

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

LINA MONTEIRO DE CASTRO LOBO

**FATORES RELACIONADOS AOS NÍVEIS DE RETINOL
SÉRICO EM CRIANÇAS DE SEIS A 24 MESES DE
CRECHES MUNICIPAIS DE GOIÂNIA-GOIÁS**

Goiânia
2013

LINA MONTEIRO DE CASTRO LOBO

**FATORES RELACIONADOS AOS NÍVEIS DE RETINOL
SÉRICO EM CRIANÇAS DE SEIS A 24 MESES DE
CRECHES MUNICIPAIS DE GOIÂNIA-GOIÁS**

Dissertação de mestrado apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Claret Costa Monteiro Hadler

Linha de pesquisa: Diagnóstico e Intervenção em Saúde

Goiânia
2013

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

**BANCA EXAMINADORA DA
DEFESA DE MESTRADO**

Aluno(a): Lina Monteiro de Castro Lobo

Orientador(a): Profª Dra. Maria Claret Costa Monteiro Hadler

Membros:

1. Profª Dra. Maria Claret Costa Monteiro Hadler

2. Profª Dra. Michele Pereira Netto

3. Profª Dra. Ida Helena Carvalho Francescantonio Menezes

4. Profª Dra. Maria do Rosário Gondim Peixoto (Suplente)

5. Profª Dra. Karine Anusca Martins (Suplente)

Data: 16/ 05/ 2013

Dedico este trabalho à minha família e a quem me ensinou a andar meus primeiros passos. Mamis, meu exemplo de garra, força, alegria e vitória. É seu todo o mérito do sucesso que se diz meu.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo seu cuidado, amor, bondade e companhia e por me permitir realizar mais este sonho. Sou incapaz de agradecer-te da forma merecida.

À minha mãe, pelo amor incondicional, ao apoio e por sempre acreditar que ousadias e erros fazem parte do caminho para grandes realizações. Obrigada por compreender meus momentos de ausência neste período. Ao meu pai, que à sua maneira torceu para que eu chegasse até aqui. Ao meu irmão Daniel e cunhada Camylla pelo apoio e disposição em ajudar e por terem acompanhado cada passo meu de perto. Amo vocês cada dia mais.

À minha família, em especial minhas tias, Iolanda, Leila e Veralúcia, que sempre estiveram ao meu lado e sonharam meus sonhos durante este tempo, pela confiança e por me acolherem como filha.

À prof^a Claret, toda a minha admiração pela sua competência, excelente orientação, riqueza em nossas discussões e pelo incentivo que tornou possível a realização deste trabalho.

Às minhas amigas, que vivenciaram todos os momentos da minha jornada acadêmica e que fazem questão que nossa amizade permaneça mesmo após os períodos de graduação, independente de tempo e trabalho.

À Ferd (Fernanda Lourenço) pela amizade e carinho, pelo apoio de sempre e por me fazer sentir especial em sua vida. Da mesma forma você é para mim. À Walquíria França, por sua marca maior e eterna, serei sempre grata por cada gargalhada que dei ao seu lado e por todo momento de descontração proporcionado. À Jullyana Borges que é meu exemplo de garra, dedicação e acima de tudo, simplicidade. Você foi meu incentivo para que eu chegasse até aqui.

À Thalita Lin, amiga e companheira de turma, por todos os momentos de ajuda, conversa e descontração. Serei eternamente grata pelo seu apoio e companhia. Eles foram fundamentais para que esse momento existisse.

Aos meus amigos que direta ou indiretamente participaram deste momento e idealizaram esta vitória comigo!

À todos os participantes do projeto 'Perfil nutricional de crianças menores de cinco anos da cidade de Goiânia – GO'. Em especial à Hérica Letícia que foi minha companheira de coleta de dados em outro projeto de pesquisa que participei no

início do mestrado. Serei eternamente grata pela companhia, amizade e pelos momentos de “terapia de rua” que tivemos.

À todas as alunas de graduação em Nutrição da Pontifícia Universidade Católica de Goiás que se dispuseram a ajudar na coleta de dados do projeto que participei inicialmente. Thaissa Borges, Fernanda Almeida, Fernanda Amélia, Júlia Souza, Ludmila Miranda e Maíra Azevedo minha admiração pela garra de vocês é enorme! Valeu a pena cada minutinho que ficamos no sol ou na chuva, subindo e descendo ruas. Com a ajuda de vocês foi muito mais fácil.

Às nutricionistas e amigas da Santa Casa de Misericórdia, em especial a Adriana Cristina e Márcia Reis, que compreenderam a minha ausência e me incentivaram e apoiaram nesta fase de estudos. Da mesma forma os meus agradecimentos à equipe de Nutrição do Hospital Araújo Jorge.

À todos os colegas da Turma Fantástica pela agradável companhia e apoio mútuos.

RESUMO

Introdução: A deficiência de vitamina A pode aumentar a susceptibilidade à infecção e redução do crescimento, além de ser importante causa de cegueira na infância. Os grupos mais vulneráveis para esta deficiência são os lactentes e pré-escolares. **Objetivo:** avaliar os fatores relacionados ao retinol sérico em crianças de seis a 24 meses de idade que frequentavam Centros Municipais de Educação Infantil (CMEIs) no município de Goiânia-Goiás, Brasil. **Métodos:** Estudo transversal, realizado entre 2005 e 2006 em CMEIs da cidade de Goiânia. Realizou-se inquérito socioeconômico e demográfico e coleta de sangue de 193 crianças para análise do hemograma, retinol sérico, ferritina e proteína C-reativa (PCR). O retinol sérico foi determinado por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) considerando como deficiência os níveis de retinol $<0,7 \mu\text{mol/L}$. Analisou-se os dados nos programas Stata/SE 12.0 e Statistical Package for the Social Sciences 18.0 (SPSS). Utilizou-se o teste t de *Student*, correlação de Pearson ou Spearman e regressão linear múltipla. **Resultados:** A média de retinol sérico foi de $1,00 \pm 0,38 \mu\text{mol/L}$ e prevalência de deficiência de vitamina A de 21,8%. Os níveis médios de retinol sérico não apresentaram diferença estatística entre os sexos, idade da criança, tipo de água consumida, assistência pré-natal, aleitamento materno (predominante ou atual), presença ou não de anemia e níveis de ferritina. Não houve correlação entre escolaridade da mãe, peso ao nascer e número de crianças menor que cinco anos com o retinol sérico. Verificou-se associação entre deficiência de vitamina A e inflamação ($p=0,04$). Para cada unidade de aumento do PCR houve redução de 0,133 e 0,115 mg/dL nos níveis de retinol sérico, segundo dois modelos de regressão linear múltipla, mantendo as outras variáveis constantes. **Conclusão:** a deficiência de vitamina A nas crianças frequentadoras de CMEIs em Goiânia é alta e o fator relacionado à esta deficiência foi o estado inflamatório da criança representado pelos níveis séricos de PCR, ajustado pelo esgotamento sanitário, local de moradia e nível de ferritina.

Palavras-chave: deficiência de vitamina A, pré-escolar, vitamina A, micronutrientes, saúde da criança

ABSTRACT

Introduction: Vitamin A deficiency can increase susceptibility to infection and reduce growth rate, besides it is an important cause of blindness in childhood. Infants and preschools are the most vulnerable groups to this deficiency. **Objective:** To evaluate the factors related to serum retinol in infants aged from six to 24 months who were attended at municipal daycare centers (CMEIs) in the city of Goiânia - Goiás State, Brasil. **Methods:** A cross-sectional study, undertaken between 2005 and 2006 in CMEIs located in Goiânia. A socioeconomic and demographic survey was performed as well as blood samples were drawn from 193 infants to analysis of complete blood count (CBC), serum retinol, ferritin and C-reactive protein (CRP). Retinol was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) being considered deficient retinol levels under 0,7 µmol/L. Data were analyzed by the softwares Stata/SE 12.0 and Statistical Package for the Social Sciences 18.0 (SPSS). T student test, Pearson's or Spearman's correlation and multiple linear regression were performed. **Results:** The mean serum of retinol level was of 1,00 ± 0,38 µmol/L and the prevalence of vitamin A deficiency was of 21,8%. The average levels of retinol did not differ significantly between gender, age, type of water consumed, prenatal assistance, breastfeeding (predominant or current), presence or absence of anemia and ferritin levels. There was no correlation between the mother's schooling, birth weight and number of infants younger than five years of age with serum retinol. There was association between vitamin A deficiency and inflammation (p=0,04). For each CRP unit that increased there was a reduction of 0,133 e 0,115 mg/dL in serum retinol levels, according to two models of multiple linear regression, keeping other variables constant. **Conclusion:** Vitamin A deficiency in infants who were attended at a municipal daycare centers in Goiânia is high and the factor related to this deficiency was the inflammatory state of the child which is represented by the CRP serum levels, adjusted by sanitary sewage, habitation location and ferritin level.

Keywords: Vitamin A deficiency, preschooler, vitamin A, micronutrients, children's health

LISTA DE QUADROS, TABELAS E FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1** Prevalência de deficiência de vitamina A em estudos nacionais e internacionais segundo análise de retinol sérico..... 19
- Figura 1** Fluxograma do processo de amostragem. Goiânia, 2005 32
- Quadro 1** Categorização das variáveis do presente estudo. Goiânia, 2005..... 36

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** Caracterização sociodemográfica e econômica de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005. n=193..... 65
- Tabela 2** Concentração média e desvio padrão de retinol sérico segundo fatores socioeconômicos e ambientais de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005. 66
- Tabela 3** Coeficiente de correlação do retinol sérico com variáveis de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005. 68
- Tabela 4** Fatores associados à deficiência de vitamina A em crianças assistidas pelos CMEIs de acordo com parâmetros laboratoriais. Goiânia, 2005..... 69
- Tabela 5** Análise de regressão linear múltipla dos efeitos das variáveis relacionadas a parâmetros hematológicos e bioquímicos sobre a prevalência de deficiência de vitamina A em crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005 70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% - Porcentagem

+S30DR - serum 30 day dose response (resposta sérica de trinta dias a uma dose de vitamina A)

µg/dL – microgramas por decilitro

µmol/L – micromol por litro

g/dL – gramas por decilitro

ng/mL – nanogramas por mililitro

mg/dL – miligramas por decilitro

CMEIs – Centros Municipais de Educação Infantil

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

DVA – Deficiência de vitamina A

GO - Goiás

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

Log - logaritmo

MRDR – modified *relative dose response* (RDR modificada)

PCR – Proteína C-reativa

RBP – *Retinol Binding Protein* (proteína ligadora do retinol)

RDR – *Relative Dose Response* (Resposta relativa a dose)

SP – São Paulo

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 | 11 |
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 13 |
| 2.1 VITAMINA A, FUNÇÕES NO ORGANISMO E FONTES ALIMENTARES | 13 |
| 2.2 DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A | 14 |
| 2.2.1 Diagnóstico | 14 |
| 2.2.2 Causas | 17 |
| 2.2.3 Magnitude da deficiência de vitamina A | 18 |
| 2.3 FATORES RELACIONADOS À DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A | 20 |
| 2.3.1 Fatores socioeconômicos | 20 |
| 2.3.2 Fatores relacionados à criança | 22 |
| 2.4 PARÂMETROS LABORATORIAIS E DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A | 23 |
| 2.4.1 Anemia e deficiência de vitamina A | 24 |
| 2.4.2 Inflamação e deficiência de vitamina A | 24 |
| 2.4.3 Ferro e deficiência de vitamina A | 25 |
| 2.5 PROGRAMA DE PREVENÇÃO E CONTROLE DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A | 26 |
| 3 OBJETIVOS | 29 |
| 3.1 Objetivo geral | 29 |
| 3.2 Objetivos específicos | 29 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 30 |
| 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E POPULAÇÃO ALVO | 30 |
| 4.1.1 Critérios de inclusão e exclusão | 30 |
| 4.2 AMOSTRAGEM | 30 |
| 4.3 COLETA DE DADOS | 32 |
| 4.4 EXAMES BIOQUÍMICOS | 33 |
| 4.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO | 34 |
| 4.6 ANÁLISE DOS DADOS | 37 |
| 4.7 ASPECTOS ÉTICOS | 38 |
| 5 REFERÊNCIAS | 39 |
| CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO | 46 |
| CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS | 72 |
| ANEXOS | 74 |

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina A (DVA) tem grande importância para a saúde pública devido à sua magnitude e suas manifestações clínicas e implicações na fase subclínica. Sua relação com o sistema visual é bem reconhecido, porém outros fatores se destacam como consequentes à deficiência desta vitamina, tais como os prejuízos à imunidade e aumento da morbimortalidade infantil (WHO, 1998; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Esse problema atinge principalmente as crianças e os grupos mais vulneráveis para esta deficiência são os lactentes e os pré-escolares (MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004; WHO, 2009).

Os valores de retinol sérico $<0,7 \mu\text{mol/L}$ são considerados como indicativo de DVA (SOMMER; DAVIDSON, 2002) e prevalência maior que 20,0% consiste em grave problema de saúde pública (WHO, 1996). A prevalência global estimada de DVA em pré-escolares é de 190 milhões, correspondendo a 33,3% dos pré-escolares no mundo (WHO, 2009). Segundo dados do Ministério da Saúde (2009) foram identificados 17,4% de pré-escolares no Brasil com esta carência nutricional, sendo que no Centro-Oeste a prevalência estimada foi de 11,8%.

No Brasil, os dados dos últimos 25 anos confirmam a gravidade deste problema. Os estudos sobre esta carência nutricional são, principalmente, das regiões Nordeste, Norte e Sudeste e há escassez de dados sobre as regiões Centro-Oeste e Sul (MILAGRES; NUNES; SANT'ANA, 2007; RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002).

Os estudos realizados em lactentes têm verificado associação da DVA e dos níveis de retinol sérico com fatores socioeconômicos, demográficos e características da mãe e da criança (FERRAZ; DANELUZZI; VANNUCCHI, 2000; MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004; NETTO *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2010). Poucos estudos brasileiros utilizam os níveis de proteína C-reativa (PCR) para avaliação do seu potencial como fator de risco. Dentre os artigos utilizados como referencial no presente trabalho, apenas dois avaliaram os níveis de PCR e o usaram como critério de exclusão da pesquisa, visando retirar aquelas crianças com presença de

processo inflamatório da amostra (VASCONCELOS; FERREIRA, 2009; BARROS et al., 2010).

A relevância do tema e suas consequências para a saúde de crianças de seis a 24 meses de idade além da sua repercussão na saúde pública levam a questionamentos, tais como: Qual a magnitude da DVA nos dois primeiros anos de vida? Qual a prevalência da DVA em crianças de seis a 24 meses em CMEIs da cidade de Goiânia? Quais os fatores relacionados aos níveis de retinol sérico nessas crianças?

Neste sentido, justifica-se a investigação dos fatores relacionados aos níveis de retinol sérico em crianças de seis a 24 meses de idade que frequentavam CMEIs na cidade de Goiânia nos anos de 2005 e 2006. Considerando que os lactentes e pré-escolares são a população de maior risco para o desenvolvimento desta carência nutricional e que a deficiência de vitamina A contribui para o perfil de morbidade e mortalidade da população infantil, é importante compreender melhor os fatores relacionados a esta deficiência com vistas a auxiliar nas estratégias de saúde que busquem a redução da alta prevalência dessa carência nutricional. Embora já tenham sido descritos os fatores associados à deficiência de vitamina A em outras regiões do Brasil, não há estudos que demonstrem a prevalência e os fatores associados a esta deficiência em crianças de Goiânia-Goiás, Brasil e poucos estudos no país abordam a faixa etária de seis a 24 meses de idade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 VITAMINA A, FUNÇÕES NO ORGANISMO E FONTES ALIMENTARES

A vitamina A é considerada um nutriente essencial para o funcionamento normal do sistema visual, resposta imunitária, processo de diferenciação, manutenção celular e preservação da integridade e manutenção de vários órgãos, além de exercer um papel importante na prevenção da morbidade e mortalidade infantil (GRAEBNER; SAITO; SOUZA, 2007; SACHDEVA; DATTA, 2009; WHO, 1996).

O efeito da DVA no processo visual é conhecido como cegueira noturna e caracteriza-se por uma disfunção da retina que é grave o suficiente para levar a uma deficiência subjetiva da visão noturna. Em relação à resposta imunitária, tem-se que a vitamina A atua nos processos de manutenção da imunocompetência, principalmente em relação aos linfócitos, respostas mediadas pelas células T e ativação de macrófagos. A atuação da vitamina A se dá também nas células produtoras de queratina em vários tecidos epiteliais e na sua ausência ocorre o ressecamento do epitélio que é denominado xerose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

As necessidades diárias de vitamina A são normalmente fornecidas na forma de retinol e carotenoides pró-vitamina A. A vitamina A está presente nos alimentos como vitamina A pré-formada e carotenoides pró-vitamina A, que são divididos em β -caroteno, α -caroteno e β -criptoxantina. As principais fontes de pró-vitamina A são as folhas de cor verde-escura, frutos amarelo-alaranjados, raízes de cor alaranjada e os óleos vegetais. Os alimentos de origem animal fornecem vitamina A pré-formada e pode ser encontrado em fígado, leite e derivados e na gema de ovos (HARVESTPLUS TECHNICAL MONOGRAPH, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

A vitamina A pré-formada é mais biodisponível e sua absorção é de aproximadamente 90,0% enquanto que a dos carotenoides é variável, dependendo do tipo de alimento consumido e da quantidade de gordura da refeição. Os

carotenoides pró-vitamina A são hidrolisados na mucosa intestinal sendo liberados na forma de retinol (HARVESTPLUS TECHNICAL MONOGRAPH, 2005; WHO, 1998).

De modo geral as crianças residentes em países industrializados recebem a maior parte de vitamina A de fontes de origem animal, enquanto que crianças de países em desenvolvimento consomem a maior parte de vitamina A de fontes de origem vegetal, que são mais baratas (MILLER et al., 2002). Em locais onde o consumo de vitamina A é realizado principalmente pela ingestão de alimentos de origem vegetal poderá ocorrer deficiência de vitamina A devido a menor taxa de conversão de carotenoides no intestino em comparação com a ingestão de alimentos de origem animal (WHO, 2009).

2.2 DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A

2.2.1 Diagnóstico

Os indicadores classicamente empregados para o diagnóstico da DVA são divididos em indicadores biológicos (funcional, histológico, clínico e bioquímico) e ecológicos. Na avaliação funcional é investigada a dificuldade de adaptação da visão no escuro ou presença de xeroftalmia, que é a primeira manifestação ocular da DVA. O indicador histológico é caracterizado pela avaliação da ação da vitamina A na manutenção da integridade epitelial da conjuntiva ocular, por meio de técnicas citológicas. A investigação clínica inclui a avaliação das alterações, sinais e sintomas clínicos que acometem o olho e são expressos em estágios de xeroftalmia. Este indicador detecta a deficiência em sua fase mais avançada, na qual estão presentes as alterações funcionais e morfológicas. O indicador clínico mais frequente de deficiência de vitamina A é a cegueira noturna, considerada como uma manifestação precoce da xeroftalmia. O indicador ecológico auxilia na identificação de áreas e populações de risco para a DVA utilizando fatores que são responsáveis ou contribuem para a ocorrência desta deficiência. Este indicador deve ser usado

em conjunto com os indicadores biológicos (MCLAREN; KRAEMER, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; WHO, 1996; WHO, 1998).

Os indicadores bioquímicos são amplamente empregados sendo que em relação à vitamina A um dos principais indicadores bioquímicos é o retinol sérico. Esta vitamina circula no sangue na forma de retinol ligada a uma proteína carreadora denominada *retinol-binding protein* (RBP). A concentração de retinol sérico é considerado como um bom indicador de estoques corporais em nível populacional devido à praticidade e possibilidade de análise em laboratório e por ser o melhor indicador bioquímico do status de vitamina A. O nível de retinol sérico reflete as reservas corporais quando estas estão muito baixas, visto que a sua concentração é controlada homeostaticamente e não se reduz até que os estoques corporais estejam limitados. O retinol sérico pode sofrer alterações devido à quadros inflamatórios, desnutrição energético-proteica e adequação de outros nutrientes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; PEE; DARY, 2002; THURNHAM et al., 2003).

Outros métodos e indicadores bioquímicos empregados para avaliação da DVA são:

- o retinol hepático, que é considerado como de alta precisão e permite detecção precoce da DVA, pois no fígado há uma porcentagem constante de reserva de vitamina A. Porém, a biópsia hepática não é um método aceitável e eticamente justificável em indivíduos sadios e vivos (FLORES; ARAUJO, 1984)
- a concentração de RBP no sangue, pois a medida desta proteína se correlaciona com a concentração de retinol sérico. A técnica de imunodifusão comumente empregada é mais simples e barata do que o *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), que é comumente usado para análise do retinol sérico (PEE; DARY, 2002; MCLAREN; KRAEMER, 2012)
- a razão RBP : transtiretina que tem sido usada com o objetivo de avaliar os níveis de vitamina A na presença de inflamação. Isto acontece porque a RBP reduz no plasma durante a resposta de fase aguda, assim como acontece na DVA. A transtiretina também reduz durante a resposta de fase aguda, porém não é afetada pela DVA (MCLAREN; KRAEMER, 2012)

- o teste de Resposta Relativa à Dose (RDR – *relative dose response*), aceito como padrão ouro para avaliação da reserva hepática de vitamina A. Neste teste realiza-se a análise de retinol sérico antes do fornecimento de uma pequena quantidade de ester de retinil ao indivíduo. Cinco horas após é feita nova dosagem sanguínea para reanálise de retinol. De acordo com os resultados é possível avaliar a porcentagem de aumento do retinol por meio do cálculo do RDR (MCLAREN; KRAEMER, 2012; TANUMIHARDJO, 2004)
- a RDR modificada – MRDR, que é um teste similar à RDR, porém é utilizado um metabólito da vitamina A denominado 3,4-didehidroretinil acetato. Somente uma coleta de sangue é necessária de quatro a seis horas após o fornecimento da dose (MCLAREN; KRAEMER, 2012)
- a resposta sérica de trinta dias a uma dose de vitamina A (+S30DR), que pode ser utilizada em nível populacional. Este teste é semelhante ao RDR, porém a segunda coleta de sangue é realizada entre 30 a 45 dias após a primeira coleta (MCLAREN; KRAEMER, 2012)
- a avaliação das reservas corporais por meio da diluição isotópica. Esta técnica utiliza o deutério, que é um isótopo estável do hidrogênio, e avalia indiretamente a vitamina total corporal (MCLAREN; KRAEMER, 2012)
- o indicador do teor de vitamina A no leite humano, que é considerado um método não invasivo e a amostra é facilmente coletada. Este indicador fornece informação sobre o estado nutricional da mãe em relação à vitamina A e do bebê que está sendo amamentado (MCLAREN; KRAEMER, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

A deficiência de vitamina A é classificada por níveis inferiores a 0,7 $\mu\text{mol/L}$ de retinol sérico em crianças. A Organização Mundial de Saúde considera que prevalências de dois a 10%, de 11 a 19% e maiores que 20% constituem um leve, moderado e grave problema de saúde pública, respectivamente (SOMMER; DAVIDSON, 2002; WHO, 1996). Os lactentes e pré-escolares são considerados os grupos mais vulneráveis para esta deficiência (MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004).

O retinol sérico é frequentemente avaliado por meio de HPLC e este método de diagnóstico é considerado como uma técnica confiável para uso de rotina (PEE; DARY, 2002; SOMMER; DAVIDSON, 2002).

A deficiência de vitamina A subclínica caracteriza-se pela concentração suficientemente baixa desta vitamina capaz de levar a consequências deletérias à saúde, mesmo na ausência de evidências clínicas de xerofthalmia. É associada ao baixo consumo de vitamina A e mesmo em casos de deficiência leve pode ocorrer prejuízo do sistema imunológico e aumento da susceptibilidade à infecção (JIANG et al., 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

2.2.2 Causas

A principal causa da DVA é a ingestão insuficiente de fontes alimentares de vitamina A a qual não é capaz de satisfazer as necessidades fisiológicas dos indivíduos (WEST, 2002; WHO, 2009).

A deficiência de vitamina A pode iniciar precocemente, quando o colostro não é oferecido à criança ou quando o aleitamento materno não acontece de forma adequada, visto que estas são as primeiras e principais fontes de vitamina A para a criança (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; WHO, 2009). De acordo com Miller et al. (2002) a deficiência de vitamina A pode-se desenvolver por três fatores, que incluem: a deficiência materna desta vitamina levando à produção de leite com teores inadequados em vitamina A, o oferecimento de alimentação complementar com baixa quantidade deste nutriente e a alta frequência de doenças prevalentes na infância, principalmente as doenças infecciosas como a diarreia. Essa fase é caracterizada por necessidades aumentadas de vitamina A devido ao rápido crescimento e transição do aleitamento materno para a alimentação complementar, que dependerá de fontes de vitamina A para suprir as necessidades da criança (WHO, 1998).

A presença de quadros infecciosos contribui para a redução do *status* de vitamina A devido ao menor consumo de alimentos fonte desta vitamina ocasionado pela redução do apetite e má absorção, além da depleção dos estoques corporais de vitamina A devido aumento do metabolismo e excreção urinária desta vitamina (MCLAREN; KRAEMER, 2012; WHO, 2009).

A deficiência de vitamina A também pode ser ocasionada pela baixa ingestão de proteínas, lipídeos (que aumentam a biodisponibilidade da vitamina e pró-vitamina A) e zinco na dieta (MCLAREN; KRAEMER, 2012; WHO, 1998).

As causas secundárias para a DVA são a doença celíaca, ascaridíase, giardíase, gastrectomia parcial ou total, pancreatite crônica, doença hepática crônica (especialmente a cirrose), fibrose cística, deficiência enzimática, redução heterozigótica de RBP plasmática e mutações genéticas. Os mecanismos destas doenças interferem no metabolismo da vitamina A devido a prejuízo na absorção e transporte de lipídios, armazenamento prejudicado desta vitamina devido a danos celulares no fígado, perda de RBP na urina e falha na clivagem de β -caroteno no intestino delgado (MCLAREN; KRAEMER, 2012).

2.2.3 Magnitude da deficiência de vitamina A

A prevalência global de deficiência de vitamina A em pré-escolares é de 190 milhões, correspondendo a 33,3% dos pré-escolares no mundo (WHO, 2009). Em pesquisas internacionais realizadas com pré-escolares, nos últimos quinze anos, foram encontradas menores prevalências de deficiência de vitamina A na China e Vietnã (JIANG et al., 2008; KHAN et al., 2007) e maiores prevalências em regiões da África (SCHÉMANN et al., 2002) e Índia (LAXMAIAH et al., 2011).

O primeiro inquérito de abrangência nacional sobre a deficiência de vitamina A foi realizado em 2006, em uma amostra de crianças menores de cinco anos, representativa das cinco macrorregiões brasileiras e do contexto urbano e rural. A prevalência encontrada de crianças com níveis séricos baixos de vitamina A foi de 17,4% e as maiores prevalências foram encontradas nas regiões Nordeste e Sudeste. A região Centro-Oeste apresentou 11,8% de deficiência de vitamina A e as crianças com idade entre seis e 23 meses apresentaram prevalência de 16,3% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

No Brasil, outros estudos apresentam prevalências de hipovitaminose A que variam de 7,0% a 50,8% em pré-escolares, demonstrando que em algumas cidades esta situação ultrapassa os limites estabelecidos pela WHO (1996) como um problema de saúde pública grave (FERNANDES et al., 2005; GONDIM et al., 2012;

MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004; NETTO et al., 2012; VASCONCELOS; FERREIRA, 2009).

Na Tabela 1 estão apresentados dados de estudos nacionais e internacionais de prevalência de deficiência de vitamina A. Ressalta-se que na faixa etária de seis a 24 meses de idade a prevalência desta deficiência variou de 9,6% a 50,0%. Todos os estudos apresentados nesta tabela são do tipo transversal e não houve relatos de danos oftalmológicos nas crianças avaliadas.

Tabela 1. Prevalência de deficiência de vitamina A em estudos nacionais e internacionais segundo análise de retinol sérico.

| Local da pesquisa | Faixa etária | Amostra total | Prevalência (%) | Fonte |
|-----------------------|------------------|---------------|-------------------|-------------------------------------|
| Internacionais | | | | |
| Índia | 1 - 4 anos | 3954 | 62,0 ² | LAXMAIAH et al. (2011) |
| China | 0 – 71 meses | 1236 | 7,8 ² | JIANG et al. (2008) |
| Israel | 0 – 18 meses | 117 | 15,4 ¹ | COLES et al. (2004) |
| República do Congo | 6 meses – 6 anos | 300 | 50,0 ² | SAMBA et al. (2006) |
| Mali | 6 – 71 meses | 192 | 92,7 ¹ | SCHÉMANN et al. (2002) |
| Ilhas Marshall | 1 – 2 anos | 919 | 50,0 ¹ | PALAFIX et al. (2003) |
| Vietnã | 0 – 60 meses | 1657 | 12,0 ¹ | KHAN et al. (2007) |
| Nacionais | | | | |
| Belo Horizonte | 6 – 24 meses | 173 | 17,7 ¹ | BARROS et al. (2010) |
| Pernambuco | 6 – 59 meses | 311 | 7,0 ¹ | FERNANDES et al. (2005) |
| São Paulo | 6 – 24 meses | 103 | 21,4 ¹ | FERRAZ; DANELUZZI, VANNUCCHI (2000) |
| Sergipe | 6 – 24 meses | 607 | 34,8 ¹ | MARTINS; SANTOS, ASSIS (2004) |
| Paraíba | 6 – 59 meses | 1108 | 21,4 ¹ | GONDIM et al. (2012) |
| Minas Gerais | 18 – 24 meses | 101 | 39,6 ² | NETTO et al. (2012) |
| Minas Gerais | 12 – 20 meses | 104 | 9,6 ² | NETTO et al. (2011) |
| Alagoas | 0 – 59 meses | 652 | 50,8 ¹ | VASCONCELOS, FERREIRA (2009) |

¹ retinol sérico < 0,7 µmol/L ² retinol sérico < 20 µg/dL

Sabe-se que a deficiência de vitamina A não é exclusiva de regiões economicamente desfavorecidas. Dados da região Sudeste não diferem de regiões como a Norte e Nordeste, indicando que essa deficiência é independente da economia da região (RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002).

2.3 FATORES RELACIONADOS À DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A

Os fatores socioeconômicos, como o nível de pobreza dos indivíduos, o saneamento ambiental e abastecimento de água inadequados, maus hábitos alimentares e a falta de informação sobre alimentação saudável podem agravar a deficiência de vitamina A (RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002). Além disso, alguns fatores relacionados à criança têm sido descritos como determinantes da deficiência de vitamina A, apesar de alguns dados ainda permanecerem controversos, tais como idade, sexo, peso ao nascer e aleitamento materno.

2.3.1 Fatores socioeconômicos

Limitações econômicas, sociais e ambientais, incluindo neste contexto a renda familiar, constituem fatores de risco para as condições de saúde e nutrição das crianças e seus familiares e pode ser determinante para uma série de carências nutricionais, incluindo a deficiência de vitamina A (UNITED NATIONS, 1997).

Os dados da literatura sobre a associação entre renda e DVA são divergentes. Em um estudo com pré-escolares chineses, houve correlação linear positiva entre níveis de retinol e renda familiar (JIANG et al., 2008). Em outra pesquisa realizada por Martins, Santos e Assis (2004) no estado de Sergipe foi observado maior prevalência de deficiência de vitamina A entre as crianças situadas nos menores níveis de renda familiar. Porém, no estudo de Netto et al. (2012) não foi encontrada associação entre renda familiar *per capita* e deficiência de vitamina A e este fato é justificado pelos autores devido à homogeneidade da amostra estudada, visto que as crianças avaliadas pertenciam às famílias de baixa renda.

O saneamento ambiental inadequado e abastecimento de água deficitário também podem agravar a deficiência de vitamina A (RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002). Oliveira et al. (2010) demonstraram que a falta de esgotamento sanitário apresentou associação com níveis de retinol sérico em uma amostra de crianças menores de cinco anos residentes em conglomerados de maior risco socioeconômico de uma região do Nordeste. Porém, os autores relatam que a amostra estudada apresentou um conjunto de fatores que se relacionaram com esta situação tais como condições de vida precárias e alta prevalência de insegurança alimentar (aproximadamente 90,0%) o que predispõe as crianças apresentarem carências nutricionais específicas, tais como a DVA.

O baixo nível de escolaridade dos pais e salários baixos, associados a condições precárias de moradia, são fatores que expõem as crianças a um ambiente desfavorável, dificultando o acesso à informação e a uma alimentação balanceada. Tais fatores aumentam as chances para a aquisição de infecções que podem também levar ao agravamento de carências de nutrientes (FERRAZ et al., 2005).

Apesar dos fatores acima mencionados alguns autores não encontraram associação entre a escolaridade da mãe e a deficiência de vitamina A (FERRAZ; DANELUZZI; VANNUCCHI, 2000; MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004; NETTO et al., 2012; PEREIRA et al., 2008).

Outro aspecto relevante para a DVA é o elevado número de moradores em uma residência que é um achado frequente em estudos realizados em populações de baixa renda. O número de crianças residentes no domicílio constitui-se um fator associado à DVA, visto que quanto maior o número de crianças em uma residência, há maior demanda por alimentos e menor a chance de consumo de alimentos ricos desta vitamina (NETTO et al., 2012). Além disso, menor atenção poderá ser dada à criança em residências com maior número de irmãos, incluindo nestes casos os cuidados com a alimentação e a saúde da criança de uma forma geral (SILVA; GIUGLIANI; AERTS, 2001). Apesar disto, em estudo realizado por Barros et al. (2010) não foi encontrada associação entre o número de irmãos menores que cinco anos e a DVA.

2.3.2 Fatores relacionados à criança

Os dados sobre a associação entre gênero e deficiência de vitamina A ainda são controversos. Crianças do sexo masculino podem ser mais susceptíveis à DVA em relação ao sexo feminino (MCLAREN; KRAEMER, 2012; OLIVEIRA et al., 2010). Entretanto, em estudo realizado por Vasconcelos e Ferreira (2009) foi encontrado maior prevalência de deficiência de vitamina A no sexo feminino (54,5%) de pré-escolares da região semi-árida de Alagoas. Outros autores relatam homogeneidade na distribuição dos níveis séricos de retinol em relação ao sexo, sem associação com a deficiência de vitamina A (FERNANDES et al., 2005; LAXMAIAH et al., 2011; PEREIRA et al., 2008; YANG et al., 2007).

A idade é um fator relevante para a análise de DVA visto que esta pode ocorrer em qualquer idade, entretanto as crianças menores de seis anos são mais susceptíveis a esta carência. Este período é caracterizado por maiores necessidades de vitamina A devido ao rápido crescimento e a transição do aleitamento materno para a alimentação complementar, tornando-se dependente de fontes de vitamina A (WHO, 1998).

Lactentes chineses tiveram concentração de retinol sérico significativamente menor do que crianças pré-escolares com idade maior (JIANG et al., 2008). Em um estudo realizado em Sergipe não foi observada associação entre idade e níveis séricos de retinol, porém as crianças com idade entre seis e 24 meses apresentaram maior percentual de baixos níveis séricos de retinol do que crianças com 25 meses ou mais de idade (MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004). Vasconcelos e Ferreira (2009) também sugerem maior susceptibilidade à DVA na faixa etária de 12 a 23 meses, porém sem significância estatística ($p=0,09$).

Em relação ao aleitamento materno, tem-se que o aleitamento materno exclusivo durante os primeiros seis meses de vida fornece para o lactente quantidades ideais de vitamina A para a manutenção da saúde, permite crescimento adequado e manutenção suficiente desta vitamina nos estoques hepáticos (WHO, 1998). Nestes primeiros meses de vida pode ocorrer deficiência de vitaminas, caso o colostro não seja oferecido para a criança ou o aleitamento materno ocorra de forma inadequada (WHO, 2009).

Em estudo realizado por Ferraz, Daneluzzi e Vannucchi (2000), na cidade de Ribeirão Preto (SP), foi observado que em crianças de seis a 24 meses de idade com DVA apresentaram média de duração de aleitamento materno menor do que crianças sem DVA (6,1 meses *versus* 8,6 meses).

No Brasil, recomenda-se que a assistência pré-natal seja realizada desde o primeiro trimestre de gestação, em um mínimo de seis consultas ao todo, visando assegurar o nascimento de uma criança saudável e garantir o bem-estar materno e neonatal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Apesar desta recomendação ser relacionada à saúde da criança, não foi encontrado em estudo realizado em Viçosa (Minas Gerais) associação entre o número de consultas e período de início do pré-natal com os níveis de retinol sérico de lactentes (NETTO et al., 2012).

O peso ao nascer reflete a qualidade da atenção dispensada à mãe durante o pré-natal, seu estado nutricional antes e durante a gestação e os fatores de risco que a gestante está exposta. O peso ao nascer pode ser um determinante da DVA considerando que o baixo peso no nascimento reflete um estado de desnutrição materna, havendo probabilidade que o recém-nascido tenha estoques limitados ou até mesmo ausentes de vitamina A. Crianças com baixo peso ao nascer apresentam risco aumentado para deficiência de vitamina A ao nascer. Esta deficiência também pode ocorrer caso a criança seja amamentada por mãe desnutrida e residentes em área endêmica para esta deficiência (FRANCESCHINI et al., 2003; WHO, 1996).

Em estudo realizado em duas maternidades públicas do Rio de Janeiro foi observado que crianças que nasceram com baixo peso apresentaram maior prevalência de hipovitaminose A (68,7%) do que crianças que nasceram com o peso adequado (54,0%) (RAMALHO; ANJOS; FLORES, 1998).

2.4 PARÂMETROS LABORATORIAIS E DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A

Alguns parâmetros laboratoriais relacionados ao estado inflamatório e deficiências nutricionais têm sido associados ao estado nutricional referente à vitamina A. Dentre deste contexto, observa-se que a deficiência de ferro e vitamina

A podem ocorrer juntas em uma mesma população e que a presença de estado inflamatório predispõe à DVA (MCLAREN; KRAEMER, 2012).

2.4.1 Anemia e deficiência de vitamina A

A elevada prevalência de anemia e deficiência de vitamina A podem ocorrer juntas em uma mesma população (SEMBA; BLOEM, 2002). Estudos apresentaram associação entre deficiência de vitamina A e níveis de hemoglobina, sendo que à medida que os níveis de retinol reduzem aumentam a susceptibilidade de ocorrência de anemia. Chen et al. (2009) constataram que a concentração média de retinol sérico em crianças anêmicas era significativamente menor do que em crianças não anêmicas. Outros estudos também demonstraram associação entre os níveis de retinol sérico e hemoglobina (GONDIM et al., 2012; KHAN et al., 2007; PALAFOX et al., 2003; WILLOWS; GRAY-DONALD, 2003).

A suplementação com vitamina A proporciona aumento nos níveis de hemoglobina (CHEN et al., 2008; MWANRI et al., 2000; ZIMMERMANN et al., 2006) contribuindo para a redução da anemia por meio da mobilização dos estoques de ferro do fígado, redução na ocorrência de infecções e aumento na síntese de eritropoetina, um hormônio produzido no rim que estimula a produção de células vermelhas (MCLAREN; KRAEMER, 2012; SEMBA; BLOEM, 2002).

A redução dos níveis de hemoglobina causada por uma alimentação deficiente em ferro é acompanhada pela queda nos níveis de retinol plasmático e aumento dos níveis de éster de retinil hepáticos. Desta forma, conclui-se que o estado nutricional deficiente em ferro interfere na liberação hepática de retinol e leva a menores níveis plasmáticos deste nutriente (ROSALES et al., 1999).

2.4.2 Inflamação e deficiência de vitamina A

As características das respostas bioquímicas a um estado inflamatório são bem reconhecidas. O termo “resposta de fase aguda” é usado para descrever mudanças metabólicas a curto prazo evidenciadas pelo aumento das concentrações plasmáticas de algumas proteínas de fase aguda (TOMKINS, 2003).

A presença de infecção ou trauma são acompanhados por aumento de proteínas de fase aguda no plasma, dentre elas a PCR. Concentrações aumentadas destas proteínas podem indicar a gravidade e duração da inflamação (THURNHAM et al., 2003).

A concentração plasmática de vários biomarcadores nutricionais são influenciadas pela inflamação, tal como ocorre com as concentrações de retinol plasmático, que podem reduzir durante a fase aguda de uma ampla gama de infecções. Isto também pode ocorrer em indivíduos assintomáticos nos quais uma resposta inflamatória esteja ocorrendo. Ou seja, os níveis de retinol sérico não refletem precisamente o status de vitamina A em populações com prevalência elevada de infecção subclínica. Neste caso, um método alternativo para melhorar a precisão da estimativa da prevalência de deficiência de vitamina A em estudos que utilizam o retinol plasmático é excluir os indivíduos com proteína de fase aguda elevada (FILTEAU et al., 1993; THURNHAM et al., 2003; TOMKINS, 2003). Em relação à ferritina há uma elevação de seus níveis séricos na presença de inflamação que pode permanecer por semanas e seus níveis demoram mais a reduzir na presença de quadro infeccioso quando comparado ao PCR (THURNHAM; McCABE, 2012).

2.4.3 Ferro e deficiência de vitamina A

As carências de micronutrientes podem ser encontradas de forma simultânea em crianças. Assim, uma criança que apresenta deficiência de um micronutriente pode estar em risco de apresentar outras deficiências concomitantemente (FERRAZ et al., 2005; PALAFOX et al., 2003). As deficiências de ferro e de vitamina A são carências nutricionais de elevada prevalência em várias regiões brasileiras e podem ocorrer juntas na infância (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; NETTO; PRIORE; FRANCESCHINI, 2007).

A associação entre retinol e ferro sérico ou ferritina foi demonstrada por alguns autores (PALAFOX et al., 2003; SILVA et al., 2008; WILLOWS; GRAY-DONALD, 2003). Estudos demonstraram que a suplementação com vitamina A em crianças resultou em aumento significativo nos níveis de ferro sérico (BLOEM et al.,

1989; BLOEM et al., 1990; MEJIA; CHEW, 1988). O consumo de açúcar fortificado com vitamina A por crianças na Guatemala aumentou não só os níveis de vitamina A mas também obteve efeito favorável no metabolismo do ferro, por meio do aumento da concentração de ferro sérico, ferritina e porcentagem de saturação da transferrina (MEJÍA; ARROYAVE, 1982). Esses resultados sugerem um efeito benéfico da suplementação de vitamina A no status do ferro.

Zimmermann et al. (2006) afirmam que a suplementação de vitamina A melhora a eritropoiese, por meio do aumento do volume corpuscular médio, diminuição na concentração do receptor de transferrina sérica, aumento na concentração de hemoglobina e redução na concentração de ferritina sérica.

Em um estudo experimental realizado por Jiang et al. (2012), os autores afirmam que a deficiência de ferro e a deficiência de vitamina A podem levar à redução na concentração de ferro sérico. Na presença de deficiência de vitamina A, o ferro estocado no fígado e baço não é liberado de forma eficaz para a eritropoiese pela medula óssea (ZIMMERMANN et al., 2006).

De forma inversa, tem-se observado também que a suplementação de ferro melhora o status de vitamina A (MUÑOZ et al., 2000). Porém, os mecanismos deste processo ainda não são claros (MACLAREN; KRAEMER, 2012; NETTO; PRIORE; FRANCESCHINI, 2007).

2.5 PROGRAMA DE PREVENÇÃO E CONTROLE DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A

O *International Vitamin A Consultative Group Meeting* afirmam a importância de programas de intervenção voltados para a suplementação, diversificação e fortificação de alimentos no combate à DVA (SOMMER; DAVIDSON, 2002).

A suplementação profilática de vitamina A para crianças de seis a 59 meses de idade é uma medida recomendada pela Organização Mundial de Saúde (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 2011) e é adotada no Brasil desde 2005. O Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A (Vitamina A Mais) consiste na suplementação medicamentosa, por meio de cápsulas gelatinosas,

contendo megadoses de vitamina A em crianças de seis a 59 meses de idade e mulheres no pós-parto, visto que nessas fases da vida a quantidade diária necessária para prevenir a DVA no organismo são dificilmente atingidas, tornando-se mais vulneráveis a esta deficiência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012a).

Em um recente estudo de revisão foi demonstrada a repercussão da suplementação periódica da vitamina A, tais como a redução de 24% do risco de mortalidade infantil por todas as causas e de 28% do risco de morte por doenças diarreicas (IMDAD *et al.*, 2010).

Até o primeiro semestre de 2012 o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A atendia as regiões consideradas de risco compostas pela região Nordeste, Vale do Jequitinhonha e Vale do Mucurici em Minas Gerais, Vale do Ribeira em São Paulo e municípios do Plano de Redução da Mortalidade Infantil (Região Norte e Estado de Mato Grosso) e alguns Sanitários Especiais Indígenas. Porém, a partir do segundo semestre o programa foi ampliado para todo o país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012a). No município de Goiânia, a suplementação com vitamina A em crianças de 18 a 59 meses foi iniciada em dezembro de 2012, com cobertura de aproximadamente 11,0% da meta estimada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012b).

A diversificação alimentar constitui-se em um estratégia relevante para o controle e prevenção de hipovitaminoses. Esse processo se dá por meio de estratégias de educação alimentar e nutricional e visa à promoção de hábitos alimentares mais saudáveis. Para isto, torna-se necessário mudanças nas práticas de produção, seleção e processamento de alimentos. Assim, é possível garantir melhoria na disponibilidade, no acesso e na utilização de alimentos com alto conteúdo e biodisponibilidade de micronutrientes. O aumento do consumo de alimentos contendo vitamina A levará a redução da necessidade de suplementação, porém a modificação dietética é uma estratégia que deve ser associada a outros planos de prevenção e controle de deficiência de micronutrientes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; SOMMER; DAVIDSON, 2002).

A fortificação de alimentos é uma alternativa eficiente, viável e recomendada principalmente para regiões onde existem alta prevalência de deficiência de micronutrientes, visando a melhoria das condições de saúde relacionadas à má

nutrição. O consumo de alimentos fortificados com vitamina A constitui-se em uma medida de médio a longo prazo para o controle da DVA. Esta técnica apresenta alta cobertura populacional, não modifica os hábitos alimentares e apresenta baixo risco de toxicidade. A quantidade consumida do alimento fortificado e a concentração do micronutriente contido nele devem ser levados em consideração em um programa de fortificação de alimentos (LIBERATO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; ZANCUL, 2004).

Estudos que investiguem os fatores relacionados a deficiência de micronutrientes devem ser realizados, pois são fontes de informação importantes para o planejamento, avaliação e implementação de políticas, programas e estratégias de saúde dirigidos à prevenção e controle de carências nutricionais na população infantil.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os fatores relacionados aos níveis de retinol sérico em crianças de seis a 24 meses de Centros Municipais de Educação Infantil no município de Goiânia.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar a prevalência de deficiência de vitamina A na população estudada
- Avaliar a associação dos indicadores socioeconômicos, ambientais, características da mãe e da criança com os níveis de retinol sérico
- Analisar a relação entre hemoglobina, proteína C-reativa e ferritina e a concentração de retinol sérico em crianças

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo com delineamento transversal e faz parte de um projeto maior intitulado “Anemia nutricional: suplementação como medida de prevenção e tratamento na primeira infância”, que foi realizado na cidade de Goiânia, nos anos de 2005 e 2006. O projeto foi financiado pelo DECIT/SCTIE/Ministério da Saúde, Processo 506193/2004-7 e Fundo Setorial de Saúde por intermédio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo Edital CT-Saúde/MCT/MS/CNPq 30/2004 e posteriormente para análise do retinol sérico pelo Edital MCT/CNPq nº 06/08 Jovens Pesquisadores - Faixa A, processo 571342/2008-6.

4.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídas no estudo crianças de seis a 24 meses de idade, de ambos os sexos, cujos pais ou responsáveis consentiram quanto à participação na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foram excluídos do estudo crianças que apresentavam necessidades especiais, prematuras, gemelares, baixo peso ao nascer (menor que 2500 g), síndrome neurológica, cardiopatias, em tratamento de anemia e com hemoglobinopatias detectadas pelo teste do pezinho.

4.2 AMOSTRAGEM

O estudo foi desenvolvido em unidades pré-escolares do município de Goiânia (Centro Municipal de Educação Infantil – CMEIs) que desenvolvem atividades educativas para crianças com idade entre seis meses e seis anos. A

população do estudo foi constituída por crianças entre seis a 24 meses de idade matriculadas nestas unidades.

Realizou-se um levantamento do número de CMEIs com berçários existentes em Goiânia, totalizando 53 CMEIs e 447 crianças matriculadas. Para inclusão na pesquisa foram selecionados 25 CMEIs, por meio de sorteio probabilístico, com auxílio da tabela de números aleatórios do programa Excell. Para este sorteio o CMEI deveria ter no mínimo quatro crianças entre seis e 24 meses de idade. A probabilidade da creche ser sorteada foi proporcional ao número de crianças desse grupo etário, perfazendo um total de 268 crianças (HADLER et al., 2008).

Após exclusão das crianças de acordo com os critérios pré-estabelecidos foi obtida uma amostra de 219 crianças, cujos pais inicialmente consentiram com a participação na pesquisa. Após esta etapa oito crianças saíram da creche, quatro não compareceram à coleta de sangue, oito pais retiraram o termo de consentimento e três crianças não fizeram o hemograma completo. Desta forma, fizeram parte do presente estudo 196 crianças de seis a 24 meses. Houve três perdas referentes a não obtenção de soro suficiente para análise do retinol sérico inicial. Com isso, foram analisados o retinol sérico de 193 crianças (HADLER et al., 2008).

O tamanho amostral foi calculado no Statcalc do *Epi-Info*[®] 6.04d. Para um tamanho populacional de 268 crianças existentes nos 25 CMEIs com berçário, na faixa etária de seis a 24 meses de idade, prevalência esperada de deficiência de vitamina A de 11,8%, prevalência observada de DVA na Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher para a região Centro-Oeste (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009), um erro aceitável de 2,5% e um nível de significância de 95%, obteve-se uma amostra mínima de 189 crianças.

O fluxograma do processo de amostragem está apresentado na Figura 1.

4.3 COLETA DE DADOS

Os dados referentes às crianças foram coletados por meio de inquérito socioeconômico e demográfico. Em relação aos pais ou responsáveis foram coletados dados referentes à escolaridade, renda per capita, local de moradia e condição de saneamento. O peso ao nascer e a idade da criança foram obtidos por meio do cartão da criança.

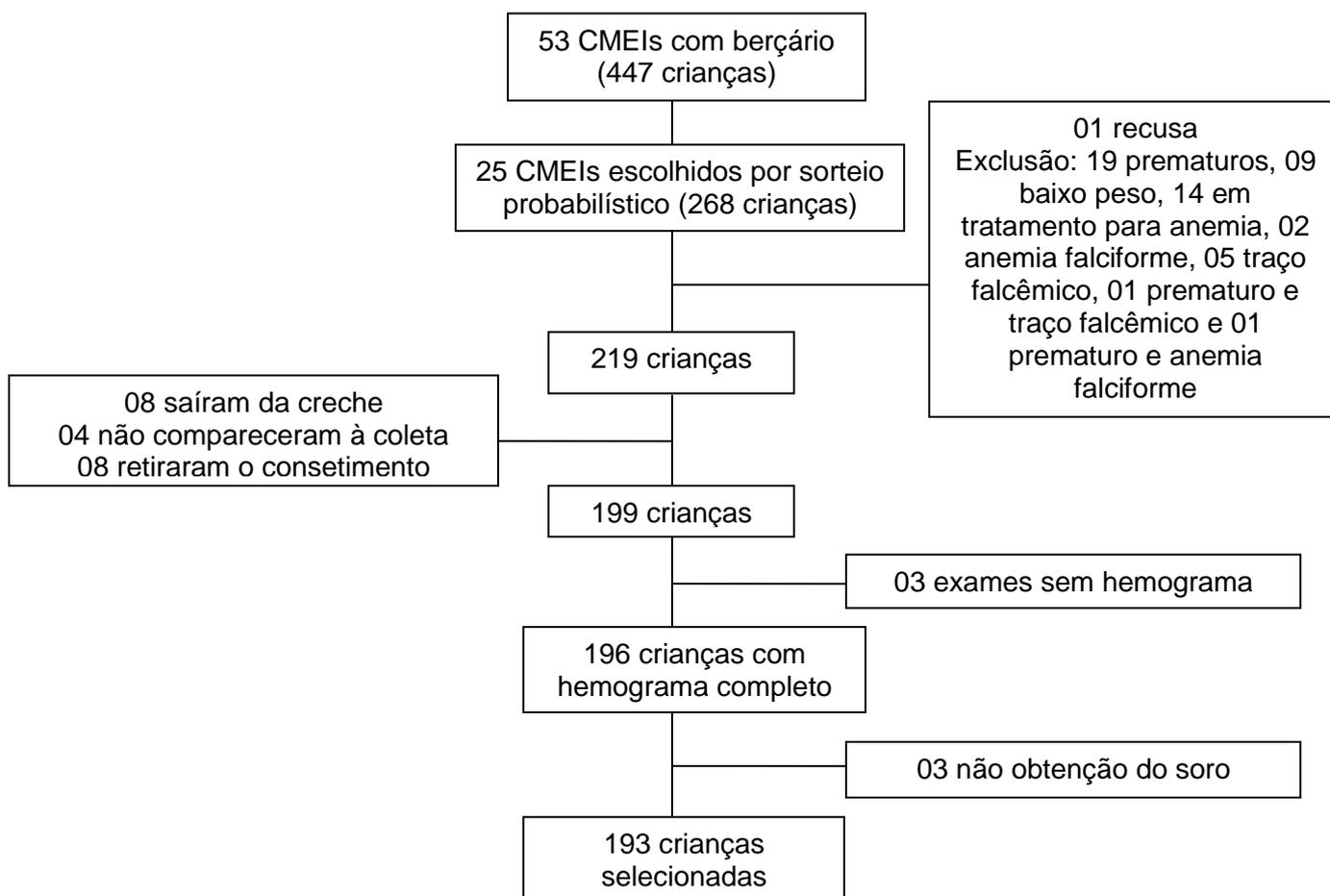


Figura 1. Fluxograma do processo de amostragem. Goiânia, 2005.

As crianças foram submetidas à coleta de sangue venoso para análise de hemoglobina, retinol sérico, ferritina e PCR. A coleta foi realizada na presença de um dos pais ou responsável pela criança.

Realizou-se um estudo piloto no qual foram testados a aplicação do questionário e a operacionalização desta etapa. As entrevistas foram realizadas por estudantes, estagiários, bolsistas de iniciação científica ou de extensão, assim como um nutricionista e membros do corpo docente da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás, todos previamente habilitados.

4.4 EXAMES BIOQUÍMICOS

A coleta de sangue foi realizada no próprio CMEI por um técnico treinado e experiente. Para a realização desta etapa coletou-se uma amostra de sangue venoso das crianças, em jejum de oito horas, acompanhado de um biomédico.

O hemograma foi analisado por contagem eletrônica no Cell-Dyn 3200 SL (Abbott Diagnostics, Mount View, USA), no Laboratório Clínico do Centro de Referência em Diagnóstico e Terapêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia - GO. As crianças que apresentaram hemoglobina $<11\text{g/dL}$ foram consideradas anêmicas, conforme recomendação da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2001).

A determinação da PCR foi realizada por turbidimetria (Konelab 60i, Wiener, Finlândia) no laboratório clínico do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. Crianças que apresentaram valores $<0,5\text{mg/dL}$ foram considerados como livres de infecção e/ou inflamação (HADLER et al., 2008).

A ferritina sérica foi obtida por quimioluminescência no aparelho AxSym System (Abbott Laboratórios do Brasil Ltda), usando um kit específico. Para diagnóstico de deficiência de ferro independente de infecção foi considerado como ponto de corte ferritina $<30\text{ ng/mL}$ e para crianças sem processo inflamatório utilizou-se o ponto de corte $<12\text{ ng/mL}$ para a ferritina (WHO, 2001).

Foi considerada como deficiente em ferro sem anemia toda criança com níveis de hemoglobina maior ou igual a 11 g/dL e que apresentasse deficiência de ferro (ferritina $<12\text{ ng/mL}$) sem a presença de processo inflamatório (PCR $<0,5\text{ mg/dL}$). Para classificação da anemia ferropriva foram consideradas aquelas

crianças com anemia (hemoglobina <11 g/dL) e deficiência de ferro (ferritina <12 ng/mL) sem a presença de processo inflamatório (PCR <0,5 mg/dL).

Amostras de soro foram congeladas a – 80°C e enviados por transporte aéreo, acondicionados em gelo seco. O retinol sérico foi analisado por High Performance Liquid Chromatography (HPLC) no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, de acordo com os métodos propostos por Arnaud et al. (1991) e Strobel et al. (2000). Utilizou-se o aparelho modelo LC9 Shimadzu (Nishinokyo-Kuwabara-cho, Nakagyo-ku, Kyoto, Japan), com 25x0,46 cm, em coluna C18 (ODS), detector UV/Vis (SPD-6AV), controlador SCL-6B e registro C-R6A calibrado para medição retinol no comprimento de onda de 325 nm. All-trans-retinol (Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) foi utilizado como um padrão externo (MARTINS et al., 2010). O fluxo do fase móvel foi fixado em 2 ml/min. O limite de detecção do método foi de 0,016 mmol/L. Valores menores que 0,7 µmol/L foram considerados como deficiência de vitamina A (Sommer & Davidson 2002).

A amostra de sangue coletada foi pequena para algumas crianças e por este motivo não foi possível realizar a análise de ferritina sérica em 12 crianças e de PCR em sete crianças.

4.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

A variável desfecho do estudo foi o retinol sérico obtido por meio de análise bioquímica. As variáveis independentes foram divididas entre aquelas relacionadas aos aspectos socioeconômicos, as variáveis relacionadas à criança e aquelas realizadas por meio de exame bioquímico. Além disso, elas foram selecionadas considerando os possíveis fatores relacionados aos níveis de retinol sérico discutidos na literatura.

As variáveis socioeconômicas foram selecionadas conforme descrição a seguir:

- Sexo: obtido por meio do Cartão da Criança para caracterização do sexo em masculino ou feminino
- Idade: em meses, calculado a partir da data de nascimento (coletada no Cartão da Criança) até a data da coleta de sangue
- Esgotamento sanitário: informação fornecida pelos pais ou responsáveis para caracterização da presença de esgoto ou fossa séptica na residência da criança
- Casa própria: caracterização da residência da criança como casa própria (sim) ou alugada, financiada ou invasão (não)
- Tipo de água consumida: descrição da fonte de consumo de água (água tratada ou cisterna)
- Escolaridade materna: informação sobre até que série a mãe cursou com aprovação
- Peso ao nascer: em gramas, obtido por meio da anotação no Cartão da Criança (80,1%) ou referido pelo responsável (19,9%).
- Número de crianças menores de cinco anos: quantificação de crianças menores que cinco anos residentes no mesmo domicílio que a criança participante da pesquisa
- Renda *per capita* (em salários mínimos): baseado no valor do salário mensal de todos os integrantes da família acrescido de outras rendas (ex: aluguel ou benefícios) e dividido pelo número de moradores do domicílio. O salário mínimo vigente no período da coleta de dados variou entre R\$260,00 e R\$300,00.
- Número de consultas pré-natal: quantificação do número de consultas realizadas durante a gestação
- Pré-natal no 1º trimestre: descrição da realização ou não de consulta pré-natal nos primeiros três meses de gestação
- Aleitamento materno predominante: Obtido a partir da pergunta: “Você forneceu leite materno (com água e/ou chá e/ou suco), até _____ dias” e checado com a época de introdução de água, chá ou suco
- Aleitamento materno atual: caracterização do oferecimento ou não de leite materno na data da entrevista e obtido a partir da pergunta: “ainda está amamentando? () sim () não”

- Exames bioquímicos: após coleta de sangue venoso em jejum foram analisados hemograma, ferritina, PCR e níveis séricos de retinol para caracterização da anemia, deficiência de ferro, estado inflamatório e deficiência de vitamina A, respectivamente.

No quadro 1 estão apresentadas as variáveis e categorias de análise utilizadas no presente estudo.

Quadro 1. Categorização das variáveis do presente estudo. Goiânia, 2005.

| Variável | Categorias de análise |
|---|---|
| Sexo | Masculino Feminino |
| Idade (meses) | <18 ≥18 |
| Esgotamento sanitário | Esgoto Fossa séptica |
| Casa própria | Sim Não |
| Tipo de água consumida | Água tratada Cisterna |
| Escolaridade materna (anos) | ≤4 5-8 ≥9 |
| Peso ao nascer | Variável contínua |
| Número de crianças menores que cinco anos | 1 2 ≥3 |
| Renda <i>per capita</i> (em salários mínimos) | <0,5 0,5–1,0 ≥1,0 |
| Número de consultas pré-natal | ≥6 <6 |
| Consulta no 1º trimestre | Sim Não |
| Aleitamento materno predominante (dias) | ≥120 <120 |
| Aleitamento materno atual | Sim Não |
| Exames bioquímicos (hemoglobina, ferritina, PCR e retinol sérico) | Anemia Sim Não Ferritina (ng/mL) ≥30 <30 Estado inflamatório (PCR) Não Sim |

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

Foram excluídos da análise os casos em que não haviam resposta para as variáveis analisadas, tais como: uma criança excluída da análise de 'renda *per capita*', dez crianças sem resposta para 'consulta pré-natal', cinco crianças sem resposta para realização de 'consultas no primeiro trimestre', duas crianças para 'aleitamento materno predominante', uma criança para 'aleitamento materno atual', duas crianças para 'aleitamento exclusivo', duas crianças para 'peso ao nascer' e sete crianças não tinham resultado para o exame de PCR, 12 crianças não tinham resultado para ferritina.

Os dados obtidos foram digitados com dupla entrada e realizado o *validate* no programa *Epi-Info*[®] 6.04d para detecção de erros de digitação. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa *Stata/SE*[®] 12.0 e *Statistical Package for the Social Sciences 18.0 (SPSS)*. Para avaliar a normalidade dos dados utilizou-se o Teste de Kolmogorov-Smirnov ($p \geq 0,05$). O teste de qui-quadrado de Pearson foi usado na avaliação da associação das variáveis socioeconômicas, demográficas, peso ao nascer e assistência pré-natal. Foi realizada a correlação de Pearson ou Spearman e a comparação das médias entre as variáveis independentes e a variável desfecho (deficiência de vitamina A) por meio do teste t de *Student*.

A variável contínua ferritina, com distribuição não normal, foi transformada em log de modo a corrigir a normalidade. As variáveis associadas ao desfecho em um nível de significância menor que 0,20 foram selecionadas para inclusão nos modelos de regressão linear múltipla pelo método *Enter*. O PCR entrou no modelo como variável categórica (0=ausência de processo inflamatório e 1=presença de processo inflamatório) e a ferritina como variável contínua (log). As variáveis deficiência de ferro sem anemia e anemia ferropriva não entraram no modelo de regressão por serem excludentes. Após análise do gráfico de dispersão foram excluídos os outliers das variáveis que entraram no modelo de regressão. A variável independente permaneceu no modelo múltiplo

se fosse estatisticamente significativa e/ou fosse variável de controle. Utilizou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, sob o protocolo nº 098/04 (ANEXO A), atendendo às normas regulamentares de pesquisa envolvendo seres humanos, Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

As mães ou responsáveis foram informados verbalmente sobre a justificativa do estudo, os objetivos e sua forma de realização. Àqueles que concordaram com a participação da criança na pesquisa foram solicitados os consentimentos livres, individuais e esclarecidos, por escrito, que foram assinados em duas vias pelo entrevistador e pela mãe ou responsável. Uma via foi entregue ao responsável e a outra está arquivada com a pesquisadora responsável.

Não houve nenhum tipo de custo para as mães ou responsáveis na realização dos exames laboratoriais. Ressaltou-se que os exames de sangue não apresentavam nenhum risco de contaminação e que os pais poderiam desistir em qualquer momento do estudo, sem nenhum prejuízo à criança.

5 REFERÊNCIAS

ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, S.; KIA, D.; FAVIER, A. Simultaneous determination of retinol α -tocopherol and β -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 572, n. 1-2, p.103–116, 1991.

BARROS, A.L.A.; SOARES, A.D.N.; PESSOA, M.C.; TEIXEIRA, R.A.; BEINNER, M.A. Deficiência de vitamina A em crianças residentes na região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Revista Mineira de Enfermagem**, Belo Horizonte, v.14, n.3, p.386-393, 2010.

BLOEM, M.W.; WEDEL, M.; EGGER, R.J.; SPEEK, A.J.; SCHRZJVER, J.; SAOWAKONTHA, S.; SCHREURS, W.H.P. Iron metabolism and vitamin A deficiency in children in Northeast Thailand. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.50, n.3, p.332-338, 1989.

BLOEM, M.W.; WEDEL, M.; AGTMAAL, E.J.V.; SPEEK, A.J.; SAOWAKONTHA, S.; SCHREURS, W.H.P. Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.51, n.1, p.76-79, 1990.

CHEN, K.; LI, T.Y.; CHEN, L.; QU, P.; LIU, Y.X. Effects of vitamin A, vitamin A plus iron and multiple micronutrient-fortified seasoning powder on preschool children in a suburb of Chongqing, China. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v.54, n.6 , p.440-447, 2008.

CHEN, K.; ZHANG, X.; LI, T.; CHEN, L.; QU, P.; LIU, Y. Co-assessment of iron, vitamin A and growth status to investigate anemia in preschool children in suburb Chongqing, China. **World Journal of Pediatrics**, Zhejiang, v.5, n.4, p.275-281, 2009.

COLES, C.L.; LEVY, A.; GORODISCHER, R.; DAGAN, R.; DECKELBAUM, R.J.; BLANER, W.S.; FRASER, D. Subclinical vitamin A deficiency in Israeli-Bedouin toddlers. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v.58, n.5, p.796-802, 2004.

FERNANDES, T.F.S.; DINIZ, A.S.; CABRAL, P.C.; OLIVEIRA, R.S.; LÓLA, M.M.F.; SILVA, S.M.M.; KOLSTEREN, P. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.4, p.471-480, 2005.

FERRAZ, I.S.; DANELUZZI, J.C.; VANNUCCHI, H.; JORDAO JR, A.A.; RICCO, R.G.; DEL CIAMPO, L.A.; MARTINELLI JR, C.E.; ENGELBERG, A.A.D.; BONILHA, L.R.C.; CUSTÓDIO, V.I.C. Prevalência da carência de ferro e sua

associação com a deficiência de vitamina A em pré-escolares. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.81, n.2, p.169-174, 2005.

FERRAZ, I.S.; DANELUZZI, J.C.; VANNUCCHI, H. Vitamin A deficiency in children aged 6 to 24 months in São Paulo state, Brazil. **Nutrition Research**, New York, v.20, n.6, p.757-768, 2000.

FILTEAU, S.M.; MORRIS, S.S.; ABBOTT, R.A.; TOMKINS, A.M.; KIRKWOOD, B.R.; ARTHUR, P.; ROSS, D.A.; GYAPONG, J.O.; RAY, J.G. Influence of morbidity on serum retinol of children in a community-based study in northern Ghana. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.58, n.2, p.192-197, 1993.

FLORES, H.; ARAUJO, C.R.C. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.40, n.1, p.146-152, 1984.

FRANCESCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E.; PEQUENO, N.P.F.; SILVA, D.G.; SIGULEM, D.M. Fatores de risco para o baixo peso ao nascer em gestantes de baixa renda. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.2, p.171-179, 2003.

GRAEBNER, I.T.; SAITO, C.H.; SOUZA, E.M.T. Avaliação bioquímica de vitamina A em escolares de uma comunidade rural. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.83, n.3, p.247-252, 2007.

GONDIM, S.S.R.; DINIZ, A.S.; CAGLIARI, M.P.; ARAUJO, E.S.; QUEIROZ, D.; PAIVA, A.A. Relação entre os níveis de hemoglobina, concentração de retinol sérico e estado nutricional em crianças de 06 a 59 meses do Estado da Paraíba. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.25, n.4, p.441-449, 2012.

HADLER, M.C.C.M.; SIGULEM, D.M.; ALVES, M.F.C.; TORRES, V.M. Treatment and prevention of anemia with ferrous sulfate plus folic acid in children attending daycare centers in Goiânia, Goiás State, Brazil: a randomized controlled trial. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, supl. 2, p. S259-S271, 2008.

HARVESTPLUS TECHNICAL MONOGRAPH. **Influence of provitamin A carotenoids on iron, zinc and vitamin A status**. Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute and International Center for Tropical Agriculture, 2005. 31p.

IMDAD, A.; HERZER, K.; MAYO-WILSON, E.; YAKOUB, M.Y.; BHUTTA, Z.A. Vitamin A supplementation for preventing morbidity and mortality in children from 6 months to 5 years of age. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, v.12, n.1, p.1-124, 2010.

JIANG, J.X.; LIN, L.M.; LIAN, G.L.; GREINER, T. Vitamin A deficiency and child feeding in Beijing and Cuizhou, China. **World Journal of Pediatrics**, Zhejiang, v.4, n.1, p. 20-25, 2008.

JIANG, S.; WANG, C.; LAN, L.; ZHAO, D. Vitamin A deficiency aggravates iron deficiency by upregulating the expression of iron regulatory protein-2. **Nutrition**, New York, v.28, n.3 , p.281-287, 2012.

KHAN, N.C.; NINH, N.X.; NHIEN, N.V.; KHOI, H.H.; WEST, C.E. HAUSTVAST, J.G.A.J. Sub clinical vitamin A deficiency and anemia among Vietnamese children less than five years of age. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, London, v.16, n.1, p.152-157, 2007.

LAXMAIAH, A.; NAIR, M.K.; ARLAPPA, N.; RAGHU, P.; BALAKRISHNA, N.; RAO, K.M.; GALREDDY, C.; KUMAR, S.; RAVINDRANATH, M.; RAO, V.V.; BRAHMAM, G.N.V. Prevalence of ocular signs and subclinical vitamin A deficiency and its determinants among rural pre-school children in India. **Public Health Nutrition**, Wallingford, v.15, n.4, p. 568-577, 2011.

LIBERATO, S.C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Fortification of industrialized foods with vitamins. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.2, p.215-231, 2006.

MCLAREN, D.S.; KRAEMER, K. **Manual on vitamin A deficiency disorders (VADD)**. 3.ed. Switzerland: Sight and Life, 2012. 225 p.

MARTINS, M.C.; SANTOS, L.M.P.; ASSIS, A.M.O. Prevalência da hipovitaminose A em pré-escolares no Estado de Sergipe, 1998. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.38, n.4, p.537-542, 2004.

MARTINS, T.M.; FERRAZ, I.S.; DANELUZZI, J.C.; MARTINELLI, C.E.; DEL CIAMPO, L.A.; RICCO, R.G.; JORDAO JUNIOR, A.A.; PATTA, M.C.; VANNUCCHI, H. Impact of maternal vitamin A supplementation on the mother-infant pair in Brazil. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v.64, n.11, p.1302-1307, 2010.

MEJIA, L.A.; ARROYAVE, G. The effect of vitamin A fortification of sugar on iron metabolism in preschool children in Guatemala. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.36, n.1, p.87-93, 1982.

MEJIA, L.A.; CHEW, F. Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.48, n.3, p.595-600, 1988.

MILAGRES, R.C.R.M.; NUNES, L.C.; SANT'ANA, H.M.P. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.12, n.5, p.1253-1266, 2007.

MILLER, M, HUMPHREY, J; JOHNSON, E; MARINDA, E; BROOKMEYER, R; KATZ, J. Why do children become vitamin A deficient? **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.132, suppl 9, p. S2867-2880, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Pré-natal e puerpério: atenção qualificada e humanizada**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005. 163 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Cadernos de atenção básica: carências de micronutrientes**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2007. 60 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Pesquisa Nacional de demografia e saúde da criança e da mulher PNDS 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009. 300 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Manual de Condutas Gerais do Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2012a. 26p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Quantitativo de vitamina A distribuída**. Brasília, DF: Coordenação Geral de Alimentação e Nutrição, 2012b. Disponível em: <<http://nutricao.saude.gov.br/sistemas/VitaminaA/relatoriodistribuicao.view.php>>. Acesso em: 22 abr. 2012.

MUÑOZ, E.C.; ROSADO, J.L.; LÓPEZ, P.; FURR, H.C.; ALLEN, L.H. Iron and zinc supplementation improves indicators of vitamin A status of Mexican preschoolers. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.71, n.3, p.789-794, 2000.

MWANRI, L.; WORSLEY, A.; RYAN, P.; MASIKA, J. Supplemental vitamin A improves anemia and growth in anemic school children in Tanzania. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.130, n.11, p.2691-2696, 2000.

NETTO, M.P.; PRIORE, S.E.; FRANCESCHINI, S.C.C. Interação entre vitamina A e ferro em diferentes grupos populacionais. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v.7, n.1, p.15-22, 2007.

NETTO, M.P.; PRIORE, S.E.; SANT'ANA, H.M.P.; PELUZIO, M.C.G. SABARENSE, C.M.; FRANCESCHINI, S.C.C. Fatores associados à concentração de retinol sérico em lactentes. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 30, n.1, p.27-34, 2012.

NETTO, M.P.; ROCHA, D.S.; FRANCESCHINI, S.C.C.; LAMOUNIER, J.A. Fatores associados à anemia em lactentes nascidos a termo e sem baixo peso. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.57, n.5, p.550-558, 2011.

OLIVEIRA, J.S.; LIRA, P.I.C.; OSÓRIO, M.M.; SEQUEIRA, L.A.S.; COSTA, E.C.; GONÇALVES, F.C.L.S.P.; FILHO, M.B. Anemia, hipovitaminose A e insegurança alimentar em crianças de municípios de Baixo Índice de Desenvolvimento Humano do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v.13, n.4, p.651-664, 2010.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Directriz: Administración de suplementos de vitamina A a lactantes y niños de 6 a 59 meses de edad.** Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2011. 25 p.

PALAFIX, N.A.; GAMBLE, M.V.; DANCHECK, B.; RICKS, M.O.; BRIAND, K.; SEMBA, R.D. Vitamin A deficiency, iron deficiency, and anemia among preschool children in the Republic of the Marshall Islands. **Nutrition**, Burbank, v.19, n.5, p.405-408, 2003.

PEE, S.; DARY, O. Biochemical indicators of vitamin A deficiency: serum retinol and serum retinol binding protein. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.132, n.9, p.2895S-2901S, 2002.

PEREIRA, J.A.; PAIVA, A.A.; BERGAMASCHI, D.P.; RONDÓ, P.H.C.; OLIVEIRA, G.C.; LOPES, I.B.M.; ILLISON, V.K.; GONÇALVES-CARVALHO, C.M.R. Concentração de retinol e de beta-caroteno séricos e perfil nutricional de crianças em Teresina, Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v.11, n.2, p.287-296, 2008.

RAMALHO, R.A.; ANJOS, L.A.; FLORES, H. Hipovitaminose A em recém-nascidos em duas maternidades públicas no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.14, n.4, p.821-827, 1998.

RAMALHO, R.A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v.12, n.2, p.117-123, 2002.

ROSALES, F.J.; JANG, J.T.; PINERO, D.J.; ERIKSON, K.M.; BEARD, J.L.; ROSS, A.C. Iron deficiency in young rats alters the distribution of vitamin A between plasma and liver and between hepatic retinol and retinyl esters. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.129, n.6, p.1223-1228, 1999.

SACHDEVA, S.; DATTA, U. Vitamin A first dose supplements coverage evaluation amongst children aged 12-23 residing in slums of Delhi, India. **Indian Journal of Ophthalmology**, Bombay, v.57, n.4, p.299-303, 2009.

SAMBA, C.; TCHIBINDAT, F.; HOUZE, P.; GOURMEL, B.; MALVY, D. Prevalence of infant vitamin A deficiency and undernutrition in the Republic of Congo. **Acta Tropica**, Basel, v.97, n.3, p.270-283, 2006.

SCHÉMANN, J.F.; BANOU, A.A.; GUINDO, A.; JORET, V.; TRAORE, L.; MALVY, D. Prevalence of undernutrition and vitamin A deficiency in the Dogon Region, Mali. **Journal of the American College of Nutrition**, Detroit, v.21, n.5, p.381-387, 2002.

SEMBA, R.D.; BLOEM, M.W. The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v.56, n.4, p.271-281, 2002.

SILVA, R.C.R.; ASSIS, A.M.O.; SANTANA, M.L.P.; BARRETO, M.L.; BRITO, L.L.; REIS, M.G.; PARRAGA, I.M.; BLANTON, R.E. Relação entre os níveis de vitamina A e os marcadores bioquímicos do estado nutricional de ferro em crianças e adolescentes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.21, n.3, p.285-291, 2008.

SILVA, L.S.M.; GIUGLIANI, E.R.J.; AERTS, D.R.G.C. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.35, n.1, p.66-73, 2001.

SOMMER, A.; DAVIDSON, F.R. Assessment and control of vitamin A deficiency: the Anney Accords. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.132, n.9, p.2845S-2850S, 2002.

STROBEL, M.; HEINRICH, F.; BIESALSKI, H.K. Improved method for rapid determination of vitamin A in small samples of breast milk by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, New York, v.898, n.2, p.179-183, 2000.

TANUMIHARDJO, S.A. Assessing vitamin A status: past, present and future. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.134, n.1, p.290S-293S, 2004.

THURNHAM, D.I.; McCABE, G.P. Influence of infection and inflammation on biomarkers of nutritional status with an emphasis on vitamin A and iron. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report: Priorities in the assessment of vitamin A and iron status in populations. Geneva: World Health Organization, 2012. 82 p.

THURNHAM, D.I.; MCCABE, G.P.; NORTHROP-CLEWES, C.A.; NESTEL, P. Effects of subclinical infection on plasma retinol concentrations and assessment of prevalence of vitamin A deficiency: meta-analysis. **Lancet**, London, v.362, n.9401, p.2052-2058, 2003.

TOMKINS, A. Assessing micronutrient status in the presence of inflammation. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.133, n.5, p.1649S-1655S, 2003.

UNITED NATIONS. Administrative Committee on Coordination. Sub Committee on Nutrition. **Third report on the world nutrition situation**. Geneva: United Nations, 1997. 142p.

VASCONCELOS, A.M.A.; FERREIRA, H.S. Prevalência de hipovitaminose A em crianças da região semi-árida de Alagoas (Brasil), 2007. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.59, n.2, p. 152-158, 2009.

WEST, K.P. Extent of vitamina A deficiency among preschool children and women of reproductive age. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.132, n.9, p.2857S-2866S, 2002.

WILLOWS, N.D.; GRAY-DONALD, K. Serum retinol is associated with hemoglobin concentration in infants who are not vitamin A deficient. **Nutrition Research**, New York, v.23, n.7, p.891-900, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes**. (Micronutrient Series,10). Geneva: World Health Organization, 1996. 67p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation**. Bangkok, Thailand: World Health Organization, 1998. 341p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Iron deficiency anaemia assessment, prevention and control: a guide for programme managers**. Geneva: WHO, 2001. 114p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency**. Geneva: World Health Organization, 2009. 55p.

YANG, R.; LI, R.; MAO, S.; SUN, L.; HUANG, X.; JI, C.; ZHU, Z.; WU, L.; QIN, Y.; ZHAO, Z. The survey of serum retinol of the children aged 0-4 years in Zhejiang Province, China. **BioMed Central Public Health**, London, v.7, n.1, p.264-270, 2007.

ZANCUL, M.S. Fortificação de alimentos com ferro e vitamina A. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.37, n.1/2, p.45-50, 2004.

ZIMMERMANN, M.B.; BIEBINGER, R.; ROHNER, F.; DIB, A.; ZEDER, C.; HURRELL, R.F.; CHAOUKI, N. Vitamin A supplementation in children with poor vitamin A and iron status increases erythropoietin and hemoglobin concentrations without changing total body iron. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.84, n.3, p.580-586, 2006.

CAPÍTULO 2 - ARTIGO CIENTÍFICO

Fatores relacionados aos níveis de retinol sérico em crianças de seis a 24 meses de creches municipais de Goiânia-Goiás

Lina Monteiro de Castro Lobo¹; Alceu Afonso Jordão Junior²; Maria Claret Costa Monteiro Hadler³

¹ Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição, Goiânia, GO, Brasil.
End: Rua Presidente Vargas, Qd.64 Lt.13, Jardim Presidente. Telefone: (62) 8188-8066. e-mail: lina_monteiro2005@yahoo.com.br

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Clínica Médica. End: Av. Bandeirantes, 3900, Anexo A, Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP. Telefone: (16) 3602-4564.

³ Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição, Goiânia, GO, Brasil.
End: Avenida T-4, nº 802, apto 802, Setor Bueno. Telefone: (62) 3209-6270 (ramal 213). e-mail: claretheadler@uol.com.br

Este artigo será submetido ao periódico *Maternal and Child Nutrition* (Qualis Capes B1 – Nutrição e Medicina II) e as normas e instruções aos autores estão apresentadas no Anexo C.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores relacionados ao retinol sérico em crianças de seis a 24 meses de idade que frequentavam Centros Municipais de Educação Infantil (CMEIs) no município de Goiânia. Trata-se de um estudo transversal realizado entre 2005 e 2006. Realizou-se inquérito socioeconômico e demográfico e coleta de sangue de 193 crianças para análise do hemograma, retinol sérico, ferritina e proteína C-reativa (PCR). O retinol sérico foi determinado por HPLC considerando como deficiência os níveis de retinol $<0,7$ $\mu\text{mol/L}$. Utilizou-se o teste t de *Student*, correlação de Pearson ou Spearman e regressão linear múltipla. A média de retinol sérico foi de $1,00 \pm 0,38$ $\mu\text{mol/L}$ e a prevalência de deficiência de vitamina A de 21,7%. Os níveis médios de retinol sérico não apresentaram diferença estatística entre os sexos, idade da criança, tipo de água consumida, assistência pré-natal, aleitamento materno, presença ou não de anemia e ferritina. Não houve correlação entre escolaridade da mãe, peso ao nascer e número de crianças menor que cinco anos com o retinol sérico. Verificou-se associação entre deficiência de vitamina A e inflamação ($p=0,043$). Para cada unidade de aumento do PCR houve redução de 0,133 e 0,115 mg/dL nos níveis de retinol sérico, segundo dois modelos de regressão linear múltipla. Conclui-se que a deficiência de vitamina A nas crianças frequentadoras de CMEIs em Goiânia é alta e o fator relacionado à esta deficiência foi o estado inflamatório da criança representado pelos níveis séricos de PCR.

Palavras-chave: deficiência de vitamina A, pré-escolar, vitamina A, micronutrientes, saúde da criança

INTRODUÇÃO

A vitamina A é um nutriente fundamental no processo de diferenciação, manutenção celular e preservação da integridade e manutenção de vários órgãos, além de ter um importante papel na prevenção da morbidade e mortalidade infantil. A deficiência desta vitamina tem como consequência o aumento da susceptibilidade à infecção e redução do crescimento de crianças, além de ser uma importante causa de cegueira na infância (Graebner *et al.* 2007; Jiang *et al.* 2008; Sachdeva & Datta 2009).

A deficiência de vitamina A (DVA) é determinada por níveis inferiores a 0,70 $\mu\text{mol/L}$ de retinol sérico em pré-escolares e prevalências maiores que 20,0% são consideradas como grave problema de saúde pública (WHO 1996; WHO 1998; Sommer & Davidson 2002).

A prevalência global de deficiência de vitamina A em pré-escolares é de 190 milhões, correspondendo a 33,3% dos pré-escolares no mundo (WHO 2009). Em um estudo nacional recente foi encontrado 17,4% de crianças menores de cinco anos com baixos níveis séricos de vitamina A, sendo que a região Centro-Oeste do Brasil apresentou prevalência de 11,8%. As crianças com idade entre 6 e 23 meses apresentaram prevalência de 16,3% para esta deficiência, de acordo com a amostra total do estudo (Ministério da Saúde 2009).

A principal causa da DVA é a ingestão insuficiente de fontes alimentares de vitamina A a qual não é capaz de satisfazer as necessidades fisiológicas dos indivíduos (West 2002; WHO 2009). Nos lactentes a DVA se instala principalmente devido ao fornecimento inadequado de aleitamento materno e de colostro, visto que estas são as primeiras fontes de vitamina A para a criança (WHO 2009). Além disso, a deficiência de vitamina A pode-se desenvolver por outros fatores, que incluem a deficiência materna desta vitamina levando à produção de leite com teores inadequados em vitamina A, a alimentação complementar com baixa quantidade deste nutriente, alta frequência de doenças prevalentes na infância, principalmente as doenças infecciosas como

a diarreia e pela baixa ingestão de proteínas, lipídeos e zinco na dieta (WHO 1998; Miller *et al.* 2002; McLaren & Kraemer 2012).

Embora já tenham sido descritos os fatores associados à deficiência de vitamina A em outras regiões do Brasil, não há estudos que demonstrem a prevalência e os fatores relacionados a esta deficiência em crianças de Goiânia e no Estado de Goiás, Brasil. Além disso, poucos estudos no Brasil abordam a faixa etária de seis a 24 meses de idade. Os resultados dos estudos sobre a associação entre os níveis de retinol sérico e a idade, sexo, esgotamento sanitário, aleitamento materno, anemia, escolaridade materna, renda *per capita* e peso ao nascer ainda permanecem controversos. Este fato pode ser justificado pela heterogeneidade das pesquisas quanto à idade das crianças e o tamanho amostral.

A determinação dos fatores relacionados à deficiência de vitamina A é de extrema importância visto que esta carência nutricional contribui para o perfil de morbidade e mortalidade da população infantil. A compreensão da magnitude destes fatores visa auxiliar nas estratégias de saúde pública que busquem a redução da alta prevalência dessa carência nutricional.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores relacionados aos níveis de retinol sérico em crianças de seis a 24 meses de idade que frequentavam Centros Municipais de Educação Infantil (CMEIs) no município de Goiânia, Goiás, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Anemia nutricional: suplementação como medida de prevenção e tratamento na primeira infância”, que foi realizado na cidade de Goiânia, nos anos de 2005 e 2006, em CMEIs, que são unidades que atendem crianças de seis meses a seis anos de idade no município de Goiânia, Goiás, Brasil.

A população do estudo foi constituída por crianças entre seis a 24 meses de idade, de ambos os sexos, cujos pais ou responsáveis consentiram quanto à

participação na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foram excluídos do estudo crianças que apresentavam necessidades especiais, prematuras, gemelares, baixo peso ao nascer (menor que 2500 g), síndrome neurológica, cardiopatias, em tratamento de anemia, com hemoglobinopatias detectadas pelo teste do pezinho e aquelas em que os pais não concordaram em participar da pesquisa (Hadler *et al.* 2008).

Realizou-se um levantamento do número de CMEIs com berçários existentes em Goiânia, Goiás, Brasil e obteve-se um total de 53 CMEIs com 447 crianças matriculadas. Para inclusão na pesquisa foram selecionados 25 CMEIs por meio de sorteio probabilístico, com auxílio da tabela de números aleatórios do programa Excell. A probabilidade da instituição ser sorteada foi proporcional ao número de crianças desse grupo etário. Nesta etapa o total de crianças foi 268 (Hadler *et al.* 2008).

Após exclusão das crianças de acordo com os critérios pré-estabelecidos foi obtida uma amostra de 219 crianças. Depois desta etapa oito crianças saíram da creche, quatro não compareceram à coleta de sangue e oito pais retiraram o termo de consentimento. Houve três perdas referentes a não obtenção de soro suficiente para análise do retinol sérico inicial. Desta forma, fizeram parte do presente estudo 193 crianças de seis a 24 meses.

O tamanho amostral foi calculado no Statcalc do *Epi-Info*[®] 6.04d. Para um tamanho populacional de 268 crianças existentes nos 25 CMEIs com berçário, na faixa etária de seis a 24 meses de idade, prevalência esperada de deficiência de vitamina A de 11,8%, prevalência observada de DVA na Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher para a região Centro-Oeste (Ministério da saúde 2009), um erro aceitável de 2,5% e um nível de significância de 95%, obteve-se uma amostra mínima de 189 crianças.

Os dados referentes às crianças foram coletados por meio de inquérito socioeconômico e demográfico. Em relação aos pais ou responsáveis foram coletados dados referentes à escolaridade, renda *per capita*, casa própria, condição de saneamento, assistência pré-natal, aleitamento materno, além de

dados referentes à criança participante do estudo. O peso ao nascer foi obtido por meio do cartão da criança. Todas as informações coletadas foram registradas em questionários pré-codificados e testados previamente.

As crianças foram submetidas à coleta de sangue venoso em jejum, no próprio CMEI, para análise do hemograma, retinol sérico, ferritina e proteína C-reativa (PCR). Realizou-se a coleta na presença de um dos pais ou responsável pela criança.

Analisou-se o hemograma por contagem eletrônica no Cell-Dyn 3200 SL (Abbott Diagnostics, Mount View, USA), no Laboratório Clínico do Centro de Referência em Diagnóstico e Terapêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia, Goiás, Brasil. As crianças que apresentaram hemoglobina $<11\text{g/dL}$ foram consideradas anêmicas, conforme recomendação da Organização Mundial de Saúde (WHO 2001).

A ferritina sérica foi obtida por quimioluminescência no aparelho AxSym System (Abbott Laboratórios do Brasil Ltda), por meio do uso de um *kit* específico. Para diagnóstico de deficiência de ferro foi considerado como ponto de corte ferritina $<30\text{ ng/mL}$ ao se incluir crianças com processo inflamatório. Ao excluir crianças com processo inflamatório utilizou-se o ponto de corte de $<12\text{ ng/mL}$ para a ferritina para caracterizar a deficiência (WHO 2001).

Realizou-se a determinação da proteína C-reativa (PCR) por turbidimetria (Konelab 60i, Wiener, Finlândia) no Laboratório Clínico do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, Brasil. Crianças que apresentaram valores $<0,5\text{ mg/dL}$ foram considerados como livres de infecção e/ou inflamação. A descrição detalhada da metodologia pode ser vista em Hadler et al. (2008).

As crianças com níveis de hemoglobina maior ou igual a 11 g/dL e que apresentasse deficiência de ferro (ferritina $<12\text{ ng/mL}$) sem a presença de processo inflamatório (PCR $<0,5\text{ mg/dL}$) foram consideradas como deficiente em ferro sem anemia. Para classificação da anemia ferropriva foram consideradas aquelas crianças com anemia (hemoglobina $<11\text{ g/dL}$) e deficiência de ferro (ferritina $<12\text{ ng/mL}$) sem a presença de processo inflamatório (PCR $<0,5\text{ mg/dL}$). As variáveis deficiência de ferro sem anemia e

anemia ferropriva não entraram no modelo de regressão linear múltipla por serem excludentes.

Amostras de soro foram congeladas a -80°C e enviados por transporte aéreo, acondicionados em gelo seco. O retinol sérico foi analisado por High Performance Liquid Chromatography (HPLC) no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, de acordo com os métodos propostos por Arnaud et al. (1991) e Strobel et al. (2000). Utilizou-se o aparelho modelo LC9 Shimadzu (Nishinokyo-Kuwabara-cho, Nakagyo-ku, Kyoto, Japan), com $25 \times 0,46$ cm, em coluna C18 (ODS), detector UV/Vis (SPD-6AV), controlador SCL-6B e registro C-R6A calibrado para medição retinol no comprimento de onda de 325 nm. All-trans-retinol (Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) foi utilizado como um padrão externo. O fluxo do fase móvel foi fixado em 2 ml/min. O limite de detecção do método foi de 0,016 mmol/L (Martins et al. 2010). Valores menores que $0,7 \mu\text{mol/L}$ foram considerados como deficiência de vitamina A (Sommer & Davidson 2002).

Foram excluídos da análise os casos em que não haviam resposta para as variáveis analisadas, tais como: uma criança excluída da análise de 'renda *per capita*', 10 crianças sem resposta para 'consulta pré-natal', cinco crianças sem resposta para realização de 'consultas no primeiro trimestre', duas crianças para 'aleitamento materno predominante', uma criança para 'aleitamento materno atual', duas crianças para 'aleitamento exclusivo' e duas crianças para 'peso ao nascer'. A amostra de sangue coletada para algumas crianças foi pequena e por este motivo não foi possível realizar a análise de ferritina sérica para 12 crianças e de PCR para sete crianças.

Os dados obtidos foram digitados em dupla entrada e realizado o *validate* no programa *Epi-Info 6.04d* para detecção e correção de erros de digitação. Para as análises estatísticas foram utilizados os programas *Stata/SE 12.0* e *Statistical Package for the Social Sciences 18.0 (SPSS)*. Para avaliar a normalidade dos dados utilizou-se o Teste de Kolmogorov-Smirnov ($p \geq 0,05$). Utilizou-se o teste de qui-quadrado de Pearson na avaliação da associação das variáveis sócioeconômicas, demográficas, peso ao nascer e assistência pré-natal

com a deficiência de vitamina A. Realizou-se a comparação das médias entre as variáveis independentes e a variável desfecho (deficiência de vitamina A) por meio do teste t de *Student* e correlação de Pearson ou Spearman. A variável contínua ferritina, com distribuição não normal, foi transformada em log de modo a corrigir a normalidade. As variáveis associadas ao desfecho em um nível de significância menor que 0,20 foram selecionadas para inclusão nos modelos de regressão linear múltipla pelo método *Enter*. O PCR entrou no modelo como variável categórica (0=ausência de processo inflamatório e 1=presença de processo inflamatório) e a ferritina como variável contínua (log). Após análise do gráfico de dispersão foram excluídos os *outliers* das variáveis que entraram no modelo de regressão. A variável independente permaneceu no modelo múltiplo se fosse estatisticamente significativa e/ou fosse variável de controle. Utilizou-se nível de significância de 5%.

O projeto de pesquisa em que este trabalho está integrado foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, Brasil, sob o protocolo nº 098/04, atendendo às normas regulamentares de pesquisa envolvendo seres humanos, Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Mensagens chave:

- A elevada prevalência de deficiência de vitamina A demonstrada neste estudo revela a necessidade de programas de saúde voltados para a prevenção e tratamento da deficiência de vitamina A em crianças de seis a 24 meses de idade
- A deficiência de vitamina A não pode ser atribuída à fatores socioeconômicos e fatores relacionados à criança neste estudo
- Os níveis de PCR estão relacionados com o retinol sérico, levando à diminuição deste independente do esgotamento sanitário, local de moradia e ferritina.

RESULTADOS

A média e o desvio padrão da idade das crianças avaliadas foi de $15,5 \pm 3,9$ meses e o nível médio de retinol sérico encontrado foi de $1,00 \pm 0,38$ $\mu\text{mol/L}$, com prevalência de deficiência de vitamina A de 21,8% ($n = 42$). A caracterização sociodemográfica e econômica das crianças estudadas pode ser observada na Tabela 1.

TABELA 1

Observou-se que 52,3% de crianças ($n = 101$) eram do sexo masculino. A amostra pode ser caracterizada por um número considerável de mães com baixo nível de escolaridade, sendo 60,6% ($n = 90$) com menos de oito anos de estudo. A escolaridade média das mães foi de $7,62 \pm 3,25$ anos. Em relação às condições ambientais 54,4% das residências eram alugadas, financiadas ou invasão, 90,7% usavam água tratada e 59,6% dos domicílios possuíam esgoto.

As consultas de pré-natal no 1º trimestre de gestação não foram realizadas por 25,0% das mães ($n=47$), porém 76,5% das mães ($n=140$) tiveram mais de seis consultas durante o pré-natal. O tempo médio e desvio-padrão de aleitamento materno exclusivo foram de $51,5 \pm 56,8$ dias, de aleitamento materno predominante foram $111,4 \pm 64,0$ dias e 30,2% ($n = 58$) das crianças recebiam leite materno no momento da pesquisa.

As variáveis socioeconômicas e demográficas: sexo ($p=0,994$), idade ($p=0,411$), esgotamento sanitário ($p=0,290$), local de moradia ($p=0,517$), tipo de água consumida ($p=0,582$), escolaridade materna ($p=0,269$), número de crianças menor que cinco anos ($p=0,468$), renda *per capita* ($p=0,281$), peso ao nascer ($p=0,845$), aleitamento materno predominante ($p=0,444$), aleitamento materno atual ($p=0,905$), número de consultas pré-natal ($p=0,620$) e pré-natal no primeiro trimestre de gestação ($p=0,760$) não tiveram associação com a deficiência de vitamina A (dados não apresentados).

Os níveis médios de retinol sérico não diferiram estatisticamente entre os sexos, idade, tipo de água consumida, número de consultas pré-natal, consulta no primeiro trimestre, aleitamento materno predominante, aleitamento materno

atual, anemia e ferritina. A média de retinol sérico de acordo com o esgotamento sanitário, local de moradia e estado inflamatório apresentaram $p < 0,20$ (Tabela 2).

TABELA 2

Na Tabela 3 estão apresentadas as correlações entre os níveis séricos de retinol e as demais variáveis do estudo. Observa-se que não houve correlação entre os níveis de retinol sérico e a escolaridade da mãe, peso ao nascer, número de crianças menores de cinco anos, renda *per capita*, aleitamento materno exclusivo, níveis de hemoglobina e idade da criança em meses.

Ao selecionar as crianças com idade maior ou igual a 18 meses, houve correlação positiva entre a idade e os níveis de retinol sérico ($p = 0,015$). Porém, não houve correlação entre a idade das crianças de seis a 18 meses com o retinol sérico.

Entre as crianças submetidas aos exames laboratoriais encontrou-se 41,4% de crianças com processo inflamatório (186 crianças avaliadas, 77 crianças com $\text{PCR} \geq 0,5 \text{ mg/dL}$), 55,9% ($n = 108$) das crianças apresentaram anemia e 87,8% das crianças foram classificadas como deficientes em ferro, ao usar o ponto de corte da ferritina $< 30 \text{ ng/mL}$ e sem excluir as crianças com inflamação ($n = 159$).

Verificou-se que a média de retinol sérico foi menor na presença de inflamação ($p = 0,064$) (Tabela 2). Quando avaliados pela análise de correlação, o PCR apresentou uma tendência a correlação negativa baixa com o retinol sérico, porém não significativa ($p = 0,073$) (Tabela 3).

TABELA 3

A prevalência de anemia foi de 55,9%. Entre as anêmicas 69,2% apresentaram anemia ferropriva. Verificou-se que nas crianças não anêmicas que apresentaram deficiência de ferro sem anemia e anemia ferropriva tiveram menor prevalência de deficiência de vitamina A ($p = 0,005$ e $0,044$, respectivamente). A anemia e os níveis de ferritina não apresentaram associação com a deficiência de vitamina A (Tabela 4).

TABELA 4

Ao incluir a variável idade no modelo de regressão linear múltipla, tanto na forma contínua como categórica (<18 meses e ≥18 meses), o modelo perdeu a significância. Desta forma, a variável idade foi retirada da análise de regressão linear múltipla. A inclusão da variável número de consultas pré-natal também levou à perda de significância do modelo e foi excluída da análise de regressão.

Após ajuste das variáveis, nos modelos 1 e 2, permaneceu associada aos níveis de retinol sérico apenas o estado inflamatório, representado pelos níveis de PCR ($p=0,034$ e $0,043$, respectivamente). Para cada aumento de 1 mg/dL do PCR há uma redução de $0,133 \mu\text{mol/L}$ nos níveis de retinol para o modelo 1 e redução de $0,115 \mu\text{mol/L}$ para o modelo 2, ao se manter as outras variáveis constantes. As variáveis que compuseram estes modelos explicaram 2,3% e 2,9% da variação dos níveis de retinol dos lactentes avaliados, respectivamente (Tabela 5).

TABELA 5

DISCUSSÃO

A deficiência de vitamina A é amplamente estudada em crianças na fase pré-escolar, entretanto, estudos acerca deste tema na primeira infância são mais escassos, especialmente no Estado de Goiás, Brasil. Não foram encontrados estudos que avaliassem fatores associados à deficiência de vitamina A ou concentração de retinol sérico em crianças na primeira infância ou em pré-escolares em Goiás. A maioria dos estudos são da região Nordeste e Sudeste (Ramalho *et al.* 2002; Milagres *et al.* 2007), onde a prevalência de deficiência de vitamina A continua elevada, conforme relatado pelo Ministério da Saúde (2009) na Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS).

A prevalência de deficiência de vitamina A do presente estudo foi de 21,8% ($n = 42$). Este resultado indica alta prevalência desta deficiência nas crianças estudadas e resultado semelhante foi encontrado na Paraíba e em São Paulo (Ferraz *et al.* 2000; Gondim *et al.* 2012). Outros estudos que utilizaram o mesmo ponto de corte para deficiência de vitamina A identificaram 39,6% de

deficiência de vitamina A em lactentes da área urbana da cidade de Viçosa, Minas Gerais (Netto *et al.* 2012) e 44,8% em pré-escolares da região semi-árida de Alagoas (Vasconcelos & Ferreira 2009). Os dados desses estudos superam a prevalência estabelecida pela WHO (1996) para caracterizar a situação como grave problema de saúde pública, que é de 20%.

Para a seleção no presente estudo, as crianças passaram por uma entrevista e alguns fatores de risco conhecidos para a deficiência de vitamina A foram considerados como critério de exclusão (ex. baixo peso ao nascer e prematuridade). Diante disso, pode-se considerar que a prevalência de deficiência de vitamina A seja ainda maior nas crianças avaliadas. Independente das medidas de prevenção desta carência nutricional serem reconhecidos, a sua prevalência ainda é alta em várias partes do território nacional, alertando para a necessidade de estratégias para combater esta deficiência nutricional.

Apesar de o consumo alimentar não ter sido analisado neste estudo, este pode ser um fator contribuinte para a alta prevalência da deficiência de vitamina A, visto que crianças, de uma forma geral, consomem pouca quantidade de alimentos ricos em vitamina A (Costa *et al.* 2011; Fernandes *et al.* 2005; Miller *et al.* 2002; Pereira *et al.* 2008) e uma forma de conseguir um aporte adequado desta vitamina seria por meio do consumo de alimentos enriquecidos ou suplementação. Além disso, a baixa condição socioeconômica das crianças estudadas as impõe a condições de vida que as tornam mais susceptíveis à doenças infecciosas que podem comprometer o consumo de alimentos por meio da redução do apetite e pela diminuição da absorção de nutrientes, como a vitamina A (WHO 2009; McLaren & Kraemer 2012).

Os níveis séricos de retinol não diferiram entre os sexos, assim como demonstrado em outros estudos nacionais e em um estudo realizado na Índia e outro na China (Fernandes *et al.* 2005; Paiva *et al.* 2006; Yang *et al.* 2007; Pereira *et al.* 2008; Chen *et al.* 2009; Laxmaiah *et al.* 2011).

Não houve relação entre a concentração de retinol sérico e a idade das crianças estudadas e está de acordo com os resultados encontrados por Ferraz *et al.* (2000). Porém, ao analisar as crianças menores de 18 meses no presente

estudo observou-se correlação negativa entre esta faixa etária e os níveis séricos de retinol, o que pode ser explicado pelo atraso na introdução de alimentos ricos em vitamina A na alimentação dessas crianças. Possivelmente, as crianças a partir de 18 meses, as quais apresentaram correlação positiva com os níveis de retinol, tenham algum benefício proporcionado pela variabilidade na alimentação. A presença de infecção não explica esta relação no presente estudo, visto que não houve associação entre estado inflamatório e idade (dados não apresentados).

O esgotamento sanitário não apresentou associação com os níveis médios de retinol, condizendo com os achados de Oliveira *et al.* (2010). A não identificação de associação entre peso ao nascer, número de consultas pré-natal e durante o 1º trimestre de gestação e o tipo de aleitamento materno (exclusivo, predominante ou atual) foi também descrito em outros estudos (Midyat *et al.*, 2011; Netto *et al.* 2012). É provável que a homogeneidade da amostra estudada tenha dificultado a identificação de associação estatística entre estas variáveis.

Os resultados sobre escolaridade materna são contraditórios. Apesar de já ter sido afirmado que a escolaridade materna influencia nos níveis médios de retinol sérico (Paiva *et al.* 2006), esta associação não foi encontrada no presente estudo, fato também observado por Martins *et al.* (2004), Pereira *et al.* (2008) e Netto *et al.* (2012).

O número de crianças residente em um domicílio pode ser determinante do menor consumo de alimentos que são fontes de vitamina A e constitui-se como um fator de risco para os baixos níveis séricos de retinol (Netto *et al.* 2012). Porém, no presente estudo não se observou correlação entre o número de crianças menores de cinco anos e o retinol sérico da criança participante da pesquisa.

A renda *per capita* não teve correlação com o retinol sérico, concordando com resultados encontrados por Netto *et al.* (2012). As crianças avaliadas neste estudo pertenciam em sua maioria à famílias de baixa renda, o que constitui uma amostra de característica homogênea em relação à esta variável e justifica a falta de relação observada.

Apesar da elevada prevalência de anemia (Hadler *et al.*, 2008) e deficiência de vitamina A nesta população, não se observou associação entre essas carências nutricionais, concordando com resultados encontrados por Ferraz *et al.* (2005). Em contrapartida, Gondim *et al.* (2012) encontrou associação entre anemia e deficiência de vitamina A em crianças de seis a 59 meses do Estado da Paraíba, no qual crianças com menores níveis de retinol apresentaram maior susceptibilidade à anemia.

A média do retinol foi menor na presença de estado inflamatório, representado pelos níveis de PCR. A prevalência de crianças com PCR maior ou igual a 0,5 mg/dL foi 41,4%. Vieira *et al.* (2008) encontraram correlação inversamente significativa entre PCR e níveis de retinol sérico em crianças, concordando com os resultados encontrados no presente estudo.

O retinol sérico pode sofrer redução na presença de infecção, sendo que em população com elevada prevalência de infecção o status de vitamina A não é estimado com precisão. A diminuição de retinol no soro durante a infecção é parte integrante da resposta de fase aguda e nesta fase ocorre maior utilização da vitamina A pelo organismo por meio do aumento do catabolismo e perda urinária deste nutriente, reduzindo assim os seus níveis séricos (Miller *et al.* 2002; Thurnham *et al.* 2003; Tomkins 2003).

Foi observado menor prevalência de DVA entre as crianças com deficiência de ferro sem anemia e entre as que tinham anemia ferropriva. Sabe-se que a concentração de ferritina aumenta em resposta a quadros infecciosos e esta elevação pode permanecer por semanas (Rosa Neto & Carvalho 2009) e que os níveis de ferritina demoram mais a reduzir na presença de quadro infeccioso quando comparado ao PCR (Thurnham & McCabe 2012). Entre as crianças com deficiência de ferro e com anemia ferropriva os níveis de ferritina estão baixos. Desta forma, exclui-se a influência da infecção sobre a vitamina A. Entre as crianças sem deficiência de ferro e sem anemia ferropriva a ferritina ainda pode estar aumentada devido a presença de infecção. Este fato justifica a maior prevalência de DVA entre as crianças que não tem deficiência de ferro e

anemia ferropriva, pois há uma maior possibilidade de terem sido excluídas as crianças com inflamação ou infecção.

A falta de associação entre as variáveis demográficas e socioeconômicas com os níveis de retinol sérico que foram analisados neste estudo leva a acreditar que a alimentação tem grande impacto sobre a deficiência de vitamina A nesta amostra. Ressalta-se a importância do consumo de alimentos fonte de vitamina A pelas crianças na faixa etária abordada, assim como estratégias de prevenção desta carência nutricional, tais como: programas de educação alimentar e nutricional e incentivo à diversificação dos alimentos complementares, implantação de programas de suplementação medicamentosa de vitamina A e fortificação de alimentos para populações em risco de deficiência nutricional (Sommer & Davidson 2002).

As medidas de prevenção devem ser realizadas em conjunto e monitoradas regularmente para que se tenha êxito na prevenção e no controle da deficiência de vitamina A nesta região. A redução e até mesmo a eliminação da DVA como problema de saúde pública é uma estratégia primordial para melhorar a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento de crianças.

Algumas limitações que podem ser citadas foram o fato do delineamento deste estudo ser do tipo transversal, o qual não permite avaliar a relação causa e efeito das variáveis analisadas. Além disto, não foi realizada avaliação do consumo alimentar de vitamina A não sendo possível estabelecer a relação entre dieta e níveis de retinol sérico. A amostra não é representativa do município dificultando a extrapolação destes resultados para toda a população, porém reflete a situação nutricional das crianças matriculadas nos CMEIs de Goiânia.

Conclui-se que a deficiência de vitamina A nas crianças frequentadoras de CMEIs em Goiânia é alta e representa um problema de saúde pública grave. O fator relacionado à esta deficiência foi o estado inflamatório da criança representado pelos níveis séricos de PCR, ajustado pelo esgotamento sanitário, local de moradia e ferritina.

REFERÊNCIAS

- Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A (1991). Simultaneous determination of retinol a-tocopherol and b-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* **572**, 103–116.
- Chen K., Zhang X., Li T., Chen L., Qu P., Liu Y. (2009) Co-assessment of iron, vitamin A and growth status to investigate anemia in preschool children in suburb Chongqing, China. *World Journal of Pediatrics* **5**, 275-281.
- Costa E.M., Silva S.P.O., Lucena J.R.M., Batista Filho M., Lira P.I.C., Ribeiro M.A. *et al.* (2011) Consumo alimentar de crianças em municípios de baixo índice de desenvolvimento humano no Nordeste do Brasil. *Revista de Nutrição* **24**, 395-405.
- Fernandes T.F.S., Diniz A.S., Cabral P.C., Oliveira R.S., Lóla M.M.F., Silva S.M.M. *et al.* (2005) Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. *Revista de Nutrição* **18**, 471-480.
- Ferraz I.S., Daneluzzi J.C., Vannucchi H., Jordão Junior A.A., Ricco R.G., Del Ciampo L.A. *et al* (2005) Prevalência da carência de ferro e sua associação com a deficiência de vitamina A em pré-escolares. *Jornal de Pediatria* **81**, 169-174.
- Ferraz I.S., Daneluzzi J.C., Vannucchi H. (2000) Vitamin A deficiency in children aged 6 to 24 months in São Paulo state, Brazil. *Nutrition Research* **20**, 757-768.
- Graebner I.T., Saito C.H., Souza E.M.T. (2007) Avaliação bioquímica de vitamina A em escolares de uma comunidade rural. *Jornal de Pediatria* **83**, 247-252.
- Gondim S.S.R., Diniz A.S., Cagliari M.P., Araujo E.S., Queiroz D. Paiva A.A. (2012) Relação entre os níveis de hemoglobina, concentração de retinol sérico e estado nutricional em crianças de 06 a 59 meses do Estado da Paraíba. *Revista de Nutrição* **25**, 441-449.
- Hadler M.C.C.M., Sigulem D.M., Alves M.F.C., Torres V.M. (2008) Treatment and prevention of anemia with ferrous sulfate plus folic acid in children attending daycare centers in Goiânia, Goiás State, Brazil: a randomized controlled trial. *Cadernos de Saúde Pública* **24**, S259-S271.
- Jiang J.X., Lin L.M., Lian G.L., Greiner T. (2008) Vitamin A deficiency and child feeding in Beijing and Cuizhou, China. *World Journal of Pediatrics* **4**, 20-25.
- Laxmaiah A., Nair M.K., Arlappa N., Raghu P., Balakrishna N., Rao K.M. *et al.* (2011) Prevalence of ocular signs and subclinical vitamin A deficiency and its determinants among rural pre-school children in India. *Public Health Nutrition* **15**, 568-577.

Martins M.C., Santos L.M.P., Assis A.M.O. (2004) Prevalência da hipovitaminose A em pré-escolares no Estado de Sergipe, 1998. *Revista de Saúde Pública* **38**, 537-542.

Martins T.M., Ferraz I.S., Daneluzzi J.C., Martinelli C.E., Del Ciampo L.A., Ricco R.G. et al. (2010) Impact of maternal vitamin A supplementation on the mother-infant pair in Brazil. *European Journal of Clinical Nutrition* **64**, 1302-1307.

Mclaren DS, Kraemer K (2012) *Manual on vitamin A deficiency disorders (VADD)*. Switzerland: Sight and Life.

Midyat L, Kurugol N.Z., Aksit S., Tanriverdi M., Yagci R.V. (2011) Dietary vitamin A intake and serum retinol concentrations of preschool children from different socio-economical levels in Izmir, Turkey. *Acta Paediatrica* **100**, 24-27.

Miller M, Humphrey J, Johnson E, Marinda E, Brookmeyer R, Katz J. (2002) Why do children become vitamin A deficient? *The Journal of Nutrition* **132**, S2867-2880.

Ministério da Saúde (2009). *Pesquisa Nacional de demografia e saúde da criança e da mulher PNDS 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança*. Brasília, DF: Ministério da Saúde.

Netto M.P., Priore S.E., Sant'ana H.M.P., Peluzio M.C.G., Sabarense C.M., Franceschini S.C.C. (2012) Fatores associados à concentração de retinol sérico em lactentes. *Revista Paulista de Pediatria* **30**, 27-34.

Oliveira J.S., Lira P.I.C., Osório M.M., Sequeira L.A.S., Costa E.C., Gonçalves F.C.L.S.P., Filho M.B. (2010) Anemia, hipovitaminose A e insegurança alimentar em crianças de municípios de Baixo Índice de Desenvolvimento Humano do Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia* **13**, 651-664.

Paiva A.A, Rondó P.H.C., Gonçalves-Carvalho C.M.R., Illison V.K., Pereira J.A., Vaz de Lima L.R.A. et al. (2006) Prevalência de deficiência de vitamina A e fatores associados em pré-escolares de Teresina, Piauí, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* **22**, 1979-1987.

Pereira J.A., Paiva A.A., Bergamaschi D.P., Rondó P.H.C., Oliveira G.C., Lopes I.B.M. et al. (2008) Concentração de retinol e de beta-caroteno séricos e perfil nutricional de crianças em Teresina, Piauí, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia* **11**, 287-296.

Rosa Neto N.S.R., Carvalho J.F. (2009) O uso de provas de atividade inflamatória em reumatologia. *Revista Brasileira de Reumatologia* **49**, 413-430.

Sachdeva S. & Datta U. (2009) Vitamin A first dose supplements coverage evaluation amongst children aged 12-23 residing in slums of Delphi, India. *Indian Journal of Ophthalmology* **57**, 299-303.

Sommer A. & Davidson F.R. (2002) Assessment and control of vitamin A deficiency: the Anecy Accords. *The Journal of Nutrition* **132**, 2845S-2850S.

Strobel M., Heinrich F., Biesalski H.K. (2000). Improved method for rapid determination of vitamin A in small samples of breast milk by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **898**, 179–183.

Thurnham D.I., McCabe G.P. (2012) Influence of infection and inflammation on biomarkers of nutritional status with an emphasis on vitamin A and iron. In: *Report: Priorities in the assessment of vitamin A and iron status in populations*, pp. 63-80. World Health Organization: Geneva.

Thurnham D.I., McCabe G.P., Northrop-Clewes C.A., Nestel P. (2003) Effects of subclinical infection on plasma retinol concentrations and assessment of prevalence of vitamin A deficiency: meta-analysis. *Lancet* **362**, 2052-2058.

Tomkins A. (2003) Assessing micronutrient status in the presence of inflammation. *The Journal of Nutrition* **133**, 1649S-1655S.

Vasconcelos A.M.A. & Ferreira H.S. (2009) Prevalência de hipovitaminose A em crianças da região semi-árida de Alagoas (Brasil), 2007. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* **59**, 152-158.

Vieira M.M., Paik J., Blaner W.S., Soares A.M., Mota R.M.S., Guerrant, R.L. et al. (2008) Carotenoids, retinol, and intestinal barrier function in children from Northeastern Brazil. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **47**, 652-659.

West KP (2002). Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *The Journal of Nutrition* **132**, 2857S-2866S.

World Health Organization (1996). *Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes*. (Micronutrient Series,10). WHO: Geneva.

World Health Organization (1998). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation*. World Health Organization: Bangkok, Thailand.

World Health Organization (2001). *Iron deficiency anaemia assessment, prevention and control: a guide for programme managers*. WHO: Geneva.

World Health Organization (2009). *Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency*. World Health Organization: Geneva.

Yang R., Li R., Mao S., Sun L., Huang X., Ji C. et al. (2007) The survey of serum retinol of the children aged 0-4 years in Zhejiang Province, China. *BioMed Central Public Health* **7**, 264-270.

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica e econômica de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005. n=193

| Variável | Categoria | n | % |
|--|------------------|----------|----------|
| Sexo | Masculino | 101 | 52,3 |
| | Feminino | 92 | 47,7 |
| Idade (meses) | <18 | 136 | 70,5 |
| | ≥18 | 57 | 29,5 |
| Escolaridade materna (anos completos) | 0-4 | 32 | 16,6 |
| | 5-8 | 85 | 44,0 |
| | ≥9 | 76 | 39,4 |
| Casa própria | Sim | 88 | 45,6 |
| | Não | 105 | 54,4 |
| Renda <i>per capita</i> (salários mínimos)* | <0,5 | 102 | 53,1 |
| | 0,5-1,0 | 65 | 33,8 |
| | ≥1,0 | 25 | 13,1 |
| Número de crianças menor que cinco anos | 1 | 102 | 52,9 |
| | 2 | 78 | 40,4 |
| | ≥3 | 13 | 6,7 |
| Água tratada | Sim | 175 | 90,7 |
| | Não | 18 | 9,3 |
| Esgotamento sanitário | Esgoto | 115 | 59,6 |
| | Fossa séptica | 78 | 40,4 |

*n=192 e 01 dado faltante pois um pai ou responsável não relatou a renda per capita.

Tabela 2. Concentração média e desvio padrão de retinol sérico segundo fatores socioeconômicos e ambientais de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005.

| Variável | n | Média ± DP | p |
|--|----------|-------------------|----------|
| Sexo | | | 0,942 |
| Masculino | 101 | 1,01 ± 0,38 | |
| Feminino | 92 | 1,01 ± 0,38 | |
| Idade (meses) | | | 0,741 |
| <18 | 136 | 1,00 ± 0,39 | |
| ≥18 | 57 | 1,02 ± 0,35 | |
| Esgotamento sanitário | | | 0,168* |
| Esgoto | 115 | 0,98 ± 0,37 | |
| Fossa séptica | 78 | 1,05 ± 0,39 | |
| Local de moradia | | | 0,131* |
| Própria | 88 | 0,96 ± 0,35 | |
| Alugada, financiada ou invasão | 105 | 1,04 ± 0,40 | |
| Tipo de água consumida | | | 0,857 |
| Água tratada | 175 | 1,01 ± 0,38 | |
| Cisterna | 18 | 0,99 ± 0,34 | |
| Número de consultas pré-natal[†] | | | 0,199* |
| ≥ 6 consultas | 140 | 0,99 ± 0,37 | |
| < 6 consultas | 43 | 1,08 ± 0,38 | |
| Consulta no primeiro trimestre[†] | | | 0,651 |
| Sim | 141 | 1,00 ± 0,39 | |
| Não | 47 | 1,03 ± 0,36 | |
| Aleitamento materno predominante (dias)[†] | | | 0,221 |
| ≥ 120 | 78 | 1,05 ± 0,41 | |
| < 120 | 113 | 0,98 ± 0,35 | |
| Aleitamento materno atual[†] | | | 0,975 |
| Sim | 58 | 1,01 ± 0,40 | |
| Não | 134 | 1,01 ± 0,37 | |
| Anemia | | | 0,704 |
| Não | 85 | 1,02 ± 0,38 | |
| Sim | 108 | 1,00 ± 0,38 | |

Continuação da Tabela 2. Concentração média e desvio padrão de retinol sérico segundo fatores socioeconômicos e ambientais de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005.

| Variável | n | Média ± DP | P |
|--|-----|-------------|--------|
| Estado inflamatório[†] | | | 0,064* |
| Não | 109 | 1,05 ± 0,36 | |
| Sim | 77 | 0,95 ± 0,41 | |
| Ferritina (ng/mL)[†] | | | 0,711 |
| ≥ 30 | 22 | 0,98 ± 0,34 | |
| < 30 | 159 | 1,01 ± 0,38 | |

Teste t de *Student* ; DP = desvio padrão *variáveis selecionadas para o modelo

† Excluídas as crianças sem resposta para: número de consultas pré-natal (n=10), consulta no primeiro trimestre (n=5), aleitamento materno predominante (n=2), aleitamento materno atual (n=1), estado inflamatório (n=7), ferritina (n=12)

Tabela 3. Coeficiente de correlação do retinol sérico com variáveis de crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005.

| Variável | n | r | P |
|---|-----|--------|---------------------|
| Escolaridade da mãe (anos) | 193 | -0,022 | 0,379 [*] |
| Peso ao nascer (gramas) | 191 | -0,004 | 0,960 [†] |
| Número de crianças menor de cinco anos | 193 | -0,013 | 0,428 [*] |
| Renda per capita [§] | 192 | 0,070 | 0,331 [*] |
| Aleitamento materno exclusivo (dias) [§] | 191 | 0,067 | 0,354 [*] |
| Níveis de hemoglobina (g/dL) | 193 | 0,053 | 0,468 [†] |
| Níveis de ferritina (ng/mL) [§] | 181 | 0,072 | 0,168 ^{*‡} |
| Níveis de PCR (mg/dL) [§] | 186 | -0,107 | 0,073 [*] |
| Idade da criança (meses) | 193 | -0,004 | 0,960 [†] |
| Idade <18 (meses) | 136 | -0,087 | 0,157 ^{*‡} |
| Idade ≥ 18 (meses) | 57 | 0,287 | 0,015 ^{*‡} |

* correlação de Spearman † correlação de Pearson ‡ variáveis selecionadas para o modelo

§ Excluídas as crianças sem resposta para: peso ao nascer (n=2); renda *per capita* (n=1), aleitamento materno exclusivo (n=2), níveis de ferritina (n=12); níveis de PCR (n=7)

Tabela 4. Fatores associados à deficiência de vitamina A em crianças assistidas pelos CMEIs de acordo com parâmetros laboratoriais. Goiânia, 2005.

| Variáveis | n | Deficiência de Vitamina A* | | | | p |
|---|-----|----------------------------|-------|-----|-------|--------------------|
| | | Sim | | Não | | |
| | | n | % | n | % | |
| Anemia[§] | | | | | | 0,380 [†] |
| Sim | 108 | 26 | 24,07 | 82 | 75,93 | |
| Não | 85 | 16 | 18,82 | 69 | 81,18 | |
| Deficiência de ferro sem anemia | | | | | | 0,005 [‡] |
| Sim | 29 | 1 | 3,45 | 28 | 96,55 | |
| Não | 20 | 7 | 35,00 | 13 | 65,00 | |
| Ferritina (ng/mL) | | | | | | 0,886 [†] |
| ≥ 30 | 22 | 5 | 22,73 | 17 | 77,27 | |
| < 30 | 159 | 34 | 21,38 | 125 | 78,62 | |
| Anemia ferropriva[¶] | | | | | | 0,044 [†] |
| Sim | 45 | 6 | 13,33 | 39 | 86,67 | |
| Não | 20 | 7 | 35,00 | 13 | 65,00 | |

* deficiência de vitamina A: retinol <0.7 µmol/L; sem deficiência retinol ≥ 0.7 µmol/L

[†]Qui-quadrado de Pearson [‡]Teste exato de Fisher

[§]crianças com anemia: hemoglobina < 11 g/dL; sem anemia hemoglobina ≥ 11 g/dL

^{||}deficiência de ferro sem anemia: ferritina <12 ng/mL e PCR <0.5 mg/dL e hemoglobina ≥ 11 g/dL; sem deficiência de ferro ferritina ≥ 12 ng/mL e hemoglobina ≥ 11 g/dL e PCR <0.5 mg/dL. Excluídas: 25 crianças com PCR aumentado e 11 crianças que não tinham soro suficiente para análise de PCR e/ou ferritina

[¶]anemia ferropriva: (Sim) hemoglobina <11 g/dL e ferritina <12 ng/mL e PCR <0.5 mg/dL; (Não) hemoglobina ≥11 g/dL e ferritina ≥ 12 ng/mL e PCR <0.5 mg/dL. Excluídas: 49 crianças com PCR aumentado, oito crianças com anemia sem deficiência de ferro e seis crianças que não tinham soro suficiente para análise de PCR e/ou ferritina

Tabela 5. Análise de regressão linear múltipla dos efeitos das variáveis relacionadas a parâmetros hematológicos e bioquímicos sobre a prevalência de deficiência de vitamina A em crianças assistidas pelos CMEIs. Goiânia, 2005.

| Variáveis | β | Erro padrão | p |
|------------------------------------|---------|-------------|--------|
| Modelo 1* | | | |
| Esgotamento sanitário [†] | 0,083 | 0,059 | 0,162 |
| Local de moradia [‡] | 0,068 | 0,058 | 0,241 |
| PCR [§] | -0,133 | 0,062 | 0,034 |
| Log da Ferritina | 0,107 | 0,064 | 0,095 |
| Constante | 0,899 | 0,072 | <0,001 |
| Modelo 2* | | | |
| Esgotamento sanitário | 0,098 | 0,057 | 0,089 |
| Local de moradia | 0,096 | 0,056 | 0,092 |
| PCR [§] | -0,115 | 0,056 | 0,043 |
| Constante | 0,966 | 0,054 | <0,001 |

*r² e r²-ajustado do modelo 1: 0,213 e 0,023; r² e r²-ajustado do modelo 2: 0,044 e 0,029

β : coeficiente de regressão

[†]variável categórica (0=esgoto e 1=fossa séptica)

[‡]variável categórica (0=casa própria e 1=alugada, financiada ou invasão)

[§]variável categórica (0=ausência de processo inflamatório e 1=presença de processo inflamatório)

Conflito de interesses: os autores declaram que não há conflito de interesse

Fonte de financiamento: DECIT/SCTIE/Ministério da Saúde e Fundo Setorial de Saúde por intermédio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo Edital CT-Saúde/MCT/MS/CNPq 30/2004, Processo 506193/2004-7 e Edital MCT/CNPq nº 06/08 Jovens Pesquisadores - Faixa A, processo 571342/2008-6

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo financiamento do projeto e a todos os pais ou responsáveis que concordaram em participar da pesquisa.

Contribuições: LMC Lobo participou da análise de dados e elaboração do manuscrito. AA Jordão Junior realizou a análise do retinol e revisão do manuscrito. MCCM Hadler coordenou o projeto, participou da análise de dados e elaboração do manuscrito.

CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A prevalência de deficiência de vitamina A nas crianças avaliadas foi de 21,8% e evidencia a DVA como um importante problema de saúde pública nas crianças atendidas nos CMEIs de Goiânia, assim como ocorre em outras regiões do Brasil e no mundo. A alta prevalência apresentada predispõe as crianças a maiores índices de morbidade e mortalidade infantil.

- Os indicadores socioeconômicos, ambientais, as características da mãe e da criança não apresentaram associação com os níveis de retinol sérico e reforçam a hipótese que a alimentação tem grande impacto sobre a deficiência de vitamina A nesta amostra.

- A constatação de que a deficiência de vitamina A foi associada aos níveis de PCR reforçam a importância da investigação desta deficiência em crianças com risco de processo inflamatório ou infeccioso. Os níveis de hemoglobina e ferritina não apresentaram associação com os níveis de retinol sérico.

- Os resultados sugerem a necessidade de planejamento, avaliação e implementação de políticas de saúde no país direcionadas a combater a DVA na população infantil. Estudos que avaliem a deficiência de vitamina A na população infantil devem ser realizados, pois servem como importante fonte de informação e vigilância para os gestores em saúde.

- As intervenções nutricionais também devem ser implementadas com vistas ao reconhecimento pela população da importância do consumo de alimentos fonte de vitamina A. A suplementação, fortificação e diversificação alimentar é de extrema relevância para o aumento do consumo da vitamina A.

- Ressalta-se que os dados parciais do Projeto “Avaliação da vitamina A sérica e associação com anemia em crianças de seis a 24 meses de creches municipais de Goiânia-GO”, financiado no Edital n. 06/2008 do CNPq, que forneceu o banco de dados para este estudo forneceram subsídios para gestores e profissionais de saúde da Secretaria Municipal de Saúde na decisão em iniciar

a suplementação com megadoses de vitamina A em crianças menores de cinco anos de idade na cidade de Goiânia.

ANEXOS

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
HOSPITAL DAS CLÍNICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA MÉDICA HUMANA E ANIMAL

PROTOCOLO CEPMHA/HC/UFMG Nº 098/04 **Goiânia, 10/12/2004**

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): Prof. Maria Claret Costa Monteiro

TÍTULO: "Anemia Nutricional: Suplementação como medida de prevenção e tratamento na primeira infância"

Área Temática: Grupo III
Patrocinador:
Número do Estudo do Patrocinador:
Data da versão do Estudo:
Data da Versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:
Local de Realização: Secretaria Municipal de Educação de Goiânia

Informamos que após análise das pendências solicitadas, o Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal aprovou o projeto de Pesquisa acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

→ Não há necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.

→ O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPMHA/HC/UFMG, relatórios trimestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).

Prof. Joffre Rezende Filho
Coordenador do CEPMHA/HC/UFMG

P. AVENIDA, S/Nº, SETOR LESTE UNIVERSITÁRIO - CEP: 74.605-050 - FONE: 261 3906 - FAX: 261 29 91

DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS E FAMILIARES

| RESPONSÁVEIS | RENDA |
|--------------|-------|
| Pai | |
| Mãe | |

Outras rendas: _____

18. Renda bruta: _____, 00 18 |____|____|____|____| RENDBR
19. Quantas pessoas residem na casa? : ____ 19 |____| NMEMBR
20. Renda per capita: _____, 00 20 |____|____|____| RENPER
* Salário mínimo vigente : R\$ 260,00
21. Número de crianças menores de 5 anos _____ 21 |____| MENOR

ESCOLARIDADE (SÉRIE COMPLETA)

ANALFABETO = 0 ESCREVE SÓ O NOME = 0,5 NÃO SABE = 99,9

22. Até que série a Srª () ou responsável () pela criança completou: ____ , ____ 22 |____|____|, |____| ESCMAE
23. Quem é o chefe da família?
() 1. Mãe da criança () 2. Pai da criança () 3. Avô
() 4. Avó () 5. Tia () 6. Outro _____ 23 |____| CHEFE
24. Até que série o chefe da família completou? ____ , ____ 24 |____|____|, |____| ESCCHF

SITUAÇÃO HABITACIONAL

25. Tipo de Moradia:

A casa que você reside é:

- () 1. Própria ou cedida () 2. Alugada ou financiada () 3. Invasão 25 |____| MORAD

26. Condições de saneamento:

A água da sua casa é:

- A) () 1. Água Tratada () 2. Cisterna 26A |____| AGUA

Tem esgoto ou fossa?

- B) () 1. Esgoto () 2. Fossa Séptica ou Negra 26B |____| ESGOT

27. Disponibilidade de alimentos

- A) Tem horta caseira? () 1. Não 27A |____| HORTA
() 2. Sim



Quais alimentos mais consumidos da horta? _____ 27A |____|____| QHOR1
_____ 27A |____|____| QHOR2

B) Cria algum animal comestível ?

- () 1. Não 27B |____| CRIA
() 2. Sim

- Quais animais?
 1. Galinhas 2. Porcos 3. Galinhas e porcos 27B |___| QCRI
 4. Outros _____
- C) Você recebe cesta de alimentos do governo?
 1. Não 27C |___| CESTA
 2. Sim. Qual? _____

ANEMIA

28. Seu filho fez o teste do pezinho?
 1. Sim 2. Não 28 |___| PÉ
29. Trouxe o resultado do teste do pezinho do Laboratório da APAE de Anápolis?
 1. Sim 2. Não 29 |___| APAE
- ↓
- A) Caso sim, qual foi o resultado da HbS, HbC, HbD e HbE?
 1. Normal 2. Anormal 29A |___| APAE2
- B) Teve outra alteração?
 ↓
 1. Sim 2. Não 29B |___| APAE3
 Qual? _____

Caso não tenha levado o resultado do teste do pezinho perguntar se:

- 29C. O resultado deu alguma alteração?
 _____ → Qual? _____ 29C |___| APAE4
 1. Sim
 2. Não
 3. Não sabe
30. Seu filho já teve anemia?
 1. Sim 2. Não 3. Não sabe 30 |___| ANEM

*** CASO SIM,** (responda as questões 31 e 32)

31. Qual a idade ele tinha na época? _____ meses 31 |___| IDADE
32. Como tratou ou está tratando ?
 1. Remédio. Qual? _____ Quanto tempo? _____ 32 |___| TRAT
 2. Alimentos Quais? _____
 3. Outra forma _____
33. Seu filho já tomou ou está tomando algum remédio que conste nesta lista? (Lista de medicamentos que contém ferro).
 1. Sim Caso sim: A Tomou B Está tomando 33 |___| FERR 1
 2. Não 33 |___| FERR 2
34. Doenças atuais:
 1. Verminose 5. Diarréia nos últimos 15 dias
 2. Resfriado ou gripe 6. Febre na última semana
 3. Doença crônica Motivos? 6.1 Vacina _____

() 4. Alergia
 6.2 () Outro _____
 7. () Outras _____
 8. () Nenhuma

34 |__|__|__| DOEN

34 A Seu filho está tomando algum remédio atualmente?

1. () Sim Caso sim, qual (is) ? _____
 2. () Não

34A |__| MEDIC

35. Esquema de vacina correto para a idade (olhar no cartão da criança)

Completo ()

Incompleto ()

-
- () BCG (ao nascer)
 - () Tetravalente (difteria, tétano, coqueluche e gripe - 2º, 4º, 6º e 15º mês)
 - () Anti-pólio (2º, 4º, 6º e 15º mês)
 - () Hepatite B (zero, 1º e 6º mês)
 - () Febre amarela (9º mês)
 - () SRC - Tríplíce viral - sarampo, rubéola, caxumba - 12º mês).

Última vacina : _____ Data: _____

PRÉ- NATAL

36 A Assistência pré-natal: 1. () Sim 2. () Não

36 |__| NATAL

36 B Caso sim, fez consulta no 1º trimestre de gestação 3. () Sim 4. () Não

36 A |__| TRIM

36 C Nº de consultas no total do pré-natal : _____

36 C |__|__| CONS

37. Aleitamento materno e alimentação complementar:

- Você amamentou seu filho ? 1. () Sim 2. () Não

37 |__| MATER

- **CASO SIM:**

37 A - Só o leite materno (sem dar água e/ou chá) foi dado até _____ dias

37 A |__|__|__| MAT1

37 B - Leite materno com água e/ou chá, até _____ dias

37 B |__|__|__| MAT2

37 C - Leite materno (com água e/ou chá e/ou suco), até _____ dias

37 C |__|__|__| MAT3

37 D - Ainda está amamentando ? 1. () Sim 2. () Não

37 D |__| MAT4

37 E - **CASO NÃO**, o leite materno (com outros alimentos) foi dado até ___ dias 37E |__|__|__| MAT5

38. Quais os alimentos introduzidos e quando (dias)

| ALIMENTOS | 0 - 15d | 15 - 1m | 1 - 2m | 2 - 3m | 3 - 4m | 4 -5m | 5 - 6m | 6m ou + | não introd |
|--|---------|---------|--------|--------|--------|-------|--------|---------|------------|
| ÁGUA | | | | | | | | | |
| CHÁ | | | | | | | | | |
| MAMADEIRA | | | | | | | | | |
| LEITE FLUIDO DILUÍDO | | | | | | | | | |
| LEITE FLUIDO INTEGRAL | | | | | | | | | |
| LEITE FORMULADO | | | | | | | | | |
| OUTROS LEITES | | | | | | | | | |
| FARINHA ENRIQUECIDA (NESTON, MUCILON -----) | | | | | | | | | |
| SUCO | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | |
| PAPA DE FRUTA | | | | | | | | | |
| SOPINHA | | | | | | | | | |
| COMIDINHA | | | | | | | | | |
| CARNE OU FRANGO | | | | | | | | | |
| CALDO DE FEIJÃO OU FEIJÃO AMASSADO | | | | | | | | | |
| FÍGADO | | | | | | | | | |

39. Carne ou frango

A) Você já introduziu carne ou frango na alimentação de seu filho?

1. () Sim 2. () Não

39 A |__| CARNE

B) Caso **sim**:

Carne de frango: 1. () a sua criança chupa ou mastiga e joga a carne fora 2. () mastiga e engole

Carne de vaca: 3. () a sua criança chupa ou mastiga e joga a carne fora 4. () mastiga e engole

39 B |__| |__| INGER

C) Caso **não** introduziu carne ou frango, qual o motivo ? _____

40. Chá

Dá chá atualmente ? 1. () Sim 2. () Não

40 |__| CHA

Caso sim,

A) Tipo de chá _____

40 A |__| |__| |__| TIPO

B) Frequência _____

40 B |__| |__| |__| FREQ

C) Quantidade de chá ingerido _____

40 C |__| |__| |__| QUANT

D) Horário que dá o chá:

1. () Intervalo das refeições

4. () Próximo ao leite materno

40 D |__| HORA

2. () Logo após as principais refeições

5. () Próximo a mamadeira

3. () Outros _____

41. Costuma dar sucos naturais ou frutas às refeições nos finais de semana?

1. () Sim

Caso sim, frequência? _____

2. () Não

Quais frutas ? _____

41 |__| SUCO

42. Quais os tipos de leite introduzidos :

1. () Fluido diluído

5. () Leite integral em pó

2. () Fluido integral

42 A 6. Formulado () 1. Nestogeno 1 2. () Nestogeno 2 3. () Nestogeno Soy

3. () Leite de fazenda

4. () Nan 1 5. () Nan 2 6. () Nestogeno Plus 7. () Outro _____

4. () Não introduziu

42 |__| |__| |__| |__| LEITE

42 A |__| |__| |__| FORM

43. Caso utilizou o leite formulado, por quanto tempo (dias) ? _____ 43 |__| |__| |__| TEMPO

44. Por quantos dias costumava durar 1 (uma) lata deste leite formulado? _____ 44 |__| |__| DIAS

45. Feijão: caso o lactente consuma em casa, responda:

A) Forma de preparo que é dado em casa:

1. () Caldo ralo 4. () Feijão amassado ou liquidificado
2. () Caldo grosso 5. () Feijão amassado ou liquidificado e peneirado
3. () Feijão inteiro

45 A |__| FEIJ

B) Com que idade (meses) se deve dar feijão inteiro ? _____ 45 B |__|__|MES
Por quê? _____

C) Você coloca o feijão de molho antes de cozinhá-lo ?

1. () Sim Por quanto tempo ? _____

45 C |__| REM

2. () Não

(Caso sim ou não) por quê ? _____

D) Caso você deixe o feijão de molho, você aproveita esta água que o feijão ficou ?

1. () Sim 2. () Não

45 D |__| AGUA

Por quê? _____

E) Você costuma oferecer café da manhã ou mamadeira pela manhã (1) e/ou jantar (2) e/ou mamadeira à noite (3) para a sua criança durante a semana? Caso não ofereça colocar (0).

45 E |__|__|__| REFEI

46. SEMI-QUANTITATIVO DA FREQUÊNCIA ALIMENTAR COM AS MÃES (alimentação fora do CMEI e fim de semana).

| ALIMENTO | DIARIAMENTE N ° vezes dia /qtde | 4 A 6 X SEMANA N ° vezes dia /qtde | 2 A 3 X SEMANA N ° vezes dia /qtde | 1 X SEMANA Qtde | QUINZ. Qtde | MENSAL -MENTE Qtde | NUNCA/ RARO |
|----------------------------------|---------------------------------------|---|---|-----------------------|----------------|--------------------------|----------------|
| LEITE MATERNO | | | | | | | |
| LEITE FLUIDO | | | | | | | |
| LEITE INT. EM PÓ ----- | | | | | | | |
| LEITE FORMULADO ----- | | | | | | | |
| CARNE DE VACA | | | | | | | |
| CARNE DE FRANGO | | | | | | | |
| FÍGADO | | | | | | | |
| CALDO DE CARNE | | | | | | | |
| OUTRAS CARNES | | | | | | | |
| CALDO DE FEIJÃO | | | | | | | |
| FEIJÃO | | | | | | | |
| BANANA | | | | | | | |
| LARANJA | | | | | | | |
| MAÇÃ | | | | | | | |
| LIMÃO | | | | | | | |
| MAMÃO | | | | | | | |
| OUTROS | | | | | | | |
| ABÓBORA | | | | | | | |
| ABOBRINHA | | | | | | | |
| BATATA INGLESA | | | | | | | |
| BETERRABA | | | | | | | |
| CHUCHU | | | | | | | |
| CENOURA | | | | | | | |
| COUVE | | | | | | | |
| ESPINAFRE | | | | | | | |
| FOLHOSOS | | | | | | | |
| TOMATE | | | | | | | |
| OUTROS | | | | | | | |
| MAISENA | | | | | | | |
| NESTON | | | | | | | |
| MUCILON | | | | | | | |
| AVEIA | | | | | | | |
| FARINHA LÁCTEA | | | | | | | |
| CERELAC | | | | | | | |
| FUBÁ DE MILHO | | | | | | | |
| FARINHA DE MANDIOCA | | | | | | | |
| BISCOITOS | | | | | | | |
| SUCO EM PÓ | | | | | | | |
| SUCOS DE FRUTA | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

* **negrito** - semi-quantitativo
normal - apenas o quantitativo

47. Horário de término da entrevista: ____ ____ / h e ____ ____ min

47 | ____ | ____ | ____ | ____ | HORAFIN

Entrevistador (a)

2ª ENTREVISTA

1. Nº de ordem: ___ ___

1 |___|___|___| NORD

2. Após o primeiro exame de sangue anotar se a criança está () 1. Anêmica () 2. Não anêmica

2 |___| GRUPO

IDENTIFICAÇÃO DA CRIANÇA E RESPONSÁVEL

3. Data da entrevista: ___/___/___

3 |___|___|___|___|___|___| DENT

4. Horário de início da entrevista: ___ h ___ min

4 |___|___|___|___| HORAIN

5. Nome do CMEI: _____

5 |___|___| CMEINUM

Nome da criança: _____

6. AVALIAÇÃO

| 1.DATA | 2. PESO | 3.ALTURA | 4. TEMPERATURA |
|--------|---------|----------|----------------|
| | | | |

6 A. DOENÇAS ATUAIS

1. () Resfriado ou gripe

3. () Diarréia nos últimos 15 dias

2. () Febre na última semana

4. () Outras _____

Motivo ? () Vacina

() Não tem _____

() Outro

6A |___| DOENC

B. Esteve internado nos últimos 15 dias ?

1. () Sim Motivo ? _____

2. () Não

6B |___| HOSP

C. Sua criança está tomando antibiótico, sulfato ferroso, vitaminas ou outro remédio atualmente ?

1. () Sim Qual (is) ? _____

2. () Não

6C |___| REME

D. Apgar: _____

6D |___| APGAR

7. Esquema de vacina correto para a idade (olhar no cartão da criança)

Completo ()

Incompleto ()



() BCG (ao nascer)

() Tetravalente (difteria, tétano, coqueluche e gripe - 2º, 4º, 6º e 15º mês)

() Anti-pólio (2º, 4º, 6º e 15º mês)

() Hepatite B (zero, 1º e 6º mês)

() Febre amarela (9º mês)

() SRC - Tríplice viral - sarampo, rubéola, caxumba - 12º mês).

Última vacina : _____ Data: _____

8. EXAMES LABORATORIAIS

8.1 - Sangue

DATA:

| | VALORES |
|---|---------|
| Nº ERITRÓCITOS (Milhões por \square l) | |
| Hb (g/dl) | |
| HEMATÓCRITO (%) | |
| V C M (fl) | |
| HCM (pg) | |
| RDW (%) | |
| MORFOLOGIA | |
| LEUCÓCITOS (\square l) | |
| NEUTRÓFILOS (%) | |
| BASTONETES (%) | |
| SEGMENTADOS (%) | |
| LINFÓCITOS (%) | |
| EOSINÓFILOS (%) | |
| PLAQUETAS (\square l) | |
| FERRITINA (ng/ml) | |
| FERRO SÉRICO (ng/dl) | |
| TRANSFERRINA | |
| CAPACIDADE DE LIGAÇÃO DO FERRO | |
| SATURAÇÃO DA TRANSFERRINA (%) - INDIRETO | |
| RECEPTOR DE TRANSFERRINA | |
| PROTEÍNA C REATIVA (mg/l) | |
| FOLATO SÉRICO (ng/mL) | |
| VITAMINA B12 (pg/mL) | |
| SANGUE OCULTO NAS FEZES | |

Entrevistador (a)

47. Horário de término da entrevista: ____ ____ / h e ____ ____ min
HORAFIN

47 | ____ | ____ | ____ | ____ |

Entrevistador (a)

Anexo C – Normas e instrução aos autores para publicação no periódico *Maternal and Child Nutrition*

Author Guidelines

1. GENERAL

The high profile of maternal and child nutrition has highlighted the need for a focused, well-respected and dedicated forum for the presentation of original research findings in this field. *Maternal & Child Nutrition* keeps the audience fully informed about new initiatives, the latest research findings and innovative ways of responding to changes in public attitudes. Drawing from global sources, the Journal provides an invaluable source of up-to-date information for health professionals, academics and service users with interests in maternal and infant nutrition.

The scope of *Maternal & Child Nutrition* includes pre-conceptual nutrition, antenatal and postnatal maternal nutrition, women's nutrition throughout their reproductive years, and fetal, neonatal, infant and child nutrition, up to and including adolescence. Topics covered include:

- Nutritional needs of mothers and their children in health and disease
- Physiological, sociocultural, psychological, economic and political aspects of nutrition
- Health improvement
- Health education
- Health policy and assessment in practice
- Inter-agency initiatives
- Food safety and related environmental and regulatory issues
- Nutritional risk assessment
- Evaluation of interventions aimed at improving health
- The role of nutrition in both healthy and vulnerable groups
- Development of research methods, validation of measures

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication

in *Maternal & Child Nutrition*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell's Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Maternal & Child Nutrition adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authorship: Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript has been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship and, except in the case of complex large-scale or multi-centre research, the number of authors should not exceed six.

Maternal & Child Nutrition adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on

1. substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data,
2. drafting the article or revising it critically for important intellectual content and
3. final approval of the version to be published.

Authors should meet conditions 1, 2 and 3. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under Acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

2.2. Ethical Approvals

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee, institutional council or review board approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material ([http://www.consort-statement.org/mod_product/uploads/CONSORT 2001 checklist.doc](http://www.consort-statement.org/mod_product/uploads/CONSORT_2001_checklist.doc)).

Manuscripts reporting results from a clinical trial must provide the registration number and name of the clinical trial. Clinical trials can be registered in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, clinicaltrials-dev.ifpma.org, isrctn.org. The clinical trial registration number and name of the trial register will be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest, Source of Funding and Contributions

Conflict of Interest: Authors are required to disclose any possible conflict of interest. These include financial (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee).

Source of Funding: Authors are required to specify the source of funding for their research when submitting a paper. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. The information will be disclosed in the published article.

Maternal & Child Nutrition requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. As of 1 March 2007, this information will be a requirement for all manuscripts submitted to the Journal and will be published in a highlighted box on the title page of the article. Please include this information under the separate headings of 'Source of Funding' and 'Conflict of Interest' at the end of your manuscript.

If the author does not include a conflict of interest statement in the manuscript then the following statement will be included by default: 'The authors declare that they have no conflicts of interest'

Contributions: Authors are required to specify their role in the conceptualizing and designing and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper.

2.5 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.6 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to

obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign full copyright to Wiley-Blackwell if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes, in electronic databases and the like, or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Correspondence to the journal is accepted on the understanding that the contributing author assigns full copyright to the publisher to publish the letter as part of the journal or separately from it, in the exercise of any subsidiary rights relating to the journal and its contents.

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the full copyright to publish their paper to Wiley-Blackwell. Assignment of the full copyright is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless full copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Copyright Transfer Agreement must be sent to the Production Editor, before any manuscript can be published. Authors must send the completed Copyright Transfer Agreement by regular mail/fax/e-mail upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the form at submission.

For questions concerning copyright, please visit Wiley-Blackwell's Copyright FAQ.

3. SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/mcn>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper are available online and below. Further assistance can be obtained from Victoria Hall Moran in the Editorial Office by telephone: (+44(0) 1772 893 830), fax (+44(0) 1772 892 914) or by e-mail (mcnjournal@uclan.ac.uk).

3.1. Getting Started

- Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/mcn>
- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
 - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next'.
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/mcn>, and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select 'Author Center'.

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged in, click the 'Submit a Manuscript' link in the menu bar.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
 - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop-down menu next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are

acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. Figure tags should be included in the file. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

3.4. Blinded Review

On submission, papers are reviewed by two or more members of the Editorial Board and/or by outside experts in the field. Reviewers' comments are sent to the primary author with suggestions for revision as needed. Reviews take from 6 to 10 weeks.

Maternal & Child Nutrition uses double-blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper and the name(s) of the author(s) will not be disclosed to the reviewers.

To allow double-blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as separate files. Please upload:

- Your manuscript without title page under the file designation 'main document'
- Figure files under the file designation 'figures'
- The title page, Acknowledgements and Conflict of Interest Statement where applicable, should be uploaded under the file designation 'title page'

All documents uploaded under the file designation 'title page' will not be viewable in the HTML and PDF format you are asked to review at the end of the submission process. The files viewable in the HTML and PDF format are the files available to the reviewer in the review process.

3.5. Suggest a Reviewer

Maternal & Child Nutrition attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, it would be helpful if you could suggest names and current e-mail addresses of potential international reviewers who you consider capable of reviewing your manuscript.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by spam filtering software on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Center' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made. The Editors will endeavour to provide a decision on each paper within 2 months of receipt.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

Revised manuscripts must be uploaded within 3 months of authors being notified of conditional acceptance pending satisfactory revision. Locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision' to submit your revised manuscript. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript. Please also remember to upload your manuscript document separate from your title page.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

The Journal will publish the following types of contribution:

Original research reports: This should not be more than 8000 words in length. The text should start with a structured abstract not exceeding 250 words, and thereafter: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, Figures and Tables.

Review Articles: Critical and systematic reviews in any area of theory, policy or research relevant to maternal and child nutrition (again not more than 8000 words in length).

Short Communications: Short communications on topical theoretical or empirical issues (not more than 2000 words). Articles referring to the publication or content of recently published official documents and a discussion or comment on the impact of legislation are welcome.

Letters to the Editor: Letters relating to materials previously published in *Maternal & Child Nutrition*, or to topical and internationally relevant issues.

Proceedings: Conference and workshop proceedings, usually edited by a Guest Editor, and subject to customary reviewing process.

Editorials: Editorials or commentaries commissioned by the Editors.

Special Issues: Part or whole Special Issues bringing together collections of papers on a particular theme, usually edited by a Guest Editor, and subject to customary reviewing process.

Book reviews and conference reports: Commissioned book reviews and conference reports which are likely to be of general interest to an international readership.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. General

Manuscripts should be prepared with 1.5 line spacing and wide margins (2 cm) with a font size of 10 or 12 pt. Pages should be numbered. In order to assist the review process, authors should include continuous line numbers for their entire document. This can be done simply and quickly in all standard word processing packages. (For example, in MS Word, go to: File, Page setup, Layout, Line numbers, Add line numbers, Continuous, and click 'OK'.)

The editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity. Authors should retain a copy of their manuscript since no responsibility can be accepted for damage or loss of papers.

5.2. Format

The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscripts are professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found

at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

5.3. Structure

All manuscripts submitted to *Maternal & Child Nutrition* should include: title page, abstract and keywords, main text, key messages, acknowledgements, conflict of interest statement, source of funding, references, tables and figures.

Title Page: This should include the title and the corresponding author's full name, affiliation, full postal address, telephone number, fax number and e-mail address. The

names, full postal addresses and affiliations of all co-authors should be clearly indicated. Please ensure that these details are shown on the cover page only, and do not appear on any other page of the manuscript.

Abstract and keywords: Supply an abstract (without subheadings) of up to 250 words. Below the abstract, provide up to six keywords that will assist indexers in cross-indexing your article.

Optimizing Your Abstract for Search Engines

Many students and researchers looking for information online will use search engines such as Google, Yahoo or similar. By optimizing your article for search engines, you will increase the chance of someone finding it. This in turn will make it more likely to be viewed and/or cited in another work. We have compiled these guidelines to enable you to maximize the web-friendliness of the most public part of your article.

Main text: For empirical work this should include the following sections: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. The introduction should conclude with a clear expression of the question and purpose of the study addressed in the paper. We appreciate that in some circumstance authors may wish to amalgamate the results with their discussion.

Presentation of statistical results: Please click here for guidance on how to present statistical results.

“Presentation of Statistical Results.

State measurement units, where appropriate; present decimal numbers with full stops, not commas (e.g. 1.27m); do not use naked decimal points (i.e. use 0.07, rather than .07). Actual p-values should be reported to 2 significant figures, including cases where the result is not statistically significant (e.g. $p=0.76$ rather than NS). For p-values less than 0.001, state $p<0.001$. Summary of data (e.g. description of a sample, baseline characteristics) should use standard deviation not standard error. If using the notation $a\pm b$ state clearly what the b is. State absolute numbers, e.g. 10/20 (plus percentages if you wish).

For clinical trials, advice is given in the CONSORT statement (<http://www.consort-statement.org/>). This should be followed as much as possible.

For observational studies, advice is given in the STROBE statement (<http://www.strobe-statement.org/>). The relevant checklist should be followed as much as possible. In particular, details are needed about the consideration and handling of confounders, effect modifiers and mediating variables. Careful justification of the method used to select a model is essential; an argument based solely on p-values is unlikely to be sufficient.

Justify your choice of sample size. Where possible state the full details of a formal sample size calculation (so that it could be replicated), but do not present a post-hoc calculation that has been done after data analysis – these are not meaningful.

Missing data can often lead to bias in results. State the number of subjects included in each analysis, together with a clear statement about any missing data (e.g. non-respondents, dropouts) and any checks you have done to compare subjects with complete and incomplete data. Describe how you have handled missing data.

If you do not have prior hypotheses supported by sample size calculations then your tests are exploratory, and p-values may be largely determined by your sample sizes. Avoid presenting dozens of p-values, or the subset of p-values that are low. Give clear justification for tests you choose to present; these should be dictated by the objective of the research rather than the observed results.

When listing a set of variables (e.g. outcomes or covariates) provide the complete list and say ‘comprised’ rather than ‘included’.

For any study it is better to present estimates of effects (e.g. means, mean differences, regression coefficients) and estimates of precision, preferably confidence intervals (although standard errors can be useful). This is especially the case for exploratory studies. Do not confuse statistical significance with practical importance. When interpreting data, the practical importance of the results is very important and cannot be deduced from the p-values themselves. Be clear what you mean when you refer to ‘significance’.

When reporting statistical tests be explicit about any assumptions you have checked, and give full details of a result in the following way: state the test name, followed by a colon, then the test statistic (together with any degrees of freedom), and the p-value. Examples are: ANOVA: $F_{2,6} = 5.6$, $p=0.042$ and Chi-squared: $\chi^2_{22} = 19.34$, $p=0.62$.”

Key Messages: A key message box should be provided with each manuscript. This should include 3-5 messages on key points of practice, policy or research (not more than 100 words). This also applies to articles solicited for themed issues.

Acknowledgements: Please specify all contributors to the article other than the authors accredited (please refer to point 2.1).

Conflict of Interest Statement: Please refer to point 2.4.

Source of funding: Please refer to point 2.4.

Note to NIH Grantees: Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate

5.4. References

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. Authors should follow the Harvard style of referencing.

In the text refer to the author's name (without initials) and year of publication (e.g. Kramer 2000). If there are two authors, give both surnames (e.g. Rasmussen & Kjolhede 2004). For more than two authors, the surname of the first author should be given followed by 'et al.' (e.g. Hall et al. 2006).

The list of references should be arranged alphabetically by authors' names. The first six authors should always be listed, but if there are more than six authors list only the first six, followed by 'et al.' The manuscript should be carefully checked to ensure the spelling of authors' names and dates are exactly the same as in the text as in the reference list. References should be given in the following form:

Naidoo S. & Myburgh N. (2007) Nutrition, oral health and the young child. *Maternal & Child Nutrition* **3**, 312-321.

Pathak P., Kapil U., Kapoor S.K., Saxena R., Kumar A., Gupta N. *et al.* (2004) Prevalence of multiple micronutrient deficiencies amongst pregnant women in a rural area of Haryana. *Indian Journal of Pediatrics* **71**, 1007-1014.

Institute of Medicine (2000) *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. National Academy Press: Washington DC.

Gibson R.S. (2005) *Principles of Nutritional Assessment*, 2nd edn. Oxford University Press: Oxford.

Dewey K.G. (2004) Impact of breastfeeding on maternal nutritional status.

In: *Protecting Infants through Human Milk: Advancing the Scientific Evidence Base* (eds L.K. Pickering, A.L. Morrow, G.M. Ruiz-Palacios & R.J. Schanler), pp. 91-100. Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York.

References are only acceptable if already published or if formal acceptance has been given for publication. Accepted papers not yet published may be cited as references in the text, and in the reference list should include the title, the designated journal and the words 'in press' in parentheses. Unpublished work, personal communications, and information from unpublished sources must only be cited where

absolutely necessary, and only in the text as ‘unpublished observations’ in parentheses.

The Editors and Publisher recommend that citation of online published papers and other material should be done via a DOI (digital object identifier), which all reputable online published material should have - see www.doi.org/ for more information. If an author cites anything which does not have a DOI they run the risk of the cited material not being traceable.

We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting.

Reference Manager reference styles can be searched for here:www.refman.com/support/rmstyles.asp

5.5. Tables and Figures

Tables: Tables should be numbered consecutively and referred to ‘Table(s)’ in the text. Each table should have a title. Footnotes to tables should be typed below the table and should be referred to by superscript lowercase letters. No vertical rules should be used. Tables should not duplicate results presented elsewhere in the manuscript (e.g. in graphs).

Figures: Figures should be no larger than A4 and should be in a suitable form for reproduction. Photographs, charts and diagrams are all to be referred to as ‘Figure(s)’ and should be numbered consecutively in the order to which they are referred. They should accompany the manuscript, but should not be included within the text. Each figure should have a title and a legend and all legends should be typed together on a separate sheet and numbered correspondingly. Please send electronic versions of your figures. For more information please visit <http://authorservices.wiley.com/authors/digill.asp>.

Preparation of Electronic Figures for Publication

Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (line art) or TIFF (halftone/ photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programs. Scans (TIFF only) should have a resolution of at least 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). Please submit the data for figures in black and white or submit a Colour Work Agreement Form (see Colour Charges below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible).

For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: line art: >600 dpi; halftones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures:<http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting
it:<http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publisher.

Colour Charges: It is the policy of *Maternal & Child Nutrition* for authors to pay the full cost for the reproduction of their colour artwork. Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Wiley-Blackwell require you to complete and return a Colour Work Agreement Form before your paper can be published. Any article received by Wiley-Blackwell with colour work will not be published until the form has been returned.

Plagiarism: Any material reproduced or quoted from other sources must be clearly indicated as such. The editors will advise whether or not the original author's or copyright holder's consent is needed.

6.ONLINEOPEN

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-406241.html>.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website

at:https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

7. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the production editor who is responsible for the production of the journal.

7.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an e-mail alert containing a link to a website. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following website: <http://get.adobe.com/reader/>. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs.

Proofs must be returned to the production editor within three (3) days of receipt.

As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the Publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in their work, including changes made by the copyeditor.

7.2 Author Services

Online production tracking is available for your article through Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the producti