

Tumor Necrosis Factor- α sebagai Prediktor Terjadinya Anemia pada Ibu Hamil di Wilayah Endemis Malaria

Tumor Necrosis Factor- α as Predictor of Anemia Occurrence among Pregnant Mothers in Malaria-Endemic Areas

Rostika Flora*, Theodorus*, Mukni**, Bina Melvia Girsang***, Sigit Purwanto***

*Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, **Balai Pelatihan Kesehatan Palembang, ***Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Abstrak

Ibu hamil yang berada di daerah endemis malaria sangat rentan terhadap infeksi malaria selama kehamilan. Gejala malaria pada kelompok ini sering asimtomatik atau bahkan tidak terdeteksi sama sekali karena adanya efek imunitas protektif melalui infeksi yang berulang. Adanya peningkatan kadar *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) dapat dijadikan indikator terjadinya infeksi malaria. TNF- α berperan penting dalam respons imun pada malaria akut yang menghambat terjadinya eritropoiesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar TNF- α dengan kejadian anemia pada ibu hamil di daerah endemis malaria *vivax*. Penelitian ini menggunakan desain potong lintang, dilakukan pada bulan Januari - Februari 2014 di lima wilayah kerja puskesmas Kota Bengkulu. Sampel penelitian adalah ibu hamil di daerah endemis malaria *vivax* yang diambil secara *accidental sampling*. Dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan mikroskopis malaria, kadar TNF- α dan kadar hemoglobin (Hb). Hasil penelitian menunjukkan seluruh ibu hamil memiliki riwayat pernah terinfeksi malaria *vivax*, walaupun hasil pemeriksaan slide negatif. Terjadi peningkatan kadar TNF- α dengan rerata $6,90 \pm 2,48$ pg/mL dan penurunan kadar Hb dengan rerata $9,75 \pm 0,88$ g%. Uji korelasi *Spearman* didapatkan korelasi negatif yang kuat ($r = -0,734$) dan bermakna (nilai $p < 0,05$) antara Kadar TNF- α dengan kadar Hb. Terdapat hubungan yang bermakna antara kadar TNF- α dengan kejadian anemia.

Kata kunci: Anemia, ibu hamil, infeksi malaria, kadar TNF- α

Abstract

Pregnant mothers living in malaria - endemic area are very susceptible to malaria infection during pregnancy. Malaria symptoms in this group are often asymptomatic or even not detected at all due to protective immunity effect through repeated infections. Any elevation of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) level can be used as indicator of malaria infection. TNF- α takes an important role in immune response on acute malaria that hinders occurrence eritropoiesis process. This study aimed to find out relations be-

tween TNF- α level and anemia occurrence among pregnant women living in malaria *vivax* - endemic areas. The study used cross-sectional design conducted on January to February 2014 in five working areas in Bengkulu city. Sample of study was pregnant mothers in malaria *vivax* - endemic areas which was taken through accidental sampling. Blood was taken for malaria-microscopic examination, TNF- α and haemoglobine (Hb) level. The results showed that all of pregnant mothers have malaria *vivax* - infected record, although slide examination showed negative result. Any TNF- α level elevation with average 6.90 ± 2.48 pg/mL and decrease of Hb level with average 9.75 ± 0.88 g%. Spearman correlation test showed strong negative correlation ($r = -0.734$) and significant (p value < 0.05) between TNF- α level and Hb level. There was significant relation between TNF- α level and anemia occurrence.

Keywords: Anemia, pregnant mothers, malaria infection, TNF- α level

Pendahuluan

Malaria merupakan salah satu penyebab terjadinya anemia pada ibu hamil yang berada di negara tropis seperti Indonesia. Anemia yang sering ditemukan pada ibu hamil semakin diperberat dengan adanya malaria yang berdampak terhadap kejadian bayi berat badan lahir rendah (BBLR).¹

Malaria dan kehamilan adalah dua kondisi yang saling memengaruhi. Perubahan fisiologis pada kehamilan dan perubahan patologis akibat malaria memiliki efek sinergis terhadap kondisi masing-masing sehingga semakin menambah masalah, baik bagi ibu hamil maupun janinnya. Interferensi parasit malaria dalam darah ibu hamil

Korespondensi: Rostika Flora, Program Studi Magister Ilmu Biomedik FK Universitas Sriwijaya, Jl. Dr. Moh. Ali Komplek RSMH Palembang 30126, No. Telp.0711-552542, e-mail: rostikaflora@gmail.com

memberi dampak langsung, baik pada ibu, plasenta maupun bayi yang dikandungnya.²

Malaria pada kehamilan dapat disebabkan oleh keempat spesies *Plasmodium*, akan tetapi *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) dan *Plasmodium vivax* (*P. vivax*) merupakan parasit penyebab infeksi tersering pada ibu hamil. Pada ibu hamil yang terinfeksi malaria *vivax*, kadar TNF- α lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan oleh *P. falciparum* pada level parasitemia yang sama. Diduga tingginya kadar TNF- α berperan terhadap kejadian bayi berat lahir rendah (BBLR) dan anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria *vivax*.³

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa, infeksi malaria *vivax* pada kehamilan dapat berdampak pada ibu dan janin bukan karena faktor sekuestrasi parasit di plasenta, melainkan karena adanya peningkatan TNF- α yang berperan terhadap kejadian anemia dan BBLR.

Selama fase akut infeksi malaria, terjadi respons inflamasi yang kuat yang menghasilkan peningkatan TNF- α dan IFN- α .⁴ Pengeluaran *pro-inflammatory* sitokin lokal atau sistemik lebih berperan terhadap kejadian BBLR dibandingkan dengan perubahan histologi plasenta pada malaria *vivax*. Selain itu, adanya *releapse* dari bentuk *hipnozoit* pada malaria *vivax* turut mendasari patogenesis malaria *vivax* pada kehamilan.⁵

Di Afrika, kematian perinatal akibat malaria diperkirakan terjadi sebanyak 1.500 kasus per hari. Selain itu, di daerah-daerah endemik malaria, 20 - 40% bayi yang dilahirkan mengalami BBLR.^{6,7} Salah satu daerah endemik malaria *vivax* di Indonesia adalah Provinsi Bengkulu. Berdasarkan data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Bengkulu, didapatkan bahwa pada tahun 2010 jumlah ibu hamil yang terinfeksi malaria *vivax* sebanyak 39 orang ibu hamil dari 2.900 ibu hamil yang diskринing malaria (1,34%). Pada tahun 2011 terdapat 87 orang ibu hamil yang terinfeksi malaria *vivax* dari 34.334 ibu hamil yang diskринing malaria (0,25%).⁸

Walaupun terjadi kecenderungan penurunan kasus malaria pada ibu hamil di Provinsi Bengkulu, akan tetapi angka kejadian anemia dan BBLR masih harus diwaspadai. Hal ini dikarenakan di daerah endemik malaria, sebagian besar wanita secara alamiah memiliki efek imunitas protektif melalui infeksi yang berulang sehingga gejala malaria pada kelompok ini sering samar (asimtomatik) atau bahkan tidak terdeteksi sama sekali. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar TNF- α dengan kejadian anemia pada ibu hamil di daerah endemik malaria *vivax*.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian korelasi dengan menggunakan desain potong lintang. Penelitian dilakukan di lima puskesmas Kota Bengkulu yang memiliki jumlah ibu

hamil terbanyak, yaitu puskesmas penelitian dilakukan selama dua bulan, yaitu awal bulan Januari sampai dengan Februari 2014. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ibu hamil yang berada di daerah endemik malaria *vivax*, dengan besaran sampel sesuai rumus sampel minimum.⁹ Hasil penghitungan sampel didapatkan jumlah sampel sebanyak 40 orang ibu hamil yang berasal dari lima wilayah kerja puskesmas Kota Bengkulu, dengan kriteria inklusi ibu hamil trimester II dan III yang bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini. Sedangkan untuk kriteria eksklusi meliputi kehamilan kembar, ibu hamil dengan riwayat penyakit infeksi, dan ibu hamil dengan defisiensi gizi. Defisiensi gizi diketahui dengan mengukur lingkaran lengan atas ibu hamil, sedangkan riwayat pernah terinfeksi malaria atau penyakit infeksi lainnya diketahui melalui hasil wawancara pada ibu hamil.

Sampel yang memenuhi kriteria inklusi selanjutnya dilakukan pengambilan darah sebanyak 2,5 cc untuk pemeriksaan parasit malaria, kadar hemoglobin (Hb) dan kadar TNF- α . Pemeriksaan parasit malaria secara mikroskopis dengan hapusan tebal dan tipis diperlukan untuk mengetahui apakah ibu terinfeksi malaria. Pemeriksaan kadar Hb dilakukan untuk mengetahui apakah ibu menderita anemia, penentuan anemia apabila kadar Hb ibu < 11 mg%. Pemeriksaan kadar Hb dilakukan dengan metode *Cyanmethemoglobin*. Pemeriksaan kadar TNF- α dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi peningkatan kadar TNF- α , peningkatan ditandai dengan kadar TNF- α > 2,42 pg/ml. Pemeriksaan kadar TNF- α dilakukan dengan metode *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan *TNF-Alpha Human Elisa Kit* (ab46087). Untuk mengetahui adanya korelasi antara kadar TNF- α dengan kejadian anemia dilakukan uji *Spearman*.

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan sampel sebanyak 40 orang ibu hamil dengan karakteristik subjek penelitian meliputi usia, berat badan, tinggi badan, lingkaran lengan atas, usia kehamilan, hasil pemeriksaan *slide* dan riwayat terinfeksi malaria. Karakteristik subjek penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar ibu hamil berusia antara 20 - 35 tahun (75%), memiliki berat badan 45 - 60 kilogram (72,5%), mempunyai lingkaran lengan atas \leq 23 centimeter (62,5%). Keseluruhan ibu hamil (100%) mempunyai tinggi badan \geq 145 centimeter, pemeriksaan *slide* negatif dan memiliki riwayat pernah terinfeksi malaria (Tabel 1).

Hasil pengukuran kadar TNF- α pada ibu hamil didapatkan terjadi peningkatan kadar TNF- α dengan rerata $6,90 \pm 2,48$ pg/mL, sedangkan hasil pengukuran kadar Hb didapatkan terjadi penurunan kadar Hb dengan rerata $9,75 \pm 0,88$ g%. Uji korelasi *Spearman* menunjukkan

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	Kategori	N	%
Usia	< 20 tahun	8	20
	20-35 tahun	30	75
	> 35 Tahun	2	5
Berat badan	< 45 kg	3	7,5
	45-60 kg	29	72,5
	> 60 kg	8	20
Tinggi badan	< 145 cm	0	0
	> 145 cm	40	100
Lingkar lengan atas	≤ 23 cm	25	62,5
	> 23 cm	15	37,5
Pemeriksaan slide	Negatif	40	100
	Positif	0	0
Riwayat terinfeksi Malaria <i>vivax</i>	Pernah terinfeksi	40	100
	Tidak pernah terinfeksi	0	0

Tabel 2. Korelasi Antara Rerata Kadar TNF-α dan Kadar Hb pada Ibu Hamil

Variabel	n	Rerata±SD	CI 95%	R	p
TNF-α	40	6,90 ± 2,48	6,11 – 7,70	-0,734	0,00
Kadar Hb	40	9,75 ± 0,88	9,46 – 10,03		

adanya korelasi negatif yang kuat ($r = -0,734$) dan bermakna (nilai $p < 0,05$) antara kadar TNF-α dengan kadar Hb pada ibu hamil di daerah endemik malaria *vivax* yang menunjukkan semakin tinggi peningkatan kadar TNF-α maka semakin kecil pula kadar Hb pada ibu hamil, sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar TNF-α merupakan prediktor terjadinya anemia pada ibu hamil di daerah endemik malaria *vivax* (Tabel 2).

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan didapatkan data bahwa terjadi peningkatan kadar TNF-α pada ibu hamil dengan rerata $6,90 \pm 2,48$ pg/mL. TNF-α merupakan satu dari sejumlah besar sitokin yang terlibat dalam patogenesis inflamasi.¹⁰ Peningkatan kadar TNF-α pada daerah endemik malaria berhubungan dengan adanya infeksi malaria. Ibu hamil yang berada di daerah endemik malaria sangat rentan terhadap infeksi malaria selama kehamilan, terutama pada primi gravida. Faktor utama yang berhubungan dengan rentannya ibu hamil yang terinfeksi malaria pada kehamilan adalah rendahnya imunitas seluler dan adanya plasenta yang merupakan tempat istimewa bagi parasit untuk bermultipikasi.¹¹

Berdasarkan hasil pemeriksaan *slide* malaria, didapatkan bahwa seluruh ibu hamil dalam penelitian ini tidak ada yang terinfeksi malaria. Akan tetapi, dari hasil wawancara keseluruhan, ibu hamil ini pernah terinfeksi malaria, terutama malaria *vivax*. *P.vivax* memiliki kemampuan *relapse*. *Relapse* ini terjadi karena sporozoit yang berada di sel hepatosis menetap di hepar dan tidak berkembang menjadi bentuk matur. Dalam waktu yang lama, parasit ini kemudian akan berkembang dan ter-

jadinya infeksi *recurrent*. Pada daerah tropis, *relapse* bisa terjadi tiga sampai enam minggu setelah infeksi awal, sedangkan pada daerah subtropis *relapse* terjadi lebih lambat dengan interval mencapai satu tahun lebih setelah infeksi awal.¹² Menurut peneliti, adanya pola *relapse* ini berdampak pada peningkatan kadar TNF-α pada subjek penelitian.

TNF-α merupakan sitokin inflamasi yang berperan penting dalam respons imun pada malaria akut, termasuk merangsang produksi NO, peningkatan produksi sitokin lain seperti IL-6 dan menghambat eritropoesis.¹³ Penelitian secara *in-vitro* menunjukkan bahwa TNF-α menghambat produksi eritropoetin.¹⁴

Hasil pengukuran kadar Hb pada penelitian ini didapatkan bahwa terjadi penurunan kadar Hb dengan rerata $9,75 \pm 0,88$ g%. Penurunan kadar Hb pada ibu hamil sebenarnya merupakan hal yang fisiologis terjadi pada kehamilan. Perubahan fisiologis yang alami terjadi selama kehamilan akan memengaruhi jumlah sel darah normal pada kehamilan. Peningkatan volume darah ibu terutama terjadi akibat peningkatan plasma, bukan akibat peningkatan jumlah sel darah merah. Walaupun ada peningkatan jumlah sel darah merah di dalam sirkulasi, tetapi jumlahnya tidak seimbang dengan peningkatan volume plasma. Ketidakseimbangan ini akan terlihat dalam bentuk penurunan kadar Hb.¹⁵ Pada ibu hamil, anemia juga disebabkan oleh salah satu keadaan dimana jumlah eritrosit yang beredar atau konsentrasi hemoglobin menurun. Sebagai akibatnya, terdapat penurunan transportasi oksigen dari paru ke jaringan perifer.¹⁶

Di daerah endemik malaria anemia pada kehamilan sering tumpang tindih dengan kejadian infeksi malaria pada kehamilan. Infeksi malaria pada ibu hamil oleh parasit malaria sangat mudah terjadi, disebabkan adanya perubahan sistem imunitas seluler maupun imunitas humoral serta diduga juga akibat peningkatan hormon kortisol pada kehamilan.^{17,18} Mekanisme anemia yang terjadi disebabkan parasit menginvestasi eritrosit sehingga berdampak pada kematangan produksi eritropoetin dan gangguan eritropoesis akibat produksi sitokin pada proses inflamasi.¹⁹ Selain itu, parasit malaria membutuhkan zat besi untuk kelangsungan hidupnya dari tubuh hospes.²⁰

Pada malaria *vivax*, setiap penghancuran satu eritrosit yang terinfeksi parasit malaria akan diikuti dengan penghancuran 35 eritrosit yang tidak terinfeksi.²¹ Perlekatan antara eritrosit yang berparasit dan reseptor di plasenta menyebabkan perubahan keseimbangan sistem imun di plasenta. Terjadi peningkatan sintesis sitokin inflamatori, seperti IL-2, *interferon β* dan TNF-α.²² Pada kadar rendah, TNF-α dapat menghambat pertumbuhan stadium darah parasit dengan mengaktifkan sistem imun seluler, dan dapat membunuh parasit secara langsung, namun aktivitasnya lemah. Akan tetapi, pada kadar yang tepat,

TNF- α akan memberi perlindungan dan penyembuhan. Sebaliknya, pada kadar yang tinggi merupakan tanggapan terhadap hiperparasitemia dan pertumbuhan parasit yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan jaringan yang sangat berat dan fatal sehingga menyebabkan malaria berat.²³ Peningkatan kadar TNF- α pada kehamilan berhubungan dengan kejadian BBLR dan anemia.⁵

Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan adanya korelasi negatif yang kuat ($r = -0,734$) dan bermakna (nilai $p < 0,05$) antara kadar TNF- α dengan kadar Hb. Semakin tinggi kadar TNF- α , maka akan semakin rendah kadar Hb pada ibu hamil. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa adanya peningkatan kadar TNF- α merupakan prediktor terjadinya anemia pada ibu hamil di daerah endemik malaria *vivax*. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Raiten, et al.,²² yang menyebutkan bahwa konsentrasi tipe 1 sitokin dan TNF- α pada hewan coba yang diinduksi malaria mengakibatkan terjadinya lahir mati, aborsi dan anemia pada ibu. Menurut Hemmer, et al.,³ kadar TNF- α pada ibu hamil yang terinfeksi malaria *vivax* lebih tinggi dibandingkan dengan ibu hamil yang terinfeksi malaria *falsiparum* pada level parasitemia yang sama. Diduga tingginya kadar TNF- α ini berhubungan dengan kejadian anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria *vivax*. Beberapa penelitian lain juga menyebutkan bahwa infeksi malaria *vivax* pada kehamilan dapat berdampak pada ibu dan janin bukan karena faktor sekuestrasi parasit di plasenta, melainkan karena adanya peningkatan TNF- α yang berperan terhadap kejadian anemia dan BBLR.²² TNF- α menghambat semua tahapan eritropoiesis. TNF- α meningkatkan degradasi dan pagositosis eritrosit di magrofag sehingga terjadi peningkatan ambilan besi di magrofag.⁴

Kesimpulan

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi negatif yang kuat dan bermakna antara kadar TNF- α dengan kadar Hb pada ibu hamil. Semakin tinggi kadar TNF- α , maka akan semakin rendah pula kadar Hb pada ibu hamil. Kadar TNF- α merupakan prediktor terjadinya anemia pada ibu hamil di daerah endemis malaria *vivax*.

Saran

Hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan dalam penyusunan kebijakan penanggulangan anemia pada ibu hamil di daerah endemis malaria *vivax*. Oleh karena itu, disarankan kepada dinas kesehatan dan institusi terkait agar dapat memantau kesehatan ibu hamil yang berada di daerah endemis malaria *vivax* tidak hanya melalui pemeriksaan kadar Hb tetapi juga pemeriksaan kadar TNF- α sehingga kesehatan ibu hamil dan bayi dapat ditingkatkan.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih atas bantuan dana penelitian yang diberikan oleh hibah fundamental Universitas Sriwijaya tahun anggaran 2015 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Daftar Pustaka

- Greenwood BM, Fidock DA, Kyle DE, Kappe SH, Alonso PL, Collins FH, Duffy PE. Malaria: progress, perils, and prospect for eradication. *The Journal of Clinical Investigation*. 2008; 118: 1266-76.
- Suparman E. Malaria pada kehamilan. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2004; 4 (1): 1-11.
- Hemmer CJ, Holst FG, Kern P, Chiwakata CB, Dietrich M, Reisinger EC. Stronger host response per parasitized erythrocyte in *Plasmodium vivax* or *ovale* than in *Plasmodium falciparum* malaria. *Tropical Medicine & International Health*. 2006; 11: 817-23.
- Nasr A, Gamal A, Osama H, Abdelhamid A. IFN-gamma and TNF associated with severe falciparum malaria infection in Saudi pregnant women. *Malaria Journal*. 2014; 13: 314.
- Rogerson SJ, Mwapasa V, Meshnick SR. Malaria in pregnancy : linking immunity and pathogenesis to prevention. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007; 77 (6): 14-22.
- Aribodor DN, Nwaorgu OC, Eneanya CI, Okoli I, Worley RP and Etage HO. Association of low birth weight and placental malaria infection in Nigeria. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2009; 3(8): 620-5.
- Guyat HL, Snow RW. Impact of malaria during pregnancy on low birth weight in Sub-Saharan Africa. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004; 17: 760-9.
- Dinas Kesehatan Provinsi Bengkulu. Profil kesehatan Provinsi Bengkulu. Bengkulu: Dinas Kesehatan Provinsi Bengkulu; 2012.
- Sudigdo. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Edisi ke-5. Jakarta: Sagung Seto; 2012.
- Sarangi A, Mohapatra PC, Dalai RK, Sarangi KA. Serum IL-4, IL12 and TNF-Alpha in malaria: a comparative study associating cytokine responses with severity of disease from the Coastal Districts of Odisha. *Journal of Parasitic Diseases*. 2014; 38: 143-7.
- Rogerson SJ, Mwapasa V and Meshnick SR. Malaria in pregnancy: linking immunity and pathogenesis to prevention. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007; 77 (6): 14-22.
- White NJ. Determinants of relapse periodicity in *Plasmodium vivax* malaria. *Malaria Journal*. 2011; 10: 297-331.
- Pascual CC, Kai OJ, Cheung Op, Williams S, Lowe B, Nyanoti M, et al. Suppression of erythropoiesis in malaria anemia is associated with hemozoin in vitro and in vivo. *Journal Blood*. 2006; 108: 2569-77.
- Panichakul T, Payuhakrit W, Panruba P, Wongborisuth C, Hongeng S and Udomsangpetch. Suppression of erythroid development in vitro by *Plasmodium vivax*. *Malaria Journal*. 2012; 11: 173-80.
- Varney H. Buku ajar asuhan kebidanan Edisi 4. Jakarta: EGC; 2006.
- Waryana. Gizi reproduksi. Yogyakarta: Pustaka Rihama; 2010.
- De Beaudrap, Turyakira E, White LJ, Williams S, Lowe B, Nyayoti M, et al. Impact of malaria during pregnancy on pregnancy outcomes in a Gundan prospective cohort with intensive malaria screening and prompt treatment. *Malaria Journal*. 2013; 12:139-50.

18. Flora R, Bina M, Sigit P Profil zat besi ibu hamil di daerah endemis malaria. *Kesmas: Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 2013; 8(5): 195-8.
19. Sylvia AP. *Patofisiologi. Konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi ke-6. Jakarta: EGC; 2006.
20. Prentice AM, Iron Metabolism, Malaria, and other infections: what is all the fuss about? *The Journal of Nutrition*. 2008;138 (12): 2537-41.
21. Rosenthal PJ. Artesunate for the treatment of severe falciparum malaria. *The New England Journal of Medicine*. 2008; 359: 1829-36.
22. Raiten DJ, Namaste S, Brabin B. Considerations for the safe and effective use of iron interventions in areas of malaria burden—executive summary. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2011;81 (1): 57-71.