



## Doctoral Thesis

# Impact evaluation of food fortification with iron in school children and women of reproductive age

**Author(s):**

Andersson, Maria

**Publication Date:**

2010

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006253046> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 19032

**Impact evaluation of food fortification with iron  
in school children and women of reproductive age**

A dissertation submitted to  
ETH Zürich

for the degree of  
Doctor of Sciences

presented by  
MARIA ANDERSSON

M.Sc. Human Nutrition, Stockholm University, Stockholm, Sweden

Born 07.12.1974

Citizen of Sweden

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Richard F Hurrell, examiner

Prof. Dr.med. Michael B Zimmermann, co-examiner

Prof. Dr. Sean R Lynch, co-examiner

2010

## SUMMARY

**Background:** Iron deficiency is one of the major nutritional deficiencies in both developed and developing countries worldwide. Children and women of reproductive age are the most vulnerable population groups. Iron deficiency with or without anemia may cause decreased physical capacity, impaired cognitive functions and compromised immune functions. Food fortification with iron is considered the most cost-effective and sustainable public health strategy to increase iron intake, improve iron status and prevent iron deficiency. Mass fortification programs are implemented in nearly 80 countries, but the majority of these programs are still using iron compounds with low bioavailability. Several promising alternative iron fortificants are available, but population-based impact evaluation in well controlled randomized controlled trials are limited. Efficacy evaluation is expensive and improvements to the study design and the methods used are needed to improve cost-effectiveness.

**Aims:** The overall aim of this doctoral thesis was to evaluate the impact of promising vehicles and iron compounds for iron fortification on iron status in iron deficient populations. The specific objectives were: 1) to test the efficacy of the three alternate iron compounds micronized ground ferric pyrophosphate (MGFePP), encapsulated ferrous fumarate (EFF) and sodium iron edetate (NaFeEDTA) for iron fortification targeting children and women in both a developed and a developing country; 2) to develop and validate a new efficacy study design for impact evaluation of iron fortification; 3) to examine iron status, evaluate indicators and determinants of iron status in European women, and; 4) to examine the impact of iron fortification on neurophysiologic function in iron deficient women.

**Study I.** The efficacy of dual fortification of salt (DFS) with iron as MGFePP and EFF and iodine as potassium iodate was evaluated in a randomized controlled double-blind study of 5-15 y old children (n=458) with low iron stores but adequate iodine intake in rural southern India. Children were randomly assigned to 1 of 3 groups to receive iodized salt providing: 1) 2 mg iron/g salt as MGFePP; 2) 2 mg iron/g salt as EFF, or; 3) no fortifying iron for 10 mo. Hemoglobin (Hb), zinc protoporphyrin (ZnPP), serum ferritin (SF), transferrin receptor (TfR) and urinary iodine (UI) were measured at baseline, 5 mo, and 10 mo. Body iron was calculated from the ratio of TfR to SF. All iron status indicators improved significantly in children receiving MGFePP and EFF compared to placebo. After 10 mo, the prevalence of iron deficiency decreased

from 57% to 33% in the MGF<sub>2</sub>FePP group ( $P < 0.001$ ) and from 52% to 35% in the EFF group ( $P < 0.01$ ). The IDA prevalence dropped from 15% to 6% in the MGF<sub>2</sub>FePP group ( $P < 0.05$ ) and from 11% to 4% in the EFF group ( $P < 0.001$ ). The two iron compounds improved iron status to a similar extent. The median UI increased significantly in the IS and EFF groups ( $P < 0.001$ ), but not in the MGF<sub>2</sub>FePP group due to iodine losses in the MGF<sub>2</sub>FePP salt.

**Study II.** The efficacy of iron fortification of margarine with iron as MGF<sub>2</sub>FePP and NaFeEDTA was tested in a randomized controlled double-blind study of 18-40 y old Swiss women ( $n=142$ ) with low iron stores. Women were randomized to 1 of 3 groups to receive daily 20 g margarine providing: 1) 14 mg iron as MGF<sub>2</sub>FePP; 2) 14 mg iron as NaFeEDTA, or; 3) no fortification iron for 8 mo. Hb, SF and TfR were measured at 5 time-points; 2 fixed time-points (at baseline and 8 mo) and 3 randomly assigned time-points between 1 and 7 mo. A sparse serial sampling (3 samples) was assimilated by bootstrapping. Body iron was calculated from the ratio of TfR to SF. The three sampling schemes were compared and the data was analyzed using mixed effect models for repeated measurements and ANCOVA. Body iron increased significantly in women receiving both the MGF<sub>2</sub>FePP and NaFeEDTA ( $P < 0.05$ ); the increase with NaFeEDTA was 2-3 times greater than for MGF<sub>2</sub>FePP ( $P < 0.05$ ). After 8 mo, the prevalence of iron deficiency decreased from 60% to 43% in the MGF<sub>2</sub>FePP group and from 50% to 17% in the NaFeEDTA group. Compared to the control group, the reduction in iron deficiency prevalence was significant for NaFeEDTA ( $P < 0.001$ ), but not for MGF<sub>2</sub>FePP. Random serial sampling reduced the required sample size per group 10-fold, relative to 2 fixed time-points.

**Study III.** Iron status and determinants of iron status was investigated in a cross-sectional study of 18-42 y old Swiss women ( $n=672$ ). Anthropometrics, Hb, SF and TfR were measured. Body iron was calculated from the ratio of TfR to SF. The sensitivity and specificity of the iron status indicators SF, TfR and body iron in assessing low iron status was evaluated and predictors of low iron status assessed. The prevalence of anemia, iron deficiency and iron deficiency anemia based on low Hb and SF was 3%, 23% and 2%, respectively. In contrast, TfR was elevated in 10% and depleted body iron was present in 13% of the women. The additional measurement of TfR revealed that functional iron deficiency was present in 38% of the women with low iron stores. TfR was more closely correlated with determinants of

iron status than SF: longer menstrual duration and higher BMI increased risk for functional iron deficiency, while hormonal contraceptive use reduced the risk.

**Study IV.** The impact of iron fortification on neurophysiologic function was investigated in a randomized controlled double-blind study of 19-30 y old (n=15) iron deficient women. Women were assigned to receive 20 g margarine with either 14 mg iron as NaFeEDTA or no fortification iron for 8 mo. Iron status and visual evoked potentials (VEP) were measured at baseline and at 8 mo. The VEP waveforms at baseline and at 8 mo follow-up were compared and differences in the recognition of the initial waveform was assessed and used as an indicator of change. Compared to controls, body iron significantly increased in the iron group ( $P < 0.01$ ). The VEP waveform recognition was 50% lower in women receiving iron (50% vs. 95%;  $P < 0.01$ ).

In **conclusion**, the three tested iron compounds MGF<sub>2</sub>FePP, EFF and NaFeEDTA all improve iron status and are efficacious in reducing the prevalence of iron deficiency in school-aged children and women. MGF<sub>2</sub>FePP and EFF equally improved iron status in Indian children, whereas MGF<sub>2</sub>FePP was 2-3 times less efficacious than NaFeEDTA in Swiss women. We show that a new study design based on random sparse serial sampling and mixed effects model analysis has advantages compared to conventional fixed time-point efficacy design. The new approach is more flexible, may reduce sample size, invasiveness and cost, while at the same time increasing power and sensitivity of efficacy evaluation. The model can be used to examine the rate, extent and pattern of iron repletion in the population and may prove useful to evaluate other micronutrient interventions. Measuring TfR in addition to SF has advantages in evaluating iron status in women as it measures and quantifies functional iron deficiency. TfR may more accurately identify the etiologies of low iron status in marginally iron deficient women. Iron repletion with daily fortification iron may also improve neurophysiological functions in iron deficient women. The observed changes in VEP waveform variability suggest that correction of iron deficiency in women may partially restore impaired myelination of the visual pathway and improve compromised neurophysiologic function.

## ZUSAMMENFASSUNG

**Hintergrund:** Eisenmangel ist eine der häufigsten Mangelkrankheiten weltweit, in Entwicklungsländern sowie in entwickelten Ländern. Kinder und Frauen im gebärfähigen Alter sind jene Bevölkerungsgruppen die am meisten darunter leiden. Eisenmangel, mit oder ohne Anämie, kann zu einem herabgesetzten physischen Leistungsvermögen, zu verminderter kognitiver Funktion und zu verringerter Immunfunktion führen. Die Anreicherung von Nahrungsmitteln mit Eisen ist die kosteneffizienteste und nachhaltigste Langzeitlösung des öffentlichen Gesundheitswesens um die Eiseneinnahme zu erhöhen, den Eisenstatus zu verbessern und Eisenmangel vorzubeugen. Eisenanreicherung von Nahrungsmitteln auf nationaler Ebene wird in fast 80 Ländern durchgeführt, aber die Meisten dieser Programme benutzen immer noch Eisenverbindungen mit geringer Bioverfügbarkeit. Mehrere, vielversprechende alternative Eisenverbindungen sind vorhanden, aber deren Untersuchung in randomisierten und kontrollierten Effizienzstudien in verschiedenen Bevölkerungsgruppen ist immer noch begrenzt. Studien zur Untersuchung der Wirksamkeit von Eisenverbindungen sind teuer und Verbesserungen in den angewendeten Methoden sind erforderlich, damit diese Studien effizienter und kosteneffektiver durchgeführt werden können.

**Zielsetzung:** Das allgemeine Ziel dieser Dissertation war es, den Einfluss von Eisenverbindung zur Anreicherung von Lebensmitteln auf den Eisenstatus einer Bevölkerung mit Eisenmangel zu untersuchen. Die spezifischen Ziele waren: 1) die Wirksamkeit von drei Eisenverbindungen (mikronisiertem Eisenpyrophosphat (MGFePP), eingekapseltem Eisenfumarat (EFF) und Natrium-Eisen-EDTA (NaFeEDTA)) für eine mögliche Eisenanreicherung von Lebensmitteln, ausgerichtet auf Kinder und Frauen, in einem Industrie- und einem Entwicklungsland zu prüfen; 2) ein neues experimentelles Forschungsdesign für Effizienzstudien für Eisenverbindungen zu entwickeln und zu validieren; 3) den Eisenstatus sowie Indikatoren und bestimmende Faktoren des Eisenstatus in jungen europäischen Frauen zu untersuchen; und 4) die Auswirkung von Eisen auf die neurophysiologischen Funktionen in jungen Frauen mit Eisenmangel zu studieren.

**Studie I.** Die Wirksamkeit von zweifach angereichertem Salz (DFS) mit Eisen als MGFePP und EFF und Jod als Kaliumjodat wurde in einer randomisierten und kontrollierten Doppelblindstudie in 5-15 Jahre alten Kindern (n=458) mit niedrigen

Eisenspeichern aber ausreichendem Jodstatus in einem ländlichen Teil Südindiens evaluiert. Kinder wurden in 1 von 3 Gruppen eingeteilt und erhielten jodiertes Salz mit: 1) 2 mg Eisen/g Salz als MGF<sub>2</sub>FePP; 2) 2 mg Eisen/g Salz als EFF; oder, 3) keinem Eisen für 10 Monate. Hämoglobin (Hb), Zink Protoporphyrin (ZnPP), Serum Ferritin (SF), Transferrin Rezeptor (TfR) und Jod im Urin (UI) wurden am Anfang, nach 5 Monaten und nach 10 Monaten gemessen. Körpereisen wurde aus dem Verhältnis von TfR zu SF berechnet. In den Kindern die MGF<sub>2</sub>FePP und EFF bekamen, wurde eine signifikante Verbesserung des Eisenstatus festgestellt im Vergleich zu der Placebo Gruppe. Die Prävalenz von Eisenmangel sank während den 10 Monaten von 57% auf 33% in der MGF<sub>2</sub>FePP Gruppe ( $P < 0.001$ ) und von 52% auf 35% in der EFF Gruppe ( $P < 0.01$ ). Die Prävalenzrate von Eisenanämie verringerte sich von 15% auf 6% in der MGF<sub>2</sub>FePP Gruppe ( $P < 0.05$ ) und von 11% auf 4% in der EFF Gruppe ( $P < 0.001$ ). Beide Eisenverbindungen führten zu einer ähnlichen Verbesserung des Eisenstatus in Kindern. Der Median des UI stieg signifikant an in den IS und EFF Gruppen ( $P < 0.001$ ), aber nicht in der MGF<sub>2</sub>FePP Gruppe, aufgrund des Jodverlustes im MGF<sub>2</sub>FePP Salz.

**Studie II.** Die Wirksamkeit der Fortifizierung von Margarine mit Eisen als MGF<sub>2</sub>FePP und NaFeEDTA wurde in einer randomisierten kontrollierten Doppelblindstudie in 18-40 Jahre alten Schweizer Frauen (n=142) mit niedrigen Eisenspeichern untersucht. Die Frauen erhielten 20 g Margarine für den täglich Konsum während 8 Monaten. Sie wurden in 1 von 3 Gruppen eingeteilt und erhielten Margarine mit: 1) 14 mg Eisen als MGF<sub>2</sub>FePP; 2) 14 mg Eisen als NaFeEDTA; oder, 3) keinem Eisen. Hb, SF und TfR wurden an 5 Zeitpunkten gemessen: am Anfang und am Ende der 8 Monate sowie an 3 zufällig ausgewählten Zeitpunkten im Zeitraum von Monat 1 bis 7. Ein Sparse-Seriensampling (3 Proben) wurde assimiliert mit Hilfe der bootstrapping Methode. Körpereisen wurde aus dem Verhältnis von TfR zu SF berechnet. Die drei Probenschemas wurden mit einander verglichen und die Daten mit dem gemischten Modell für wiederholte Messungen und ANCOVA analysiert. Körpereisen war signifikant erhöht in Frauen, die MGF<sub>2</sub>FePP und NaFeEDTA konsumiert hatten ( $P < 0.05$ ). Die Zunahme im Körpereisen war 2-3-mal grösser mit NaFeEDTA als mit MGF<sub>2</sub>FePP. Nach 8 Monaten war die Prävalenz von Eisenmangel von 60% auf 43% in der MGF<sub>2</sub>FePP Gruppe und von 50% auf 17% in der NaFeEDTA Gruppe gesunken. Die Reduktion der Prävalenz von Eisenmangel in der Gruppe, die NaFeEDTA erhielt

war signifikant unterschiedlich zu der Kontrollgruppe, aber dies war nicht der Fall für die Gruppe, die MGF<sub>FePP</sub> bekam. Das Seriensampling hat die erforderliche Stichprobe pro Gruppe um das 10-fach reduziert im Vergleich zu zwei fixen Zeitpunkten.

**Studie III.** Eisenstatus und bestimmende Faktoren von Eisenstatus wurden in einer Querschnittsstudie in 18-42 Jahre alten Schweizer Frauen (n=672) untersucht. Anthropometrische Indikatoren, Hb, SF und TfR wurden gemessen. Körpereisen wurde aus dem Verhältnis von TfR zu SF berechnet. Die Sensitivität und die Spezifität der Eisenindikatoren SF, TfR und Körpereisen zur Feststellung von Eisenmangel und als Prädiktoren für niedrigen Eisenstatus wurden untersucht. Die Prävalenzrate von Anämie, Eisenmangel und Eisenmangelanämie, festgestellt anhand von niedrigem Hb und SF, waren 3%, beziehungsweise 23% und 2%. Demgegenüber waren die TfR Konzentration in 10% der Frauen erhöht und 13% hatten entleerte Eisenspeicher. Die zusätzliche Messung von TfR zeigte, dass ein funktioneller Eisenmangel in 38% der Frauen mit niedrigen Eisenspeichern bestand. TfR korrelierte besser mit bestimmenden Faktoren für Eisenmangel als SF: längere Menstruationsdauer und höherer BMI erhöhten das Risiko für funktionellen Eisenmangel, während hormonale Empfängnisverhütung das Risiko verringerte.

**Studie IV.** Der Effekt von Eisen auf neurophysiologische Funktionen in jungen Frauen wurde in einer randomisierten kontrollierten Doppelblindstudie in 19-30 Jahre alten Frauen (n=15) mit Eisenmangel untersucht. Die Frauen konsumierten während 8 Monaten 20 g Margarine pro Tag mit entweder 14 mg Eisen als NaFeEDTA oder Placebo. Eisenstatus und Visuell evozierte Potentiale (VEP) wurden am Anfang und nach 8 Monaten gemessen. Die Form der VEP Wellen am Anfang und am Schluss der Studie wurden verglichen und Unterschiede in der Wiederfindung der anfänglichen Wellenform wurden als Indikator für die Änderung verwendet. Im Vergleich zu der Kontrollgruppe war das Körpereisen in der Gruppe, die Eisen erhielt signifikant erhöht ( $P < 0.01$ ), und auch die Wiedererkennung VEP Wellenform war 50% niedriger (50% vs. 95%;  $P < 0.01$ ).

**Schlussfolgerung.** Alle drei Eisenverbindungen die getestet wurden (MGF<sub>FePP</sub>, EFF und NaFeEDTA) verbesserten den Eisenstatus und reduzierten wirkungsvoll den Eisenmangel in Schulkindern und in jungen Frauen. MGF<sub>FePP</sub> und EFF verbesserten den Eisenstatus in indischen Kindern zu gleichen Massen, obwohl MGF<sub>FePP</sub> 2-3-mal



weniger wirkungsvoll war als NaFeEDTA in Schweizer Frauen. Wir konnten zeigen, dass ein neues Studiendesign, das auf einem Sparse-Seriensampling und gemischten Modellen für wiederholte Messungen basiert, vorteilhaft ist gegenüber konventionellen Effizienzstudien. Das neue Konzept ist flexibel und kann die Stichprobengrösse, die Invasivität und die Kosten verringern und gleichzeitig die Power und Empfindlichkeit von Effizienzstudien erhöhen. Die neue Methode kann auch verwendet werden, um die Geschwindigkeit, die Grösse und die Form der Füllung der Eisenspeicher in der Bevölkerung zu überprüfen. Zusätzlich könnte dieses Modell auch hilfreich bei der Auswertung von anderen Interventionen mit Mikronährstoffen sein. Die zusätzliche Messung von TfR neben SF zur Beurteilung des Eisenstatus von jungen Frauen hat vor allem den Vorteil, einen funktionellen Eisenmangels zu identifizieren und zu quantifizieren. Die Messung von TfR kann auch helfen, die Ätiologie eines niedrigen Eisenstatus in Frauen mit marginalem Eisenmangel besser zu identifizieren. Die Erhöhung des Eisenstatus durch den täglichen Konsum von Lebensmitteln angereichert mit Eisen kann auch die neurophysiologischen Funktionen in jungen Frauen verbessern. Die Veränderungen in der VEP Wellenform deuten darauf hin, dass durch die Korrektur des Eisenmangels die neurophysiologischen Funktionen von Frauen mit Eisenmangel verbessert werden können, durch eine mögliche, teilweise Regenerierung der beeinträchtigten Myelinierung des vorderen Sehbahnbereichs.