:694–8.
18. Tran CD, Miller LV, Krebs NF, Lei S, Hambidge KM. Zinc absorption as a function of the dose of zinc sulfate in aqueous solution. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1570–3.
19. Beiseigel JM, Klevay LM, Johnson LK, Hunt JR. Zinc absorption adapts to zinc supplementation in postmenopausal women. *J Am Coll Nutr.* 2009;28:177–83.
20. Cragg RA, Phillips SR, Piper JM, Varma JS, Campbell FC, Mathers JC, Ford D. Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. *Gut.* 2005;54:469–78.
21. Brown KH, López de Romaña D, Arsenalet JE, Peerson JM, Penny ME. Comparison of the effects of zinc delivered in a fortified food or a liquid supplement on the growth, morbidity, and plasma zinc concentrations of young Peruvian children. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:538–47.
22. Ba Lo N, Aaron GJ, Hess SY, Guiro AT, Wade S, Brown KH. Plasma zinc concentration responds to short-term zinc supplementation, but not zinc fortification, in young children in Senegal. *Am J Clin Nutr.* Epub 2011 Apr 13.
23. Brown KH, Hambidge KM, Ranum P. Zinc fortification of cereal flours: current recommendations and research needs. *Food Nutr Bull.* 2010;31: S62–74.
24. Miller LV, Krebs NF, Hambidge KM. A mathematical model of zinc absorption in humans as a function of dietary zinc and phytate. *J Nutr.* 2007;137:135–41.
25. Sun J, Huo J, Li W, Wang L. [Observation on effectiveness of fortified flour on nutrition status improvement of poor area women in Weichang County of Hebei Province in China]. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2008;37:199–202.

Acceptability of Complementary Foods and Breads Prepared from Zinc-Fortified Cereal Flours among Young Children and Adults in Senegal

G.J. Aaron, N. Ba Lo, S.Y. Hess, A.T. Guiro, S. Wade, N.F. Ndiaye, J.-X. Guinard, and K.H. Brown

Abstract: We completed a series of studies to assess the acceptability of zinc-fortified, cereal-based complementary foods and zinc-fortified wheat breads. Young children and their caregivers completed acceptability tests with complementary foods fortified with iron only (60 mg iron as ferrous fumarate per kilogram cereal flour), or the same level of iron and zinc (240 mg zinc as zinc oxide per kilogram cereal flour), and the caregivers completed triangle taste tests to compare the same products. A separate group of adult participants completed acceptability tests with wheat breads fortified with iron and folic acid (15 mg iron as ferrous fumarate per kilogram flour and 1.5 mg folic acid per kilogram flour) or the same levels of iron-folic acid and 2 levels of zinc (63 mg zinc or 126 mg zinc as zinc oxide per kilogram flour). Finally, a threshold test was administered to another group of adult participants to compare nonfortified wheat bread to breads fortified with zinc in 80 mg increments ranging from 80 to 400 mg zinc as zinc oxide per kilogram flour. All products were acceptable when compared to non-zinc-fortified equivalents, and were well liked by the respective participants. For the triangle tests, caregivers were not able to detect significant differences between products. For threshold tests, adult participants detected differences in breads prepared from fortified wheat flour at 80 mg, 160 mg, and 320 mg zinc per kilogram flour, but not at 240 mg and 400 mg zinc per kilogram flour, respectively, when compared to nonfortified bread equivalents. Zinc fortification of cereal flours in the ranges of fortification that were tested does not adversely affect the acceptability of complementary foods and breads prepared from these flours.

Keywords: cereal flours, fortification, sensory evaluation, wheat, zinc

Practical Application: Fortification of staple food products is a low-cost approach to deliver additional micronutrients (including zinc) to large segments of a population. Determining the acceptability of products fortified with zinc is an important step in the development of zinc fortification programs.

Introduction

Zinc is an essential micronutrient necessary for optimal growth, immune function, and pregnancy outcomes (Brown and others 2004; Hess and others 2009). In low-income countries, young children and women of childbearing age are particularly susceptible to zinc deficiency, primarily due to limited intakes of absorbable zinc, high rates of endemic infections causing intestinal malabsorption, and/or relatively high age-specific requirements for growth or pregnancy and lactation (Solomons and Rosenberg 1984). The recent *Lancet* series on maternal and childhood undernutrition concluded that among children under 5, approx-

imately 4% of deaths and disability-adjusted life years (DALYs) are attributable to zinc deficiency (Black and others 2008). Thus, interventions targeted toward improving zinc nutrition may have substantial benefits in these high-risk populations. Zinc intervention strategies include supplementation, fortification, and dietary diversification/modification. The choice of strategies depends upon the extent and severity of zinc deficiency in different population subgroups, as well as financial and technological resources that are available to develop and sustain the intervention program (Brown and others 2004; Hess and others 2009).

Provided that the selected food vehicle(s) are centrally processed and are widely consumed by the target population, food fortification has numerous advantages; namely, it is a low-cost approach, which can deliver multiple micronutrients, including zinc, to large segments of a population without changing their food consumption patterns (Allen and others 2006). However, since young children consume relatively small amounts of food each day, zinc fortification levels of products targeted to them must be relatively high to ensure adequate zinc intakes. On the other hand, zinc fortification levels of products such as cereal flours that are included in mass fortification programs must be lower because of the wide range of consumption of these products by the general population. Therefore, to select appropriate zinc fortification

MS 20100535 Submitted 5/14/2010, Accepted 9/12/2010. Authors Aaron, Hess, and Brown are with Program in Intl. and Community Nutrition, and Dept. of Nutrition, Univ. of California, Davis, One Shields Ave., Davis CA 95616. Authors Aaron and Brown are with Helen Keller Intl., Africa Regional Office, BP 29 898, Dakar-Yoff, Senegal. Authors Ba Lo, Guiro, and Wade are with Laboratoire de Nutrition, Dépt. de Biologie Animale, Univ. Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar, Senegal. Author Ndiaye is with Institut de Technologie Alimentaire, Route des Pères Maristes, Dakar Hann, Senegal. Author Guinard is with Dept. of Food Science and Technology, Univ. of California, Davis, One Shields Ave., Davis, CA 95616. Direct inquiries to author Brown (E-mail: khbrown@ucdavis.edu).

levels, the following are required: (1) assessment of the distribution of zinc intake and consumption of the food vehicle by vulnerable population subgroups, namely young children and women of child bearing age; (2) assessment of the possibility of surpassing the upper level of zinc intake in those at risk of excessive zinc consumption, namely adult males; and (3) sensory and acceptability testing with the level of fortification that is deemed appropriate following the 2 foregoing requirements (Brown and others 2010).

Although sensory evaluation is an important component in the development of a fortification program, only a few studies have assessed the acceptability of products made from zinc-fortified cereal flours (wheat, maize, and so on). One sensory study among adults found that adding 880 mg of zinc (as zinc acetate) per kilogram of wheat flour had no effects on the baking qualities, or sensory properties of the dough (Saldamli and others 1996); however, only zinc chloride, zinc gluconate, zinc oxide, zinc stearate, and zinc sulfate are generally recognized as safe (GRAS) by the U.S. Food and Drug Administration (FDA). From the available evidence on the bioavailability of different forms of zinc (Hess and Brown 2009), and considering costs, zinc sulfate and zinc oxide are the most suitable candidates for zinc fortification programs, but zinc oxide is generally preferred because it is cheaper than zinc sulfate, and has greater stability since it is insoluble in water at neutral pH. López de Romaña and others (2002) found that breads and noodles prepared from wheat flour fortified with either zinc oxide or zinc sulfate at levels as high as 100 mg zinc per kilogram of flour were well liked by adult study participants in the United States. However, there are no published zinc sensory studies among young children or among populations in low-income countries at levels of fortification >100 mg zinc per kilogram of flour.

The objectives of the present trial were to assess the acceptability of zinc-fortified cereal-based complementary foods fed to young children (and their caregivers) and of zinc-fortified wheat breads consumed by adults. The research was conducted as part of a larger set of clinical trials designed to evaluate the use of plasma zinc concentration for assessing the impact of targeted and mass zinc fortification programs. The Institutional Review Boards at the Univ. of California at Davis, and the Univ. Cheikh Anta Diop, Dakar, Senegal approved the study protocol. The studies were conducted in the local languages of the participants (French and Wolof).

Materials and Methods

Trial 1: Acceptability of zinc-fortified complementary foods

Participants. For the acceptability trial involving complementary foods, apparently healthy male and female children 12 to 17 mo of age with length-for-age and weight-for-length Z-scores ≥ 2 and their caregivers were recruited from a low-income urban neighborhood in Dakar, Senegal. Both breastfeeding and nonbreastfeeding children were eligible; however, children were screened to include only those who were accustomed to eating complementary foods using a spoon. During the preliminary screening session, the study protocols were explained to the child's primary caregiver, who provided written consent to participate.

Complementary foods. A commercially available, nonfortified, cereal-based complementary food was obtained from a local producer (CO-AID; Sedhiou, Senegal). The product was composed of extruded flours of maize, millet, and cowpea, whole milk powder, ground roasted peanuts, sugar, and vanillin. Two study formulations were prepared using a batch mixing process.

Sample A was fortified with 60 mg iron as ferrous fumarate per kilogram dry weight of the complementary food (referred to as the non-zinc-fortified complementary food, CF-nonZn). Sample B was fortified with the same amount of ferrous fumarate plus 240 mg zinc as zinc oxide per kilogram dry weight of the complementary food (referred to as the zinc-fortified complementary food, CF-Zn). A 5% overage was added to replace mineral losses incurred during the fortification process, as determined during pilot studies. DSM Nutritional (Isando, South Africa) supplied all fortificants for the study. The levels of fortification provided 1.5 mg additional iron and either 0 or 6 mg additional zinc per 25 g dry weight serving of the complementary food (Table 1). The phytate content was 117 mg per 25 g serving, which corresponded to phytate:zinc ratios of 28.8 and 1.8 in the CF-nonZn and CF-Zn complementary foods, respectively. The mineral contents of the samples were verified at the UC Davis Agriculture and Natural Resources (UCD-ANR) analytical laboratory, and phytic acid content was measured at the Univ. of Otago Dept. of Nutrition and the Swiss Federal Inst. of Technology in Zurich. Energy and protein contents were estimated using a Senegalese food composition database (WorldFood Dietary Assessment System).

Preparation of complementary foods. The complementary foods (CF-nonZn and CF-Zn) were visually the same and were identifiable only by codes. Products were divided into 30 g dry weight servings, and to simulate storage conditions for the subsequent clinical trial, all samples were stored at 4 °C in precoded, hermetically sealed sachets. The rationale for providing 30 g servings was to account for food losses incurred during the feeding session (that is, spilling, regurgitating, residual food remaining in bowl), to ensure that 25 g could be potentially consumed by the young children. On the morning of each session, the dry cereal contents of the sachets were placed into preweighed, precoded plastic cereal bowls, mixed with 70-mL bottled water (Kirene;

Table 1—Nutrient composition of study products.

	Complementary food		Bread		
	CF-nonZn	CF-Zn	Bread-nonZn	Bread-modZn	Bread-highZn
Serving size (g) ^a	25 ^b	25	200	200	200
Energy (kcal)/serving	96.7	96.7	548	548	548
Protein (g)/serving	2.7	2.7	17.6	17.6	17.6
Added Folic Acid (μ g)/serving ^c	—	—	178.5	178.5	178.5
Added Iron (mg)/serving ^d	1.5	1.5	1.8	1.8	1.8
Added Zinc (mg)/serving ^e	0.0	6.0	0	7.5	15
Phytate (mg)/serving ^f	117	117	60	60	60
Phytate:zinc ratio ^g	28.8	1.8	5.5	0.7	0.3

CF-nonZn = non-zinc-fortified complementary food; CF-Zn = zinc-fortified complementary food; Bread-nonZn = non-zinc-fortified bread; Bread-modZn = moderate zinc-fortified bread; Bread-highZn = high zinc-fortified bread.

^aFor complementary food grams dry weight; for bread grams wet weight.

^bThirty gram portion served to child to account for food losses incurred during the feeding session (that is, spilling, regurgitating, residual food remaining in bowl).

^cIntrinsic folic acid content per serving: 16.7 μ g for complementary food; and 62 μ g for bread.

^dIntrinsic iron content per serving: 0.8 mg for complementary food; and 1.0 mg for bread.

^eIntrinsic zinc content per serving: 0.4 mg for complementary food; and 1.1 mg for bread.

^fPhytate content is expressed as the sum of hexanoisitol phosphate (IP6) and pentanoisitol phosphate (IP5).

^gPhytic acid: zinc ratio: mg phytate per day/660 mg zinc per day/65.4.

Dakar, Senegal) heated to 85 °C, and stirred until a uniform consistency was achieved.

Test protocol. *Assessment of liking by young children.* During a practice session scheduled 1 d prior to the start of the trial, the children received a randomly assigned test meal composed of 1 of the 2 precoded cereal porridges (CF-nonZn or CF-Zn). The purpose of the practice session was to familiarize the caregiver and child with the protocol and the environment, and to confirm that the child was accustomed to eating complementary foods. On each of the 2 subsequent study days, 1 of the 2 study products was offered in random order to avoid a sequence effect for assessment of liking of the respective products (Bovell-Benjamin and Guinard 2003).

Children were served by their primary caregivers in a semiprivate room at midmorning, 60 min after the last breastfeed (or 60 min after arrival to the center if not breastfeeding). Caregivers were instructed to continue feeding the cereal until their children ate all the food offered or refused further food. The total amount of time required to complete the meal was recorded, and the total amount consumed was determined by weighing the feeding bowls (iBalance 2500 bowl scale, 2500 g capacity \pm 0.5 g precision; My Weigh, Ariz., U.S.A.) before and after the meal, and subtracting any amounts spilled or regurgitated onto a preweighed bib. After the meal, caregivers were asked to provide proxy ratings of their impressions of their child's overall degree of liking (DOL) of the sample, using a modified 7-point hedonic scale from 1 "dislike a lot," through 4 "neither like nor dislike," to 7 "like a lot" (Bovell-Benjamin and Guinard 2003), by interpreting the nonverbal cues (for example, turning the head away, spitting out the food, pushing away or reaching for the spoon, accepting spoonfuls with an open mouth, and so on).

On each study day, the child's emotional state was assessed before the test meal was served by applying the WHO Motor Milestone Study emotional criteria (Wijnhoven and others 2004), which classify children's emotional state with respect to 2 domains as: (1) drowsy or awake and alert, and (2) calm, fussy, or crying. If a child was drowsy or crying and did not revert to awake and noncrying states when the meal was served, the feeding was delayed for up to 30 min. If the child did not have an adequate emotional state within this period of time, the test meal was postponed until the next day.

Difference test and assessment of liking by caregivers. During the 3 study days, after the children consumed the meals, a triangle test comparing samples CF-nonZn and CF-Zn was conducted with the caregivers to determine whether they were able to detect any differences between the 2 formulations. Caregivers received 3 cereal porridges by random assignment, 2 of which were the same and 1 of which was different, and were asked to indicate which test sample was different from the other 2 and to state whether the difference was large, moderate, or uncertain. In addition, on the last 2 study days, caregivers were asked to rate their own liking of the 3 products for flavor, texture, and overall DOL, using the 7-point hedonic scale. During all tests, caregivers were provided with water between samples.

Trial 2: Acceptability of zinc-fortified breads

Participants. For the acceptability trial involving bread products prepared from wheat flour, apparently healthy male and female adults 18 y of age or older were recruited from the employee base of the Senegalese Food Technology Inst. (Institut de Technologie Alimentaire, Dakar, Senegal), and for the threshold test, from the catchment area surrounding the test center in Dakar-Yoff, Seneg-

gal. During the preliminary screening session, participants read a brief description of the study and provided written consent to participate.

Breads. Nonfortified wheat flour (55% extraction) was obtained from a local producer (Les Grands Moulins de Dakar; Dakar, Senegal). For the acceptability component, 3 study formulations were prepared using a batch mixing process. Sample A was fortified with 15 mg iron as ferrous fumarate and 1.5 mg folic acid per kilogram of flour (referred to as the non-zinc-fortified bread, Bread-nonZn). Samples B and C were fortified with the same amounts of ferrous fumarate and folic acid, and with either 63 mg zinc (referred to as the moderate zinc-fortified bread, Bread-modZn) or 126 mg zinc (referred to as the high zinc-fortified bread, Bread-highZn) as zinc oxide per kilogram of flour. A 5% overage was added to account for mineral losses incurred during the fortification process. The levels of iron and folic acid fortification were consistent with current national recommendations in Senegal (HKI and COSFAM 2007), and zinc was added to achieve a final concentration of 0, 7.5, or 15 mg, respectively, per 200 g serving size of bread (Table 1). The bread products were prepared following a Senegalese recipe for baguettes, using the fortified wheat flour (595 g/kg dough), water (381g/kg dough), salt (12 g/kg dough), yeast (9 g/kg dough), and a baking enzyme additive (3 g/kg dough). The mineral contents of the samples were verified at the UCD-ANR analytical laboratory. Energy, protein, and phytic acid contents of the bread products were estimated using a Senegalese food composition database (WorldFood Dietary Assessment System).

For the threshold component, 5 study formulations were prepared using the same methods as above. Sample A was nonfortified. Samples B through E were fortified in 80 mg increments ranging from 80 to 400 mg zinc as zinc oxide per kilogram of flour, which provided 9.5 to 47.6 mg zinc per 200 g serving of bread.

Preparation of breads. The respective bread products were visually the same, and were identifiable only by codes. Breads were prepared by first mixing the dry ingredients and fortificant premix together with the flour for 15 min (Fork Mixer 15120; VMI, France). Dough was formed by adding water (and ice to maintain temperature for fermentation), and kneading at medium to high velocity for 16 min. Individual 200 g portions of dough were shaped into baguettes, coded with colored stickers, and placed in a fermentation chamber for approximately 1 h. The baguettes were then baked in an oven at 220 °C for 15 min, and cooled at room temperature. To simulate storage conditions for the subsequent clinical trial, all samples were stored at -20 °C in precoded hermetically sealed bags. On the morning of each session, breads were defrosted at room temperature for approximately 2 h before serving to participants.

Test protocol. *Assessment of liking by adults.* Participants for the acceptability component consumed the breads in a semiprivate room, at isolated tables partitioned by dividers. On day 1 of the study, participants were served each of the 3 study products plain (that is, without spreads), in random order to avoid a sequence effect. On day 2, this procedure was repeated, except that the breads were served with butter. Our rationale for serving the breads first plain, and then with a spread was 2-fold: (1) if participants were likely to detect zinc in the fortified products, they would have the greatest chance of doing so if the breads were served plain; and (2) as bread products are unlikely to be eaten plain in Senegal, we also wanted to test acceptability in a consumer friendly format. Participants were instructed to consume at least 1 bite of each product and to then rate their liking of the breads

for flavor, texture, and overall DOL, using the 7-point hedonic scale (Bovell-Benjamin and Guinard 2003). During all tests, adult participants were provided with water between samples.

Detection threshold of breads. For the bread threshold tests, the ascending method of limits was used with 2-of-5 difference tests across the 5 concentrations of zinc in the breads (Gallagher 2004). In the 2-of-5 test, the participant is presented with 5 samples, 3 of one kind and 2 of the other, and is asked to separate the samples in 2 groups, each of which contains the same product. Two example tests were administered using beverages to train participants in the methodology, and eligibility to continue with the zinc threshold detection tests was contingent upon participants correctly assembling the samples in both training sets. Participants returned to the testing center on 2 subsequent days to complete a series of 5 2-of-5 tests. The tests were administered under the same conditions as the acceptability testing (as described above). In each test, the nonzinc-containing bread was paired with 1 of the 5 zinc-containing breads. Thus, the aim of the detection threshold test was to distinguish the fortification level at which the sensory characteristics were significantly different from those of a nonfortified equivalent. The order of the tests was randomly assigned for each participant, and the bread pairings in duplicate and triplicate were randomly assigned for each threshold test. All samples were coded with 3-digit codes to mask their identity to the participant and research staff. During all tests, participants were provided with water between samples.

Sample size and statistical analysis

For the acceptability trial involving cereal-based complementary foods, a minimum sample size of 20 children was required to detect differences of 0.8 on the 7-point DOL scale with a probability of type I error <0.05 and power ≥ 0.80 . Data from the initial day of participant training were excluded from the final analyses. For the consumption data (amount consumed; velocity of consumption) and hedonic ratings, independent *t*-tests were used to determine differences among study products by day. To assess the pooled data from days 1 and 2, the Univariate General Linear Model (GLM) procedure was used with study product and study day as main effects and individual participant as a random effect. The interaction between study day and product was tested, and included in the final model when a marginal to significant interaction was present. Results are presented for all caregiver/child pairs that completed the study; however, a secondary analysis was also conducted by excluding those children presenting signs of illness (cough, diarrhea, fever) for a particular day.

For the triangle test with complementary foods, the guessing model (Lawless and Heymann 1998; Gallagher 2004) was used. With $\alpha = 0.05$, and power ≥ 0.80 , a total of 89 participants would be required to claim statistical significance; however, since the triangle test was not the primary outcome of the study, the sample size for the study was not increased. Rather, the repeated triangle tests from the test day, and days 1 and 2 were used, yielding a sample size of 63, of which 27 correct responses were required to claim statistical significance (Kunert and Meyners 1999).

For the acceptability trial involving wheat breads, a minimum sample size of 30 participants was required to detect differences of 0.8 on the 7-point DOL scale with a probability of type I error <0.05 and power ≥ 0.80 . One-way analysis of variance (ANOVA) was applied to the hedonic ratings for each study day to determine differences among study products. The Univariate GLM procedure was applied to the pooled data from all days with study product and study day as main effects and individual participant as

a random effect. The interaction between study day and product was tested, and included in the final model when a marginal to significant interaction was present. The Bonferroni *post hoc* multiple comparisons test was used if significant differences between group means were present.

For each of the 2-of-5 tests with breads, a minimum of 6 correct responses from 25 participants was required to claim statistical significance with $\alpha = 0.05$, and power ≥ 0.80 . Finally, a binary logistic regression model was applied to the data from the threshold tests with correct response as the dependent variable, and level of zinc, order, and duplicate/triplicate zinc-fortified bread pairings as covariates.

Statistical analyses were performed on SPSS (version 18, SPSS Chicago, Ill., U.S.A.). Researchers and participants were blinded during the testing, and product codes were unmasked only after statistical analyses were completed. Results are presented as mean \pm standard deviation (SD), or *n* (%) where applicable. All probabilities <0.05 were considered statistically significant.

Results

Trial 1: Acceptability of zinc-fortified complementary foods

A total of 24 young children and their caregivers were screened for eligibility. Three mother/child pairs left the study after the adaptation day; thus 21 completed the acceptability trial. The mean \pm SD values for food consumption, feeding duration, and velocity of food intake are shown by type of product in Table 2. There were no interactions found between product type and study day in all models tested, and the results were independent of the type of product received on the day of adaptation (data not shown). The children consumed 21 g (95% CI = $-47.9, 5.0$ g) less of the CF-Zn product than the CF-nonZn product on the 1st day of the study, but these results were not statistically significant ($P = 0.106$). On the 2nd day of the study, the children consumed 1 g (CI = $-29.1, 31.8$ g) more of the CF-Zn product than the CF-nonZn product, but again the results were not significant ($P = 0.659$). When both days of observation were pooled, the mean intake of the CF-Zn product was 7 g less (95% CI = $-13.2, -1.5$) than the CF-nonZn product ($P = 0.016$); however, when participants presenting signs of illness on a particular day were excluded ($n = 5$), the differences were no longer statistically significant ($P = 0.147$). As with the intake data, there were no significant differences in

Table 2—Young child cereal consumption, feeding duration, and velocity of food intake by type of complementary food product.

	CF-nonZn (<i>n</i> = 21)	CF-Zn (<i>n</i> = 21)	<i>P</i>
Food intake			
Day 1 (g) ^a	72.5 \pm 27.2 ^b	51.1 \pm 27.1	0.106
Day 2 (g)	65.9 \pm 31.8	72.6 \pm 32.4	0.659
Pooled (g)	70.3 \pm 28.2	65.5 \pm 31.8	0.016
Feeding duration			
Day 1 (min)	5.5 \pm 1.4	4.3 \pm 1.6	0.099
Day 2 (min)	4.6 \pm 1.6	4.6 \pm 1.6	0.924
Pooled (min)	4.5 \pm 1.6	5.2 \pm 1.5	0.037
Velocity of intake			
Day 1 (g/min)	14.9 \pm 7.7	12.2 \pm 8.3	0.481
Day 2 (g/min)	14.4 \pm 8.6	18.2 \pm 12.7	0.485
Pooled (g/min)	14.7 \pm 7.8	16.2 \pm 11.6	0.448

CF-nonZn = non-zinc-fortified complementary food; CF-Zn: zinc-fortified complementary food. For individual days independent *t*-tests, and for pooled results. Univariate GLM procedure with cereal and day as main effects, and participants as a random effect. The level of significance for all tests is $P < 0.05$.

^aFood intake is measured in grams wet weight.

^bMean \pm SD (all such values).

feeding duration on either day of observation; however, when results of both days were pooled, the feeding duration was significantly less for the CF-Zn product ($P = 0.037$) when all children were included in the analysis, and nonsignificant when excluding children presenting signs on illness ($P = 0.134$). There were no significant differences in the velocity of food intake (g/min) by study product for day 1 ($P = 0.481$), day 2 ($P = 0.485$), or both days pooled ($P = 0.448$) regardless of whether the ill children were included in the analysis.

The caregiver proxy hedonic ratings of the children's global DOL of the complementary foods were favorable for both study products, with mean values ≥ 5.3 in all cases (indicating a very positive appreciation of the product characteristics). There were no significant differences in DOL by study products for day 1 ($P = 0.106$) or day 2 ($P = 0.744$). No interactions were found by product type and study day ($P = 0.998$). The mean overall proxy DOL was 5.7 ± 2.4 for the CF-Zn product compared with 6.3 ± 1.6 for CF-nonZn product ($P = 0.191$).

Caregiver DOL ratings were high for both complementary foods. No interactions were found between study day and product (data not shown), and there were no significant differences between products for day 1, day 2, or both days pooled, for appearance, texture, or global DOL (Table 3). Caregivers rated the flavor DOL for the CF-Zn significantly higher for day 1 ($P = 0.044$). However, there were no significant differences for flavor DOL on day 2 ($P = 0.25$), or when the results of both days were pooled ($P = 0.425$). The pooled mean overall DOLs for the caregivers were 6.5 ± 0.9 for the CF-Zn product compared with 6.4 ± 0.8 CF-nonZn product ($P = 0.548$).

For the triangle test with caregivers, a total of 63 tests were administered among 21 participants. Caregivers correctly identified the odd samples in only 16 tests (25.4%), which was less than the probability of correctly identifying the odd sample merely by chance.

Trial 2: Acceptability of zinc-fortified breads

For the acceptability trial, a total of 34 adult participants were screened for eligibility. Two participants failed to complete the

study protocols; thus, 32 completed the acceptability trial. Participant ratings were high for all products, with no significant differences for day 1, day 2, or both days pooled, for appearance, flavor, texture, or overall DOL (Table 4). There were no interactions found between product type and study day in all models tested (data not shown). For all products on day 2, when breads were served with butter, DOL ratings were significantly higher for flavor ($P < 0.001$), texture ($P < 0.001$), and overall DOL ($P < 0.001$) than on day 1, but not for appearance ($P = 0.061$). There were no significant differences ($P = 0.333$) among the pooled mean overall DOLs for the Bread-nonZn (5.1 ± 1.4), the Bread-modZn (5.3 ± 1.4), or the Bread-highZn (5.3 ± 1.4).

For the bread threshold test, 25 participants were screened; 24 participants completed all 5 tests and 1 participant completed 4 tests. In tests comparing 0 mg zinc breads to 240 mg, and 400 mg zinc breads, the observed probability of correctly distinguishing duplicate and triplicate bread samples was less than the probability of correctly distinguishing samples merely by guessing. However, in the tests comparing 0 mg zinc breads to 80 mg, 160 mg, and 320 mg zinc breads, 24% to 29% of participants correctly distinguished the bread samples, which is marginally greater than expected by chance alone and statistically significant. For all tests, 79% to 92% of the participants rated the perceived differences between products as "small" or "by chance" (Table 5). For the binary logistic regression model, the level of zinc ($P = 0.221$), test order ($P = 0.709$), and duplicate or triplicate pairings of the zinc-fortified breads ($P = 0.848$) were not significant covariates in the model.

Discussion

Results from the present study indicate that the addition of zinc to fortified complementary food or bread prepared from fortified wheat flour was well accepted by the respective child and adult participants. The strengths of the study were the application of systematic sensory evaluations, the inclusion of different types of fortified products, and the inclusion of both children and adults in different components of the testing. However, while the hedonic scale, a measure of like/dislike, is considered the standard for

Table 3—Caregiver degree of liking (DOL) ratings on the 7-point hedonic scale for appearance, flavor, texture, and overall DOL by type of complementary food product.

	CF-nonZn (n = 21)	CF-Zn (n = 21)	P
Caregiver appearance DOL			
Day 1	6.8 ± 0.5*	6.9 ± 0.3	0.521
Day 2	6.8 ± 0.4	6.5 ± 0.6	0.189
Pooled	6.8 ± 0.4	6.8 ± 0.4	0.595
Caregiver flavor DOL			
Day 1	5.8 ± 1.3	6.7 ± 0.6	0.044
Day 2	6.5 ± 0.6	6.0 ± 1.4	0.250
Pooled	6.4 ± 0.8	6.5 ± 0.8	0.425
Caregiver texture DOL			
Day 1	6.8 ± 0.5	6.9 ± 0.3	0.521
Day 2	6.7 ± 0.5	6.5 ± 0.6	0.457
Pooled	6.7 ± 0.5	6.8 ± 0.4	0.851
Caregiver overall DOL			
Day 1	5.8 ± 1.3	6.6 ± 0.7	0.083
Day 2	6.5 ± 0.6	6.0 ± 1.4	0.250
Pooled	6.4 ± 0.8	6.5 ± 0.9	0.548

CF-nonZn = non-zinc-fortified complementary food; CF-Zn = zinc-fortified complementary food. For individual days independent *t*-tests, and for pooled results. Univariate GLM procedure with cereal and day as main effects, and individual participants as a random effect. The level of significance for all tests is $P < 0.05$.

*Mean ± SD (all such values).

Table 4—Adult participant degree of liking (DOL) ratings for appearance, flavor, texture, and overall by type of bread product.

	Bread-nonZn (n = 32)	Bread-modZn (n = 32)	Bread-highZn (n = 32)	P
Appearance DOL				
Day 1*	4.9 ± 1.7 ^b	5.1 ± 1.6	5.3 ± 1.5	0.508
Day 2*	5.2 ± 1.3	5.6 ± 1.1	5.5 ± 1.2	0.349
Pooled	5.0 ± 1.5	5.4 ± 1.4	5.4 ± 1.3	0.082
Flavor DOL				
Day 1	5.0 ± 1.7	5.0 ± 1.8	5.0 ± 1.6	0.996
Day 2	5.6 ± 1.2	5.8 ± 0.9	5.6 ± 1.2	0.777
Pooled	5.3 ± 1.5	5.4 ± 1.4	5.3 ± 1.4	0.830
Texture DOL				
Day 1	4.8 ± 1.6	4.9 ± 1.7	4.9 ± 1.7	0.997
Day 2	5.3 ± 1.5	5.5 ± 1.2	5.5 ± 1.4	0.635
Pooled	5.1 ± 1.6	5.2 ± 1.5	5.2 ± 1.6	0.597
Overall DOL				
Day 1	4.8 ± 1.5	5.0 ± 1.6	5.1 ± 1.4	0.754
Day 2	5.3 ± 1.3	5.6 ± 1.1	5.5 ± 1.3	0.650
Pooled	5.1 ± 1.4	5.3 ± 1.4	5.3 ± 1.4	0.333

Bread-nonZn = non-zinc-fortified bread; Bread-modZn = moderate zinc-fortified bread; Bread-highZn = high zinc-fortified bread. For individual days 1-way ANOVA, and for pooled results. Univariate GLM procedure with bread and day as main effects, and individual participants as a random effect. The level of significance for all tests is $P < 0.05$.

*On day 1, bread products were served plain; on day 2, bread products were served with butter.

^bMean ± SD (all such values).

Table 5—Percent perceived difference by 2-of-5 difference test for wheat breads prepared from increasing levels of zinc-fortified flour.

	Test 1 0 compared with 80 mg zinc (n = 25)	Test 2 0 compared with 160 mg zinc (n = 25)	Test 3 0 compared with 240 mg zinc (n = 25)	Test 4 0 compared with 320 mg zinc (n = 24)	Test 5 0 compared with 400 mg zinc (n = 25)
Percentage of total responses by perceived difference level					
Large perceived difference	1 (4.0) ^a	1 (4.0)	1 (4.0)	1 (4.2)	1 (4.0)
Moderate perceived difference	1 (4.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	4 (16.7)	1 (4.0)
Small perceived difference	13 (52.0)	11 (44.0)	12 (48.0)	9 (37.5)	11 (44.0)
Chosen by chance	10 (40.0)	11 (44.0)	10 (40.0)	10 (41.7)	12 (48.0)
Percentage of correct responses for 25 administered 2-of-5 tests for each fortification level ^b					
Total correctly paired samples	6 (24) ^c	7 (28) ^c	4 (16)	7 (29.2) ^c	2 (8.0)

^an (%) (all such values).

^bA total of 6 correct responses for 25 administered 2-of-5 tests for each fortification level required to claim statistical significance.

^cIndicates significant threshold detection.

measuring acceptability (Peryam and Pilgrim 1957), short-term assessments may not predict long-term food intake in consumers (Meiselman 1992; Cardello and Schutz 1996).

In the present study, complementary foods fortified with only iron (as ferrous fumarate) or iron and zinc (as zinc oxide) were indistinguishable by caregivers in triangle difference tests, and caregivers rated both products highly for appearance, flavor, and texture liking, and overall DOL. Differences in feeding times and amounts of food consumed were not significant when taking into account illness, and the caregiver proxy DOL ratings were highly positive for both study products. Thus, the results from the child acceptability trial indicate that targeted fortification products with similar compositions to that of the current study product should be acceptable to consumers at levels up to 240 mg zinc per kilogram of flour. Nevertheless, as there are no other published zinc fortification acceptability studies among young children, further sensory testing would be advisable, especially for different types of complementary foods and for higher proposed fortification levels.

Adult participants in the current acceptability trial of breads rated the 3 study products highly for appearance, flavor, texture, and overall DOL. The fortification level of 126 mg zinc as zinc oxide per kilogram of flour in the high zinc bread product was more than 25% greater than the previous study by López de Romaña and others (2002). For the bread threshold test, the fact that a significant difference was detected for some concentrations in the range and not others, including the highest, suggests that the 2-of-5 test may not be the most appropriate for determining a detection threshold. The high number of samples per test (5) may have created internal noise, as participants went back and forth among the samples and dealt with potential carry-over and adaptation effects, and confounding factors (that is, potential color differences caused by oven placement) that may have influenced the outcome. Indeed, most participants rated the perceived differences between products as small or "chosen by chance," which may indicate that within the fortification levels tested, the actual threshold differences may have been too small to be distinguishable from the nonfortified product. In any case, the participants in the acceptability trial rated breads fortified with up to 126 mg zinc per kilogram of flour favorably, so fortification to this level should be acceptable. Additional testing would be advisable if proposed fortification levels were to exceed this level.

Currently, fewer than 20 countries worldwide fortify cereal staples with zinc (Brown and others 2010). Presently, all fortification programs add zinc (in the form of zinc oxide) at levels ranging from 14 to 33 mg zinc per kilogram of flour. New recommendations from the flour fortification initiative (FFI) (Brown and others

2010), which have been adapted by the World Health Organization (WHO), do not provide fortification ranges for targeted zinc fortification programs as further research is still required to estimate the effects of zinc-fortified cereal flours on total absorbed zinc among young children. For mass fortification programs, refined wheat flour should be fortified at levels of 25 to 95 mg zinc per kilogram of flour, depending on: (1) the amount of flour consumed, and (2) the amount of zinc and phytate consumed in the remainder of the diet. Thus, results from the current study indicate that the newly proposed fortification levels for mass fortification programs should be well accepted by consumers. Higher levels of zinc fortification have been proposed for mass fortification programs when whole-wheat flour is consumed, and sensory trials are still needed to confirm the acceptability of such products.

Conclusion

The sensory properties of the zinc-fortified, cereal-based complementary foods and the zinc-fortified wheat breads were acceptable at the given levels of zinc fortification when compared to non-zinc-fortified equivalents, and the products were well liked by the respective child/caregiver and adult participants. Thus, results from the current study add to the increasing understanding of the effects of zinc fortification on the acceptability of cereal products and provide specific information for West African children and adults. Sensory testing is an important step to ensure the acceptability, and ultimately, the sustainability of zinc fortification programs.

Acknowledgments

This project was supported by funding from GAIN, the Global Alliance for Improved Nutrition (Geneva, Switzerland). DSM Nutritional (Isando, South Africa), donated the fortificants, and Les Grands Moulins de Dakar (Dakar, Senegal) kindly provided the flour and prepared the breads for the study. The authors appreciate the assistance of Shelby E. Wilson (Univ. of California, Davis) and Mamadou Sadj (Institut de Technologie Alimentaire) during the fieldwork, and Janet M. Peerson (Univ. of California, Davis) for statistical consultation.

GJA, SYH, KHB, JXG, SW, and ATG were responsible for the design of the study. GJA, NBL, SYH, and NFN implemented the research and supervised data collection. GJA analyzed the data and drafted the manuscript, which was reviewed by all authors.

References

Allen LH, de Benoist B, Dary O, Hurrell R, editors. 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients. Geneva, Switzerland: World Health Organization and Food and Agricultural Organization.

- Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, Ezzati M, Mathers C, Rivera J. 2008. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 371(9608):243–60.
- Bovell-Benjamin AC, Guinard JX. 2003. Novel approaches and application of contemporary sensory evaluation practices in iron fortification programs. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43(4):379–400.
- Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, Gibson RS, King JC, Lönnerdal B, Ruel MT, Sandstrom B, Wasanwisut E, Hotz C. 2004. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 25(1 Suppl 2):S99–S203.
- Brown KH, Hambidge KM, Ranum P, Tyler V, the Zinc Fortification Working Group. 2010. Zinc fortification of cereal flours: current recommendations and research needs. *Food Nutr Bull* 31:S62–S74.
- Cardello AV, Schutz HG. 1996. Food appropriateness measures as an adjunct to consumer preference/acceptability evaluation. *Food Qual Prefer* 7(3/4):239–49.
- Gallagher DL. 2004. Statistical comparison of the triangle test and the two-of-five test for taste and odor evaluation. *Water Sci Technol* 49(9):107–14.
- Helen Keller International (HKI), Comité Sénégalais pour la Fortification des Aliments en Micronutriments (COSFAM). 2007. Formulation des taux de fortification de l'huile comestible en vitamine A et de la farine de blé tendre en fer/acide folique au Sénégal. Dakar-Yoff, Senegal: Helen Keller International (HKI), Africa Regional Office.
- Hess SY, Brown KH. 2009. Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food Nutr Bull* 30(1 Suppl):S79–107.
- Hess SY, Lönnerdal B, Hotz C, Rivera JA, Brown KH. 2009. Recent advances in knowledge of zinc nutrition and human health. *Food Nutr Bull* 30(1 Suppl):S5–S11.
- Kunert J, Meyners M. 1999. On the triangle test with replications. *Food Qual and Prefer* 10(6):477–82.
- Lawless HT, Heymann H. 1998. Sensory evaluation of food. New York: Chapman and Hall.
- López de Romaña D, Brown KH, Guinard JX. 2002. Sensory trial to assess the acceptability of zinc fortificants added to iron-fortified wheat products. *J Food Sci* 67:461–5.
- Meiselman HL. 1992. Methodology and theory in human eating research. *Appetite* 19(1): 49–55.
- Perjann DR, Pilgrim FJ. 1957. Hedonic scale of measuring food preferences. *Food Technol* 11(9):9–14.
- Saldamli I, Kekshel H, Ozboy O, Ozalp I, Kiliç I. 1996. Zinc-supplemented bread and its utilization in zinc deficiency. *Cereal Chem* 73(4):424–7.
- Solomons NW, Rosenberg IH, editors. 1984. Absorption and malabsorption of mineral nutrients. New York: Liss.
- Wijnhoven TM, de Onis M, Onyango AW, Wang T, Bjoerneboe GE, Bhandari N, Lartey A, al Rashidi B. 2004. Assessment of gross motor development in the WHO Multicentre Growth Reference Study. *Food Nutr Bull* 25(1 Suppl):S37–S45.
- WorldFood Dietary Assessment System [Internet]. Food and Agriculture Organization. Available from: http://www.fao.org/infoods/software_worldfood_en.stm. Accessed Apr 26, 2010.