



**HAL**  
open science

# Conséquences de l'anémie maternelle sur le jeune enfant de la naissance à 18 mois de vie

Kobto Ghislain Koura

► **To cite this version:**

Kobto Ghislain Koura. Conséquences de l'anémie maternelle sur le jeune enfant de la naissance à 18 mois de vie. Santé publique et épidémiologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012. Français. NNT : 2012PAO66407 . tel-00831600

**HAL Id: tel-00831600**

**<https://theses.hal.science/tel-00831600>**

Submitted on 7 Jun 2013

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité **EPIDEMIOLOGIE**

Ecole doctorale Pierre Louis de santé publique

ED 393 Epidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale

Présentée par

**M. Kobto Ghislain KOURA**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE**

**CONSEQUENCES DE L'ANEMIE MATERNELLE SUR LE JEUNE ENFANT DE LA  
NAISSANCE A 18 MOIS DE VIE**

Soutenue le 22 Octobre 2012

Devant le jury composé de :

M. le Pr Umberto d'Alessandro

Rapporteur

Mme. le Dr Catherine Arnaud

Rapporteur

M. le Pr Martin DANIS

Examineur

M. le Dr Jean-François Etard

Examineur

M. le Dr Pierre-Yves Ancel

Examineur

M. le Dr André Garcia

Directeur de thèse

Mme. le Dr Florence Bodeau-Livinec

Co-encadrant de thèse

Je dédie ce travail

À mon épouse Sabine

Et

À ma fille Kpéré

Pour leur soutien tout au long de cette longue et passionnante expérience.



## **Remerciements**

### **Au Docteur André Garcia**

Je voudrais vous remercier d'avoir accepté d'être mon référent durant ces six dernières années durant lesquelles vous m'avez initié à la recherche. C'est avec un immense plaisir que j'ai eu à apprendre à vos côtés. Je vous remercie pour votre encadrement scientifique et pour vos qualités humaines. Vous avez toujours su être disponible tout en me permettant d'acquérir une autonomie dans les différentes activités que je menais. Je vous remercie pour m'avoir fait confiance durant toutes ces années et toutes vos précieuses paroles qui ont su me remotiver lorsque j'en avais le plus besoin. Merci également pour tous les conseils que vous m'avez donnés pour résoudre les différents problèmes auxquels j'ai eu à faire face. Cher André, je ne saurai assez vous remercier. Que ces quelques lignes témoignent de ma profonde gratitude à votre égard. Et je voulais que vous sachiez que c'est une grande fierté pour moi d'avoir été votre étudiant durant toutes ces années et je ferai toujours mon possible pour rester fidèle à toutes les valeurs scientifiques que vous m'avez enseignées.

### **Au Docteur Florence Bodeau-Livinec**

Je voudrais te remercier pour avoir particulièrement collaboré à ce travail de thèse. Je te remercie pour ta disponibilité mais aussi pour les échanges constructifs et avec parfois des désaccords que nous avons eus durant ces trois dernières années. Je voudrais aussi te remercier pour m'avoir permis de découvrir le domaine du développement de l'enfant.

### **Aux membres du jury**

Je remercie le Docteur Jean-François Etard, le Docteur Pierre-Yves Ancel, ainsi que le Pr Martins Danis d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse. Je remercie également le Docteur Umberto d'Alessandro et le Docteur Cathérine Arnaud d'avoir accepté d'y participer en qualité de rapporteur.

### **Au Professeur Achille Massougodji**

Je vous remercie pour votre soutien durant toutes ces années. Je vous remercie pour les échanges que nous avons eus mais aussi pour tous vos conseils.

### **Au Docteur Philippe Deloron**

Je te remercie pour m'avoir accueilli dans le laboratoire que tu diriges. Tu as toujours su te rendre disponible et m'accorder ton soutien à chaque fois que je te le demandais. J'ai bénéficié de ce soutien aussi bien dans le cadre professionnel que dans mes démarches personnelles.

### **Au Docteur Michel Cot**

Vous avez toujours été disponible toutes les fois où j'ai sollicité une rencontre avec vous. Je vous remercie pour cette disponibilité mais aussi pour les échanges enrichissants que nous avons eus. Je vous remercie pour les solutions apportées aux différentes difficultés que j'ai rencontrées. Je vous remercie également pour votre soutien.

### **Aux Docteurs Jean-Philippe Chippaux, Jean-Yves Le Hesran et Laurent Brutus**

Je vous remercie pour les nombreux conseils dont j'ai bénéficiés. J'ai surtout apprécié votre spontanéité et votre disponibilité chaque fois que je vous sollicitais.

### **Au Docteur Jean-François Faucher**

Je te remercie pour la collaboration et les discussions scientifiques que nous avons eues.

### **Aux Docteurs Gilles Cottrell, Valérie Briand, Smaïla Ouédraogo et Abdoulaye Diallo**

Je vous remercie pour tous les échanges fructueux ainsi que les séances de travail que nous avons eus. Je voudrais particulièrement remercier Gilles qui a facilité mon adaptation dès mon arrivée en France. Je ne sais pas si tu te rappelles de ces moments... mais moi si.

### **Aux collègues doctorants,**

Samad, Justin, Tallah, Djénéba, Imen, Kossiwa, Bitá. Je vous remercie pour tous les bons moments passés ensemble et je vous souhaite beaucoup de courage.

### **Aux anciens doctorants,**

Célia, Adjimon, Bich tram, Agnès, Charlotte, Sophie, Nabila, Aline, Oumou, Juliette.

Je vous remercie pour ces moments les plus importants de ma vie passée en votre compagnie.

### **À toute l'équipe de l'UMR216 à Paris et à Cotonou**

Alexandre, Brigitte, Anais, Audrey, Jean-Gérard, Florence, Rachida, Laurent, Jean-Christophe, Gwladys, Emmanuelle, Jérôme, Nicaise, Sayeh, Gilles, Pascale, Carmen, Murielle, Nadine. Je vous remercie pour votre accueil et vos encouragements.

### **Aux différentes équipes de terrain**

Qu'ils s'agissent des projets TORI et TOVI en passant par les projets MiPPAD et APEC je remercie toutes les équipes de terrain. Je voudrais également remercier le personnel de santé des différents centres d'études (Tori Avamé, Tori Cada, Tori Gare, Allada, Attogon et Sékou) pour le travail accompli.

### **Aux femmes et enfants des différents projets**

Je vous remercie car sans vous, cette thèse ne serait pas.

### **À tous mes amis**

Je remercie le Docteur Arnauld Fiogbé, le Docteur Hervé Lawin et le Docteur Ghyslain Mombongo-Ngoma pour leurs encouragements. Je voudrais particulièrement remercier le Docteur Géraud Padonou pour les bons moments passés ensemble au sein du laboratoire. Je te souhaite beaucoup de courage pour tes travaux.

### **À mon père Ambroise et à ma mère Henriette,**

Je vous remercie pour les nombreux sacrifices que vous avez consentis durant ces dernières années. Je vous remercie aussi pour vos multiples conseils que j'ai toujours pris soin de suivre. Je ne saurais assez vous remercier.

### **À ma grande sœur Chimène et à ma petite sœur Tatiana**

Je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements. Je vous souhaite beaucoup de courage pour la poursuite de vos thèses.

### **Et enfin à mon épouse Sabine et ma fille Windy**

Nous avons traversé ces trois années de thèse ensemble. La naissance de ma petite princesse a été pour moi le plus grand cadeau de ma vie. Vous avez été témoin de tous les moments de bonheur que j'ai vécu. Vous avez également partagé avec moi tous les moments de difficultés. Je vous remercie avec tout mon amour.

## Résumé

L'anémie chez la femme enceinte est un problème majeur de santé publique dans les pays en voie de développement. L'objectif général de notre thèse est d'étudier les conséquences de l'anémie chez la femme enceinte sur le nouveau-né à l'accouchement et sur le nourrisson jusqu'à 18 mois de vie au sud du Bénin. Pour atteindre cet objectif, ce travail de thèse a utilisé les données recueillies par deux projets.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né, en termes de faible poids de naissance, de prématurité, d'anémie du nouveau-né et sur le taux d'hémoglobine du nourrisson jusqu'à 18 mois de vie. Nous avons montré que l'anémie maternelle n'avait aucun impact ni sur le faible poids de naissance ni sur la prématurité. Par contre les mères anémiées donnaient deux fois plus souvent naissance à des nouveau-nés anémiés. Nos analyses par un modèle mixte nous ont permis de montrer que si l'anémie maternelle n'avait aucun impact sur l'évolution du taux d'Hb, la survenue d'accès palustres durant les 18 mois de vie, le sexe masculin et le trait drépanocytaire diminuaient significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois alors que le bon statut nutritionnel du nourrisson durant les 18 mois de vie et le fait de vivre dans une famille polygame augmentaient significativement ce taux. De plus une analyse par classes latentes a mis en évidence deux trajectoires pour l'évolution du taux d'hémoglobine des nourrissons de 3 à 18 mois de vie. Cette méthodologie a également permis de confirmer les effets précédents et de mettre en évidence un impact négatif de l'anémie du nouveau-né ainsi que de l'infection placentaire palustre sur cette évolution du taux d'hémoglobine du nourrisson. Enfin, cette analyse a montré le rôle prédictif de l'anémie maternelle sur l'appartenance à la trajectoire la plus basse.

Dans un second temps nous nous sommes intéressés à l'impact de l'anémie maternelle sur le développement psychomoteur du nourrisson à 12 mois de vie. Pour l'évaluation du développement psychomoteur nous avons utilisé le Mullen Scales of Early Learning (MSEL). Il nous a paru important d'évaluer en un premier temps l'utilisation de cet outil introduit puis adapté pour la 1<sup>ère</sup> fois au Bénin. Nous avons montré que le MSEL était corrélé à quelques facteurs de risque connus de mauvais développement de l'enfant à savoir son état nutritionnel, sa relation avec l'environnement familial, le sexe féminin, le statut socio économique de la famille, le quotient intellectuel ainsi que la scolarisation de la mère. Nous avons également montré que le MSEL était significativement associé aux deux questions du Ten Question Questionnaire (TQ) relatives au dépistage d'une déficience motrice. L'étude des propriétés intrinsèques puis extrinsèques de ces questions a montré qu'elles avaient une spécificité élevée, permettant de recommander leur introduction dans le système sanitaire du Bénin. Compte tenu de l'important retard connu pour le démarrage du projet TOVI et des délais de soutenance, nous n'avons pas pu étudier l'impact de l'anémie maternelle sur le développement psychomoteur de l'enfant.

**Mots-clés** : Anémie maternelle, faible poids de naissance, prématurité, anémie du nouveau-né, infection placentaire palustre, trajectoires d'hémoglobine, développement psychomoteur de l'enfant, Mullen Scales of Early Learning, République du Bénin.



## Summary

Anaemia during pregnancy and at delivery is an important public health problem in low- and middle-income countries. Our goal was to study the consequences of anaemia during pregnancy on infants during their first 18 months of life in Southern Benin. To achieve this goal, we used data collected from two projects.

In the first project, we investigate the relationship between maternal anaemia and birth outcomes (low birth weight, preterm birth, newborn anaemia) and we evaluate the impact of maternal anemia on infant's hemoglobin level in the first 18 months of life. Maternal anemia was neither associated with low birth weight nor with prematurity. Nevertheless, children born from anemic mother presented a significantly higher risk to be anemic at birth. Using a linear mixed model, our results also show that there is no association between an infant's hemoglobin level in the first 18 months and maternal anemia. The occurrence of malaria symptomatic infection during early childhood was significantly associated with decreased infants' hemoglobin level until 18 months, whereas the association with the newborns' hemoglobin level at birth and *P. falciparum* placental infection were borderline significant. Using latent class analysis on the same data, we identified two distinct haemoglobin level trajectories during the first 18 months of life. No discrepancies were found with the last results. In addition, this strategy allows us to show that newborn anaemia and placental malaria were significantly associated with a lower infant's haemoglobin level over time. We also showed that maternal anaemia was a predictor for 'low haemoglobin level trajectory' group membership.

The goal of the second project was to study the impact of maternal anaemia on children's development in Benin. The Mullen Scales of Early Learning were designed in the US to

assess child development from birth to 68 months. It has never been used in Benin. This tool was modified substantially and was used to assess infants cognitive development at 12 months of age. The first step was to check its use in one year old Beninese infants, a Francophone country. We found that Mullen composite score was correlated with some risk factors for poor child development such as maternal intellectual quotient, family socioeconomic status, quality and quantity of stimuli available in the children home environment, children nutrition, male gender and maternal education. We also described relationships between a subset of TQ items and the Mullen composite score, especially the two items intended to detect motor deficiency. The specificity of these two items was very high. Our results suggest that they can be used in identifying one year old infants with poorer neurodevelopment. The project began with a serious delay and with the constraints of our university we were not able to study and to include in our manuscript the relation between maternal anaemia and child development.

**Keywords** : Maternal anaemia, low birth weight, preterm birth, newborn anaemia, placental malaria, haemoglobin trajectories, children psychomotor development, Mullen Scales of Early Learning, Republic of Benin.

## **Laboratoire d'accueil**

**IRD – Institut de Recherche pour le Développement**

**UMR 216 « Mère et enfant face aux infections tropicales »**

### **Adresse à Paris,**

Université Paris Descartes

Faculté de pharmacie - Laboratoire de parasitologie

4, avenue de l'observatoire. 75006 Paris, FRANCE

### **Adresse à Cotonou,**

Université d'Abomey-Calavi

Faculté des Sciences de la Santé – Institut des Sciences Biomédicales Appliquées

01 BP 188 Cotonou, BENIN

## Liste des abréviations

**ACC/SCN** Administrative Committee on Coordination/Sub-Committee on Nutrition

**AND** Acide Désoxyribonucléique

**CCDE** Comité Consultatif de Déontologie et d’Ethique

**CDC** Centers for Disease Control and Prevention

**CE** Comité Ethique

**EDCTP** European and Developing Countries Clinical Trials Partnership

**EPDS** Edinburgh Post Partum Depression Scale

**FSS** Faculté des Sciences de la Santé

**G6PD** Glucose-6-Phospho-Déshydrogénase

**GLLAMM** Generalized Linear Latent and Mixed Models

**HOME** Home Observation for Measurement of the Environment

**IDH** Indice Humain de Développement

**INACG** International Nutritional Anaemia Consultative Group

**INSAE** Institut National de la Statistique et de l’Analyse Economique du Bénin

**IRD** Institut de Recherche pour le Développement

**IYCF** Infant and Young Child Feeding

**MiPPAD** Malaria in Pregnancy Preventive Alternative Drugs

**MSEL** Mullen Scales of Early Learning

**NFS** Numération Formule Sanguine

**NIH** National Institutes of Health

**OMS** Organisation Mondiale de la Santé

**ONUSIDA** Programme Commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA

**PAM** Programme Alimentaire Mondiale

**PNUD** Programme des Nations Unies pour le Développement

**RCIU** Retard de croissance Intra-Utérin

**TCMH** Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

**TPI** Traitement Préventif Intermittent

**TQ** Ten Questions Questionnaire

**UNICEF** United Nations of International Children's Emergency Fund

**UNESCO** United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization

**UNFPA** United Nations Population Fund

**VGM** Volume Globulaire Moyen

**VIH** Virus de l'Immunodéficience Humaine

## Liste des tableaux

**Tableau 1** : Définition de l'anémie chez le nouveau-né à la naissance

**Tableau 2** : Définition de l'anémie selon l'OMS

**Tableau 3** : Définition de l'anémie chez la femme enceinte selon le CDC

**Tableau 4** : Ajustement du taux d'hémoglobine chez les fumeurs selon le CDC

**Tableau 5** : Ajustement du taux d'hémoglobine en fonction de l'altitude

**Tableau 6** : Prévalence globale de l'anémie et nombre d'individus affectés par groupe de population

**Tableau 7** : Prévalence de l'anémie par région OMS chez les enfants en âge préscolaires, les femmes enceintes et les femmes non enceintes

**Tableau 8** : Tableau récapitulatif de quelques conséquences de l'anémie maternelle (AM) décrites dans le manuscrit

**Tableau 9** : Caractéristiques sociodémographiques des mères.

**Tableau 10** : Caractéristiques des nouveau-nés. Tori juin 2007 à juillet 2008

**Tableau 11** : Etude des facteurs de risque du faible poids de naissance - Analyse univariée

**Tableau 12** : Etude des facteurs de risque du faible poids de naissance - Analyse multivariée

**Tableau 13** : Etude des facteurs de risque de la prématurité - Analyse univariée

**Tableau 14** : Etude des facteurs de risque de la prématurité - Analyse multivariée

**Tableau 15** : Etude des facteurs de risque de l'anémie du nouveau-né - Analyse univariée.

**Tableau 16** : Etude des facteurs de risque de l'anémie du nouveau-né - Analyse multivariée

**Tableau 17** : Etude du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois. Modèle hiérarchique mixte à intercept aléatoire gaussien

**Tableau 18** : Etude du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois. Modèle hiérarchique mixte à intercept et pente aléatoires.

**Tableau 19** : Critères de sélection des trajectoires

**Tableau 20** : Caractéristiques des deux trajectoires latentes identifiées

**Tableau 21** : Etude de l'association entre les covariables et l'évolution du taux d'hémoglobine du nourrisson en présence des trajectoires identifiées. Analyse multivariée

**Tableau 22** : Les étapes clés du développement psychomoteur de l'enfant de 0 à 6 ans

**Tableau 23** : Caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude.

**Tableau 24** : Corrélation entre les scores du MSEL et quelques facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant – Partie I.

**Tableau 25** : Association entre les scores du MSEL et quelques facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant – Partie II.

**Tableau 26** : Matrice de corrélation entre les variables explicatives quantitatives

**Tableau 27** : Association entre les scores du MSEL et un sous ensemble du TQ.

**Tableau 28** : Sensibilité, Spécificité, Valeur Prédictive Positive, Valeur Prédictive Négative de quelques items du TQ.

## Liste des figures

**Figure 1** Prévalence de l'anémie dans le monde et degré de sévérité chez les enfants en âge préscolaires

**Figure 2** Prévalence de l'anémie dans le monde et degré de sévérité chez les femmes enceintes

**Figure 3** Prévalence de l'anémie dans le monde et degré de sévérité chez les femmes en âge de procréer

**Figure 4** Classification hématologique des anémies tropicales

**Figure 5** Pays et territoires affectés par le paludisme, 2010

**Figure 6** Population d'étude

**Figure 7** Distribution du taux d'hémoglobine des nourrissons entre 3 et 18 mois

**Figure 8** Distribution du taux d'hémoglobine moyen entre 3 et 18 mois

**Figure 9** Les trajectoires d'hémoglobine (3 à 18 mois)

**Figure 10** Facteurs de risque et mécanismes d'un mauvais développement de l'enfant



## Liste des cartes et des photos

**Carte 1** : Carte de la République du Bénin et de ses douze départements

**Carte 2** : Carte des huit communes du département de l'Atlantique

**Carte 3** : Les neuf villages d'étude et les trois dispensaires du projet TORI

**Carte 4** : Zone de l'étude TOVI (Commune d'Allada)

**Photo 1** : Relief de la Commune de Tori-Bossito (1)

**Photo 2** : Relief de la Commune de Tori-Bossito (2)

## Liste des annexes

**Annexe 1** : Liste des articles acceptés ou soumis

**Annexe 2** : Chapitre de livre

**Annexe 3** : Communications affichées

**Annexe 4** : Feuille de notation du Mullen Scales of Early Learning (Page de garde et présentation de l'échelle de la motricité générale).

**Annexe 5** : Ten Questions Questionnaire

**Annexe 6** : Feuille d'annotation de la matrice de Raven

**Annexe 7** : Echelle d'Edinburgh

**Annexe 8** : HOME

**Annexe 9** : Equipe TOVI lors d'une réunion hebdomadaire

# Sommaire

REMERCIEMENTS .....	II
RESUME .....	V
SUMMARY .....	VII
LABORATOIRE D'ACCUEIL.....	IX
LISTE DES ABREVIATIONS .....	X
LISTE DES TABLEAUX .....	XII
LISTE DES FIGURES .....	XIV
LISTE DES CARTES ET DES PHOTOS .....	XV
LISTE DES ANNEXES.....	XVI
SOMMAIRE .....	XVII
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : PRESENTATION GENERALE DE L'ANEMIE ET PROBLEMATIQUE.....	6
1. DEFINITION DE L'ANEMIE .....	7
1.1. DEFINITION DE L'ANEMIE EN FONCTION DE L'AGE, DU SEXE ET DE L'ETAT GESTATIONNEL .....	7
1.2. DEFINITION DE L'ANEMIE EN FONCTION DE L'ORIGINE ETHNIQUE .....	10
1.3. DEFINITION DE L'ANEMIE EN FONCTION DU TABAGISME .....	12
1.4. DEFINITION DE L'ANEMIE EN FONCTION DE L'ALTITUDE .....	13
2. PREVALENCE DE L'ANEMIE DANS LE MONDE.....	15
3. LES ETIOLOGIES DE L'ANEMIE.....	22
3.1. LES ANEMIES D'ORIGINE NUTRITIONNELLES .....	24
3.2. LES ANEMIES D'ORIGINE INFECTIEUSES.....	27
3.3. LES ANEMIES D'ORIGINE GENETIQUE .....	32
4. CONSEQUENCES DE L'ANEMIE.....	35
4.1. CONSEQUENCES DE L'ANEMIE MATERNELLE SUR LE POIDS DE NAISSANCE ET LA PREMATURITE .....	35
4.2. CONSEQUENCES DE L'ANEMIE MATERNELLE SUR LA MORTALITE MATERNELLE ET PERINATALE .....	39
4.3. CONSEQUENCES DE L'ANEMIE MATERNELLE SUR L'ANEMIE DU NOUVEAU-NE ET DU JEUNE ENFANT .....	40
4.4. ANEMIE PAR CARENCE MARTIALE ET DEVELOPPEMENT COGNITIF.....	41
4.4.1 <i>Anémie par carence martiale de l'enfant et développement cognitif</i> .....	42
4.4.2 <i>Anémie maternelle par carence martiale et développement cognitif de l'enfant</i> .....	43
5. PRISE EN CHARGE ET PREVENTION DE L'ANEMIE.....	49
DEUXIEME PARTIE : PROJET TORI.....	53
1. MATERIEL ET METHODES.....	54
1.1. ZONE D'ETUDE .....	54
1.2. CRITERES D'INCLUSION ET POPULATION D'ETUDE.....	59
1.3. COLLECTE DES DONNEES .....	60

1.4. ANALYSES DES DONNEES .....	62
1.4.1. Codage des variables.....	62
1.4.2. Stratégie générale d'analyse .....	64
1.4.3. Logiciels d'analyse .....	71
1.5. ETHIQUE.....	72
<b>2. RESULTATS .....</b>	<b>73</b>
2.1. SELECTION DE LA POPULATION D'ETUDE.....	73
2.2. DESCRIPTION DE LA POPULATION D'ETUDE.....	75
2.2.1. Analyse descriptive des mères .....	76
2.2.2. Analyse descriptive des nouveau-nés.....	78
2.3. CONSEQUENCES DE L'ANEMIE MATERNELLE SUR LE FAIBLE POIDS DE NAISSANCE, LA PREMATURITE ET L'ANEMIE DU NOUVEAU-NE .....	79
2.3.1. Anémie maternelle et faible poids de naissance.....	79
2.3.2. Anémie maternelle et prématurité.....	83
2.3.3. Anémie maternelle et anémie du nouveau-né à la naissance.....	85
2.4. ANEMIE MATERNELLE ET TAUX D'Hb DU NOURRISSON ENTRE 3 ET 18 MOIS DE VIE.....	87
2.4.1. Description de l'évolution du taux d'Hb de 3 à 18 mois .....	87
2.4.2. Analyse de l'évolution du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois par un modèle linéaire mixte.....	89
2.4.3. Analyse de l'évolution du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois par modèle à classes latentes.....	94
<b>ARTICLE 1 .....</b>	<b>101</b>
<b>ARTICLE 2 .....</b>	<b>110</b>
<b>TROISIEME PARTIE : PROJET TOVI .....</b>	<b>135</b>
<b>1. LE PROJET TOVI .....</b>	<b>137</b>
1.1. PROBLEMATIQUE DU PROJET TOVI.....	137
1.2. QUELQUES GENERALITES SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'ENFANT .....	138
1.2.1. Définition.....	138
1.2.2. Les grandes étapes du développement de l'enfant.....	139
1.2.3. Facteurs de risque associés à un trouble du développement de l'enfant .....	141
1.3. MATERIEL ET METHODES .....	147
1.3.1. Contexte et mise en place du projet TOVI.....	147
1.3.2. Mise en place de l'étude TOVI et organisation du travail.....	148
1.3.3. Zone et période d'étude .....	149
1.3.4. Population d'étude et critères d'inclusion .....	151
1.3.5. Collecte des données recueillies dans le cadre du projet TOVI.....	151
1.3.6. Description des outils utilisés dans le cadre du projet TOVI.....	152
1.3.7. Analyses des données.....	156
<b>2. ETUDE DE L'UTILISATION DU MSEL AU BENIN ET VALIDITE D'UN SOUS ENSEMBLE DU TEN QUESTIONS QUESTIONNAIRE .....</b>	<b>158</b>
2.2. MATERIEL ET METHODES .....	158
2.2.1. Population d'étude.....	158
2.2.2. Stratégie générale d'analyse .....	159
2.2.3. Logiciels d'analyse .....	161
2.3. ETHIQUE.....	161
2.4. RESULTATS .....	162

2.4.1. Sélection des sujets .....	162
2.4.2. Caractéristiques socio démographiques de la population d'étude .....	162
2.4.3. Etude des facteurs prédictifs socio-économiques et maternels du développement de l'enfant.....	165
2.4.4. Etude de la validité d'un sous ensemble du TQ.....	168
<b>CHAPITRE DE LIVRE .....</b>	<b>173</b>
<b>ARTICLE 3 .....</b>	<b>189</b>
<b>QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION GENERALE.....</b>	<b>209</b>
1. DISCUSSION RESULTATS TORI .....	210
2. DISCUSSION RESULTATS TOVI.....	226
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>235</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>236</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>252</b>

## **Introduction**

L'anémie maternelle est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) par un taux d'hémoglobine inférieur à 11 g / dL. Elle constitue un problème majeur de santé publique compte tenu de sa prévalence, de ses nombreuses étiologies mais aussi des conséquences dont elle est responsable chez la mère et le jeune enfant.

En 2009, l'OMS estimait qu'environ 42% des femmes enceintes étaient anémiées à travers le monde. L'anémie maternelle est beaucoup plus fréquente dans les pays en voie de développement, touchant 30 à 85% des femmes enceintes, que dans les pays développés où la prévalence se situe autour de 10%. Plusieurs études confirment l'importance du problème dans l'ensemble de l'Afrique de l'Ouest avec des chiffres dépassant 50% de femmes enceintes anémiées. En Afrique Centrale des niveaux similaires sont également atteints.

Dans les pays en voie de développement les causes de l'anémie chez la femme enceinte sont multiples et souvent intriquées : carence en fer (mais aussi en acide folique, vitamines ...), helminthiases intestinales, paludisme, autres infections (VIH ...) et hémoglobinopathies en sont les principales. Parmi ces étiologies, il a été estimé que 75% des anémies seraient attribuables à la carence en fer. Par ailleurs plusieurs auteurs ont montré que le taux d'hémoglobine peut être considéré comme le meilleur indicateur de la carence en fer au sein d'une population et l'OMS recommande donc son utilisation comme indicateur. Pour ces différentes raisons, les termes 'anémie' et 'anémie par carence martiale' sont souvent utilisés de façon interchangeable dans la littérature, même si ce point peut être discuté.

Plusieurs études se sont intéressées aux conséquences de l'anémie maternelle sur la femme enceinte et le jeune enfant. Chez la femme enceinte, elle augmenterait la mortalité maternelle.

Si en cas d'anémie sévère les différentes études semblent unanimes, en cas d'anémie légère ou modérée, cette association est très discutée. Chez le nouveau-né, l'anémie maternelle serait associée à un faible poids de naissance, à une prématurité ainsi qu'à l'augmentation de la mortalité périnatale et de la mortinatalité, mais là encore ces conséquences sont également remises régulièrement en question.

L'association entre l'anémie maternelle et le taux d'Hb du nouveau-né à l'accouchement a donné lieu à relativement peu d'études. Il a été par contre montré une relation entre la concentration en hémoglobine de la femme enceinte et celle de l'enfant à 6, 9 et 12 mois de vie. De plus, il semble de plus en plus évident que les enfants nés d'une mère anémiée présentent un déficit en fer au cours des premiers mois de vie, que l'enfant soit anémié ou non, que l'enfant soit né à terme ou non et quel que soit son poids de naissance.

Si, comme je l'ai écrit précédemment, le taux d'Hb est un reflet de la réserve en fer, d'une part, et comme, d'autre part, plusieurs auteurs ont retrouvé une association entre l'anémie par carence martiale chez l'enfant et son développement cognitif, il devient particulièrement pertinent de s'interroger sur l'existence d'une éventuelle association entre l'anémie maternelle et le développement cognitif du nouveau-né, qu'il soit ou non anémié à la naissance. Cela est renforcé par une étude montrant qu'en Afrique du Sud les nourrissons dont les mères étaient anémiées durant les premières semaines des suites de couche avaient un mauvais score de développement cognitif à 10 semaines de vie puis à 9 mois de vie. Si l'on considère les chiffres de prévalences présentés préalablement, une éventuelle association entre l'anémie maternelle et le développement cognitif du nourrisson pourrait avoir des répercussions extrêmement importantes et peser lourdement sur le développement de ces pays. Il me semble donc très important de s'interroger sur l'existence d'une telle association puisque du point de

vue de la santé publique, il me paraît possible de proposer des solutions de préventions de l'anémie de la femme enceinte.

A ma connaissance très peu d'études se sont intéressées aux conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né et sur le nourrisson au Bénin. L'objectif général de ma thèse est l'étude de ces conséquences. Concernant le nouveau-né je me suis intéressé aux conséquences de l'anémie maternelle en termes de faible poids de naissance, de prématurité et d'anémie à la naissance. Pour ce qui est du nourrisson mon intérêt s'est porté sur l'évolution de son taux d'hémoglobine entre 3 mois et 18 mois ainsi que sur son développement cognitif à 12 mois. Pour atteindre ces objectifs, ce travail de thèse utilisera les données recueillies par deux projets différents.

Mon implication dans chacun de ces projets n'a pas été identique. Pour le premier (dénommé projet TORI dans la suite du document), l'étude de terrain a été menée par l'équipe de l'UMR216 à Tori-Bossito, en zone semi-rurale du Bénin, qui a recueilli des données épidémiologiques et biologiques sur une cohorte d'enfants de la naissance à 18 mois de vie. Ce projet avait déjà démarré avant le début de ma thèse et a pris fin en janvier 2010. Cependant il s'agit du programme sur lequel mon « Master 2 Recherche » a porté et dans ce cadre j'avais effectué des missions sur le terrain afin de participer à la collecte des données. Mon rôle en thèse a donc consisté à effectuer des analyses statistiques à partir des données précédemment recueillies. Cette étape m'a permis d'appliquer une approche statistique innovante dans le domaine biomédical, basée sur les classes latentes. Pour le second projet (dénommé projet TOVI dans la suite du document, TOVI signifiant en langue fon « Enfant du Pays »), j'ai activement participé à la planification des travaux de terrain que je continue de coordonner. Ces deux études sont complémentaires et me permettront d'atteindre les objectifs cités précédemment.



- A partir du projet TORI j'étudierai les conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né, en terme de faible poids de naissance, de prématurité et d'anémie, et sur le taux d'hémoglobine du nourrisson jusqu'à 18 mois de vie. Cette première étude a donné lieu à deux articles.
  
- Le projet TOVI me permettra d'étudier les conséquences de l'anémie maternelle sur le développement cognitif du nourrisson à 12 mois. Cependant, des délais dans la mise en place des financements et dans l'obtention des accords éthiques du programme européen dont le projet TOVI est une étude ancillaire ont été à l'origine d'un retard important dans le démarrage des activités. En conséquence, au moment où je rédige ce mémoire, les données qui permettraient une analyse aboutie du développement cognitif à 12 mois ne sont pas en totalité disponibles. La problématique générale et la stratégie d'analyse ont cependant fait l'objet d'un chapitre d'ouvrage à la rédaction duquel j'ai participé. Ce chapitre d'ouvrage est intégré dans le mémoire. Enfin, il m'a fallu, préalablement à l'analyse, évaluer l'outil utilisé pour la mesure du développement cognitif. Cet outil, le Mullen Scales of Early Learning (MSEL) a été créé en Amérique pour évaluer le développement de l'enfant de la naissance à 68 mois de vie. Le MSEL est très utilisé dans les pays développés et a aussi été utilisé dans certains pays africains comme l'Ouganda, mais pas au Bénin. Cette évaluation était donc indispensable et a fait l'objet d'un article. Les résultats de cette évaluation sont inclus dans ce mémoire.

Outre cette introduction, ce mémoire comportera cinq parties. Dans une première partie je présenterai des généralités sur l'anémie ainsi que ma problématique de thèse. Après cet exposé, la deuxième et la troisième partie présenteront respectivement les projets TORI et TOVI. Pour le projet TORI j'aborderai successivement un chapitre matériel et méthodes

d'une part, et résultats d'autre part. Pour le projet TOVI, un premier chapitre sera consacré à sa présentation et un second chapitre développera les analyses ayant porté sur l'étude de l'utilisation du MSEL au Bénin et la validité d'un sous ensemble du Ten Questions Questionnaire. Les trois articles ainsi que le chapitre de livre issus de ces deux projets seront intégrés dans les sous parties résultats correspondantes. Enfin une quatrième partie abordera la discussion des résultats issus des deux projets. En annexes, j'ai inséré la liste des publications durant ma thèse ainsi qu'une liste de communications effectuées lors des différents congrès auxquels j'ai participé. J'ai également inséré un extrait des différents outils utilisés dans le cadre du projet TOVI.

## **Première partie : présentation générale de l'anémie et problématique**

Cette première partie comportera cinq chapitres. Dans un premier temps nous parlerons de la définition de l'anémie, puis nous aborderons l'épidémiologie de l'anémie et la troisième partie sera consacrée à ses étiologies. Au cours de ces trois premiers chapitres nous avons fait le choix de ne pas nous limiter à la femme enceinte ou à l'enfant, même si une attention particulière sera accordée à ces catégories particulièrement vulnérables. Dans un quatrième chapitre nous décrirons ses conséquences et nous finirons dans le cinquième chapitre par la prise en charge et les moyens de prévention. A l'inverse, dans ces deux derniers chapitres nous nous sommes essentiellement intéressés à la femme enceinte, au nouveau-né et au très jeune enfant.

## **1. Définition de l'anémie**

L'anémie est définie par une diminution de la concentration de l'hémoglobine circulante au-dessous des valeurs limites considérées comme normales et fixées par l'OMS et certains experts de centres de référence comme les « Centres pour le contrôle et la prévention des maladies » (en anglais Centers for Disease Control and Prevention (CDC utilisé dans la suite du document)), le « Groupe consultatif international de l'anémie nutritionnelle » (en anglais International Nutritional Anaemia Consultative Group (INACG utilisé dans la suite du manuscrit)). Ces seuils prennent en considération l'âge, le sexe, l'état gestationnel, l'appartenance ethnique, le tabagisme et l'altitude (Centers for Disease Control and Prevention 1989; World Health Organization 1968, 2008).

### **1.1. Définition de l'anémie en fonction de l'âge, du sexe et de l'état gestationnel**

L'hémoglobine est une protéine contenue par les globules rouges et dont la principale fonction est le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Le taux d'hémoglobine subit d'énormes variations de la naissance à l'âge adulte.

La définition de l'anémie du nouveau-né à la naissance demeure une question complexe. Cette définition doit tenir compte de plusieurs facteurs dont les conditions de développement pendant la vie fœtale, les interactions complexes entre la mère et le fœtus, les changements nécessaires pour s'adapter à la vie extra-utérine, les conditions de prélèvement chez le nouveau-né et les techniques de mesure (Lainey, Boirie, and Fenneteau 2009). Chez le nouveau-né à la naissance on observe une polyglobulie physiologique qui traduit une adaptation du fœtus pour répondre au manque d'oxygène intra-utérin (Dallman 1989). Le tableau 1 présente les normes adoptées aux Etats-Unis pour définir l'anémie chez le nouveau-

né en fonction de l'âge gestationnel (Siberry and Lannone 2000). Cependant le taux d'hémoglobine moyen du nouveau-né à la naissance considéré comme normal est extrêmement variable selon les auteurs. En 1998, Lokeshwar *et al.* retrouvaient en Inde un taux d'hémoglobine moyen de 12.6 à 19.8 g / dL et proposaient le seuil de 12.6 g / dL pour définir l'anémie (Lokeshwar *et al.* 1998). En France, en 2004 le taux d'hémoglobine moyen a été décrit comme variant de 15 à 18 g / dL et ces auteurs ont donc proposé le seuil de 15 g / dL (Tasseau and Rigourd 2004), alors qu'en 2009 et toujours en France, Lainey *et al.* considéraient la valeur de 15.6 g / dL comme la limite à utiliser (Lainey *et al.* 2009). Comme le montre cette succession de propositions, il n'existe aucun consensus pour cette définition ni aucune recommandation officielle des grandes organisations telles l'OMS pour définir l'anémie chez le nouveau-né à la naissance.

**Tableau 1** : Définition de l'anémie chez le nouveau-né à la naissance

Age *	Taux d'hémoglobine (g / dL)
26 à 30 **	13.4
28	14.5
32	15
Terme (Cordon)	16.5

\* Semaines de gestation (41 semaines d'aménorrhée = 39 semaines de gestation + 2 semaines)

\*\* Estimations effectuées sur le fœtus

Source: Siberry GK, Iannone R, eds. *The Harriet Lane handbook: a manual for pediatric house officers. 15th ed. St. Louis: Mosby, 2000.*

Après la naissance, le taux d'hémoglobine augmente de 17 à 20 % dans les 24 premières heures de vie puis redescend au cours des 24 heures suivantes. À la fin de la première semaine de vie, son taux est identique à celui retrouvé dans le sang de cordon à la naissance. Cette chute du taux d'hémoglobine se poursuit pour atteindre 11 à 12 g / dL vers 8 à 12 semaines de vie chez l'enfant né à terme (Tasseau and Rigourd 2004). Par ailleurs, l'hémoglobine fœtale

disparaissant physiologiquement chez le nouveau-né durant ses six premiers mois de vie, le taux d'hémoglobine se stabiliserait vers cette période et ce jusqu'à 59 mois de vie. A partir de 5 ans, il augmenterait de façon constante et progressive jusqu'à l'âge adulte. Chez l'adulte le taux d'hémoglobine varie en fonction du sexe et il est plus élevé chez l'homme (World Health Organization 1968, 2008).

Chez la femme enceinte l'OMS définit l'anémie par un taux d'hémoglobine strictement inférieur à 11 g/ dL tout au long de la grossesse. L'anémie chez la femme enceinte peut être *modérée* (taux d'Hb compris entre 7 et 10.9 g / dL), *grave* (taux d'Hb compris entre 4 et 6.9 g / dL) ou *très grave* (taux d'Hb strictement inférieur à 4 g / dL) (World Health Organization 1968). Cependant au cours de la grossesse, on observe des modifications hématologiques avec une augmentation à la fois du volume plasmatique mais aussi de la masse des globules rouges. L'augmentation du volume plasmatique (2400 mL à 3800 mL) étant plus importante que celle de la masse des globules rouges (1400 mL à 1600 mL), il en résulte une hémodilution physiologique. On observe ainsi une diminution progressive du taux d'hémoglobine au cours du premier trimestre pour atteindre son point le plus bas au second trimestre, puis une augmentation au cours du troisième trimestre de grossesse (Bothwell, Charlton, and INACG 1981). Contrairement à l'OMS qui adopte la même définition de l'anémie tout au long de la grossesse, le CDC a proposé une définition de l'anémie à différentes semaines de grossesse ainsi qu'à chacun des trois trimestres (Centers for Disease Control and Prevention 1989).

Le tableau 2 présente les seuils adoptés par l'OMS pour définir l'anémie en fonction de l'âge, du sexe et de l'état gestationnel. Le tableau 3 présente les seuils proposés par le CDC pour définir l'anémie au cours des semaines de gestation et des trois trimestres de la grossesse.

**Tableau 2** : Définition de l'anémie selon l'OMS

	Taux d'hémoglobine (g / dL)
Enfants (6 - 59 mois)	11
Enfants (5 - 11 ans)	11,5
Enfants (12 - 14 ans)	12
Femmes non enceintes (> 15 ans)	12
Femmes enceintes	11
Hommes (> 15 ans)	13

Source: World Health Organization. *Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008.

**Tableau 3** : Définition de l'anémie chez la femme enceinte selon le CDC

	Taux d'hémoglobine (g / dL)
Semaines de grossesse	
12	11,0
16	10,6
20	10,5
24	10,5
28	10,7
32	11,0
36	11,4
40	11,9
Trimestre de grossesse	
Premier	11,0
Deuxième	10,5
Troisième	11,0

Source: Centers for Disease Control and Prevention. *Criteria for anemia in children and childbearing-aged women*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1989; 38: 400-4

## 1.2. Définition de l'anémie en fonction de l'origine ethnique

Depuis de nombreuses années une variation du taux moyen d'hémoglobine selon l'origine ethnique est connue. En 1978, Dallman *et al.* ont montré sur un total de 2774 enfants américains (1718 blancs, 741 noirs et 315 asiatiques) en parfaite santé, âgés de 5 à 14 ans que

le taux d'hémoglobine moyen était significativement plus faible chez les enfants noirs que chez les enfants blancs et asiatiques. Ces différences s'observaient quel que soit le sexe et variaient de 0,5 à 1 g / dL (Dallman *et al.* 1978). En 1991, toujours en Amérique chez des adultes en parfaite santé, Pan and Habicht ont confirmé cette différence, avec un taux d'hémoglobine moyen significativement plus faible, en moyenne de 0,61g / dL, chez les adultes noirs quel que soit le sexe (Pan and Habicht 1991). En 1992, Perry *et al.* ont retrouvé de telles différences chez des enfants comme chez des adultes. Chez les enfants, les taux d'hémoglobine étaient significativement plus faibles chez les noirs (12,03 g / dL) que chez les blancs (12,68 g / dL) alors que chez les adultes ils ont mis en évidence de surcroît, un effet du sexe. Ainsi, le taux d'hémoglobine était significativement plus faible chez les femmes noires (12,84 g / dL) et les hommes noirs (14,48 g / dL) comparés respectivement aux femmes blanches (13,39 g / dL) et aux hommes blancs (15,32 g / dL). Pour tenter de comprendre ces constatations, un dosage de la ferritine a été effectué et a montré que les enfants, les femmes et les hommes noirs avaient une ferritinémie plus élevée que les enfants, les femmes et les hommes blancs, semblant indiquer que les différences observées précédemment ne seraient pas dues à une carence en fer dans la population noire (Perry *et al.* 1992). Par ailleurs des études similaires ont montré que le taux d'hémoglobine des américains d'origines asiatique et hispanique était semblable à celui des américains blancs (Dallman *et al.* 1978; Looker *et al.* 1989). A la vue de l'ensemble de ces résultats, l'OMS recommande d'ajuster le taux d'hémoglobine dans les populations africaines en baissant la valeur normale recommandée quel que soit l'âge de 1 g / dL. A notre connaissance, cette recommandation n'est pas appliquée. En dehors de l'origine ethnique, de l'âge, du sexe et de l'état gestationnel, certaines études ont décrit un effet du tabagisme sur le taux d'hémoglobine.



### 1.3. Définition de l'anémie en fonction du tabagisme

La fumée qui se dégage lors de la combustion du tabac n'est pas une substance homogène. Elle contient environ 4000 éléments différents qui se présentent à l'état gazeux ou solide. Parmi ces substances, il existe une grande affinité entre l'hémoglobine et le monoxyde de carbone. En 1974, Rodkey *et al.* ont montré que l'affinité de l'hémoglobine pour le monoxyde de carbone était 200 à 250 fois plus élevée que son affinité pour l'oxygène (Rodkey *et al.* 1974). Le monoxyde de carbone se fixe donc très facilement à l'hémoglobine empêchant ainsi le transport de l'oxygène des poumons aux tissus de l'organisme. Cependant, en 2001, dans un essai clinique randomisé auprès de 187 femmes enceintes incluses entre 12 et 16 semaines d'aménorrhée, Cope *et al.* ont montré un résultat paradoxal (Cope, Nayyar, and Holder 2001). En effet, le taux d'hémoglobine moyen chez les fumeuses (11,9 g / dL) était significativement plus élevé que chez les non-fumeuses (11,4 g / dL), constat qui confirme des études antérieures (Nordenberg, Yip, and Binkin 1990). L'explication proposée est que, pour répondre à la compétition entre oxygène et monoxyde de carbone, l'organisme augmente sa production d'hémoglobine. L'ajustement du taux d'hémoglobine proposé par le CDC pour définir l'anémie chez les fumeurs est décrit dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Ajustement du taux d'hémoglobine chez les fumeurs selon le CDC

	Taux d'hémoglobine (g / dL)
Non fumeurs	Pas d'ajustement
Fumeurs (Dose journalière inconnue)	+ 0,03
1/2 - 1 paquet / Jour	+ 0,03
1 - 2 paquets / Jour	+ 0,05
≥ 2 paquets / Jour	+ 0,07

Source: Centers for Disease Control and Prevention. Criteria for anemia in children and childbearing-aged women. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1989; 38: 400-4

#### **1.4. Définition de l'anémie en fonction de l'altitude**

La pression atmosphérique diminue avec l'altitude de manière exponentielle entraînant une diminution de la quantité d'oxygène disponible. Cet appauvrissement entraîne donc une baisse du transport de l'oxygène des poumons aux différents tissus de l'organisme, nécessitant une adaptation physiologique de l'organisme par plusieurs moyens. A moyen et à long terme l'organisme augmente sa production en globules rouges. En 1984 au Pérou, Beall and Reichsman ont décrit le taux d'hémoglobine chez 270 tibétains adultes en parfaite santé résidant entre 3250 et 3560 mètres d'altitude et ont montré qu'il était plus élevé que chez les tibétains vivant au niveau de la mer (Beall and Reichsman 1984). De nombreuses études ont confirmé ces résultats aujourd'hui clairement admis (Wu *et al.* 2005), y compris chez les femmes enceintes (Gonzales *et al.* 2012). Toutes les définitions précédentes de l'anémie (en fonction de l'âge, du sexe, de l'état gestationnel, de l'origine ethnique et du tabagisme) sont applicables pour une altitude inférieure à 1000 mètres. Le tableau 5 décrit l'ajustement proposé par le CDC et certains auteurs pour définir l'anémie en fonction de l'altitude (Centers for Disease Control and Prevention 1989; Dirren *et al.* 1994).

**Tableau 5** : Ajustement du taux d'hémoglobine en fonction de l'altitude

Altitude (mètres)	Taux d'hémoglobine (g / dL)
< 1000 *	Pas d'ajustement
1000	+ 0,2
1500	+ 0,5
2000	+ 0,8
2500	+ 1,3
3000	+ 1,9
3500	+ 2,7
4000	+ 3,5
4500	+ 4,5

\* Toutes les définitions précédentes de l'anémie (en fonction de l'âge, du sexe, de l'état gestationnel, de l'origine ethnique et du tabagisme) sont applicables pour une altitude inférieure à 1000 mètres. Chez les fumeurs vivant en altitude un double ajustement sera à prévoir.

Source: Centers for Disease Control and Prevention. Criteria for anemia in children and childbearing-aged women. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1989; 38: 400-4

Nous venons de passer en revue, un peu à la façon d'un catalogue, les différentes définitions et les ajustements nécessaires à définir précisément l'anémie. Que devons nous retenir de cette énumération ? Tout d'abord que la grossesse et les premières semaines et mois de vie sont des périodes d'une intensité extrême au cours desquelles se déroule une adaptation importante et indispensable de l'organisme. Ensuite, et de manière surprenante, qu'il ne semble pas exister de consensus clair pour définir l'anémie et que, en l'absence d'un tel consensus, les recommandations ayant pour objectif de lutter contre ce problème de santé publique majeur sont plus complexes à mettre en œuvre. Enfin, qu'apparemment peu d'études ont intéressé des populations africaines alors qu'elles payent le plus lourd tribut à l'échelle de la planète comme nous allons maintenant le voir. Tous ces éléments renforcent l'intérêt de cette thèse.

## 2. Prévalence de l'anémie dans le monde

Dans son dernier rapport sur le sujet, l'OMS a estimé que l'anémie affecte 1,62 milliards de personnes dans le monde ce qui correspond à 24,8% de la population mondiale (World Health Organization 2008). Les enfants en âge préscolaire et les femmes enceintes représentaient les groupes les plus touchés. Les prévalences de l'anémie étaient de 47,4% chez les enfants en âge préscolaire et de 41,8% chez les femmes enceintes. Chez les femmes non enceintes la prévalence de l'anémie était de 30,2% (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Prévalence globale de l'anémie et nombre d'individus affectés par groupe de population

Population	Prévalence de l'anémie		Population affectée	
	%	IC 95%	N (Millions)	IC 95%
<b>Enfants en âge préscolaire</b>	<b>47,1</b>	<b>45,7-49,1</b>	<b>293</b>	<b>283-303</b>
Enfants en âge scolaires	25,4	19,9-30,9	305	238-371
<b>Femmes enceintes</b>	<b>41,8</b>	<b>39,9-43,8</b>	<b>56</b>	<b>54-59</b>
<b>Femmes non enceintes</b>	<b>30,2</b>	<b>28,7-31,6</b>	<b>468</b>	<b>446-491</b>
Hommes	12,7	8,6-16,9	260	175-345
Personnes âgées	23,9	18,3-29,4	164	126-202
<b>Population Totale</b>	<b>24,8</b>	<b>22,9-26,7</b>	<b>1620</b>	<b>1500-1740</b>

*Source: World Health Organization. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008.*

Les estimations de la prévalence de l'anémie pour les cinq régions OMS chez les enfants en âge préscolaire, les femmes enceintes et les femmes non enceintes sont présentées dans le tableau 7. Ces estimations ont montré que l'Afrique et l'Asie du Sud-Est étaient les deux régions les plus touchées avec des prévalences dans les différents groupes à risque variant respectivement de 47,5 à 67,6% et de 45,7% à 65,5%. Dans les pays développés, cette

prévalence varie de 17 à 29,3%. En république du Bénin, la prévalence de l'anémie chez les enfants en âge préscolaire, les femmes enceintes et les femmes en âge de procréer sont respectivement de 81,9%, 72,7% et 63,2% (World Health Organization 2008).

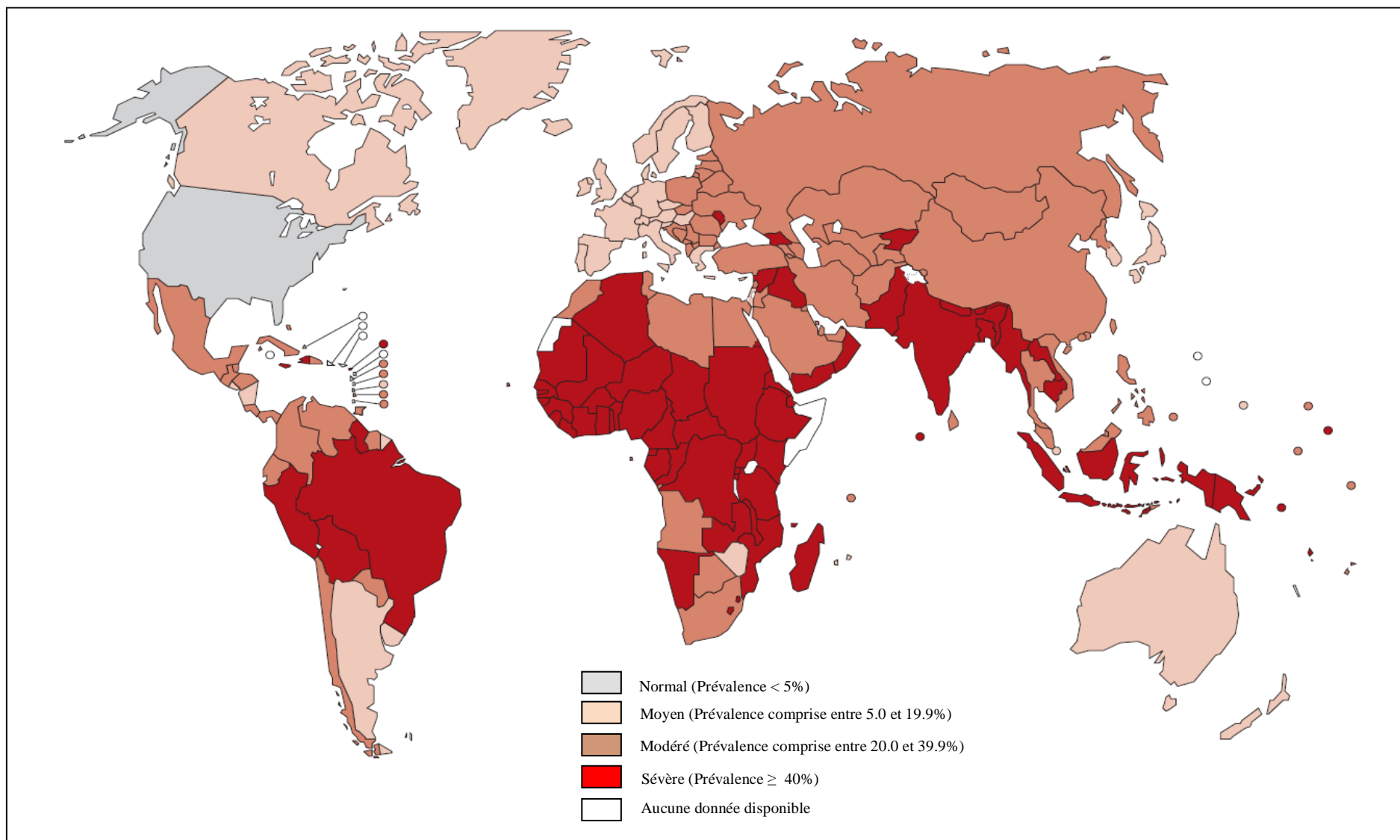
**Tableau 7** : Prévalence de l'anémie par région OMS chez les enfants en âge préscolaires, les femmes enceintes et les femmes non enceintes

Région OMS	Enfants en âge préscolaires		Femmes enceintes		Femmes non enceintes	
	Prévalence (%)	N (Millions)	Prévalence (%)	N (Millions)	Prévalence (%)	N (Millions)
Afrique	<b>67,6</b> (64,3-71,0) <sup>a</sup>	<b>83,5</b> (79,4-87,6)	<b>57,1</b> (52,8-61,3)	<b>17,2</b> (15,9-18,5)	<b>47,5</b> (43,4-51,6)	<b>69,9</b> (63,9-75,9)
Amérique	29,3 (26,8-31,9)	23,1 (21,1-25,1)	24,1 (17,3-30,8)	3,9 (2,8-5,0)	17,8 (12,9-22,7)	39 (28,3-49,7)
Asie du Sud-Est	<b>65,5</b> (61,0-70,0)	<b>115,3</b> (107,3-123,2)	<b>48,2</b> (43,9-52,5)	<b>18,1</b> (16,4-19,7)	<b>45,7</b> (41,9-49,4)	<b>182</b> (166,9-197,1)
Europe	21,7 (15,4-28,0)	11,1 (7,9-14,4)	25,1 (18,6-31,6)	2,6 (2,0-3,3)	19 (14,7-23,3)	40,8 (31,5-50,1)
Méditerranée Orientale	46,7 (42,2-51,2)	0,8 (0,4-1,1)	44,2 (38,2-50,3)	7,1 (6,1-8,0)	32,4 (29,2-35,6)	39,8 (35,8-43,8)
Pacifique Occidentale	23,1 (21,9-24,4)	27,4 (25,9-28,9)	30,7 (28,8-32,7)	7,6 (7,1-8,1)	21,5 (20,8-22,2)	97 (94,0-100,0)
<b>Total</b>	<b>47,4</b> (45,7-49,1)	<b>293,1</b> (282,8-303,5)	<b>41,8</b> (39,9-43,8)	<b>56,4</b> (53,8-59,1)	<b>30,2</b> (28,7-31,6)	<b>468,4</b> (446,2-490,6)

<sup>a</sup> Intervalle de confiance

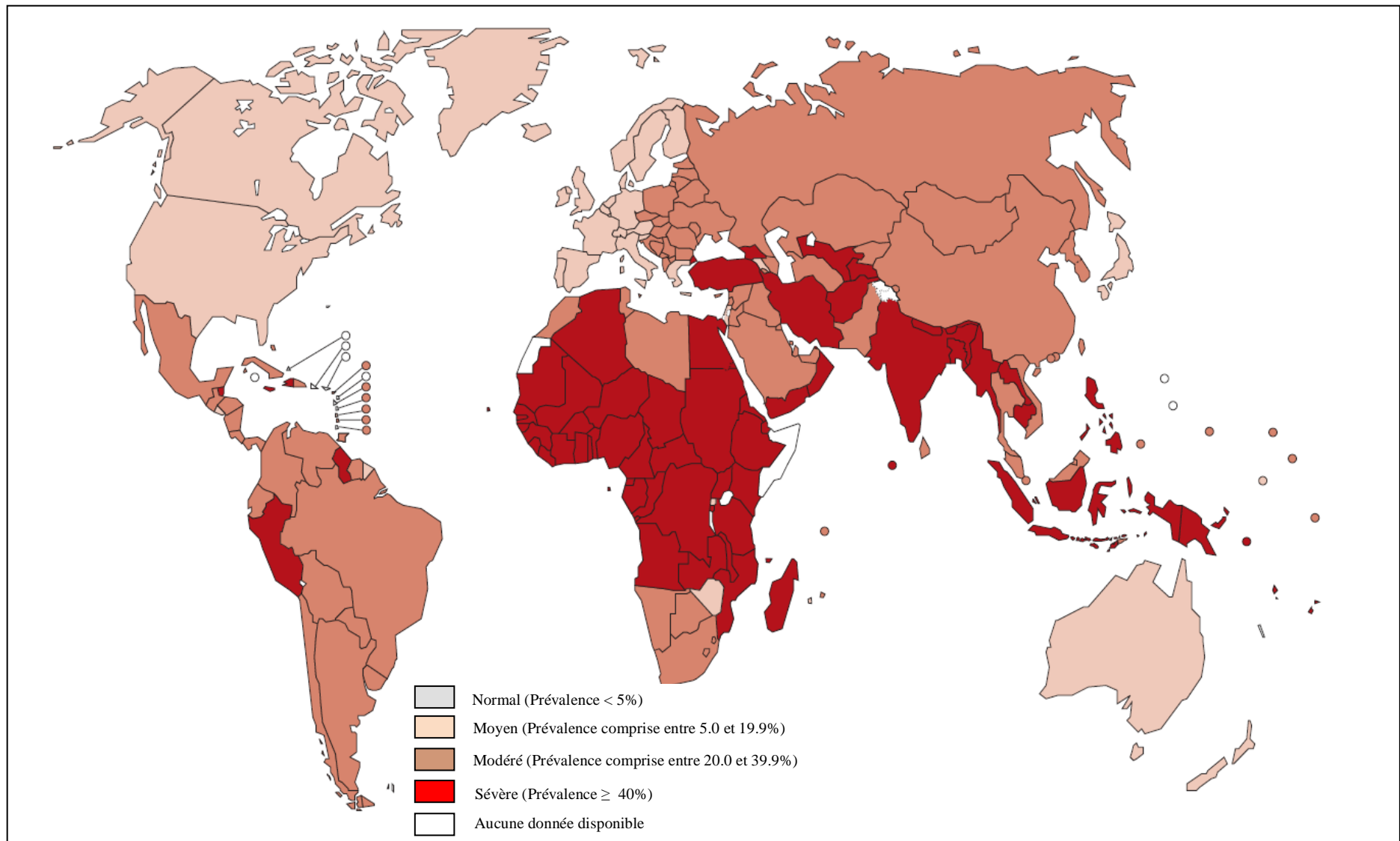
Source: World Health Organization. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008.

Sur le plan de la santé publique, l'anémie peut être, ou non, considérée au sein d'une population comme un problème de santé publique. Ainsi l'anémie ne constitue pas un problème de santé publique pour une prévalence inférieure à 5%. Au-delà de ce pourcentage l'OMS considère qu'il s'agit d'un problème de santé publique d'importance progressive. Il peut s'agir d'un problème moyen ou modéré de santé publique pour une prévalence comprise respectivement entre 5 et 19,9% ou entre 20 et 39,9%. Au-delà de 40% il s'agit d'un problème sévère de santé publique. Les figures 1, 2 et 3 extraites du dernier rapport de l'OMS représentent la prévalence de l'anémie par degré de sévérité et par pays, respectivement chez les enfants en âge préscolaire, les femmes enceintes et les femmes en âge de procréer. Il est extrêmement frappant de constater que d'après ces figures, il n'existe quasiment aucun pays où l'anémie de la femme enceinte ou en âge de procréer ne soit un problème de santé publique. Ce constat est tout aussi surprenant pour les enfants en âge préscolaire. En république du Bénin, l'anémie chez les enfants en âge préscolaire, les femmes enceintes et les femmes en âge de procréer constitue un problème sévère de santé publique avec des prévalences largement supérieures à 40%.

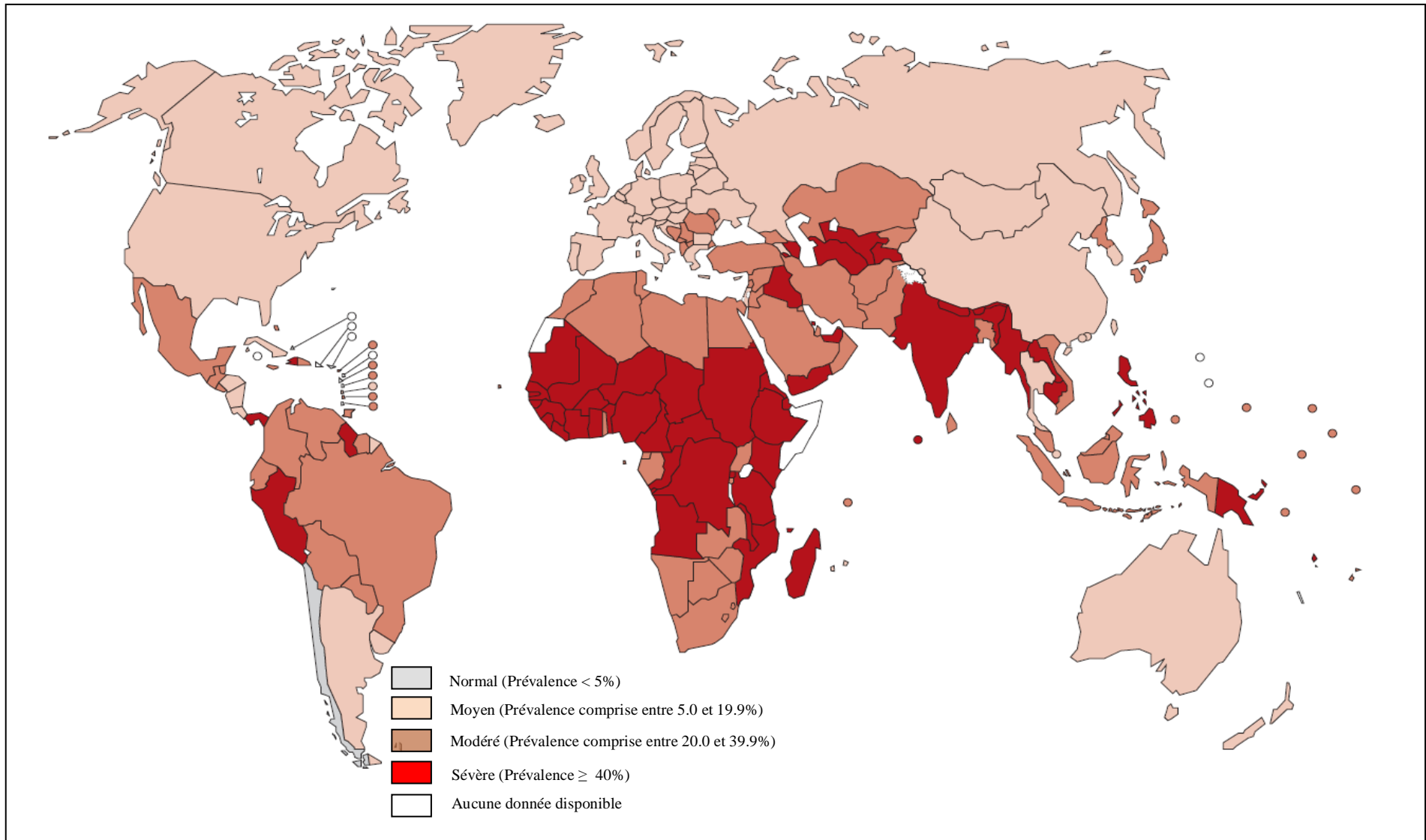


**Figure 1** Prévalence de l'anémie dans le monde et degré de sévérité chez les enfants en âge préscolaires (World Health Organization 2008).





**Figure 2** Prévalence de l'anémie dans le monde et degré de sévérité chez les femmes enceintes (World Health Organization 2008).

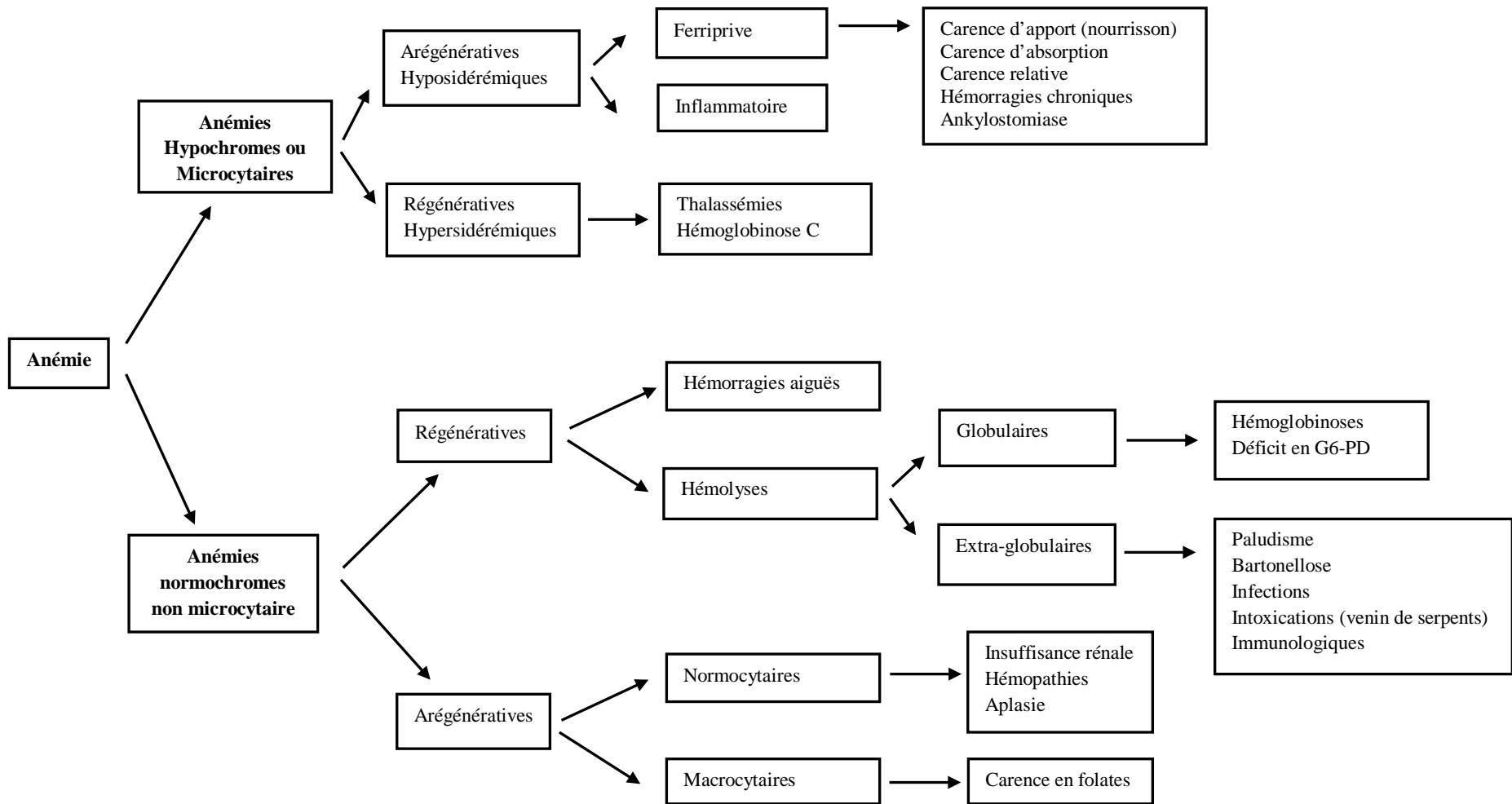


**Figure 3** Prévalence de l'anémie dans le monde et degré de sévérité chez les femmes en âge de procréer (World Health Organization 2008).

### 3. Les étiologies de l'anémie

Le diagnostic d'une anémie est souvent orienté par un bon examen clinique qui peut également révéler des signes évocateurs de la pathologie causale. Toutefois, le diagnostic de certitude reste biologique par le dosage du taux d'hémoglobine. Une fois le diagnostic posé, il est capital de rechercher la ou les étiologies afin d'instaurer une prise en charge adaptée et efficace.

Le diagnostic étiologique repose sur les données de la numération formule sanguine (NFS). En effet, selon la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) dont la valeur normale varie de 32 à 36 picogrammes, on distinguera les anémies hypochromes ( $TCMH < 32$  picogrammes) et les anémies normochromes ( $36 < TCMH > 32$  picogrammes). Selon le volume globulaire moyen (VGM) dont la valeur moyenne est de 82 à 98 femtolitres (fL) on distinguera les anémies microcytaires ( $VGM < 80$  fL), normocytaires (VGM comprise entre 80 et 100 fL) et macrocytaires ( $VGM > 100$  fL). La figure 4 présente la démarche diagnostique réalisée en pratique pour déterminer l'étiologie d'une anémie afin d'assurer une bonne prise en charge.



**Figure 4** Classification hématologique des anémies tropicales (*Gentilini 1993*)

Les causes de l'anémie sont largement décrites dans la littérature et elles sont multiples et le plus souvent intriquées. Dans les pays en développement, elles peuvent être regroupées en trois catégories principales à savoir les anémies d'origine nutritionnelle, les anémies d'origine infectieuse et les anémies d'origine génétique. Dans les prochains paragraphes nous allons brièvement les passer successivement en revue.

### **3.1. Les anémies d'origine nutritionnelles**

Les anémies nutritionnelles sont par définition liées à une carence en un élément nutritif. Il peut s'agir le plus souvent d'une carence en fer, en acide folique, en vitamine A et en vitamine B12.

#### **3.1.1. Carence en fer**

Le fer est indispensable pour le transport de l'oxygène et l'érythropoïèse. C'est un composant essentiel de l'hémoglobine, qui représente 80 % du stock total de fer de l'organisme. Pour la synthèse de l'hémoglobine, l'organisme puise dans ses réserves en fer ; la diminution des réserves qui n'est pas compensée par l'alimentation peut conduire à une anémie mais au terme d'une évolution qui se fait en trois phases. Au cours de la première, marquée par une diminution de la ferritine, les stocks en fer (foie, rate, moelle) sont réduits. Dans une deuxième phase, le transfert du fer aux globules rouges est diminué, entraînant une baisse de la saturation de la transferrine et une augmentation de la capacité totale de fixation du fer. L'évolution vers l'anémie hypochrome microcytaire, phase ultime, ne se fait qu'après plusieurs mois de déséquilibre (Bothwell 1979; Nemeth 2008). La carence martiale est considérée à l'échelle planétaire comme la première cause d'anémie et elle touche plus de deux milliards d'individus dans le monde (ACC/SCN 2000; Ramakrishnan 2002).

La ferritinémie est l'examen de première intention pour rechercher une carence en fer, la concentration sérique de la ferritine témoignant de l'importance du pool de réserve. Une baisse évoque une carence martiale et constitue un signe relativement précoce. La valeur seuil jugée la plus discriminante est de 16 ng / mL (Hallberg *et al.* 1993). Cependant dans les pays à revenu intermédiaire ou faible, le dosage ne peut être réalisé en pratique courante du fait de son coût très élevé. Plusieurs autres marqueurs ont donc été proposés par l'OMS pour évaluer la carence en fer (World Health Organization 2007; World Health Organization and Centers for Disease Control and Prevention 2004). Parmi ces marqueurs le taux d'hémoglobine est le plus accessible dans ces pays car il est simple à réaliser et relativement peu coûteux. Par ailleurs l'OMS recommande, dans les pays en voie de développement de considérer la carence martiale comme la principale étiologie de l'anémie (Stoltzfus, Dreyfuss, and ILSI 1998). Ainsi, en 2000, la carence en fer était considérée comme responsable de 75% des anémies observées dans le monde et principalement chez la femme enceinte (Sifakis and Pharmakides 2000). Cependant, une fois encore, une étude récente effectuée au Bénin semble contredire ces chiffres puisqu'elle a montré que seulement 13% des anémies observées étaient attribuables à la carence en fer ; Dans cette étude 33,3% des femmes présentaient une carence en fer (Ouédraogo *et al.* 2012).

### **3.1.2. Carence en acide folique**

L'acide folique, une vitamine hydrosoluble, est le précurseur d'une coenzyme, le tétrahydrofolate qui est impliquée dans la synthèse des bases nucléiques, purines et pyrimidines, constituant les acides nucléiques du matériel génétique. L'acide folique aide aussi à la formation des globules rouges et contribue à la maturation de la moelle osseuse. L'anémie due à une carence en acide folique est généralement normochrome macrocytaire et arégénérative. Plus rarement, elle pourra être normocytaire, voire microcytaire en cas de

carence en fer associée. L'anémie par carence en acide folique présente une moelle riche, renfermant des précurseurs médullaires de grande taille notamment des érythroblastes appelés mégalo blasts, d'où les termes « d'anémie macrocytaire mégalo blastique » pour la désigner (Renaud 2003). Dans la même étude réalisée au Bénin et précédemment citée, il a été montré que si 31% des femmes enceintes avaient une carence en acide folique, seules 12% des anémies observées étaient attribuables à cette carence (Ouédraogo *et al.* 2012).

### **3.1.3. Carence en vitamine B12**

La vitamine B12, également appelée cobalamine est aussi une vitamine hydrosoluble, essentielle au fonctionnement normal du cerveau, du système nerveux et à l'érythropoïèse. Elle est normalement impliquée comme cofacteur dans le métabolisme de chacune des cellules du corps humain, plus particulièrement dans la synthèse de l'Acide Désoxyribonucléique (ADN) et sa régulation, ainsi que dans la synthèse des acides gras et dans la production d'énergie. Les principales manifestations cliniques des carences en B12 sont extrêmement polymorphes et de gravité variable, allant de polynévrites sensitives banales ou d'anomalies isolées de l'hémogramme à type de macrocytose ou d'hypersegmentation des neutrophiles, jusqu'à des tableaux gravissimes de sclérose combinée de la moelle ou d'anémie hémolytique voire de pancytopenie et de pseudomicroangiopathie thrombotique (Andres *et al.* 2004; Andres *et al.* 2003; Andres *et al.* 2000; Carmel 2000; Dharmarajan, Adiga, and Norkus 2003; Stabler *et al.* 1990). Au Bénin, il a été récemment montré d'abord que 3,7% des femmes enceintes présentaient une carence en vitamine B12 et ensuite que 4% des anémies observées étaient attribuables à cette carence (Ouédraogo *et al.* 2012).

### **3.1.4. Carence en vitamine A**

La vitamine A est une vitamine liposoluble qui, dans l'organisme, existe sous forme de rétinol, de rétinal, d'acide rétinoïque et de rétinyl phosphate. La vitamine A est essentiellement impliquée dans la croissance des os et la synthèse de pigments de l'œil. Cependant différentes études ont retrouvé une corrélation entre le taux d'hémoglobine et la concentration plasmatique en rétinol. En 1978, Hodge *et al.* ont effectué une méta-analyse en utilisant les données provenant de plusieurs pays (Vietnam, Chili, Brésil, Uruguay, Equateur, Venezuela, Guatemala, Ethiopie) et ont retrouvé une corrélation forte entre le taux d'hémoglobine et la concentration plasmatique en rétinol (Hodges *et al.* 1978). Cette corrélation, décrite dans différents groupes de populations (Fazio-Tirrozzo *et al.* 1998; Majia *et al.* 1977; Mohanram, Kulkarni, and Reddy 1977; Molla *et al.* 1993), pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes le plus souvent intriqués. Il peut s'agir d'une modification de l'érythropoïèse ou d'une modification du métabolisme du fer, ou encore d'une modulation de l'immunité augmentant le risque de maladies infectieuses responsables d'anémie (Semba and Bloem 2002).

## **3.2. Les anémies d'origine infectieuses**

Bien que toutes les infections puissent entraîner une anémie, les infections helminthiques intestinales, le paludisme, la schistosomiase et l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine acquise sont les principales responsables d'anémie dans la zone intertropicale.

### **3.2.1. Les infections helminthiques intestinales**

Les helminthiases désignent des maladies parasitaires, causées par des vers parasites intestinaux, les helminthes. L'ankylostomose, l'ascaridiose et la trichocéphalose sont les



infections helminthiques intestinales responsables d'une anémie (Larocque *et al.* 2005). Parmi ces trois maladies parasitaires, l'ankylostomose, à manifestations digestives et hématologiques dominantes, a été la plus décrite comme responsable d'anémie (Smith and Brooker 2010). Elle est très répandue dans toutes les zones chaudes et humides, tropicales et subtropicales et principalement en Afrique subsaharienne et en Asie du Sud-Ouest touchant 576 à 740 millions d'individus (Bethony *et al.* 2006). L'ankylostome est plus anémiant que l'ascaris et le trichocéphale.

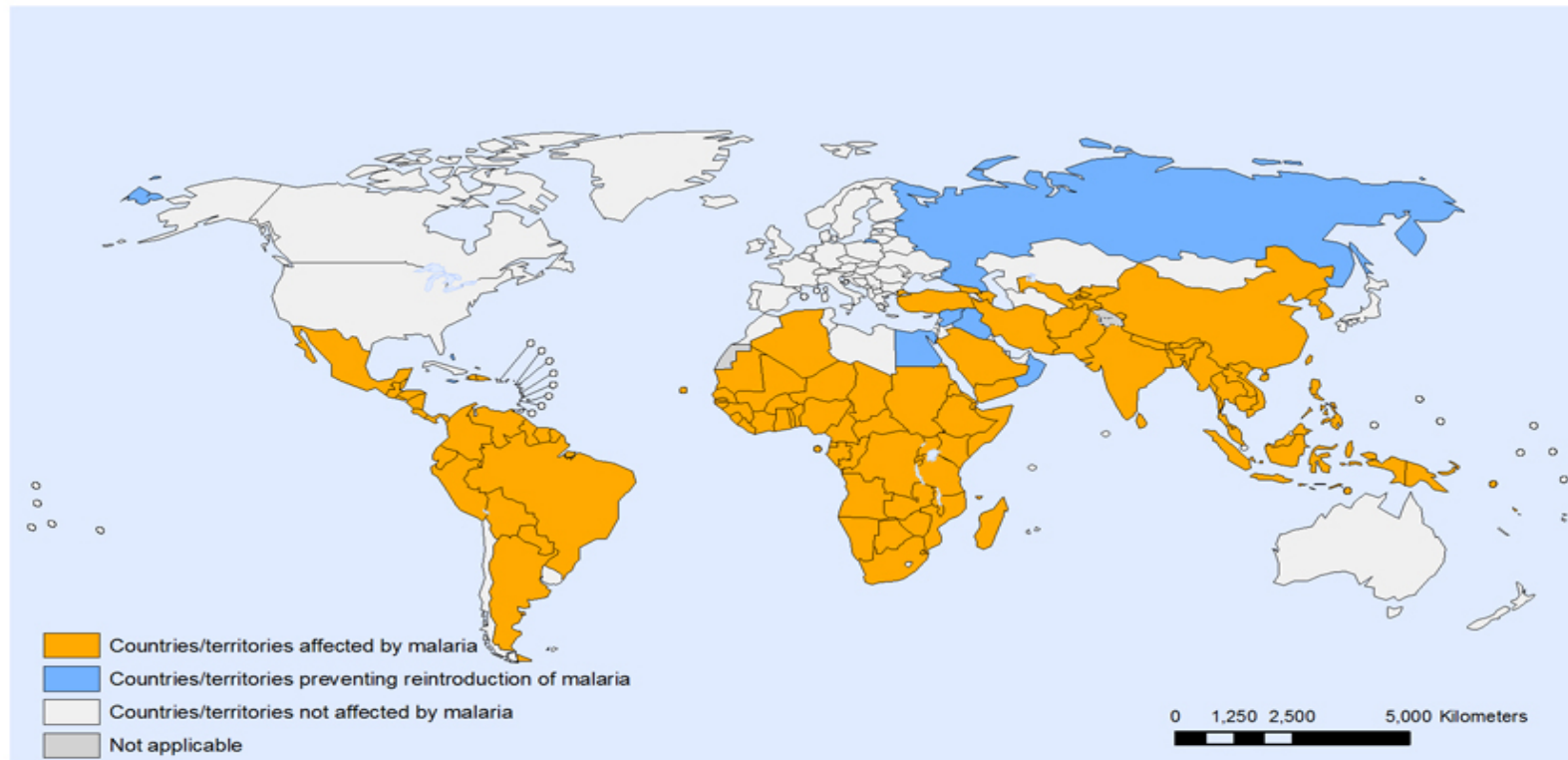
Dans une étude réalisée au Bénin sur une cohorte de femmes enceintes chez lesquelles la prévalence de l'anémie atteignait 60%, les infections helminthiques intestinales représentaient 8% avec dans plus de 90% des cas une infection par ankylostome (Koura *et al.* 2011). Le même constat a été fait par Ouédraogo *et al.* toujours au Bénin. Dans son étude la prévalence des infections helminthiques intestinales était de 11.2% et dans 81% des cas il s'agissait d'infection par ankylostome (Ouédraogo *et al.* 2012).

### **3.2.2. Le paludisme**

Avec 216 millions de personnes malades et 655 000 décès en 2010, le paludisme demeure la parasitose la plus importante et concerne majoritairement les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes (World Health Organization 2011). La figure 5 présente la répartition du paludisme dans le monde. L'infection paludéenne chez la femme enceinte constitue un très grave problème de santé publique puisqu'elle comporte des risques non négligeables pour la mère, l'enfant à naître et le nouveau-né. Dans les zones de forte transmission stable de *Plasmodium falciparum*, où les taux d'immunité acquise sont généralement élevés, les femmes sont exposées à une infection asymptomatique, qui peut entraîner une anémie

maternelle et une parasitémie placentaire et – par voie de conséquence – une insuffisance pondérale à la naissance (Lagerberg 2008). Quatre vingt pour cent des cas de paludisme sont enregistrés en Afrique subsaharienne (World Health Organization 2011) où *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus répandue et pathogène et peut conduire à une anémie sévère (Menendez, Fleming, and Alonso 2000a). L'anémie au cours du paludisme peut résulter d'une augmentation de la destruction des globules rouges accompagnée d'une diminution de l'érythropoïèse ; ces mécanismes surviennent de façon simultanée et peuvent être influencés par plusieurs facteurs que sont l'âge, l'état gestationnel ou pas, les espèces parasites, la prophylaxie et une exposition antérieure.

## Countries and territories affected by malaria, 2010



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: World Health Organization  
Map Production: Public Health Information  
and Geographic Information Systems (GIS)  
World Health Organization

 **World Health Organization**  
© WHO 2012. All rights reserved.

**Figure 5** Pays et territoires affectés par le paludisme, 2010

Source : [http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/malaria\\_003.jpg](http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/malaria_003.jpg)

### **3.2.3. La schistosomose**

Seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme, la bilharziose ou schistosomose est une maladie chronique et débilitante touchant 192 millions d'individus. Cette parasitose, retrouvée en zones tropicales et subtropicales en Afrique, en Amérique du Sud et en Asie, est responsable d'environ 280 000 décès chaque année. Plus de 90% des cas recensés surviennent en Afrique sub-saharienne et l'espèce majoritaire est *Schistosoma haematobium* (Friedman, Kanzaria, and McGarvey 2005). En 1996, dans un essai clinique, McGarvey *et al.* ont montré que les enfants traités par le Praziquantel avaient un taux d'hémoglobine significativement plus élevé que les enfants du groupe placebo (McGarvey *et al.* 1996). Quatre mécanismes ont été proposés pour expliquer cette relation (Friedman *et al.* 2005). Il peut s'agir entre autre d'une déperdition du fer, d'une séquestration splénique des globules rouges, d'une hémolyse auto-immune ou d'une anémie inflammatoire (Friedman *et al.* 2005).

### **3.2.4. L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) acquise**

L'anémie est l'une des complications associées à l'infection par le VIH (Volberding *et al.* 2004). Cette complication touche le plus souvent les femmes et les enfants de l'Afrique sub-saharienne (Calis *et al.* 2008). L'anémie observée au cours de l'infection par le VIH peut être due soit à une infiltration néoplasique de la moelle osseuse, soit à des phénomènes immunologiques responsables d'une anémie hémolytique. L'infection par le VIH peut également agir indirectement sur la concentration sanguine en hémoglobine en augmentant la susceptibilité du sujet malade à diverses infections, notamment celles à *Plasmodium falciparum* responsable à leur tour d'anémie (Verhoeff *et al.* 1999). Enfin l'anémie observée au cours de cette infection peut être un effet secondaire des antirétroviraux, principalement de

la zidovudine (AZT), un médicament de la classe des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse.

### **3.3. Les anémies d'origine génétique**

Les anomalies génétiques responsables d'anémie regroupent la drépanocytose et les thalassémies, le déficit en Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) et de l'ovalocytose.

#### **3.3.1. La drépanocytose**

Il s'agit d'une anomalie génétique se caractérisant par l'altération structurelle de l'hémoglobine. L'anomalie consiste en la substitution en position 6 d'un acide glutamique par une valine sur la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine. Elle est généralement létale sous sa forme homozygote SS avant l'âge adulte, mais bien supportée par les hétérozygotes AS.

La drépanocytose est fréquente dans les populations de l'Afrique subsaharienne, des Antilles, d'Inde, du Moyen-Orient et du bassin méditerranéen (Modell and Darlison 2008). Les globules rouges ont perdu leur élasticité et vont obstruer les capillaires provoquant une ischémie par manque d'apport d'oxygène au niveau de différents tissus, responsable des crises douloureuses, des infarctus cérébraux, et autres manifestations cliniques. Ces globules rouges peuvent également léser la paroi interne des vaisseaux entraînant un risque d'obstruction de ces vaisseaux. La drépanocytose est aussi responsable d'une anémie hémolytique chronique (World Health Organization 1993). Cette anémie est due à une destruction des globules rouges soit spontanément du fait de leur fragilité soit par phagocytose par les cellules réticulaires (Bondevik *et al.* 2000). L'anémie hémolytique du sujet drépanocytaire est constante et le taux d'hémoglobine est compris entre 6 et 8 g / dL. Cependant l'hyper

séquestration splénique des hématies falciformes, ou l'aplasie médullaire pouvant survenir dans la phase aiguë de l'infection peuvent aggraver cette anémie.

### **3.3.2. Les thalassémies**

Les thalassémies constituent un groupe d'affections héréditaires caractérisées par une diminution de la synthèse de l'une ou l'autre des deux chaînes de l'hémoglobine, sans qu'il y ait en général d'anomalie structurelle de ces chaînes. Il en existe deux grands groupes selon que le défaut de synthèse touche les chaînes  $\alpha$  ou  $\beta$ . On les retrouve plus fréquemment dans les pays de l'est méditerranéen et de l'Extrême-Orient et où elles touchent plus du quart de la population (Modell and Darlison 2008). Leurs formes cliniques sont très nombreuses, caractérisées par des degrés variables d'anémie microcytaire due à une insuffisance de production de l'hémoglobine (ter Kuile *et al.* 2004)

### **3.3.3. Le déficit en G6PD**

La Glucose-6-Phospho-Déshydrogénase (G6PD) joue un rôle clé dans le métabolisme énergétique cellulaire en participant à l'oxydoréduction du glutathion pour la glycolyse. Un déficit en G6PD entraîne une accumulation des radicaux toxiques dans les globules rouges et leur destruction. Le déficit en G6PD est la première cause d'anémies hémolytiques aiguës déclenchées soit par la prise d'un médicament, soit par une infection ou par les deux mécanismes (Luzzatto, Metha, and Vulliamy 2001). Le déficit en G6PD, est le déficit enzymatique le plus répandu dans le monde. Il est souvent retrouvé chez les personnes originaires d'Afrique, d'Inde, de tout le bassin méditerranéen, du Moyen-Orient et du sud-est de l'Asie. Il reste sous-estimé dans les populations du nord de l'Europe mais on le retrouve dans les populations noires de l'Amérique du Nord, des Antilles et du Brésil.

### 3.3.4. L'ovalocytose

Encore appelée elliptocytose héréditaire, il s'agit d'une maladie héréditaire caractérisée par une anomalie de la membrane du globule rouge entraînant une déformation des globules, qui prennent une forme légèrement ovale ou elliptique. Elle est responsable d'une anémie hémolytique (Bossi and Russo 1996). Sa prévalence est très faible dans les pays développés alors qu'elle est élevée dans les régions où le paludisme est endémique en Afrique et en Asie (Bossi and Russo 1996).

Que retenir de ces principales causes d'anémies ? Le point le plus important me semble être que leurs répartitions géographiques dans les pays du sud se superposent grandement et que dans bien des cas, même si la carence martiale semble devoir être considérée comme la cause principale, les étiologies sont multiples et intriquées. Ainsi, le caractère « interchangeable » des termes anémie et anémie par carence martiale que l'on peut retrouver dans la littérature et qui semble admis par l'OMS peut être critiqué. Mais encore une fois, il faut garder à l'esprit, que la conséquence essentielle de cette multitude de causes et de leurs répartitions, est qu'il faudra, malgré les difficultés que cela engendre, les intégrer dans une éventuelle politique de lutte et de prévention. En effet, les conséquences de l'anémie peuvent être très sévères.

## **4. Conséquences de l'anémie**

De nombreuses études se sont intéressées aux conséquences de l'anémie et il nous est apparu important de nous limiter à celles concernant la femme enceinte et l'enfant. Ainsi, nous décrirons dans un premier temps les conséquences de l'anémie maternelle sur le poids de naissance et la prématurité, puis nous présenterons ses conséquences sur la mortalité maternelle et périnatale. Ensuite nous aborderons les répercussions de l'anémie maternelle en termes d'anémie du nouveau-né et du jeune enfant. Enfin, nous nous intéresserons aux conséquences de l'anémie sur le développement cognitif de l'enfant.

### **4.1. Conséquences de l'anémie maternelle sur le poids de naissance et la prématurité**

Depuis plus d'un quart de siècle de nombreuses études s'intéressent aux conséquences de l'anémie chez la femme enceinte sur le nouveau-né à la naissance en termes de faible poids de naissance et de prématurité. Nous allons passer successivement en revue certaines d'entre elles afin de souligner les discordances fréquemment rencontrées, que ces études proviennent d'Europe, d'Asie ou d'Afrique.

Murphy *et al.* se sont intéressés à ces conséquences en fonction du niveau d'Hb et de l'âge gestationnel (Murphy *et al.* 1986). Cette étude de cohorte a été menée au pays de Galles entre 1970 et 1979 puis de 1980 à 1982 auprès de 54382 couples mère-enfant. Le taux d'hémoglobine des femmes a été codé en trois classes, à savoir : faible ( $Hb < 10,4$  g / dL), intermédiaire ( $10,4 - 13,2$  g / dL) et élevée ( $Hb \geq 13,3$  g / dL). Les femmes ont été réparties en trois groupes selon leur âge gestationnel lors de l'inclusion : inférieur à 13 semaines d'aménorrhée (SA), compris entre 13 et 19 SA et enfin compris entre 20 et 24 SA. Elles ont ensuite été suivies jusqu'à l'accouchement et les diverses complications ont été identifiées.



Les auteurs ont mis en évidence une relation en U entre le taux d'hémoglobine et la prématurité ainsi que le faible poids de naissance en fonction des périodes définies ci-dessus. Le risque de donner naissance à un nouveau-né prématuré ou de faible poids de naissance est d'environ 1,18 pour les femmes incluses avant 13 SA. Ce risque décroît ensuite si l'inclusion a eu lieu entre 13 et 19 SA pour remonter à 1,75 pour les femmes incluses entre 20 et 24 SA.

Klebanoff *et al.* ont utilisé en 1991 des données collectées entre 1974 et 1977 pour examiner la relation entre l'anémie durant le second et le troisième trimestre de grossesse et la prématurité (Klebanoff *et al.* 1991). Dans cette étude le critère utilisé pour définir l'anémie était l'hématocrite. Ces auteurs ont montré que les femmes anémiées au second trimestre de grossesse avaient un odds ratio deux fois plus élevé de donner naissance à des nouveau-nés prématurés (OR = 1,9 ; IC 95% : 1,2 – 3,0). Au troisième trimestre de grossesse, l'anémie n'était plus un facteur de risque.

Toute une série d'études sur cette problématique ont été effectuées en Chine. En 1998, Zhou *et al.* ont publié les résultats d'une étude de cohorte qui s'est déroulée de 1991 à 1992 à Shanghai. L'objectif de leur étude était d'examiner la relation entre le taux d'hémoglobine mesuré à différents moments de la grossesse (2<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> mois de grossesse) et le faible poids de naissance ou la prématurité. Neuf cent femmes ont été incluses et les analyses ont été réalisées chez les 829 femmes ayant complété le suivi et ayant une grossesse unique (Zhou *et al.* 1998). Leur étude se rapproche de celle de Murphy *et al.* à deux différences près. En effet Zhou *et al.* ont suivi les femmes depuis l'inclusion jusqu'à l'accouchement alors que Murphy *et al.* ont inclus les femmes et les ont réparti en plusieurs groupes selon leur âge gestationnel à l'inclusion. Deuxièmement Zhou *et al.* se sont intéressés également aux conséquences de l'anémie au 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse alors que Murphy *et al.* se sont arrêtés au 2<sup>ème</sup>

trimestre. Ils ont retrouvé la même relation en U décrite en 1986 par Murphy *et al.* Le risque de donner naissance à un nouveau-né de faible poids de naissance ou à un nouveau-né prématuré était significativement élevé si la mère était anémiée au 1<sup>er</sup> trimestre. Ce risque décroît au cours du second trimestre et remonte au cours du troisième sans pour autant devenir significatif. Par ailleurs ils ont indiqué que l'anémie du 1<sup>er</sup> trimestre serait responsable de 25% de la prématurité et de 33% du faible poids de naissance. Nous signalons que ces chiffres nous semblent particulièrement élevés.

En 2000, une méta analyse a été réalisée par Xiong *et al.* (Xiong *et al.* 2000) sur ce même thème. Ces auteurs ont montré que l'anémie, quelle que soit sa période de survenue au cours de la grossesse, ne représentait pas un facteur de risque pour le faible poids de naissance. En revanche pour la prématurité seule l'anémie du 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse constituait un réel facteur de risque.

Il est important de noter qu'en 2003, ces mêmes auteurs n'ont retrouvé aucune association entre l'anémie durant la grossesse, quelle que soit sa période de survenue, et le faible poids de naissance ou la prématurité. Cette dernière étude concernait 16936 femmes incluses entre 1989 à 1990 à Suzhou (Xiong *et al.* 2003).

Enfin, une étude portant sur un important échantillon de 102 484 femmes chinoises a été réalisée entre janvier 1999 et décembre 2000. Dans cette grosse étude, les femmes avec un taux d'hémoglobine compris entre 8 et 9 g / dL au 1<sup>er</sup> trimestre donnaient plus souvent naissance à des nouveau-nés de faible poids de naissance (OR=1,44, 95% CI 1,17–1,78) ou à des nouveau-nés prématurés (OR=1,34, 95% CI 1,16–1,55) (Ren *et al.* 2007).

Concernant cette fois l'Afrique de l'Ouest, Geelhoed *et al.* ont conduit une étude cas-témoin sur un échantillon de 309 femmes enceintes dans deux dispensaires en zone rurale au Ghana. Dans cette étude menée de Janvier 1999 à Janvier 2000 les cas comprenaient 157 femmes présentant une anémie grave (hémoglobine inférieur à 8 g / dL). Les témoins appariés sur l'âge et la parité comprenaient des femmes non anémiées avec un taux d'hémoglobine supérieur ou égal à 10,9 g / dL. Aucune association n'a été retrouvée entre l'anémie sévère telle que définie et le faible poids de naissance. Cependant ces auteurs ont montré que pour un taux d'hémoglobine inférieur à 6 g / dL les femmes enceintes donnaient plus souvent naissance à des nouveau-nés de faible poids (OR = 2,5 ; IC 95% : 1,2 – 5,4) (Geelhoed *et al.* 2006).

Terminons cette courte revue par une étude réalisée au sud Bénin par Bodeau-Livinec *et al.* (2011), qui a porté sur des données collectées lors d'un essai clinique qui s'est déroulé de 2005 à 2008. Les analyses concernaient 1508 femmes enceintes chez lesquelles l'anémie a été définie par un taux d'hémoglobine inférieur à 11 g / dL et l'anémie sévère par un taux d'hémoglobine inférieur à 8 g / dL. Les auteurs ont mis en évidence une association entre l'anémie sévère et le faible poids de naissance, avec une probabilité de donner naissance à des nouveau-nés de faible poids de naissance trois fois plus élevées chez les femmes présentant une anémie sévère au 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse (Bodeau-Livinec *et al.* 2011).

A la vue de ces résultats, il semble que les conséquences de l'anémie chez la femme enceinte sur le nouveau-né en termes de faible poids de naissance et de prématurité sont très discutées. Il faut noter que ces études diffèrent énormément entre elles par leur design, le site d'étude mais également par les définitions utilisées pour définir l'anémie chez la femme enceinte (le taux d'hémoglobine ou la mesure de l'hématocrite). Pour celles qui utilisent le taux

d'hémoglobine, le seuil utilisé est variable et, si certains considèrent le seuil recommandé par l'OMS à savoir 11 g / dL d'autres par contre utilisent le seuil de 10 g / dL, voire des seuils choisis selon des critères assez flous. Ce qui semble néanmoins prépondérant dans ces études est le rôle primordial de la période d'installation de l'anémie et, même si les résultats sont encore variables le premier trimestre pourrait constituer la période la plus à risque.

#### **4. 2. Conséquences de l'anémie maternelle sur la mortalité maternelle et périnatale**

Le taux de mortalité maternelle est le rapport du nombre de décès maternels, observés sur une année par rapport au nombre d'accouchements ayant donné lieu à une naissance vivante, il se calcule sur une base de 100 000 naissances. Une méta-analyse réalisée en 2004 a compilé les données de six études observationnelles et a montré qu'une augmentation du taux d'hémoglobine de 1 g / dL diminuerait la mortalité maternelle avec un odds ratio de 0,75 (IC 95% : 0,62-0,89) (Ezzati *et al.* 2004).

La mortalité périnatale se définit comme le nombre de mortinaissances (décès d'un fœtus après 28 semaines de gestation) et de décès néonataux précoces (décès d'enfants de moins d'une semaine). La relation entre l'anémie maternelle et la mortalité périnatale semble complexe tant les résultats sont contradictoires. En 1991, Mavalankar *et al.* ont étudié les déterminants de la mortalité périnatale. Cette étude cas-témoins a été réalisée sur la base des données collectées entre 1987 et 1988 dans trois hôpitaux d'Inde. Dans cette étude, l'anémie maternelle qu'elle soit sévère ou modérée était un déterminant de la mortalité périnatale (Mavalankar, Trivedi, and Gray 1991). Cependant, dans une méta-analyse effectuée en 2000 par Xiong *et al.*, cette association n'a pas été confirmée (Xiong *et al.* 2000), alors qu'elle l'est à nouveau quelques années plus tard. En effet, en 2004, dans une nouvelle méta-analyse,

l'augmentation du taux d'hémoglobine de 1 g / dL semble diminuer la mortalité périnatale avec un odds ratio de 0,75 (IC 95% : 0,65-0,81) (Ezzati *et al.* 2004).

Notons pour conclure cette partie qu'en 2009, une large étude de cohorte a été menée en Chine sur 163313 couples mère-enfant et était compatible avec le fait que l'anémie maternelle ne représentait pas un facteur de risque pour la mortalité néonatale, avant 28 jours de vie (Zhang *et al.* 2009).

#### **4.3. Conséquences de l'anémie maternelle sur l'anémie du nouveau-né et du jeune enfant**

A notre connaissance, cette relation a été très peu décrite dans la littérature. En 1999, Kilbride *et al.* ont mené une étude cas-témoin dont l'objectif était d'étudier la relation entre l'anémie chez la femme enceinte et l'anémie par carence martiale chez l'enfant durant sa première année de vie (Kilbride *et al.* 1999). La prévalence de l'anémie par carence martiale dans le groupe des enfants nés de mères anémiées (81%) était significativement plus élevée que dans le groupe des enfants nés de mères non anémiées (65%). De tels résultats avaient été décrits auparavant en Espagne (Colomer *et al.* 1990) puis au Niger (Preziosi *et al.* 1997). Dans l'étude de Kilbride, les enfants ont ensuite été revus à 3, 6, 9 et 12 mois et à chacune de ces dates, l'anémie par carence martiale était significativement plus élevée chez les enfants nés de mères anémiées comparées aux enfants nés de mères non anémiées (Kilbride *et al.* 1999). De la même manière, de Pee *et al.* (2002) ont montré que les enfants nés d'une mère anémiée avait deux fois plus de probabilité d'avoir un faible taux d'hémoglobine entre 3 et 5 mois de vie comparé aux enfants nés d'une mère non anémiée (de Pee *et al.* 2002). Cependant aucune de ces deux études n'avait tenu compte du caractère répété, et donc non indépendant, des données.

A côté des conséquences périnatales de l'anémie de la femme enceinte sur son nouveau-né, en termes de poids de naissance, d'anémie et de mortalité, les associations possibles entre la carence martiale et le développement du nouveau-né rendent pertinent de s'interroger sur les relations éventuelles entre anémie du nouveau-né et développement cognitif du jeune enfant. Par ailleurs, le petit poids de naissance, la prématurité et l'anémie chez le petit enfant sont des facteurs de risque connus de mauvais développement de l'enfant (Walker *et al.* 2007). Par conséquent, l'anémie pourrait avoir des conséquences sur le développement de l'enfant par l'intermédiaire de ces facteurs.

#### **4.4. Anémie par carence martiale et développement cognitif**

Les premières années de vie, de la naissance à cinq ans, sont la période la plus importante de la croissance et du développement des jeunes enfants. Pendant cette période, ils acquièrent la capacité de marcher, de parler, d'écrire, de s'exprimer et donc de communiquer avec l'entourage. Le développement des enfants est très complexe et inclut des domaines multiples et interdépendants (socio-affectif, langage, cognitif, comportemental et fonctionnel). Outre la carence martiale, le développement de l'enfant est très influencé par plusieurs autres facteurs. Tous ces facteurs peuvent être regroupés en deux catégories, à savoir les facteurs biologiques et les facteurs psychologiques (Walker *et al.* 2007). Je vais dans cette section décrire uniquement les conséquences de l'anémie par carence martiale. Les autres facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant, non associés à l'anémie, seront abordés dans la quatrième partie de ce manuscrit (projet TOVI).

#### **4.4.1 Anémie par carence martiale de l'enfant et développement cognitif**

Les différentes études effectuées sur l'impact de l'anémie chez l'enfant sur son développement cognitif se sont intéressées à la principale étiologie de l'anémie à savoir la carence martiale.

En 1993, Idjradinata and Pollitt ont publié les résultats d'un essai clinique randomisé en double aveugle chez des enfants indonésiens âgés de 12 à 18 mois (Idjradinata and Pollitt 1993). Trois groupes d'enfants ont été composés : les enfants présentant une anémie par carence martiale, les enfants présentant une anémie non ferriprive et les enfants non anémiés. Dans chacun de ces groupes les enfants ont été randomisés pour recevoir un traitement ferreux ou un placebo pendant 4 mois. Avant de recevoir ce traitement une évaluation du développement mental et moteur, réalisé en utilisant l'échelle de Bayley, a montré que les enfants présentant une anémie par carence martiale avaient un score significativement plus faible comparé aux deux autres groupes. Après le traitement l'évaluation du développement mental et moteur a montré une augmentation des scores dans le groupe des enfants présentant une anémie par carence martiale au départ. Dans les deux autres groupes (non carencé et non anémié) aucune modification des scores n'a été observée. Ce résultat confirme ceux de certaines études qui avaient déjà montré l'effet de l'anémie par carence martiale sur le développement de l'enfant (Lozoff 1989; Walter, Kovalskys, and Stekel 1983). En outre, il est intéressant de constater qu'une récente méta-analyse a révélé que l'augmentation du taux d'hémoglobine de 1 g / dL augmenterait le quotient intellectuel de 1,73 (Ezzati *et al.* 2004). Cependant, sur ce point comme sur beaucoup d'autres, des résultats contradictoires existent. Ainsi, en 1996, une étude similaire à celle de Idjradinata and Pollitt a été réalisée par Lozoff *et al.*, au Costa-Rica. Dans cette étude où tous les enfants ont reçu pendant 6 mois du sulfate ferreux et où aucun placebo n'a été utilisé, les enfants présentant une anémie par carence

martiale à l'inclusion avaient toujours le score de développement mental le plus bas (Lozoff, Wolf, and Jimenez 1996).

Tamura *et al.* ont confirmé l'association entre le statut en fer du fœtus et les faibles scores du développement cognitif de l'enfant à 5 ans (Tamura *et al.* 2002).

#### **4.4.2 Anémie maternelle par carence martiale et développement cognitif de l'enfant**

A notre connaissance une seule étude s'est intéressée à la relation entre l'anémie *pendant* la grossesse et le développement psychomoteur de l'enfant. Cette étude n'a retrouvé aucune association entre les caractéristiques hématologiques de la mère et le développement psychomoteur de l'enfant (Vaughn, Brown, and Carter 1986). Cependant ici encore des résultats contradictoires sont à noter, bien que le design ne soit pas totalement comparable à l'étude précédente. En effet, dans un essai clinique il a été montré que les enfants dont les mères étaient anémiées durant les premières semaines des *suites de couche* avaient un mauvais score de développement cognitif à 10 semaines de vie puis à 9 mois de vie (Perez *et al.* 2005).

Les relations dans ce domaine pourraient être plus complexes si l'on en croit certains travaux dans lesquels des suppléments ont été proposés aux femmes.

En effet, en 2010, des auteurs se sont intéressés au développement moteur et intellectuel des enfants dont les mères avaient participé à un essai clinique de supplémentation. Dans cet essai plusieurs groupes ont été composés selon la supplémentation ou non de la mère (aucune supplémentation, fer + folate, fer + folate + zinc, ...). Les analyses ont montré que les enfants dont les mères avaient été supplémentées uniquement en fer et en folate avaient de meilleurs scores de développement intellectuel et moteur comparés aux enfants dont les mères



n'ont reçu aucune supplémentation (Christian *et al.* 2010). En 2011, des résultats similaires ont été décrit (Hernandez-Martinez *et al.* 2011; Mihaila *et al.* 2011).

Il semble donc que, outre des facteurs intermédiaires potentiels précédemment décrits (petit poids de naissance, prématurité, anémie chez l'enfant), l'anémie maternelle pourrait avoir des conséquences plus directes sur le développement de l'enfant quand elle est associée à une carence en fer.

Les répercussions à moyen et long termes des troubles du développement cognitif de l'enfant n'ont semblent-il pas été étudiées. A l'inverse, les relations entre l'anémie de l'adulte et la productivité semblent bien établies et, contrairement aux études sur le développement cognitif dans lesquels le fer semble jouer un rôle central, ici c'est essentiellement l'anémie qui serait en cause, qu'elle soit grave ou modérée, due ou non à une carence martiale (Haas and Brownlie 2001).

Le tableau 8 présente un résumé de quelques conséquences de l'anémie décrites dans notre manuscrit.

**Tableau 8** : Tableau récapitulatif de quelques conséquences de l'anémie maternelle (AM) décrites dans le manuscrit

Auteurs	Caractéristique étude <sup>a</sup>	Définition anémie <sup>b</sup>	Conséquences	Principaux résultats
Murphy <i>et al.</i> 1986	N=54382 Etude de cohorte 1970-1982 Pays de Galles	Hb<10,4	Faible Poids de Naissance Prématurité	Association significative Association significative
Klebanoff <i>et al.</i> 1991	N=1706 Etude de cohorte 1974-1977 Etats-Unis	Selon la race : Hct : < 29 ou Hct : < 31	Prématurité	Association significative
Zhou <i>et al.</i> 1998	N=829 Etude de cohorte 1991-1992 Chine	Hb<11	Prématurité Faible Poids de Naissance	AM précoce : Association significative AM tardive: Pas d'association AM précoce : Association significative AM tardive: Pas d'association
Xiong <i>et al.</i> 2000	Méta analyse Etudes 1966 et 1999	Hb<11	Prématurité Faible Poids de Naissance	AM précoce : Association significative AM tardive: Pas d'association AM précoce : Pas d'association AM tardive: Pas d'association
Xiong <i>et al.</i> 2003	N=16936 Etude de cohorte 1989-1990 Chine	Hb<11	Prématurité Faible Poids de Naissance	Aucune association quelque soit la période d'installation de l'anémie

Ren <i>et al.</i> 2007	N=102484 Etude de cohorte 1999-2000 Chine	$8 \leq \text{Hb} \leq 9$	Prématurité  Faible Poids de Naissance	Les femmes présentant ce taux d'Hb au 1er trimestre donnaient plus souvent naissance à des nouveau-nés de faible poids ou des nouveau-nés prématurés
Geelhoed <i>et al.</i> 2006	N=309 Etude cas témoins 1999-2000 Ghana	Hb < 8 et Hb < 6	Faible poids de naissance	Pas d'association avec Hb < 8 Association significative avec Hb < 6
Bodeau-Livinec <i>et al.</i> 2001	N=1508 Etude de cohorte 2005-2008 Bénin	Hb < 11 et Hb < 8	Faible Poids de naissance	Association positive avec anémie sévère
Ezzati <i>et al.</i> 2004	Méta analyse	Hb en quantitatif	Mortalité maternelle	L'augmentation du taux d'Hb de 1 g/dl diminuerait la mortalité maternelle
Mavalankar <i>et al.</i> 1991	N=2076 Etude cas témoins 1987 et 1988 Inde	Hb < 11 et Hb < 8	Mortalité périnatale	Déterminant de la mortalité périnatale
Ezzati <i>et al.</i> 2004	Méta analyse	Hb en quantitatif	Mortalité maternelle	L'augmentation du taux d'Hb de 1 g/dl diminuerait la mortalité périnatale

---

Zhang <i>et al.</i> 2009	N=163313 Etude de cohorte 1993-1996 Chine	Hb < 10	Mortalité néonatale	Pas d'association
Killbride <i>et al.</i> 1999	N=232 Etude cas-témoins prospective Jordanie	Hb<11	Anémie nouveau-né Anémie 3, 6, 9 et 12 mois	Association significative Association significative
Colomer <i>et al.</i> 1990	N=156 Etude de cohorte 1985-1986 Espagne	Hb<11	Carence en fer NN	Association significative
Preziosi <i>et al.</i> 1997	N=197 Essai clinique Niger	Hb<11	Anémie nouveau-né Carence en fer NN	Association significative Association significative
de Pee <i>et al.</i> 2002	N=990 Etude cas témoin Indonésie	Hb<12	Taux Hb nourrisson	Effet de l'AM sur le taux d'Hb du nourrisson

---

<sup>a</sup> Caractéristiques de l'étude : Taille échantillon, Design, Collecte des Données, Site d'étude ; <sup>b</sup> Définition anémie (Hb en g / dL et Hct en %)

Les conséquences de l'anémie sont extrêmement variées et concernent des aspects aussi divers que la mortalité, le développement cognitif ou la productivité. Il est donc indispensable de pouvoir en assurer une prise en charge et une prévention correctes.

## **5. Prise en charge et prévention de l'anémie**

L'un des principes fondamentaux de la prise en charge de l'anémie est la mise en œuvre d'un traitement ciblé, ce qui implique l'établissement d'un diagnostic étiologique spécifique. La réponse au traitement confirme généralement le diagnostic. Cependant, comme la carence martiale est considérée à l'échelle planétaire comme la première cause d'anémie (ACC/SCN 2000; Ramakrishnan 2002), dans de nombreux cas, le traitement consiste à prescrire des suppléments en fer et la durée du traitement est fonction de la sévérité de l'affection. La dose journalière recommandée est de 7 mg par jour chez l'homme et de 11 mg par jour chez la femme. En plus de cette supplémentation, des conseils nutritionnels sont donnés aux sujets anémiés. Ils doivent consommer des aliments riches en fer en y associant des aliments renfermant de la vitamine C afin de faciliter l'absorption du fer.

Bien évidemment, en cas d'hémorragie massive, le traitement immédiat consiste à arrêter le saignement, restaurer la masse sanguine (remplissage vasculaire) et à traiter le choc hypovolémique. La transfusion sanguine n'est indiquée que dans les cas d'anémie décompensée. A ces traitements devrait s'ajouter celui de la cause en cas d'infection et de carence alimentaire. Le traitement des anémies d'origine génétique ne sera pas abordé dans ce document.

Les stratégies pour prévenir l'anémie sont nombreuses. Ces stratégies comprennent l'amélioration de l'alimentation en quantité et en qualité, la diversification alimentaire avec un accent particulier sur les aliments riches en fer, la supplémentation en fer et autres micronutriments, la lutte contre les maladies infectieuses et l'éducation. Chez la femme

enceinte en particulier pour prévenir l'anémie l'OMS recommande en zone d'endémie palustre (Baltussen, Knai, and Sharan 2004; Stoltzfus 2011) :

- La supplémentation systématique en fer et folates durant toute la grossesse à raison de un comprimé de fer de 60 mg par jour et un comprimé d'acide folique 400 µg par jour.
- L'administration d'un traitement préventif intermittent par la sulfadoxine-pyriméthamine au deuxième et troisième trimestre de la grossesse, ainsi que l'utilisation d'une moustiquaire imprégnée, pour protéger les femmes contre le paludisme,
- L'administration d'un traitement antihelminthique au second trimestre de la grossesse,
- Le dépistage et le traitement de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine.

Pour ce qui concerne la supplémentation en fer au cours de la grossesse, elle fait l'objet de controverse au sein de la communauté scientifique. En 2008, Kabyemela *et al.* ont démontré dans une étude réalisée en Tanzanie que le risque d'infection placentaire palustre était réduit chez les femmes déficientes en fer au moment de l'accouchement par rapport à celles qui étaient non déficientes (Kabyemela *et al.* 2008). Le même résultat a été retrouvé trois ans plus tard en 2011 par Senga *et al.* chez des femmes du Malawi (Senga *et al.* 2011). Cependant d'autres auteurs ont noté une absence de relation entre le statut en fer et l'infection palustre, notamment sur une population de femmes enceintes gambiennes (Menendez *et al.* 1994) et une population de femmes enceintes béninoises (Ouédraogo 2012).

Comme chez la femme enceinte, la supplémentation en fer chez l'enfant fait aussi l'objet de nombreuses discussions dans la communauté scientifique. Dans une étude de cohorte menée

en Tanzanie, les auteurs ont étudié l'effet de la supplémentation en fer sur la survenue des accès palustres graves et sur la mortalité des enfants. Sept cent soixante cinq enfants ont été inclus et ont été suivi de la naissance jusqu'à l'âge de 3 ans. Les accès palustres graves étaient moins fréquents chez les enfants présentant une carence en fer (Gwamaka *et al.* 2012). Mais une fois encore des résultats contradictoires existent et certaines études décrivent une augmentation du risque du paludisme chez des enfants recevant un traitement ferrique (Oppenheimer *et al.* 1986; Smith *et al.* 1989). Enfin, dans certains cas, une absence d'effet de la supplémentation en fer sur la survenue des accès palustres a été décrite (Iannotti *et al.* 2006; Mebrahtu *et al.* 2004; Sazawal *et al.* 2006; Veenemans *et al.* 2011).

Si les étiologies et les mécanismes de l'anémie semblent faire une relative unanimité dans la communauté scientifique il n'en n'est pas de même pour ses conséquences. Qu'il s'agisse des conséquences de l'anémie de la femme enceinte pour elle-même ou pour son enfant, de très nombreux résultats contradictoires existent qui ouvrent la porte à de nombreuses questions. Tenter d'apporter une réponse à certaines de ces questions revêt une double importance. D'une part celle d'améliorer nos connaissances sur une problématique scientifique complexe et, d'autre part, celle de prévenir l'apparition de l'anémie ou de combattre ses conséquences. En effet, si un point ne peut être remis en question dans ce qui précède c'est l'aspect quantitatif du problème et notamment dans les pays du sud où plus de 60% des femmes enceintes sont anémiées. Au Bénin ce chiffre atteint même 81% (World Health Organization 2008). Ainsi, dans ces pays, combattre ses conséquences est une nécessité.

J'ai focalisé mon attention sur l'association éventuelle entre l'anémie de la femme enceinte et l'anémie du nouveau-né. En effet, comme je l'ai répété, si d'une part cette association est bien réelle et si, d'autre part, l'anémie est effectivement un indicateur des réserves en fer de



l'organisme, il semble possible que la grande majorité des enfants qui arrivent au monde dans les pays du sud, soient dans un état de carence martiale. Cette carence a un risque élevé de se prolonger durant les premiers mois, ou années de vie étant donné la pauvreté des apports nutritionnels. S'interroger sur cette association c'est s'interroger également, non seulement sur les conséquences immédiates en termes de poids de naissance ou de prématurité, mais aussi sur les conséquences à moyen et long termes puisque, nous l'avons vu, une carence martiale chez l'enfant peut être cause de trouble du développement cognitif mais également impacter négativement la productivité de l'adulte. Apporter des réponses à ces questions est d'autant plus important que des moyens de lutte et de prévention en amont, chez la jeune fille et la femme enceinte, existent.

## **Deuxième partie : Projet TORI**

Cette deuxième partie comportera deux chapitres :

- Dans le premier chapitre je décrirai le matériel et méthodes du projet TORI.
- Dans le second chapitre je présenterai les résultats de nos différentes analyses. Ce chapitre sera subdivisé en quatre sections. La première et la seconde section porteront respectivement sur la sélection de nos sujets puis sur la description de leurs caractéristiques sociodémographiques. Les conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né en termes de faible poids de naissance, de prématurité et d'anémie du nouveau-né à la naissance seront abordées dans une 3<sup>ème</sup> section. Enfin je décrirai les conséquences de l'anémie maternelle sur le taux d'hémoglobine du nourrisson de 3 à 18 mois par deux méthodes d'analyses complémentaires. Les articles ayant découlés de cette étude seront présentés à la fin des résultats du second chapitre.

## **1. Matériel et méthodes**

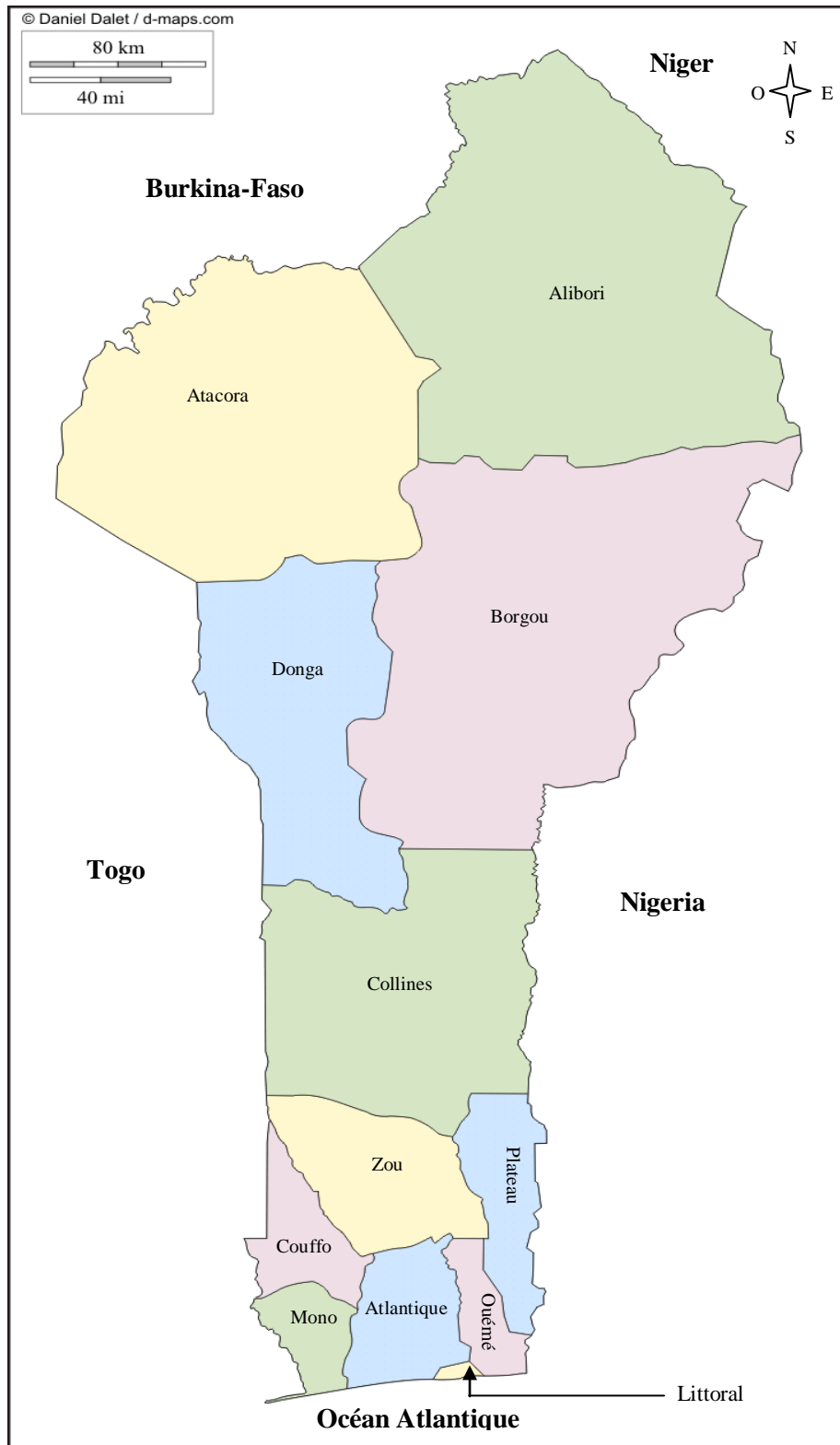
Notre étude s'est greffée sur un programme de recherche portant sur les conséquences de l'infection palustre du placenta sur les 18 premiers mois de vie des enfants. Ce programme est basé sur le suivi d'une cohorte de 656 nouveau-nés. Les inclusions ont débuté en juin 2007 et se sont achevées en juillet 2008. Le suivi des mères et des enfants s'est achevé en Janvier 2010.

Nous allons préciser la méthodologie générale de notre étude dans le cadre de ce programme. Nous décrirons la zone et la période d'étude dans un premier temps, puis la population ainsi que les critères d'inclusion dans un deuxième temps. Ensuite nous exposerons le protocole de collecte des données, puis nous terminerons en présentant la stratégie générale d'analyse.

### **1.1. Zone d'étude**

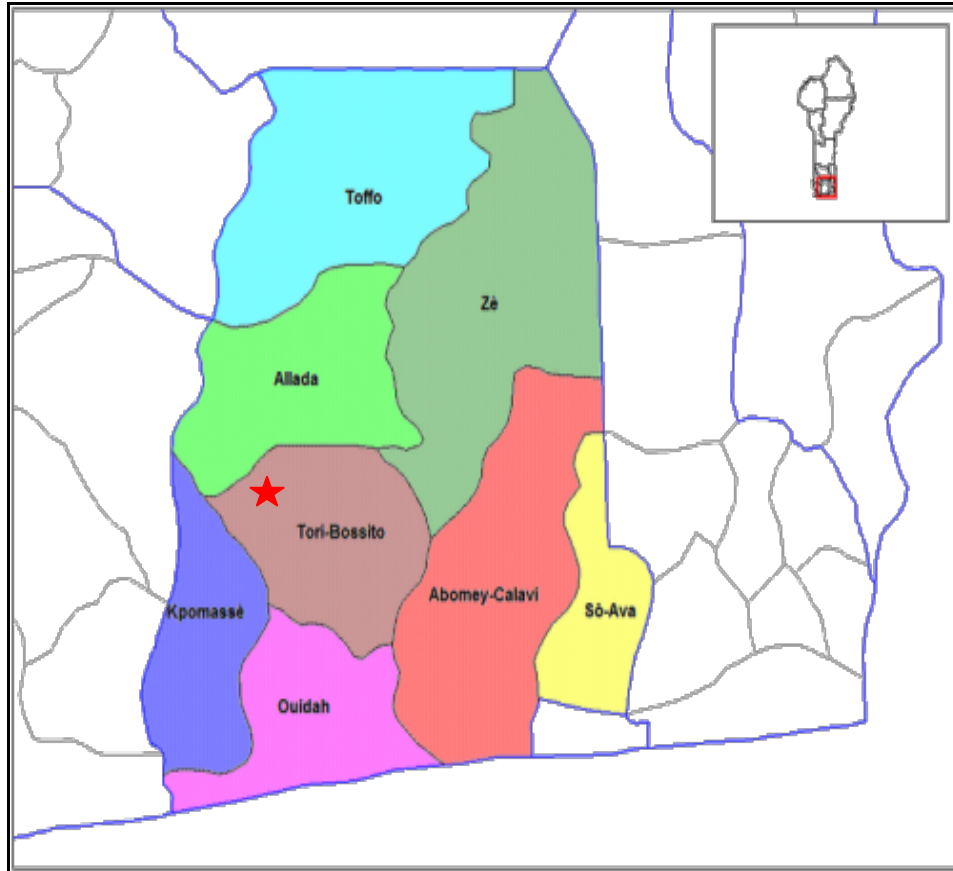
L'étude a été réalisée en République du Bénin (Carte 1) dans trois maternités de la commune de Tori-Bossito : la maternité d'Avamé, la maternité de Tori Cada et celle de Tori Gare.

La commune de Tori-Bossito (Carte 2 et Carte 3) est l'une des huit communes du département de l'Atlantique (Abomey-Calavi, Allada, Kpomassè, Ouidah, So-Ava, Toffo, Tori-Bossito et Zè). Elle a une superficie de 328 km<sup>2</sup> et regroupe 47 villages et quartiers de ville. Elle compte six arrondissements : Avamè, Azohouè-Aliho, Azohouè-Cada, Tori-Bossito, Tori-Cada et Tori-Gare. Au dernier recensement en mai 2002 la population totale de la commune de Tori-Bossito était de 44,569 habitants dont 12,481 à Tori-Bossito, 11,952 à Tori-Cada et 6977 à Tori-Gare.



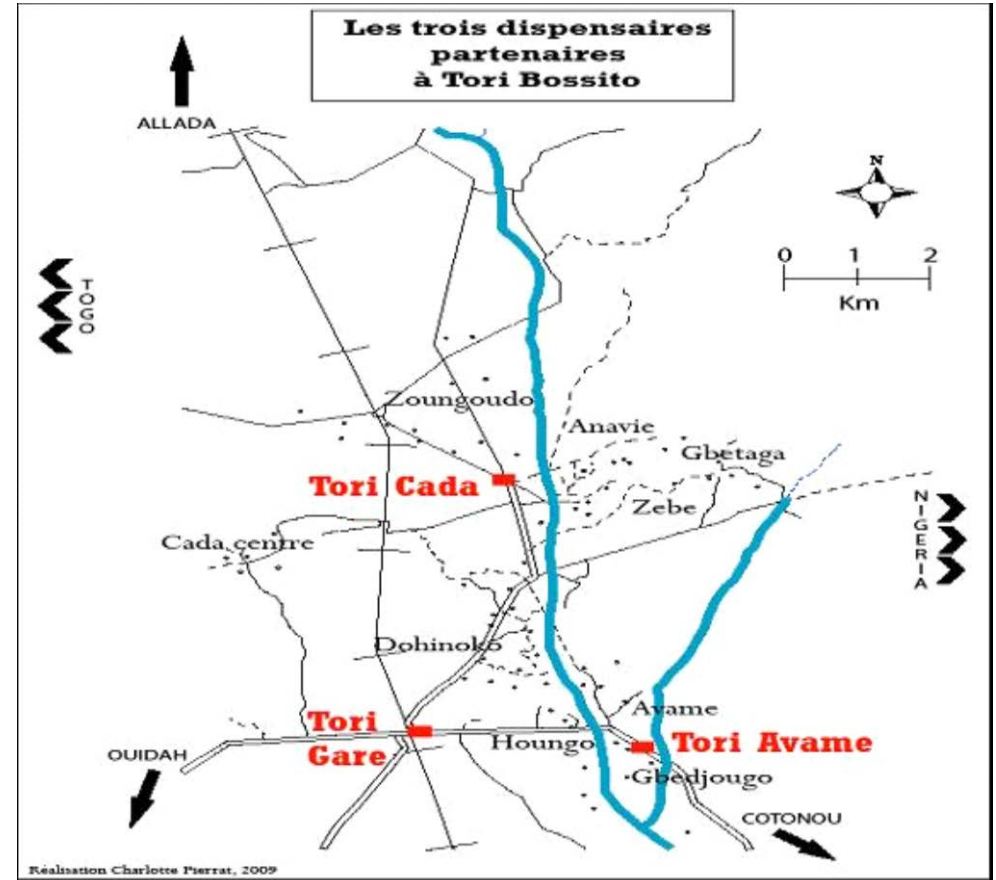
**Carte 1** : Carte de la République du Bénin et de ses douze départements

Source : [http://d-maps.com/pays.php?lib=benin\\_cartes&num\\_pay=11&lang=fr](http://d-maps.com/pays.php?lib=benin_cartes&num_pay=11&lang=fr)



**Carte 2 :** Carte des huit communes du département de l'Atlantique

Source : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Atlantique\\_\(département\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Atlantique_(département))



**Carte 3 :** Les neuf villages d'étude et les trois dispensaires du projet TORI

Source : Charlotte Pierrat, 2009

La commune de Tori-Bossito se trouve en partie sur la dépression de la Lama. On y distingue : des plateaux au nord, à l'ouest et au centre, une vallée à l'est et une dépression au sud. Une zone marécageuse traverse l'arrondissement d'Avamè et se prolonge dans l'arrondissement de Tori-Cada. Le réseau hydrographique à Tori-Bossito est peu fourni et constitué essentiellement de marécages qui en période de pluie constituent de véritables plans d'eau. Ces marécages traversent les arrondissements d'Avamè et de Tori Cada essentiellement mais aussi ceux de Tori Gare et de Tori-Bossito. La commune de Tori-Bossito reste relativement boisée et la végétation est une savane arbustive plus ou moins clairsemée (Photo 1 et Photo 2).



**Photo 1** : Relief de la Commune de Tori-Bossito (1)



**Photo 2** : Relief de la Commune de Tori-Bossito (2)

## 1.2. Critères d'inclusion et population d'étude

Les critères d'inclusion des enfants étaient :

- naissance dans les maternités de Tori Avamé, Tori Cada et Tori Gare ;
- résidence permanente dans un des 9 villages suivants : Avamé Centre, Gbédjougo, Houngo, Anavié, Dohinoko, Gbétaga, Tori Cada Centre, Zébé, Zoungoudo
- acceptation du protocole par les mères et signature du consentement éclairé. L'étude avait été préalablement expliquée aux femmes enceintes résidant dans l'un de ces villages au cours d'une consultation prénatale afin qu'elles puissent réfléchir et en discuter avec le père de l'enfant. Des réunions explicatives se sont tenues dans les villages de l'enquête au fur et à mesure des recrutements afin d'obtenir un accord de participation réellement éclairé. Lors de l'inclusion un consentement éclairé était signé par la femme. L'ensemble des explications était donné en langue vernaculaire de même que le document de consentement écrit.

Cette étude comporte deux objectifs spécifiques, chacun d'eux nécessitant de définir une population d'étude différente. Celles-ci seront plus précisément présentées dans la partie résultats (voir Figure 6)

- Notre premier objectif est d'analyser les conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né en termes de faible poids de naissance, de prématurité et d'anémie du nouveau-né à la naissance. Il s'agit d'une étude transversale et les analyses ont été réalisées sur 580 couples mère-enfant.
- Notre second objectif s'intéresse aux conséquences de l'anémie maternelle sur le taux d'hémoglobine du nourrisson de 3 à 18 mois de vie. Il s'agit d'une enquête de cohorte



et les analyses ont été réalisées sur 542 couples mère-enfant. Pour explorer l'évolution du taux d'Hb entre 3 et 18 mois nous avons utilisé deux méthodologies différentes et complémentaires. Toutes deux ont porté sur la même population de 542 couples mère enfant.

### **1.3. Collecte des données**

A l'arrivée dans la salle d'accouchement un questionnaire a été administré aux femmes incluses pour recueillir des informations sur leurs caractéristiques sociodémographiques (âge, statut marital...), leurs antécédents gynéco-obstétriques (nombre de grossesses, avortement...) et sur le déroulement de la grossesse actuelle (suivi de la grossesse, terme de naissance estimé par la sage-femme par la hauteur utérine ou par la date des dernières règles, supplémentation et prophylaxie anti-palustre...). A la fin de ce questionnaire, et avant l'accouchement, des mesures anthropométriques (poids et taille) ont été effectuées puis un prélèvement veineux a été réalisé pour le dosage du taux d'hémoglobine et la réalisation d'une goutte épaisse (GE). Le taux d'hémoglobine a été mesuré sur un appareil portatif (HémoCue®). Les gouttes épaisses étaient colorées, après déshémoglobinisation, avec une solution aqueuse de Giemsa à 10%. Puis, les lames étaient lues au microscope (objectif × 100). Chaque lame a fait l'objet d'une double lecture. En cas de discordance une troisième lecture était effectuée par un chercheur biologiste du programme.

Après l'accouchement des mesures anthropométriques du nouveau-né (poids, taille) ont été réalisées, ainsi qu'un prélèvement sanguin au niveau du cordon ombilical pour le dosage du taux d'hémoglobine de l'enfant à la naissance. Le score de Ballard a été utilisé pour déterminer l'âge gestationnel (Ballard, Khoury, and Wedig 1991). Par ailleurs une apposition placentaire a été effectuée pour la recherche d'une infection palustre placentaire.

Les nouveau-nés ont été suivis pendant dix huit mois selon le protocole suivant :

- Une fois par semaine, une surveillance active des accès palustres a été réalisée. Pour cela, la température axillaire des enfants a été mesurée lors de passages systématiques de relais communautaires (agents de santé communautaires) au domicile des enfants. En cas de fièvre (température supérieure ou égale à 37,5 °Celsius), ou d'histoire de fièvre rapportée par la famille depuis la visite précédente, l'enfant est adressé au dispensaire où une goutte épaisse a été réalisée ainsi qu'un test immunologique de diagnostic rapide (TDR) ParaScreen<sup>®</sup>. Un examen clinique a été effectué à la recherche d'arguments en faveur de l'origine de la fièvre (infection respiratoire, ORL, digestive, cutanée...). Une fièvre est déclarée d'origine palustre (accès palustre simple : APS) en cas de température  $\geq 37,5^{\circ}\text{Celsius}$  (ou d'ATCD de fièvre dans les 24 heures) en présence d'un TDR positif et/ou d'une GE positive. L'existence d'une prise médicamenteuse (automédication) a été notée ;
- Tous les mois jusqu'à 6 mois puis tous les trimestres, l'enfant a été pesé et mesuré. Un questionnaire alimentaire a également été recueilli au cours de la visite mensuelle. Ce questionnaire consistait en un rappel qualitatif des 24 heures ;
- À 3, 6, 9, 12, 15 et 18 mois, un prélèvement de sang veineux a été effectué sur EDTA pour réaliser différents dosages immunologiques et recueillir du matériel génétique. A ces mêmes dates, l'HémoCue<sup>®</sup> a été utilisé pour le dosage du taux d'hémoglobine.

Ces données ont été saisies en double et validées sous Epi Data par des agents de saisie. Un contrôle de la qualité des données a été effectué par un responsable du programme à la recherche de valeurs aberrantes ou d'incohérences. Si besoin, un retour au laboratoire ou sur

le terrain a été réalisé afin de vérifier les informations et de rectifier les éventuelles erreurs. Enfin, la correction des données a été faite sous Stata.

## **1.4. Analyses des données**

### **1.4.1. Codage des variables**

Pour l'analyse statistique certaines variables ont été recodées.

- La variable 'consultation prénatale (CPN)' a été recodée en deux classes en tenant compte des recommandations de l'OMS et du Ministère de la Santé de la République du Bénin qui préconisent 4 CPN durant le suivi de grossesse. La population a ainsi été scindée en deux groupes. Le 1<sup>er</sup> groupe comprenait les femmes ayant réalisé strictement moins de 4 consultations prénatales, et le 2<sup>ème</sup> groupe, les femmes ayant effectué au minimum 4 consultations prénatales.
- la variable 'activité professionnelle' a été recodée en deux classes. La 1<sup>ère</sup> classe est constituée des femmes n'exerçant aucune activité professionnelle durant la grossesse (ménagères), et la 2<sup>ème</sup> classe par les femmes exerçant une des activités suivantes : cultivatrices, revendeuses, coiffeuses ou couturières.
- Le nombre d'accès palustres durant les dix huit mois de suivi varie de 0 à 9. Trente quatre pourcent des enfants n'ont jamais présenté d'accès palustre durant le suivi. Nous avons regroupé cette variable en trois classes : la 1<sup>ère</sup> représentait les nouveau-nés n'ayant eu aucun accès palustre ; la 2<sup>ème</sup> les nouveau-nés ayant eu un à deux accès palustres et la 3<sup>ème</sup> les nouveau-nés ayant eu au-delà de deux accès palustres.

- La gestité a été codée en deux groupes en utilisant les antécédents gynécologiques des femmes (grossesses et avortement). Le 1<sup>er</sup> groupe était composé des primipares et le second groupe des multipares.
- Les variables 'prématurité', 'faible poids de naissance', 'anémie de la mère', et 'anémie du nouveau-né à la naissance' ont été codées en deux groupes : absence vs présence. Les seuils de définition utilisés pour la prématurité, le faible poids de naissance, l'anémie maternelle étaient ceux de l'OMS, respectivement 37SA, 2500 g et 11 g / dL. L'anémie du nouveau-né a été défini par un taux d'hémoglobine inférieur à 15 g / dL.
- La variable 'infection placentaire palustre' a été codée en : présence ou absence d'une infection, selon que des parasites étaient, ou non, identifiés sur la lame d'apposition placentaire.
- La variable 'statut nutritionnel de l'enfant durant le suivi' a été créée en utilisant les données nutritionnelles recueillies. Durant les 6 premiers mois de vie elle était basée sur l'allaitement maternel exclusif et après 6 mois sur le questionnaire alimentaire de l'enfant. Ce questionnaire alimentaire était mensuel et récapitulait l'alimentation journalière de l'enfant au cours des 24h précédentes. De la naissance à 6 mois il reposait donc sur l'allaitement, un bon score correspondant à un allaitement exclusif, un score intermédiaire à de l'allaitement accompagné de complément non nutritif (eau). En cas de complément par liquide nutritif ce score est jugé mauvais. Entre 6 et 18 mois nous avons utilisé le « IYCF » (Infant and Young Child Feeding) (WHO/UNICEF 2010) qui repose sur deux critères (minimum meal frequency (MMF) and minimum dietary diversity (MDD)). Chaque enfant possédait donc un score nutritionnel mensuel.

- La variable 'porteur de trait drépanocytaire' chez l'enfant a été recodée en deux groupes : oui vs non.
- L'âge a été recodé en quatre groupes :  $\leq 20$  ans ; 20 – 25 ans ; 26 – 30 ans et  $> 30$  ans.

Les autres variables recueillies ont été utilisées sans modification du codage : le sexe de l'enfant (Fille vs Garçon), le statut marital (Mariée Monogame vs Mariée Polygame), le niveau d'éducation (Scolarisée vs Non scolarisée) et le groupe ethnique (Tori, Fon et Autres).

### **1.4.2. Stratégie générale d'analyse**

Après une description générale de notre population d'étude (les mères puis les enfants) nous adopterons une stratégie d'analyse en trois temps : (i) Etude des conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né ; (ii) Etude des conséquences de l'anémie maternelle sur le taux d'Hb du nourrisson entre 3 et 18 mois par un modèle linéaire mixte ; (iii) Analyse de l'évolution du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois par un modèle de trajectoires latentes et conséquences de l'anémie maternelle sur ces trajectoires.

#### **1.4.2.1. Etude des conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né**

Nos variables dépendantes sont le faible poids de naissance, la prématurité et l'anémie du nouveau-né. Outre l'anémie maternelle nous avons étudié neuf autres variables explicatives : l'âge de la mère (sous forme quantitative puis sous forme catégorielle), le groupe ethnique, l'activité professionnelle, le statut marital, la parité, le nombre de consultations prénatales, la scolarisation, l'infection placentaire palustre et le sexe du nouveau-né.

L'association entre chacune de nos variables dépendantes et nos variables explicatives a été testée par analyse univariée, puis si nécessaire en analyse multivariée.

- **Analyse univariée**

La comparaison de pourcentages a été faite par le test du chi-2, et la comparaison de moyennes a été faite par le test de Student après vérification de l'égalité des variances. Dans le cas contraire la correction de Welch a été utilisée. Toutes les variables significatives au seuil de 20% lors de l'analyse univariée ont été incluses dans l'analyse multivariée.

- **Analyse multivariée**

L'analyse multivariée a été menée par régression logistique, lorsque nos variables dépendantes étaient qualitatives (existence ou non d'un faible poids de naissance, existence ou non d'une prématurité, existence ou non d'une anémie du nouveau-né). Une régression linéaire a été effectuée pour étudier le taux d'hémoglobine du nouveau-né en variable quantitative. Le seuil de significativité a été fixé à 5%.

#### **1.4.2.2. Etude des conséquences de l'anémie maternelle sur le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois par un modèle mixte**

Le taux d'hémoglobine mesuré entre 3 et 18 mois représente notre variable dépendante. Notre variable explicative d'intérêt est l'anémie maternelle. Outre cette variable nous nous sommes intéressés à quinze autres variables explicatives dont huit ont été collectées chez la mère (l'âge, le groupe ethnique, l'activité professionnelle, le statut marital, la parité, le nombre de consultation prénatale, la scolarisation et l'infection placentaire palustre) et sept autres chez le nouveau-né et le nourrisson (le taux d'hémoglobine du nouveau-né à la naissance, le faible poids de naissance, la prématurité, le sexe, le trait drépanocytaire, le nombre d'accès palustres durant les dix huit mois de suivi et le statut nutritionnel du nourrisson durant le suivi).

○ **Modèle statistique**

Sur la période d'étude, six prélèvements sanguins pour le dosage du taux d'hémoglobine ont été réalisés à 3, 6, 9, 12, 15 et 18 mois. Les mesures d'un même enfant ne pouvant être considérées comme indépendantes, puisqu'elles partagent des caractéristiques communes liées aux nourrissons, notre échantillon ne peut être considéré également comme indépendant. En effet, il présente une structure de dépendance liée au groupe, groupe formé par les mesures d'un même nourrisson. On parle alors de structure hiérarchique à deux niveaux. Les modèles hiérarchiques mixtes sont tout à fait adaptés à ce type de dépendance et ont été utilisés dans ce travail (McCulloch and Neuhaus 2001).

Un modèle linéaire mixte à intercept aléatoire gaussien permettant de modéliser une variabilité du taux moyen d'hémoglobine a été utilisé dans ce travail. Il s'écrit :

$$Y_{ij} = \underbrace{\gamma_{00} + \sum_{q=1}^n \gamma_{q0} X_{qj}}_{\text{Effets fixes}} + \underbrace{u_{0j} + e_{ij}}_{\text{Effets aléatoires}}$$

Où  $i$  : indice de la mesure ( $i=1$  à 6),

$j$  : indice de l'enfant ( $j=1$  à 542),

$Y_{ij}$  : Taux d'hémoglobine de l'enfant  $j$ .

**Variables fixes**

$X_{1j} \dots X_{nj}$  : les variables explicatives de l'enfant  $j$ .

$\gamma_{10} \dots \gamma_{n0}$  : coefficients associés aux variables explicatives (effets fixes)

$\gamma_{00}$  : constante

## **Variables aléatoires**

$u_{0j} \sim N(0, \tau_{00})$  où  $\tau_{00}$  = variance inter-nourrissons

$e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$  où  $\sigma^2$  = variance résiduelle

La méthode du maximum de vraisemblance (ML) a été utilisée pour l'estimation des paramètres associés aux variables explicatives. Cette méthode conduisant à des estimations biaisées pour les paramètres de variance (variance résiduelle et inter-nourrissons), ces derniers ont été estimés par la méthode du maximum de vraisemblance restreint (REML).

### **o Analyse des données**

Nos analyses ont porté sur un total de 2708 mesures du taux d'hémoglobine sur un total attendu de 3252 mesures. Dans la majorité des cas, la raison pour laquelle une mesure manque dans le suivi d'un enfant est l'absence de la mère à une convocation trimestrielle. Dans quelques rares cas le prélèvement veineux n'a pu être réalisé (ponction veineuse difficile, pleurs avec agitation...) ou a été très difficile entraînant une impossibilité de traiter le tube de sang (quantité de sang insuffisante ou coagulation). Après vérification de la normalité de la distribution du taux d'hémoglobine, les associations entre le taux d'hémoglobine et les variables explicatives ont été étudiées en univarié, puis en multivarié. L'analyse multivariée a été réalisée d'abord par la méthode pas à pas descendante et ensuite par la méthode pas à pas ascendante.



### 1.4.2.3. Analyse de l'évolution du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois par un modèle de trajectoires latentes

Nous avons effectué une analyse par classes latentes pour tenter d'identifier des trajectoires pour l'évolution de l'hémoglobine au sein de notre population d'enfants et pour étudier les associations entre les variables explicatives et les trajectoires identifiées. Par la suite, les termes « groupe », « classe » ou encore « trajectoire » sont équivalents. Le taux d'hémoglobine mesuré entre 3 et 18 mois représente notre variable dépendante. Les variables explicatives étudiées sont identiques à celles utilisées dans le modèle mixte pour l'étude des conséquences de l'anémie maternelle sur le taux d'hémoglobine du nourrisson entre trois et dix huit mois. Les modèles à classes latentes sont une extension des modèles mixtes et dans le présent travail notre modèle s'écrit de la façon suivante :

$$y_{it} = \beta_0^j + \beta_1^j Age_{it} + \beta_2^j Age_{it}^2 + \beta_3^j Age_{it}^3 + \alpha_1^j X_{1t} + \dots + \alpha_p^j X_{pt} + \varepsilon_{it}$$

Où

i : indice de l'enfant (i=1 à 542)

t : temps (3 à 18 mois)

j : le groupe (j=1 à n)

$y_{it}$  : Taux d'hémoglobine de l'enfant i au temps t

$\beta_0^j$  : constante dans le groupe j

$\beta_1^j \dots \beta_3^j$  : coefficients associés à la modélisation de l'effet de l'âge de l'enfant sur le taux d'hémoglobine dans le groupe j.

$\alpha_k^j$  : coefficients associés aux variables explicatives dans le groupe j avec  $1 \leq k \leq p$

$X_{1t} \dots X_{pt}$  : les variables explicatives de l'enfant (t indique que cette variable peut dépendre du temps).

$e_{it} \sim N(0, \sigma^2)$  où  $\sigma^2$  représente la variance résiduelle

L'analyse statistique a été réalisée en quatre étapes.

- Au cours de la première étape nous avons identifié le nombre de trajectoires d'hémoglobine au sein de notre population. Pour cela, nous avons tout d'abord modélisé l'effet de l'âge de l'enfant sur le taux d'hémoglobine en utilisant une fonction polynomiale du temps de degré 3. Nous avons ensuite introduit successivement dans le modèle deux, puis trois, puis quatre ... trajectoires. Au cours de cette étape, aucune variable explicative n'a été ajoutée au modèle. La sélection de modèles permettant la détermination du nombre de groupes a reposé sur le critère bayésien d'information (BIC pour Bayesian Information Criterion, utilisé dans la suite du manuscrit). Le principe du BIC consiste à pénaliser la vraisemblance des paramètres estimés associée aux données, traduisant la qualité de l'ajustement, par le nombre de paramètres indépendants du modèle et la taille de l'échantillon. Ce critère permet la sélection du modèle réalisant le meilleur compromis entre ajustement aux données et parcimonie. Nous avons néanmoins également tenu compte du pourcentage de sujets constituant les différentes classes. Bien qu'aucune règle n'ait, à notre connaissance, clairement été énoncée pour cela, certains auteurs dont Andruff *et al.* (2009) ont proposé de ne pas retenir une trajectoire qui ne correspondrait pas *a priori* à une part « suffisante » de la population. Pour une interprétation raisonnable, nous avons suivi la recommandation d'Andruff *et al.* (2009) qui propose de ne retenir

une classe que si elle correspond au minimum à 5% de la population (Andruff H *et al.* 2009).

- Au cours de la seconde étape nous avons étudié l'effet des différentes variables explicatives sur l'évolution du taux d'hémoglobine du nourrisson. Toutes les variables significatives au seuil de 20% lors de l'analyse univariée ont été incluses comme effet fixe dans l'analyse multivariée. Le seuil de significativité a été fixé à 5%. Durant cette étape nous avons examiné la stabilité de nos trajectoires lorsque les variables explicatives étaient successivement introduites dans le modèle. Là encore, à notre connaissance aucune règle ne semble admise mais Nagin propose que le pourcentage d'individus dans chaque groupe ne soit pas fortement influencé par l'introduction de covariables dans le modèle (Nagin DS 2005). Nous avons appliqué cette proposition pour retenir le nombre final de trajectoires. Nous avons ensuite estimé les probabilités *a posteriori* d'appartenance à une trajectoire. Dans le modèle final, chaque sujet est affecté dans la trajectoire pour laquelle sa probabilité *a posteriori* d'appartenance (ou prédiction d'appartenance) est suffisamment élevée. Ici encore, la littérature ne fournit pas de règle de décision formelle. Nous avons à nouveau suivi une recommandation de Andruff *et al.* (2009) qui considère qu'une probabilité *a posteriori* supérieure ou égale à 0,7 d'appartenir à une trajectoire est raisonnable (Andruff H *et al.* 2009). Ces deux derniers critères nous ont permis de retenir définitivement le modèle final. Au cours de cette seconde étape, nous avons appliqué une seconde stratégie pour confirmer ou non notre choix de trajectoires d'hémoglobine. Il s'agit d'une méthode non paramétrique du maximum de vraisemblance, la méthode « Gateaux » (Rabe-Hesketh, Skrondal, and Pickles 2004). Cette méthode part d'un nombre restreint de classes (par exemple 2) et introduit une nouvelle classe en maintenant constants les autres paramètres. Si,

dans ces conditions, la vraisemblance est augmentée alors cette troisième classe est introduite et la vraisemblance maximisée en estimant tous les autres paramètres laissés constants précédemment. Cette procédure est répétée jusqu'à ce que la vraisemblance ne soit plus améliorée. La méthode « Gateaux » permet de déterminer le nombre de groupes dans la population en retenant le modèle pour lequel la vraisemblance des données est la plus élevée et qui tient compte également de l'existence de maxima locaux (Heckman and Singer 1984; Rabe-Hesketh *et al.* 2004). Pour cette méthode nous avons appliqué également le critère d'Andruff qui propose de ne retenir une classe que si elle correspond au minimum à 5% de la population. Les résultats de cette méthode ont été confrontés aux résultats précédents.

- Dans la troisième étape de notre analyse, nous nous sommes intéressés à l'anémie maternelle en regardant son effet prédictif d'appartenance à une trajectoire.
- Ensuite nous avons étudié l'effet des différentes covariables sur l'évolution du taux d'hémoglobine au sein de chacune des trajectoires identifiées et non plus en effet fixe, commun à l'ensemble de la population, quelle que soit la trajectoire d'appartenance des individus

### **1.4.3. Logiciels d'analyse**

Le logiciel Epi Data® a été utilisé pour la saisie des données. L'ensemble des analyses ont été menées sur le logiciel STATA 11<sup>®</sup>. Pour l'identification des trajectoires et l'effet de différentes covariables, les analyses ont été menées avec la procédure 'GLLAMM' (Rabe-Hesketh *et al.* 2004)

## **1.5. Ethique**

L'étude a été approuvée par le Comité Ethique de la Faculté des Sciences de la Santé (CE/FSS) de la République du Bénin et le Comité Consultatif de Déontologie et d'Ethique de l'Institut de Recherche pour le Développement (CCDE/IRD).

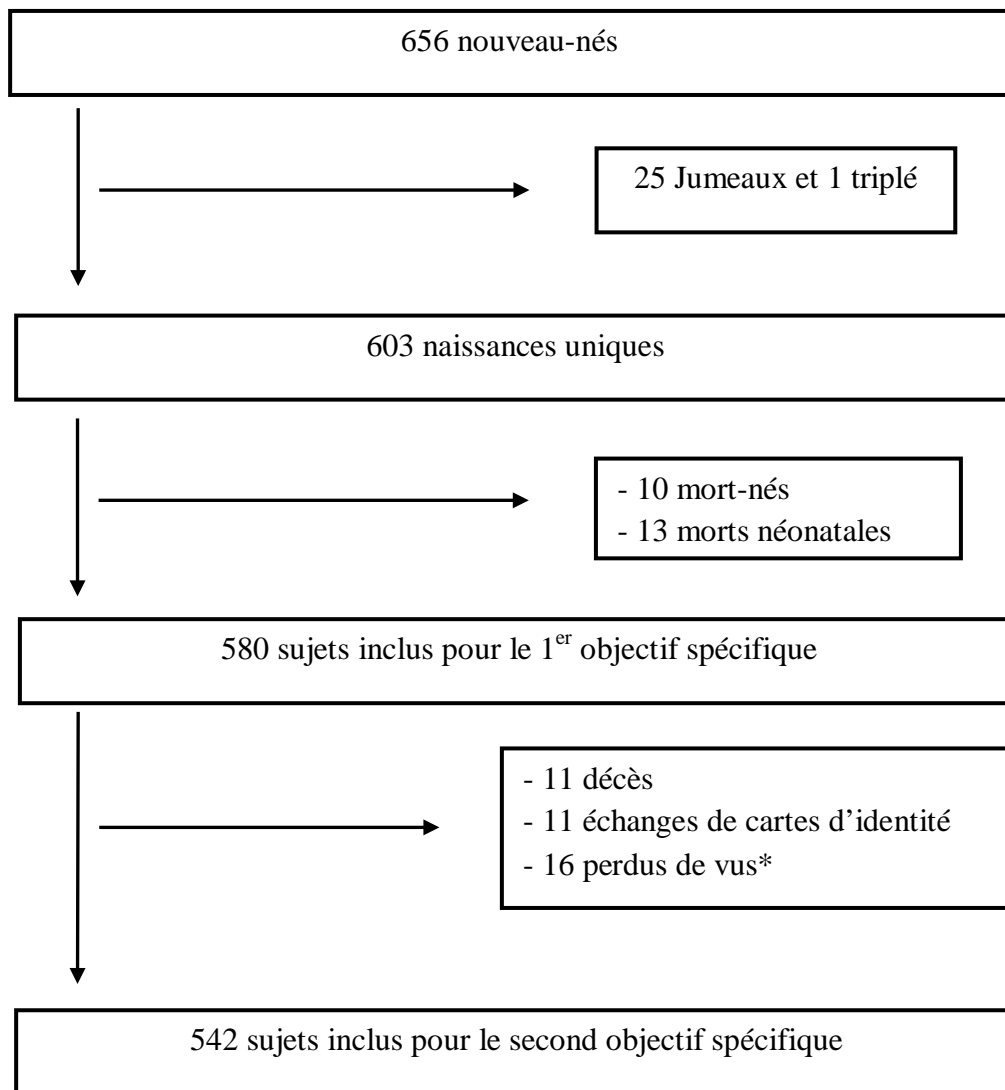
## 2. Résultats

### 2.1. Sélection de la population d'étude

Les sujets de notre étude ont été sélectionnés au sein d'une cohorte déjà existante, mise en place dans 9 villages de la commune de Tori-Bossito. Administrativement, ces 9 villages dépendent pour leur prise en charge sanitaire, de trois dispensaires et maternités : Tori Avamè, Tori Cada et Tori Gare. Les villages ont été choisis car les enquêtes préalables, réalisées à partir des registres d'accouchement de ces maternités, indiquaient que nous pouvions recruter le nombre de sujets nécessaires à la cohorte en un an. L'échantillonnage ayant été réalisé au sein de ces trois maternités sans aucune sélection autre que les critères d'inclusion et l'acceptation du protocole, nous pensons que la population d'étude est représentative des femmes des neuf villages utilisant les services publics de santé.

Toutes les femmes venues accoucher dans l'une des trois maternités de juin 2007 à juillet 2008 et remplissant les critères d'inclusion ont été sélectionnées. Durant cette période 617 femmes ont été incluses et ont donné naissance à 656 nouveau-nés. Nous avons exclu 76 sujets dont 53 pour naissances multiples (25 Jumeaux et 1 triplé), 10 mort-nés et 13 morts néonatales. Leurs caractéristiques (résultats non montrés) ne diffèrent pas des 580 sujets sur lesquels ont porté nos premières analyses, en termes d'âge maternel, taux d'hémoglobine, prématurité, faible poids de naissance, anémie maternelle, anémie nouveau-né.... Parmi les 580 mères, 73 ont été prélevées après leur accouchement et non avant, comme indiqué dans le protocole, car elles sont arrivées à la maternité au stade de dilatation complète du col dans 90% des cas. Leur taux d'hémoglobine moyen (11,4 g / dL) ne diffère pas significativement des femmes prélevées (11,3 g / dL) avant accouchement ( $P = 0,31$ ).

Durant le suivi, nous avons recensés 11 décès, 11 échanges des cartes d'identification et 16 perdus de vues définis comme des enfants pour lesquels une absence d'au moins 6 mois consécutifs a été constatée. Pour l'étude de l'évolution du taux d'Hb entre 3 et 18 mois, les analyses ont donc été réalisées sur 542 nourrissons. Les caractéristiques des 38 nourrissons non inclus dans cette étape ne différaient pas de celles des 542 nourrissons inclus dans nos analyses (résultats non montrés).



\* absence de données pendant au moins 6 mois durant le suivi

**Figure 6** Population d'étude

## 2.2. Description de la population d'étude

La description de notre population d'étude a porté sur 580 couples mère-enfant. Le pourcentage de données manquantes n'excédait pas 5% pour les diverses variables étudiées. Nous allons décrire les caractéristiques des mères en un premier temps puis les caractéristiques des nouveau-nés en un second temps.



### 2.2.1. Analyse descriptive des mères

Les caractéristiques des mères de l'enquête figurent dans le Tableau 9. Les multipares représentaient 83,9% de la population. L'âge moyen [IC 95%] à l'inclusion était de 27,4 ans [26,9-27,8]. La femme la plus jeune avait 16 ans et la plus âgée 49 ans. La majorité des femmes (71,0%) était mariée sous un régime de monogamie. Deux cent soixante trois femmes (45,7%) exerçaient une activité professionnelle durant leur grossesse. Plus de la moitié des mères (environ 57%) avait effectué au moins 4 consultations prénatales.

Le taux moyen d'hémoglobine [IC 95%] des mères était de 11,3 g / dL [11,2-11,4]. La valeur minimale était de 5,4 g / dL et la valeur maximale de 16,1 g / dL. Environ quarante pour cent (39,5%) des femmes incluses étaient anémiées avec un taux d'hémoglobine inférieur à 11g / dL tel que défini par l'OMS. Au total six femmes présentaient une anémie sévère (<7g / dL). La prise en charge des mères anémiées a été réalisée selon les recommandations du ministère de la santé. Aucun décès ni complication liés à l'anémie n'a été constaté pour les mères de l'étude. Soixante trois femmes avaient une infection palustre placentaire soit 11%.

La répartition des sujets dans les trois maternités d'étude était de 188 (32,4%) femmes à Tori Avamé, 283 (48,8%) à Tori Cada et de 109 (18,8%) à Tori Gare. Les femmes incluses dans ces trois centres d'étude différaient significativement pour l'âge moyen, le statut marital, l'exercice d'une activité professionnelle durant la grossesse, l'infection placentaire palustre ainsi que le nombre de consultations prénatales (résultats non montrés). Pour tenir compte de cette disparité, toutes nos analyses multivariées seront ajustées sur la maternité d'étude.

**Tableau 9** : Caractéristiques sociodémographiques des mères.

		<i>N</i> = 580	%
Taux d'hémoglobine moyen		11,3 (1,5)	
Anémie	Non	351	60,5
	Oui	229	39,5
Âge moyen		27,4 (5,5)	
Âge en classe	≤ 20	81	14,1
	20-25	140	24,3
	26-30	205	35,6
	> 30	150	26
Groupe ethnique	Tori	411	72,1
	Fon	61	10,7
	Autres	98	17,2
Activité Professionnelle	Ménagère	313	54,3
	Autres	263	45,7
Statut marital	Mariée monogame	412	71,0
	Mariée polygame	168	29,0
Parité	Primipares	93	16,1
	Multipares	486	83,9
Consultation Périnatale	<4	238	43,0
	≥4	315	56,9
Niveau d'éducation	Scolarisé	81	14,2
	Non scolarisé	488	85,8
Infection placentaire palustre	Non	512	89,0
	Oui	63	11,0
Maternité d'étude	Tori Avamé	188	32,4
	Tori Cada	283	48,8
	Tori Gare	109	18,8

### 2.2.2. Analyse descriptive des nouveau-nés

Les caractéristiques des nouveau-nés de l'étude figurent dans le Tableau 10. Le taux moyen d'hémoglobine [IC 95%] était de 14,52 g / dL [14,37-14,68]. La valeur minimale était de 5,2 g / dL et la valeur maximale de 21,8 g / dL. Plus de la moitié des nouveau-nés (61,1%) était anémiée à la naissance avec un taux d'hémoglobine inférieur à 15 g / dL. Durant le suivi, la prévalence de l'anémie est resté relativement élevée et était de 61,1% à 3 mois, de 64% à 6 mois, de 65,3% à 9 mois, de 67,7% à 12 mois, de 66,2% à 15 mois et de 63,5% à 18 mois. Les enfants anémiés ont été pris en charge selon les recommandations du Ministère de la Santé. Aucun décès pour anémie n'a été constaté au cours du suivi. Sur l'ensemble du suivi, 480 enfants (89%) ont été présents au moins 4 fois sur les 6 visites trimestrielles prévues pour les prélèvements.

La moyenne du poids de naissance [IC 95%] était de 2976,6 g [2943,9-3009,3]. La valeur minimale était de 1430,5 g et la valeur maximale de 4370 g. La prévalence du faible poids de naissance tel que défini par l'OMS était de 10% soit un total de 58 nouveau-nés. Quarante cinq nouveau-nés étaient prématurés soit 8,1%. Les garçons représentaient 50,9% de la population d'étude.

**Tableau 10** : Caractéristiques des nouveau-nés. Tori juin 2007 à juillet 2008

		<i>N</i> = 580	%
Poids de naissance moyen		2976,6 (400,6)	
Faible poids de naissance	Non	521	89,9
	Oui	58	10,1
Prématurité	Non	511	91,9
	Oui	45	8,1
Taux d'hémoglobine moyen		14,5 (2,0)	
Anémie	Non	225	38,9
	Oui	353	61,1
Sexe	Female	284	49,1
	Male	294	50,9
Trait drépanocytaire	Non	409	78,5
	Oui	112	21,5
Nombre d'accès palustre durant le suivi	0	183	33,9
	1 à 2	237	43,9
	>2	119	22,1

### 2.3. Conséquences de l'anémie maternelle sur le faible poids de naissance, la prématurité et l'anémie du nouveau-né

#### 2.3.1. Anémie maternelle et faible poids de naissance

L'analyse univariée (Tableau 11) a montré que la prévalence du faible poids de naissance est plus élevée chez les enfants nés de mères anémiées (11,3%) que chez ceux pour lesquels les mères ne l'étaient pas (9,1%) mais la différence observée n'est pas significative ( $P = 0,39$ ). L'âge maternel et la multiparité étaient les seules variables associées au faible poids de naissance. Les femmes âgées présentent moins de risque de donner naissance à un nouveau-né

de faible poids de naissance. Les multipares également présentent un risque plus faible de mettre au monde un nouveau-né de faible poids de naissance [OR = 0,3 (0,1-0,5) ;  $P < 10^{-3}$ ]. Bien que non significative, l'infection placentaire palustre présente une tendance en faveur d'une association avec le faible poids de naissance [OR = 1,9 (0,9-3,9) ;  $P = 0,09$ ]. Le pourcentage de faible poids de naissance chez les femmes ayant réalisé 4 consultations prénatales ou plus (7,9%), est plus faible que pour celles ayant effectué moins de 4 consultations prénatales (11,8%). Cependant, cette différence n'est pas significative ( $P = 0,13$ ). Les autres variables ne sont pas associées au faible poids de naissance ( $P > 0,2$ ).

**Tableau 11** : Etude des facteurs de risque du faible poids de naissance - Analyse univariée

Variables	Faible Poids de Naissance				OR (IC 95%)	P	
	Non		Oui				
	N=521	%	N=58	%			
Anémie maternelle							
	Non	318	90,9	32	9,1	1	0,39
	Oui	203	88,7	26	11,3	1,3 (0,7-2,2)	
Consultation prénatale							
	< 4	210	88,2	28	11,8	1	0,13
	≥ 4	289	92,0	25	8,0	0,7 (0,4-1,2)	
Statut marital							
	Mariée monogame	372	90,5	39	9,5	1	0,51
	Mariée polygame	149	88,7	19	11,3	1,2 (0,7-2,2)	
Activité professionnelle							
	Ménagère	283	90,4	30	9,6	1	0,66
	Autres	234	89,3	28	10,7	1,1 (0,7-1,9)	
Infection placentaire palustre							
	Non	464	90,8	47	9,2	1	0,09
	Oui	53	84,1	10	15,9	1,9 (0,9-3,9)	
Âge							
	< 20	63	78,8	17	21,2	1	0,01
	20 – 25	127	90,7	13	9,3	0,4 (0,2-0,8)	
	25 – 30	192	93,7	13	6,3	0,3 (0,1-0,6)	
	>30	138	92	12	8	0,3 (0,1-0,7)	
Sexe							
	Fille	254	89,4	30	10,56	1	0,68
	Garçon	266	90,5	28	9,52	0,9 (0,5-1,5)	
Parité							
	Primipares	70	76,1	22	23,91	1	< 10 <sup>-3</sup>
	Multipares	451	92,8	35	7,20	0,3 (0,1-0,5)	

Une analyse multivariée a ensuite été réalisée (Tableau 12). Bien que non significative, la variable anémie maternelle a été forcée dans le modèle puisqu'elle est notre variable d'intérêt. Nous avons inclus dans notre modèle les facteurs de risque associés au faible poids de naissance avec un seuil de significativité fixé à 0,20 (consultation prénatale, infection placentaire palustre, âge et parité). L'anémie maternelle est restée non significativement associée au faible poids de naissance [OR = 1,2 (0,6-2,2) ; P = 0,63]. Les femmes ayant

effectué au minimum 4 consultations prénatales ont une probabilité significativement plus faible de donner naissance à des nouveau-nés de faible poids [OR = 0,5 (0,3-0,9) ;  $P = 0,04$ ]. L'effet protecteur de la parité est demeuré significatif ( $P < 10^{-3}$ ) avec un OR à 0,3 (0,1-0,5). L'infection placentaire palustre n'a pas d'effet significatif sur le faible poids de naissance [OR=1,7 (0,8-3,8) ;  $P = 0,2$ ]. Dans notre modèle final, l'effet protecteur de l'âge maternel est non significatif. Pour mieux interpréter l'effet de la consultation prénatale sur le faible poids de naissance nous avons tenu compte de la durée de grossesse en l'introduisant dans le modèle. L'effet de la consultation prénatale demeure significatif et ne change pas (OR=0,5 (0,3-0,9) ;  $P = 0,04$ ).

**Tableau 12** : Etude des facteurs de risque du faible poids de naissance - Analyse multivariée

Variables	OR (IC 95%)	$P$
Anémie Maternelle		
Non	1	
Oui	1,2 (0,6-2,2)	0,63
Consultation Prénatale		
< 4	1	
≥ 4	0,5 (0,3-0,9)	0,04
Infection placentaire palustre		
Non	1	
Oui	1,7 (0,8-3,8)	0,20
Âge		
< 20	1	
20 – 25	0,5 (0,2-1,4)	
25 – 30	0,5 (0,1-1,5)	
>30	0,7 (0,2-2,3)	0,45
Parité		
Primipares	1	
Multipares	0,3 (0,1-0,5)	< $10^{-3}$

### **2.3.2. Anémie maternelle et prématurité**

L'analyse univariée (Tableau 13) ne montre pas d'association significative entre l'anémie maternelle et la prématurité [OR = 1,4 (0,7-2,5) ;  $P = 0,32$ ]. La prévalence de la prématurité chez les multipares (6,9%) est significativement ( $P = 0,01$ ) plus faible que chez les primipares (14,6%). Une activité professionnelle durant la grossesse et une infection placentaire palustre représentent des tendances non significatives de risque de prématurité ( $P = 0,11$  et  $P = 0,16$  respectivement). Aucune association n'a été retrouvée entre prématurité et consultation prénatale, statut marital, âge et sexe de l'enfant.



**Tableau 13** : Etude des facteurs de risque de la prématurité - Analyse univariée

Variables	Prématurité				OR (IC 95%)	P
	Non		Oui			
	N=516	%	N=61	%		
<b>Anémie Maternelle</b>						
Non	311	92,8	24	7,2	1	
Oui	200	90,5	21	9,5	1,4 (0,7-2,5)	0,32
<b>Consultation Périnatale</b>						
< 4	210	90,9	21	9,1	1	
≥ 4	278	93,3	20	6,7	0,7 (0,3-1,4)	0,31
<b>Statut Marital</b>						
Mariée Monogame	365	92,2	31	7,8	1	
Mariée Polygame	146	91,3	14	8,8	1,1 (0,6-2,2)	0,72
<b>Activité Professionnelle</b>						
Non	277	93,6	19	6,4	1	
Oui	230	89,8	26	10,2	1,7 (0,9-3,1)	0,11
<b>Infection placentaire palustre</b>						
Non	452	92,4	37	7,6	1	
Oui	55	87,3	8	12,7	1,8 (0,8-4,0)	0,16
<b>Âge</b>						
< 20	67	87,0	10	13,0	1	
20 – 25	127	92,7	10	7,3	0,5 (0,2-1,3)	
25 – 30	186	94,4	11	5,6	0,4 (0,2-1,0)	
>30	129	91,5	12	8,5	0,3 (0,2-1,5)	0,22
<b>Sexe</b>						
Fille	254	91,4	24	8,6	1	
Garçon	256	92,4	21	7,6	0,9 (0,5-1,6)	0,65
<b>Parité</b>						
Primipares	76	85,4	13	14,6	1	
Multipares	434	93,1	32	6,9	0,4 (0,2-0,9)	0,01

Nous avons ensuite réalisé une analyse multivariée (Tableau 14) en incluant dans notre modèle les variables suivantes ( $P < 0,20$ ) : l'exercice d'une activité professionnelle durant la grossesse, l'infection placentaire palustre et la parité. L'anémie maternelle (variable d'intérêt) a été forcée dans le modèle et est demeurée non significativement associée à la prématurité ( $P = 0,46$ ). Seul l'effet protecteur de la parité reste significatif [OR=0,5 (0,2-0,9) ;  $P = 0,04$ ].

**Tableau 14** : Etude des facteurs de risque de la prématurité - Analyse multivariée

Variables		OR (IC 95%)	P
Anémie Maternelle	Non	1	0,46
	Oui	1,3 (0,7-2,4)	
Activité Professionnelle	Non	1	0,17
	Oui	1,6 (0,8-3,1)	
Infection placentaire palustre	Non	1	0,39
	Oui	1,4 (0,6-3,4)	
Parité	Primipares	1	0,04
	Multipares	0,5 (0,2-0,9)	

### 2.3.3. Anémie maternelle et anémie du nouveau-né à la naissance

L'analyse univariée (Tableau 15) a révélé que l'anémie maternelle est significativement associée à l'anémie du nouveau-né [OR = 1,8 (1,2-2,5) ;  $P = 0,002$ ]. Aucune autre association significative n'a été retrouvée entre l'anémie du nouveau-né et les variables suivantes : nombre de consultations prénatales, statut marital, exercice d'une activité professionnelle, infection placentaire palustre et âge maternelle. Bien que non significatifs, le sexe du nouveau-né (masculin) semble associé à un risque diminué d'anémie du nouveau-né alors que la parité (femmes multipares) est associée à un risque accru.

**Tableau 15** : Etude des facteurs de risque de l'anémie du nouveau-né - Analyse univariée.

Variables	Anémie du nouveau-né				OR (IC 95%)	P
	Non		Oui			
	N=225	%	N=353	%		
<b>Anémie Maternelle</b>						
Non	154	44,1	195	55,9	1	
Oui	71	31,0	158	69,0	1,8 (1,2-2,5)	0,002
<b>Consultation Périnatale</b>						
< 4	87	36,6	151	63,4	1	
≥ 4	127	40,6	186	59,4	0,8 (0,6-1,2)	0,34
<b>Statut Marital</b>						
Mariée Monogame	164	39,8	248	60,2	1	
Mariée Polygame	61	36,8	105	63,2	1,1 (0,8-1,6)	0,5
<b>Activité Professionnelle</b>						
Non	120	38,6	191	61,4	1	
Oui	103	39,2	160	60,8	1,0 (0,7-1,4)	0,89
<b>Infection placentaire palustre</b>						
Non	200	39,1	311	60,9	1	
Oui	24	38,1	39	61,9	1,0 (0,6-1,8)	0,87
<b>Âge</b>						
< 20	35	43,2	46	56,8	1	
20 – 25	62	44,3	78	55,7	0,9 (0,6-1,7)	
25 – 30	72	35,3	132	64,7	1,4 (0,8-2,4)	
>30	54	36,2	95	63,8	1,3 (0,8-2,3)	0,27
<b>Sexe</b>						
Féminin	101	35,7	182	64,3	1	
Garçon	123	42,0	170	58,0	0,8 (0,6-1,1)	0,12
<b>Parité</b>						
Primipares	42	45,2	51	54,8	1	
Multipares	182	37,6	302	62,4	1,4 (0,9-2,1)	0,17

Nous avons ensuite réalisé une analyse multivariée (Tableau 16) en incluant dans notre modèle logistique les variables suivantes ( $P < 0,20$ ) : anémie maternelle, sexe, parité. Seule l'anémie maternelle est restée significativement associée à l'anémie du nouveau-né [OR=1,8 (1,2-2,5) ;  $P = 0,002$ ].

**Tableau 16** : Etude des facteurs de risque de l'anémie du nouveau-né - Analyse multivariée

Variables		OR (IC 95%)	P
Anémie Maternelle	Non	1	0,002
	Oui	1,8 (1,2-2,5)	
Sexe	Féminin	1	0,11
	Garçon	0,8 (0,5-1,1)	
Parité	Primipares	1	0,09
	Multipares	1,5 (0,9-2,3)	

Nous avons réalisé également une analyse multivariée par régression linéaire (résultats non montrés) en prenant notre variable dépendante sous forme quantitative : taux d'hémoglobine du nouveau né à la naissance. Les résultats ont abouti aux mêmes conclusions que la régression logistique. Seule l'anémie maternelle est restée significativement associée à l'anémie du nouveau-né. Les enfants nés de mère anémiée ont un taux d'Hb significativement plus bas que ceux nés d'une mère non anémiée ( $14,2 \pm 0,1$  vs  $14,7 \pm 0,1$  respectivement ;  $P = 0,002$ ).

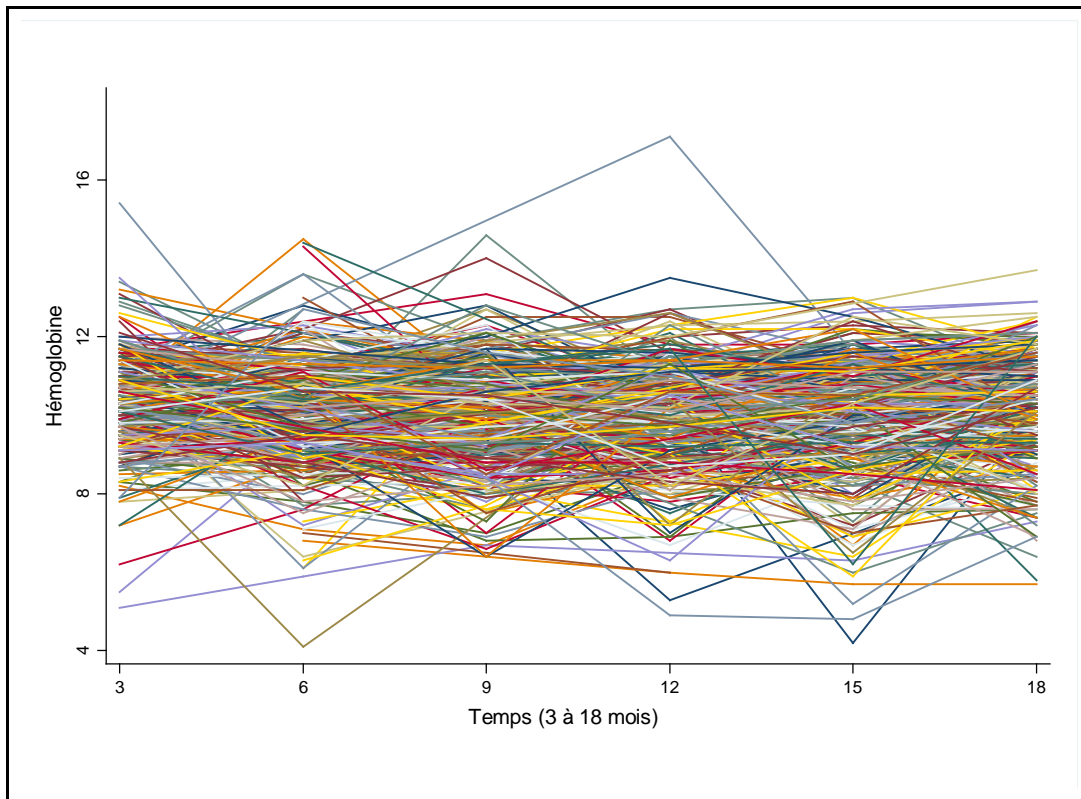
Les analyses ont été également menées en définissant l'anémie du nouveau-né par un taux d'hémoglobine inférieur à 14 g/ dL. Ces analyses aboutissent aux mêmes résultats (résultats non montrés). Seule l'anémie maternelle a un effet sur l'anémie du nouveau-né.

## **2.4. Anémie maternelle et taux d'Hb du nourrisson entre 3 et 18 mois de vie**

### **2.4.1. Description de l'évolution du taux d'Hb de 3 à 18 mois**

La figure 7 présente l'évolution du taux d'hémoglobine chez les 542 nourrissons de 3 à 18 mois. L'allure de cette évolution semble compatible avec une évolution linéaire du taux

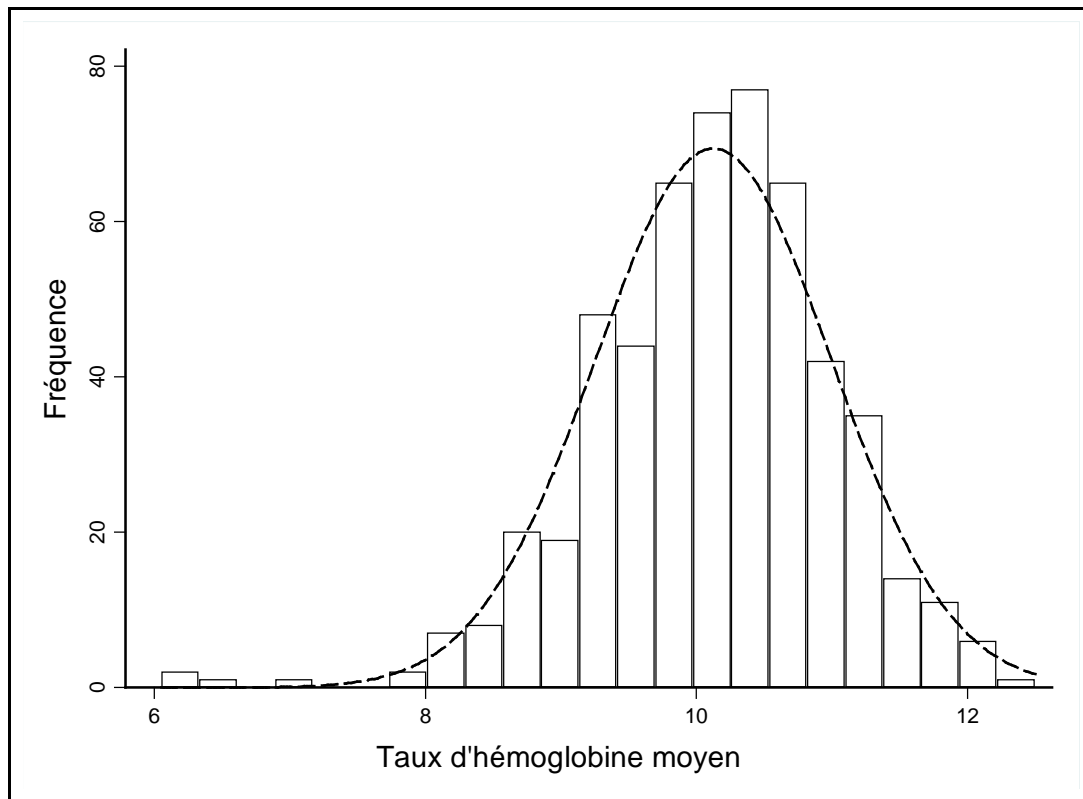
d'hémoglobine des nourrissons entre 3 et 18 mois de vie, sans tendance particulière identifiable. La moyenne du taux d'hémoglobine varie au cours de la période entre 10,30 et 10,26 g / dL



**Figure 7** Distribution du taux d'hémoglobine des nourrissons entre 3 et 18 mois

La distribution du taux d'hémoglobine moyen des nourrissons entre 3 et 18 mois est en accord avec une distribution gaussienne (Figure 8) et l'hypothèse de normalité n'est pas rejetée au risque 5% ( $P = 0,27$ , test de Kolmogorov-Smirnov). Le test est sensible aux valeurs « extrêmes » et le retrait des sujets aux valeurs « extrêmes » conduit à un degré de significativité du test de 0,48. Les analyses ont d'abord été réalisées sur tout l'échantillon et, afin de vérifier la stabilité des résultats, elles ont été de nouveau réalisées après exclusion de

ces deux sujets. Les résultats étant similaires, les analyses sur tout l'échantillon sont présentées dans ce travail.



**Figure 8** Distribution du taux d'hémoglobine moyen entre 3 et 18 mois

#### **2.4.2. Analyse de l'évolution du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois par un modèle linéaire mixte**

L'analyse univariée a montré que les nourrissons nés de mères anémiées ont un taux d'hémoglobine plus bas que ceux nés de mères non anémiées (10,1 vs 10,2 respectivement) mais la différence n'est pas significative ( $P = 0,14$ ). L'infection placentaire palustre, la survenue d'accès palustres durant le suivi et le sexe masculin diminuaient significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois de vie ( $P = 0,03$  ;  $P = 0,01$  ;  $P = 0,002$  respectivement). Par contre les enfants ayant un bon statut nutritionnel et vivant dans une

famille polygame avaient un taux d'hémoglobine significativement plus élevé ( $P = 0,04$  ;  $P = 0,01$  respectivement). Le taux d'hémoglobine du nouveau-né à la naissance, l'existence de trait drépanocytaire, la prématurité et le faible poids de naissance n'avaient aucun effet significatif sur le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois.

Les analyses multivariées ont été effectuées par les méthodes pas à pas descendante et ascendante. Ces méthodes ont abouti au même modèle final. Les estimations des paramètres sont indiquées dans le tableau 17. Les résultats montrent que le taux d'hémoglobine moyen des nourrissons entre 3 et 18 mois est de 9,90 g / dL. L'anémie maternelle n'est pas associée ( $P = 0,306$ ) au taux d'Hb entre 3 et 18 mois. Après ajustement, la survenue d'accès palustres durant le suivi, le sexe masculin et le trait drépanocytaire diminuaient significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois ( $P = 0,001$  ;  $P = 0,014$  ;  $P = 0,047$  respectivement) alors que les enfants ayant un bon statut nutritionnel et vivant dans une famille polygame avaient un taux d'hémoglobine significativement plus élevé entre 3 et 18 mois ( $P < 10^{-3}$  ;  $P = 0,01$  respectivement). L'infection palustre placentaire n'était plus significative ( $P = 0,104$ ).

**Tableau 17** : Etude du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois. Modèle hiérarchique mixte à intercept aléatoire gaussien

Variabiles	Estimation ( $\gamma_{q0}$ )	Standard Errors	P
<b>Effets fixes <sup>a</sup></b>			
Intercept	9,90	0,30	< 10 <sup>-4</sup>
Anémie maternelle (Référence = Non)			
Oui	-0,08	0,08	0,306
Nombre d'accès palustre (Référence = 0)			
1 à 2	-0,23	0,08	
> 2	-0,37	0,1	0,001
Sexe (Référence = Filles)			
Garçons	-0,26	0,08	0,014
Statut marital (Référence = Mariée monogame)			
Mariée polygame	0,2	0,08	< 10 <sup>-3</sup>
Trait drépanocytaire (Référence = Non)			
Oui	-0,18	0,09	0,047
Statut nutritionnel du nourrisson	0,14	0,05	0,01
<b>Effets aléatoires <sup>b</sup></b>			
Variance inter-nourrissons ( $\tau_{00}$ )	0,72	-	< 10 <sup>-4 c</sup>
Variance intra-nourrissons ( $\sigma^2$ )	0,95	-	-

<sup>a</sup> Estimation par la méthode ML. <sup>b</sup> Estimation par la méthode REML. <sup>c</sup> Test de Stram and Lee (Stram and Lee 1994)



L'introduction de la variabilité inter-nourrisson a permis d'améliorer notre modèle (test de Stram et Lee,  $P < 10^{-4}$ ). Le coefficient de corrélation intraclasse, calculé à partir des variances inter-nourrissons (0,72) et résiduelle (0,95), est de 0,43, indiquant que 57% de la variance totale serait expliquée par les caractéristiques prises en compte dans notre modèle.

Bien que l'allure de la distribution du taux d'hémoglobine des nourrissons de 3 à 18 mois ne soit pas favorable à l'existence d'une pente aléatoire (Figure 7) nous avons effectué de nouvelles analyses en introduisant dans notre modèle une pente aléatoire. Les résultats présentés dans le tableau 18 montre un taux d'hémoglobine moyen à 9,66 g / dL. Les résultats obtenus sont similaires à ceux du modèle sans pente aléatoire. La variabilité inter-nourrisson pour la pente est très faible de 0.04. En comparant les BIC du modèle sans pente et du modèle avec pente, nous remarquons que le BIC du modèle avec pente (7456) est meilleur. Malgré cela, la valeur très faible de la variabilité pour la pente d'une part et, d'autre part, l'allure de l'évolution de la courbe du taux d'hémoglobine des nourrissons (Figure 7) nous ont conduits à opter pour un modèle avec intercept seulement dans la publication.

**Tableau 18** : Etude du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois. Modèle hiérarchique mixte à intercept et pente aléatoires.

Variables	Estimation ( $\gamma_{q0}$ )	Standard Errors	P	
<b>Effets fixes <sup>a</sup></b>				
Intercept	9,66	0,30	< 10 <sup>-4</sup>	
Anémie maternelle	(Référence = Non)			
	Oui	-0,07	0,08	0,380
Nombre d'accès palustre	(Référence = 0)			
	1 à 2	-0,20	0,09	
	> 2	-0,38	0,1	0,001
Sexe	(Référence = Filles)			
	Garçons	-0,26	0,08	0,011
Statut marital	(Référence = Mariée monogame)			
	Mariée polygame	0,21	0,08	< 10 <sup>-3</sup>
Trait drépanocytaire	(Référence = Non)			
	Oui	-0,18	0,09	0,046
Statut nutritionnel du nourrisson		0,19	0,06	0,001
<b>Effets aléatoires <sup>b</sup></b>				
Variance inter-nourrissons [Intercept aléatoire]	0,61	-	-	
Variance inter-nourrissons [Pente aléatoire]	0,04	-	-	
Variance intra-nourrissons ( $\sigma^2$ )	0,92	-	-	

<sup>a</sup> Estimation par la méthode ML. <sup>b</sup> Estimation par la méthode REML.

Au total dans ce chapitre, l'anémie de la mère a été identifiée comme seul facteur de risque d'anémie chez le nouveau-né. Pour leur part, le faible poids de naissance ou la prématurité ne sont pas associés à l'anémie maternelle. Enfin, nous n'avons pas mis en évidence d'association entre l'anémie maternelle et le taux d'hémoglobine de l'enfant entre 3 et 18 mois. Cependant, la survenue d'accès palustres durant le suivi, le sexe masculin et le trait drépanocytaire diminuaient significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois alors que les enfants ayant un bon statut nutritionnel et vivant dans une famille polygame avaient un taux d'hémoglobine plus élevé. En introduisant une pente aléatoire dans notre modèle les conclusions n'ont pas variées et nous notons une faible variabilité inter-nourrisson pour la pente introduite.

Une partie de ces résultats est discutée dans l'article 1 présenté à la fin de ce chapitre. La discussion sera reprise dans la cinquième partie de cette thèse.

### **2.4.3. Analyse de l'évolution du taux d'hémoglobine entre 3 et 18 mois par modèle à classes latentes**

Le tableau 19 présente les critères utilisés lors de la 1<sup>ère</sup> étape de nos analyses. Le modèle avec trois trajectoires présente le meilleur BIC par rapport au modèle avec deux trajectoires (8239,139 versus 8345,149). L'ajout d'une quatrième trajectoire faisait apparaître un groupe représentant moins de 1% de la population (0,6%). Ce groupe se retrouvait présent dans les mêmes conditions au-delà de 4 trajectoires, Dans le modèle à deux trajectoires, 32.8% des individus appartenaient à la trajectoire correspondant à un faible niveau d'hémoglobine (trajectoire faible) et 67.2% à la trajectoire correspondant à un niveau élevée d'hémoglobine (trajectoire élevée). Dans le modèle à trois trajectoires, 10,6% des enfants appartenaient à la

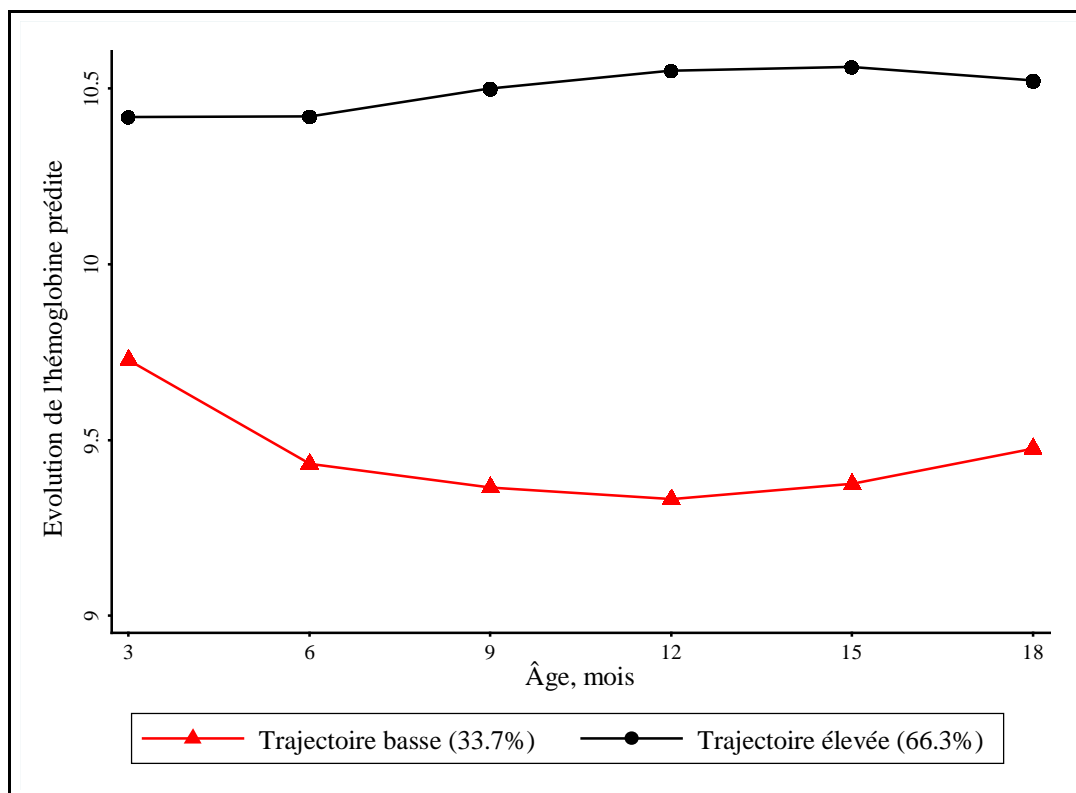
trajectoire faible, et 55,1% à la trajectoire élevée et 34,3% des enfants à une trajectoire intermédiaire. Durant cette première étape nous avons retenu les modèles à deux puis à trois trajectoires pour la suite de nos explorations.

**Tableau 19** : Critères de sélection des trajectoires

Trajectoires	BIC <sup>a</sup>	P1 <sup>b</sup> (%)	P2 (%)	P3 (%)	P4 (%)	P5 (%)	P6 (%)	P7 (%)
2	8345,149	31,3	68,7	-	-	-	-	-
3	8289,139	8,6	38,7	52,7	-	-	-	-
4	8255,917	0,6	22	56,9	20,5	-	-	-
5	8243	0,6	22,5	55,5	9,6	11,8	-	-
6	8257,571	0,6	22,1	54,3	5,3	4,8	12,9	-
7	8271,471	0,6	22,1	53,5	1,8	2,5	9,5	10

<sup>a</sup>\* Bayesian Information Criterion ; <sup>b</sup> Px = Pourcentage de sujets dans chaque trajectoire

Lors de la seconde étape, nous avons étudié les relations entre les variables explicatives et l'évolution du taux d'hémoglobine en utilisant le modèle à deux trajectoires et le modèle à trois trajectoires. Les effets des covariables étaient identiques pour les deux modèles. Cependant la stabilité des groupes n'était plus respectée pour le modèle à trois trajectoires. Le pourcentage de sujet dans la trajectoire basse est passé de 10,6% à 2% après introduction des variables explicatives. Pour le modèle à deux trajectoires le pourcentage de sujets dans la trajectoire basse est passé de 32,8% à 33,7% et de 67,2% à 66,3% dans la trajectoire haute confirmant donc la stabilité du modèle à deux trajectoires et recommandant son choix. Lorsque nous appliquons la « méthode Gateaux », nous confirmons le modèle à deux trajectoires pour la suite de nos analyses. Ces deux trajectoires sont décrites dans la figure 9.



**Figure 9** Les trajectoires d'hémoglobine (3 à 18 mois)

Le tableau 20 présente quelques caractéristiques des deux trajectoires latentes identifiées.

**Tableau 20** : Caractéristiques des deux trajectoires latentes identifiées

	Trajectoire élevée	Trajectoire basse
Poids de naissance, moyenne (Déviation Standard)	2994.8	2951.6
Faible poids de naissance	32 (7.8%)	18 (13.6%)
Prématurité	43 (10.5%)	12 (9.2%)
Hémoglobine, moyenne (Déviation Standard)	14.6 (1.9)	14.2 (1.9)
Anémie du nouveau-né	143 (35.5%)	49 (37.7%)
Sexe (Fille)	191 (46.8%)	81 (61.8%)
Trait drépanocytaire	80 (20.1%)	32 (26.0%)
Nombre d'accès palustre	0	147 (36%)
	1 à 2	176 (43%)
	> 2	85 (21%)

Les résultats de l'analyse multivariée (Tableau 21) montre que quelle que soit la trajectoire d'appartenance, l'anémie du nouveau-né à l'accouchement, l'infection placentaire palustre, la survenue d'accès palustre durant le suivi, le trait drépanocytaire et le sexe masculin étaient significativement associés à un faible taux d'hémoglobine les dix huit premiers mois de vie de l'enfant ( $P=0,007$ ,  $P=0,039$ ,  $P=0,005$ ,  $P<10^{-3}$  et  $P=0,012$ , respectivement) alors que les enfants ayant un bon statut nutritionnel et vivant dans une famille polygame avaient un taux d'hémoglobine significativement plus élevé entre 3 et 18 mois ( $P = 0,01$  ;  $P = 0,001$  respectivement). L'âge maternel à l'accouchement augmentait significativement le taux d'hémoglobine des enfants entre 3 et 18 mois de vie ( $P = 0,013$ ). L'anémie maternelle n'avait aucun effet sur cette évolution ( $P = 0,275$ ).

**Tableau 21 :** Etude de l'association entre les covariables et l'évolution du taux d'hémoglobine du nourrisson en présence des trajectoires identifiées. Analyse multivariée

Variabiles	Estimation	Standard Errors	P-value	
Intercept	10,17	0,11	$< 10^{-3}$	
Anémie maternelle	(Référence = Non)			
	Oui	-0,07	0,06	0,275
Anémie du nouveau-né	(Référence = Non)			
	Oui	-0,18	0,06	0,007
Infection placentaire palustre	(Référence = Non)			
	Oui	-0,2	0,09	0,039
Nombre d'accès palustre durant le suivi	(Référence = Non)			
	1 to 2	-0,15	0,07	
	> 2	-0,26	0,08	0,005
Sexe de l'enfant	(Référence = Fille)			
	Garçon	-0,15	0,06	0,012
Statut marital	(Référence = Monogamie)			
	Polygamie	0,17	0,07	0,01
Trait drépanocytaire	(Référence = Non)			
	Oui	-0,27	0,07	$< 10^{-3}$
Âge de la mère	(Référence = Âge $\leq 20$ )			
	21-25	0,25	0,1	
	26-30	0,28	0,1	
	$\geq 30$	0,26	0,1	0,013
Etat nutritionnel de l'enfant durant le suivi		0,17	0,06	0,003

Sous ce modèle final, nous avons montré que 95,2% des enfants classés dans la trajectoire élevée l'étaient avec une probabilité *a posteriori* supérieure à 0,7. Dans ce groupe d'enfants la

moyenne de la probabilité *a posteriori* était de 0,95. Quarante vingt six pourcent (86%) des enfants étaient classés dans la trajectoire basse avec une probabilité *a posteriori* supérieure à 0,7. La moyenne des probabilités *a posteriori* était de 0,94.

L'anémie maternelle à l'accouchement ne semble donc pas avoir d'effet sur l'évolution du taux d'hémoglobine de 3 à 18 mois. Nous nous sommes cependant interrogés sur le rôle de cette variable comme prédicteur d'appartenance à l'une des deux trajectoires. Ainsi nous avons montré que l'odds ratio d'appartenir à la trajectoire basse était significativement plus élevé pour les enfants nés de mères anémiées (OR = 1,65,  $P = 0,03$ ).

Enfin, nous avons examiné si l'effet des variables trouvées associées à l'évolution du taux d'hémoglobine de l'enfant différait selon la trajectoire d'appartenance. Parmi toutes ces variables seule l'existence du trait drépanocytaire semblait avoir un effet différent dans l'une et l'autre des trajectoires, plus marqué pour les enfants de la trajectoire basse ( $P = 0,023$ ).

Ces différents résultats sont discutés dans l'article 2 du présent manuscrit.

Dans cette deuxième partie de thèse nous avons donc montré que l'anémie maternelle n'avait aucun impact ni sur le faible poids de naissance ni sur la prématurité. Par contre les mères anémiées donnaient deux fois plus souvent naissance à des nouveau-nés anémiés. Nos analyses par un modèle mixte nous ont permis de déterminer que, si l'anémie maternelle n'avait aucun impact sur l'évolution du taux d'Hb, les facteurs suivants, le bon statut nutritionnel du nourrisson durant les 18 mois de vie et le fait de vivre dans une famille polygame avaient un effet positif alors que la survenue d'accès palustres durant les 18 mois de vie, le sexe masculin et le trait drépanocytaire avaient un effet négatif. De plus une analyse par classes latentes a mis en évidence deux trajectoires pour l'évolution du taux d'hémoglobine des nourrissons de 3 à 18 mois de vie. Cette méthodologie a également permis



de confirmer les effets précédents et de mettre en évidence un impact négatif de l'anémie du nouveau-né ainsi que de l'infection placentaire palustre sur cette évolution du taux d'hémoglobine du nourrisson. Enfin, cette analyse a montré le rôle prédictif de l'anémie maternelle sur l'appartenance à la trajectoire la plus basse.

## Anaemia during pregnancy: impact on birth outcome and infant haemoglobin level during the first 18 months of life

Ghislain K. Koura<sup>1,2,3</sup>, Smaïla Ouedraogo<sup>1,2,3</sup>, Agnès Le Port<sup>1,2,3</sup>, Laurence Watier<sup>4,5</sup>, Gilles Cottrell<sup>1,2,6</sup>, José Guerra<sup>1,2</sup>, Isabelle Choudat<sup>1,2</sup>, Antoine Rachas<sup>1,2</sup>, Julie Bouscaillou<sup>1,2</sup>, Achille Massougbdji<sup>6,7</sup> and André Garcia<sup>1,2</sup>

1 IRD UMR216, *Mère et enfant face aux infections tropicales, Paris, France*

2 Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France

3 Université Pierre Marie Curie, Paris, France

4 Inserm U657, Unité de Santé Publique, Garches, France

5 Faculté de Médecine, Université Versailles Saint-Quentin, Versailles, France

6 Centre d'Études et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfant, Cotonou, Bénin

7 Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

### Abstract

To determine the effect of maternal anaemia on pregnancy outcome and describe its impact on infant haemoglobin level in the first 18 months of life, we conducted a prospective study of 617 pregnant women and their children in Benin. Prevalence of maternal anaemia at delivery was 39.5%, and 61.1% of newborns were anaemic at birth. Maternal anaemia was not associated with low birth weight [OR = 1.2 (0.6–2.2)] or preterm birth [OR = 1.3 (0.7–2.4)], whereas the newborn's anaemia was related to maternal anaemia [OR = 1.8 (1.2–2.5)]. There was no association between an infant's haemoglobin level until 18 months and maternal anaemia. However, malaria attacks during follow-up, male gender and sickle cell trait were all associated with a lower infant haemoglobin level until 18 months, whereas good infant feeding practices and a polygamous family were positively associated with a higher haemoglobin level during the first 18 months of life.

**keywords** maternal anaemia, low birth weight, preterm birth, newborn's anaemia, infant's haemoglobin level, Republic of Benin

### Introduction

Anaemia during pregnancy, defined by haemoglobin (Hb) concentration lower than 11 g/dl, is a leading public health concern in poor and developing countries (WHO 2001), where 30–60% of pregnant women are anaemic (Kalenga *et al.* 2003; McLean *et al.* 2009). In 5–10% of cases, anaemia during pregnancy is severe and associated with adverse effects on pregnancy outcomes (Stoltzfus 2003; Shobeiri *et al.* 2006). The main causes of anaemia involve micronutrient deficiencies, infections, inherited disorders, etc. (Tolentino & Friedman 2007).

Although the consequences of maternal anaemia, especially severe anaemia (Hb < 7 g/dl), for women and pregnancy outcomes (maternal death, post-partum haemorrhage and spontaneous abortion) are well documented (Guidotti 2000; Rasmussen 2001), its association with low birth weight (LBW), preterm birth and anaemia in newborns remains unclear and disputed (Scanlon *et al.* 2000; Hamalainen *et al.* 2003; Levy *et al.* 2005; Shobeiri *et al.* 2006).

Anaemia in infancy affects up to 80% of children in Benin (McLean *et al.* 2009); studies have shown a relation between the mother's haemoglobin concentration during pregnancy and the infant's haemoglobin level from birth to 12 months of age (de Pee *et al.* 2002; Miller *et al.* 2003). Moreover, iron-deficiency anaemia is more frequent in infants born to anaemic mothers than in infants born to non-anaemic mothers in Jordan, Indonesia and Niger (Preziosi *et al.* 1997; Kilbride *et al.* 1999; de Pee *et al.* 2002).

This study aimed to investigate the relationship between maternal anaemia and birth outcomes (LBW, preterm birth and newborn anaemia) and to evaluate the impact of maternal anaemia on infant's haemoglobin level in the first 18 months of life in Southern Benin.

### Materials and methods

#### Study population

The study took place in the district of Tori-Bossito and included nine villages and three health centres (Tori

Avame, Tori Cada and Tori Gare), providing birth attendance and primary health care. All women attending health centres for prenatal care could participate in the study with their offspring after delivery and were recruited from June 2007 until July 2008. During this period, 617 pregnant women were included and gave birth to 656 newborns. Twenty-five pairs of twins, one set of triplets, 10 stillborn infants and 13 neonatal deaths were excluded. Our first objective was to study the association between maternal anaemia and birth outcomes (LBW, preterm birth and newborn anaemia) and was conducted on 580 mother-infant pairs. The second objective was to examine the impact of maternal anaemia at delivery on the infant's haemoglobin level until 18 months of age. To meet this objective, we excluded 11 deaths, 11 children with serious uncertainty on their identity and 16 lost to follow-up, leaving 542 subjects (Figure 1).

#### Data collection

At delivery, a questionnaire was administered to gather information on the women's sociodemographic and obstetric background and on the course of the current pregnancy. Before delivery, weight and height were

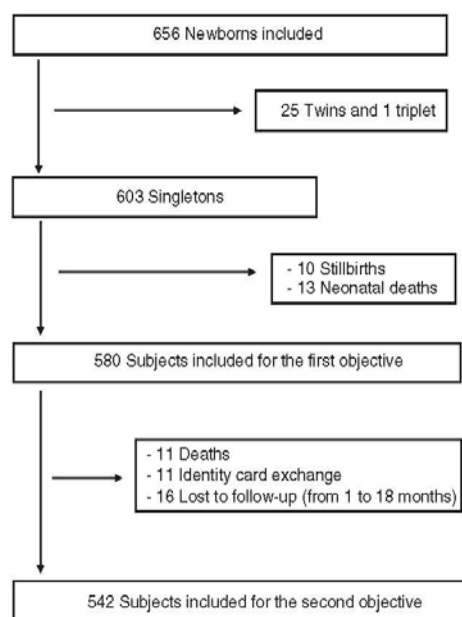


Figure 1 Flow chart.

measured. The haemoglobin level was determined, and a thick blood smear (TBS) was performed to control for malaria infection. After delivery, blood smears were made from the placenta to determine the existence of a placental malaria infection. The haemoglobin level and newborn malaria infection were determined from umbilical cord blood. Gestational age at delivery was determined using the Ballard method (Ballard *et al.* 1991).

Quarterly, the haemoglobin level was measured on a portable device (HemoCue<sup>®</sup>) using a drop of blood. Every month, a TBS was performed to detect asymptomatic malaria infection. Moreover, every child was visited weekly, and axillary temperature was measured by community health workers. In case of temperature higher than 37.5 °C, a questionnaire and both a rapid diagnostic test (RDT) and a TBS were performed. Symptomatic malaria infection was defined as fever and positive TBS and/or RDT and treated with artemisinin-based combination therapy (artemether and lumefantrine) as recommended by the National Malaria Control Program. Mothers were also invited to bring their infants to the health centre at any time in case of fever (suspected by the mother) or clinical signs, whether or not they were related to malaria, and the same protocol was applied.

Mothers and children with severe anaemia were referred to the Cotonou Centre National Hospitalo-Universitaire for appropriate treatment. No complications or deaths from anaemia occurred during the follow-up. All health expenditures were paid by the programme.

#### Outcome variables

The first objective's variables were LBW (<2500 g), preterm birth (gestational age <37 completed weeks gestation) and newborn anaemia (Hb < 15 g/dl). The haemoglobin level at 3, 6, 9, 12, 15 and 18 months was the second objective's outcome variable.

#### Independent variables

The following independent variables were collected from the mothers at delivery (Table 1): (i) maternal anaemia (Hb < 11 g/dl), (ii) age, (iii) ethnic group, (iv) working status during pregnancy, (v) maternal marital status, (vi) parity, (vii) number of prenatal care visits, (viii) schooling status and (ix) malaria placental infection. The following variables were collected from the infants (Table 2): (i) gender, (ii) sickle cell trait, (iii) number of malaria attacks, and (iv) infant's feeding during follow-up based on infant and young child feeding practices (IYCF) (WHO/UNICEF, 2010). From birth to 6 months of age, the feeding practices were based on exclusive breastfeeding, and after 6 months

**Table 1** Characteristics of mothers

	N = 580	%
Haemoglobin rate, mean (SD)	11.3 (1.5)	
Maternal anaemia		
No	351	60.5
Yes	229	39.5
Maternal age, mean (SD)	27.4 (5.5)	
Maternal age at time of delivery		
≤20	81	14.1
20–25	140	24.3
26–30	205	35.6
>30	150	26.0
Ethnic group		
Tori	411	72.1
Fon	61	10.7
Other	98	17.2
Working status during pregnancy		
Housewife	313	54.3
Working	263	45.7
Maternal marital Status		
Monogamous family	412	71.0
Polygamous family	168	29.0
Mother's parity		
Primipare	93	16.1
Multipare	486	83.9
Number of prenatal care visits		
<4	238	43.0
≥4	315	56.9
Maternal schooling status		
Schooled	81	14.2
Unschoolled	488	85.8
Malaria placental infection		
No	512	89.0
Yes	63	11.0
Maternity hospitals		
Tori Avamé	188	32.4
Tori Cada	283	48.8
Tori Gare	109	18.8

on information collected on food groups consumed by the child (Individual 24-h Dietary Recall). These nutritional data were collected every month. At 3, 6, 9, 12, 15 and 18 months, a single variable accounting for the past quarterly feeding practices was created.

#### Statistical analysis

To assess the effect of maternal anaemia on birth weight, preterm birth and newborn anaemia, univariate analyses were performed using chi-square tests to compare percentages and *t*-tests (or one-way ANOVA) to compare means for two (or more) categories, respectively. Multivariate logistic or linear regression was used for multivariate analyses when the dependent variables were qualitative or quantitative,

**Table 2** Characteristics of newborns at birth and during the follow-up

	N = 580	%
Birth weight, mean (SD)	2976.6 (400.6)	
Low birth weight		
No	521	89.9
Yes	58	10.1
Preterm birth		
No	511	91.9
Yes	45	8.1
Haemoglobin rate, mean (SD)	14.5 (2.0)	
Newborn's anaemia		
No	225	38.9
Yes	353	61.1
Infant's gender		
Female	284	49.1
Male	294	50.9
Sickle cell trait (carrier or not of AS variant)		
No	409	78.5
Yes	112	21.5
Number of malaria attacks during the first 18 months		
0	183	33.9
1–2	237	43.9
>2	119	22.1

respectively. All variables significant at 20% in the univariate analysis were included in the multivariate model.

#### Consequences of maternal anaemia on infant haemoglobin level between 3 and 18 months

During the study period, haemoglobin was determined quarterly, and the child's measurements cannot be considered independent. Therefore, the data presented a hierarchical two-level structure, where haemoglobin measurements (level 1) were clustered within children (level 2). Hierarchical mixed models are well suited to this type of data and were used in this study (McCulloch & Neuhaus 2001) for both univariate and multivariate analyses. A linear mixed model with a random intercept, as specified in the following equation (McCulloch & Neuhaus 2001), was used:

$$Y_{ij} = \underbrace{(\gamma_{00} + \sum_{q=1}^m \gamma_{q0} X_{qj})}_{\text{Fixed effect}} + \underbrace{(\mu_{0j} + e_{ij})}_{\text{Random effect}}$$

where  $Y_{ij}$  is the  $i$ th haemoglobin measurement of the child  $j$ ;  $\gamma_{00}$  the intercept;  $X_{qj}$  the  $q$  explicative variables of

the children  $j$  with their associated coefficients  $\gamma_{q0}$ ;  $\mu_{0j}$  the random intercept corresponding to the child-to-child variation in haemoglobin level [ $\mu_{0j} \sim N(0, \tau_{00})$ ]; and  $e_{ij}$  the residual variation [ $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ].

We assumed that random coefficients ( $\mu_{0j}$  and  $e_{ij}$ ) were independent. Variance components were estimated using the restricted maximum likelihood method and fixed effects parameters using the maximum likelihood method, as proposed in the literature (McCulloch & Neuhaus 2001). Multivariate analysis was performed including the variables with  $P \leq 0.20$  in the univariate step. All statistical analyses were performed using Stata, version 11.0 (StatCorp LP, College Station, TX, USA). Statistical significance was set at  $P < 0.05$ .

### Ethics

The study's protocol was approved by the University of Abomey-Calavi's institutional review board and the IRD's Consultative Ethics Committee. All women who participated in this study signed informed consent before enrolment (which also included their children) and were able to withdraw their consent at any time during the study.

### Results

#### Baseline characteristics

The percentage of missing data did not exceed 5% for the variables studied. Tables 1 and 2 show the baseline characteristics of the women and their infants. The mother's mean Hb was 11.3 g/dl (95% CI, 11.2–11.4); 39.7% of the women were anaemic (Hb < 11 g/dl). The prevalence of placental malaria was 11%. The newborn's mean of Hb was 14.5 g/dl (95% CI, 14.4–14.7). More than half of them (61.1%) were anaemic.

#### Effect of maternal anaemia on low birth weight, preterm birth and newborn anaemia

Univariate analysis showed that the prevalence of LBW was higher in children born to anaemic mothers (11.3%) than others (9.1%), but the difference was not significant ( $P = 0.39$ ). The only factor significantly associated with decreased risk of LBW was the mother's parity ( $P < 10^{-3}$ ). A non-significant trend towards an association with LBW was found for placental malaria infection ( $P = 0.09$ ) and prenatal care visits ( $P = 0.13$ ). In multivariate analysis (Table 3), maternal anaemia remained non-significantly associated with LBW [OR = 1.2 (0.6–2.2),  $P = 0.63$ ]. More than four prenatal care visits was associated with LBW infants [OR = 0.5 (0.3–0.9),  $P = 0.04$ ]. The protec-

tive effect of multiparity remained significant [OR = 0.3 (0.1–0.5),  $P < 10^{-3}$ ], whereas malaria placental infection had no significant effect.

Univariate analysis showed no significant association between maternal anaemia and preterm birth [OR = 1.4 (0.7–2.5),  $P = 0.32$ ]. Multiparity was associated with a significantly lower risk of preterm birth ( $P = 0.01$ ). Although nonsignificant, working status during pregnancy and placental malaria infection were associated with a higher risk of preterm birth ( $P = 0.11$  and 0.16, respectively). In multivariate analysis (Table 3), only the protective effect of multiparity remained significant [OR = 0.5 (0.2–0.9),  $P = 0.04$ ].

Univariate analysis showed that maternal anaemia was significantly associated with newborn anaemia [OR = 1.8 (1.2–2.5),  $P = 0.002$ ]. Although non-significant, male gender appeared associated with a decreased risk of anaemia at birth [OR = 0.8 (0.6–1.1),  $P = 0.12$ ], whereas multiparity increased this risk [OR = 1.4 (0.9–2.1),  $P = 0.17$ ]. During multiple logistic regression (Table 3), the only variable significantly associated with newborn anaemia [OR = 1.8 (1.2–2.5),  $P = 0.002$ ] was maternal anaemia.

When the level of haemoglobin at birth was used as a dependent variable in multiple linear regression, the results reached similar conclusions (not shown). Children born to anaemic mothers had a significantly lower Hb level than those born to non-anaemic mothers ( $P = 0.002$ ).

#### Effect of maternal anaemia on infant Hb level until 18 months of age

This step of analysis concerned 542 children of the 580 of the overall population. The characteristics of the 38 excluded subjects did not differ significantly. The analysis covered 2708 haemoglobin measurements out of the expected 3252. In most cases, an Hb measurement was missing from the children's follow-up because the mother had not attended a quarterly meeting: 480 children (89%) were present at least four times of six at quarterly meetings during the follow-up. Severe anaemia accounted for 5% [range (4.5–6.5)] of the 1838 samples taken between 6 and 18 months of age.

The assumption of normality of the mean haemoglobin levels of infants between 3 and 18 months was not rejected ( $P = 0.27$ ), despite the presence of individuals with low values. Removal of these subjects did not modify the conclusion ( $P = 0.48$ ).

Univariate analysis showed that infants born to an anaemic mother had a lower haemoglobin level than others (10.1 vs. 10.2, respectively), but this difference was not significant ( $P = 0.14$ ). The haemoglobin level during the

**Table 3** Risk factors for low birth weight, preterm birth and newborn's anaemia. Multivariate analysis\*

Outcomes	Independent variables	OR (CI 95%)	P-value
Low birth weight	Maternal anaemia		
	No	1	
	Yes	1.2 [0.6-2.2]	0.63
	Number of prenatal care visits		
	<4	1	
	≥4	0.5 [0.3-0.9]	0.04
	Malaria placental infection		
	No	1	
	Yes	1.7 [0.8-3.8]	0.20
	Mother's parity		
Primipare	1		
Multipare	0.3 [0.1-0.5]	<10 <sup>-3</sup>	
Preterm birth	Maternal anaemia		
	No	1	
	Yes	1.3 [0.7-2.4]	0.46
	Working status during pregnancy		
	Housewife	1	
	Working	1.6 [0.8-3.1]	0.17
	Malaria placental infection		
	No	1	
	Yes	1.4 [0.6-3.4]	0.39
	Mother's parity		
Primipare	1		
Multipare	0.5 [0.2-0.9]	0.04	
Newborn's Anaemia	Maternal anaemia		
	No	1	
	Yes	1.8 [1.2-2.5]	0.002
	Infant's gender		
	Female	1	
	Male	0.8 [0.5-1.1]	0.11
	Mother's parity		
	Primipare	1	
Multipare	1.5 [0.9-2.3]	0.09	

\*Adjustment was made for maternity hospital.

first 18 months of life was significantly associated with placental malaria infection ( $P = 0.03$ ), malaria attacks ( $P = 0.01$ ), male gender ( $P = 0.002$ ), mother's marital status ( $P = 0.04$ ) and feeding practices ( $P = 0.01$ ). The newborn's Hb level at birth ( $P = 0.06$ ) and the sickle cell trait ( $P = 0.10$ ) were not significantly associated with haemoglobin level between 3 and 18 months.

Multivariate analysis (Table 4) showed that malaria attack, sickle cell trait and male gender were significantly associated with a lower haemoglobin level until 18 months ( $P = 0.001$ ,  $P = 0.047$  and  $P < 10^{-3}$ , respectively). Children living in a polygamous family and with good feeding practices had a higher Hb level until 18 months of age than others ( $P = 0.014$  and  $P = 0.01$ , respectively). Neither haemoglobin level at birth nor maternal anaemia were

associated with infant Hb level until 18 months ( $P = 0.10$  and  $P = 0.38$ , respectively).

The introduction of variability between children improved the model (Stram and Lee Test,  $P < 10^{-4}$ ). The intraclass correlation coefficient calculated from child-to-child variation (0.72) and residual variation (0.95) was 0.43. Thus, 57% of the total variance could be explained by the model.

### Discussion

Maternal anaemia in developing countries remains an important public health problem, and the consequences on children are not clearly documented. To our knowledge, this is the first study on this topic conducted in Benin.

Variables	Estimation ( $\gamma_{90}$ )	Standard deviation	P-value†
<b>Fixed effects‡</b>			
Intercept	9.90	0.30	<10 <sup>-4</sup>
Number of children's malaria attack (Reference = 0)			
1–2	-0.23	0.08	
>2	-0.37	0.10	0.001
Infant's gender (Reference = Female)			
Male	-0.26	0.08	0.014
Maternal marital status (Reference = Monogamous family)			
Polygamous family	0.20	0.08	<10 <sup>-3</sup>
Sickle cell trait (Reference = No)			
Yes	-0.18	0.09	0.047
Infant's feeding until 18 months	0.14	0.05	0.01
<b>Random Effects§</b>			
Child-to-child variation ( $\tau_{00}$ )	0.72	–	–
Residual variation ( $\sigma^2$ )	0.95	–	–

**Table 4** Haemoglobin level between 3 and 18 months, multivariate analyses\*

\*Analysis was carried out with a random intercept.

†P value (for variables with more than two categories, the P value of the global test is given).

‡Estimated by the ML.

§Estimated by REML.

Around 40% of the mothers and more than 60% of the newborns presented anaemia. Maternal anaemia was not associated with LBW or preterm birth, whereas newborn anaemia was related to maternal anaemia. Thus, there is no association between the infant's haemoglobin level until 18 months of age and maternal anaemia. However, a malaria attack during follow-up, male gender and sickle cell trait carriage were associated with a lower infant haemoglobin level until 18 months, whereas good infant feeding practices and living in a polygamous family were associated with a higher infant haemoglobin level during this period. These results seem robust because the same pattern of results was obtained for both objectives when maternal anaemia was defined by a haemoglobin concentration below 10 g/dl.

Comparing these results with the literature is complicated by the varying definition of anaemia. However, the same pattern of results was observed for the association between maternal anaemia and LBW (Hamalainen *et al.* 2003; Levy *et al.* 2005; Shobeiri *et al.* 2006), even when anaemia was defined from the mother's haematocrit level (Knottnerus *et al.* 1990) or as a haemoglobin level <10 g/dl (Xiong *et al.* 2003). Notwithstanding, the delay in anaemia appearance during pregnancy could play a role – because anaemia occurring early in pregnancy confers a higher risk – although this result seems inconsistent with a relatively recent meta-

analysis (Xiong *et al.* 2000). The same discrepancies exist concerning the association between maternal anaemia and preterm birth (Scanlon *et al.* 2000; Xiong *et al.* 2000; Levy *et al.* 2005). However, preterm birth and LBW are complex variables. The first is difficult to determine in developing countries because often based on the last menstruation date, with the risk of recall bias, and the determinants of LBW are multiple, complex and overlapping (Kramer 1987). The strongest predictor is maternal undernutrition, manifested by decreased maternal weight, below-normal pre-pregnancy weight and pregnancy weight gain (Pojda & Kelley 2000). As children were included at birth in this study, without following up the mothers during pregnancy, this information was not used. However, based on a specific methodology (Pojda & Kelley 2000), we found that for more than 45% of the women the pregnancy weight gain was insufficient and these women gave birth to children with significantly lower birth weight (data not shown). Finally, the relations between maternal anaemia and LBW or pre-maturity are very complex, and anaemia certainly interacts with other parameters such as nutrition or infections.

Anaemia during pregnancy can result from both non-nutritional factors such as haemorrhage, infection, chronic diseases and nutritional factors, including iron, vitamin, copper and protein deficiencies (Yip & Ramakrishnan 2002;

de la Calle *et al.* 2003). Here, iron levels were not measured, but haemoglobin concentrations can be considered the most efficient indicator of iron deficiency at a population level (Mei *et al.* 2005).

Anaemia in pregnancy is more prevalent in the developing world, where undernutrition and infections are more frequent and access to health care for pregnant women may be more difficult (Abel *et al.* 2000). Moreover, pregnancy and lactation require a high level of micronutrient intake, particularly for closely spaced pregnancies (Uche-Nwachi *et al.* 2010), frequent in developing countries. Consequently, in populations with insufficient micronutrients to replace resources lost in reproduction, women may frequently experience micronutrient depletion and anaemia, leading to chronic depletion of nutritive stores (including iron) independent of reproductive costs (Shell-Duncan & Yung 2004). In our study, anaemia did not differ according to the women's parity (data not shown), consistent with the possibility that our population remains depleted between reproductive cycles (Miller 2010). This point together with the insufficient weight gain during pregnancy argues in favour of lower nutrition intakes in this population, consistent with the hypothesis that anaemia could be due at least in part to nutritional factors such as iron (and other micronutrient) deficiency.

An association was found between maternal anaemia and newborn anaemia at birth. In a study of pregnant rhesus monkeys, iron status at birth and through 6 months of age reflected the mother's iron status (Lubach & Coe 2006). In women, studies have demonstrated that iron deficiency and iron-deficiency anaemia during pregnancy can affect foetal iron accretion enough to have long-term effects (Colomer *et al.* 1990; de Pee *et al.* 2002), although there are protective mechanisms that attempt to maximize iron transfer to the foetus (Barrett *et al.* 1994). For others, maternal status has no effect on infant iron status or haematological indicators at birth (Preziosi *et al.* 1997; Kilbride *et al.* 1999). However, the interactions between iron intakes and stores are complex and depend on feeding practices. In Zambia, it was shown that exclusive breastfeeding at 4 months of life was protective of iron status and iron-deficiency anaemia at 6 months (Van Rheenen *et al.* 2007). In the present study population, breastfeeding was far from exclusive, and at 4 months of age only 18% of children were exclusively breastfed. The positive association between infant feeding practices and the level of haemoglobin during the follow-up could be considered an indirect argument in favour of the importance of nutritive factors in haemoglobin levels in the first 18 months of life.

The association shown herein between the number of malaria attacks and the haemoglobin level during the first 18 months of life may explain the high prevalence of

anaemia in children in sub-Saharan Africa. However, malaria cannot be considered the only infection responsible for anaemia. Indeed, HIV infection, bacteraemia and helminth infections are known to cause anaemia (Stoltzfus *et al.* 2000; Tolentino & Friedman 2007; Williams *et al.* 2009). Moreover, in parasite infections, synergism during co-infections is very frequent and known to exacerbate anaemia (Brooker *et al.* 2006; Ezeamama *et al.* 2008). The general mechanisms by which these infections lead to anaemia include blood loss, sequestration of red blood cells by the spleen, haemolysis and inflammation (Crawley 2004; Ghosh 2007). Interestingly, infections and nutrient deficiency can interact because nutrient deficiency can modulate resistance to infections (Field *et al.* 2002; Schable & Stefan 2007). Therefore, children presenting anaemia during early infancy could be more susceptible to infections. On the other hand, as infections and inflammatory diseases decrease iron absorption, repeated infection could also cause anaemia (Crawley 2004).

In this study, male gender was associated with a low haemoglobin level until 18 months. To our knowledge, there is no similar finding in the African population. A recent study concerning Swedish and Honduran children confirmed that there are substantial sex differences in haemoglobin and iron status during infancy (Domellof *et al.* 2002). Some of these seem to reflect an increased incidence of true iron deficiency in boys, whereas others may be genetically determined or due to hormonal factors. These factors could act in our Beninese population, just as sex differences in food intake cannot be excluded.

Although no direct explanation can be provided on the association between the mother's marital status and haemoglobin level, there are several possible indirect reasons for this increased Hb level in infants living in polygamous families, which may be associated with a better economic and social environment owing to higher household income. We also found that in polygamous families, mothers were significantly older than in monogamous families and, because of their experience, these mothers may take better care of their children.

In this study, the haemoglobin level was significantly lower in children carrying the sickle cell trait than in other children. Vichinsky *et al.* (1981) suggested that iron deficiency was more frequent than expected in untransfused sickle cell anaemia patients. A more recent study in India confirmed that iron-deficiency anaemia was more common in sickle cell anaemia patients but also in sickle cell trait individuals than in controls (Mohanty *et al.* 2008). Moreover, they showed significant improvement in haemoglobin levels after iron supplementation for people carrying the sickle cell trait. No univocal explanation has



been proposed, but more recently, Uzoigwe (2010) advanced a theory involving immunity and genetic factors. Finally, these results underline that sickle cell trait could be an additional problem for iron-deficiency anaemia and iron supplementation campaigns.

Several findings in the present study suggest that the aetiology of anaemia is complex and involves many overlapping factors. Iron stores could play an important role and interact with infections and nutrition. Recent studies emphasize that iron deficiency could cause cognitive dysfunctions in children and affect their developmental potential (Walker *et al.* 2007; Yadav & Chandra 2011). The high prevalence of iron deficiency stresses the extreme importance of this issue and the impact it may have on the economic expansion of developing countries. As intervention is possible and urgent, it is essential to precisely assess the consequences of anaemia and iron deficiency on children's neurological development and behaviour in Western Africa. These studies are now ongoing.

#### Acknowledgements

We thank the entire staff of the three maternity hospitals (Avamé, Cada, Gare) and the study participants. We gratefully thank our field team and the Centre National Hospitalo Universitaire of Cotonou who carried out the cohort's follow-up and the medical care. This research investigation was funded by Agence Nationale de la Recherche.

#### References

- Abel R, Rajaratnam J, Kalaimani A & Kirubakaran S (2000) Can iron status be improved in each of the three trimesters? A community-based study. *European Journal of Clinical Nutrition* 54, 490–493.
- Ballard J, Khoury J & Wedig K (1991) New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *The Journal of Pediatrics* 119, 417–423.
- Barrett J, Whittaker P, Williams J & Lind T (1994) Absorption of non-haem iron from food during normal pregnancy. *British Medical Journal* 309, 79.
- Brooker S, Clements A, Hotez P *et al.* (2006) The co-distribution of *Plasmodium falciparum* and hookworm among African schoolchildren. *Malaria Journal* 5, 99.
- de la Calle M, Usandizaga R, Sancha M, Magdaleno F, Herranz A & Cabrillo E (2003) Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 107, 125–134.
- Colomer J, Colomer C, Gutierrez D *et al.* (1990) Anaemia during pregnancy as a risk factor for infant iron deficiency: report from the Valencia Infant Anaemia Cohort (VIAC) study. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 4, 196–204.
- Crawley J (2004) Reducing the burden of anaemia in infants and young children in malaria-endemic countries of Africa: from evidence to action. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 71(Suppl 2), 25–34.
- Domellof M, Lonnerdal B, Dewey KG, Cohen RJ, Rivera LL & Hernell O (2002) Sex differences in iron status during infancy. *Pediatrics* 110, 545–552.
- Ezeamama AE, McGarvey ST, Acosta LP *et al.* (2008) The synergistic effect of concomitant schistosomiasis, hookworm, and trichuris infections on children's anemia burden. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2, e245.
- Field C, Johnson I & Schley P (2002) Nutrients and their role in host resistance to infection. *Journal of Leukocyte Biology* 71, 16.
- Ghosh K (2007) Pathogenesis of anemia in malaria: a concise review. *Parasitology Research* 101, 1463–1469.
- Guidotti RJ (2000) Anaemia in pregnancy in developing countries. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 107, 437–438.
- Hamalainen H, Hakkarainen K & Heinonen S (2003) Anaemia in the first but not in the second or third trimester is a risk factor for low birth weight. *Clinical Nutrition* 22, 271–275.
- Kalenga MK, Nyembo MK, Nshimba M & Foidart JM (2003) Étude de l'anémie chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes de Lubumbashi (République Démocratique du Congo): Impact du paludisme et des helminthiases intestinales. *Journal de Gynécologie, Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 32, 647–653.
- Kilbride J, Baker TG, Parapia LA, Khoury SA, Shuqaidef SW & Jerwood D (1999) Anaemia during pregnancy as a risk factor for iron-deficiency anaemia in infancy: a case-control study in Jordan. *International Journal of Epidemiology* 28, 461–468.
- Knottnerus JA, Delgado LR, Knipschild PG, Essed GG & Smits F (1990) Haematologic parameters and pregnancy outcome. A prospective cohort study in the third trimester. *Journal of Clinical Epidemiology* 43, 461–466.
- Kramer MS (1987) Determinants of low birth weight: methodological assessment and meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization* 65, 663–737.
- Levy A, Fraser D, Katz M, Mazor M & Sheiner E (2005) Maternal anemia during pregnancy is an independent risk factor for low birthweight and preterm delivery. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 122, 182–186.
- Lubach G & Coe C (2006) Preconception maternal iron status is a risk factor for iron deficiency in infant rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Journal of Nutrition* 136, 2345.
- McCulloch C & Neuhaus J (2001) *Generalized Linear Mixed Models*. edn. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D & de Benoist B (2009) Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993–2005. *Public Health Nutrition* 12, 444–454.
- Mei Z, Cogswell M, Parvanta I *et al.* (2005) Hemoglobin and ferritin are currently the most efficient indicators of population response to iron interventions: an analysis of nine randomized controlled trials. *Journal of Nutrition* 135, 1974.

G. K. Koura *et al.* Anaemia during pregnancy and its consequences

- Miller EM (2010) Maternal hemoglobin depletion in a settled northern Kenyan pastoral population. *American Journal of Human Biology* 22, 768–774.
- Miller M, Stoltzfus R, Mbuya N, Malaba L, Iliff P & Humphrey J (2003) Total body iron in HIV-positive and HIV-negative Zimbabwean newborns strongly predicts anemia throughout infancy and is predicted by maternal hemoglobin concentration. *Journal of Nutrition* 133, 3461–3468.
- Mohanty D, Mukherjee MB, Colah RB *et al.* (2008) Iron deficiency anaemia in sickle cell disorders in India. *Indian Journal of Medical Research* 127, 366–369.
- de Pee S, Bloem M, Sari M, Kiess L, Yip R & Kosen S (2002) The high prevalence of low hemoglobin concentration among Indonesian infants aged 3–5 months is related to maternal anemia. *Journal of Nutrition* 132, 2215.
- Pojda J & Kelley L (2000) Low Birthweight: Report on a meeting in Dhaka, Bangladesh on 14–17 June 1999.
- Preziosi P, Prual A, Galan P, Daouda H, Boureima H & Hercberg S (1997) Effect of iron supplementation on the iron status of pregnant women: consequences for newborns. *American Journal of Clinical Nutrition* 66, 1178–1182.
- Rasmussen K (2001) Is there a causal relationship between iron deficiency or iron-deficiency anemia and weight at birth, length of gestation and perinatal mortality? *Journal of Nutrition* 131, 590S–603S.
- Scanlon KS, Yip R, Schieve LA & Cogswell ME (2000) High and low hemoglobin levels during pregnancy: differential risks for preterm birth and small for gestational age. *Obstetrics & Gynecology* 96, 741–748.
- Schaible U & Stefan H (2007) Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Medicine* 4, e115.
- Shell-Duncan B & Yung SA (2004) The maternal depletion transition in northern Kenya: the effects of settlement, development and disparity. *Social Science & Medicine* 58, 2485–2498.
- Shobeiri F, Begum K & Nazari M (2006) A prospective study of maternal hemoglobin status of Indian women during pregnancy and pregnancy outcome. *Nutrition Research* 26, 209–213.
- Stoltzfus RJ (2003) Iron deficiency: global prevalence and consequences. *Food and Nutrition Bulletin* 24, S99–103.
- Stoltzfus RJ, Chwaya HM, Montresor A, Albonico M, Savioli L & Tielsch JM (2000) Malaria, hookworms and recent fever are related to anemia and iron status indicators in 0- to 5-y old Zanzibari children and these relationships change with age. *Journal of Nutrition* 130, 1724–1733.
- Tolentino K & Friedman JF (2007) An update on anemia in less developed countries. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77, 44–51.
- Uche-Nwachi E, Odekunle A, Jacinto S *et al.* (2010) Anaemia in pregnancy: associations with parity, abortions and child spacing in primary healthcare clinic attendees in Trinidad and Tobago. *African Health Sciences* 10, 66.
- Uzoigwe OF (2010) The distribution of the parasitic fauna dictates the distribution of the haemochromatosis genes. *Medical Hypotheses* 75, 415–417.
- Van Rheenen P, De Moor L, Eschbach S & Brabin B (2007) A cohort study of haemoglobin and zinc protoporphyrin levels in term Zambian infants: effects of iron stores at birth, complementary food and placental malaria. *European Journal of Clinical Nutrition* 62, 1379–1387.
- Vichinsky E, Kleman K, Embury S & Lubin B (1981) The diagnosis of iron deficiency anemia in sickle cell disease. *Blood* 58, 963–968.
- Walker SP, Wachs TD, Gardner JM *et al.* (2007) Child development: risk factors for adverse outcomes in developing countries. *Lancet* 369, 145–157.
- WHO (2001) *Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention and Control*. World Health Organisation, Geneva.
- WHO/UNICEF (2010) Indicators for assessing infant and young child feeding practices – Part II: measurement.
- Williams TN, Uyoga S, Macharia A *et al.* (2009) Bacteraemia in Kenyan children with sickle-cell anaemia: a retrospective cohort and case-control study. *Lancet* 374, 1364–1370.
- Xiong X, Buekens P, Alexander S, Demianczuk N & Wollast E (2000) Anemia during pregnancy and birth outcome: a meta-analysis. *American Journal of Perinatology* 17, 137–146.
- Xiong X, Buekens P, Fraser WD & Guo Z (2003) Anemia during pregnancy in a Chinese population. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 83, 159–164.
- Yadav D & Chandra J (2011) Iron deficiency: beyond anemia. *Indian Journal of Pediatrics* 78, 65–72.
- Yip R & Ramakrishnan U (2002) Experiences and challenges in developing countries. *Journal of Nutrition* 132(Suppl 4), 827S–830S.

**Corresponding Author** Ghislain K. Koura, IRD UMR216, Mère et enfant face aux infections tropicales, Paris, France.  
E-mail: kourakobtoghislain@yahoo.fr

## Article 2

**Koura GK**, Ouédraogo S, Le Port A *et al.* 2012. Maternal anaemia at delivery and haemoglobin evolution in infants during their first 18 months of life using latent class analysis (Article soumis dans la revue Plos One. Accepté sous réserve de modifications mineures). Les modifications ont été effectuées . La nouvelle version est incluse dans le manuscrit.

**Maternal anaemia at delivery and haemoglobin evolution in children during their first 18 months of life using latent class analysis**

Ghislain K. Koura<sup>1,2,3</sup>, Smaïla Ouédraogo<sup>1,2,3</sup>, Gilles Cottrell<sup>1,2,5</sup>, Agnès Le Port<sup>1,2,3</sup>,  
Achille Massougboji<sup>4,5</sup>, André Garcia<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> IRD UMR216, Mère et enfant face aux infections tropicales, Paris, France

<sup>2</sup> Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France

<sup>3</sup> Université Pierre Marie Curie, Paris, France

<sup>4</sup> Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

<sup>5</sup> Centre d'Etudes et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfant (CERPAGE), Cotonou, Bénin

**Abstract**

**Background** Anaemia during pregnancy and at delivery is an important public health problem in low- and middle-income countries. Its association with the children's haemoglobin level over time remains unclear. Our goals were to identify distinct haemoglobin level trajectories using latent class analysis and to assess the association between these trajectories and maternal anaemia and other risk factors.

**Method** A prospective study of children from birth to 18 months of life was conducted in a rural setting in Tori-Bossito, Benin. The main outcome measure was the haemoglobin levels repeatedly measured at 3, 6, 9, 12, 15 and 18 months. Variables were collected from the mothers at delivery and from their children at birth and during the follow-up. The analyses were performed by means of Latent Class Analysis which has never been used for this kind of data. All the analyses were performed with Stata software, version 11.0, using the generalized linear latent and mixed model (GLLAMM) framework.

**Results** We showed that 33.7% of children followed a low haemoglobin trajectory and 66.3% a high trajectory during the first 18 months of life. Newborn anaemia, placental malaria, malaria attack, sickle cell trait and male gender were significantly associated with a lower children's haemoglobin level over time, whereas maternal age, children living in a polygamous family and with good feeding practices had a higher Hb level in the first 18 months. We also showed that maternal anaemia was a predictor for 'low haemoglobin level trajectory' group membership but have no significant effect on children haemoglobin level over time.

**Conclusion** Latent Class Analyses framework seems well suited to analyse longitudinal data under the hypothesis that different subpopulations of subjects are present in the data, each with its own set of parameters, with distinctive evolutions that themselves may reflect distinctive aetiologies.

**Keywords** Latent class analysis; haemoglobin trajectories; maternal anaemia; newborn anaemia; placental malaria; Republic of Benin.

## **Introduction**

Anaemia during pregnancy and at delivery, defined by haemoglobin (Hb) concentration lower than 11 g/dl, is an important public health problem in low-income and middle-income countries [1]. In 2009, McLean *et al.* estimated that 30–60% of pregnant women were anaemic [2].

The consequences of maternal anaemia on pregnancy outcomes are well documented despite the existence of discrepant results. Studies have shown a relation between maternal anaemia during pregnancy and low birth weight, preterm birth and newborn anaemia [3-5]. However, its association with the children's haemoglobin level over time remains unclear. In 2002, de Pee *et al.* showed a relation between the mother's haemoglobin concentration during pregnancy and the infant's haemoglobin level from 3 to 5 months of age [6]. Moreover, iron-deficiency anaemia was also found to be more frequent in children born to anaemic mothers than children born to non-anaemic mothers in Jordan, Indonesia and Niger [6-8]. All previous studies used cross-sectional analyses not taking into account the correlation between Hb measurements taken repeatedly on the same individuals.

Between 2007 and 2010, more than 2500 Hb measurements were collected from 542 Beninese children enrolled in the Tori Bossito project and followed-up from birth to 18 months [9,10]. Our objective in this study was to examine factors that can influence children haemoglobin level with special emphasis on the effect of maternal anaemia at delivery. During a first analysis of these data, using hierarchical mixed models to deal with the repeated

measures design, we concluded that the evolution of haemoglobin levels from birth to 18 months of age was associated with several children's characteristics but not with maternal anaemia at delivery [11].

However, mixed models, although well suited to longitudinal data analysis, make the important assumption that the individuals in the sample are randomly drawn from a homogeneous sample (with an allowed individual variability accounted by the covariates and the random effects). Nevertheless, in this sample, in which more than 60% of newborns were anaemic at birth and a large proportion remained anaemic during the follow-up, it seemed to us very interesting to test whether distinct subpopulations of children are present in the data, each with its own set of parameters, with distinctive haemoglobin evolutions, or trajectories, that themselves may reflect distinctive aetiologies. The identification of trajectories of haemoglobin through the first 18 months of life and risk factors that predispose to or modify a particular trajectory may provide a better understanding of the natural history of how children's haemoglobin evolves. There are several ways to model mixture of populations and latent class analysis (LCA) approach is one of them. However, all these approaches allow exploring this issue partly because they do not assume that all individuals belong to the same homogeneous population. It allows us to identify latent groups of individuals who share a particular developmental trajectory of some attribute. [12,13].

Thus, the main objective of the present work was to provide a new approach to analyze the existence and characteristics of groups of children with similar patterns of Hb levels evolution between 3 and 18 months of life in a cohort of Beninese children included in the Tori Bossito project.

## **Material and methods**

### **Study design**

The Tori Bossito project is a birth cohort study of children who were followed up in the first 18 months of life. Full details of the survey have been described elsewhere [9-11].

### **Study site and population**

This study was conducted in nine villages in the district of Tori-Bossito, a semi-rural area located 50 km north of Cotonou, the economic capital of Benin. The study participants were recruited in three health centres (Tori Avame, Tori Cada and Tori Gare) in the districts, which were chosen because of their capacity to provide adequate care to children and their proximity to the study population's residential area. Malaria is perennial and *Plasmodium falciparum* is the commonest species. There are two high transmission peaks from April to July and October to November. Transmission is low the rest of the year.

The study population was composed of pregnant women who came to any of the three health centres for delivery between June 2007 and July 2008. The newborns included were followed up until January 2010 (Figure 1).

### **Variables measured**

#### *Variable of interest: Hb*

At 3, 6, 9, 12, 15 and 18 months of life, the haemoglobin level was assessed on a portable device (HemoCue®) using a drop of blood. The haemoglobin level repeatedly measured at 3, 6, 9, 12, 15 and 18 months was our outcome variable.

#### *Covariates*

The following variables were collected from the mothers at delivery: (1) maternal anaemia at delivery defined as Hb level less than 11 g/dl (Hb level was measured before birth ), (2) age, (3) ethnic group, (4) working status during pregnancy (housewife vs. working), (5) maternal marital status (monogamous vs. polygamous family), (6) parity (primipare vs. multipare), (7) number of prenatal care visits (less or more than four prenatal visits), (8) educational status (schooled vs. unschooled) and (9) placental malaria (thick and thin placental smears were made to look for placental malaria). The following variables were collected from the children: (1) newborn's anaemia (Hb <14 g/dl), (2) low birth weight (<2500 g), (3) preterm birth (gestational age <37 completed weeks of gestation), (4) gender, (5) sickle cell trait, (6) number of malaria attacks during the follow-up and (7) nutritional status of children during all the following-up period, using a WHO / UNICEF indicator [14] : infant and young child feeding indicator (IYCF) is the sum of minimum meal frequency and minimum dietary diversity. For each child and each month, based on dietary recall of the last 24 hours we calculated the nutrition score which was equal to 1 when the IYCF requirement was satisfied.

### Statistical analysis

We used latent class analysis to identify the haemoglobin level trajectories and assess their association with the covariates.

A general model's formulation is:

$$y_{it} = \beta_0^j + \beta_1^j Age_{it} + \beta_2^j Age_{it}^2 + \beta_3^j Age_{it}^3 + \alpha_1^j X_{1t} + \dots + \alpha_p^j X_{pt} + \varepsilon_{it}$$

where  $y_{it}$  is the response variable (Hb level of the  $i^{\text{th}}$  children at age  $t$ ), the  $\beta^j$  are the coefficient associated to the children's age in the  $j^{\text{th}}$  group and the  $\alpha^j$  are the coefficient associated to covariates in the  $j^{\text{th}}$  group (the index  $t$  specifies that the covariates can depend on time) and  $\varepsilon_{it}$  the residual variation [ $\varepsilon_{it} \sim N(0, \sigma^2)$ ].



The posterior probability  $\pi_j(z_i)$  that a children  $i$  with the covariates vector  $z_i$  belongs to the

group  $j$  is :  $\pi_j(z_i) = \frac{\exp(z_i \theta_j)}{\sum_j \exp(z_i \theta_j)}$  with covariates vector  $z_i$  and its corresponding coefficients vector  $\theta_j$ .

The analysis was performed in four steps.

In the first step, each haemoglobin level trajectory was modelled using a polynomial function of time and no covariates were added to the model at this time. The most appropriate number of classes was determined using the Bayesian Information Criterion (BIC). The substantive criteria included the group prevalence greater than 5% of the sample because of the usefulness and practical interpretability of latent classes [15].

In the second step, we explored the relationships between haemoglobin level trajectories and the covariates. All covariates that were significantly associated with haemoglobin level in univariate analysis with  $p < 0.20$  were entered in the multivariate analysis. Statistical significance in the final model was set at  $p < 0.05$ . During this step, we examined the stability of the latent classes determined in the first step. Indeed, as mentioned by Nagin the percentage of subjects in each trajectory must not widely change when the covariates are successively added to the model [16]. In addition we apply the same substantive criteria as previously [15]. Moreover, to check if the introduction of a further group yields improves the analysis, we used the Gateaux derivative method allowing testing whether the introduction of a new group increases the likelihood when all other parameters are held constant at their previous maximum likelihood values [17,18]. In the final model, after multivariate analysis, each individual was assigned to the trajectory group for which he had the highest posterior probability. Within each group, posterior probability values greater than or equal to 0.7

indicate adequate internal reliability [15]. Taking together, these criteria allowed us to make a definitive choice of the appropriate number of classes.

In the third step, we studied the predictor effect of maternal anaemia to belong to one or more trajectory depending on the number of classes we identified.

Finally, our fourth step consisted to test whether the effects of covariates on the evolution of haemoglobin levels in the first 18 months of age differed within each trajectory.

All these analyses were performed with Stata software, version 11.0 (StatCorp LP, College Station, TX, USA), using the generalized linear latent and mixed model (GLLAMM) framework [19,20].

### **Ethics**

The study's protocol was approved by the University of Abomey-Calavi's institutional review board and the IRD's Consultative Ethics Committee. All women who participated in this study signed informed consent before enrolment (which also included their children) and were able to withdraw their consent at any time during the study.

### **Results**

The analysis covered 2708 haemoglobin measurements out of the expected 3252. In most cases, an Hb measurement was missing from the children's follow-up because the mother had not attended a quarterly meeting: 480 children (89%) were present at least four times out of six at quarterly meetings during the follow-up. Full details of the baseline characteristics of the subjects have been described elsewhere [11].

First we identified groups of individuals who followed a similar pattern of haemoglobin from age 3 to 18 months. Using the BIC as criteria, the model with three groups was selected when compared to the two-group model (8289.1 and 8345.1, respectively). A fourth group, when

added, accounted for less than 0.6% of the children. The same pattern was observed with models of more than four groups (i.e. less than 1% of the sample fell into the supplementary trajectories). In the two-group model, the first latent trajectory accounted for 32.8% of children with a low haemoglobin level and the second trajectory 67.2% of children falling into the highest haemoglobin level in the first 18 months of life. For the three-group model, the first latent trajectory accounted for 10.6% of the children with the lowest haemoglobin level. The second latent trajectory accounted for 34.3% of the sample falling into an intermediate haemoglobin level category and, finally, the third latent trajectory accounted for 55.1% of the children who fell into the highest haemoglobin class.

Then we explored the relationships between haemoglobin trajectories and covariates using the two-group model and the three-group model. The effects of covariates were similar with the two- or three-trajectory models (see below). However, after adding covariates in the three-trajectory model, only 2% of the sample fell into the lowest haemoglobin trajectory instead of 10.6% previously, consistent with the instability of the three-trajectory model. The Gateaux derivative method confirmed that the three-point solution may represent a local maximum of the log-likelihood. Finally, for the following analyses, we used the two-group model. The largest group identified, called the 'high trajectory' group, accounted for 66.3% of the children in this sample. The second trajectory included children who had lower haemoglobin from 3 to 18 months of life. This group was called the 'low trajectory' and accounted for 33.7% of the sample. With this model, 95.2 % of children from the high haemoglobin level trajectory were classified as belonging to this group with a posterior probability greater than 70%, whereas 86.0% of children from the low haemoglobin level trajectory were classified as belonging to this group with a posterior probability greater than 70%. These two groups are presented in Figure 2 and were labelled according to their most unique characteristics. For the low trajectory, the haemoglobin level at 3 months of age was around 9.75 g/dl and decreased

between 3 and 12 months; After 12 months it increased slightly until 18 months. For the high trajectory, the haemoglobin level started around 10.4 g/dl and increased from 3 to 12 months of life and remains stable for the last six months. Table 1 showed the descriptive variables of these two latent groups. The factors associated with children haemoglobin progression in multivariate analysis are presented in Table 2. Newborn anaemia, placental malaria, malaria attack, sickle cell trait and male gender were significantly associated with a lower haemoglobin level in the first 18 months of age ( $p=0.007$ ,  $p=0.039$ ,  $p=0.005$ ,  $p<10^{-3}$  and  $p=0.012$ , respectively). Maternal age, children living in a polygamous family and with good feeding practices had a higher Hb level in the first 18 months of age than others ( $p=0.013$ ,  $p=0.01$  and  $p=0.003$ , respectively). We found that maternal anaemia at delivery had no significant effect on children haemoglobin level in the first 18 months ( $p=0.275$ ).

In the third step of our analysis, we examined the role of maternal anaemia as predictor of belonging preferentially to either group. Children born to mothers with maternal anaemia were more likely to belong to the lower trajectory class [OR=1.65,  $p=0.03$ ].

Finally, among the covariates significantly associated with children haemoglobin in the first 18 months, sickle cell trait was the only one for which the effect differed within each group (Table 3). Indeed, its negative effect was more strongly marked within the low trajectory ( $p=0.023$ ).

When maternal anaemia at delivery and newborn anaemia were replaced respectively by haemoglobin levels as quantitative variables, the same pattern of results was obtained. Maternal haemoglobin level at delivery was not significantly associated with children haemoglobin level in the first 18 months ( $p=0.8$ ) whereas newborn haemoglobin level had significant effect ( $p=0.03$ ).

## Discussion

As far as we know, published data describing repeated haemoglobin measurements from children over extended periods are very scarce. Only one analytic method for such data has been proposed heretofore [11,21]. We previously showed that neither haemoglobin level at birth nor maternal anaemia were associated with children Hb level in the first 18 months, but the occurrence of a malaria attack during follow-up, male gender and sickle cell trait carriage were associated with a lower children haemoglobin level in the first 18 months. Children living in a polygamous family and with good feeding practices had a higher Hb level in the first 18 months of age than the others. The present analysis, using latent class models, confirms these results, strengthening the importance of these risk factors, which have been discussed elsewhere [11]. However, this approach, one among several population mixture models, provided a better understanding of the natural history of children haemoglobin levels by identifying new determinants of haemoglobin levels (i.e. placental malaria and the newborn anaemia) as well as the role played by mother's anaemia as a predictor of belonging to the low latent trajectory. We also showed that the negative effect of sickle cell trait was more strongly marked within the low trajectory. In our preceding analysis using mixed models, we found that newborn anaemia and placental malaria were associated with a decreased haemoglobin level in the first 18 months of life. However, these associations were not significant ( $p=0.104$  and  $p=0.190$  respectively). This result strengthens the fact that taking into account the existence of a mixture of populations could help to identify covariates with significant but probably complex effect that cannot be easily identified under the hypothesis that all subjects belong to the same population. Finally, the innovative LCA suggests that the data are compatible with two levels of haemoglobin over time, high and low, concerning two-thirds and one-third of the sample, respectively.

Latent class analysis has been used extensively in criminology and behavioural research [22-24], less to date in public health research [25-27]. It is an extension of a mixed model and assumes the presence of and identifies latent groups of individuals who share a particular developmental trajectory of some attribute, thereby allowing a better understanding of the pattern of change in the variable of interest [15,16,28-30]. The other strength of this approach is that it reveals a predictor of belonging to the low haemoglobin group along with the effects of all other risk factors. Furthermore, it allows studying the effect of variables within trajectories and underlined the negative influence of sickle cell trait during infancy. Latent class analysis forms a part of mixture modeling, a widely applied data analysis approach used to identify unobserved heterogeneity in a population. Mixture modeling involved several techniques with potential differences [31]. We provided our model equation to take these potential differences into account and to make our results easily and clearly understood, despite technical considerations, with no risk of miss understanding. One limitation of our approach could be that each group has the same variance structure rather than a variance-covariance structure among time points.

Multiple indices have been described to identify clusters in Latent Class Analysis. To date, there is not common acceptance of the best criteria for determining the number of classes in mixture modeling, despite various suggestions [32]. Among them, several simulation studies indicated that the BIC performs well [33,34]. More recently, Nylund et al. found that the Bootstrap Likelihood ratio test (BLRT) presented the best performances and that the second best index was the BIC. They also showed that the BLRT, does have its disadvantages such as the increased computation time [32], but this should not affect the fact that it is more powerful and accurate. Finally, the authors strongly recommended using the BIC as the first step. Here, we followed this recommendation, together with the criteria proposed by Andruff [15] based on the percentage of population included in each group. However, despite the fact that they

are widely used in the literature [22,27,35], as they are partly based on the percentage of the sample within the trajectories, this choice is somewhat subjective. To take this point into account, we also used the Gateaux derivative method to determine the number of groups required to achieve the largest possible likelihood. This method has confirmed our choice of two trajectories for the changes in haemoglobin level, suggesting that the three-point solution may represent a local maximum of the log-likelihood.

Finally, to take into account the complexity and the possibilities of these population mixture models, it could be of great interest to pursue this exploration by using more indices to define the number of clusters and by adding a variance-covariance structure among time points. This could be proposed by using and comparing several modelling mixture methods in a near future for such complex data.

In the present study, maternal anaemia at delivery seems to be predictive of belonging to the low trajectory but has no direct effect on the changes in haemoglobin level over time. The association we found between the effect of maternal anaemia at delivery, and the absence of direct effect on the evolution of haemoglobin level during infancy, could apparently seem contradictory. Indeed this trajectory loses Hb over time, whereas the higher trajectory does not. One possible explanation could be that the association between maternal anaemia at delivery and haemoglobin level during infancy could be (at least partly) mediated through newborn anaemia. Indeed, inserting both maternal anaemia and newborn anaemia in the same model could result in collinearity, which could explain the apparent absence of effect of maternal anaemia on children haemoglobin evolution. However, maternal anaemia remained not significantly associated ( $p=0.14$ ) with the evolution of children haemoglobin progression even when included in a multivariate model without newborn anaemia. Furthermore, using the Bayesian Informative Criterion as criteria, the model with newborn anaemia was selected when compared to the model with maternal anaemia. Using haemoglobin level of mother at

delivery as quantitative variable did not change these results (data not shown). Hence, this pattern of results can be interpreted as the fact that maternal anaemia stops having a negative effect at birth but that children born of an anaemic mother are probably disadvantaged during infancy. The mother's anaemia could also be interpreted as an indirect marker of a woman's and/or a family's disadvantage because of poor socioeconomic status that could be associated with inadequate nutrition during infancy. The importance of adequate nutrition is illustrated by the positive effect of nutritional status on the haemoglobin progression during infancy.

The mechanisms by which a newborn's anaemia at birth can affect haemoglobin level over time have not yet been clearly described. A period of rapid growth, especially during infancy, results in substantial demands for iron. In developed countries where breastfeeding is not common, mothers often use children formula fortified with iron in order to supplement the children's needs. This is not necessary with breastfeeding, which provides high concentrations of highly absorbable iron. In developing countries where all children are routinely breastfed during the first year of life, we could expect that breastfeeding compensates iron requirements and corrects anaemia. However, the interactions between iron intakes and stores are complex and it has been shown that exclusive breastfeeding at 4 months of life was protective of iron status and of iron deficiency-anaemia at 6 months, compared with children receiving early complementary food [36]. In our study population, breastfeeding is far from exclusive, and at 4 months of age only 18% of children were exclusively breastfed (data not shown). Moreover, the mothers from our sample are could be iron depleted. Put together our results show that both maternal anaemia at delivery and newborn anaemia at birth are associated at different level, with haemoglobin progression in children during the first 18 months of age. These two risk factors could interact with each other and furthermore interact with feeding practices and have to be taken into account to define preventive strategy.



In this study, placental malaria was associated with a low haemoglobin level in the first 18 months of life. This association was not significant during our first analysis [11]. This association has already been described by Redd *et al.* (1994), who have shown that placental malaria was associated with anaemia around 2 months of age [37]. In cases of iron deficiency during pregnancy, expression of placental transport proteins for iron increases, allowing a greater transport of iron to the foetus [38,39]. In case of placental malaria, a thickening of the trophoblastic basement membrane has been described, damaging the placenta's active transfer capacity [40]. It can therefore be assumed that placental malaria reduces the transfer of iron from the mother to her children, increasing the newborn's iron deficiency. However, a more indirect explanation can be proposed that is consistent with the effect of placental malaria on haemoglobin level over time. Indeed, some authors have hypothesized that placental malaria is associated with an immune tolerance phenomenon [10,41]. Children born of infected placenta are more susceptible to malaria infection. As both the number of malaria attacks during the follow-up and placental malaria were independently significantly associated with the level of haemoglobin in the first 18 months, we can argue that children born of mothers with placental malaria are more susceptible not only to malaria but also to other infections, as we have recently shown in this same cohort [42]. These children, frailer and more often infected, have a higher risk of developing anaemia.

Our study also described a negative effect of sickle cell trait among trajectories. As this result was obtained during multivariate analysis with both variables (i.e. malaria and sickle cell) we can argue that the sickle cell trait effect is independent of the protection against clinical malaria classically described [43,44]. Our hypothesis is that this effect could be explained by an intrinsic role of sickle cell trait in anaemia, even for heterozygous individuals. To our knowledge, one study has described an association between anaemia and sickle cell trait [45] but this association has not been confirmed to date. In addition, it has been described that

haematuria, both microscopic and macroscopic, is one of the most frequent complication of sickle cell trait [46-48]. In our sample no macroscopic haematuria was found and we did not search a microscopic haematuria. However although we could hypothesize that children with sickle cell trait experienced microscopic haematuria, we cannot explain clearly the different effect of this variable in each group.

According with our protocol the children found anaemic were treated as proposed by the recommendation of the Ministry of Public Health of the Republic of Benin. They received haematinics which was prescribed by the nurses working in the public dispensaries of the area. The team involved in the follow-up was different and the population was monitored equivalently and independently of the Hb levels or of they life conditions. Furthermore, as the families involved in this program were very similar we do not think that a “cohort effect” could represent a limitation of the study.

In conclusion, this study, using latent class analysis models, shows that the occurrence of a malaria attack during follow-up, male gender, sickle cell trait carriage, children living in a polygamous family, children with good feeding practices, newborn anaemia, placental malaria were associated with haemoglobin level in children and that maternal anaemia was a predictor of a low haemoglobin level trajectory in children in their first 18 months of life. Latent class approach could be applied more frequently to analyse longitudinal data when the existence of groups with distinct pattern of evolution is suspected. This assumption cannot be adequately explored with mixed models. The prevalence of anaemia during pregnancy and in the newborn is very high in developing countries, 40% and 61%, respectively, in our study in Benin. There is a need to increase actions that target the prevention of maternal anaemia as well as placental malaria and newborn anaemia.

### Acknowledgements

We thank the entire staff of the three maternity hospitals (Avamé, Cada, Gare), and the study's participants. We gratefully thank our field team and the Centre National Hospitalo-Universitaire of Cotonou who carried out the cohort's follow-up and the medical care.

### References

1. World Health Organization (2008) Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia Geneva, Switzerland: World Health Organization.
2. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, de Benoist B (2009) Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public health nutrition* 12: 444-454.
3. Hamalainen H, Hakkarainen K, Heinonen S (2003) Anaemia in the first but not in the second or third trimester is a risk factor for low birth weight. *Clin Nutr* 22: 271-275.
4. Lewy A, Fraser D, Katz M, Mazor M, Sheiner E (2005) Maternal anemia during pregnancy is an independent risk factor for low birthweight and preterm delivery. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 122: 182-186.
5. Shobeiri F, Begum K, Nazari M (2006) A prospective study of maternal hemoglobin status of Indian women during pregnancy and pregnancy outcome. *Nutrition Research* 26: 209-213.
6. de Pee S, Bloem M, Sari M, Kiess L, Yip R, et al. (2002) The high prevalence of low hemoglobin concentration among Indonesian infants aged 3-5 months is related to maternal anemia. *Journal of Nutrition* 132: 2215.
7. Kilbride J, Baker TG, Parapia LA, Khoury SA, Shuqaidef SW, et al. (1999) Anaemia during pregnancy as a risk factor for iron-deficiency anaemia in infancy: a case-control study in Jordan. *International Journal of Epidemiology* 28: 461-468.
8. Preziosi P, Prual A, Galan P, Daouda H, Boureïma H, et al. (1997) Effect of iron supplementation on the iron status of pregnant women: consequences for newborns. *The American journal of clinical nutrition* 66: 1178-1182.
9. Le Port A, Cottrell G, Martin-Prevel Y, Migot-Nabias F, Cot M, et al. (2012) First malaria infections in a cohort of infants in Benin: biological, environmental and genetic determinants. Description of the study site, population methods and preliminary results. *BMJ Open* 2: e000342.
10. Le Port A, Watier L, Cottrell G, Ouédraogo S, Dechavanne C, et al. (2011) Infections in Infants during the First 12 Months of Life: Role of Placental Malaria and Environmental Factors. *PLoS ONE* 6: e27516.
11. Koura GK, Ouédraogo S, Le Port A, Watier L, Cottrell G, et al. (2011) Anaemia during pregnancy: impact on birth outcome and infant haemoglobin level during the first 18 months of life. *Tropical Medicine & International Health*: 10.1111/j.1365-3156.2011.02932.x.
12. Hagenaars JA, McCutcheon AL (2002) *Applied Latent Class Analysis*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
13. McCutcheon AL (1987) *Latent class analysis*. Beverly Hills, CA: Sage Publications.
14. WHO/UNICEF (2010) *Indicators for assessing infant and young child feeding practices - Part II : Measurement*.
15. Andruff H, Carraro N, Thompson A, Gaudreau P, Louvet B (2009) Latent class growth modelling: a tutorial. *Tutorials Quantitative Methods Psychol* 5: 11-24.

16. Nagin DS (2005) *Group-based Modeling of Development*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
17. Lindsay B, Clogg CC, Grego J (1991) Semiparametric Estimation in the Rasch Model and Related Exponential Response Models, Including a Simple Latent Class Model for Item Analysis. *Journal of the American Statistical Association* 86: 96-107.
18. Rabe-Hesketh S, Skrondal A, Pickles A (2004) *GLLAMM Manual*. UC Berkeley Division of Biostatistics Working Paper Series Working Paper 160. <http://www.bepress.com/ucbbiostat/paper160>
19. Skrondal A, Rabe-Hesketh S (2004) *Generalized Latent Variable Modeling: Multilevel, Longitudinal and Structural Equation Models*. Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC.
20. Rabe-Hesketh S, Skrondal A (2008) *Multilevel and longitudinal modeling using Stata*. College Station, TX: Stata Press.
21. McElroy PD, Lal AA, Hawley WA, Bloland PB, Kuile FO, et al. (1999) Analysis of repeated hemoglobin measures in full-term, normal birth weight Kenyan children between birth and four years of age. III. The Asemobo Bay Cohort Project. *Am J Trop Med Hyg* 61: 932-940.
22. Barker ED, Seguin JR, White HR, Bates ME, Lacourse E, et al. (2007) Developmental Trajectories of Male Physical Violence and Theft: Relations to Neurocognitive Performance. *Arch Gen Psychiatry* 64: 592-599.
23. Bernat DH, Erickson DJ, Widome R, Perry CL, Forster JL (2008) Adolescent Smoking Trajectories: Results from a Population-Based Cohort Study. *Journal of Adolescent Health* 43: 334-340.
24. Hoeve M, Blokland A, Dubas J, Loeber R, Gerris J, et al. (2008) Trajectories of Delinquency and Parenting Styles. *Journal of Abnormal Child Psychology* 36: 223-235.
25. Li C, Goran MI, Kaur H, Nollen N, Ahluwalia JS (2007) Developmental Trajectories of Overweight During Childhood: Role of Early Life Factors[ast]. *Obesity* 15: 760-771.
26. Broadbent JM, Thomson WM, Poulton R (2008) Trajectory Patterns of Dental Caries Experience in the Permanent Dentition to the Fourth Decade of Life. *Journal of Dental Research* 87: 69-72.
27. Østbye T, Malhotra R, Landerman LR (2011) Body mass trajectories through adulthood: results from the National Longitudinal Survey of Youth 1979 Cohort (1981–2006). *International Journal of Epidemiology* 40: 240-250.
28. Nagin DS, Tremblay RE (2005) Developmental trajectory groups: fact or a useful statistical fiction? *Criminology* 43: 873-904.
29. Nagin DS, Odgers CL (2010) Group-Based Trajectory Modeling in Clinical Research. *Annual Review of Clinical Psychology* 6: 109-138.
30. Jones BL, Nagin DS, Roeder K (2001) A SAS Procedure Based on Mixture Models for Estimating Developmental Trajectories. *Sociological Methods & Research* 29: 374-393.
31. Muthén B (2004) Latent variable analysis. Growth Mixture Modeling and Related Techniques for Longitudinal Data. In: Kaplan D, editor. *Handbook of quantitative methodology for the social sciences* Newbury Park: CA: Sage. pp. 345-368.
32. Nylund KL, Asparouhov T, Muthen BO (2007) Deciding on the Number of Classes in Latent Class Analysis and Growth Mixture Modeling: A Monte Carlo Simulation Study. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* 14: 535-569.
33. Roeder K, Wasserman L (1997) Practical Bayesian density estimation using mixtures of normals. *Journal of the American Statistical Association*: 894-902.
34. Jedidi K, Jagpal HS, DeSarbo WS (1997) Finite-mixture structural equation models for response-based segmentation and unobserved heterogeneity. *Marketing Science*: 39-59.
35. Mora PA, Bennett IM, Elo IT, Mathew L, Coyne JC, et al. (2009) Distinct trajectories of perinatal depressive symptomatology: evidence from growth mixture modeling. *American journal of epidemiology* 169: 24-32.

36. Van Rheenen P, De Moor L, Eschbach S, Brabin B (2007) A cohort study of haemoglobin and zinc protoporphyrin levels in term Zambian infants: effects of iron stores at birth, complementary food and placental malaria. *European journal of clinical nutrition* 62: 1379-1387.
37. Redd SC, Wirima JJ, Steketee RW (1994) Risk Factors for Anemia in Young Children in Rural Malawi. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 51: 170-174.
38. Barrett J, Whittaker P, Williams J, Lind T (1994) Absorption of non-haem iron from food during normal pregnancy. *British Medical Journal* 309: 79.
39. Gambling L, Danzeisen R, Gair S, Lea RG, Charania Z, et al. (2001) Effect of iron deficiency on placental transfer of iron and expression of iron transport proteins in vivo and in vitro. *Biochemical Journal* 356: 883-889.
40. Yamada M, Steketee R, Abramowsky C, Kida M, Wirima J, et al. (1989) Plasmodium Falciparum Associated Placental Pathology: A Light and Electron Microscopic and Immunohistologic Study. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 41: 161-168.
41. Mutabingwa TK, Bolla MC, Li J-L, Domingo GJ, Li X, et al. (2005) Maternal Malaria and Gravity Interact to Modify Infant Susceptibility to Malaria. *PLoS Med* 2: e407.
42. Idjradinata P, Pollitt E (1993) Reversal of developmental delays in iron-deficient anaemic infants treated with iron. *Lancet* 341: 1-4.
43. Williams TN, Mwangi TW, Wambua S, Alexander ND, Kortok M, et al. (2005) Sickle Cell Trait and the Risk of Plasmodium falciparum Malaria and Other Childhood Diseases. *Journal of Infectious Diseases* 192: 178-186.
44. Gong L, Maiteki-Sebuguzi C, Rosenthal PJ, Hubbard AE, Drakeley CJ, et al. (2012) Evidence for both innate and acquired mechanisms of protection from Plasmodium falciparum in children with sickle cell trait. *Blood* 119: 3808-3814.
45. Evans RW (1945) Anaemia associated with the sickle cell trait in British West African natives. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 39: 207-220.
46. Tsaras G, Owusu-Ansah A, Boateng FO, Amoateng-Adjepong Y (2009) Complications Associated with Sickle Cell Trait: A Brief Narrative Review. *The American Journal of Medicine* 122: 507-512.
47. Sears DA (1978) The morbidity of sickle cell trait: a review of the literature. *Am J Med* 64: 1021-1036.
48. Kiryluk K, Jadoon A, Gupta M, Radhakrishnan J (2007) Sickle cell trait and gross hematuria. *Kidney Int* 71: 706-710.

**Table 1** Table of descriptive variables of the two latent groups

	High trajectory	Low trajectory
Birth weight, mean (SD)	2994.8	2951.6
Low Birth weight	32 (7.8%)	18 (13.6%)
Preterm birth	43 (10.5%)	12 (9.2%)
Hemoglobin rate, mean (SD)	14.6 (1.9)	14.2 (1.9)
Newborn's anemia	143 (35.5%)	49 (37.7%)
Children's gender (Female)	191 (46.8%)	81 (61.8%)
Sickle cell trait (carrier or not of AS variant)	80 (20.1%)	32 (26.0%)
Number of malaria attacks during the first 18 months		
0	147 (36%)	36 (27.5%)
1 to 2	176 (43%)	61 (46.5%)
> 2	85 (21%)	34 (26%)

**Table 2** Risk factors for children's haemoglobin progression from 3 to 18 months of life in each latent class identified by the Latent Class Analysis, Benin, 2007-2010

Covariates		Estimation	Standard Errors	<i>p</i> -value
Intercept		10.17	0.11	< 10 <sup>-3</sup>
Maternal anaemia	(Reference = No)			
	Yes	-0.07	0.06	0.275
Newborn anaemia	(Reference = No)			
	Yes	-0.18	0.06	0.007
Placental malaria	(Reference = No)			
	Yes	-0.20	0.09	0.039
Number of children's malaria attack	(Reference = 0)			
	1 to 2	-0.15	0.07	
	> 2	-0.26	0.08	0.005
Children's gender	(Reference = Female)			
	Male	-0.15	0.06	0.012
Maternal marital status	(Reference = Monogamous family)			
	Polygamous family	0.17	0.07	0.01
Sickle cell trait	(Reference = No)			
	Yes	-0.27	0.07	< 10 <sup>-3</sup>
Maternal age	(Reference = Age ≤ 20)			
	21-25	0.25	0.10	
	26-30	0.28	0.10	
	≥ 30	0.26	0.10	0.013
Children's feeding in the first 18 months		0.17	0.06	0.003

**Table 3** Effects of covariates among trajectories.

Variable	High trajectory	low trajectory	<i>p-value</i> *
Newborn anaemia	-0.02	0.04	0.589
Placental malaria	-0.0003	0.08	0.543
Number of children's malaria attack	-0.0248	0.001	0.988
Children's gender	-0.003	0.05	0.458
Maternal marital status	0.12	0.07	0.36
Sickle cell trait	-0.037	-0.25	0.023
Maternal age	-0.046	0.08	0.25
Children's feeding in the first 18 months	0.087	0.095	0.326

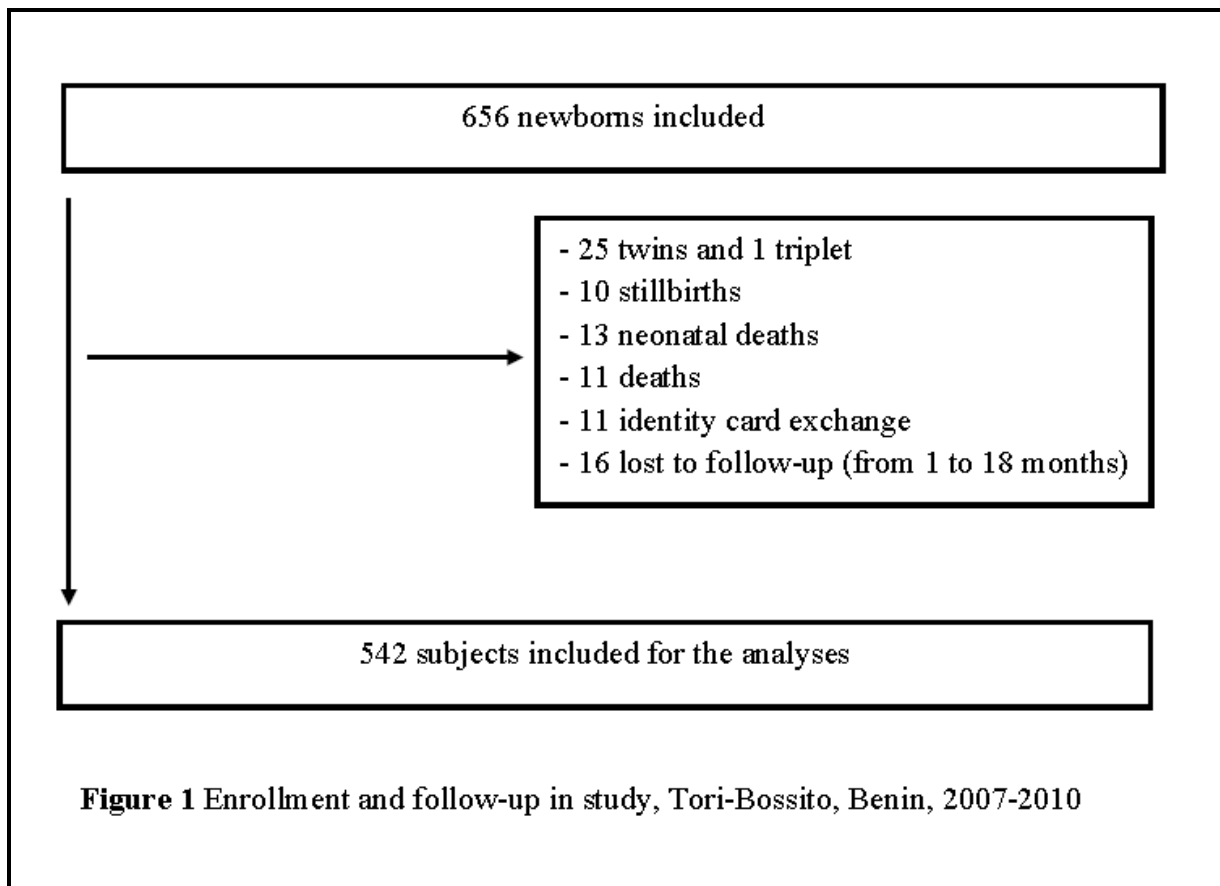
\* The null hypothesis is that the covariate has the same effect for each trajectory. A significant *p-value* is consistent with a different effect of the covariate for each group

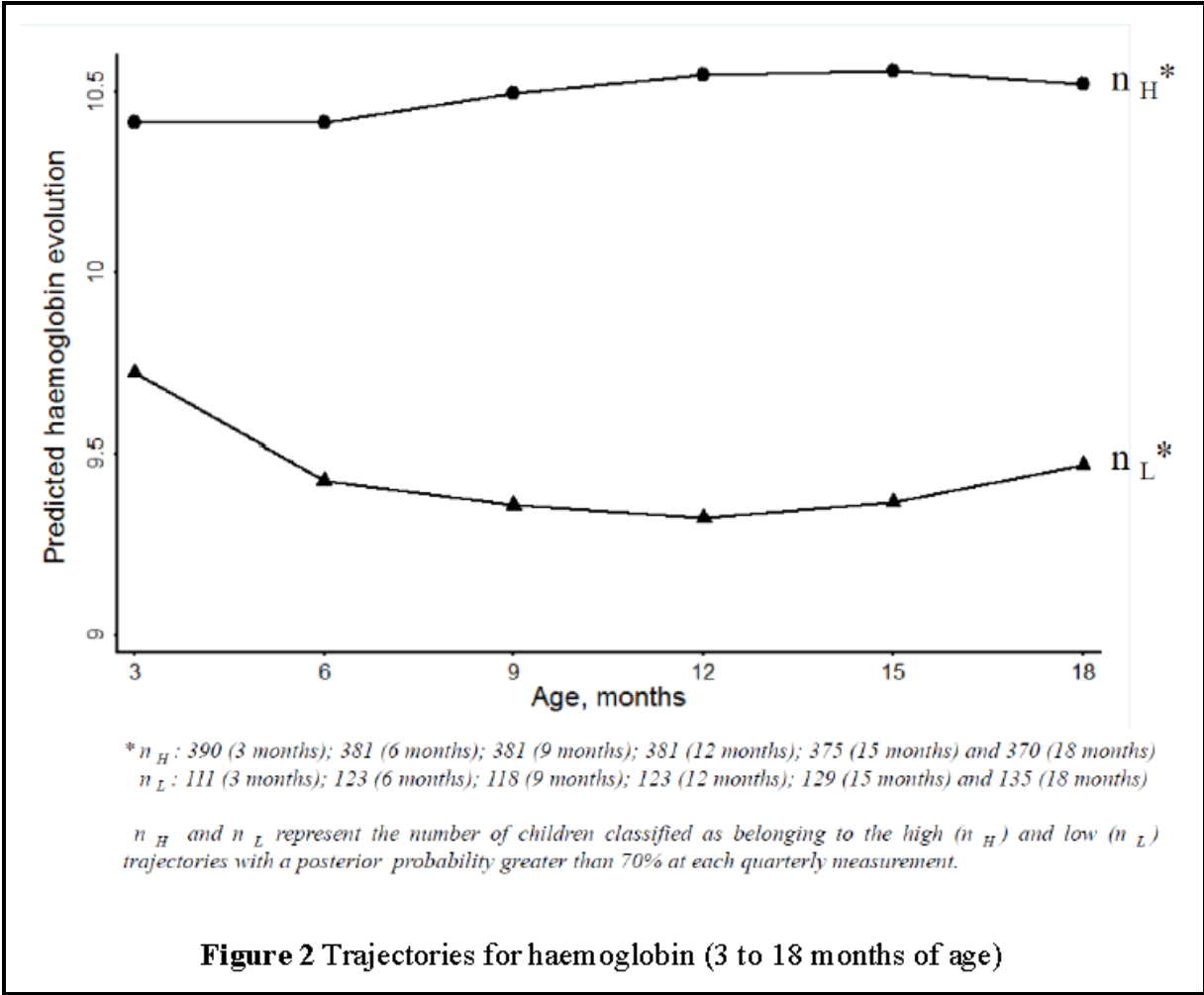


**Figure legends**

**Figure 1** Enrollment and follow-up in study, Tori-Bossito, Benin, 2007-2010

**Figure 2** Trajectories for haemoglobin (3 to 18 months of age)





## Troisième partie : Projet TOVI

Cette troisième partie comportera deux chapitres.

- Dans le premier chapitre je présenterai les grandes lignes du projet TOVI dont l'objectif général est d'étudier l'effet de l'anémie maternelle sur le développement cognitif de l'enfant à 12 mois. Je présenterai la problématique du projet, les grandes étapes du développement de l'enfant et les facteurs qui peuvent le perturber, puis le contexte et la mise en place de l'étude. Comme nous l'avons mentionné précédemment le projet TOVI a connu un très important retard dans sa mise en place et, au moment où je rédige ce mémoire, certaines données sont encore en cours de collecte. Cependant, dans la mesure où cette étude est la première du genre au Bénin et qu'elle utilise des outils mis en place essentiellement dans les pays développés, il est indispensable de les tester avant l'analyse finale. Les résultats que je présenterai dans ce mémoire correspondent à l'étude de ces outils et feront l'objet du chapitre suivant.
- Le second chapitre sera donc consacré aux résultats d'une enquête préliminaire qui comporte deux objectifs.
  - o Evaluer si les scores dérivés du Mullen Scales of Early Learning (MSEL) utilisés dans notre enquête sont associés aux facteurs de risque socioéconomiques et maternels connus d'un mauvais développement de l'enfant à 1 an. La question ici est donc de savoir si le MSEL peut identifier les enfants à risque de mauvais développement psychomoteur et donc être utilisé dans notre population béninoise comme *mesure* du développement de l'enfant.

- Etudier la validité d'un sous ensemble du Ten Questions Questionnaire (TQ) chez les enfants âgés de un an, comme outil simple de *dépistage* d'une déficience du développement.

# 1. Le projet TOVI

## 1.1. Problématique du projet TOVI

L'anémie maternelle est un problème majeur de santé publique, compte tenu de sa prévalence, de ses étiologies multiples mais aussi de ses nombreuses conséquences. A notre connaissance, très peu d'études, se sont intéressées à la relation entre l'anémie maternelle et le taux d'hémoglobine de l'enfant à la naissance et au cours de sa première année de vie. Dans le premier projet de ma thèse, j'ai abordé cette problématique et j'ai montré dans cette étude d'une part, que l'anémie maternelle est un facteur de risque d'anémie du nouveau-né et, d'autre part, que cette anémie du nouveau-né aurait un effet néfaste sur le taux d'hémoglobine du jeune enfant (Koura *et al.* 2012). Nous pouvons de plus émettre l'hypothèse que la carence martiale de la mère pourrait jouer un rôle important, non seulement dans la survenue de sa propre anémie durant la grossesse mais également dans ses conséquences chez le nouveau-né et le jeune enfant.

Les effets néfastes de l'anémie par carence en fer de l'enfant sur son développement sont bien connus. En revanche, il existe peu d'études sur les conséquences de cette anémie chez la mère pendant la grossesse sur le développement de l'enfant. Quelques auteurs ont montré que l'existence d'un faible taux de fer sérique chez le nouveau-né avait un impact sur son développement cognitif (Idjradinata and Pollitt 1993; Pollitt 1993). Aux États-Unis, Tamura *et al.* ont retrouvé une association entre le statut en fer du nouveau-né à la naissance et les scores de développement mental et psychomoteur de l'enfant à cinq ans (Tamura *et al.* 2002). A notre connaissance une seule étude s'est intéressée à la relation entre l'anémie maternelle pendant la grossesse et le développement psychomoteur de l'enfant. Dans cette étude réalisée aux États-Unis, aucune association n'a été retrouvée entre les données hématologiques de la

mère et le développement psychomoteur de l'enfant (Vaughn *et al.* 1986). Malgré ce résultat négatif qui pourrait s'expliquer par un problème de puissance (taille de l'échantillon = 44 couples mère-enfants), il nous paraît important de nous intéresser à cette question dans les pays du sud. En effet, les niveaux de prévalence très élevés de l'anémie maternelle et du nouveau-né dans les pays en voie de développement, respectivement 40% et 61% dans le projet TORI (Koura *et al.* 2012), soulignent l'importance de cette problématique du point de vue quantitatif, et les répercussions qu'elle peut avoir sur leur développement économique.

Le projet TOVI a donc été mis en place sur ces arguments et son objectif principal est d'étudier les conséquences de l'anémie maternelle pendant la grossesse sur le développement psychomoteur de l'enfant à douze mois de vie. Mais comment se définit le développement de l'enfant ? Quels sont les domaines de ce développement qui nous intéressent dans le présent projet ? Quels sont les facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant ? Voilà quelques questions auxquelles nous allons répondre dans la section suivante.

## **1.2. Quelques généralités sur le développement de l'enfant**

### **1.2.1. Définition**

Le développement de l'être humain est défini dans le Larousse Médical comme l'ensemble des phénomènes participant à sa transformation progressive de la conception à l'âge adulte. Le développement de l'enfant relève d'une part de la croissance en poids et en taille et d'autre part de la maturation, c'est-à-dire du perfectionnement des structures et des fonctions de l'organisme (Larousse 2012).

Dans un rapport publié en 2010 par plusieurs organismes internationaux (UNICEF, OMS, UNESCO, UNFPA, PNUD, ONUSIDA, PAM, Banque Mondiale), le développement de

l'enfant est défini comme tous les changements qui se produisent à mesure que l'enfant grandit et se développe, l'objectif étant qu'il soit en bonne santé, éveillé sur le plan mental, équilibré sur le plan affectif, compétent sur le plan social et prêt à acquérir des connaissances (WHO *et al.* 2010).

### **1.2.2. Les grandes étapes du développement de l'enfant**

Quelle que soit sa définition, le développement de l'enfant est un processus global, continu, suivant la même séquence chez tous les enfants. Cependant chaque enfant étant unique, des différences peuvent s'observer. Le développement de l'enfant se manifeste dans deux grands domaines que sont le domaine physique et le domaine psychomoteur (WHO *et al.* 2010).

- Le développement physique porte sur l'évolution de la taille et du poids de l'enfant, mais aussi sur sa maturation osseuse, sa maturation dentaire et sa maturation pubertaire de la naissance à l'âge adulte.
- Le domaine psychomoteur comprend le développement moteur et le développement sensoriel, intellectuel, affectif et social. Il faut préciser que le développement intellectuel est une partie du développement cognitif de l'enfant et il inclut également la notion d'acquisition du langage et de l'expression corporelle. Le tableau 22 présente les étapes clés du développement psychomoteur de l'enfant de la naissance à 6 ans de vie.

Dans le présent projet, je ne m'intéresserai pas au développement physique de l'enfant mais plutôt à son développement psychomoteur à 12 mois de vie.



**Tableau 22** : Les étapes clés du développement psychomoteur de l'enfant de 0 à 6 ans

DEVELOPPEMENT PYSCHOMOTEUR DE L'ENFANT : les étapes clés				
Age	Motricité	Préhension	Relationnel	Langage
Naissance	Hypertonie des membres			
1 mois	Hypotonie axiale		<b>Sourire réponse</b>	
2 mois	Réflexes archaïques			Vocalise
3 mois	<b>Tenue de Tête</b>	Secoue un hochet Main attirée par objet	Rit aux éclats	Gazouille
4 mois				
5 mois				
6 mois	Assis avec appui	Attrape un objet <b>pince cubito-palmaire</b>	Reconnaît les visages familiers	Babille
7 mois				
8 mois	<b>Assis sans appui Debout avec appui 4 pattes</b>	Passe les objets d'une main à l'autre <b>Pince pouce-index</b>	<b>Peur de l'étranger</b>	Sons bisyllabiques
9 mois				
10 mois				<b>Fait « au revoir », « bravo »</b>
11 mois				
12 mois	Debout sans appui	Remet le rond dans son trou	Donne l'objet	5-10 mots
18 mois	<b>Marche</b>			<b>JARGON 50mots</b>
24 mois	Court Monte les escaliers	Superpose plusieurs cubes	Obéit aux ordres simples	Associe deux mots Dit son prénom
3 ans		Trace un trait vertical <b>Latéralité acquise</b>		<b>Dit « je »</b> Fait des petites phrases
4 ans	Saute	Copie un cercle	Jeux collectifs	
5 ans	Marche sur les talons	Copie un carré		Début de l'écrit
6 ans		Copie un losange		Début de lecture

Source : <http://le-portfolio.blogspot.fr/2010/11/besoin-nutritionnels-du-nourisson.html>

### **1.2.3. Facteurs de risque associés à un trouble du développement de l'enfant**

Afin que le développement de l'enfant soit optimal, un certain nombre de conditions doivent être réunies sinon certaines facultés de développement de l'enfant risquent d'être compromises. Dans la suite du document les « facteurs de risque associés à un trouble du développement » seront dénommés « facteurs de risque de mauvais développement ». Les différents facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant sont nombreux, incluant notamment les conditions socio culturelles ainsi que la pauvreté (Walker *et al.* 2007). Dans le présent manuscrit nous avons adopté la classification proposée par Walker *et al.* pour les différents facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant. Ces facteurs peuvent être regroupés en deux catégories à savoir les facteurs biologiques et les facteurs psychologiques principalement dans les pays à revenus intermédiaires et les pays à faibles revenus. (Walker *et al.* 2007).

#### **1.2.3.1. Les facteurs biologiques**

Ils regroupent les causes nutritionnelles, les causes infectieuses et les expositions environnementales.

##### **1.2.3.1.1. Les causes nutritionnelles**

###### ***Le Retard de Croissance Intra-utérin (RCIU) et le faible poids de naissance***

Le faible poids de naissance représente un important problème de santé publique dans les pays en voie de développement. Deux grands mécanismes physiopathologiques sont reconnus comme induisant le faible poids de naissance : la prématurité et le retard de croissance intra-utérin. La majorité des faibles poids de naissance dans les pays en voie de développement ont

pour cause le retard de croissance intra-utérin, alors que dans les pays industrialisés c'est la prématurité qui est le plus souvent incriminée (Menendez *et al.* 2000b; UNACC 2000).

Les facteurs de risque du faible poids de naissance sont nombreux et peuvent être liés au fœtus ou à la mère (consommation d'alcool, tabac, drogue, hypertension artérielle, pré-éclampsie, anémie, etc.). Par contre dans les pays du sud les facteurs de risque diffèrent un peu et sont essentiellement associés à des troubles nutritionnels maternels.

Le RCIU a été décrit dans plusieurs études comme associé au développement de l'enfant. En 1984, Villar *et al.* ont suivi sur une population de 205 nouveau-nés du Guatemala tous nés à terme. Parmi ces enfants, 146 étaient nés avec un poids normal et 59 présentaient un RCIU. Ces nouveau-nés ont été suivis jusqu'à l'âge de 3 ans (Villar *et al.* 1984). Le développement psychomoteur des enfants a été évalué à 6, 15, 24 mois puis à 3 ans. Plusieurs outils ont été utilisés dont le Composite Infant Scale. D'une façon générale, les nourrissons ayant un RCIU avaient les scores les plus bas pour les différentes échelles de l'outil utilisé ainsi que pour son score composite à chaque évaluation.

En 1998, dans une étude de cohorte, Grantham McGregor *et al.* ont également comparé le développement psychomoteur de deux groupes de nourrissons à 6 puis à 12 mois de vie. Un groupe était composé de 131 enfants nés avec un faible poids de naissance et le second groupe d'enfants nés avec un poids normal. L'outil utilisé pour évaluer ce développement était l'échelle de Bayley. A 6 mois, l'index de développement psychomoteur était significativement plus faible chez les enfants nés avec un faible poids de naissance (7,3 points plus bas,  $P < 0,001$ ). A 12 mois, le même constat a été fait (Grantham-McGregor *et al.* 1998). En Jamaïque, un essai clinique a été réalisé avec deux phases d'intervention. Deux groupes ont été constitués, les enfants nés à terme avec un poids normal et les enfants avec un faible poids de naissance. L'intervention proposée à 7 semaines de vie puis plus tard de 7 à 24 mois

de vie a consisté à améliorer la relation entre la mère et son enfant. Il a été décrit chez les enfants de 7 semaines nés avec un faible poids de naissance un retard dans la capacité à résoudre des problèmes (Gardner *et al.* 2003). Ces mêmes enfants avaient les scores de développement les plus bas à 15 mois puis à 24 mois (Walker *et al.* 2004). D'autres études plus récentes ont décrit des résultats similaires chez des nourrissons chez qui un RCIU a été dépisté (Edmonds *et al.* 2010; Morsing *et al.* 2011).

### ***Etat nutritionnel de l'enfant (malnutrition)***

Un enfant mal nourri durant ses deux premières années de vie verra sa croissance et son développement ralentis (WHO *et al.* 2010). Selon l'UNESCO et plusieurs autres organismes internationaux ce retard ne peut être rattrapé par la suite et l'enfant en souffrira toute sa vie. Il a été largement décrit une association entre l'état de nutrition de l'enfant au cours de ses premières années de vie avec les problèmes cognitifs, la réussite scolaire ou l'abandon des classes. Ainsi en 2002, dans une étude de cohorte, Berkman *et al.* ont suivi 239 enfants péruviens de la naissance à l'âge de 2 ans. Huit ans après, ils ont évalué le développement cognitif de 210 enfants qui avaient un suivi supérieur à 6 mois. Les enfants avec un antécédent de malnutrition sévère lors de la 2<sup>ème</sup> année de vie avaient plus souvent un QI plus bas (Berkman *et al.* 2002). Les enfants malnutris chez qui une stimulation précoce de la relation mère enfant a été effectuée avaient des meilleurs scores pour leur quotient intellectuels ainsi que pour les autres scores de développement cognitif comparés aux enfants malnutris n'ayant pas reçu cette intervention (Walker *et al.* 2005). Plus récemment Crookston a aussi montré les conséquences de l'état nutritionnel de l'enfant sur son développement cognitif (Crookston *et al.* 2011).

### ***La carence en iode***

Il est clairement admis que la carence en iode a un effet sur le développement cognitif de l'enfant. En 2005, dans une méta analyse ayant inclus 12291 enfants âgés de moins de 16 ans, les auteurs ont mis en évidence une réduction du quotient intellectuel de 12,5 chez les enfants résidant en zone de carence en iode par rapport aux enfants résidant en zone non carencielle (Qian *et al.* 2005). Dans cette même méta analyse la supplémentation en iode pendant la période prénatale et postnatale augmentait le score du quotient intellectuel par rapport à une absence de supplémentation. La carence modérée en iode serait également associée à de faibles scores de développement cognitif de l'enfant (Gordon *et al.* 2009).

### ***La carence en fer et les autres facteurs nutritionnels***

J'ai décrit dans la première partie de ce document les conséquences de l'anémie par carence martiale sur le développement de l'enfant.

D'autres facteurs nutritionnels ont été retrouvés. Il s'agit de l'allaitement maternel (Anderson, Johnstone, and Remley 1999; Quigley *et al.* 2012). L'effet de la carence en zinc n'a pas clairement été démontré. Cependant la supplémentation en zinc associée à une stimulation d'enfants jamaïcains serait bénéfique pour le développement moteur et cognitif des enfants (Gardner *et al.* 2005).

#### **1.2.3.1.2. Les causes infectieuses**

Oberhelman *et al.* retrouvaient une association entre les infections helminthiques intestinales et les scores de développement moteur et cognitif des enfants. Les helminthiases les plus fréquentes étaient l'ascaridiose et la trichocéphalose (Oberhelman *et al.* 1998). Nous pouvons aussi citer l'infection par le VIH (Brown, Lourie, and Pao 2000), les maladies diarrhéiques

(Guerrant *et al.* 1999; Niehaus *et al.* 2002) et le paludisme (Boivin 2002; Carter *et al.* 2006; Carter *et al.* 2005; Vitor-Silva *et al.* 2009).

#### **1.2.3.1.3. Les causes environnementales**

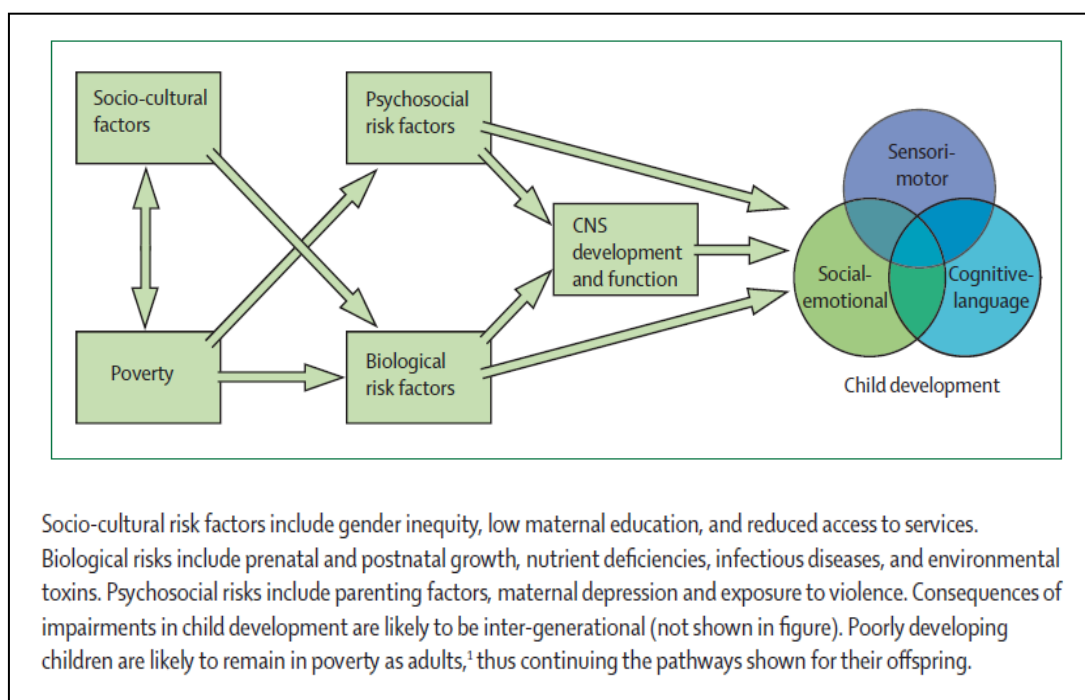
Leur effet sur le développement cognitif de l'enfant est secondaire le plus souvent à une exposition chronique. Il peut s'agir d'une exposition au plomb (Factor-Litvak *et al.* 1999), à l'arsenic (Wasserman *et al.* 2004), au manganèse (Wasserman *et al.* 2006) ou au méthylmercure (Davidson *et al.* 1998).

#### **1.2.3.2. Les facteurs psychologiques**

Ces facteurs peuvent être directement liés aux parents ou à des contextes particuliers. Plusieurs études expérimentales ont montré que les causes liées aux parents peuvent se résumer aux stimulations cognitives de l'enfant ainsi qu'aux opportunités d'apprentissage qui lui sont offertes (Gardner *et al.* 2003; Kagitcibasi, Sunar, and Bekman 2001). Il a été aussi décrit un impact de la sensibilité et du degré de responsabilité du parent sur le développement de son enfant (Cooper *et al.* 2002; Tomlinson, Cooper, and Murray 2005; Wendland-Carro, Piccinini, and Millar 1999). Pour les causes contextuelles il peut s'agir soit d'une dépression maternelle (Galler *et al.* 2000; Patel, DeSouza, and Rodrigues 2003) ou d'une exposition de l'enfant à différentes sortes de violence (guerre, massacres ethniques). Ainsi, en Afrique du Sud les enfants qui avaient été exposés à des violences communautaires étaient plus souvent agressifs et présentaient plus souvent des difficultés d'attention (Liddell *et al.* 1994; Magwaza *et al.* 1993). Des résultats similaires ont été décrits chez des enfants israéliens (Laor *et al.* 1996).

Que retenir de cette section sur la présentation succincte des quelques généralités sur le développement de l'enfant ? Bien que la définition du développement de l'enfant soit variable

d'un auteur à l'autre, il semble y avoir un consensus sur les différents domaines de ce développement. Par ailleurs les facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant sont nombreux et très divers, et leurs effets peuvent être influencés par la pauvreté et les conditions socioculturelles (Bangirana *et al.* 2009; Walker *et al.* 2007). Dans une étude récente publiée au début de l'année, plusieurs facteurs de risque connus de mauvais développement de l'enfant ont été corrélés à l'indice Humain de développement (IDH), indice composite qui se fonde sur trois critères majeurs : l'espérance de vie, le niveau d'éducation et le niveau de vie (Arabi *et al.* 2012; Bornstein *et al.* 2012; Bornstein and Putnick 2012; Bradley and Putnick 2012; Britto and Ulkuer 2012; Lansford and Deater-Deckard 2012). La figure 10 ci-après, proposée par Walker *et al.*, résume les différents facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant.



**Figure 10** Facteurs de risque et mécanismes d'un mauvais développement de l'enfant

Source : (Walker *et al.* 2007)

Les pays d'Afrique sub-saharienne, et parmi eux le Bénin, concentrent malheureusement tous les paramètres pouvant intervenir négativement sur le développement des jeunes enfants (carences, infections, taux de RCIU ...). L'IDH en Afrique est le plus faible au monde et le Bénin était, en 2007, classé 161<sup>ième</sup> pays sur 182 classés par le PNUD (Programme des Nations Unies pour le Développement ; <http://hdr.undp.org/fr/statistiques/>). La mise en place d'un programme tel que TOVI se justifiait donc totalement.

Je vais à présent décrire succinctement le programme TOVI qui est actuellement en cours. Ce projet comporte un protocole complexe de collecte d'informations dans de nombreux domaines (clinique, infectieux, biologiques ...). Dans mon mémoire je ne décrirai que les données nécessaires aux analyses que j'ai effectuées pour l'étude des outils de mesure du développement, dont les résultats seront présentés par la suite.

### **1.3. Matériel et méthodes**

#### **1.3.1. Contexte et mise en place du projet TOVI**

Le projet TOVI a été mis en place à la suite de l'essai clinique MiPPAD (Malaria in Pregnancy Preventive Alternative Drugs). MiPPAD est un essai clinique randomisé, multicentrique financé par l'Union Européenne à travers son programme EDCTP (European and Developing Countries Clinical Trials Partnership). Cet essai clinique se déroule au Bénin, au Gabon, au Kenya, au Mozambique et en Tanzanie. Il a pour objectif de comparer l'efficacité et l'innocuité de la méfloquine (MQ) utilisée en traitement préventif intermittent (TPI) par rapport au TPI par la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) pendant la grossesse. Quatre mille sept cent seize (4716) femmes enceintes et leurs enfants sont suivis dans le cadre du projet MiPPAD sur l'ensemble des 5 pays dont 1183 femmes au Bénin. Dans le cadre de ce projet, après la naissance, les enfants sont suivis jusqu'à l'âge de 12 mois. Ce projet a démarré au



Bénin en janvier 2010 et la dernière femme incluse dans ce projet a accouché en juin 2012. Le suivi à 12 mois de la cohorte d'enfants s'achèvera en juin 2013.

Le projet TOVI est financé par les NIH (National Institutes of Health ; Projet R21-HD060524). Il s'agit d'une étude transversale dont les inclusions ont démarré lorsque les premiers nourrissons de MiPPAD avaient 12 mois.

### **1.3.2. Mise en place de l'étude TOVI et organisation du travail**

Le projet TOVI dont je coordonne les activités n'est pas encore achevé. Nous avons procédé aux entretiens, puis au recrutement du personnel indispensable au déroulement de ce projet. Cette équipe est composée de 10 personnes (01 psychologue, 04 infirmiers, 02 techniciens de laboratoires, 01 agent administratif et 02 agents de soutien). Nous avons mis en place la logistique nécessaire au fonctionnement de l'enquête (construction des locaux, achats des réactifs pour les analyses biologiques, achats des ordinateurs pour la saisie, etc.). Avant le démarrage de l'étude, j'ai rencontré les responsables sanitaires locaux (Médecin coordonnateur de la zone sanitaire et comité de gestion des centres de santé) pour expliquer le projet. Par ailleurs, j'ai procédé à la création des documents indispensables à la collecte des données. J'ai également créé la base de données, organisé la double saisie informatique ainsi que la validation des données.

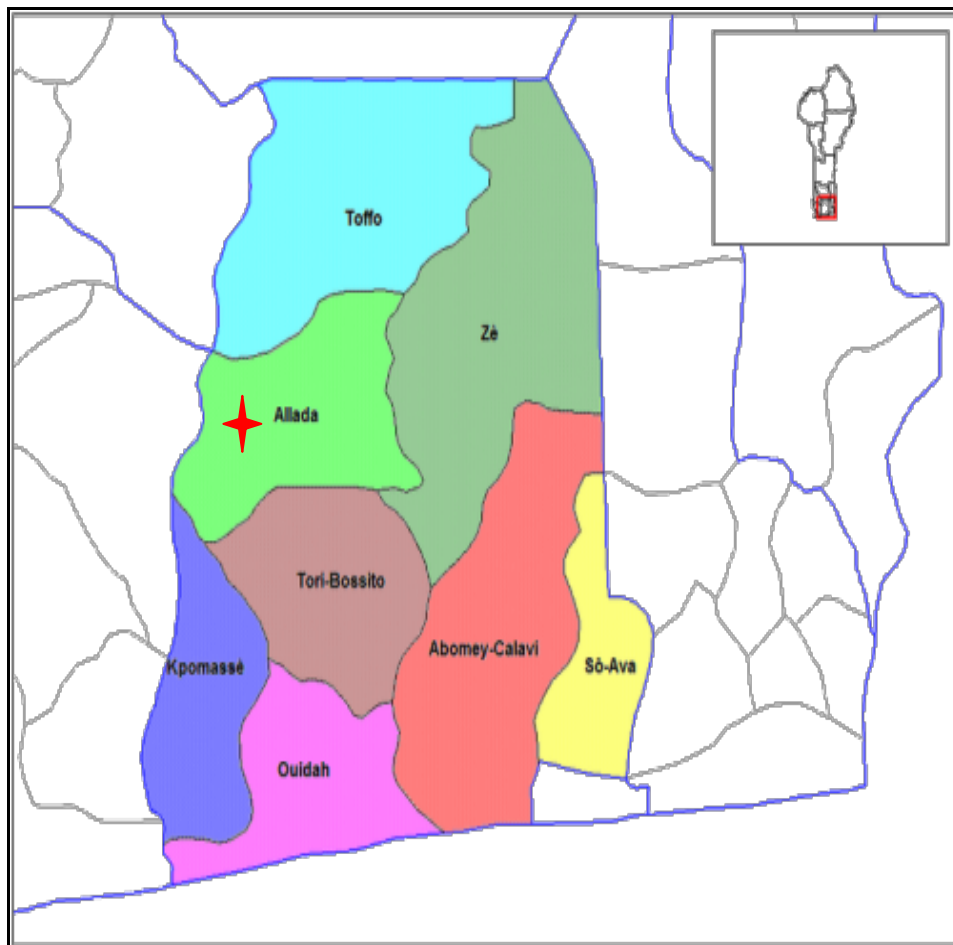
Le recrutement de notre population d'étude s'effectue sur 3 sites au Bénin. Il s'agit des centres de santé des arrondissements d'Allada, d'Attogon et de Sékou. Le personnel de l'enquête TOVI a travaillé en étroite collaboration avec les infirmiers des projets MiPPAD des trois sites d'étude.

J'ai effectué des missions de longue durée sur le terrain pendant les périodes clés du projet à savoir avant son démarrage, lors de son lancement et pendant la période de très forte activité.

Cette présence m'a permis de mener les différentes tâches sus citées. Cependant quand je ne suis pas sur le terrain, je poursuis la gestion logistique de l'enquête en collaboration avec le psychologue coordonnateur de la logistique sur le terrain, l'agent administratif et la responsable du laboratoire. Deux fois par semaine j'appelle ces derniers pour être tenu informé du déroulement des activités et des différents problèmes rencontrés. Je suis immédiatement contacté dès qu'il y a un problème. Chaque semaine je reçois un compte rendu hebdomadaire des activités en vue de suivre l'évolution du projet. Je rends compte au Dr Florence Bodeau-Livinec, Investigateur Principal du projet pour faire le point de l'avancée des activités, pour discuter des problèmes rencontrés et pour y apporter une solution.

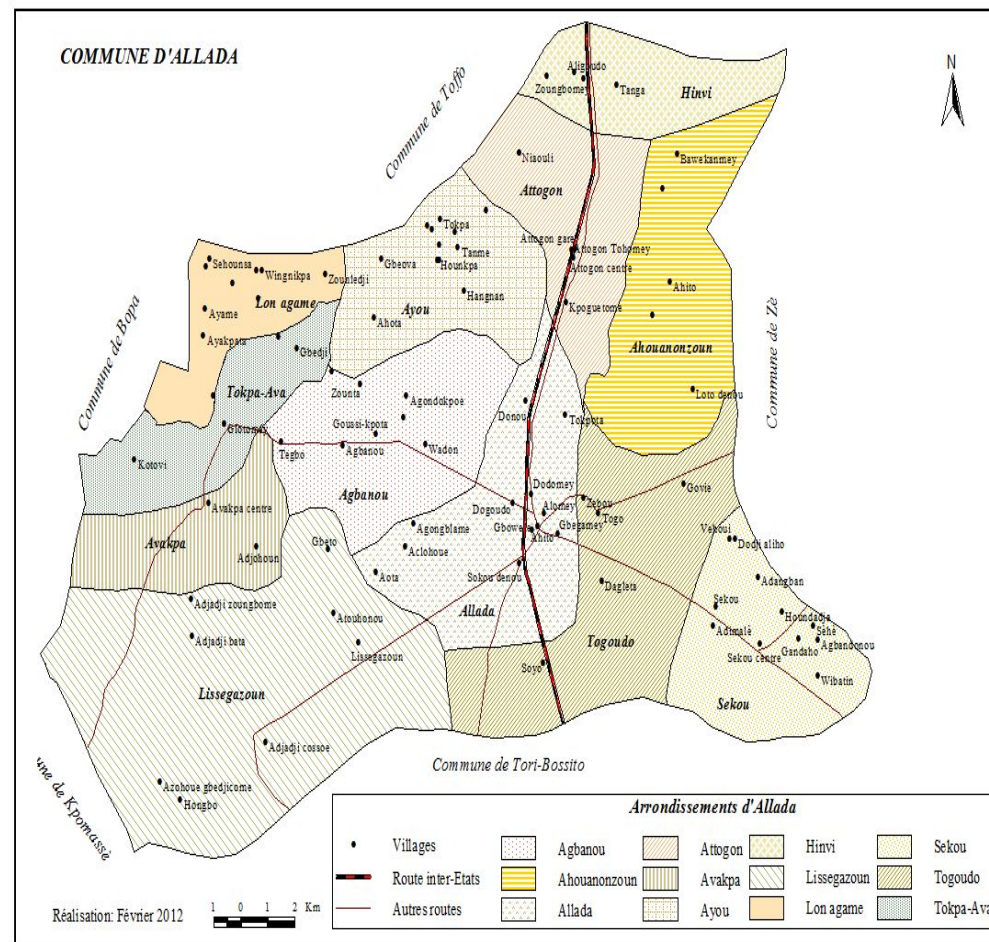
### **1.3.3. Zone et période d'étude**

Le projet TOVI, se déroule en République du Bénin (Carte 1) dans la commune d'Allada située dans le département de l'Atlantique (Carte 2 et Carte 4), à 55 km au nord de Cotonou, capitale économique du Bénin. Cette commune est composée de 12 arrondissements et compte 91778 habitants. Le recrutement s'effectue dans 3 arrondissements de cette commune. Ils représentent à eux seuls 40,6% (47269 / 91778) de la population totale. Ces 3 arrondissements sont constitués de 33 villages et quartiers. Il existe plusieurs ethnies dans cette partie du Bénin, mais les Aïzos représentent l'ethnie dominante. Le recrutement des enfants a démarré en Mai 2011.



**Carte 2 :** Carte des huit communes du département de l'Atlantique

Source : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Atlantique\\_\(département\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Atlantique_(département))



**Carte 4 :** Zone de l'étude TOVI (Commune d'Allada)

Source : Oscar Houndonougbo, INSAE, Bénin

#### **1.3.4. Population d'étude et critères d'inclusion**

La population d'étude du projet TOVI est composée des enfants nés des 1005 premières femmes incluses dans le projet MiPPAD.

Les critères d'inclusion des femmes dans le projet TOVI sont ceux de l'essai clinique que nous rappelons ici. Pour être incluses les femmes devaient résider dans la région d'Allada-Toffo-Zè, avoir un âge gestationnel  $\leq 28$  semaines d'aménorrhée lors de la première consultation prénatale, ne pas avoir des antécédents d'allergie connue à la SP et/ou à la MQ, ne pas avoir des antécédents d'insuffisance rénale et/ou hépatique, de problème psychiatrique ou neurologique, ne pas avoir de notion de traitement à la MQ, à la SP ou à l'halofantrine inférieur à 4 semaines, accepter de signer un formulaire de consentement éclairé à participer à l'étude et accepter d'accoucher dans l'une des trois maternités retenues pour l'étude. Seuls les naissances uniques et les nourrissons en vie à l'âge de douze mois ont été inclus dans le projet TOVI.

#### **1.3.5. Collecte des données recueillies dans le cadre du projet TOVI**

Je décrirai ici uniquement les données spécifiques collectées pour le projet TOVI. Celles-ci concernent le développement cognitif et moteur de l'enfant de l'enfant à 12 mois (MSEL) et le contexte : (1) matrice de Raven, pour évaluer le quotient intellectuel non verbal de la mère ; (2) EPDS pour dépister des symptômes de dépression maternelle ; (3) HOME pour l'environnement familial. Parallèlement à ces données, le Ten Questions Questionnaire (TQ) a été recueilli comme un test simple et rapide de dépistage d'une déficience de l'enfant.

La mère et son enfant sont vus pour la 1<sup>ère</sup> fois par les infirmiers du projet TOVI à la maternité après leur visite MiPPAD de 12 mois. Trois jours plus tard une visite à domicile est effectuée.

A la maternité, le développement cognitif de l'enfant est évalué avec le Mullen Scales of Early Learning.

Lors de la visite à domicile nous avons recueilli des informations complémentaires sur le statut socioéconomique de la famille. Le quotient intellectuel de la mère a été déterminé avec un test non verbal, la matrice de Raven (Raven 2000). Nous avons dépisté des symptômes de dépression chez la mère en utilisant l'échelle d'Edinburgh (Edinburgh Post Partum Depression Scale, EPDS) (Cox, Holden, and Sagovsky 1987). Nous avons également évalué l'environnement de vie de l'enfant ainsi que les interactions mère-enfant en utilisant le « Home Observation for Measurement of the Environment (HOME) Inventory » (Caldwell and Bradley 2003). Enfin le « Ten Question Questionnaire » a été administré (Durkin *et al.* 1994). La visite à domicile a été réalisée par un enquêteur différent de celui qui a administré le Mullen à la maternité.

### **1.3.6. Description des outils utilisés dans le cadre du projet TOVI**

#### **1.3.6.1. Mullen Scales of Early Learning (MSEL)**

Le MSEL évalue le développement moteur et cognitif des enfants et peut être utilisé de la naissance à l'âge de 68 mois. L'évaluation est basée sur les réactions de l'enfant aux différentes activités administrées par les infirmiers.

Cet outil comprend cinq échelles à savoir la motricité générale, la perception visuelle, la motricité fine, la compréhension verbale et l'expression verbale. L'échelle de motricité

générale peut être administrée de la naissance à l'âge de 33 mois. Les quatre autres échelles peuvent l'être de la naissance jusqu'à 68 mois.

Les scores bruts obtenus à chacune de ces échelles sont convertis en *T-score* en utilisant une table standardisée avec l'âge chronologique de l'enfant au moment de l'administration du MSEL. La somme des *T-scores* de toutes les échelles *sauf celle de la motricité générale* permet de définir le score composite du développement cognitif de l'enfant. Les seuils que nous avons utilisés dans cette étude pour définir les déficiences chez un enfant de douze mois sont ceux proposés dans le manuel. La moyenne du score composite était de 99,3 (DS 15,4). La moyenne des différentes échelles du MSEL était de 50,1 (DS 10,4) pour la motricité générale, de 50,2 (DS 10,7) pour la perception visuelle, de 47,7 (9,5) pour la motricité fine, de 49,9 (10,3) pour la compréhension verbale et de 50,2 (8,7) pour l'expression verbale. Nous avons défini une déficience cognitive légère puis sévère par une moyenne du score composite moins respectivement une déviation standard ( $99,3 - 15,4$ ) soit 83,9 et moins deux fois la déviation standard ( $99,3 - 30,8$ ) soit 68,5. Ensuite nous avons défini une *déficience motrice* légère par une moyenne du score de la motricité générale moins une déviation standard ( $50,1 - 10,4$ ) soit 39,7. Enfin la déficience motrice sévère a été définie par une moyenne moins deux fois la déviation standard ( $50,1 - 20,8$ ) soit 29,3 (Mullen 1995). Comme Keim *et al.* en 2011, nous avons utilisé les scores obtenus chez les prématurités sans les corriger (Keim *et al.* 2011).

Le MSEL n'avait préalablement jamais été utilisé au Bénin. Par ailleurs, il n'existait pas de version française de ce test. Par conséquent, la traduction et l'utilisation de cet outil au Bénin ont été effectuées en quatre étapes.

Une traduction a été effectuée de l'anglais vers le français par une psychologue américaine. La version française obtenue a été traduite vers l'anglais de façon indépendante par une seconde psychologue américaine également. La version anglaise (back translation) a été

comparée à la version originale de l’outil par une première épidémiologiste pédiatrique. La traduction a finalement été corrigée par une deuxième épidémiologiste pédiatrique, investigatrice principale du projet. Après cette étape, la version française a été soumise à la société Pearson (détentrice du brevet d’utilisation du MSEL) afin d’être validée.

Les infirmiers, moi-même et l’investigatrice principale, avons suivi une formation de 3 semaines pour l’administration du MSEL par un psychologue spécialiste du développement de l’enfant en Afrique, Michael Boivin. Durant la formation, les instructions orales destinées à l’enfant ont été traduites en langue locale. De même, quelques items du MSEL ont été marginalement adaptés pour le terrain. Après la formation, les infirmiers se sont exercés en présence du psychologue à administrer le MSEL avec 15 enfants. De nouvelles mises au point ont pu être effectuées. Après la formation les infirmiers ont poursuivi l’administration du test pendant deux mois, sur une quarantaine de nourrissons de 12 mois et ce avant le démarrage du projet. L’investigatrice principale a vérifié l’administration du MSEL tous les 3 ou 4 mois sur le terrain et a réalisé de légers ajustements après vérification auprès du psychologue.

### **1.3.6.2. La matrice de Raven**

La matrice de Raven est un test non verbal pour évaluer le quotient intellectuel de la mère. La matrice de Raven est composée de cinq séries de douze items soit un total de 60 items.

### **1.3.6.3. Edinburgh Post Partum Depression Scale (EPDS)**

Utilisé depuis 1987, l’EPDS est un indicateur spécifique et précis pour le dépistage de la dépression gravidique et du post partum. Il s’agit d’un auto-questionnaire à 10 items. Chaque

item est coté selon un ordre croissant de sévérité de 0 à 3, donnant ainsi à l'EPDS des extrêmes de score de 0 à 30. Il est considéré comme positif si le score est supérieur ou égale à 10 (Cox *et al.* 1987). Ce test a été traduit en langue locale avant d'être administré aux femmes lorsque les enfants ont été vus à 12 mois.

#### **1.3.6.4. Home Observation for Measurement of the Environment (HOME) Inventory**

Le HOME est un outil d'évaluation de l'environnement familial de l'enfant. Il repose à la fois sur l'observation des interactions mère-enfant et sur un questionnaire relatif aux pratiques éducatives parentales. Le HOME a été modifié et ne comprenait plus que 36 items au lieu de 45 items. Les items sont répartis en six dimensions que sont la sensibilité du parent envers l'enfant, l'acceptation de l'enfant, l'organisation de la garde de l'enfant, le matériel d'apprentissage de l'enfant, l'engagement du parent envers l'enfant et des questions diverses. Chaque item est noté 0 ou 1 (1 correspondant à quelque chose de positif). Le personnel a été également formé pour le HOME. Pour notre étude, la version originale du HOME a été modifiée. La majorité des questions non administrées étaient relatives au Matériel d'apprentissage de l'enfant..

#### **1.3.6.5. Ten Questions Questionnaire (TQ)**

Le TQ est un test rapide et peu coûteux pour identifier une déficience chez les enfants âgés de 2 à 9 ans. Il est composé d'une série de dix questions. La 1<sup>ère</sup> question recherche un sérieux retard dans les étapes clés de développement de l'enfant à savoir la position assise, la position debout ou la marche. La 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> question s'intéressent respectivement à un déficit visuel et auditif de l'enfant. A la question 4, la compréhension de l'enfant aux paroles de la mère est testée. Des difficultés dans le mouvement sont recherchées à la 5<sup>ème</sup> question. A la question 6, on demande si l'enfant a eu des crises, s'il devient rigide ou s'il perd



connaissance. La question 7 s'intéresse à l'apprentissage de l'enfant et la question 8 à son discours. La question 9 évalue le discours et la communication de l'enfant et n'est administrée qu'à partir de deux ans. Enfin la dernière question du TQ évalue la déficience intellectuelle de l'enfant. Toutes ces questions sont administrées à la mère qui répond à chacune de ces questions par Oui ou par Non. Le test est considéré comme positif si nous avons au moins une réponse positive à l'une des dix questions administrées. Après discussion au sein de l'équipe, nous avons jugé possible d'utiliser le TQ dans notre population âgée de 12 mois. Seule la question 9 sur le langage n'a pas été administrée.

La totalité des questionnaires est trop volumineuse pour être annexée à ce mémoire. Néanmoins pour chaque outil un extrait a été inséré en annexe.

### **1.3.7. Analyses des données**

L'objectif du projet TOVI est d'étudier les conséquences de l'anémie maternelle sur le développement psychomoteur de l'enfant. La stratégie générale d'analyse qui sera adoptée dès que toutes les données seront disponibles a fait l'objet d'un chapitre d'ouvrage inséré à la fin de cette 3<sup>ème</sup> partie de mon manuscrit.

Cependant, dans la mesure où ce projet est le premier du genre à être mené au Bénin et qu'il utilise pour la première fois ce type d'outils de mesure, il nous est apparu indispensable d'étudier la pertinence et l'efficacité de ces outils.

Le second chapitre que nous allons à présent aborder développe cette évaluation. Nous tenterons de répondre à deux questions : (1) le MSEL peut-il être utilisé dans notre population béninoise comme *mesure du développement* de l'enfant ? (2) un sous ensemble du TQ

pourrait-il être utilisé comme *test simple de dépistage* d'une déficience de développement de l'enfant à 12 mois ?

## **2. Etude de l'utilisation du MSEL au Bénin et validité d'un sous ensemble du Ten Questions Questionnaire**

Le développement de l'enfant est un processus continu, global s'effectuant au même moment dans plusieurs domaines à savoir moteur, sensoriel, intellectuel, affectif et social. S'il existe plusieurs outils pour évaluer le développement de l'enfant dans les pays développés, ce n'est malheureusement pas le cas dans tous les pays en développement. Au Bénin par exemple, il n'existe aucun outil pour évaluer le développement de l'enfant. Cette évaluation en pratique clinique courante au Bénin consiste à vérifier l'apparition des différentes acquisitions précédemment décrite aux dates convenables.

Pour répondre à notre première question nous avons étudié les facteurs prédictifs socio-économiques et maternels connus du développement de l'enfant en étudiant leurs associations avec les scores dérivés du MSEL dans notre population.

La seconde question sera abordée en étudiant les propriétés intrinsèques (sensibilité, spécificité) et extrinsèques (valeur prédictive positive, valeur prédictive négative) d'un sous ensemble du Ten Questions Questionnaire en prenant le Mullen Scales of Early Learning comme outil de référence.

### **2.2. Matériel et méthodes**

#### **2.2.1. Population d'étude**

Comme nous l'avons précisé plus haut, le recrutement dans les 3 centres d'étude à Sékou, Attogon et Allada a débuté en Mai 2011. Pour cette première étape nous avons limité nos analyses à tous les sujets inclus dans ces trois centres jusqu'au 20 décembre 2011.

### **2.2.2. Stratégie générale d'analyse**

Après une description de la sélection de nos sujets, je ferai la description générale puis stratifiée sur le sexe de notre population d'étude. J'adopterai ensuite une stratégie d'analyse en deux temps : (i) Etude des facteurs prédictifs socio-économiques et maternels du développement de l'enfant ; (ii) Etude de la validité d'un sous-ensemble du Ten Questions Questionnaire.

#### **2.2.2.1. Etude des facteurs prédictifs socio-économiques et maternels du développement de l'enfant**

Les données collectées ont permis de définir plusieurs variables. La variable principale est le score composite qui permet d'apprécier le développement cognitif de l'enfant. Nous rappelons que ce score composite est calculé à partir de quatre échelles (Perception Visuelle, Motricité Fine, Compréhension Verbale et Expression Verbale de l'enfant). Une cinquième échelle évaluait la motricité générale. Les variables indépendantes comprennent des caractéristiques maternelles et des facteurs socio-économiques. Nous disposons ainsi des scores de la matrice de Raven pour apprécier le quotient intellectuel de la mère, de l'EPDS pour rechercher une dépression postnatale, du HOME pour apprécier l'environnement de vie et de stimulation de l'enfant. Deux variables ont été utilisées pour étudier le statut socioéconomique. Il s'agit de la richesse de la famille et de l'éducation de la mère. La richesse de la famille est la somme des objets de la famille parmi une liste d'objet (radio, télévision, vélo, voiture, etc). L'éducation de la mère a été codée en variable binaire (scolarisée vs non scolarisée). Les autres variables utilisées étaient le sexe de l'enfant (Fille vs Garçon), le statut marital (Mariée Monogame vs Mariée Polygame) et l'âge de la mère.

L'étude du MSEL a été effectuée en trois étapes. En un premier temps une analyse univariée a été réalisée pour étudier l'association entre les scores dérivés du Mullen (score composite, motricité générale, perception visuelle, motricité fine, compréhension verbale et expression verbale) et les facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant (sexe de l'enfant, environnement familial de l'enfant, richesse de la famille, statut marital, dépression maternelle, quotient intellectuel de la mère, éducation de la mère). Le coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour étudier ces différentes associations. Cependant pour les variables binaires, le test de Student a été utilisé pour la comparaison des moyennes dans chacune des catégories. Ensuite une régression linéaire multiple a été menée pour étudier les facteurs prédictifs d'un mauvais score composite de l'enfant ainsi que d'un mauvais score de sa motricité générale. Nos résultats ainsi que les données de la littérature nous ont permis de sélectionner les variables à inclure dans cette analyse multivariée.

#### **2.2.2.2. Etude de la validité d'un sous-ensemble du Ten Question Questionnaire**

Durant cette étape nous avons d'abord étudié l'association entre les scores du MSEL et neuf questions du TQ, la question 9 sur le langage n'ayant pas été administrée du fait de l'âge de l'enfant.

Nous avons ensuite étudié les propriétés intrinsèques (sensibilité, spécificité) puis extrinsèques (valeur prédictive positive, valeur prédictive négative) du TQ composé de ces neuf questions. Le test était considéré comme positif s'il était positif à l'une des neuf questions administrées. Ici, la positivité signe la présence d'une déficience du développement de l'enfant. Nous avons calculé les performances du TQ en prenant d'abord le score de la

motricité générale comme gold standard puis ensuite en prenant le score composite comme gold standard. A chaque fois plusieurs seuils ont été utilisés.

Ensuite nous avons focalisé nos analyses aux deux questions relatives au développement moteur de l'enfant à savoir la question 1 et la question 5 du TQ. Les performances de chacune de ces questions ont été calculées en menant la même stratégie que pour le TQ. Ainsi le score de la motricité générale et le score composite ont été utilisés comme gold standard. De même plusieurs seuils ont été définis. Enfin les deux questions (1 et 5) ont été combinées et les mêmes analyses ont été effectuées.

Lors de ces différentes analyses, la comparaison de pourcentages a été faite soit par le test du chi-2 soit par le test exact de Fischer, et la comparaison de moyennes a été faite par le test de Student après vérification de l'égalité des variances. Dans le cas contraire la correction de Welch a été utilisée.

### **2.2.3. Logiciels d'analyse**

Le logiciel Epi Data® a été utilisé pour la saisie des données. L'ensemble des analyses ont été menées sur le logiciel STATA 11®.

## **2.3. Ethique**

L'étude a été approuvée par le Comité Ethique de la Faculté des Sciences de la Santé (CE/FSS) de la République du Bénin, le Comité Ethique de New York University, le Comité Ethique de Michigan State University et le Comité Consultatif de Déontologie et d'Ethique de l'Institut de Recherche pour le Développement (CCDE/IRD).

## **2. 4. Résultats**

### **2.4.1. Sélection des sujets**

Au 31 décembre 2011, 534 enfants nés des mères incluses dans MiPPAD étaient vivants et avaient atteints 12 mois. Parmi ces enfants nous avons recensé 08 jumeaux et 03 triplés qui n'ont pas été vus dans notre projet TOVI. A cette date, 371 sujets avaient été vus par notre équipe. Nous avons recensés 71 perdus de vue, 51 retraits volontaires, 41 déménagements au-delà de la zone d'étude soit un total de 163 sujets. A cette date le taux de suivi était donc de 70,9%.

Nos analyses ont été réalisées sur les 357 nourrissons dont 180 garçons et 177 filles inclus du 02 Mai au 21 Décembre 2011. Pour les 14 derniers enfants de 12 mois non inclus dans notre analyse, les données n'avaient pas été saisies au 21 décembre.

### **2.4.2. Caractéristiques socio démographiques de la population d'étude**

Le tableau 23 présente les caractéristiques générales de notre population d'étude. L'âge moyen des mères et des nourrissons à l'inclusion étaient respectivement de 27,4 ans (SD 5,8) puis de 370,4 jours (SD 14,3).

La durée moyenne d'administration du MSEL était de 34,1 minutes (SD 8,4). Le score composite moyen dans la population d'étude était de 98,3 (SD 13,6). Ce score était plus élevé chez les filles [99,3 (SD 13,8)] que chez les garçons [96,9 (SD 13,2)] mais la différence était à la limite de la significativité ( $P = 0,05$ ). Le score moyen de Compréhension Verbale était significativement ( $P = 0,026$ ) plus élevée chez les filles [46,5 (SD 6,2)] que chez les garçons [45,0 (SD 6,7)]. Vingt six pourcent de la population avaient une déficience motrice légère et environ 5% une déficience motrice sévère. Cinquante-quatre nourrissons présentaient une

déficience cognitive légère soit un pourcentage de 15,1% et 9 présentaient une déficience cognitive sévère (2,5%).

Le score moyen de l'EPDS était de 8,3 (SD 3,8). Trente six pourcent des femmes avaient un score de l'EPDS supérieur ou égal à 9 et présentaient donc des symptômes de dépression. Vingt quatre enfants (6,7%) étaient malades lors de l'administration du MSEL. Plus de la moitié des enfants vivaient avec au moins un autre enfant à la maison (78,6%).



**Tableau 23** : Caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude.

	Total	Garçons	Filles	<i>P</i>
	N=357	N=180	N=177	
Score composite MSEL	98,3 (13,6) <sup>a</sup>	96,9 (13,2)	99,7 (13,8)	0,050
Perception visuelle	49,5 (10,8)	48,7 (10,8)	50,3 (10,8)	0,145
Motricité Fine	49,7 (10,4)	48,7 (10,3)	50,6 (10,5)	0,083
Compréhension Verbale	45,8 (6,5)	45,0 (6,7)	46,5 (6,2)	0,026
Expression Verbale	51,0 (9,1)	50,6 (9,0)	51,3 (9,2)	0,508
Motricité Générale	51,1 (15,0)	52,1 (15,8)	50,0 (14,1)	0,186
Déficience motrice légère				
Non	263 (73,9%)	134 (74,4%)	129 (73,3%)	
Oui	93 (26,1%)	46 (25,6%)	47 (26,7%)	0,80
Déficience motrice sévère				
Non	339 (95,2%)	169 (93,9%)	170 (96,6%)	
Oui	17 (4,8%)	11 (6,1%)	6 (3,4%)	0,23
Déficience cognitive légère				
Non	303 (84,9%)	152 (84,4%)	151 (85,3%)	
Oui	54 (15,1%)	28 (15,6%)	26 (14,7%)	0,82
Déficience cognitive sévère				
Non	348 (97,5%)	176 (97,8%)	172 (97,2%)	
Oui	9 (2,5%)	4 (2,2%)	5 (2,8%)	0,75 <sup>b</sup>
Richesse de la famille	5,6 (2,9)	5,7 (3,0)	5,5 (2,8)	0,535
HOME	26,6 (2,5)	26,6 (2,6)	26,6 (2,3)	0,951
Statut marital				
Monogamie	215 (60,7%)	116 (64,8%)	99 (56,6%)	0,128
Polygamie	139 (39,7%)	(35,2%)	76 (43,4%)	
Education maternelle				
Non	214 (60,1%)	105 (58,7%)	109 (61,6%)	0,573
Oui	142 (39,9%)	74 (41,3%)	68 (38,4%)	
Raven	15,6 (5,1)	15,9 (5,3)	15,4 (4,8)	0,356
Score EPDS <sup>c</sup>	8,3 (3,8)	7,9 (3,7)	8,8 (3,9)	0,036
Score EPDS ≥ 9 <sup>c</sup>				
Non	228 (64%)	126 (70,4%)	102 (57,6%)	0,012
Oui	128 (36%)	53 (26,6%)	75 (42,4%)	

<sup>a</sup> Moyenne et Déviation standard<sup>b</sup> Test de Fisher exact<sup>c</sup> EPDS (Edinburgh Post Partum Depression Scales)

### **2.4.3. Etude des facteurs prédictifs socio-économiques et maternels du développement de l'enfant**

Le tableau 24 et le tableau 25 présentent les résultats de l'association entre les scores dérivés du MSEL et quelques facteurs de risque de mauvais développement du nourrisson. L'analyse univariée a montré que le développement cognitif de l'enfant, mesuré par le score composite, était significativement associé à son environnement familial ( $P < 10^{-3}$ ), à la richesse de la famille ( $P < 0,05$ ), au quotient intellectuel de la mère ( $P < 0.01$ ). Par contre aucune association significative n'a été retrouvée avec le score de l'EPDS de la mère ( $P = 0,823$ ) Les résultats pour chacune des autres échelles sont présentés dans le tableau 24. Le tableau 25 présente les résultats obtenus avec les variables binaires.

**Tableau 24** : Corrélation de Pearson entre les scores du MSEL et quelques facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant – Partie I.

	Score composite	Motricité Générale	Réception Visuelle	Motricité Fine	Compréhension Verbale	Expression Verbale
Richesse de la famille	0,12 **	0,17 ***	0,12 **	0,06	0,11 **	0,05
Environnement familial	0,20 ****	0,17 ***	0,18 ****	0,12 **	0,14 ***	0,15 ***
Quotient intellectuel mère	0,16 ***	0,15 ***	0,21 ****	0,09 *	0,06	0,07 *
EPDS	0,01	-0,03	0,0006	0,03	0,07	-0,05

\* Degré de significativité < 0,20 ; \*\* Degré de significativité < 0,05 ; \*\*\* Degré de significativité < 0,01 ; \*\*\*\* Degré de significativité < 0,001

**Tableau 25** : Association entre les scores du MSEL et quelques facteurs de risque de mauvais développement de l'enfant – Partie II.

		Score composite	Motricité Générale	Réception Visuelle	Motricité Fine	Compréhension Verbale	Expression Verbale
Education maternelle							
	Non	96,3 (14,0) ***	50,5 (14,5)	48,3 (10,8) **	48,6 (10,6) **	44,9 (6,5) **	50,0 (9,9) **
	Oui	101,3 (12,5)	52 (15,7)	51,2 (10,5)	51,3 (10,0)	47,1 (6,2)	52,4 (7,4)
EPDS							
	≤ 9	98,4 (13,0)	51,2 (14,3)	49,4 (11,1)	49,6 (9,9)	45,5 (6,2)	51,7 (8,6) **
	> 9	98,0 (14,6)	50,9 (16,2)	49,5 (10,2)	49,8 (11,3)	46,1 (6,8)	49,6 (9,8)
Sexe							
	Garçon	96,9 (13,2) *	52,1 (15,8) *	48,7 (10,8) *	48,7 (10,3) *	45,0 (6,7) **	50,6 (9,0)
	Fille	99,7 (13,8)	50,0 (14,1)	50,3 (10,8)	50,6 (10,5)	46,5 (6,2)	51,3 (9,2)
Statut marital							
	Monogamie	99,1 (12,7) *	50,6 (14,9)	50,3 (10,5) *	50,5 (9,7) *	45,8 (6,6)	51,0 (8,8)
	Polygamie	97,0 (14,9)	51,8 (15,1)	48,2 (11,1)	48,4 (11,4)	45,7 (6,3)	50,9 (9,5)

\* Degré de significativité < 0,20 ; \*\* Degré de significativité < 0,05 ; \*\*\* Degré de significativité < 0,01 ; \*\*\*\* Degré de significativité < 0,001

Nous avons ensuite étudié l'association entre les variables explicatives. Le tableau 26 présente les résultats de la corrélation entre les variables explicatives quantitatives. Pour les autres variables nous avons montré que les mères scolarisées avaient un quotient intellectuel supérieur à celui des mères non scolarisées (16,45 vs 14,5 ;  $P < 10^{-3}$ ). De même l'environnement familial était meilleur chez les mères scolarisées (27,4 vs 26,1 ;  $P < 10^{-3}$ ). Le revenu de la famille était également plus élevé chez les mères scolarisées (6,6 vs 4,9 ;  $P < 10^{-3}$ ). Aucune autre association significative n'a été décrite.

**Tableau 26** : Matrice de corrélation entre les variables explicatives quantitatives

	1	2	3
1 Environnement familial	-		
2 Richesse de la famille	<b>0.24 ****</b>	-	
3 Quotient intellectuel de la mère	<b>0.25 ****</b>	<b>0.19 ****</b>	-

\* Degré de significativité < 0,20 ; \*\* Degré de significativité < 0,05 ;

\*\*\* Degré de significativité < 0,01 ; \*\*\*\* Degré de significativité < 0,001

Lors de l'analyse multivariée, les variables suivantes ( $P < 0,20$ ) ont été incluses dans le modèle : l'environnement familial de l'enfant, la richesse de la famille, l'intelligence maternelle, le sexe de l'enfant et le statut marital de la mère. L'analyse multivariée a montré que les seules variables significativement associées des scores de développement cognitif plus élevés étaient le sexe féminin de l'enfant, l'environnement familial et l'intelligence maternelle ( $P = 0,03$  ;  $P = 0,003$  et  $P = 0,03$  respectivement).

La même démarche a été menée pour l'étude des facteurs de risque de mauvais développement moteur de l'enfant à 12 mois. Seuls l'environnement familial et la richesse de la famille étaient restés significativement associés au développement moteur de l'enfant ( $P = 0,03$  et  $P = 0,03$  respectivement).

Dans ces modèles nous n'avons pas inclus l'éducation de la mère car elle est moins précise (variable binaire) que l'intelligence de la mère et la richesse de la famille auxquelles elle est liée.

#### **2.4.4. Etude de la validité d'un sous ensemble du TQ**

##### **2.4.4.1. Association entre les scores du MSEL et un sous ensemble du TQ**

Pour les différentes questions du TQ que nous avons étudiées, le pourcentage de réponse positive était de 24% pour la question 1 relative aux différentes Etapes du Développement, de 11% pour la question 4 relative à la compréhension, de 9% pour la question 5 relative au Mouvement, de 10% pour la question 6 relative aux Crises, de 1% pour la question 7 relative à l'Apprentissage, de 61% pour la question 8 relative au discours et enfin de 4% pour la question 10 relative à la Déficience Intellectuelle. Aucune difficulté n'a été reportée pour les questions 2 et 3 relatives respectivement à la vision puis à l'audition. Lorsque les neuf questions applicables à l'enfant de 12 mois étaient administrées, le TQ est considéré comme positif chez 71% des enfants.

Nous avons montré que la Motricité Générale était significativement associée aux questions du TQ relatives à la motricité : Etapes du Développement (Question 1 ; moyenne de 40 pour une réponse positive comparé à une moyenne de 55 pour une réponse négative,  $P < 0.001$ ) et Mouvement (Question 5 ; 40 comparé à 52, respectivement,  $P < 0.001$ ). L'échelle de Motricité Générale du MSEL était aussi associée à plusieurs questions relatives à des acquisitions non motrices du TQ : Crises ( $P < 0.05$ ) et Déficience Intellectuelle ( $P < 0.001$ ). Les réponses positives des questions 1 et 5 du TQ étaient significativement associées à des faibles niveaux du score composite du MSEL ainsi qu'à la Perception Visuelle, la Motricité

Fine, la Compréhension Verbale et à l'Expression Verbale. Le tableau 27 présente les différents résultats obtenus.

**Tableau 27** : Association entre les scores du MSEL et un sous ensemble du TQ.

	Question 1	Question 4	Question 5	Question 6	Question 7	Question 8	Question 10
	Etape du développement	Compréhension	Mouvement	Crises	Apprentissage	Discours	Déficiência intellectuelle
	(87/356)	(40/356)	(32/356)	(34/356)	(4/356)	(217/356)	(13/356)
<b>Score composite</b>							
Question négative	99,7 (12,6) ***	94.0 (14.7) **	99,2 (12,8) ***	98,7 (13,4)	86,0 (14,7)	97.9 (14.1)	98,6 (13,2)
Question positive	93,7 (15,5)	98.8 (13.4)	88,5 (17,6)	94,5 (15,3)	98,4 (13,3)	98.9 (12.8)	88,9 (20,8)
<b>Motricité Générale</b>							
Question négative	54,7 (14,4) ****	43.7 (14.0) ****	52,2 (14,6) ****	51,7 (15,0) *	50,5 (24,0)	50.1 (15.3)	51,6 (14,8) ****
Question positive	39,9 (10,6)	52.1 (14.9)	39,8 (14,8)	45,3 (14,0)	51,1 (14,9)	52.7 (14.3)	36,9 (12,6)
<b>Réception Visuelle</b>							
Question négative	50,2 (10,6) **	47.6 (10.6)	50,1 (10,3) ****	49,6 (10,7)	39,3 (15,9)	49.4 (10.8)	49,7 (10,6)
Question positive	47,1 (11,2)	49.7 (10.8)	43,1 (13,2)	48,3 (11,5)	49,6 (10,7)	49.5 (10.8)	44,8 (14,0)
<b>Motricité Fine</b>							
Question négative	50,7 (9,8) ***	47.6 (11.4)	50,5 (9,8) ****	49,8 (10,3)	42,3 (21,2)	49.6 (11.0)	49,9 (10,1)
Question positive	46,4 (11,8)	49.9 (10.3)	41,7 (13,3)	48,3 (11,8)	49,8 (10,3)	49.8 (9.5)	43,2 (15,0)
<b>Compréhension Verbale</b>							
Question négative	46,1 (6,4) **	43.5 (8.0)	46,1 (6,3) ***	46,0 (6,4) **	42,5 (17,1)	45.5 (6.6)	45,9 (6,3)
Question positive	44,5 (6,6)	46.0 (6.2)	42,4 (7,1)	43,5 (6,9)	45,8 (6,3)	46.0 (6.3)	42,5 (9,3)
<b>Expression Verbale</b>							
Question négative	51,8 (8,4) ***	47.8 (9.4) **	51,3 (8,9) **	51,3 (9,0) **	43,3 (15,5)	50.4 (9.5)	51,2 (8,8)
Question positive	48,1 (10,5)	51.3 (9.0)	47,5 (10,6)	47,9 (9,9)	51,0 (9,0)	51.8 (8.3)	44,2 (13,9)

\* Degré de significativité < 0,20 ; \*\* Degré de significativité < 0,05 ; \*\*\* Degré de significativité < 0.01 ; \*\*\*\* Degré de significativité < 0.001

#### **2.4.4.2 Validité d'un sous ensemble de Questions du TQ**

Les résultats de l'étude de la validité d'un sous ensemble du TQ sont résumés dans le tableau 28. En s'intéressant aux neuf questions du TQ, en prenant le score de motricité générale comme gold standard et pour le premier seuil utilisé, la sensibilité était plus élevée que la spécificité. Par contre pour les questions 1 ou 5, qu'elles soient étudiées séparément ou qu'elles soient combinées, la spécificité était toujours supérieure à la sensibilité. Pour les valeurs extrinsèques, la valeur prédictive positive était faible qu'il s'agisse des neuf questions du TQ ou de la question 1 et de la question 5 alors que la valeur prédictive négative était toujours plus élevée. Les mêmes observations étaient faites en utilisant le score composite comme gold standard quel que soit le seuil utilisé. Enfin les résultats étaient identiques lorsque s'intéressait au second seuil en prenant la motricité générale comme gold standard à l'exception de la sensibilité des deux questions combinées qui était à 76,5 alors que la spécificité était à 75,7.

Que retenir de cette 3<sup>ème</sup> partie sur l'étude de l'utilisation du MSEL au Bénin et des propriétés d'un sous ensemble du Ten Questions Questionnaire ? En un premier temps nous avons montré que le score composite du MSEL étaient associés aux facteurs de risque socio-économiques et maternels connus d'un mauvais développement de l'enfant. Ces résultats nous ont confortés dans la capacité qu'a cet outil à identifier les enfants présentant un mauvais développement au Bénin. Nous l'avons donc utilisé comme gold standard pour étudier les propriétés d'un sous ensemble du TQ. Nos analyses ont montré que les questions 1 et 5 du TQ avaient une grande spécificité dans notre population d'étude. Cet examen simple pourrait donc être utilisé en zone rurale pour le dépistage d'un trouble du développement. Ces différents résultats ont donné lieu à un article.



**Tableau 28** : Sensibilité, Spécificité, Valeur Prédictive Positive, Valeur Prédictive Négative de quelques items du TQ.

Seuil 1: Moyenne moins 1 DS <sup>a</sup>	Score motricité générale				Score composite			
	Se <sup>c</sup>	Sp <sup>d</sup>	VPP <sup>e</sup>	VPN <sup>f</sup>	Se	Sp	VPP	VPN
Positive à au moins une des 9 questions	80,6 (71,1-88,1) <sup>g</sup>	31,3 (25,7-37,3)	29,4 (23,9-35,4)	82 (73,1-89)	81,5 (68,6-90,7)	30,1 (25-35,7)	17,3 (12,8-22,5)	90,1 (82,5-95,1)
Positif à TQ1	46 (35,8-56,9)	83 (78,1-87,5)	49 (38,5-60,4)	81 (76,2-85,8)	40,7 (27,6-55)	78,5 (73,4-83)	25,3 (16,6-35,7)	88,1 (83,6-91,7)
Positif à TQ5	17 (10,2-26,4)	94 (90,3-96,5)	50 (31,9-68,1)	76 (71,1-80,7)	22,2 (12-35,6)	93,4 (90-95,9)	37,5 (21,1-56,3)	87,0 (82,9-90,5)
Positive à TQ1 ou positif à TQ5	47,3 (36,9-57,9)	80,5 (75,2-85,1)	46,3 (36-56,8)	81,2 (75,9-85,7)	42,6 (29,2-56,8)	76,2 (70,9-80,9)	24,2 (16-34,1)	88,1 (83,6-91,8)
Seuil 2: Moyenne moins 2 DS <sup>b</sup>	Score motricité générale				Score composite			
	Se	Sp	VPP	VPN	Se	Sp	VPP	VPN
Positive à au moins une des 9 questions	100 (80,5-100)	29,6 (24,8-34,8)	6,7 (3,93-10,5)	100 (96,4-100)	100 (66,4-100)	29,1 (24,4-34,2)	3,5 (1,63-6,59)	100 (96,4-100)
Positif à TQ1	76,5 (50,1-93,2)	78 (73,3-82,4)	15 (8,2-24,2)	99 (96,2-99,6)	66,7 (29,9-92,5)	76,7 (71,8-81)	6,9 (2,6-14,4)	98,8 (96,8-99,8)
Positif à TQ5	47,1 (23-72,2)	92,9 (89,6-95,4)	25 (11,5-43,4)	97,2 (94,8-98,7)	44,4 (13,7-78,8)	91,9 (88,5-94,6)	12,5 (3,5-29)	98,5 (96,4-99,5)
Positive à TQ1 ou positif à TQ5	76,5 (50,1-93,2)	75,7 (70,8-80,2)	13,7 (7,49-22,3)	98,5 (96,1-99,6)	77,8 (40-97,2)	74,6 (69,7-79,1)	7,4 (3,0-14,6)	99,2 (97,3-99,9)

<sup>a</sup> Déficience légère ; <sup>b</sup> Déficience sévère ; <sup>c</sup> Sensibilité ; <sup>d</sup> Spécificité ; <sup>e</sup> Valeur Prédictive Positive ; <sup>f</sup> Valeur Prédictive Négative ; <sup>g</sup> Intervalle de confiance

## Chapitre de livre

Editeur Springer. 2012 (Sous presse)

### **Assessing the Effects of Maternal Anemia on Child Development in Benin**

Florence Bodeau-Livinec, Michel Cot, Ghislain K. Koura, Michael J. Boivin

Florence Bodeau-Livinec, M.D., Ph.D., IRD UMR 216, Mère et enfant aux infections tropicales, Paris, France, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, Rennes, France, [florence.bodeau-livinec@ehesp.fr](mailto:florence.bodeau-livinec@ehesp.fr)

Michel Cot, M.D., Ph.D., IRD UMR 216, Mère et enfant aux infections tropicales, Paris, France, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France, [michel.cot@ird.fr](mailto:michel.cot@ird.fr)

Ghislain K. Koura, M.D., Ph.D., IRD UMR 216, Mère et enfant aux infections tropicales, Paris, France, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France, [kourakobtoghislain@yahoo.fr](mailto:kourakobtoghislain@yahoo.fr)

Michael J. Boivin, International Neurologic and Psychiatric Epidemiology Program, Michigan State University, East Lansing, MI, USA, [Michael.Boivin@hc.msu.edu](mailto:Michael.Boivin@hc.msu.edu)

Corresponding author : Florence Bodeau-Livinec, M.D., Ph.D., IRD UMR 216, Mère et enfant aux infections tropicales, Paris, France, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, Rennes, France, [florence.bodeau-livinec@ehesp.fr](mailto:florence.bodeau-livinec@ehesp.fr)

### **Abstract**

More than 50% of women develop moderate anemia during pregnancy with about 5-10% of women developing severe anemia in Sub-Saharan Africa. Severe anemia increases the risk of mortality and morbidity in mothers, but there is limited information on anemia during pregnancy and cognitive outcome in childhood despite the very high prevalence of anemia in Sub-Saharan Africa. The main goal of this research project is to study the relationship between anemia in pregnancy and cognitive function in childhood. This study takes advantage of a group of infants born following a randomized controlled trial of intermittent preventive treatment for malaria in women during pregnancy funded by the European Union. Mothers have been followed from the second trimester of pregnancy until delivery including at least three blood samples with infections (malaria) and micronutrient deficiencies analyses. Offspring are assessed with the Mullen Scales of Early Learning (MSEL) at 12 months of age. A blood draw is also performed assessing Hb concentration, infections (malaria), iron deficiency and lead in blood. So far, preliminary results show significant associations between impaired development and both environmental and care-giving quality risk factors.

## **Background**

**Burden of anemia in pregnancy:** In developing countries, over 50% of pregnant women are anemic [1]. Thirty to fifty percent of these women have iron deficiency anemia (IDA) compared with a much lower prevalence of IDA among pregnant women in developed countries where diets and iron supplementation are better [2]. Maternal anemia as it affects child development is an excellent illustration of the interconnected feed-downward (culture- and context-driven) and feed-upward (neurobiology-driven) interactive processes and developmental plasticity that are at the core of the co-constructivist approach [3]. In other words, the environmental/cultural context contributes to maternal anemia, subsequently shaping the child's brain/behavior development across the life-span (pre- and post-natally). Maternal anemia affects the child initially in terms of the gestational neurobiological environment for the child *in utero*, then in maternal health and quality of caregiving in infancy and early childhood, and following into middle childhood through household nutritional and parasitic risk factors that contribute to the mother's chronic anemia, which extend to the child as he or she grows into adulthood. For women, these co-constructivist dynamics extend across generations as the developing girl, herself, later becomes a chronically anemic mother.

**Physiopathology in pregnancy:** During pregnancy, the amount of iron required to increase the red cell mass, expand the plasma volume, and allow for the growth of the fetal-placental unit increases significantly. Oxygen carrying capacity is proportional to the circulating hemoglobin concentration. From a physiologic perspective, the evidence is clear that moderate anemia is undesirable [4].

**Risk factors for anemia in pregnancy:** Malaria and iron deficiency are important and well-known risk factors for anemia during pregnancy. It is estimated that 26% of severe anemia among pregnant women can be attributed to malaria and around 50% to iron deficiency. The prevalence of fetal anemia at birth is high in malaria-endemic areas, and the risk is associated with the presence of high-density parasitaemia in the mother at delivery. Other risk factors include helminth infections with hookworms and schistosomes, multiple pregnancy, urinary tract infection, sickle cell disease, micronutrients deficiency (folic acid), under nutrition, and poor antenatal care [5]. Our study in Benin, which is a

small Francophone country in West Africa that is very impoverished, confirmed the role of these factors [6]. Relationships between iron deficiency (ID) and infections are unclear, as is the role of specific infections (malaria, hookworm, urinary tract infection, bacterial vaginosis). The risk of iron deficiency anemia is increased with parity: nearly 3-fold higher for women with 2-3 children and nearly 4-fold greater for women with 4 or more children [7]. The following genetic factors may be risk factors for anemia: hemoglobin C trait found in 10% of Beninese people, sickle cell disease found in 4% of Beninese newborns. The prevalence of sickle cell trait is 22% in Cotonou in Benin [8].

**Consequences of anemia and ID in pregnancy on the outcomes in children:** Preterm delivery and low birth weight: Early anemia has been associated with an increased risk of preterm delivery [9,10]. Allen suggested three potential mechanisms whereby maternal IDA might give rise to preterm delivery: hypoxia, oxidative stress, and infection [11]. Chronic hypoxia from anemia could initiate a stress response, followed by the release of corticotropin-releasing hormone (CRH) by the placenta, increased production of cortisol by the fetus, and an early delivery. Some studies, including our study in Benin [12], have shown a link between anemia during pregnancy and preterm and low birth weight babies [13]. No study, to our knowledge, however, has investigated the long-term outcomes of these children.

Anemia and ID in the fetus: Results regarding maternal hemoglobin concentrations at or near term and cord blood hemoglobin concentrations are not consistent [14,15]. Evidence, largely collected among infants aged 6–12 months, is accumulating that children born to anemic mothers have lower iron stores, even when they are born at term and with a normal birth weight [16,17,18,19,20,21]. It is known that iron is preferentially allotted to red blood cells. When iron supply is insufficient, the fetal brain may be at risk, even if the infant is not anemic[22]. In pre-anemic pregnant women, low ferritin concentrations also correlate with lower serum ferritin concentrations in the neonate [23]. Iron deficiency can be remedied at any point; its consequences, however, cannot. According to Allen, more studies that assess the relationship between the iron status of pregnant women and the iron status of their infants postpartum are needed. Maternal anemia and subsequent infant health and development also deserve further study.

Cognitive outcomes and mental health: In infants and preschool children, iron-deficiency anemia results in developmental delays and behavioral disturbances (decreased motor activity, social interaction, and attention to tasks) [24,25]. In South Africa, Perez et al. found that infants whose mothers were anemic in the early postpartum scored worse on developmental tests at 10 weeks and 9 months of age compared with infants whose mothers were not anemic [26]. In the US, Tamura et al. found an association between fetal iron status (umbilical cord serum ferritin concentrations) and lower scores on mental and psychomotor development tests [27]. Recent studies suggested a potential impact of maternal iron deficiency during pregnancy on a child's mental health and cognitive outcomes, but none showed an association [28,29,30,31]. To our knowledge, data related to maternal anemia and infant behaviour is limited [32].

Given the potential huge impact of anemia and ID during pregnancy on childhood outcomes and the lack of data, we proposed our present developmental assessment research program. Our study in Benin follows children of 12 months of age in order to evaluate these relationships between maternal anemia, ID, and subsequent developmental outcomes for the children.

### **Hypothesis**

The central hypothesis in our research program is that anemia in pregnancy and maternal iron deficiency are associated with adverse developmental outcomes and that the degree of anemia is associated with the degree of adverse outcomes. Possible mechanisms are decreased brain development due to iron deficiency, through the higher risk of low birth weight (LBW) and preterm births, through a higher risk of anemia and iron deficiency at birth linked to poorer developmental and mental health outcomes, or through hypoxia in pregnancy (severe and/or chronic).

### **Objectives**

Our goal is examine the cognitive function of children as a result of anemia in pregnancy. Lower scores on cognitive assessment are expected with decreasing levels of hemoglobin, adjusting for pre and post natal factors known to be associated with cognitive function in childhood.

## **Methods**

### **Study design**

The study included a follow-up by 12 months of age of children born in Benin within a multi-country randomized controlled trial (RCT) funded by the European Commission (MiPPAD project). Offspring from the first 1005 pregnant women enrolled in this RCT comparing Mefloquine (MQ) and sulfadoxine-pyrimethamine (SP) for intermittent preventive treatment for malaria during pregnancy (IPTp) are assessed.

### **MiPPAD Trial**

The main outcome studied was low birth weight. The pregnant women were recruited from January 2010 to May 2011. All pregnant women who attended an antenatal care visit (ANC) during the second trimester of pregnancy were invited to participate. The exclusion criteria included psychiatric disease, neurological disease, or HIV infection. With informed consent, pregnant women were randomly assigned to either SP or MQ. If the gestational age at this visit coincided with the fundus being palpable (at least 13 weeks of gestation), the first dose of IPTp (either SP or MQ) was administered. The second dose of SP/MQ was administered coinciding with the next ANC visit at least one month after the previous dose. All IPTp doses were administered under supervision.

### **Variables**

- **Variables recorded in 1005 pregnant women**

At the time of recruitment, parity, maternal age, gestational age (date of last menstrual period and uterine height), gravidity, history of previous preterm birth, low birth weight, miscarriage, stillbirth were recorded. Socio-economic status including variables such as supplied latrines, supplied electricity, mother's education level, father's education level, marital status, literacy (reading, writing) were recorded. The mothers were screened for sickle cell disease and hemoglobin C trait using electrophoresis. Three times during pregnancy (at the 1<sup>st</sup> IPTp administration, at the 2<sup>nd</sup> IPTp administration, and at delivery), blood samples of the cohort women were evaluated for hemoglobin concentration (Hb), serum ferritin, C-reactive protein (CRP), folic acid, vitamin B12, and malaria

(parasite density and placental malaria). Anthropometric measurements for pregnant women were recorded at each visit: weight and height at first ANC to calculate the BMI, weight at each antenatal visit, total weight gain during pregnancy. Helminths (ankylostomiasis especially prevalent in Benin) were systematically searched with the KATO test. Other pregnancy complications recorded were mortality, urinary tract infection, haemorrhage during pregnancy, and other infections. The number of antenatal care visits was recorded. Anemia was defined as severe ( $Hb < 80$  g/l), moderate ( $Hb \geq 80$  and  $< 100$  g/l), mild ( $Hb \geq 100$  and  $< 110$  g/l) and no anemia ( $Hb \geq 120$  g/l).

- **Variables in infants at birth, 1, 9 and 12 months in offspring**

At delivery, newborns were weighed and measured and their gestational age assessed by the Ballard score [33]. Birth defects and infant's gender were recorded.

Children follow-up is on-going. Anthropometric measurements in infants are assessed at 1, 9 and 12 months, including child weight (measured in kg), length (measured in cm using a measuring board), mid-arm circumference, and head circumference (measured in cm using a measuring tape).

Blood samples in infants at birth, 1, 9 and 12 months of age are collected to assess Hb and malaria. Additional blood samples may be collected in case of emergency. Additional assessments of serum ferritin, CRP, and blood lead are performed at 12 months. Sickle cell disease and hemoglobin C are sought by electrophoresis. At 12 months of age, motor and cognitive functions are evaluated according to the Mullen Scales of Early Learning (MSEL). Mothers are asked about their child's potential deficiencies through the Ten Questions Questionnaire (TQQ). Nutrition in infants, especially breastfeeding, is assessed through a questionnaire. At one year of age, anemia is defined as Hb concentration  $< 110$  g/l [34].

- **Variables in mothers when offspring is one year of age**

Maternal depression is evaluated when offspring is one year of age through the Edinburgh Postnatal Depression Scale, which was already in use in Uganda [34,35]. Maternal interaction with the child is evaluated through the use of the HOME inventory subscales [35]. Maternal non-verbal IQ is collected at one year post-partum through the RAVEN Progressive Matrices Test.



**Preliminary Findings.** Our findings after the assessment of approximately 320 1-year old children at the mid-way point of our follow-up data collection are very preliminary. However, we are seeing a clear and significant association between impaired development and both environmental and caregiving quality risk factors. At this point maternal depression does not seem to be related to child Mullen outcomes at one year of age. This conclusion is based on a preliminary evaluation of overall child cognitive ability as measured by the Mullen Early Learning Scales composite score as it relates to maternal cognitive ability (Raven's Progressive Matrices Test), quality of caregiving (Caldwell HOME scale), and SES (physical quality of the home).

When all follow-up data has been completed, we will use the Directed Acyclic Graph (DAGs) as developed by Hernan and others [36]. Within this strategy of analysis, causal diagrams will be used and will consider a priori causal knowledge. The role of each factor in relation to the exposure (anemia) and the outcome (cognitive function) will be considered according to a priori assumptions about the underlying biologic mechanisms. The role of covariates may include confounding, mediating or effect modification. The analysis will be adapted accordingly as described below.

To study the total effect of anemia in pregnancy on cognitive development, we will take into account potential confounding factors (model 1 (figure 1)). Important variables will be considered as adjustment factors (potential confounding) in the final analyses and will include lead exposure (found to be significant in a preliminary sample of our children); malaria during pregnancy; maternal malnutrition; micronutrient deficiencies (iron, vitamin B12, folic acid); socio-economic status; maternal age; gravidity; number of antenatal care visits; hemorrhage during pregnancy and other pregnancy complications; other infections in pregnancy, especially helminthes and urinary infections; nutrition in infancy (including breastfeeding); malaria during the first year of life; iron deficiency at 12 months. Of note, the variables preterm birth, LBW, and anemia at birth and in infancy might be confounding factors as they may share common causes with anemia [37,38,39,40] during pregnancy and are risk factors for poor cognitive development [41]. We will adjust for these common causes

(socio-economic factors, malaria during pregnancy, maternal age, gravidity, number of antenatal care visits, maternal nutrition, maternal BMI), in order to remove possible confounding.

To study the direct effect of anemia in pregnancy on cognitive development, in addition to the variables adjusted for in Model 1 (Figure 1), we will take into account potential intermediate factors that may be in the causal pathway between anemia during pregnancy and cognitive outcome (Model 2 (Figure 2)). The variables preterm births, LBW, and anemia at birth and in infancy may be intermediate factors, because they may be in the causal pathway between anemia during pregnancy and cognitive function later in childhood. Anemia during pregnancy may be a risk factor for preterm birth, LBW, and anemia at birth and in infancy [17,42] (Koura, personal communication). All of these factors are risk factors for poor development in childhood [41]. If we find a relationship between these variables (anemia at birth and in infancy, preterm birth, low birth weight) and first, anemia during pregnancy and second, cognitive function, we will consider them as potential intermediate factors. Comparing models adjusting for preterm birth, LBW, anemia in infancy to models excluding them will give us some insight into mechanisms. For instance, if estimates are different in the two models (Model 1 in the DAG above adjusted for socio-economic factors, malaria during pregnancy, maternal age, gravidity, number of antenatal care visits, maternal nutrition, BMI, prenatal infections and Model 2 adjusted for the same factors and LBW that is assessing the direct effect of anemia during pregnancy on cognitive function in infancy), it could mean that LBW is an intermediate factor in the pathway between maternal anemia and cognitive outcome. If these estimates are not different in these two models, it could mean that LBW is not an intermediate factor [42]. The same strategy applies to other potential intermediate factors.

We will also use another method to explore preterm births, LBW, and anemia at birth and in infancy as intermediate factors. We will apply Model 1 in the following sub-populations: term babies weighting more than 2500g at birth, expected to be 82.7% of our sample and babies with anemia at birth, expected to be 61.1% of our sample. This may provide information about the direct effect of anemia during pregnancy on cognitive function at one year of age in these populations. The same strategy will apply to study the association between iron-deficiency anemia and child development.

Figure 1: DAG for the total effect of anemia in pregnancy on cognitive function in childhood

Model 1 adjusted for potential confounding factors:

Causes of anemia and cognitive function: socio-economic status, micronutrients deficiencies, prenatal infections (including malaria, helminths)

Anemia in pregnancy

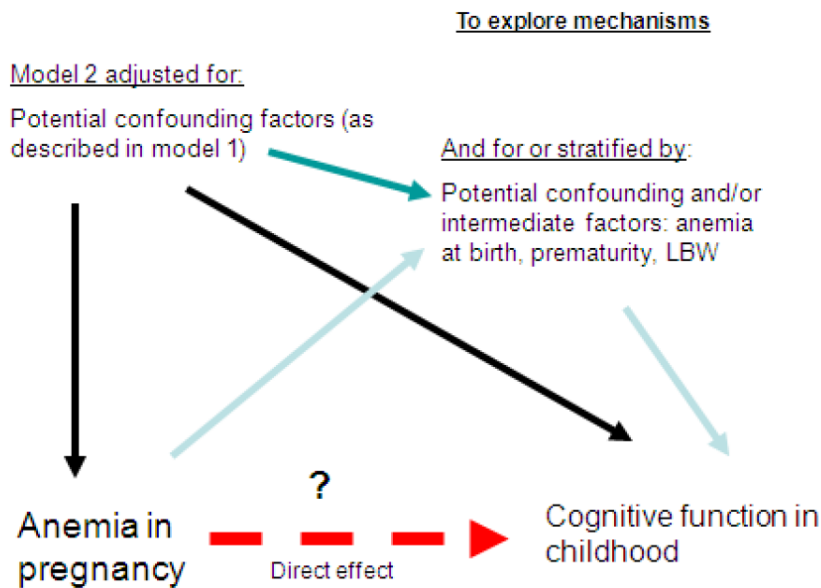
— ? —  
Total effect

Cognitive function in childhood

Common causes

Infant nutrition (including breastfeeding), iron-deficiency at 12 months, malaria in infancy

Figure 2: DAG for the direct effect of anemia in pregnancy on cognitive function in childhood



#### Possible Interventions and Conclusions.

Various interventions have been proposed to improve early child development in low-income countries. The majority consist of parenting interventions in the postnatal preschool period that promote interactions between the children and their parents in the fields of education, learning, and feeding [43]. Although the problems of intrauterine growth restriction (IUGR) and exposure to toxic agents (e.g. lead) and parasitic diseases (mainly malaria in endemic areas) have been identified as risk factors for impaired child development, very few interventions have been attempted involving pregnant women, and to our knowledge, none of these have specifically evaluated the impact of existing measures to prevent maternal anaemia on child development.

Presently, following WHO recommendations [44], a policy of micronutrient supplementation (iron and folic acid) is made available to all pregnant women in the majority of sub-Saharan African countries. In Benin, as in most malaria-endemic areas, IPTp with sulfadoxine-pyrimethamine is also

given twice in the course of pregnancy, along with the distribution of insecticide treated bednets at the first antenatal visit. National guidelines also recommend that women should be systematically given an antihelminthic treatment with mebendazole at the same time as IPTp intakes. Such measures, if correctly implemented, should logically improve both the haematological status of the women and the cognitive development of their children. However, it is not clear if some of these interventions might be detrimental for child development. For example, supplementation of children with iron and folic acid has been shown to be detrimental in populations with high rates of malaria transmission, because iron given to non-anaemic children may induce favourable conditions for the parasite multiplication and an increased risk of severe illness in supplemented children [45].

As a wide panel of prevention measures are already applied to pregnant women in low-income countries to decrease the burden of anaemia, one of the main priorities for future research would be to evaluate carefully the effects of these interventions (both protective and potentially detrimental) in reducing developmental impairment in the children [46]. It will then be time to conclude on the role of maternal anaemia (and specifically iron deficiency anaemia) on child development and to propose new interventions in pregnancy with broader objectives, including the prevention of IUGR.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

We are grateful to Pr Karen Day from New York University School of Medicine, Pr Leslie Davidson from the Mailman School of Public Health from Columbia University in the US and Pr Achille Massougbodji from the Faculté des Sciences de la Santé in Benin for their support and advices for this study and Anne B. Giordani, PhD. ELS, for editorial assistance.

### **FINANCIAL SUPPORT**

This study is supported through EDCTP and through a grant (R21-HD060524) from the National Institutes of Health.

## REFERENCES

1. WHO (1998) Global Database on Child Growth and Malnutrition. . Geneva, WHO.
2. MMWR PICD Prevention Anemia during Pregnancy in Low-Income Women. United States, 1987 February 09, 1990 / 39(5);73-76,81.
3. Li SC (2003) Biocultural orchestration of developmental plasticity across levels: The interplay of biology and culture in shaping the mind and behavior across the life span. *Psychological Bulletin* 129: 171-194.
4. Yip R (2000) Significance of an abnormally low or high hemoglobin concentration during pregnancy: special consideration of iron nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 72: 272S-278S.
5. Geelhoed D, Agadzi F, Visser L, Ablordeppey E, Asare K, et al. (2006) Severe anemia in pregnancy in rural Ghana: a case-control study of causes and management. *Acta Obstetrica Et Gynecologica Scandinavica* 85: 1165-1171.
6. Ouédraogo S KG, Accrombessi M, Massougbdji A, Bodeau-Livinec F, Cot M (2012) Maternal anaemia at first antenatal visit: Prevalence and aetiologies in a West African malaria endemic area. *Am J Trop Med Hyg* (in press).
7. Looker AC, Dallman PR, Carroll MD, Gunter EW, Johnson CL (1997) Prevalence of iron deficiency in the United States. *Jama-Journal of the American Medical Association* 277: 973-976.
8. LATOUNDI S AL, ABLET E, ZOHOUN I (1991) Morbidite et mortalite drepanocytaire au Benin. . *Médecine d'Afrique Noire* 38 (8/9).
9. Xiong X, Buekens P, Alexander S, Demianczuk N, Wollast E (2000) Anemia during pregnancy and birth outcome: A meta-analysis. *American Journal of Perinatology* 17: 137-146.
10. Scanlon KS, Yip R, Schieve LA, Cogswell ME (2000) High and low hemoglobin levels during pregnancy: Differential risks for preterm birth and small for gestational age. *Obstetrics and Gynecology* 96: 741-748.
11. Allen LH (2001) Biological mechanisms that might underlie iron's effects on fetal growth and preterm birth. *Journal of Nutrition* 131: 581S-589S.
12. Bodeau-Livinec F, Briand V, Berger J, Xiong X, Massougbdji A, et al. (2011) Maternal Anemia in Benin: Prevalence, Risk Factors, and Association with Low Birth Weight. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 85: 414-420.
13. van den Broek N (2003) Anaemia and micronutrient deficiencies. *British Medical Bulletin* 67: 149-160.
14. Allen LH (2000) Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1280S-1284S.
15. Brabin BJ, Kalanda BF, Verhoeff FH, Chimsuku LH, Broadhead RL (2004) Risk factors for fetal anaemia in a malarious area of Malawi. *Annals of Tropical Paediatrics* 24: 311-321.
16. Strauss MB (1933) Anemia of infancy from maternal iron deficiency in pregnancy. *Journal of Clinical Investigation* 12: 345-353.
17. Colomer J, Colomer C, Gutierrez D, Jubert A, Nolasco A, et al. (1990) Anaemia during pregnancy as a risk factor for infant iron deficiency: report from the Valencia Infant Anaemia Cohort (VIAC) study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 4: 196-204.
18. Kilbride J, Baker TG, Parapia LA, Khoury SA, Shuqaidef SW, et al. (1999) Anaemia during pregnancy as a risk factor for iron-deficiency anaemia in infancy: a case-control study in Jordan. *International Journal of Epidemiology* 28: 461-468.
19. Morton RE, Nysenbaum A, Price K (1988) IRON STATUS IN THE 1ST YEAR OF LIFE. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 7: 707-712.
20. Preziosi P, Prual A, Galan P, Daouda H, Boureima H, et al. (1997) Effect of iron supplementation on the iron status of pregnant women: consequences for newborns. *American Journal of Clinical Nutrition* 66: 1178-1182.

21. Ahmad SH, Amir M, Ansari Z, Ahmed KN (1983) Influence of maternal iron deficiency anemia on the fetal total body iron. *Indian Pediatr* 20: 643-646.
22. Lozoff B, Georgieff MK (2006) Iron deficiency and brain development. *Semin Pediatr Neurol* 13: 158-165.
23. Lao TT, Loong EPL, Chin RKH, Lam CWK, Lam YM (1991) RELATIONSHIP BETWEEN NEWBORN AND MATERNAL IRON STATUS AND HEMATOLOGICAL INDEXES. *Biology of the Neonate* 60: 303-307.
24. Pollitt E (1993) IRON-DEFICIENCY AND COGNITIVE FUNCTION. *Annual Review of Nutrition* 13: 521-537.
25. Idjradinata P, Pollitt E (1993) REVERSAL OF DEVELOPMENTAL DELAYS IN IRON-DEFICIENT ANEMIC INFANTS TREATED WITH IRON. *Lancet* 341: 1-4.
26. Perez EM, Hendricks MK, Beard JL, Murray-Kolb LE, Berg A, et al. (2005) Mother-infant interactions and infant development are altered by maternal iron deficiency anemia. *Journal of Nutrition* 135: 850-855.
27. Tamura T, Goldenberg RL, Hou JR, Johnston KE, Cliver SP, et al. (2002) Cord serum ferritin concentrations and mental and psychomotor development of children at five years of age. *Journal of Pediatrics* 140: 165-170.
28. Insel BJ, Schaefer CA, McKeague IW, Susser ES, Brown AS (2008) Maternal iron deficiency and the risk of schizophrenia in offspring. *Archives of General Psychiatry* 65: 1136-1144.
29. Hernandez-Martinez C, Canals J, Aranda N, Ribot B, Escribano J, et al. (2011) Effects of iron deficiency on neonatal behavior at different stages of pregnancy. *Early Human Development* 87: 165-169.
30. Mihaila C, Schramm J, Strathmann FG, Lee DL, Gelein RM, et al. (2011) Identifying a Window of Vulnerability during Fetal Development in a Maternal Iron Restriction Model. *Plos One* 6.
31. Christian P, Murray-Kolb LE, Khatry SK, Katz J, Schaefer BA, et al. (2010) Prenatal Micronutrient Supplementation and Intellectual and Motor Function in Early School-aged Children in Nepal. *Jama-Journal of the American Medical Association* 304: 2716-2723.
32. Vaughn J, Brown J, Carter JP (1986) THE EFFECTS OF MATERNAL ANEMIA ON INFANT BEHAVIOR. *Journal of the National Medical Association* 78: 963-968.
33. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilerswalsman BL, et al. (1991) New Ballard Score, expanded to include extremely premature-infants. *Journal of Pediatrics* 119: 417-423.
34. WHO/UNICEF/UNU. (1997) Indicators for Assessing Iron Deficiency and Strategies for Its Prevention. . WHO, Geneva, Switzerland.
35. Caldwell BM BR (2001) *HOME Inventory Administration Manual*. . Little Rock: Center for Research on Teaching & Learning.
36. Hernan MA, Hernandez-Diaz S, Werler MM, Mitchell AA (2002) Causal knowledge as a prerequisite for confounding evaluation: An application to birth defects epidemiology. *American Journal of Epidemiology* 155: 176-184.
37. Calis JCJ, Phiri KS, Faragher EB, Brabin BJ, Bates I, et al. (2008) Severe anemia in Malawian children. *New England Journal of Medicine*, The 358: 888-899.
38. Bodeau-Livinec F BV, Berger J, Xiong X, Massougbodji A, Day KP, Cot M. (2011) Maternal anemia in Benin: Prevalence, risk factors and association with low birth weight. *Am J Trop Med Hyg* in press.
39. Berkowitz GS, Papiernik E (1993) Epidemiology of preterm birth. *Epidemiologic Reviews* 15: 414-443.
40. Siza JE (2008) Risk factors associated with low birth weight of neonates among pregnant women attending a referral hospital in northern Tanzania. *Tanzania journal of health research* 10: 1-8.
41. Walker SP, Wachs TD, Gardner JM, Lozoff B, Wasserman GA, et al. (2007) Child development in developing countries 2 - Child development: risk factors for adverse outcomes in developing countries. *Lancet* 369: 145-157.



42. Bodnar LM, Ness RB, Harger GF, Roberts JM (2005) Inflammation and triglycerides partially mediate the effect of prepregnancy body mass index on the risk of preeclampsia. *American Journal of Epidemiology* 162: 1198-1206.
43. Engle PL, Fernald LCH, Alderman H, Behrman J, O'Gara C, et al. (2011) *Child Development* 2 Strategies for reducing inequalities and improving developmental outcomes for young children in low-income and middle-income countries. *Lancet* 378: 1339-1353.
44. WHO (2001) *Iron deficiency Anaemia: assessment, prevention and control*.
45. Sazawal S, Black RE, Ramsan M, Chwaya HM, Stoltzfus RJ, et al. (2006) Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 367: 133-143.
46. Walker SP, Wachs TD, Grantham-McGregor S, Black MM, Nelson CA, et al. (2011) *Child Development* 1 Inequality in early childhood: risk and protective factors for early child development. *Lancet* 378: 1325-1338.

## Article 3

**Koura GK, Boivin JM, Davidson LL et al.** Usefulness of child development assessments for one year old children in a low resource setting. (Article soumis dans la revue Pediatrics).

### **Usefulness of child development assessments for one year old children in a low resource setting**

Ghislain K. Koura<sup>1,2,3</sup>, MD, MPH, Michael J. Boivin<sup>4</sup>, PhD, Leslie L. Davidson<sup>5</sup>, PhD, Smaïla Ouédraogo<sup>1,2,3,6</sup>, MD, PhD, Roméo Zoumenou<sup>6,7</sup>, MSc, Jules M. Alao<sup>6</sup>, MD, André Garcia<sup>1,2</sup>, MD, PhD, Achille Massougbdji<sup>6,7</sup>, Prof, Michel Cot<sup>1,2</sup>, MD, PhD and Florence Bodeau-Livinec<sup>1,2,8</sup>, MD, PhD.

<sup>1</sup> IRD UMR216, Mère et enfant face aux infections tropicales, Paris, France

<sup>2</sup> Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris, France

<sup>3</sup> Université Pierre Marie Curie, Paris, France

<sup>4</sup> International Neurologic and Psychiatric Epidemiology Program, Michigan State University, East Lansing, MI, USA

<sup>5</sup> Mailman School of Public Health, Columbia University, NY, USA

<sup>6</sup> Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

<sup>7</sup> Centre d'Etudes et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfant, Cotonou, Bénin

<sup>8</sup> Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, Rennes, France

**Corresponding Author:** Ghislain K. Koura. 222, Rue de Crimée. 75019 Paris FRANCE. Tel: +33658952820. Email: [kourakobtoghislain@yahoo.fr](mailto:kourakobtoghislain@yahoo.fr)

**Short Title:** Child development assessments in Benin

#### **Abbreviations:**

EPDS - Edinburgh Postnatal Depression Scale

HOME - Home Observation for the Measurement of the Environment

MiPPAD - Malaria in Pregnancy Preventive Alternative Drugs

MSEL - Mullen Scales of Early Learning

NPV - Negative Predictive Value

PPV - Positive Predictive Value

RPM - Raven's Progressive matrix

TQ - Ten Questions Questionnaire

**Key words:** Child development, Mullen Scales of Early Learning, Ten Question Questionnaire, Republic of Benin

**Funding source:** This research investigation was funded by the National Institutes of Health (NIH), grant R21-HD060524.

**Financial Disclosure:** The authors have no financial relationships relevant to this article to disclose

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to disclose.

**What's Known on This Subject:** The Mullen Scales of Early Learning and the Ten Questions Questionnaire have been designed to assess child development and to screen for disabilities in children respectively. These tools have ever been used in one year old Beninese infants.

**What This Study Adds:** We showed the feasibility and usefulness of a cognitive tool for infants in Benin. The MSEL's French version and a subset of items from the TQ could be used in one year old infants in a low resource setting.

## **Abstract**

**Objective:** We checked the use of the Mullen Scales of Early Learning (MSEL) and the Ten Questions Questionnaire (TQ) in one year old Beninese children, a Francophone country.

**Methods:** A cross-sectional study was performed in three health centers in the district of Allada, a semi rural area in Benin. Three hundred and fifty seven children aged 12 months and their mothers were included between May and December 2011. Infant development was assessed using the MSEL at local health centers followed by a home visit to collect information on socio-economic status, non-verbal maternal intellectual quotient, maternal depressive symptoms, and mother-child interactions. The TQ was also administered in the home visit.

**Results:** We found associations between infant's cognitive development and known risk factors such as infant's sex, family wealth, maternal education, maternal intellectual quotient and infant current home environment. We also found that Gross Motor scale on the MSEL was significantly related to maternal answers to motor questions on the TQ. Finally, it was found that using the two motor related questions on the TQ showed excellent sensitivity and good specificity for serious decreases in both the Gross Motor and the Composite Scales of the MSEL.

**Conclusions:** The MSEL seems to be able to identify children at risk for poor cognitive development. Therefore, it is a useful test for providing such outcomes in francophone West Africa. A subset of the TQ may be useful in identifying one year old infants with poorer neurodevelopment.

## **Introduction**

The early years, from birth to five years old, are the most important period of growth and development in children's life. Children develop slowly the abilities to walk, to talk, to write, to express themselves and also to communicate with the world around them. Children's development is complex and include multiple and interdependent domains as follow: social-emotional, language, cognitive, behavioral development and functional capacity.<sup>1</sup> In addition, children's development is strongly influenced by biological risk factors, psychosocial risk factors and by poverty.<sup>1-6</sup>

In high income countries many tools have been developed for the last forty years to assess children's development. However, there are fewer tools available in low income countries, and no standardized tool has been used so far to our knowledge in Benin.

On the occasion of a prospective birth cohort study which aims to study impact of maternal anaemia on infant cognitive development in Benin, the Mullen Scales of Early Learning (MSEL) and the Ten Questions Questionnaire (TQ) have been used to assess infants' cognitive development and to screen for disabilities in one year old children, respectively. The MSEL is an individually administered comprehensive measure of cognitive functioning for infants and preschool children, from birth through 68 months.<sup>7</sup> The MSEL has been widely used in high income countries.<sup>8-12</sup> The TQ has been designed to screen for disabilities in children from 2 to 9 years old. It is a rapid and low cost screen to identify children's disabilities in low income countries and has never been used in one year old children.

Our goal was to provide tools to assess infant motor and cognitive development and to screen for poor infant development in a rural setting in a French speaking African country. Specifically, first, we studied predictors for poor child development, using scores derived from MSEL and known risk factors at one year old, and second we studied the validity of a

subset of the TQ in one year old Beninese children considering the MSEL as the gold standard.

## **Methods**

### **Study design**

The study population includes the first 357 of 700 children born from mothers enrolled in a trial comparing two Intermittent Preventive Treatments for malaria, the MiPPAD (Malaria in Pregnancy Preventive Alternative Drugs) study in Benin, West Africa. All singleton births have been included. Pregnant women have been followed from the second trimester of pregnancy to delivery, and offspring from birth to 12 months of life. The present TOVI project assesses children at 12 months of age and will be completed by December 2012.

### **Study site and population**

The study was performed in the district of Allada, a semi rural area located 50 km north of Cotonou in Benin. The study participants were recruited in three health centers: Allada, Attogon and Sékou. The study population, composed of children aged 12 months and their mothers, were included between May and December 2011.

### **Data collection procedure**

At local health centers, infant development was assessed by research nurses trained specifically for the Mullen Scales of Early Learning and children's weight was measured. Three days later, a home visit was performed by a different nurse or a psychologist. During this visit, a questionnaire on socio-economic status, the Raven matrix, the EPDS, and the Home Observation for the Measurement of the Environment (HOME) Inventory were collected. The TQ was also administered in the home visit.

## Measures

### *Mullen Scales of Early Learning (MSEL)*

The MSEL is an individually administered comprehensive measure of cognitive functioning for infants and preschool children, from birth through 68 months.<sup>13</sup> It covers various domains of children's development. The five Mullen Scales are Gross Motor, Fine Motor, Visual Reception, Receptive Language and Expressive Language. After scoring all items and computing raw scores, these raw scores were converted into a normative score called *T* score for each of the five Mullen Scales. *T* scores from the Fine Motor, Visual Reception, Receptive Language and Expressive Language scales were converted into the Early Learning Composite score. The Early Learning Composite provides the general cognitive factor underlying all cognitive performances.<sup>13</sup>

### *Translation and adaptation of the MSEL*

The translation and adaptation of the MSEL were performed in four steps: Linguistic translation, Review, Training and Pilot testing.

In the step of linguistic translation following the recommendations of the WHO, the measures were first translated from English into French by a psychologist and next, the measures were independently back translated from French to English by another psychologist. Both English versions were compared for accuracy by the PI and a pediatric epidemiologist and translation modified accordingly. The MSEL has been marginally modified to make use of tools available locally in the field. For example, small potato chips were used instead of cheerios. The back translation has been adopted by Pearson's assessment, the company holding the MSEL copyright. The MSEL instructions to the infant have been translated into Fon, the local language.

A pilot study was performed enrolling 47 children. At the end of the pilot study, nurses' administration and scoring have been audited and reviewed before children enrollment for the study.

### ***Ten Questions Questionnaire (TQ)***

It is a short questionnaire (10 questions) which includes questions addressing the child's vision, hearing and seizures, cognitive development, and motor development.<sup>1415</sup> Although it was designed for children from 2 to 9 years old, we used it in one year old children, excluding Question 9, related to speech.

### ***Socioeconomic status***

We used two variables to assess family socio economic status.<sup>16</sup> The first variable was the family wealth and maternal education. The family wealth was assessed using a scoring instrument incorporating a checklist of material possessions (radio, television, bike, motorbike, car), possession of cows and access to electricity. Maternal education included schooled and unschooled.

### ***Home environment***

The quality of the home environment was measured by the Home Observation for the Measurement of the Environment (HOME).<sup>17</sup> The HOME is used to assess the stimulation and learning opportunities offered by the child's home environment. Some questions of this tool have been adapted for Benin's cultural context.

### ***Raven's Progressive matrix (RPM)***

Raven's Progressive Matrix, a widely used non-verbal test, was used to assess maternal intellectual quotient.<sup>18</sup> The matrix is made up of a series of diagrams or designs with a part

missing. The mother is expected to select the correct part to complete the designs from a number of options printed beneath.

### ***Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS)***

We used the EPDS to assess maternal depressive symptoms as already been used in previous studies in Africa.<sup>19-21</sup> Scores derived from the EPDS was analyzed first as continuous variable. Then we constructed a binary variable by using the recommended cutoff of symptoms, a score higher than 9. The EPDS, already available in French, was translated into Fon for administration to mothers.

### **Statistical analysis**

Our statistical analysis was performed in three steps.

In the first step, we described demographic characteristics overall and by gender.

Second, we performed univariate analyses to study the associations between the scores derived from the Mullen Scales (Early Learning Composite, Gross Motor, Visual Reception, Fine Motor, Receptive Language and Expressive Language) and the covariates (infant's sex, home environment, family wealth, marital status, maternal depression symptoms, maternal intellectual quotient and maternal education). Pearson's correlations were used to assess associations between quantitative variables. Means were compared using Student's test. Finally, a multiple linear regression has been performed to study predictors of lower scores on the early composite and the gross motor scales. Covariates included in the multivariate analysis were selected based on our results and according to the literature.

In the third step, associations between scores derived from MSEL and nine items of the TQ were examined. TQ was considered as positive if one of the questions was positive. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV)



of a subset of the TQ were computed considering the MSEL as the gold standard. The analysis was based on the US normative cutoffs: mean minus one standard deviation for mild delays (39.7 for Gross Motor Score and 83.9 for Composite Score), and then the mean minus two standard deviations for moderate delays (29.3 for Gross Motor Score and 68.5 for Composite Score).

Double data entry was performed using Epidata<sup>®</sup>. Chi-square tests (or Fischer's exact test as appropriate) *t*-tests were used to compare percentages and means, respectively. A *P*-value < 0.05 was considered significant. All the analyses were performed with Stata software, version 11.0.

### **Ethics**

The study's protocol was approved by the University of Abomey-Calavi's institutional review board, New York University, Michigan State University institutional review boards and the IRD's Consultative Ethics Committee. All women who participated in this study signed informed consent before enrollment.

### **Results**

#### **Demographic characteristics**

Three hundred and fifty-nine subjects were included between April and December 2011. We excluded 2 subjects for whom no information was collected. Our analyses were conducted on 357 subjects (180 boys and 177 girls). The follow-up rate was 71%. The mean of MSEL administration's length was 34 minutes (SD 8.3). There was no difference between boys and girls, but for Receptive Language score and maternal depression status (Table 1). The Mullen composite score was lower in boys [96.9 (SD 13.2)] compared to girls [99.7 (SD 13.8)]

(borderline significance,  $P=.05$ ). Receptive Language similarly was lower in boys [45.0 (SD 6.7)] than in girls [46.5 (SD 6.2)] ( $P=.026$ ). Gross Motor was not significantly higher in boys [52.1 (SD 15.8)] than in girls [50.0 (SD 14.1)] ( $P=.19$ ). EPDS score was significantly higher for woman who had girls [8.8 (SD 3.9)] than woman who had boys [7.9 (SD 3.7)] ( $P=.036$ ). According to the US normative cutoffs, 93 children (26.1%) were classified as mild motor delays, 17 (4.8%) as moderate motor delays, 54 (15.1%) as mild cognitive impairment and 9 (2.5%) as moderate cognitive delays.

### **Predictors of the developmental level using the MSEL in one year old Beninese children**

#### ***Association between scores derived from the MSEL and known risk factors for poor child development (Table 2 and Table 3)***

Table 2 presents the results of Pearson's correlations between the scores derived from MSEL and known risk factors for poor child development. We showed that the early composite score was significantly associated with home environment ( $P<.001$ ), family income ( $P=.028$ ), maternal intellectual quotient ( $P=.003$ ). Children Gross Motor development was significantly influenced by home environment ( $P<.001$ ), family wealth ( $P<.001$ ) and by children nutritional status ( $P=.018$ ). The results of Student's test were displayed in Table 3. Pearson's correlations were also run to assess associations between quantitative variables which were associated with composite score. The results were showed in Table 4. We also described a significant association between maternal education and the following variables : family income ( $P<.001$ ), home environment ( $P<.001$ ) and maternal intellectual quotient ( $P<.001$ ). Multivariate analysis showed that infant's sex, home environment and maternal education were significantly associated with a lower early learning composite score in infants ( $P=.02$ ,  $P=.004$ ,  $P=.007$  respectively). Home environment and family wealth were associated with the

gross motor scale, in the multivariate model ( $P=.03$  and  $P=.03$ , respectively), but not infant's gender.

#### **Validity of a subset of the TQ**

##### ***Association between scores derived from the MSEL and a subset of the TQ in one year old Beninese children (Table 5)***

The percentages of positive screening results were: 24% for cognitive/motor developmental milestones (Question 1), 11% for comprehension ( Question 4), 9% for movement (Question 5), 10% for seizure (Question 6), 1% for learning (Question 7), 61% for Speech (Question 8) and 4% for intellectual impairment (Question 10). No difficulty was reported for vision (Question 2) and hearing (Question 3). Using the nine questions, TQ was considered positive for 71% of children.

The Gross Motor scale from the MSEL was significantly related to motor TQ questions: cognitive/motor (mean score 40 when question positive versus 55 when question negative,  $P<.001$ ) and movement (40 versus 52, respectively,  $P<.001$ ). The Gross Motor scale was also associated with non-motor questions: comprehension ( $P<.001$ ), seizure ( $P<.05$ ) and intellectual impairment ( $P<.001$ ). Positive screening results for cognitive/motor and movement were significantly related to lower scores derived from the Mullen composite, Visual Reception, Fine Motor, Expressive and Receptive Language scales.

##### ***Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of a subset of the TQ (Table 6)***

These results are displayed in Table 6. Using the first US normative cutoff for the Gross Motor score we found that the sensitivity and the specificity of the question 1 only were 46% and 83% respectively. Concerning the question 5, its sensitivity and specificity were

respectively 17% and 94%. When we used these two questions simultaneously and for the same cutoff, the sensitivity and specificity were 47% and 81%. Using the nine questions of the TQ whose were available for one year old infants, the sensitivity was 81% and 31% for the specificity. We also calculated the properties of these questions with other US normative cutoff and considering composite score as gold standard.

### **Discussion**

In this cross-sectional study, we confirm associations between infant's cognitive development and infant's sex, family wealth, maternal education, maternal intellectual quotient and infant current home environment using the MSEL administered by trained research nurses. No association was observed between maternal depression and children cognitive development assessed by the MSEL. The multivariate analysis shows that infant's sex, home environment and maternal education are the most important predictors of poor child development.

Furthermore, Gross Motor scale was significantly related to maternal answers to motor questions on the TQ. The two motor related questions on the TQ showed excellent sensitivity and good specificity for serious decreases in both the Gross Motor and the Composite Scales of the MSEL. When we used one of the nine questions of TQ we showed an excellent sensitivity and specificity in this sample of one year old infants.

To our knowledge it is the first time the French translation of the MSEL was used in developing countries. This translation of the MSEL functioned well in this setting and was strongly associated with known risk factors for poor child development. Our results suggest that the MSEL has been well administered by nurses specifically trained for this study and shows the good feasibility in the field. Also, this tool in this population seems able to differentiate infants with poor cognitive and motor development. This is an important finding

as few tools have been validated in French speaking Africa. Our study used multiple indicators to assess socioeconomic status and maternal characteristic with standardized tools (Home, Raven, EPDS).

However our study had some limitations. A first limitation is the follow-up rate. Only 71% children have been included. This study was conducted in the context of a clinical trial. Many families have moved outside the study area before their children have one year old. In this case none follow-up was expected. Finally we did not take into account all known risk factors of poor child development such as medical risk factors (low birth weight, prematurity, and children nutritional status). This will be performed in the future when all data will be collected.

The most widely studied construct variable in the social sciences is socioeconomic status. Several ways have been proposed but most include some quantification of family income, parental education, and occupational status.<sup>16</sup> Indeed both maternal education and family income were associated with infant cognitive development. Other studies have also reported associations between family socioeconomic status and infant cognitive development.<sup>22-24</sup> However some authors showed no direct effect of socioeconomic status on child cognitive development. Abubakar et al used two measures to define socioeconomic status: family wealth and maternal education. They showed no direct relationship between socioeconomic status and psychomotor development.<sup>25</sup> In 2009, Bangirana et al. in their study on Ugandan children demonstrated that socioeconomic status is not associated with a significant difference in cognitive outcomes.<sup>26</sup> They also used maternal education and no association was found with child cognitive development.

No association was found between MSEL and maternal depression. In 1999, Cooper et al. determined the prevalence of post-partum depression and its disturbances in the mother-infant

relationship in Khayelitsha, a South African peri-urban settlement. They showed that the prevalence of maternal depression was 34.7% and maternal depression was associated with insensitive engagement with the infants.<sup>27</sup> Our result was consistent with some previous study. Indeed in 2011, Keim et al. observed no significant negative consequences to cognitive development in infancy from maternal trait anxiety, antepartum and postpartum depressive symptoms, and stress.<sup>12</sup>

When we conducted our multivariate analysis only infant's sex, maternal education and home environment were independently predicted a cognitive outcome. In 2012, Rijlaarsdam et al. have found that lower quality learning environments of young infants in netherlands was associated with expressive vocabulary delay and more internalising problems in toddlerhood.<sup>28</sup>

The validity of TQ has been widely investigated. One study was conducted in three countries (Bangladesh Jamaica and Pakistan) involving over 22.000 children. The authors found that the specificity of the TQ as a screen for serious disability was 0.92 in Bangladesh, 0.85 in Jamaica and 0.86 in Pakistan. Sensitivity for cognitive disability was 0.82 in Bangladesh, 0.84 in Pakistan and 0.53 in Jamaica.<sup>14</sup> The TQ has also been validated in India and in Kenya.<sup>29 30</sup>

All these three studies have been conducted in children from 2 to 9 years old the original age frame for which the TQ was developed. To our knowledge our study is the first to investigate the validity of the TQ in one year old infant. Our results show that the TQ as a whole is not effective or efficient in screening for neurodisability in one year old infants, but we found that Questions 1 and 5, the two questions related to motor delay and motor function may be used to screen for serious motor delay.

## **Conclusion**

Our study provides evidence of the feasibility and usefulness of a cognitive tool for infants in Benin. Although it has been used for the first time in low resource setting, the French version of the MSEL seems to be able to identify children at risk for poor cognitive development. Furthermore, this study shows that a subset of items from the TQ have an acceptable properties. These tools could be used in low resource setting where sometimes there is no specialist to evaluate child development and to screen children with deficiencies.

### **Acknowledgement**

We thank the entire staff of the three maternity hospitals (Allada, Attogon, Sékou), and the study's participants. We gratefully thank our field team who carried out the data collection and the medical care. This research investigation was funded by the National Institutes of Health (NIH), grant R21-HD060524.

### **References**

1. Walker SP, Wachs TD, Gardner JM, Lozoff B, Wasserman GA, Pollitt E, et al. Child development: risk factors for adverse outcomes in developing countries. *Lancet* 2007;369(9556):145-57.
2. Bornstein MH, Britto PR, Nonoyama-Tarumi Y, Ota Y, Petrovic O, Putnick DL. Child Development in Developing Countries: Introduction and Methods. *Child development* 2012;83(1):16-31.
3. Bornstein MH, Putnick DL. Cognitive and Socioemotional Caregiving in Developing Countries. *Child development* 2012;83(1):46-61.
4. Bradley RH, Putnick DL. Housing Quality and Access to Material and Learning Resources Within the Home Environment in Developing Countries. *Child development* 2012;83(1):76-91.
5. Britto PR, Ulkuer N. Child Development in Developing Countries: Child Rights and Policy Implications. *Child development* 2012;83(1):92-103.
6. Lansford JE, Deater-Deckard K. Childrearing Discipline and Violence in Developing Countries. *Child development* 2012;83(1):62-75.
7. Mullen EM. *Mullen Scales of Early Learning*. AGS ed. Circle Pines, MN: American Guideline Service, Inc, 1995.
8. Barbaro J, Dissanayake C. Developmental Profiles of Infants and Toddlers with Autism Spectrum Disorders Identified Prospectively in a Community-Based Setting. *J Autism Dev Disord* 2012.
9. Tek S, Landa RJ. Differences in Autism Symptoms Between Minority and Non-Minority Toddlers. *J Autism Dev Disord* 2012.
10. Mitchell CM, Croy C, Spicer P, Frankel K, Emde RN. Trajectories of cognitive development among American Indian young children. *Dev Psychol* 2011;47(4):991-9.
11. Keim SA, Daniels JL, Siega-Riz AM, Herring AH, Dole N, Scheidt PC. Breastfeeding and long-chain polyunsaturated fatty acid intake in the first 4 post-natal months and infant cognitive development: an observational study. *Materna Child Nutr* 2011.

12. Keim SA, Daniels JL, Dole N, Herring AH, Siega-Riz AM, Scheidt PC. A prospective study of maternal anxiety, perceived stress, and depressive symptoms in relation to infant cognitive development. *Early Hum Dev* 2011;87(5):373-80.
13. Mullen EM. *Mullen Scales of Early learning : Manual*. Circle Pines, MN: American Guideline Service, Inc, 1995.
14. Durkin MS, Davidson LL, Desai P, Hasan ZM, Khan N, Shrout PE, et al. Validity of the ten questions screened for childhood disability: results from population-based studies in Bangladesh, Jamaica, and Pakistan. *Epidemiology* 1994;5(3):283-9.
15. Durkin MS, Hasan ZM, Hasan KZ. The ten questions screen for childhood disabilities: its uses and limitations in Pakistan. *J Epidemiol Community Health* 1995;49(4):431-6.
16. Bradley RH, Corwyn RF. Socioeconomic status and child development. *Annual review of psychology* 2002;53:371-99.
17. Caldwell BM, Bradley RH. *Home inventory administration manual*. Arkansas: Print Design Inc, 2003.
18. Raven J. The Raven's progressive matrices: change and stability over culture and time. *Cogn Psychol* 2000;41(1):1-48.
19. Cox JL, Holden JM, Sagovsky R. Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale. *Br J Psychiatry* 1987;150:782-6.
20. Kakyo TA, Muliira JK, Mbalinda SN, Kizza IB, Muliira RS. Factors associated with depressive symptoms among postpartum mothers in a rural district in Uganda. *Midwifery* 2012;28(3):374-9.
21. Hanlon C, Medhin G, Alem A, Araya M, Abdulahi A, Hughes M, et al. Detecting perinatal common mental disorders in Ethiopia: validation of the self-reporting questionnaire and Edinburgh Postnatal Depression Scale. *J Affect Disord* 2008;108(3):251-62.
22. Boyle MH, Racine Y, Georgiades K, Snelling D, Hong S, Omariba W, et al. The influence of economic development level, household wealth and maternal education on child health in the developing world. *Social Science & Medicine* 2006;63(8):2242-54.
23. Clearfield MW, Niman LC. SES affects infant cognitive flexibility. *Infant behavior & development* 2012;35(1):29-35.
24. Raizada RDS, Richards TL, Meltzoff A, Kuhl PK. Socioeconomic status predicts hemispheric specialisation of the left inferior frontal gyrus in young children. *Neuroimage* 2008;40(3):1392-401.
25. Abubakar A, Van de Vijver F, Van Baar A, Mbonani L, Kalu R, Newton C, et al. Socioeconomic status, anthropometric status, and psychomotor development of Kenyan children from resource-limited settings: a path-analytic study. *Early Hum Dev* 2008;84(9):613-21.
26. Bangirana P, John CC, Idro R, Opoka RO, Byarugaba J, Jurek AM, et al. Socioeconomic predictors of cognition in Ugandan children: implications for community interventions. *PLoS ONE* 2009;4(11):e7898.
27. Cooper PJ, Tomlinson M, Swartz L, Woolgar M, Murray L, Molteno C. Post-partum depression and the mother-infant relationship in a South African peri-urban settlement. *Br J Psychiatry* 1999;175:554-8.
28. Rijlaarsdam J, Tiemeier H, Hofman A, Jaddoe VWV, Mackenbach JP, Verhulst FC, et al. Home environments of infants: relations with child development through age 3. *Journal of Epidemiology and Community Health* 2012.
29. Singhi P, Kumar M, Malhi P, Kumar R. Utility of the WHO Ten Questions Screen for disability detection in a rural community the North Indian experience. *J Trop Pediatr* 2007;53(6):383-7.
30. Mung'ala-Odera V, Meehan R, Njuguna P, Mturi N, Alcock K, Carter JA, et al. Validity and reliability of the 'Ten Questions' questionnaire for detecting moderate to severe neurological impairment in children aged 6-9 years in rural Kenya. *Neuroepidemiology* 2004;23(1-2):67-72.



**Table 1** Subjects characteristic for gender

	Total N=357	Boys N=180	Girls N=177	<i>P-value</i>
Standard Score MSEL	98.3 (13.6) <sup>a</sup>	96.9 (13.2)	99.7 (13.8)	.05
Visual reception	49.5 (10.8)	48.7 (10.8)	50.3 (10.8)	.14
Fine Motor	49.7 (10.4)	48.7 (10.3)	50.6 (10.5)	.08
Receptive language	45.8 (6.5)	45.0 (6.7)	46.5 (6.2)	.02
Expressive language	51.0 (9.1)	50.6 (9.0)	51.3 (9.2)	.50
Gross Motor	51.1 (15.0)	52.1 (15.8)	50.0 (14.1)	.18
Gross Motor score minus 1 SD (39.7)				
No	263 (73.9%)	134 (74.4%)	129 (73.3%)	
Yes	93 (26.1%)	46 (25.6%)	47 (26.7%)	.80
Gross Motor score minus 2 SD (29.3)				
No	339 (95.2%)	169 (93.9%)	170 (96.6%)	
Yes	17 (4.8%)	11 (6.1%)	6 (3.4%)	.23
Composite score minus 1 SD (83.9)				
No	303 (84.9%)	152 (84.4%)	151 (85.3%)	
Yes	54 (15.1%)	28 (15.6%)	26 (14.7%)	.82
Composite score minus 1 SD (68.5)				
No	348 (97.5%)	176 (97.8%)	172 (97.2%)	
Yes	9 (2.5%)	4 (2.2%)	5 (2.8%)	.75 <sup>b</sup>
Family wealth	5.6 (2.9)	5.7 (3.0)	5.5 (2.8)	.53
HOME Inventory	26.6 (2.5)	26.6 (2.6)	26.6 (2.3)	.95
Maternal marital status				
Monogamous	215 (60.7%)	116 (64.8%)	99 (56.6%)	
Polygamous	139 (39.7%)	(35.2%)	76 (43.4%)	.11
Maternal education				
No	214 (60.1%)	105 (58.7%)	109 (61.6%)	
Yes	142 (39.9%)	74 (41.3%)	68 (38.4%)	.57
Raven	15.6 (5.1)	15.9 (5.3)	15.4 (4.8)	.35
EPDS	8.3 (3.8)	7.9 (3.7)	8.8 (3.9)	.04
EPDS				
Score > 9	228 (64%)	126 (70.4%)	102 (57.6%)	.01
Score ≤ 9	128 (36%)	53 (26.6%)	75 (42.4%)	

<sup>a</sup> Mean and Standard Deviation; <sup>b</sup> Fisher's exact

**Table 2** Pearson's correlation between scores derived from MSEL and known risk factor for poor child development –Part 1

	Composite Score	Gross Motor	Visual Reception	Fine Motor	Receptive Language	Expressive Language
Wealth index	0.12 **	0.17 ***	0.12 **	0.06	0.11 **	0.05
HOME Inventory	0.20 ****	0.17 ***	0.18 ****	0.12 **	0.14 ***	0.15 ***
Raven	0.16 ***	0.15 ***	0.21 ****	0.09 *	0.06	0.07 *
EPDS	0.01	-0.03	0.0006	0.03	0.07	-0.05

\* *P-value* < .20; \*\* *P-value* < .05; \*\*\* *P-value* < .01; \*\*\*\* *P-value* < .001

**Table 3** Association between scores derived from MSEL and known risk factor for poor child development – Part 2

	Composite Score	Gross Motor	Visual Reception	Fine Motor	Receptive Language	Expressive Language
Maternal education						
No	96,3 (14,0) ***	50,5 (14,5)	48,3 (10,8) **	48,6 (10,6) **	44,9 (6,5) **	50,0 (9,9) **
Yes	101,3 (12,5)	52 (15,7)	51,2 (10,5)	51,3 (10,0)	47,1 (6,2)	52,4 (7,4)
EPDS						
Score ≤9	98,4 (13,0)	51,2 (14,3)	49,4 (11,1)	49,6 (9,9)	45,5 (6,2)	51,7 (8,6) **
Score > 9	98,0 (14,6)	50,9 (16,2)	49,5 (10,2)	49,8 (11,3)	46,1 (6,8)	49,6 (9,8)
Infant's sex						
Boys	96,9 (13,2) *	52,1 (15,8) *	48,7 (10,8) *	48,7 (10,3) *	45,0 (6,7) **	50,6 (9,0)
Girls	99,7 (13,8)	50,0 (14,1)	50,3 (10,8)	50,6 (10,5)	46,5 (6,2)	51,3 (9,2)
Maternal marital status						
Monogamous	99,1 (12,7) *	50,6 (14,9)	50,3 (10,5) *	50,5 (9,7) *	45,8 (6,6)	51,0 (8,8)
Polygamous	97,0 (14,9)	51,8 (15,1)	48,2 (11,1)	48,4 (11,4)	45,7 (6,3)	50,9 (9,5)

\* *P-value* < .20; \*\* *P-value* < .05; \*\*\* *P-value* < .01; \*\*\*\* *P-value* < .001

**Table 4** Correlation matrix between quantitative variables which are associated with early learning composite score

	1	2	3
1 Home environment	-		
2 Family wealth	<b>0.24 ****</b>	-	
3 Maternal intellectual quotient	<b>0.25 ****</b>	<b>0.19 ****</b>	-

\* *P-value* < .20; \*\* *P-value* < .05; \*\*\* *P-value* < .01; \*\*\*\* *P-value* < .001

**Table 5** Association between scores derived from the MSEL and an appropriate subset of the TQ in one year old Beninese children.

	Question 1 Cognitive/Motor (87/356)	Question 4 Comprehension (40/356)	Question 5 Movement (32/356)	Question 6 Seizure (34/356)	Question 7 Learning (4/356)	Question 8 Speech (217/356)	Question 10 Intellectual impairment (13/356)
Early Learning composite							
Negative question	99.7 (12.6) ***	94.0 (14.7) **	99.2 (12.8) ***	98.7 (13.4)	86.0 (14.7)	97.9 (14.1)	98.6 (13.2)
Positive question	93.7 (15.5)	98.8 (13.4)	88.5 (17.6)	94.5 (15.3)	98.4 (13.3)	98.9 (12.8)	88.9 (20.8)
Gross Motor							
Negative question	54.7 (14.4) ****	43.7 (14.0) ****	52.2 (14.6) ****	51.7 (15.0) *	50.5 (24.0)	50.1 (15.3)	51.6 (14.8) ****
Positive question	39.9 (10.6)	52.1 (14.9)	39.8 (14.8)	45.3 (14.0)	51.1 (14.9)	52.7 (14.3)	36.9 (12.6)
Visual Reception							
Negative question	50.2 (10.6) **	47.6 (10.6)	50.1 (10.3) ****	49.6 (10.7)	39.3 (15.9)	49.4 (10.8)	49.7 (10.6)
Positive question	47.1 (11.2)	49.7 (10.8)	43.1 (13.2)	48.3 (11.5)	49.6 (10.7)	49.5 (10.8)	44.8 (14.0)
Fine Motor							
Negative question	50.7 (9.8) ***	47.6 (11.4)	50.5 (9.8) ****	49.8 (10.3)	42.3 (21.2)	49.6 (11.0)	49.9 (10.1)
Positive question	46.4 (11.8)	49.9 (10.3)	41.7 (13.3)	48.3 (11.8)	49.8 (10.3)	49.8 (9.5)	43.2 (15.0)
Receptive Language							
Negative question	46.1 (6.4) **	43.5 (8.0)	46.1 (6.3) ***	46.0 (6.4) **	42.5 (17.1)	45.5 (6.6)	45.9 (6.3)
Positive question	44.5 (6.6)	46.0 (6.2)	42.4 (7.1)	43.5 (6.9)	45.8 (6.3)	46.0 (6.3)	42.5 (9.3)
Expressive Language							
Negative question	51.8 (8.4) ***	47.8 (9.4) **	51.3 (8.9) **	51.3 (9.0) **	43.3 (15.5)	50.4 (9.5)	51.2 (8.8)
Positive question	48.1 (10.5)	51.3 (9.0)	47.5 (10.6)	47.9 (9.9)	51.0 (9.0)	51.8 (8.3)	44.2 (13.9)

\* *P*-value < .20; \*\* *P*-value < .05; \*\*\* *P*-value < .01; \*\*\*\* *P*-value < .001

**Table 6** Sensitivity, Specificity, Positive predictive value and Negative predictive value of some subsets of TQ among one year old Beninese children.

Cut-off 1: Mean minus 1 SD	Gross Motor				Composite score			
	Se <sup>a</sup>	Sp <sup>b</sup>	PPV <sup>c</sup>	NPV <sup>d</sup>	Se	Sp	PPV	NPV
<b>Positive at TQ1</b>	46 (35,8-56,9) <sup>e</sup>	83 (78,1-87,5)	49 (38,5-60,4)	81 (76,2-85,8)	40,7 (27,6-55)	78,5 (73,4-83)	25,3 (16,6-35,7)	88,1 (83,6-91,7)
<b>Positive at TQ5</b>	17 (10,2-26,4)	94 (90,3-96,5)	50 (31,9-68,1)	76 (71,1-80,7)	22,2 (12-35,6)	93,4 (90-95,9)	37,5 (21,1-56,3)	87,0 (82,9-90,5)
<b>Positive at TQ1 OR positive at TQ5</b>	47,3 (36,9-57,9)	80,5 (75,2-85,1)	46,3 (36-56,8)	81,2 (75,9-85,7)	42,6 (29,2-56,8)	76,2 (70,9-80,9)	24,2 (16-34,1)	88,1 (83,6-91,8)
<b>Positive at least 1 of the 9 questions</b>	80,6 (71,1-88,1) <sup>e</sup>	31,3 (25,7-37,3)	29,4 (23,9-35,4)	82 (73,1-89)	81,5 (68,6-90,7)	30,1 (25-35,7)	17,3 (12,8-22,5)	90,1 (82,5-95,1)
Cut-off 2: Mean minus 2 SD	Gross Motor				Composite score			
	Se <sup>c</sup>	Sp <sup>d</sup>	PPV <sup>e</sup>	NPV <sup>f</sup>	Se	Sp	PPV	NPV
<b>Positive at TQ1</b>	76,5 (50,1-93,2)	78 (73,3-82,4)	15 (8,2-24,2)	99 (96,2-99,6)	66,7 (29,9-92,5)	76,7 (71,8-81)	6,9 (2,6-14,4)	98,8 (96,8-99,8)
<b>Positive at TQ5</b>	47,1 (23-72,2)	92,9 (89,6-95,4)	25 (11,5-43,4)	97,2 (94,8-98,7)	44,4 (13,7-78,8)	91,9 (88,5-94,6)	12,5 (3,5-29)	98,5 (96,4-99,5)
<b>Positive at TQ1 OR positive at TQ5</b>	76,5 (50,1-93,2)	75,7 (70,8-80,2)	13,7 (7,49-22,3)	98,5 (96,1-99,6)	77,8 (40-97,2)	74,6 (69,7-79,1)	7,4 (3,0-14,6)	99,2 (97,3-99,9)
<b>Positive at least 1 of the 9 questions</b>	100 (80,5-100)	29,6 (24,8-34,8)	6,7 (3,93-10,5)	100 (96,4-100)	100 (66,4-100)	29,1 (24,4-34,2)	3,5 (1,63-6,59)	100 (96,4-100)

<sup>a</sup> Sensitivity; <sup>b</sup> Specificity; <sup>c</sup> Positive Predictive Value; <sup>d</sup> Negative Predictive Value; <sup>e</sup> Confidence Interval

## **Quatrième partie : Discussion générale**

Dans cette partie nous présenterons la discussion des résultats de chaque étude séparément.

## **1. Discussion résultats TORI**

La prévalence de l'anémie maternelle dans les pays en voie de développement est telle qu'il nous apparaît très important de nous interroger sur ses conséquences chez l'enfant, à la naissance, mais également durant les premiers mois de vie. Notre travail a confirmé cette forte prévalence chez la mère et mis en évidence également une fréquence très élevée d'anémie chez le nouveau-né. L'anémie de la mère a d'ailleurs été identifiée comme seul facteur de risque d'anémie chez le nouveau-né, alors qu'elle ne semble pas associée au faible poids de naissance ni à la prématurité. Indépendamment des autres facteurs l'anémie maternelle n'a aucun effet sur le taux d'hémoglobine du nourrisson. Par contre la survenue d'accès palustres durant les 18 mois de vie, le sexe masculin et le trait drépanocytaire diminuaient significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois. Le bon statut nutritionnel du nourrisson durant les 18 mois de vie et vivre dans une famille polygame augmentaient significativement ce taux. De nouvelles analyses avec une méthodologie basée sur les trajectoires latentes ont permis de déterminer deux trajectoires d'hémoglobine dans cette population : une trajectoire haute et une trajectoire basse. Plus des deux tiers des nourrissons appartenaient à la trajectoire haute d'hémoglobine. Nous avons par ailleurs montré, outre les facteurs précédemment retrouvés, que l'infection placentaire palustre et l'anémie du nouveau-né diminuaient significativement le taux d'hémoglobine des nourrissons entre 3 et 18 mois. Enfin l'anémie maternelle était prédictive de l'appartenance à la trajectoire basse d'hémoglobine.

Les enfants de l'étude sont issus d'une cohorte suivie dans le cadre d'un programme plus large. Cette cohorte a été constituée à partir des accouchements survenant dans 3 maternités dont dépendaient les 9 villages de l'étude. Après exclusion des naissances multiples et des mort-nés, les analyses du premier objectif ont été réalisées sur les 580 couples mère-enfant

inclus entre juin 2007 et juillet 2008. Nous avons sélectionné pour la seconde partie de notre étude les 542 nourrissons qui ont complété le suivi jusqu'à 18 mois de vie avec au moins 3 visites trimestrielles réalisées. Cette diminution d'échantillon ne constitue pas un problème dans la mesure où nous ne cherchions pas à être strictement représentatifs des enfants de la cohorte. Par ailleurs les caractéristiques des sujets exclus et des sujets sur lesquels nos diverses analyses ont été effectuées ne diffèrent pas.

La question de représentativité se pose systématiquement dans les enquêtes transversales où il est question d'estimer la prévalence d'une maladie dans une population donnée. Dans les autres types d'études, il est important de s'interroger également sur la représentativité de l'échantillon d'étude dans la perspective de généraliser les résultats. Les résultats fournis par les différentes équipes travaillant dans les pays en voie de développement sont parfois utilisés par les autorités politiques pour proposer des actions touchant toute la population. Ces actions sont menées en se basant sur des études réalisées sur un échantillon de population sensé être représentatif mais qui souvent ne prend pas en compte la diversité culturelle ou socioéconomique d'un pays. Dans notre cas par exemple, notre population d'étude a été incluse dans des maternités du système public et l'étude a été réalisée dans une commune du département de l'Atlantique au Bénin. Je rappelle ici que le Bénin compte 12 départements, 77 Communes avec plus d'une cinquantaine de groupes ethniques. Le département dans lequel notre étude a été réalisée compte 8 communes. Nos résultats pourraient dans un tel cas ne pas être généralisables aux femmes enceintes du Bénin, mais seulement aux femmes enceintes de notre commune. Mais là encore une question se pose. En effet, nous avons travaillé exclusivement dans les trois maternités publiques desservant cette commune. Nous n'avons donc pas inclus les femmes qui consultent dans les établissements privés ou encore les femmes accouchant à domicile. En 2006, dans sa dernière enquête démographique et de



santé, l'Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique du Bénin (INSAE-Bénin) a estimé que sur les 1751 naissances vivantes survenues dans le département de l'Atlantique au cours des cinq années ayant précédées l'enquête, 69,8% ont eu lieu dans un établissement de santé public, 27,6% dans un établissement de santé privé et 2,5% des naissances ont eu lieu à la maison (INSAE 2006). Dans ce rapport, les informations, qui ne sont certainement ni exhaustives ni exactes, n'ont pas été données par commune et nous restons prudents quant au fait de considérer que ces résultats peuvent être généralisés aux communes du département dans son ensemble. Quoiqu'il en soit ce rapport souligne qu'un pourcentage non négligeable de femmes en milieu rural accouche hors du système public et que ces femmes ne sont pas prises en compte dans nos enquêtes. Pour conclure sur la représentativité, plusieurs précautions doivent être prises dès la conception des études en vue d'une généralisation des résultats. Dans notre cas par exemple, il nous semble important à l'avenir de tenter d'inclure dans nos échantillons de populations des femmes accouchant dans des centres privés ou à domicile. Cette démarche, malgré de grandes difficultés, doit être menée de plus en plus par les chercheurs réalisant des études dans les pays en voie de développement.

La prévalence de l'anémie du nouveau-né à la naissance dépasse 60% dans cette étude. A notre connaissance très peu d'études se sont intéressées à ce sujet. Néanmoins nos résultats concordent avec les quelques travaux retrouvés dans la littérature, comme ceux de Diallo *et al.* qui retrouvent une prévalence de l'anémie du nouveau-né de 57% au Mali (Diallo *et al.* 1994). Dans son dernier rapport sur l'anémie dans le monde en 2008, l'OMS présentait la prévalence des anémies chez les enfants de 0 à 5 ans. Cette prévalence est de 68% en Afrique en général et de 81.9% au Bénin en particulier (World Health Organization 2008). La tranche d'âge (0-5 ans) utilisée comprend les nourrissons de 0 à 6 mois chez lesquels il se produit de

nombreux changements, dont une disparition progressive de l'hémoglobine fœtale. De plus, entre 6 mois et 5 ans des modifications très importantes dans la vie du jeune enfant apparaissent, qui peuvent agir sur son taux d'hémoglobine. Il s'agit par exemple de la diversification de l'alimentation pouvant entraîner des carences en micronutriments, des infections helminthiques associées aux premiers déplacements .... Si la prise en compte de ces modifications ne changera en rien l'estimation globale du niveau de prévalence de l'anémie, il nous semblerait pertinent d'en avoir une évaluation par tranches d'âge plus restreintes afin de tenir compte des facteurs de risque spécifiques à ces tranches d'âge. Cela permettrait de mieux comprendre l'anémie chez le jeune enfant et de proposer des moyens de lutte plus ciblés et donc plus efficaces.

Dans notre enquête, la prévalence de l'anémie chez les femmes enceintes était proche de 40%. Ce taux concorde avec les données de la littérature où plusieurs études confirment l'importance du problème dans l'ensemble de l'Afrique sub-saharienne. Au Burkina-Faso, Meda *et al.* rapportent une prévalence supérieure à 60% (Meda *et al.* 1999). Plusieurs études ont été effectuées au Nigéria, un pays limitrophe du Bénin. En 2005, la prévalence de l'anémie chez la femme enceinte était de 77% à Abeokuta (Idowu, Mafiana, and Dapo 2005). Trois ans plus tard, au nord-est du Nigéria, Bukar *et al.* signalaient une prévalence de 52% (Bukar *et al.* 2008). En Afrique Centrale, des niveaux similaires sont également atteints. Ainsi Kalenga *et al.* retrouvaient en République Démocratique du Congo des prévalences allant jusqu'à 83% (Kalenga *et al.* 2003). Dans son dernier rapport sur l'anémie, l'OMS retrouvait des prévalences aussi élevées qui varient entre 22% et 81% (World Health Organization 2008). Dans ce rapport la prévalence de l'anémie chez la femme enceinte était de 72,7% au Bénin, de 68,3% au Burkina-Faso, de 66,7% au Nigéria et de 55,3% au Congo. Notons que ces différentes études ont utilisé la même définition de l'anémie maternelle que nous ( $Hb < 11$

g / dL). En 2006 nous avons réalisé une étude sur l'anémie maternelle dans la zone de Ouidah, distante de 20 Km de celle de l'étude actuelle (Koura *et al.* 2011). Nous avons retrouvé une prévalence de 65%, dans une population similaire mais vivant un peu plus en milieu urbain. Le fait de trouver, dans l'étude actuelle en zone rurale, une prévalence plus faible d'anémie est surprenant mais pourrait s'expliquer par la mise en place en 2007 d'une nouvelle politique de protection de la femme enceinte dans la cadre du traitement préventif intermittent pour lutter contre le paludisme durant la grossesse. En effet cette nouvelle politique passe par la vente d'un Kit de prévention chez la femme enceinte contenant un traitement antipaludique et une moustiquaire, un traitement contre les helminthes intestinaux et du fer et de l'acide folique. Cette nouvelle prise en charge pourrait être l'une des raisons de cette diminution apparente de la prévalence de l'anémie maternelle. A notre connaissance cependant aucune évaluation du TPI sur l'anémie de la femme enceinte n'a été réalisée au Bénin. Si notre hypothèse était exacte, des efforts doivent cependant être poursuivis car les taux observés sont encore beaucoup plus élevés que dans les pays du nord.

Lorsqu'on regarde la carte de répartition de l'anémie chez la femme enceinte en dehors de l'Afrique, dans le monde entier (Figure 2), on se rend vite compte que tous les continents sont touchés et qu'aucun pays n'est épargné. La différence se situe dans le degré de sévérité qui varie selon les critères de l'OMS de normal à sévère. S'il reste sévère dans la majorité des pays africains, les pays développés sont également touchés et l'anémie constitue un problème moyen de santé publique. Ce constat nous fait émettre quelques réserves quant à l'utilisation du seuil de 11 g / dL pour définir l'anémie chez la femme enceinte.

Les premières recommandations de l'OMS pour définir l'anémie chez la femme enceinte datent de 1959. Dans ce rapport l'OMS proposait de définir l'anémie chez la femme enceinte par un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g / dL (World Health Organization 1959).

Entre 1959 et 1968 quelques études ont été menées qui montraient des moyennes du taux d'hémoglobine plus élevées comme par exemple dans l'étude de Sturgeon dans laquelle le taux d'hémoglobine moyen était de 12 g / dL (Sturgeon 1959).

Ainsi en 1968 de nouvelles recommandations ont été faites et le seuil de 11 g / dL a été proposé et continue à être utilisé à ce jour. Ce nouveau seuil n'a pas tardé non plus à être critiqué. En 1996, Lao et Pun ont montré d'une part que la définition de l'OMS surestimait la prévalence de l'anémie maternelle et d'autre part que l'usage d'un seuil à 10 g / dL n'avait aucune répercussion ni sur la prise en charge de la femme enceinte, ni sur l'étude des conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né (Lao and Pun 1996). Ces auteurs préconisent donc à nouveau l'utilisation d'un seuil de 10 g / dL pour la définition de l'anémie maternelle. Dans notre étude, la prévalence de l'anémie maternelle est de 17.2% avec les recommandations de ces auteurs. Nous restons très proches d'une estimation réalisée récemment au Nigeria, pays voisin, avec cette même définition et qui retrouvait 17% de femmes anémiées (Nwizu *et al.* 2011). Par ailleurs, en utilisant le seuil de 10 g / dL, nous avons obtenu les mêmes résultats concernant les associations entre l'anémie maternelle, le faible poids de naissance, la prématurité et l'anémie du nouveau-né ou encore entre l'anémie maternelle et le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois de vie. Il convient de mentionner que d'autres seuils ont été proposés dans la littérature (Cooper *et al.* 1999).

Le problème du seuil se pose également pour le nouveau-né et on peut se demander si l'utilisation d'un seuil à 15 g / dL d'hémoglobine ne surestime pas l'importance de ce problème. La détermination d'un seuil pathologique chez le nouveau-né est rendue difficile par différents facteurs dont il faut tenir compte. Il s'agit entre autre des conditions de développement pendant la vie fœtale, des interactions complexes entre la mère et le fœtus, des changements nécessaires pour s'adapter à la vie extra-utérine, des conditions de prélèvement

chez le nouveau-né et des techniques de mesure (Lainey *et al.* 2009). Ici encore plusieurs propositions ont été faites mais, contrairement à ce qui se passe pour l'anémie maternelle, il n'existe aucune recommandation officielle pour définir l'anémie chez le nouveau-né. Cependant, il semble que ce seuil de 15 g surestime probablement le problème dans les pays en voie de développement. Ainsi au Mali, avec un seuil fixé à 13 g / dL, Diallo *et al.* retrouvent une prévalence de 36% (contre 57% avec un seuil à 15 g / dL) (Diallo *et al.* 1994). Sur nos données, avec ce même seuil la prévalence de l'anémie est de 18,7%. Ici aussi nous avons analysé nos données avec trois seuils différents proposés dans la littérature (12,5 g / dL, 13 g / dL et 14 g / dL). Avec ces seuils, la prévalence de l'anémie passe respectivement à 12,7%, 18,7% et 36 %, mais les associations mises en évidence restent inchangées.

Face à ces différents seuils, quelle est l'attitude à adopter ? Plusieurs solutions sont envisageables. La première serait comme nous l'avons fait dans la présente thèse d'effectuer les analyses avec le seuil de référence de l'OMS puis de refaire les analyses avec les autres seuils proposés dans la littérature. Il faut ensuite comparer les résultats et discuter une éventuelle discordance. Une seconde solution serait l'utilisation du taux d'hémoglobine sous forme continue. Dans la présente thèse nous avons également effectué les analyses en choisissant cette solution et les associations précédemment mises en évidence n'ont pas changé. A notre avis, cette dernière solution pourrait donc être une bonne façon d'utiliser cette information dans les travaux de recherche. En effet, du point de vue statistique et épidémiologique la transformation d'une variable continue en variable qualitative représente toujours une perte d'information. Cependant, cela ne résout pas le problème de seuil rencontré dans la littérature et qui est important pour les décideurs politiques. Même si le principal constat semble que les seuils proposés surestiment le problème d'une part et que, d'autre part, dans bien des cas les résultats des analyses ne changent guère, cette décision dépasse le cadre

de cette thèse. Cependant, la révision des seuils définissant l'anémie de la femme enceinte et du jeune enfant, de même que l'identification d'étiologies spécifiques pour des tranches d'âges précises chez le jeune enfant, pourraient aider à la mise en place d'outils de lutte et de prévention mieux ciblés et plus efficaces.

Nous avons montré que l'anémie maternelle n'a aucun effet sur le faible poids de naissance et la prématurité. La comparaison de nos résultats avec la littérature est rendue complexe par le fait que, selon les études, la définition de l'anémie peut varier. Néanmoins, les enquêtes menées hors de la République du Bénin, montrent globalement les mêmes résultats que nous concernant la relation entre l'anémie maternelle et le faible poids de naissance. Ainsi en 1998, Zhou *et al.* ont montré que l'anémie maternelle tardive n'est pas associée au faible poids de naissance (Zhou *et al.* 1998). De la même manière, Knottnerus *et al.* ont rapporté les mêmes conclusions (Knottnerus *et al.* 1990), en définissant l'anémie maternelle à partir de l'hématocrite. Nous avons signalé le débat concernant le seuil à utiliser mais il semblerait que celui-ci n'intervienne pas dans la relation avec le faible poids de naissance si l'on considère 10 g / dL (Xiong *et al.* 1996), confirmant aussi nos propres constatations.

Outre le seuil, deux autres facteurs pourraient intervenir sur ces associations. Il s'agit de la date d'installation de l'anémie au cours de la grossesse et de sa sévérité. En effet, certains auteurs ont retrouvé une association significative entre l'anémie maternelle précoce et le faible poids de naissance (Zhou *et al.* 1998). Cependant, ce résultat n'a pas été confirmé par Xiong *et al.*, dans une méta analyse qui conclut à l'absence d'effet de l'anémie maternelle, qu'elle soit précoce ou tardive, sur le faible poids de naissance (Xiong *et al.* 2000). Pour ce qui est du degré de sévérité de l'anémie, une étude récente a retrouvé une association entre l'anémie sévère et le faible poids de naissance (Bodeau-Livinec *et al.* 2011).

Concernant la prématurité, nous sommes confrontés aux mêmes discordances, selon la période d'installation au cours de la grossesse et son degré de sévérité. Ainsi, si l'anémie maternelle tardive ne semble avoir aucun effet sur la prématurité (Knottnerus *et al.* 1990; Scholl and Hediger 1994), l'anémie maternelle précoce pourrait être associée à un risque accru (Xiong *et al.* 2000). La date d'installation de l'anémie n'était pas disponible dans notre étude qui a inclus les enfants à leur naissance sans suivi de la femme enceinte. Par ailleurs le faible pourcentage d'anémies sévères (2%), ne représentant que 14 sujets, et ne nous a pas permis d'étudier son effet.

Dans notre étude l'anémie maternelle est le seul facteur de risque de l'anémie chez le nouveau-né. Lao *et al.* ont montré qu'un déficit en fer dans les premiers mois de grossesse pouvait entraîner de faibles concentrations sériques en ferritine chez le nouveau-né (Lao *et al.* 1991). Selon l'OMS, environ 75% des anémies dans les pays en voie de développement seraient dues à une carence en fer et il est donc possible d'associer cette carence en fer du début de grossesse à une anémie maternelle qui s'installera plus ou moins rapidement par la suite. S'il est difficile de transposer directement les résultats de Lao *et al.* (Lao *et al.* 1991) à notre étude, nous pouvons néanmoins faire l'hypothèse qu'une anémie maternelle liée à une carence martiale qui s'installe en début de grossesse, pourrait être associée à un déficit en ferritine, lui-même responsable d'une anémie du nouveau-né.

Nous nous sommes également intéressés aux conséquences de l'anémie maternelle sur le taux d'Hb de l'enfant entre 3 et 18 mois. Quelques études ont concerné la relation entre l'anémie maternelle et le taux d'hémoglobine de l'enfant durant ses premières années de vie. La première étude que nous avons retrouvée date de 1999. Il s'agit de l'étude de Kilbride *et al.* menée en Jordanie (Kilbride *et al.* 1999). Les mères ont été incluses lors de l'accouchement et l'un des critères d'inclusion était l'âge gestationnel qui devait être supérieur à 37 semaines

d'aménorrhée. Deux groupes ont été constitués selon que l'enfant soit né d'une mère anémiée ou pas. Les enfants ont ensuite été revus à 3, 6, 9 et 12 mois. Les auteurs ont montré qu'à chacune de ces dates, l'anémie par carence martiale était significativement plus fréquente chez les enfants nés de mères anémiées comparées aux enfants nés de mères non anémiées (Kilbride *et al.* 1999). En 2002, de Pee *et al.* ont montré que les enfants nés d'une mère anémiée avait une probabilité deux fois plus élevée d'avoir un faible taux d'hémoglobine entre 3 et 5 mois de vie comparée aux enfants nés d'une mère non anémiée (de Pee *et al.* 2002). Cependant dans toutes ces études l'analyse de la relation entre l'anémie maternelle et le taux d'hémoglobine a été réalisée sans tenir compte de la variabilité intra-nourrisson liée au fait que les mesures d'hémoglobines étaient répétées chez les mêmes enfants. Dans notre projet nous avons utilisé un modèle mixte de régression permettant la prise en compte de cette non indépendance. Nous n'avons retrouvé aucun effet significatif de l'anémie maternelle sur le taux d'hémoglobine de l'enfant entre 3 et 18 mois de vie. Cependant nous avons montré que l'anémie du nouveau-né à la naissance diminuait significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois. A notre connaissance cette problématique n'a fait l'objet d'aucune étude dans la littérature. Pour expliquer cette association certains arguments épidémiologiques et comportementaux nous permettent d'évoquer le rôle de la carence martiale dans cette observation. D'abord il est admis que les besoins en fer sont accrus chez le nourrisson, environ huit fois plus élevés que chez l'adulte (Cavill 2002). Pour cette raison dans les pays développés où l'allaitement au sein n'est pas répandu il est préconisé l'utilisation de préparations lactées enrichies en fer afin de supplémer ces besoins. Ceci n'est pas du tout justifié en cas d'allaitement au sein car il apporte de fortes concentrations de fer hautement assimilable (Cavill 2002). Cependant, dans notre population d'étude, il apparaît que l'allaitement maternel est loin d'être exclusif puisque seulement 18% des nourrissons sont exclusivement allaités à 4 mois. En effet, il semble que de manière assez systématique, les



mères (voire les femmes entourant les enfants tout au long de la journée dans les cours d'habitations) donnent à manger aux enfants de très faibles quantités de liquides nutritifs ou simplement d'eau. Ces apports inappropriés ont pour effet de détourner l'absorption du fer déclenchant souvent un phénomène de causalité inverse, à l'origine d'un cercle vicieux délétère à l'enfant. Une étude sur le comportement alimentaire des nouveau-nés de cette même cohorte est en cours. Aucune recommandation n'est faite pour l'utilisation des préparations lactées enrichies en fer, qui ne seraient de toute façon pas accessibles à la majorité des femmes béninoises. Nous sommes opposés à de telles recommandations et pensons à l'inverse qu'il faut favoriser l'allaitement exclusif des enfants jusqu'à 6 mois. En effet, si l'anémie à la naissance est le reflet probable d'un déficit en fer de la mère, seul un allaitement exclusif pourrait permettre d'aider au maintien d'un niveau d'hémoglobine correct chez le nourrisson. A l'inverse, l'anémie à la naissance et des pratiques alimentaires inadaptées pourraient handicaper sérieusement la normalisation du taux d'hémoglobine durant les premiers mois de vie. Bien évidemment nous sommes conscients que l'absence de dosage de fer et de ferritine nous oblige à rester prudents sur cette hypothèse. Une étude actuellement en cours pourrait, ou non, la confirmer.

Nous avons montré également que l'infection placentaire palustre est associée au faible taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois dans notre analyse par classes latentes. En 1994, dans une étude réalisée par Redd *et al.* au Malawi, l'infection placentaire palustre a été identifiée comme principal facteur de risque de l'anémie chez les nourrissons de deux mois (Redd, Wirima, and Steketee 1994). Plusieurs mécanismes peuvent être proposés pour expliquer l'effet de l'infection placentaire palustre sur le taux d'hémoglobine du nourrisson. Le premier repose sur le constat de Yamada *et al.* qui date de 1989. En effet ces auteurs ont montré un épaissement de la membrane trophoblastique en cas d'infection placentaire

palustre et une réduction des apports en éléments nutritifs de la mère vers le fœtus sans pour autant préciser de quels éléments nutritifs il s'agit (Yamada *et al.* 1989). Notre 1<sup>er</sup> mécanisme repose sur cet épaissement qui entraînerait à notre avis une réduction des apports du fer de la mère vers le fœtus. Le nouveau-né naît donc avec une réserve en fer inadéquate l'exposant ainsi à un faible taux d'hémoglobine durant ses premiers mois de vie. Le second mécanisme que nous proposons repose également sur une association classiquement mise en évidence entre l'infection placentaire palustre et la sensibilité du nouveau-né à l'infection palustre (Le Hesran *et al.*, 1998 ; Mutabingwa *et al.*, 2005 ; Schwarz *et al.*, 2008 ; Malhotra *et al.*, 2009). Ces auteurs mettent en avant le développement d'une tolérance immunitaire qui perturberait le développement du système immunologique du nouveau-né, l'exposant à des infections palustres précoces pouvant entraîner une anémie inflammatoire. Ce résultat a été confirmé sur cette même population d'enfant (Le Port *et al.* 2011). Cependant, toujours sur cette cohorte, il a été montré que l'infection placentaire palustre était également associée à une plus forte sensibilité des nourrissons aux fièvres *non palustres*, d'origine respiratoire, ORL ou digestive (Rachas *et al.* 2012). Ce résultat souligne donc, pour la première fois, que la tolérance immunitaire, dont l'infection palustre placentaire serait un marqueur, pourrait ne pas être spécifique au paludisme mais concerner le développement immunitaire dans un sens plus large (Rachas *et al.* 2012) et une sensibilité accrue aux infections diverses. Nous formulons donc l'hypothèse que l'infection placentaire palustre induisant une sensibilité plus importante aux infections palustres et non palustres, l'anémie du jeune enfant pourrait être également due aux infections répétées et à l'inflammation qu'elles provoquent (Crawley 2004; Ghosh 2007). Le fait que nous ayons mis en évidence, en analyse multivariée, une association entre les accès palustres, l'infection placentaire palustre et le taux d'hémoglobine des enfants va dans le sens d'un effet indépendant des infections palustres et de l'infection placentaire palustre,

renforçant le rôle possible de cette dernière sur une sensibilité accrue aux infections en général.

C'est la première fois qu'une analyse par classes latentes a été utilisée pour mieux comprendre l'évolution du taux d'hémoglobine chez le nourrisson. L'analyse par classes latentes est une extension des modèles mixtes avec des effets fixes et des effets aléatoires mais qui en plus permet de prendre en compte de façon explicite des variables non observées qu'on appelle classes latentes. S'il s'agit de données répétées dans le temps comme dans notre cas on parlera de trajectoires. L'utilisation de l'analyse par classes latentes a retrouvé que l'anémie maternelle n'a aucun effet sur le taux d'hémoglobine du nourrisson. Par contre la survenue d'accès palustres durant les 18 mois de vie, le sexe masculin et le trait drépanocytaire diminuaient significativement le taux d'hémoglobine du nourrisson entre 3 et 18 mois. Le bon statut nutritionnel du nourrisson durant les 18 mois de vie et vivre dans une famille polygame augmentait significativement ce taux d'hémoglobine. Ces résultats sont exactement les mêmes que ceux que nous retrouvons lorsque nous utilisons les modèles mixtes. Ils confirment donc l'importance de ces facteurs sur l'évolution du taux d'hémoglobine chez le nourrisson. Mais qu'apporte cette stratégie d'analyse par rapport aux modèles mixtes ? i) Tout d'abord, outre l'effet des variables précédemment cités, l'analyse par classes latentes a permis de faire ressortir l'effet négatif de l'anémie du nouveau-né et de l'infection placentaire palustre sur l'évolution du taux d'hémoglobine de l'enfant de 3 à 18 mois de vie. Les modèles mixtes n'ont pas pu mettre en évidence ces associations car, bien que les paramètres estimés aient été très proches, le degré de signification n'était pas atteint. ii) Ensuite l'analyse par classes latentes est une approche qui permet d'identifier au sein d'une population des individus qui partagent des caractéristiques et de les répartir en plusieurs groupes. Ainsi les individus au sein d'une trajectoire se ressemblent plus entre eux qu'ils ne

ressemblent aux individus d'une autre trajectoire. Cependant, nous restons dans le domaine des statistiques, et il n'est pas raisonnable de parler de deux groupes « distincts » qui pourraient être définitivement « caractérisés » précisément en se basant sur certains caractères, chaque enfant ayant une probabilité d'appartenir à l'une et à l'autre des classes. Cette méthodologie est largement utilisée en criminologie, en psychiatrie, en économie (Barker *et al.* 2007; Bernat *et al.* 2008; Hovee *et al.* 2008). La sélection du nombre de trajectoires dans ce type d'analyse n'est pas du tout subjective et a reposé en un premier temps dans notre cas sur des critères statistiques (le BIC), le pourcentage de sujets dans chaque trajectoire et la stabilité des groupes après introduction des covariables. Nous avons ensuite utilisé une autre méthode, la méthode « Gâteau », pour déterminer à nouveau le nombre de trajectoires dans notre population. La concordance des résultats à partir de deux méthodes différentes nous conforte dans nos résultats. iii) Une autre différence entre cette méthode et les modèles mixtes est la possibilité d'étudier l'effet prédictif d'un certain nombre de variables sur la probabilité d'appartenir à l'une ou l'autre des trajectoires identifiées. Dans notre analyse actuelle nous nous sommes limités à la variable d'intérêt, l'anémie maternelle. iv) Enfin l'analyse par classes latentes nous a permis également d'étudier l'effet de plusieurs variables au sein des trajectoires précédemment identifiées et nous avons montré que parmi toutes les variables étudiées, seul le trait drépanocytaire avait un effet significativement différent au sein des trajectoires, semblant plus délétère pour les enfants de la trajectoire basse. Ces différents résultats soulignent que l'analyse par classes latentes présentent certains avantages par rapport aux modèles hiérarchiques mixtes. La question peut alors se poser de savoir si l'introduction d'une pente aléatoire dans le modèle mixte pourrait modifier nos conclusions.

En première intention nous n'avons pas introduit de pente pour l'évolution du taux d'hémoglobine dans notre modèle mixte. Deux raisons ont motivé notre choix. La première repose sur l'analyse graphique de l'évolution du taux d'hémoglobine. En effet, la figure 7 montrant la distribution du taux d'hémoglobine des nourrissons entre 3 et 18 mois ne semble pas forcément compatible avec une pente aléatoire. Deuxièmement nous avons comparé les moyennes du taux d'hémoglobine des enfants à 3, 6, 9, 12, 15 et 18 mois et ces valeurs ne différaient pas significativement entre elles. L'apport de l'analyse par classes latentes dans un tel cas serait aussi la capacité à pouvoir faire des groupes différents même si ces groupes ont des pentes peu différentes. En seconde intention et afin de mieux explorer nos résultats, nous avons effectué de nouvelles analyses en introduisant malgré tout une pente dans le modèle mixte. Les résultats n'ont pas variés de ceux obtenus dans le modèle sans pente et nous avons noté une très faible variabilité de cette pente, résultat qui nous a confortés dans notre choix.

Nous avons montré en utilisant l'analyse par classes latentes que l'odds ratio d'appartenir à la trajectoire basse d'hémoglobine était deux fois plus élevée pour les nouveau-nés de mère anémiée. Ce constat nous permet de supposer que les mères anémiées donnent plus souvent naissance à des nouveau-nés fragiles, plus susceptibles d'être eux-mêmes anémiés. Le rôle de la carence martiale a été évoqué précédemment. Par ailleurs l'anémie maternelle pourrait être considérée comme un marqueur indirect d'un faible niveau socio économique traduisant donc un faible apport en éléments nutritifs pour la famille entière. Cela pourrait entraîner d'une part une aggravation de l'anémie maternelle et d'autre part agirait directement sur le niveau du taux d'hémoglobine du nourrisson. Ce résultat n'est pas contradictoire avec l'absence d'effet direct de l'anémie maternelle sur l'évolution du taux d'hémoglobine.

Nous venons de discuter les principaux résultats de cette première partie de notre thèse. Au total, nous avons montré d'une part, que l'anémie maternelle est un facteur de risque

d'anémie du nouveau-né et, d'autre part, que cette anémie du nouveau-né, indépendamment d'autres facteurs, aurait un effet néfaste sur le taux d'hémoglobine du jeune enfant. Au centre de ces associations se situe très certainement la carence martiale que nous n'avons pas pu étudier dans cette cohorte. Cependant nous avons exposé un certain nombre d'arguments en faveur de son rôle.

Comme nous l'avons cité, si la carence martiale est importante et si elle intervient dans le développement cognitif des jeunes enfants, les conséquences à moyens et longs termes pourraient être très sévères. C'est la raison pour laquelle une étude spécifique a été mise en place et qui constitue la seconde partie de ma thèse. L'objectif principal demeure l'étude de cette association entre anémie maternelle et développement de l'enfant. Malheureusement, pour des raisons logistiques et budgétaires, cet objectif n'a pu être étudié selon le calendrier initial. Cependant, une étape indispensable était de vérifier l'intérêt des outils mis en place pour étudier cet objectif et la seconde partie de cette discussion portera sur les résultats de cette analyse.

## **2. Discussion résultats TOVI**

Dans la présente enquête, nous avons dans un premier temps étudié l'association entre certains facteurs de risque connus de mauvais développement cognitif de l'enfant sur un sous échantillon. Nous avons évalué le développement cognitif de l'enfant par le Mullen Scales of Early Learning (MSEL). L'analyse univariée a montré que l'environnement familial de l'enfant, la richesse de la famille, l'intelligence maternelle et l'éducation de la mère étaient tous associés au développement cognitif de l'enfant. Nous n'avons pas retrouvé d'association significative avec la dépression maternelle. Notre analyse multivariée a montré que l'environnement familial, le sexe de l'enfant et l'intelligence maternelle étaient significativement associés au développement cognitif de l'enfant et que l'environnement familial et la richesse de la famille étaient associés au développement moteur.

Dans un second temps, nous avons étudié l'association entre les scores du Mullen et un sous ensemble de questions du Ten Questions Questionnaire (TQ). Nous avons montré que le développement moteur de l'enfant évalué par l'échelle de la Motricité Générale du MSEL était significativement associé à la question 1 et à la question 5 du TQ, ces deux questions étant destinées à dépister une déficience motrice chez les enfants. Enfin nous avons montré que chacune des questions 1 ou 5 prises séparément avaient de bonnes propriétés intrinsèques en prenant soit l'échelle de la Motricité Générale du MSEL, soit le score composite du MSEL comme référence.

Il s'agit de la première étude utilisant le MSEL en langue française. De plus, très peu d'auteurs ont étudié le développement psychomoteur chez des enfants âgés de un an en Afrique francophone et dans un environnement avec de faibles ressources. Nous montrons

que le MSEL semble être un outil sensible et pratique pour étudier le développement d'enfants dans ce contexte. Par ailleurs la moyenne du composite score ainsi que celle des cinq échelles dans notre population sont proches de celles des enfants américains chez qui l'outil a été validé. Cependant en aucun cas nous ne voulons comparer les enfants de notre étude aux enfants américains. Enfin, à notre connaissance, il s'agit de la première étude de TQ sur une population d'enfants âgés de un an. Evaluer des tests de dépistage de déficiences de l'enfant qui soit simple d'utilisation et d'interprétation, est très utile dans un contexte où il existe peu ou pas de professionnels formés au dépistage du trouble du développement des jeunes enfants.

Une autre force de notre étude est l'utilisation de plusieurs indicateurs du niveau socioéconomique et des caractéristiques maternelles, avec plusieurs outils standardisés (HOME, Raven, EPDS). En effet, parmi les recommandations faites pour la définition du statut socioéconomique dans les études épidémiologiques, il est préconisé d'utiliser plusieurs indicateurs plutôt qu'un seul (Braveman Pa, Cubbin C., and Egerter S. 2005; Hauser 1994). De plus, très peu d'enquêtes ont inclus ces différents outils dans une telle étude en Afrique.

Notre étude comprend cependant certaines limites. Tout d'abord, le taux de suivi était de 70,9%. Parmi les enfants perdus de vue, 8% vivaient en dehors de la zone de recherche. Cela s'explique par un déménagement de la famille après l'accouchement de la mère. Le suivi de ces enfants hors zone n'était pas prévu dans l'essai clinique initial. Deuxièmement, notre étude comprend uniquement des maternités publiques d'une zone semi-rurale. La population pourrait être différente en zone urbaine ou dans des maternités privées. Aussi, il est difficile d'extrapoler nos résultats à l'ensemble du Bénin. Enfin une dernière limite spécifique à notre analyse préliminaire, et liée à des contraintes logistiques, est que nous n'avons pas été en



mesure de prendre en compte les facteurs de risque médicaux périnataux et postnataux de mauvais développement de l'enfant comme le faible poids de naissance, la prématurité et l'état nutritionnel de l'enfant. Toutes les données n'étaient pas encore disponibles au moment de cette analyse et cela fera l'objet d'une étude ultérieure.

Dans notre étude, la richesse de la famille et l'éducation maternelle étaient associées à un meilleur développement cognitif de l'enfant. Nos résultats sont concordants avec certaines données de la littérature. Une étude menée en 2006 a montré que le niveau d'éducation de la mère avait un impact positif sur la santé de l'enfant (Boyle *et al.* 2006). Plus récemment, il a été montré chez des enfants argentins âgés de 6 à 14 mois, que ceux issus d'un milieu défavorisé avaient du mal à réaliser les activités qui leur étaient proposées (Raizada *et al.* 2008). Le même constat a été décrit très récemment chez 32 enfants suivis pendant 1 an, dont 15 étaient issus de familles avec un niveau socioéconomique faible et les 17 autres un niveau socioéconomique élevé (Clearfield and Niman 2012). Mais ici aussi des discordances existent et certaines études ne retrouvent pas d'association entre le statut socioéconomique et le développement de l'enfant (Abubakar *et al.* 2008; Bangirana *et al.* 2009). Cependant, dans l'étude menée par Abubakar *et al.* dont l'objectif était d'étudier les mécanismes du développement cognitif de l'enfant, s'ils n'ont pas mis en évidence une relation directe entre le statut socioéconomique et le développement de l'enfant ils ont par contre montré le rôle intermédiaire que jouerait l'état nutritionnel de l'enfant dans cette relation.

Un des éléments clés pour expliquer ces contradictions serait la définition utilisée pour la variable socioéconomique qui fait l'objet de débats dans la communauté scientifique (Bradley and Corwyn 2002). Parmi les nombreuses propositions faites pour définir le statut socioéconomique, les plus utilisées sont le revenu de la famille, l'éducation des parents et leur statut professionnel (Bradley and Corwyn 2002). Dans les études menées par Abubakar *et al.*

ainsi que celle de Bangirana *et al.* deux variables ont été utilisées pour le statut socioéconomique à savoir l'éducation de la mère et la richesse de la famille. Dans leurs analyses, Bangirana *et al.* ont introduit ces deux variables dans le même modèle, chose que nous n'avons pas faite car nos deux variables étaient associées, et nous disposions en plus dans notre étude du score de la matrice de Raven que nous avons préféré utiliser.

Si dans les pays développés il est relativement facile et standardisé d'estimer le revenu de la famille, ceci n'est pas le cas dans les pays en voie de développement pour lesquels des définitions diverses sont utilisées. Dans notre population nous l'avons approximé par une variable « richesse de la famille » elle-même composée de plusieurs indicateurs (possession d'un vélo, électricité ...). Nous avons construit un score en utilisant les réponses de la mère sur la possession ou pas de ces éléments. Le même principe a été utilisé dans d'autres études avec d'autres éléments que pourraient posséder les parents (Abubakar *et al.* 2008; Bangirana *et al.* 2009).

Nous avons choisi d'inclure dans notre modèle la matrice de Raven plutôt que l'éducation maternelle. La scolarisation est souvent faible pour toutes les femmes de la région (39.9% dans notre étude), en partie pour des raisons culturelles, économiques ou religieuses. Nous avons montré que le score du Raven des mères était significativement lié au niveau d'éducation des mères.

L'environnement familial de l'enfant joue un rôle primordial dans son développement. Notre résultat est ici également concordant avec les données de la littérature (Bradley *et al.* 1995; Evans 2006; Evans, Wells, and Moch 2003). En 2012, dans une étude longitudinale conduite au Pays-Bas, les auteurs se sont intéressés à l'effet de l'environnement familial de l'enfant sur

son développement cognitif. Ils ont montré que les enfants qui grandissaient dans un bon environnement d'apprentissage (existence de jouets, de livres, etc) avaient un bon développement cognitif (Rijlaarsdam *et al.* 2012). Lors de l'analyse multivariée, l'environnement familial de l'enfant reste associé non seulement à son développement cognitif mais aussi à son développement moteur soulignant l'importance de ce facteur.

Les filles avaient un score de développement cognitif plus élevé que les garçons. Des résultats similaires ont été décrits dans la littérature (Bornstein and Haynes 1998; Lung *et al.* 2009; Reilly *et al.* 2007; Reis *et al.* 2012). Des facteurs génétiques, biologiques puis environnementaux ont été proposés pour expliquer cette différence (Van Hulle, Goldsmith, and Lemery 2004).

Nous n'avons pas décrit d'association entre la dépression de la mère et le développement cognitif de l'enfant. Il existe des résultats contradictoires dans la communauté scientifique sur cette association. Plusieurs études ont décrit un impact négatif de la dépression du post-partum sur le développement de l'enfant (Cooper *et al.* 1999; Galler *et al.* 2000; Murray and Cooper 1997). Cette absence d'association dans notre étude pourrait s'expliquer par le fait que nos mères ont été vues 12 mois après l'accouchement. En effet les mères étaient incluses dans le cadre de l'essai clinique MiPPAD dès leur deuxième trimestre et ont été suivies jusqu'à l'accouchement puis jusqu'à ce que leurs enfants aient 12 mois de vie. Il n'était pas possible de modifier le design de cet essai clinique et d'administrer le test d'Edinburgh avant 12 mois post-partum. Cependant nos résultats sont concordants avec une étude réalisée en 2011 en Caroline du Nord dans laquelle les auteurs ont administré le même outil à des femmes 4 mois après l'accouchement. Ils n'ont pas retrouvé d'association entre la dépression maternelle et le développement cognitif de l'enfant mesuré par le MSEL (Keim *et al.* 2011).

Le Mullen Scales of Early Learning a été introduit pour la première fois au Bénin dans le cadre du projet TOVI. Sa traduction et son utilisation ont été réalisées selon les recommandations décrites dans la littérature (backtranslation, validation, etc). Il existe de nombreux autres outils de mesure du développement psychomoteur de l'enfant. Dans les études menées au Guatemala, au Brésil, au Pérou et en Jamaïque afin d'étudier les facteurs de risque d'un mauvais développement de l'enfant, l'outil utilisé était respectivement le Composite Infant Scale (Lumeng *et al.* 2010), le Bayley Scales (Seeyave *et al.* 2009), le Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised (Harrell *et al.* 1998) et le Wechsler Adult Intelligence Scales (Nulman *et al.* 1994). Nos résultats montrent une association entre les facteurs de risque socio-économique connus de mauvais développement cognitif de l'enfant et le MSEL ce qui est concordant avec ceux de la littérature utilisant d'autres échelles de mesure du développement. Cette concordance confirme la capacité du MSEL à identifier les enfants avec un plus mauvais développement dans notre échantillon. Les résultats que nous avons obtenus en comparant les différentes échelles du MSEL avec le TQ vont dans le même sens.

En effet nous montrons que les enfants dont les mères jugent qu'ils présentent une déficience motrice avaient des scores plus bas sur l'échelle de la Motricité Générale du MSEL.

Plusieurs raisons ont motivé le choix du MSEL pour l'évaluation du développement psychomoteur de l'enfant au Bénin. Le MSEL a de bonnes propriétés intrinsèques et extrinsèques qui ont été étudiées à l'origine sur un échantillon de 1849 enfants américains (Mullen 1995). La moyenne du score cognitif ainsi que celle de la motricité générale dans notre échantillon (99,3 et 50,1 respectivement) sont très proches de celles des enfants américains (98,3 et 51,1 respectivement) sur lesquels les performances du MSEL ont été étudiées. Le MSEL est relativement simple puisqu'il a pu être administré par des infirmiers

formés pour l'étude. De plus, ses différentes échelles couvrent les grands domaines du développement de l'enfant.

De nombreuses études se sont intéressées aux propriétés intrinsèques et extrinsèques du TQ. Une vaste étude réalisée au Bangladesh, en Jamaïque et au Pakistan a inclus plus de 22000 enfants âgés de 2 à 9 ans. Cette étude a donné lieu à plusieurs articles dont quelques uns portent sur la validité (Durkin *et al.* 1994) et sur la fiabilité du TQ (Durkin *et al.* 1995). La spécificité du TQ comme outil de dépistage de déficiences motrices sévères était de 92% au Bangladesh, de 85% en Jamaïque et de 86% au Pakistan. La sensibilité quant à elle était presque parfaite dans ces trois pays et variait de 84% à 100%. La valeur prédictive positive était comprise entre 3 et 15% (Durkin *et al.* 1994). En 2004, au Kenya une deuxième étude réalisée chez des enfants âgés de 6 à 9 ans a déterminé les propriétés intrinsèques et a confirmé une sensibilité et une spécificité très correctes du TQ comme outil de dépistage d'une déficience motrice, mais une valeur prédictive positive faible (Mung'ala-Odera *et al.* 2004). Une troisième étude réalisé en Inde sur des enfants de 2 à 9 ans, allait dans le même sens (Singhi *et al.* 2007).

Dans aucune de ces études le TQ n'a été administrée aux enfants de un an. Notre étude est la première à l'avoir proposé, en se limitant aux seules questions qui semblaient applicables à cet âge.

Les résultats de nos analyses ont montré que les questions 1 et 5 du TQ avaient une bonne spécificité (83% et 94% respectivement). La valeur prédictive positive était plus élevée que celles décrites dans la littérature pour les enfants de 2 à 9 ans (Durkin *et al.* 1994). Une limite

doit cependant être formulée. Les différents seuils utilisés pour l'échelle de la motricité Générale ainsi que pour le score composite du gold standard (MSEL) pour définir une déficience motrice ou cognitive légère ou sévère sont ceux proposés par le manuel et ne sont pas basés sur des seuils définis dans notre population. L'utilisation d'un outil dans une nouvelle population en vue d'une intervention médicale nécessite au préalable une étude spécifique (Fernald *et al.* 2009) puisque des différences peuvent s'observer d'un pays à l'autre. Le Bénin ne disposant d'aucun outil pour évaluer le développement des enfants, nous serons en mesure de proposer, une fois l'ensemble des enfants de TOVI évalués, un seuil pour cette population semi-rurale. Par ailleurs il n'était pas question de comparer notre population Béninoise à la population américaine sur laquelle le MSEL a été validée.

La présentation de toutes les propriétés intrinsèques puis extrinsèques nous a permis de mieux réfléchir sur les recommandations à proposer aux autorités sanitaires du Bénin. Dans une approche de dépistage, il est habituel de favoriser la sensibilité. Dans un contexte où il n'existe aucun spécialiste dans les zones reculées et que le pays ne disposait d'aucun outil pour évaluer le développement des enfants, la sensibilité observée ne devrait pas constituer un obstacle dans l'utilisation de cet outil. De plus, la grande spécificité de cet outil est importante. En effet, il n'y a pas de professionnel de santé (pédiatre, neurologue) disponible à proximité des populations. Ces soins seraient en outre à la charge des familles qui ont de faibles ressources. C'est pourquoi un test avec une bonne spécificité serait mieux accepté par la population afin de réduire les faux positifs.

L'introduction des différents outils utilisés dans le cadre du projet TOVI, et plus particulièrement l'introduction du MSEL et du TQ, ouvre de nouvelles perspectives. La spécificité des questions 1 et 5 du TQ étant élevée (> 80%), ces deux questions peuvent être utilisées comme outil pour rechercher l'existence de signes évocateurs de troubles du développement moteur de l'enfant. En effet, il est admis qu'une réponse positive à un test ayant une spécificité élevée peut raisonnablement être utilisée dans ce but. Notre étude a montré l'utilité et la faisabilité de l'utilisation du MSEL dans une zone semi-rurale dans un pays d'Afrique francophone. Nous avons aussi mis en évidence des facteurs prédictifs du développement de l'enfant dans cette population en utilisant des outils standardisés. Ces outils traduits en français et utilisés dans une zone à faibles ressources pourraient être d'autant plus utiles qu'il n'existe aucun spécialiste du domaine dans aucune zone rurale au Bénin

## Conclusion et perspectives

Les résultats de nos travaux de recherche soulignent l'importance des conséquences de l'anémie maternelle sur le jeune enfant durant ses dix huit premiers mois de vie. Les mères anémiées donnent deux fois plus souvent naissance à des nouveau-nés anémiés et le taux d'hémoglobine de ces nouveau-nés anémiés diminuait durant les premiers mois de vie. Nous avons identifié deux trajectoires d'hémoglobine et nous avons montré que l'anémie maternelle est prédictive de l'appartenance à la trajectoire basse d'hémoglobine du nourrisson de 3 à 18 mois de vie. A la vue de ces résultats il est important de poursuivre et renforcer les mesures préventives de l'anémie maternelle afin de minimiser son impact négatif sur la santé de l'enfant. Notre étude montre également la nécessité de disposer d'indicateurs fiables en vue de suivre l'évolution de la prévalence de l'anémie dans toutes les localités du Bénin.

L'un de nos objectifs spécifiques consistait à étudier l'impact de l'anémie maternelle sur le développement psychomoteur de l'enfant. Cet objectif n'a malheureusement pas pu être étudié puis inséré dans notre manuscrit compte tenu de plusieurs contraintes logistiques. Une fois que l'étude TOVI sera terminée, nous pourrions mieux apprécier l'effet de l'anémie maternelle sur le développement psychomoteur de l'enfant. Etant donnés les niveaux de prévalence très élevés de l'anémie maternelle et du nouveau-né dans les pays en voie de développement, si cette association était confirmée cela représenterait d'une part un énorme problème de santé publique et d'autre part aurait à court terme un impact sur la scolarité des jeunes enfants et à long terme probablement des répercussions sur le développement de ces pays. Une autre perspective peut être envisagée. En effet, le développement de l'enfant en Afrique de l'ouest a fait l'objet de peu d'études et il serait intéressant de l'étudier en appliquant de nouvelles méthodologies telles que l'analyse par classes latentes.



## Références bibliographiques

- Abubakar A., Van de Vijver F., Van Baar A., Mbonani L. *et al.* (2008). "Socioeconomic status, anthropometric status, and psychomotor development of Kenyan children from resource-limited settings: A path-analytic study." Early Human Development, 84(9): 613-621.
- ACC/SCN (2000). Fourth Report on the World Nutrition Situation. Geneva, ACC/SCN in collaboration with International Food Policy Research Institute.
- Anderson J.W., Johnstone B.M. and Remley D.T. (1999). "Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis." The American journal of clinical nutrition, 70(4): 525-535.
- Andres E., Loukili N.H., Noel E., Kaltenbach G. *et al.* (2004). "Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients." Canadian Medical Association Journal, 171(3): 251-259.
- Andres E., Perrin A.E., Demangeat C., Kurtz J.E. *et al.* (2003). "The syndrome of food-cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients." European Journal of Internal Medicine, 14(4): 221-226.
- Andres E., Perrin A.E., Kraemer J.P., Goichot B. *et al.* (2000). "[Anemia caused by vitamin B 12 deficiency in subjects aged over 75 years: new hypotheses. A study of 20 cases]." La Revue de Médecine Interne, 21(11): 946-954.
- Andruff H, Carraro N, Thompson A, Gaudreau P *et al.* (2009). "Latent class growth modelling: a tutorial." Tutorials Quantitative Methods for Psychology, 5: 11-24.
- Arabi M., Frongillo E.A., Avula R. and Mangasaryan N. (2012). "Infant and Young Child Feeding in Developing Countries." Child Development, 83(1): 32-45.
- Ballard J.L., Khoury J.C. and Wedig K. (1991). "New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants." The Journal of pediatrics, 119(3): 417-423.
- Baltussen R., Knai C. and Sharan M. (2004). "Iron fortification and iron supplementation are cost-effective interventions to reduce iron deficiency in four subregions of the world." The Journal of nutrition, 134(10): 2678-2684.
- Bangirana P., John C.C., Idro R., Opoka R.O. *et al.* (2009). "Socioeconomic predictors of cognition in Ugandan children: implications for community interventions." PLoS ONE, 4(11): e7898.
- Barker E.D., Seguin J.R., White H.R., Bates M.E. *et al.* (2007). "Developmental Trajectories of Male Physical Violence and Theft: Relations to Neurocognitive Performance." Archive of General Psychiatry, 64(5): 592-599.
- Beall C.M. and Reichsman A.B. (1984). "Hemoglobin levels in a Himalayan high altitude population." American Journal of Physical Anthropology, 63(3): 301-306.

- Berkman D.S., Lescano A.G., Gilman R.H., Lopez S.L. *et al.* (2002). "Effects of stunting, diarrhoeal disease, and parasitic infection during infancy on cognition in late childhood: a follow-up study." The Lancet, 359(9306): 564-571.
- Bernat D.H., Erickson D.J., Widome R., Perry C.L. *et al.* (2008). "Adolescent Smoking Trajectories: Results from a Population-Based Cohort Study." Journal of Adolescent Health, 43(4): 334-340.
- Bethony J., Brooker S., Albonico M., Geiger S.M. *et al.* (2006). "Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm." The Lancet, 367(9521): 1521-1532.
- Bodeau-Livinec F., Briand V., Berger J., Xiong X. *et al.* (2011). "Maternal anemia in Benin: prevalence, risk factors, and association with low birth weight." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 85(3): 414-420.
- Boivin M.J. (2002). "Effects of early cerebral malaria on cognitive ability in Senegalese children." Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics, 23(5): 353-364.
- Bondevik G.T., Eskeland B., Ulvik R.J., Ulstein M. *et al.* (2000). "Anaemia in pregnancy: possible causes and risk factors in Nepali women." European Journal of Clinical Nutrition, 54(1): 3-8.
- Bornstein M.H., Britto P.R., Nonoyama-Tarumi Y., Ota Y. *et al.* (2012). "Child Development in Developing Countries: Introduction and Methods." Child Development, 83(1): 16-31.
- Bornstein M.H. and Haynes O.M. (1998). "Vocabulary competence in early childhood: measurement, latent construct, and predictive validity." Child Development, 69(3): 654-671.
- Bornstein M.H. and Putnick D.L. (2012). "Cognitive and Socioemotional Caregiving in Developing Countries." Child Development, 83(1): 46-61.
- Bossi D. and Russo M. (1996). "Chapter 4: Hemolytic anemias due to disorders of red cell membrane skeleton." Molecular Aspects of Medicine, 17(2): 171-188.
- Bothwell T.H. (1979). Iron metabolism in man, Oxford: Blackwell, 1979.
- Bothwell T.H., Charlton R.W. and INACG (1981). Iron deficiency in women, Nutrition Foundation.
- Boyle M.H., Racine Y., Georgiades K., Snelling D. *et al.* (2006). "The influence of economic development level, household wealth and maternal education on child health in the developing world." Social Science & Medicine, 63(8): 2242-2254.
- Bradley R.H. and Corwyn R.F. (2002). "Socioeconomic status and child development." Annual Review of Psychology, 53: 371-399.
- Bradley R.H. and Putnick D.L. (2012). "Housing Quality and Access to Material and Learning Resources Within the Home Environment in Developing Countries." Child Development, 83(1): 76-91.
- Bradley R.H., Whiteside L., Mundfrom D.J., Blevins-Knabe B. *et al.* (1995). "Home Environment and Adaptive Social Behavior Among Premature, Low Birth Weight Children: Alternative Models of Environmental Action." Journal of Pediatric Psychology, 20(3): 347-362.

- Braveman Pa, Cubbin C. and Egerter S. (2005). "Socioeconomic status in health research: One size does not fit all." JAMA: The Journal of the American Medical Association, 294(22): 2879-2888.
- Britto P.R. and Ulkuer N. (2012). "Child Development in Developing Countries: Child Rights and Policy Implications." Child Development, 83(1): 92-103.
- Brown L.K., Lourie K.J. and Pao M. (2000). "Children and adolescents living with HIV and AIDS: a review." The Journal of Child Psychology and Psychiatry, 41(1): 81-96.
- Bukar M., Audu B.M., Yahaya U.R. and Melah G.S. (2008). "Anaemia in pregnancy at booking in Gombe, North-eastern Nigeria." Journal of Obstetrics & Gynaecology, 28(8): 775-778.
- Caldwell B.M. and Bradley R.H. (2003). Home inventory administration manual. Arkansas, Print Design Inc.
- Calis J.C., van Hensbroek M.B., de Haan R.J., Moons P. *et al.* (2008). "HIV-associated anemia in children: a systematic review from a global perspective." AIDS, 22(10): 1099-1112.
- Carmel R. (2000). "Current concepts in cobalamin deficiency." Annual Review of Medicine, 51: 357-375.
- Carter J.A., Lees J.A., Gona J.K., Murira G. *et al.* (2006). "Severe falciparum malaria and acquired childhood language disorder." Developmental Medicine & Child Neurology, 48(1): 51-57.
- Carter J.A., Mung'ala-Odera V., Neville B.G., Murira G. *et al.* (2005). "Persistent neurocognitive impairments associated with severe falciparum malaria in Kenyan children." Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 76(4): 476-481.
- Cavill I. (2002). "Erythropoiesis and iron." Best Practice & Research Clinical Haematology, 15(2): 399-409.
- Centers for Disease Control and Prevention (1989). "Criteria for anemia in children and childbearing-aged women." Morbidity and Mortality Weekly Report, 38(22): 400-404.
- Christian P., Murray-Kolb L.E., Khatry S.K., Katz J. *et al.* (2010). "Prenatal micronutrient supplementation and intellectual and motor function in early school-aged children in Nepal." The Journal of the American Medical Association, 304(24): 2716-2723.
- Clearfield M.W. and Niman L.C. (2012). "SES affects infant cognitive flexibility." Infant Behavior and Development, 35(1): 29-35.
- Colomer J., Colomer C., Gutierrez D., Jubert A. *et al.* (1990). "Anaemia during pregnancy as a risk factor for infant iron deficiency: report from the Valencia Infant Anaemia Cohort (VIAC) study." Paediatric and Perinatal Epidemiology, 4(2): 196-204.
- Cooper P.J., Landman M., Tomlinson M., Moltano C. *et al.* (2002). "Impact of a mother-infant intervention in an indigent peri-urban South African context: pilot study." The British Journal of Psychiatry, 180: 76-81.

- Cooper P.J., Tomlinson M., Swartz L., Woolgar M. *et al.* (1999). "Post-partum depression and the mother-infant relationship in a South African peri-urban settlement." The British Journal of Psychiatry, 175: 554-558.
- Cope G.F., Nayyar P. and Holder R. (2001). "Measurement of nicotine intake in pregnant women-- associations to changes in blood cell count." Nicotine & Tobacco Research, 3(2): 119-122.
- Cox J.L., Holden J.M. and Sagovsky R. (1987). "Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale." Nicotine Tobacco Research, 150: 782-786.
- Crawley J. (2004). "Reducing the burden of anemia in infants and young children in malaria-endemic countries of Africa: from evidence to action." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 71(2 Suppl): 25-34.
- Crookston B.T., Dearden K.A., Alder S.C., Porucznik C.A. *et al.* (2011). "Impact of early and concurrent stunting on cognition." Maternal & Child Nutrition, 7(4): 397-409.
- Dallman P.R. (1989). Review of iron metabolism. Dietary iron: birth to two years. Filer L.J. New York, Raven Press Ltd.
- Dallman P.R., Barr G.D., Allen C.M. and Shinefield H.R. (1978). "Hemoglobin concentration in white, black, and Oriental children: is there a need for separate criteria in screening for anemia?" The American journal of clinical nutrition, 31(3): 377-380.
- Davidson P.W., Myers G.J., Cox C., Axtell C. *et al.* (1998). "Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles Child Development Study." The Journal of the American Medical Association, 280(8): 701-707.
- de Pee S., Bloem M.W., Sari M., Kiess L. *et al.* (2002). "The High Prevalence of Low Hemoglobin Concentration among Indonesian Infants Aged 3–5 Months Is Related to Maternal Anemia." The Journal of nutrition, 132(8): 2215-2221.
- Dharmarajan T.S., Adiga G.U. and Norkus E.P. (2003). "Vitamin B12 deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults." Geriatrics, 58(3): 30-34, 37-38.
- Diallo D., Sidibé H., Diakité S., Doumbia S. *et al.* (1994). "Prévalence de l'anémie du nouveau-né au Mali." Cahiers Santé, 4: 341-345.
- Dirren H., Logman M.H., Barclay D.V. and Freire W.B. (1994). "Altitude correction for hemoglobin." European Journal of Clinical Nutrition, 48(9): 625-632.
- Durkin M.S., Davidson L.L., Desai P., Hasan Z.M. *et al.* (1994). "Validity of the ten questions screened for childhood disability: results from population-based studies in Bangladesh, Jamaica, and Pakistan." Epidemiology, 5(3): 283-289.

- Durkin M.S., Wang W., Shrout P.E., Zaman S.S. *et al.* (1995). "Evaluating a ten questions screen for childhood disability: Reliability and internal structure in different cultures." Journal of clinical epidemiology, 48(5): 657-666.
- Edmonds C.J., Isaacs E.B., Cole T.J., Rogers M.H. *et al.* (2010). "The Effect of Intrauterine Growth on Verbal IQ Scores in Childhood: A Study of Monozygotic Twins." Pediatrics, 126(5): e1095-e1101.
- Evans G.W. (2006). Child development and the physical environment. Annual Review of Psychology, 57: 423-451.
- Evans G.W., Wells N.M. and Moch A. (2003). "Housing and Mental Health: A Review of the Evidence and a Methodological and Conceptual Critique." Journal of Social Issues, 59(3): 475-500.
- Ezzati M., Lopez A.D., Rodgers A.A. and Murray C.J.L. (2004). "Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors." World Health Organization, Geneva, Switzerland
- Factor-Litvak P., Wasserman G., Kline J.K. and Graziano J. (1999). "The Yugoslavia Prospective Study of environmental lead exposure." Environmental Health Perspectives, 107(1): 9-15.
- Fazio-Tirrozzo G., Brabin L., Brabin B., Agbaje O. *et al.* (1998). "A community based study of vitamin A and vitamin E status of adolescent girls living in the Shire Valley, Southern Malawi." European Journal of Clinical Nutrition, 52(9): 637-642.
- Fernald L.C.H., Kariger P., Engle P. and Raikes A. (2009). Examining Early Child Development in Low-Income Countries: A Toolkit for the Assessment of Children in the First Five Years of Life. The World Bank.
- Friedman J.F., Kanzaria H.K. and McGarvey S.T. (2005). "Human schistosomiasis and anemia: the relationship and potential mechanisms." Trends in Parasitology, 21(8): 386-392.
- Galler J.R., Harrison R.H., Ramsey F., Forde V. *et al.* (2000). "Maternal depressive symptoms affect infant cognitive development in Barbados." Journal of Child Psychology and Psychiatry, 41(6): 747-757.
- Gardner J.M., Powell C.A., Baker-Henningham H., Walker S.P. *et al.* (2005). "Zinc supplementation and psychosocial stimulation: effects on the development of undernourished Jamaican children." The American journal of clinical nutrition, 82(2): 399-405.
- Gardner J.M., Walker S.P., Powell C.A. and Grantham-McGregor S. (2003). "A randomized controlled trial of a home-visiting intervention on cognition and behavior in term low birth weight infants." The Journal of pediatrics, 143(5): 634-639.
- Geelhoed D., Agadzi F., Visser L., Ablordeppey E. *et al.* (2006). "Maternal and fetal outcome after severe anemia in pregnancy in rural Ghana." Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 85(1): 49-55.

- Gentilini M. (1993). "Médecine tropicale". Flammarion Médecine Science.
- Ghosh K. (2007). "Pathogenesis of anemia in malaria: a concise review." Parasitology Research, 101(6): 1463-1469.
- Gonzales G.F., Tapia V., Gasco M., Carrillo C.E. *et al.* (2012). "Association of hemoglobin values at booking with adverse maternal outcomes among Peruvian populations living at different altitudes." International Journal of Gynaecology and Obstetrics, 117(2): 134-9
- Gordon R.C., Rose M.C., Skeaff S.A., Gray A.R. *et al.* (2009). "Iodine supplementation improves cognition in mildly iodine-deficient children." The American journal of clinical nutrition, 90(5): 1264-1271.
- Grantham-McGregor S.M., Lira P.I., Ashworth A., Morris S.S. *et al.* (1998). "The development of low birth weight term infants and the effects of the environment in northeast Brazil." Journal of Pediatrics, 132(4): 661-666.
- Guerrant D.I., Moore S.R., Lima A.A., Patrick P.D. *et al.* (1999). "Association of early childhood diarrhea and cryptosporidiosis with impaired physical fitness and cognitive function four-seven years later in a poor urban community in northeast Brazil." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 61(5): 707-713.
- Gwamaka M., Kurtis J.D., Sorensen B.E., Holte S. *et al.* (2012). "Iron Deficiency Protects Against Severe Plasmodium falciparum Malaria and Death in Young Children." Clinical Infectious Diseases, 54(8): 1137-1144.
- Haas J.D. and Brownlie T. (2001). "Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship." The Journal of nutrition, 131(2): 676S.
- Hallberg L., Bengtsson C., Lapidus L., Lindstedt G. *et al.* (1993). "Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women." The British Journal of Haematology, 85(4): 787-798.
- Harrell J.S., Bangdiwala S.I., Deng S., Webb J.P. *et al.* (1998). "Smoking initiation in youth: the roles of gender, race, socioeconomics, and developmental status." The Journal of Adolescent Health, 23(5): 271-279.
- Hauser R.M. (1994). "Measuring Socioeconomic Status in Studies of Child Development." Child Development, 65(6): 1541-1545.
- Heckman J.J. and Singer B. (1984). "A method of minimizing the impact of distributional assumptions in econometric models for duration data." Econometrica, 52: 271-320.
- Hernandez-Martinez C., Canals J., Aranda N., Ribot B. *et al.* (2011). "Effects of iron deficiency on neonatal behavior at different stages of pregnancy." Early Human Development, 87(3): 165-169.

- Hodges R.E., Sauberlich H.E., Canham J.E., Wallace D.L. *et al.* (1978). "Hematopoietic studies in vitamin A deficiency." The American journal of clinical nutrition, 31(5): 876-885.
- Hoeve M., Blokland A., Dubas J., Loeber R. *et al.* (2008). "Trajectories of Delinquency and Parenting Styles." Journal of Abnormal Child Psychology, 36(2): 223-235.
- Iannotti L.L., Tielsch J.M., Black M.M. and Black R.E. (2006). "Iron supplementation in early childhood: health benefits and risks." The American journal of clinical nutrition, 84(6): 1261-1276.
- Idjradinata P. and Pollitt E. (1993). "Reversal of developmental delays in iron-deficient anaemic infants treated with iron." The Lancet, 341(8836): 1-4.
- Idowu O.A., Mafiana C.F. and Dapo S. (2005). "Anaemia in pregnancy: a survey of pregnant women in Abeokuta, Nigeria." African Health Sciences, 5(4): 295-299.
- Institut National de la Statistique et de l'Analyse Économique (2006). Enquête Démographique et de Santé Bénin (EDSB-III). Institut National de la Statistique et de l'Analyse Économique (INSAE), Cotonou, République du Bénin.
- Kabyemela E.R., Fried M., Kurtis J.D., Mutabingwa T.K. *et al.* (2008). "Decreased susceptibility to Plasmodium falciparum infection in pregnant women with iron deficiency." The Journal of Infectious Diseases, 198(2): 163-166.
- Kagitcibasi C., Sunar D. and Bekman S. (2001). "Long-term effects of early intervention: Turkish low-income mothers and children." Journal of Applied Developmental Psychology, 22(4): 333-361.
- Kalenga M.K., Nyembo M.K., Nshimba M. and Foidart J.M. (2003). "[Anemia prevalence in pregnant and breast-feeding women in Lubumbashi (Democratic Republic of the Congo). Impact of malaria and intestinal helminthiasis]." Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction, 32(7): 647-653.
- Keim S.A., Daniels J.L., Dole N., Herring A.H. *et al.* (2011). "A prospective study of maternal anxiety, perceived stress, and depressive symptoms in relation to infant cognitive development." Early Human Development, 87(5): 373-380.
- Kilbride J., Baker T.G., Parapia L.A., Houry S.A. *et al.* (1999). "Anaemia during pregnancy as a risk factor for iron-deficiency anaemia in infancy: a case-control study in Jordan." International Journal of Epidemiology, 28(3): 461-468.
- Klebanoff M.A., Shiono P.H., Selby J.V., Trachtenberg A.I. *et al.* (1991). "Anemia and spontaneous preterm birth." American journal of obstetrics and gynecology, 164(1 Pt 1): 59-63.
- Knottnerus J.A., Delgado L.R., Knipschild P.G., Essed G.G. *et al.* (1990). "Haematologic parameters and pregnancy outcome. A prospective cohort study in the third trimester." Journal of clinical epidemiology, 43(5): 461-466.

- Koura G.K., Ouedraogo S., Le Port A., Watier L. *et al.* (2012). "Anaemia during pregnancy: impact on birth outcome and infant haemoglobin level during the first 18 months of life." Tropical Medicine & International Health, 17(3): 283-291.
- Koura G.K., Briand V., Massougbdji A., Chippaux J.P. *et al.* (2011). "Prévalence et étiologie de l'anémie chez la femme enceinte au sud Bénin au moment du changement de politique nationale de prise en charge." Médecine Tropicale (Mars), 71(1): 63-67.
- Lagerberg R.E. (2008). "Malaria in pregnancy: a literature review." Journal of Midwifery & Women's Health, 53(3): 209-215.
- Lainey E., Boirie M. and Fenneteau O. (2009). "Hémogramme en pédiatrie : variations physiologiques." Revue Francophone des Laboratoires, 2009(416): 49-59.
- Lansford J.E. and Deater-Deckard K. (2012). "Childrearing Discipline and Violence in Developing Countries." Child Development, 83(1): 62-75.
- Lao T.T., Loong E.P., Chin R.K., Lam C.W. *et al.* (1991). "Relationship between newborn and maternal iron status and haematological indices." Biology of the neonate, 60(5): 303-307.
- Lao T.T. and Pun T.-C. (1996). "Anaemia in pregnancy — is the current definition meaningful?" European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 68(0): 53-58.
- Laor N., Wolmer L., Mayes L.C., Golomb A. *et al.* (1996). "Israeli Preschoolers Under Scud Missile Attacks A Developmental Perspective on Risk-Modifying Factors." Archives of General Psychiatry, 53(5): 416-423.
- Larocque R., Casapia M., Gotuzzo E. and Gyorkos T.W. (2005). "Relationship between intensity of soil-transmitted helminth infections and anemia during pregnancy." American Journal of Tropical Medicine & Hygiene, 73(4): 783-789.
- Larousse (2012). Le Larousse médical. Larousse.
- Le Port A., Watier L., Cottrell G., Ouedraogo S. *et al.* (2011). "Infections in infants during the first 12 months of life: role of placental malaria and environmental factors." PLoS ONE, 6(11): e27516.
- Liddell C., Kvalsvig J., Qotyana P. and Shabalala A. (1994). "Community Violence and Young South African Children's Involvement in Aggression." International Journal of Behavioral Development, 17(4): 613-628.
- Lokeshwar M.R., Dalal R., Manglani M. and Shah N. (1998). "Anemia in newborn." Indian Journal Pediatrics, 65(5): 651-661.
- Looker A.C., Johnson C.L., McDowell M.A. and Yetley E.A. (1989). "Iron status: prevalence of impairment in three Hispanic groups in the United States." The American journal of clinical nutrition, 49(3): 553-558.



- Lozoff B. (1989). "Methodologic issues in studying behavioral effects of infant iron-deficiency anemia." The American journal of clinical nutrition, 50(3 Suppl): 641-651.
- Lozoff B., Wolf A.W. and Jimenez E. (1996). "Iron-deficiency anemia and infant development: effects of extended oral iron therapy." Journal of Pediatrics, 129(3): 382-389.
- Lumeng J.C., Forrest P., Appugliese D.P., Kaciroti N. *et al.* (2010). "Weight status as a predictor of being bullied in third through sixth grades." Pediatrics, 125(6): e1301-1307.
- Lung F.-W., Shu B.-C., Chiang T.-L., Chen P.-F. *et al.* (2009). "Predictive validity of Bayley scale in language development of children at 6–36 months." Pediatrics International, 51(5): 666-669.
- Luzzatto L., Metha A. and Vulliamy T. (2001). Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th edn. Scriver CR B.A., Sly WS, et al. Columbus, McGraw-Hill.
- Magwaza A.S., Killian B.J., Petersen I. and Pillay Y. (1993). "The effects of chronic violence on preschool children living in South African townships." Child Abuse & Neglect, 17(6): 795-803.
- Majia L.A., Hodges R.E., Arroyave G., Viteri F. *et al.* (1977). "Vitamin A deficiency and anemia in Central American children." The American journal of clinical nutrition, 30(7): 1175-1184.
- Mavalankar D.V., Trivedi C.R. and Gray R.H. (1991). "Levels and risk factors for perinatal mortality in Ahmedabad, India." Bulletin of the World Health Organization, 69(4): 435-442.
- McCulloch C. and Neuhaus J. (2001). Generalized linear mixed models. New York : John Wiley & Sons, Inc.
- McGarvey S.T., Aligui G., Graham K.K., Peters P. *et al.* (1996). "Schistosomiasis japonica and childhood nutritional status in northeastern Leyte, the Philippines: a randomized trial of praziquantel versus placebo." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 54(5): 498-502.
- Mebrahtu T., Stoltzfus R.J., Chwaya H.M., Jape J.K. *et al.* (2004). "Low-dose daily iron supplementation for 12 months does not increase the prevalence of malarial infection or density of parasites in young Zanzibari children." The Journal of nutrition, 134(11): 3037-3041.
- Meda N., Mandelbrot L., Cartoux M., Dao B. *et al.* (1999). "Anaemia during pregnancy in Burkina Faso, west Africa, 1995-96: prevalence and associated factors. DITRAME Study Group." Bulletin of the World Health Organization, 77(11): 916-922.
- Menendez C., Fleming A.F. and Alonso P.L. (2000). "Malaria-related anaemia." Parasitology Today, 16(11): 469-476.
- Menendez C., Ordi J., Ismail M.R., Ventura P.J. *et al.* (2000). "The impact of placental malaria on gestational age and birth weight." The Journal of Infectious Diseases, 181(5): 1740-1745.

- Menendez C., Todd J., Alonso P.L., Francis N. *et al.* (1994). "The effects of iron supplementation during pregnancy, given by traditional birth attendants, on the prevalence of anaemia and malaria." Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 88(5): 590-593.
- Mihaila C., Schramm J., Strathmann F.G., Lee D.L. *et al.* (2011). "Identifying a window of vulnerability during fetal development in a maternal iron restriction model." PLoS ONE, 6(3): e17483.
- Modell B. and Darlison M. (2008). "Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators." Bulletin of the the World Health Organization, 86(6): 480-487.
- Mohanram M., Kulkarni K.A. and Reddy V. (1977). "Hematological studies in vitamin A deficient children." International Journal of Vitamin and Nutrition Research, 47(4): 389-393.
- Molla A., Khurshid M., Molla A.M., Badruddin S.H. *et al.* (1993). "Is Anemia an Accurate Predictor of Vitamin a Status in Pakistani Children?" American journal of tropical medicine and hygiene, 49(2): 276-279.
- Morsing E., Åsard M., Ley D., Stjernqvist K. *et al.* (2011). "Cognitive Function After Intrauterine Growth Restriction and Very Preterm Birth." Pediatrics 127(4): e874-e882.
- Mullen E.M. (1995). Mullen Scales of Early Learning. Circle Pines, MN, American Guideline Service, Inc.
- Mung'ala-Odera V., Meehan R., Njuguna P., Mturi N. *et al.* (2004). "Validity and reliability of the 'Ten Questions' questionnaire for detecting moderate to severe neurological impairment in children aged 6-9 years in rural Kenya." Neuroepidemiology, 23(1-2): 67-72.
- Murphy J.F., O'Riordan J., Newcombe R.G., Coles E.C. *et al.* (1986). "Relation of haemoglobin levels in first and second trimesters to outcome of pregnancy." The Lancet, 1(8488): 992-995.
- Murray L. and Cooper P.J. (1997). "Postpartum depression and child development." Psychological Medicine 27(02): 253-260.
- Nagin DS (2005). Group-based Modeling of Development. Cambridge, MA, Harvard University Press.
- Nemeth E. (2008). "Iron regulation and erythropoiesis." Current Opinion in Hematology, 15(3): 169-175.
- Niehaus M.D., Moore S.R., Patrick P.D., Derr L.L. *et al.* (2002). "Early childhood diarrhea is associated with diminished cognitive function 4 to 7 years later in children in a northeast Brazilian shantytown." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 66(5): 590-593.
- Nordenberg D., Yip R. and Binkin N.J. (1990). "The effect of cigarette smoking on hemoglobin levels and anemia screening." The journal of the American Medical Association, 264(12): 1556-1559.

- Nulman I., Rovet J., Altmann D., Bradley C. *et al.* (1994). "Neurodevelopment of adopted children exposed in utero to cocaine." Canadian Medical Association Journal, 151(11): 1591-1597.
- Nwizu E.N., Iliyasu Z., Ibrahim S.A. and Galadanci H.S. (2011). "Socio-demographic and maternal factors in anaemia in pregnancy at booking in Kano, northern Nigeria." African Journal of Reproductive Health, 15(4): 33-41.
- Oberhelman R.A., Guerrero E.S., Fernandez M.L., Silio M. *et al.* (1998). "Correlations between intestinal parasitosis, physical growth, and psychomotor development among infants and children from rural Nicaragua." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 58(4): 470-475.
- Oppenheimer S.J., Gibson F.D., Macfarlane S.B., Moody J.B. *et al.* (1986). "Iron supplementation increases prevalence and effects of malaria: report on clinical studies in Papua New Guinea." Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 80(4): 603-612.
- Ouédraogo S. (2012). Anémie de la femme enceinte : facteurs de risque et conséquences en zone d'endemie palustre. PhD, University of Paris 6.
- Ouédraogo S., Koura G.K., Bodeau-Livinec F., Accrombessi M.M.K. *et al.* (2012). "Maternal anaemia in pregnancy: assessing the effect of routine preventive measures in a malaria endemic area." American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. (In press).
- Pan W.H. and Habicht J.P. (1991). "The non-iron-deficiency-related difference in hemoglobin concentration distribution between blacks and whites and between men and women." American journal of epidemiology, 134(12): 1410-1416.
- Patel V., DeSouza N. and Rodrigues M. (2003). "Postnatal depression and infant growth and development in low income countries: a cohort study from Goa, India." Archives of Disease in Childhood, 88(1): 34-37.
- Perez E.M., Hendricks M.K., Beard J.L., Murray-Kolb L.E. *et al.* (2005). "Mother-Infant Interactions and Infant Development Are Altered by Maternal Iron Deficiency Anemia." The Journal of nutrition, 135(4): 850-855.
- Perry G.S., Byers T., Yip R. and Margen S. (1992). "Iron nutrition does not account for the hemoglobin differences between blacks and whites." The Journal of nutrition, 122(7): 1417-1424.
- Pollitt E. (1993). "Iron deficiency and cognitive function." Annual Review of Nutrition, 13: 521-537.
- Preziosi P., Prual A., Galan P., Daouda H. *et al.* (1997). "Effect of iron supplementation on the iron status of pregnant women: consequences for newborns." The American journal of clinical nutrition, 66(5): 1178-1182.
- Qian M., Wang D., Watkins W.E., Gebiski V. *et al.* (2005). "The effects of iodine on intelligence in children: a meta-analysis of studies conducted in China." Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 14(1): 32-42.

- Quigley M.A., Hockley C., Carson C., Kelly Y. *et al.* (2012). "Breastfeeding is Associated with Improved Child Cognitive Development: A Population-Based Cohort Study." The Journal of pediatrics, 160(1): 25-32.
- Rabe-Hesketh S., Skrondal A. and Pickles A. (2004) "GLLAMM Manual." U.C. Berkeley Division of Biostatistics Working Paper Series.
- Rachas A., Le Port A., Cottrell G., Guerra J. *et al.* (2012). "Placental Malaria is Associated With Increased Risk of Nonmalaria Infection During the First 18 Months of Life in a Beninese Population." Clinical Infectious Diseases, 55(5): 672-678.
- Raizada R.D., Richards T.L., Meltzoff A. and Kuhl P.K. (2008). "Socioeconomic status predicts hemispheric specialisation of the left inferior frontal gyrus in young children." Neuroimage, 40(3): 1392-1401.
- Ramakrishnan U. (2002). "Prevalence of micronutrient malnutrition worldwide." Nutrition Reviews, 60( 5 Pt 2): S46-52.
- Raven J. (2000). "The Raven's progressive matrices: change and stability over culture and time." Cognitive Psychology, 41(1): 1-48.
- Redd S.C., Wirima J.J. and Steketee R.W. (1994). "Risk Factors for Anemia in Young Children in Rural Malawi." American journal of tropical medicine and hygiene, 51(2): 170-174.
- Reilly S., Wake M., Bavin E.L., Prior M. *et al.* (2007). "Predicting Language at 2 Years of Age: A Prospective Community Study." Pediatrics, 120(6): e1441-e1449.
- Reis A.B.R., Mello R.R.d., Morsch D.S., Meio M.D.B.B. *et al.* (2012). "Desempenho mental de bebês pré-termo de muito baixo peso ao nascer: avaliação da estabilidade nos dois primeiros anos de vida e fatores associados ao desempenho mental." Revista Brasileira de Epidemiologia, 15: 13-24.
- Ren A., Wang J., Ye R.W., Li S. *et al.* (2007). "Low first-trimester hemoglobin and low birth weight, preterm birth and small for gestational age newborns." International Journal of Gynecology & Obstetrics, 98(2): 124-128.
- Renaud A. (2003). "Fer, vitamine C et acide folique : convergence sanguine." Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 16(5): 281-283.
- Rijlaarsdam J., Tiemeier H., Hofman A., Jaddoe V.W.V. *et al.* (2012). "Home environments of infants: relations with child development through age 3." Journal of Epidemiology and Community Health. [Early view. 5 July 2012]
- Rodkey F.L., O'Neal J.D., Collison H.A. and Uddin D.E. (1974). "Relative affinity of hemoglobin S and hemoglobin A for carbon monoxide and oxygen." Clinical Chemistry, 20(1): 83-84.

- Sazawal S., Black R.E., Ramsan M., Chwaya H.M. *et al.* (2006). "Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial." The Lancet, 367(9505): 133-143.
- Scholl T.O. and Hediger M.L. (1994). "Anemia and iron-deficiency anemia: compilation of data on pregnancy outcome." The American journal of clinical nutrition, 59(2 Suppl): 492S-500S discussion 500S-501S.
- Seeyave D.M., Coleman S., Appugliese D., Corwyn R.F. *et al.* (2009). "Ability to delay gratification at age 4 years and risk of overweight at age 11 years." Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine, 163(4): 303-308.
- Semba R.D. and Bloem M.W. (2002). "The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis." European Journal of Clinical Nutrition, 56(4): 271-281.
- Senga E.L., Harper G., Koshy G., Kazembe P.N. *et al.* (2011). "Reduced risk for placental malaria in iron deficient women." Malaria Journal, 10: 47.
- Siberry G.K. and Lannone R. (2000). The Harriet Lane handbook: a manual for pediatric house officers. 15th ed. St. Louis, Mosby.
- Sifakis S. and Pharmakides G. (2000). "Anemia in pregnancy." Annals of the New-York Academy of Sciences, 900: 125-136.
- Singhi P., Kumar M., Malhi P. and Kumar R. (2007). "Utility of the WHO Ten Questions Screen for Disability Detection in a Rural Community—the North Indian Experience." Journal of Tropical Pediatrics, 53(6): 383-387.
- Smith A.W., Hendrickse R.G., Harrison C., Hayes R.J. *et al.* (1989). "The effects on malaria of treatment of iron-deficiency anaemia with oral iron in Gambian children." Annals of Tropical Paediatrics, 9(1): 17-23.
- Smith J.L. and Brooker S. (2010). "Impact of hookworm infection and deworming on anaemia in non-pregnant populations: a systematic review." Tropical medicine & international health, 15(7): 776-795.
- Stabler S.P., Allen R.H., Savage D.G. and Lindenbaum J. (1990). "Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency." Blood, 76(5): 871-881.
- Stoltzfus R.J. (2011). "Iron interventions for women and children in low-income countries." The Journal of nutrition, 141(4): 756S-762S.
- Stoltzfus R.J., Dreyfuss M.L. and ILSI (1998). Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. ILSI Press Washington DC.
- Stram D.O. and Lee J.W. (1994). "Variance components testing in the longitudinal mixed effects model." Biometrics, 50(4): 1171-1177.

- Sturgeon P. (1959). "Studies of Iron Requirements in Infants.\* III. Influence of Supplemental Iron during Normal Pregnancy on Mother and Infant A. The Mother." British Journal of Haematology, 5(1): 31-44.
- Tamura T., Goldenberg R.L., Hou J., Johnston K.E. *et al.* (2002). "Cord serum ferritin concentrations and mental and psychomotor development of children at five years of age." Journal of Pediatrics, 140(2): 165-170.
- Tasseau A. and Rigourd V. (2004). "Anémie néonatale précoce : orientation diagnostique." Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 17(4): 198-203.
- ter Kuile F.O., Parise M.E., Verhoeff F.H., Udhayakumar V. *et al.* (2004). "The burden of co-infection with human immunodeficiency virus type 1 and malaria in pregnant women in sub-saharan Africa." American Journal Tropical and Medicine Hygiene, 71(2 Suppl): 41-54.
- Tomlinson M., Cooper P. and Murray L. (2005). "The mother-infant relationship and infant attachment in a South African peri-urban settlement." Child Development, 76(5): 1044-1054.
- United Nations Administrative Committee on Coordination (2000). Low Birth Weight. Report of a Meeting. Dhaka, Bangladesh. 14-17 June 1999. Nutrition Policy Paper No 18. February 2000. United Nations Administrative Committee on Coordination
- Van Hulle C.A., Goldsmith H.H. and Lemery K.S. (2004). "Genetic, environmental, and gender effects on individual differences in toddler expressive language." Journal of Speech, Language and Hearing Research, 47(4): 904-912.
- Vaughn J., Brown J. and Carter J.P. (1986). "The effects of maternal anemia on infant behavior." Journal of the National Medical Association, 78(10): 963-968.
- Veenemans J., Milligan P., Prentice A.M., Schouten L.R.A. *et al.* (2011). "Effect of Supplementation with Zinc and Other Micronutrients on Malaria in Tanzanian Children: A Randomised Trial." PLoS Medicine, 8(11): e1001125.
- Verhoeff F.H., Brabin B.J., Hart C.A., Chimsuku L. *et al.* (1999). "Increased prevalence of malaria in HIV-infected pregnant women and its implications for malaria control." Tropical medicine & International Health, 4(1): 5-12.
- Villar J., Smeriglio V., Martorell R., Brown C.H. *et al.* (1984). "Heterogeneous Growth and Mental Development of Intrauterine Growth-Retarded Infants During the First 3 Years of Life." Pediatrics, 74(5): 783-791.
- Vitor-Silva S., Reyes-Lecca R., Pinheiro T. and Lacerda M. (2009). "Malaria is associated with poor school performance in an endemic area of the Brazilian Amazon." Malaria Journal, 8(1): 230.
- Volberding P.A., Levine A.M., Dieterich D., Mildvan D. *et al.* (2004). "Anemia in HIV infection: clinical impact and evidence-based management strategies." Clinical Infectious Diseases, 38(10): 1454-1463.

- Walker S.P., Chang S.M., Powell C.A. and Grantham-McGregor S.M. (2004). "Psychosocial Intervention Improves the Development of Term Low-Birth-Weight Infants." The Journal of nutrition, 134(6): 1417-1423.
- Walker S.P., Chang S.M., Powell C.A. and Grantham-McGregor S.M. (2005). "Effects of early childhood psychosocial stimulation and nutritional supplementation on cognition and education in growth-stunted Jamaican children: prospective cohort study." The Lancet, 366(9499): 1804-1807.
- Walker S.P., Wachs T.D., Gardner J.M., Lozoff B. *et al.* (2007). "Child development: risk factors for adverse outcomes in developing countries." The Lancet, 369(9556): 145-157.
- Walter T., Kovalskys J. and Stekel A. (1983). "Effect of mild iron deficiency on infant mental development scores." Journal of Pediatrics, 102(4): 519-522.
- Wasserman G.A., Liu X., Parvez F., Ahsan H. *et al.* (2004). "Water arsenic exposure and children's intellectual function in Araihaazar, Bangladesh." Environmental Health Perspectives, 112(13): 1329-1333.
- Wasserman G.A., Liu X., Parvez F., Ahsan H. *et al.* (2006). "Water manganese exposure and children's intellectual function in Araihaazar, Bangladesh." Environmental Health Perspectives 114(1): 124-129.
- Wendland-Carro J., Piccinini C.A. and Millar W.S. (1999). "The role of an early intervention on enhancing the quality of mother-infant interaction." Child Development, 70(3): 713-721.
- WHO, UNFPA, UNAIDS and WFP (2010). Savoir Pour Sauver/Facts for Life. United Nations Children's Fund.
- WHO/UNICEF (2010). " Indicators for assessing infant and young child feeding practices - Part II : Measurement." WHO/UNICEF
- World Health Organization (1959). Iron deficiency anaemia. World Health Organization
- World Health Organization (1968). "Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group." World Health Organization Technical Report Series 405: 5-37.
- World Health Organization (1993). Prevention and Management of severe anaemia in Pregnancy. Report of Technical working Group. Geneva, Switzerland, World Health Organization.
- World Health Organization (2007). Assessing the iron status of populations. Geneva, World Health Organization.
- World Health Organization (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia. Geneva, Switzerland, World Health Organization.
- World Health Organization (2011). World Malaria Report 2011 Geneva, Switzerland, World Health Organization.
- World Health Organization and Centers for Disease Control and Prevention (2004). "Assessing the iron status of populations." Geneva, Switzerland, WHO/CDC Joint Report.

- Wu T., Wang X., Wei C., Cheng H. *et al.* (2005). "Hemoglobin levels in Qinghai-Tibet: different effects of gender for Tibetans vs. Han." Journal of Applied Physiology, 98(2): 598-604.
- Xiong X., Buekens P., Alexander S., Demianczuk N. *et al.* (2000). "Anemia during pregnancy and birth outcome: a meta-analysis." American journal of perinatology, 17(3): 137-146.
- Xiong X., Buekens P., Alexander S. and Wollast E. (1996). "The relationship between anemia during pregnancy and birth outcome." Archives of Public Health, 53(suppl): 136.
- Xiong X., Buekens P., Fraser W.D. and Guo Z. (2003). "Anemia during pregnancy in a Chinese population." International Journal of Gynaecology and Obstetrics, 83(2): 159-164.
- Yamada M., Steketee R., Abramowsky C., Kida M. *et al.* (1989). "Plasmodium Falciparum Associated Placental Pathology: A Light and Electron Microscopic and Immunohistologic Study." American journal of tropical medicine and hygiene, 41(2): 161-168.
- Zhang Q., Ananth C.V., Rhoads G.G. and Li Z. (2009). "The impact of maternal anemia on perinatal mortality: a population-based, prospective cohort study in China." Annals of Epidemiology, 19(11): 793-799.
- Zhou L.M., Yang W.W., Hua J.Z., Deng C.Q. *et al.* (1998). "Relation of hemoglobin measured at different times in pregnancy to preterm birth and low birth weight in Shanghai, China." American journal of epidemiology, 148(10): 998-1006.



## Annexes

### Annexe 1 : Liste des articles acceptés ou soumis

**Koura GK**, Briand V, Massougbdji A, Chippaux JP, Cot M et Garcia A. Prévalence et étiologie de l'anémie chez la femme enceinte au sud Bénin au moment du changement de politique nationale de prise en charge. *Médecine Tropicale* 2011;71:63-67.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Le Port A, Watier L, Cottrell G, Guerra J, *et al.* Anaemia during pregnancy: impact on birth outcome and infant haemoglobin level during the first 18 months of life. *Tropical Medicine & International Health* 2012;17(3):283-91.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Le Port A, Gottrell G, Massougbdji A and Garcia A. Maternal anaemia at delivery and haemoglobin evolution in infants during their first 18 months of life using latent class analysis.

Ouédraogo S, **Koura GK**, Accrombessi MMK, Bodeau-Livinec F, Massougbdji A, Cot M. Maternal anaemia at first antenatal visit: prevalence and risk factors in a West African malaria endemic area. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*. (*Sous presse*)

Ouédraogo S, **Koura GK**, Bodeau-Livinec F, Accrombessi MMK, Massougbdji A, Cot M, 2012. Maternal anaemia in pregnancy: assessing the impact of preventive measures in a malaria endemic area. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*. (*Sous presse*)

Ouédraogo S, Bodeau-Livinec F, Briand V, Huynh BT, **Koura GK**, Accrombessi MMK, Fievet N, Massougbdji A, Deloron P, Cot M, 2012. Malaria and gravidity interact to modify maternal haemoglobin concentrations during pregnancy.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Garcia A, Beheton T *et al.* 2012. Prevalence and risk factors of antibiotics usage in Southern Benin: a school-based study.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Briand V, Massougbodji A, Garcia A. Prevalence and risk factors for soil-transmitted helminth infection in beninese women during pregnancy.

Ouédraogo S, **Koura GK**, Accrombessi MMK, Bodeau-Livinec F, Massougbodji A, Cot M, 2012. Consequences of maternal anaemia on newborn anaemia and low birth weight in a malaria endemic area.

**Annexe 2** : Chapitre de livre

Bodeau-Livinec F, Cot M, Koura GK and Boivin MJ. Assessing the effects of maternal anemia on child development in Benin. In Boivin MJ and Giordani B, *Neuropsychology of Children in Africa: Perspectives on Risk and Resilience*. New York: Springer 2012 (*Sous presse*)

### **Annexe 3** : Communications affichées

**Koura GK**, Briand V, Massougbojji A, Cot M, Garcia A. Infections helminthiques intestinales chez la femme enceinte: prévalence et impact sur l'anémie maternelle. *Congrès de l'ADELF (Association Des Epidémiologistes de Langue Française)*, 2008, Paris, France.

**Koura GK**, Le Port A, Cottrel G, Célia D, Garcia A. Conséquences de l'anémie maternelle sur le nouveau-né et le nourrisson au sud du Bénin. *Congrès de l'ADELF (Association Des Epidémiologistes de Langue Française)*, 15 au 17 Septembre 2010, Marseille, FRANCE

**Koura GK**, Garcia A, Beheton T, Deloron P, Cot M, Faucher J-F. Prevalence and risk factors of antibiotics usage in Southern Benin: a school-based study. *Congrès de l'ADELF (Association Des Epidémiologistes de Langue Française)*, 15 au 17 Septembre 2010, Marseille, FRANCE

**Koura GK**, Ouédraogo S, Le Port A, Watier L, Cottrell G *et al.* Anemia during pregnancy : impact on birth outcomes and on infant's hemoglobin level during the first 18 months of life. *The 3<sup>rd</sup> North American Congress of Epidemiology*, 2011, Montreal, Canada.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Briand V, Massougbojji A, Garcia A. Prevalence and risk factors for soil-transmitted helminth infection in beninese women during pregnancy. *The 3<sup>rd</sup> North American Congress of Epidemiology*, 2011, Montreal, Canada.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Garcia A, Beheton T *et al.* Prevalence and risk factors of antibiotics usage in Southern Benin: a school-based study. *The 3<sup>rd</sup> North American Congress of Epidemiology*, 2011, Montreal, Canada.

S Ouédraogo, **Koura GK**, Accrombessi MMK, Massougbojji A, Bodeau-Livinec F, Cot M. Maternal anaemia at first antenatal visit: Prevalence and aetiologies in a West African malaria endemic area. *The 7th European Congress on Tropical Medicine and International Health*, 2011, Barcelone, Espagne.

**Koura GK**, Ouédraogo S, Le Port A, Watier L, Cottrell G *et al.* Anemia during pregnancy : impact on birth outcomes and on infant's hemoglobin level during the first 18 months of life. *The 3<sup>rd</sup> North American Congress of Epidemiology, 2011, Montreal, Canada.*

**Koura GK**, Ouédraogo S, Briand V, Massougbodji A, Garcia A. Prevalence and risk factors for soil-transmitted helminth infection in beninese women during pregnancy. *The 3<sup>rd</sup> North American Congress of Epidemiology, 2011, Montreal, Canada.*


**Koura GK**, Ouédraogo S, Garcia A, Beheton T *et al.* Prevalence and risk factors of antibiotics usage in Southern Benin: a school-based study. *The 3<sup>rd</sup> North American Congress of Epidemiology, 2011, Montreal, Canada.*

**Koura GK**, Boivin MJ, Davidson LL, Ouédraogo S, Garcia A, Massougbodji A, Cot M and Bodeau-Livinec F. Validity of a subset of the Ten Questions Questionnaire in one year old Beninese children: association with the Mullen Scales of Early Learning. *The 25<sup>th</sup> Annual Society for Pediatric and Perinatal Epidemiologic Research, 2012, Minneapolis, Etats-Unis.*

**Koura GK**, Boivin MJ, Davidson LL, Ouédraogo S, Garcia A, Massougbodji A, Cot M and Bodeau-Livinec F. Adaptation of the Mullen Scales of Early Learning to Benin setting. *The 45<sup>th</sup> Annual Society for Epidemiologic Research, 2012, Minneapolis, Etats-Unis.*

**Koura GK**, Ouédraogo S, Gottrell G, Le Port A, Massougbodji A and Garcia A. Maternal anaemia at delivery and haemoglobin evolution in infants during their first 18 months of life using latent class analysis. *The 45<sup>th</sup> Annual Society for Epidemiologic Research, 2012, Minneapolis, Etats-Unis.*

**Annexe 4** : Feuille de notation du Mullen Scales of Early Learning (Page de garde et présentation de l'échelle de la motricité générale).



Eileen M. Mullen

## FEUILLE DE NOTATION

	Année	Mois	Jour
Date de l'examen	_____	_____	_____
Date de naissance	_____	_____	_____
Age chronologique	_____	_____	_____

**AGS<sup>®</sup>**  
© 1995 American Guidance Service, Inc.  
4081 Woodland Road, Circle Pines, MN 55018-0796  
All rights reserved.  
No part of this form may be photocopied or otherwise reproduced. Printed in the U.S.A.  
#B098355402 Product Number 11152

**If this form is not printed in red and blue ink on white paper,  
it is not an original and may be an illegal photocopy.**

## Echelle 1. Développement Moteur

	Item	Score
<b>Stage 1</b>	1-4 mo	1. Aime être porté, ajuste sa posture (V) ..... 1 0
		2. Tourne sa tête (P) ..... 1 0
		3. Agite les bras et les jambes vigoureusement (D) ..... 1 0
		4. Tenu verticalement, tient sa tête de façon stable (V) ..... 1 0
		5. Se tient sur les avant-bras (P) ..... 1 0
<b>Stage 2</b>	3-8 mo	6. Tient assis avec soutien, la tête stable (AsS) ..... 1 0
		7. Se retourne (de P à D) ..... 1 0
	9-17 mo	8. Agrippe les doigts et se tire en position assise (de D à AsS) ..... 1 0
		9. Change d'appui, tend la main pour atteindre un jouet (P) ..... 1 0
<b>Stage 3</b>	13-17 mo	10. Tient debout les mains tenues, rebondit sur ses jambes ..... 1 0
		11. Tient assis sans l'aide des bras (S) ..... 1 0
		12. Se met debout (S) ..... 1 0
<b>Stage 4</b>		13. Passe de la position assise à quatre pattes (S) ..... 1 0
	18-20 mo	14. Marche une main tenue ..... 1 0
		15. Tient debout tout seul (1-2 secondes) ..... 1 0
		16. Marche seul (4-5 pas) ..... 1 0
		17. Lance la balle devant lui, du bas vers l'avant ..... 1 0
<b>Stage 5</b>	21-26 mo	18. Se met debout en roulant sur le côté (S à debout) ..... 1 0
		19. Debout, accroupi, debout ..... 1 0
		20. Monte les escaliers avec aide, sans alterner les pieds ..... 1 0
		21. Court avec raideur ..... 1 0
<b>Stage 6</b>	27+ mo	22. Donne un coup de pied dans un ballon de 25 à 30 cm (2 essais sur 5) ..... 1 0
		23. Se tient sur un pied, avec aide ..... 1 0
		24. Fait 4 ou 5 pas, un pied sur une ligne ..... 1 0
		25. Monte seul l'escalier, sans alternance ..... 1 0
		26. Descend d'un banc en sautant ..... 2 1 0
<b>Stage 7</b>		⊙ 1 pied, ⊙ 2 pieds
		27. Sauter sur place à pieds joints (un saut) ..... 1 0
		28. Marche sur la pointe des pieds (4-5 pas) ..... 1 0
		29. Marche sur une ligne en se servant des bras pour l'équilibre (6-7 pas) ..... 1 0
		30. Descend seul l'escalier en alternant ..... 1 0
<b>Stage 8</b>		31. Se met debout en s'asseyant, de face (S à debout) ..... 1 0
		32. Tient en équilibre sur un pied (2-3 secondes) ..... 1 0
		33. Court, tourne un coin, s'arrête ..... 1 0
		34. Fait deux sauts à cloche pieds ..... 1 0
		35. Marche sur une ligne, les bras le long du corps (6 pas) ..... 1 0

**NIVEAU de BASE = 3 items consécutifs avec un score d'au moins 1-point**

**NIVEAU PLAFOND = 3 items consécutifs avec un score de 0**

**Note Brute Développement Moteur**

## Annexe 5 : Ten Questions Questionnaire

### Ten Questions Questionnaire

1. Comparé avec d'autres enfants, est ce que (Prénom) a un sérieux retard pour la position assise, debout ou la marche ? (Etapes du développement)

Non 0                      Oui 1

2. Comparé avec d'autres enfants, est ce que (Prénom) a des difficultés à voir que ce soit dans la journée ou dans la soirée ? (Vision)

Non 0                      Oui 1

3. Est-ce que (Prénom) a des difficultés à entendre ? (Audition)

Non 0                      Oui 1

4. Lorsque vous dites à (Prénom) de faire quelque chose, semble t'il/elle comprendre ce que vous dites ? (Compréhension)

Non 0                      Oui 1

5. Est-ce que (Prénom) a des difficultés à marcher ou à bouger ses bras ou est ce qu'il/elle a une faiblesse et/ou une raideur dans les bras ou les jambes ? (Mouvement)

Non 0                      Oui 1

6. Est-ce que (Prénom) a parfois des crises, devient rigide ou perd connaissance ? (Crise)

Non 0                      Oui 1

7. Est-ce que (Prénom) apprend à faire des choses comme les autres enfants de son âge ? (Apprentissage)

Non 0                      Oui 1

8. Est-ce que (Prénom) arrive à parler (peut-il/elle se faire comprendre dans ses mots, peut-il/elle dire des mots reconnaissables) ? (Discours)

Non 0                      Oui 1

[9. Discours et Communication : **Non Concerné** car l'enfant a 12 mois.

a. Age 3-9 ans : Est-ce que le discours de (Prénom) en aucune manière est différente de la normale ?

b. Age 2 ans : Peut-il nommer au moins un objet (animal, jouet, tasse, cuillère) ?]

10. Comparé aux enfants de son âge, est ce (Prénom) semble avoir d'une manière ou d'une autre un retard mental, terne ou lent ? (Déficience Intellectuelle) ?

Non 0                      Oui 1

*Le questionnaire est considéré comme "positif" si un problème est signalé par la mère en réponse à une ou plusieurs des dix questions.*



## Annexe 6 : Feuille d'annotation de la matrice de Raven

### Test de RAVEN

Dans les études sur le développement des jeunes enfants, on doit mesurer d'autres paramètres qui peuvent jouer un rôle important. C'est pour cette raison qu'on vous demande de participer à cet exercice qui est comme un jeu.

1. Regardez ici (en pointant la figure supérieure de A1, SET A) Une pièce a été enlevée de ce dessin. Toutes les pièces d'en bas ont la forme correcte pour compléter le dessin, mais une seule d'entre elles a le modèle qui convient. Par exemple, la pièce numéro 1 a la bonne forme mais son modèle ne convient pas. Une seule pièce l'a. Dites-moi le numéro de la pièce qui est correcte (numéro 4) (Répétez l'explication si ce n'est pas compris)
2. Maintenant indiquez le numéro de la pièce qui a été enlevée de ce dessin. Regardez attentivement tous les dessins. Faites du mieux que vous pouvez.
3. Pour les séries A, B et C, administrez tous les items. Pour les séries D et E, arrêtez après 6 erreurs consécutives.

A			B			C			D			E		
1		4	1		2	1		3	1		3	1		7
2		5	2		6	2		2	2		4	2		6
3		1	3		1	3		3	3		3	3		3
4		2	4		2	4		3	4		7	4		2
5		6	5		1	5		7	5		3	5		1
6		3	6		3	6		4	6		6	6		5
7		6	7		5	7		5	7		5	7		1
8		2	8		6	8		1	8		4	8		6
9		1	9		4	9		7	9		1	9		3
10		3	10		3	10		6	10		2	10		2
11		4	11		4	11		1	11		5	11		4
12		5	12		5	12		2	12		6	12		5

Score total : /60

## Annexe 7 : Echelle d'Edinburgh

### ECHELLE D'EDINBURGH (EPDS)

Vous êtes mère d'un nourrisson de 12 mois. Nous aimerions savoir comment vous vous sentez. Nous vous demandons de bien vouloir remplir ce questionnaire en encrant la réponse qui vous semble le mieux décrire comment vous vous êtes sentie durant la semaine qui vient de s'écouler (c'est-à-dire les 7 derniers jours) et pas seulement aujourd'hui.

Encerclez la réponse qui vous semble le mieux décrire comment vous vous êtes sentie durant la semaine qui vient de s'écouler et pas seulement aujourd'hui

- |  |   |
|--|---|
| 1. J'ai pu rire et prendre les choses du bon côté :  __                                      | 6. J'ai eu tendance à me sentir dépassée par les événements :  __   |
| <input type="checkbox"/> 0 Aussi souvent que d'habitude                                      | <input type="checkbox"/> 3 Oui, la plupart du temps, je me suis sentie incapable de faire face aux situations |
| <input type="checkbox"/> 1 Pas tout à fait autant  | <input type="checkbox"/> 2 Oui, parfois, je ne me suis pas sentie aussi capable de faire face que d'habitude  |
| <input type="checkbox"/> 2 Vraiment beaucoup moins souvent ces jours-ci                      | <input type="checkbox"/> 1 Non, j'ai pu faire face à la plupart des situations                                |
| <input type="checkbox"/> 3 Absolument pas  | <input type="checkbox"/> 0 Non, je me suis sentie aussi efficace que d'habitude                               |
| 2. Je me suis sentie confiante et joyeuse en pensant à l'avenir :  __                        | 7. Je me suis sentie si malheureuse que j'ai eu des problèmes de sommeil :  __                                |
| <input type="checkbox"/> 0 Autant que d'habitude   | <input type="checkbox"/> 3 Oui, la plupart du temps   |
| <input type="checkbox"/> 1 Plutôt moins que d'habitude                                       | <input type="checkbox"/> 2 Oui, parfois   |
| <input type="checkbox"/> 2 Vraiment moins que d'habitude                                     | <input type="checkbox"/> 1 Pas très souvent   |
| <input type="checkbox"/> 3 Pratiquement pas  | <input type="checkbox"/> 0 Non, pas du tout   |
| 3. Je me suis reprochée, sans raison, d'être responsable quand les choses allaient mal :  __ | 8. Je me suis sentie triste ou peu heureuse :  __   |
| <input type="checkbox"/> 3 Oui, la plupart du temps  | <input type="checkbox"/> 3 Oui, la plupart du temps   |
| <input type="checkbox"/> 2 Oui, parfois  | <input type="checkbox"/> 2 Oui, très souvent  |
| <input type="checkbox"/> 1 Pas très souvent  | <input type="checkbox"/> 1 Pas très souvent   |
| <input type="checkbox"/> 0 Non, jamais   | <input type="checkbox"/> 0 Non, pas du tout   |
| 4. Je me suis sentie inquiète ou soucieuse sans motifs :  __                                 | 9. Je me suis sentie si malheureuse que j'en ai pleuré :  __  |
| <input type="checkbox"/> 0 Non, pas du tout  | <input type="checkbox"/> 3 Oui, la plupart du temps   |
| <input type="checkbox"/> 1 Presque jamais  | <input type="checkbox"/> 2 Oui, très souvent  |
| <input type="checkbox"/> 2 Oui, parfois  | <input type="checkbox"/> 1 Seulement de temps en temps  |
| <input type="checkbox"/> 3 Oui, très souvent   | <input type="checkbox"/> 0 Non, jamais  |
| 5. Je me suis sentie effrayée ou paniquée sans vraiment de raisons :  __                     | 10. Il m'est arrivé de penser à me faire du mal :  __   |
| <input type="checkbox"/> 3 Oui, vraiment souvent   | <input type="checkbox"/> 3 Oui, très souvent  |
| <input type="checkbox"/> 2 Oui, parfois  | <input type="checkbox"/> 2 Parfois  |
| <input type="checkbox"/> 1 Non, pas très souvent   | <input type="checkbox"/> 1 Presque jamais   |
| <input type="checkbox"/> 0 Non, pas du tout  | <input type="checkbox"/> 0 Jamais   |

Total : |\_\_| |\_\_|

Source: Cox, J.L., Holden, J.M. (2003) Perinatal Mental Health: A Guide to the Edinburgh Postnatal Depression Scale. Ed. Castleff.

## Annexe 8 : HOME

### HOME

Ecrivez 1 ou 0 dans la case qui correspond à chaque item (**1** représente quelque chose de positif), selon si le comportement a été observé pendant la visite ou si le parent rapporte que ces conditions ou événements caractérisent l'environnement domestique. Calculez les sous-totaux. La façon d'obtenir les réponses est indiquée pour chaque item (**O** pour **O**bservation ; **E** pour **E**ntrevue ; **L** pour **L'**une ou **l'**autre).

#### I. Sensibilité envers l'enfant

- |   |  |
|---|--|
| 1. Le parent laisse l'enfant jouer à des jeux « salissants ». <b>E</b>                          |  |
| 2. Le parent parle spontanément à l'enfant au moins deux fois excluant les gronderies. <b>O</b> |  |
| 3. Le parent répond verbalement aux vocalisations ou aux verbalisations de l'enfant. <b>O</b>   |  |
| 4. Le parent nomme à l'enfant le nom d'un objet ou d'une personne pendant la visite. <b>O</b>   |  |
| 5. La façon de parler du parent est claire, bien articulée et audible. <b>O</b>                 |  |
| 6. Le parent initie des échanges verbaux avec l'intervenant. <b>O</b>                           |  |
| 7. Le discours du parent est fluide et aisé. <b>O</b>   |  |
| 8. Le parent fait l'éloge de l'enfant spontanément au moins deux fois. <b>O</b>                 |  |
| 9. La voix du parent évoque des sentiments positifs envers l'enfant <b>O</b>                    |  |
| 10. Le parent caresse ou embrasse l'enfant au moins une fois. <b>O</b>                          |  |
| 11. Le parent réagit positivement aux éloges faits à l'enfant par l'intervenant. <b>O</b>       |  |

#### II. Acceptation de l'enfant

- |  |  |
|--|--|
| 12. Il n'y a pas eu plus d'un épisode de punition physique pendant la semaine qui vient de s'écouler. <b>E</b> |  |
| 13. La famille possède un animal de compagnie. <b>L</b>  |  |
| 14. Le parent ne crie pas après l'enfant durant l'entrevue. <b>O</b>   |  |
| 15. Le parent n'exprime pas ouvertement de l'irritation ou de l'hostilité envers l'enfant. <b>O</b>            |  |
| 16. Le parent ne gifle pas ou ne tape pas l'enfant pendant la visite. <b>O</b>                                 |  |
| 17. Le parent ne gronde pas ou ne critique pas l'enfant pendant la visite. <b>O</b>                            |  |
| 18. Le parent ne restreint pas l'enfant dans ses comportements plus de trois fois pendant la visite. <b>O</b>  |  |
| 19. Au moins deux livres sont présents ou visibles. <b>L</b>   |  |

Les questions en italique attirent votre attention sur le fait qu'elles sont sous forme négative. Mettre 1 quand la phrase est vraie et que la mère a un comportement positif envers l'enfant.

Exemple : Si le parent ne gifle pas ou ne tape pas l'enfant pendant la visite, mettre 1.

<b>III. Organisation</b>	
20. La garde de l'enfant, le cas échéant, est confiée à une personne parmi 3 substituts parentaux réguliers. <b>E</b>	
21. L'enfant est amené au marché au moins une fois par semaine. <b>E</b>	
22. Si l'enfant est malade, il est toujours amené chez le médecin ou dans une clinique. <b>E</b>	
23. L'aire de jeu de l'enfant semble sécurisé et sans risque. <b>O</b>	
<b>IV. Matériel d'apprentissage</b>	
24. Jouets ou équipement pour activité motrice physique : balle, ballon, etc. <b>L</b>	
25. Jouets à pousser ou tirer : camion, animal à tirer avec une ficelle, etc.. <b>L</b>	
26. Jouets en peluche, poupée ou pour jouets pour jeux de rôle. <b>L</b>	
27. Le parent fournit des jouets à l'enfant ou prévoit une activité intéressante pendant la visite. <b>O</b>	
<b>V. Engagement auprès de l'enfant</b>	
28. Le parent parle à l'enfant pendant qu'il effectue les tâches ménagères. <b>E</b>	
29. Le parent encourage consciemment le développement de l'enfant. Le parent lui enseigne comment exécuter, réaliser ou jouer. <b>E</b>	
30. Le parent organise les périodes de jeu de l'enfant. Le parent reconnaît qu'une attention de courte durée chez un jeune enfant nécessite qu'elle doive suggérer occasionnellement des activités ou des jeux. <b>E</b>	
31. Le parent garde l'enfant dans son champ de vision et le regarde souvent. <b>O</b>	
<b>VI. Variété</b>	
32. Le père participe parfois aux soins quotidiens de l'enfant. <b>E</b>	
33. Un membre de la famille raconte une histoire à l'enfant au moins trois fois par semaine. <b>E</b>	
34. Quand le père est présent, l'enfant mange au moins un repas par semaine avec son père et sa mère. <b>E</b>	
35. La famille rend visite à la parenté ou la reçoit environ une fois par mois. <b>E</b>	
36. L'enfant possède 1 ou plus d'un livre. <b>L</b>	
<b>Totaux :</b> I _____    II _____    III _____    IV _____    V _____    VI _____ <b>Total</b> _____	

Source : Caldwell, B., M. & Bradley (2003) Home Inventory. University of Arkansas for Medical science and University of Arkansas at Little Rock.

**Annexe 9** : Equipe TOVI lors d'une réunion hebdomadaire

